

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA
VETERINÁRIA

DISSERTAÇÃO

Doenças do sistema nervoso central de cães diagnosticadas no
Setor de Anatomia Patológica da Universidade Federal Rural do
Rio de Janeiro de 1949 a 2019

Natália Braz de Almeida Pereira

2020



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
PATOLOGIA / CIÊNCIAS CLÍNICAS

Doenças do sistema nervoso central de cães diagnosticadas no Setor de Anatomia Patológica da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro de 1949 a 2019

Natália Braz de Almeida Pereira

Sob a orientação do professor
Daniel Guimarães Ubiali

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Medicina Veterinária no Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Área de concentração em Patologia Animal.

Seropédica, RJ
Janeiro de 2020

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

B436d Braz de Almeida Pereira, Natália , 18/09/1990-
Doenças do sistema nervoso central de cães
diagnosticadas no Setor de Anatomia Patológica da
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro de 1949
a 2019 / Natália Braz de Almeida Pereira. - Barra
Mansa, 2020.
64 f.: il.

Orientador: Daniel Guimarães Ubiali.
Dissertação(Mestrado). -- Universidade Federal Rural
do Rio de Janeiro, Programa de Pós Graduação em
Medicina Veterinária, 2020.

1. Histopatologia de doenças em sistema nervoso
central de cães. 2. Aspectos clínicos das doenças em
sistema nervoso central de cão. 3. Aspectos
diagnósticos de doenças em sistema nervoso central de
cães. I. Guimarães Ubiali, Daniel, 1985-, orient. II
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária III.
Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

NATÁLIA BRAZ DE ALMEIDA PEREIRA

Dissertação submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre em Patologia**, no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Patologia e Ciências Clínicas.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 30/01/2020.

Conforme deliberação número 001/2020 da PROPPG, de 30/06/2020, tendo em vista a implementação de trabalho remoto e durante a vigência do período de suspensão das atividades acadêmicas presenciais, em virtude das medidas adotadas para reduzir a propagação da pandemia de Covid-19, nas versões finais das teses e dissertações as assinaturas originais dos membros da banca examinadora poderão ser substituídas por documento(s) com assinaturas eletrônicas. Estas devem ser feitas na própria folha de assinaturas, através do SIPAC, ou do Sistema Eletrônico de Informações (SEI) e neste caso a folha com a assinatura deve constar como anexo ao final da tese / dissertação.

DANIEL GUIMARAES UBIALI, Dr., UFRRJ
(Orientador)

RODRIGO CALDAS MENEZES, Dr., FIOCRUZ

LUCIANO DA SILVA ALONSO, Dr., UFRRJ



Emitido em 2021

TERMO N° 818/2021 - PPGMV (12.28.01.00.00.00.51)

(N° do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)

(Assinado digitalmente em 28/07/2021 10:39)

DANIEL GUIMARAES UBIALI
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DESP (12.28.01.00.00.00.52)
Matricula: 3701718

(Assinado digitalmente em 29/07/2021 18:50)

LUCIANO DA SILVA ALONSO
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DeptAnatAH (12.28.01.00.00.00.44)
Matricula: 1281417

(Assinado digitalmente em 27/07/2021 15:52)

RODRIGO CALDAS MENEZES
ASSINANTE EXTERNO
CPF: 073.915.567-93

Para verificar a autenticidade deste documento entre em <https://sipac.ufrj.br/documentos/> informando seu número:
818, ano: **2021**, tipo: **TERMO**, data de emissão: **27/07/2021** e o código de verificação: **da0c3aae53**

AGRADECIMENTOS

À grande força que rege o universo, a força feminina e lunar da mãe natureza em todas as suas faces.

À minha mãe Neuza (*in memoriam*) que sempre me incentivou a estudar e me ensinou a nunca desistir dos meus sonhos.

Ao meu pai Pedro, que me apoia, me aconselha e cada dia mais me faz sentir orgulho em ser sua filha.

Às minhas segundas mães: Telma, Regina e Ivone que a vida me presenteou e são mulheres fortes que eu amo e admiro.

À minha irmã que consegue me acalmar mesmo nos momentos difíceis, meus primos Elias, Elizeu e Silas que são como irmãos.

Ao meu orientador pela oportunidade, confiança e ensinamentos, aos professores Luciano Alonso, Marilene e Vivian pelos conhecimentos passados, aos técnicos Letícia e Miguel pela disponibilidade e paciência, aos amigos do laboratório: Bartholomeu, Nathália, Taís, Gabriela, Mariana, Juliana, Danielly, Samara, Márcia e estagiários por compartilharem momentos, conhecimento, tristezas e alegrias.

Ao colega geólogo Cássio de Almeida Pires pelas discussões que culminaram na produção dos mapas referentes às Figuras 2 e 3.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro pelo ensino gratuito e de qualidade mesmo com tantas dificuldades e também a todos aqueles que passaram por minha jornada nesta instituição: professores, colegas de turma, de trabalho, de pesquisa ou em momentos de descontração. Fiz questão de absorver tudo que podia de cada um para a construção de quem sou.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001.

Os humanos imploram a misericórdia divina, mas não têm misericórdia dos animais, para os quais são divinos.

Buda

RESUMO

BRAZ, Natália Braz de Almeida Pereira. **Doenças do sistema nervoso central de cães diagnosticadas no Setor de Anatomia Patológica da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro de 1949-2019**. 2020. 64p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2020.

Este estudo retrospectivo foi realizado no Setor de Anatomia Patológica da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (SAP/UFRRJ) situado no município de Seropédica, RJ. Através do estudo clínico e patológico das doenças do sistema nervoso de cães diagnosticadas durante 71 anos (1949-2019). Dos registros de necropsia de 4.991 cães foram selecionados e revisados. Deste total 621 apresentaram história clínica de alterações do sistema nervoso, correspondendo a 12,4% (621/4991) dos diagnósticos realizados no setor. Destes 621 casos, 534 tiveram diagnóstico definitivo e 87 foram inconclusivos. As doenças infecciosas virais foram observadas em 81% (469/577) dos casos e representaram a principal causa de distúrbios neurológicos. As enfermidades virais diagnosticadas foram: raiva com 62,3% dos casos (385/621) e cinomose com 13,5 % (84/621) dos casos. Evidenciou-se que entre as décadas de 1950 e 1970 a raiva canina foi a principal doença neurológica diagnosticada em caninos na região do estudo. O último caso de raiva ocorreu em 1982. A redução progressiva da raiva canina ao decorrer dos anos, resultou em 37 anos sem detecção devida as campanhas de vacinação que se iniciaram na década de 1980. Os diagnósticos de manifestações neurológicas relacionados às neoplasias, representaram 2,5% (14/621). As lesões traumáticas corresponderam a 1,1% (7/621), se dividindo em traumatismo crânio encefálico (2/7) e traumatismo espinomedular (5/7). “Outros distúrbios”, foram reunidos como um grupo de doenças que consistiram em: meningoencefalite linfoplasmocítica 1,3% (32/621), doença do disco intervertebral 0,4% (3/621), leucoencefalite necrosante do Yorkshire 0,3% (2/621), meningoencefalite necrosante 0,1% (1/621), meningoencefalite granulomatosa 0,1% (1/621) e infarto hemorrágico 0,1% (1/621). O grupo de distúrbios do desenvolvimento (hidrocefalia) representou 0,4% (3/621) e na categoria de intoxicações, 0,1% (1/621) foi de intoxicação por estricnina. As doenças que afetam o sistema nervoso central de cães representam um importante grupo de doenças em cães na região metropolitana do estado do Rio de Janeiro, porém estas são largamente subdiagnosticadas. O conhecimento dos métodos de diagnóstico e etiologia dessas doenças é fundamental para se estabelecer listas de diagnósticos diferenciais para as enfermidades mais importantes regionalmente.

Palavras-chave: cão, sistema nervoso central, neuropatologia.

ABSTRACT

BRAZ, Natália Braz de Almeida Pereira. **Diseases of the central nervous system of dogs diagnosed in the Pathological Anatomy Sector of the Federal Rural University of Rio de Janeiro, 1949-2019.** 64p. Thesis (in Veterinary Medicine, Animal Pathology). Institute of Veterinary, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2020.

This retrospective study was carried out at the Pathological Anatomy Sector of the Federal Rural University of Rio de Janeiro (SAP/UFRRJ) located in the municipality of Seropédica, RJ. Clinical and pathological study of diseases of the nervous system of dogs diagnosed for 71 years (1949-2019) was performed. The necropsy records of 4991 dogs and selected. Clinical history of nervous system changes were detected in 621 cases, corresponding to 12.4% (621/4991) of the diagnoses. In 621 cases, 534 had a definitive diagnosis and 87 were inconclusive. Viral infectious diseases were diagnosed in 81% (469/621) of the cases and represented the main cause of neurological disorders. Rabies represented 62.3% (385/621) of the cases and distemper 13.5% (84/621). Rabies was the main neurological disease diagnosed in dogs in the study region between the 1950s and 1970s canine. The last canine rabies case occurred in 1982. The progressive reduction in canine rabies over the years, results in 37 years without detection were result of vaccination campaigns that started in the 1980s. The diagnoses of neurological manifestations related to neoplasms, with 2.5% (14/621) and traumatic injuries correspond to 1.1% (7/621), dividing them into encephalic traumatism (2/7) and spinal-medullary trauma (5/7). Grouped under “other disorders”, were classified as: lymphoplasmacytic meningoencephalitis 1.3% (32/621), intervertebral disc disease 0.5% (3/621), Yorkshire necrotizing leukoencephalitis 0.3% (2/621), necrotizing meningoencephalitis 0.1% (1/621), granulomatous meningoencephalitis 0.1% (1/621), hemorrhagic infarction 0.1% (1/621) and. In developmental disorders, 0.8% (3/621) of cases of congenital hydrocephalus were observed and in the category of intoxications, 0.1% (1/621) of cases of strychnine poisoning. One of the main nurses diagnosed in this study was rabies, followed by distemper. As pathologies that affect the central nervous system of dogs, an important cause of nervous manifestations in dogs in metropolitan region of the state of Rio de Janeiro, however these are underdiagnosed in most cases. Knowledge of the etiopathogenesis is essential to create a list of differential diagnoses with the most important diseases regionally.

Key words: dog, central nervous system, neuropathology.

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

		PÁGINA
Tabela 1	Doenças do sistema nervoso central em cães no Setor de Anatomia Patológica da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (1949-2019)	23
Tabela 2	Diagnóstico da frequência de positividade ao faraco, imunofluorescência direta e prova biológica	25
Tabela 3	Características histopatológicas de oito casos de cinomose diagnosticados em cães no Setor de Anatomia Patológica da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro	28
Figura 1	Principais diagnósticos de distúrbios do Sistema Nervoso Central obtidos no Setor de Anatomia Patológica/ UFRRJ.	26
Figura 2	Fluxograma com as etapas do diagnóstico no Setor de Anatomia Patológica/UFRRJ.	26
Figura 3	Frequência do diagnóstico de raiva por década	28
Figura 4	Frequência de casos de raiva canina diagnosticada na região sudeste do Brasil (1949-1982).	29
Figura 5	Distribuição espacial/temporal da raiva canina diagnosticada na região sudeste do Brasil (1949-1982).	30
Figura 6	Cinomose	31
Figura 7	Astrocitoma	33
Figura 8	Meningioma	33
Figura 9	Meningioma transicional	34
Figura 10	Meningioma.de cauda equina	35
Figura 11	Linfoma	36
Figura 12	Mieloma múltiplo	37
Figura 13	Ependimoma	37
Figura 14	Oligodendroglioma	38
Figura 15	Neuroblastoma periférico	38
Figura 16	Traumatismo craniano	39
Figura 17	Doença do disco intervertebral (DDIV)	40
Figura 18	Infarto cerebral	41
Figura 19	Leucoencefalite necrosante do Yorkshire (LEN)	42
Figura 20	Meningoencefalite necrosante (MEN)	43
Figura 21	Meningoencefalite granulomatosa (MEG)	44

LISTA DE ABREVIACOES

DDIV	Doença do Disco Interverterbral
ECP	Encefalite do cão Pug
HE	Hematoxilina e Eosina
IIC	Inoculação Intra-Cerebral em Camundongos
IFD	Imunofluorescência Direta
LEN	Leucoencefalite Necrosante
MEG	Meningoencefalite Granulomatosa
MEN	Meningoencefalite Necrosante
PB	Prova Biológica
SAP	Setor de Anatomia Patológica
SNC	Sistema Nervoso Central
UFRRJ	Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
VCC	Vírus da Cinomose Canina

Sumário

1. INTRODUÇÃO	10
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	11
2.1 Epidemiologia das doenças do sistema nervoso central de cães no Brasil e no mundo	11
2.2 Principais doenças do sistema nervoso central dos cães.....	12
2.2.1 Raiva	12
2.2.2 Cinomose	15
3. MATERIAL E MÉTODOS	23
3.1 Local	23
3.2 Espécie estudada	23
3.3 Período	23
3.4. Levantamento dos Casos do Setor de Anatomia Patológica (SAP/UFRRJ). 23	
4. RESULTADOS.....	25
5. DISCUSSÃO	42
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	53
Anexo 1. Artigo submetido à revista <i>PLOS NEGLECTED TROPICAL DISEASES</i>	634
Anexo 2. Ficha de solicitação de exame do Setor de Anatomia Patológica/ UFRRJ.....	

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, na Medicina Veterinária têm-se inúmeros avanços, especialmente na clínica de pequenos animais, pela crescente aproximação afetiva entre os cães e os seres humanos. Como consequência disto, a procura por atendimento clínico de cães aumentou, bem como por exames laboratoriais e necropsias. Esses avanços favoreceram o surgimento de especialidades na Medicina Veterinária.

A baixa disponibilidade de meios diagnósticos sofisticados para algumas clínicas e hospitais veterinários ainda é uma realidade no Brasil. Com isso, o conhecimento das doenças que causam mortes nos animais tem sido cada vez mais importante e nota-se a necessidade de estudos baseados em necropsias.

A ocorrência de doenças neurológicas em pequenos animais é muito alta na rotina, podendo ter origem infecciosa, traumática, congênita, degenerativa, neoplásica, tóxica ou idiopática (SHARP; WHEELER, 2005). Mas a literatura científica apresenta sobretudo relatos de casos e estudos retrospectivos específicos para uma determinada doença (CHAVES et al., 2014).

Por conseguinte, estudos retrospectivos fundamentados na coleta de registros em arquivos é essencial para a medicina veterinária e também para a área de patologia animal, pois através destes estudos é possível reunir dados clínicos, laboratoriais e patológicos sobre certas doenças e apresentar a prevalência regional das doenças de acordo com a espécie, sexo, idade, raça e localização geográfica (FIGHERA, 2008b). Com isto, o diagnóstico das doenças em cães se torna cada vez mais importante no Brasil, pois desta maneira é possível perceber e compreender melhor os sinais clínicos, tratamento, prevenção e prognóstico das principais afecções neurológicas. O estudo dos distúrbios neurológicos de cães em diferentes regiões do Brasil atuará como um guia para clínicos e patologistas que trabalham com doenças do sistema nervoso de pequenos animais, ajudando a estabelecer diagnósticos precisos e listar os principais diagnósticos diferenciais.

O SAP/UFRRJ, por sua vez, conta com um banco de dados desde o ano de 1933 até o presente, o que possibilita a realização de estudos retrospectivos e a caracterização das doenças do sistema nervoso central (SNC) que causam morte ou sinais clínicos graves. Os dados de levantamentos de doenças com grande amplitude temporal servem de subsídios para adoção de medidas de controle e prevenção para as doenças de cães, com

o objetivo de reduzir o percentual de mortes e contribuir para o bem-estar dos animais e dos seres humanos.

O presente trabalho tem por objetivo descrever as frequências e alterações histológicas das doenças que afetam o SNC de cães diagnosticadas no SAP/UFRRJ, situado na região metropolitana do estado do Rio de Janeiro, em um período de 71 anos (1949-2019).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Epidemiologia das doenças do sistema nervoso de cães no Brasil e no mundo

Muitas doenças do sistema nervoso central (SNC) em cães são descritas no Brasil e no mundo. Na maioria dos estudos retrospectivos realizados no Brasil, as doenças de maior ocorrência no SNC em cães são de origem infecciosa e/ou degenerativa (FIGHERA et al., 2008b; CHAVES et al., 2014; ZAMBONI, 2017; FRADE et al., 2018). Num estudo realizado no interior de São Paulo, Fernandes e Bernadini (2017) relataram as principais doenças em cães geriátricos, e das doenças neurológicas, a cinomose teve maior prevalência com 3,8%. Analogamente, foi notado por Fighera et al., (2008b), que a cinomose teve maior ocorrência com 12,4%.

Na Paraíba, Frade et al., (2018) observaram que de 354 casos de doenças neurológicas em cães, 211 (59,6%) eram de origem infecciosa num período de doze anos, e a cinomose obteve o maior número de casos registrados, totalizando 50,5% dos casos. Em Santa Maria (RS), Chaves et al., (2014) relataram que 49% dos diagnósticos realizados de 2006 a 2013 se tratavam de doença degenerativa, especificamente a doença do disco intervertebral (DDIV). Zamboni (2017) observou que, em Pelotas (RS), dentre as doenças do SNC em cães as doenças virais tiveram maior relevância, com 54,8% dos diagnósticos, sendo elas: raiva com 26,2% e cinomose com 32,3%.

Na Suíça, em estudo retrospectivo realizado por Fluehmann et al., (2006) em 1159 cães com diagnóstico clínico de distúrbios nervosos, no período de 1989 a 2000 a doença do disco intervertebral (DDIV) foi a mais frequente e a raça Dachshund a mais acometida. Outras doenças como epilepsia idiopática e lesões compressivas medulares também foram relatadas. Em outro estudo também realizado na Suíça, TIPOLD (1995) através do diagnóstico neurohistopatológico, identificou as principais enfermidades inflamatórias e infecciosas no SNC de 220 cães. Esse autor observou que a cinomose foi a enfermidade neurológica de maior prevalência, além de encefalites virais cujos agentes etiológicos não

foram identificados. Na Coreia do Sul, um levantamento com 178 cães, Jeon et al. (2012) relataram que as doenças mais registradas nos cães no período de 2008 a 2012 foram as meningoencefalites de origem desconhecida, seguida da DDIV.

Em um estudo realizado em Tóquio, no Japão, com a finalidade de averiguar as meningoencefalites de origem idiopática, tecidos cerebrais de 39 cães com meningoencefalite necrosante, leucoencefalite necrosante e meningoencefalite granulomatosa foram obtidos durante necropsias realizadas entre 1990 e 2009 (PARK et al., 2012). Segundo esse estudo, a maior ocorrência dentre estas meningoencefalites foi a meningoencefalite necrosante, com 64% dos casos.

2.2 Principais doenças do sistema nervoso central dos cães

2.2.1 Raiva

O vírus da raiva, um *Lyssavirus* da família Rhabdoviridae, da ordem Mononegavirales, é um vírus formado por RNA, fita simples, de polaridade negativa e envolvida por uma complexa ribonucleoproteína, e pode acometer todos os mamíferos, incluindo os humanos (MACHADO, 1965; FLINT et al., 2004; CARTER et al., 2005; BRASIL, 2017).

Esta infecção viral, que afeta mamíferos é fatal (MACHADO, 1965; CARTER et al., 2005; BRASIL, 2017; RAHMADANE, et al., 2017; CERTOMA, et al., 2018; FRADE, et al., 2018; JUNIOR et al., 2019). Apesar disso, as espécies de mamíferos variam bastante na sua suscetibilidade (MACHADO, 1965; BRASIL, 2017). Geralmente, os casos clínicos nos animais devem-se à infecção pelo vírus da raiva da cepa originária do morcego *Desmodus rotundus*. Ademais, existem vários outros *Lyssavirus* neurotrópicos intimamente relacionados com o vírus da raiva, que promovem sinais indiscrimináveis da doença (CARTER et al., 2005; RAHMADANE, et al., 2017; CERTOMA et al., 2018; JUNIOR et al., 2019). O período de incubação nas espécies é extremamente variável, desde dias até anos, com uma média de 45 dias, nos humanos, e de 10 dias a 2 meses no cão (BRASIL, 2017).

Atualmente, o gênero *Lyssavirus* possui sete espécies diferentes (TORDO et al., 1998; BRASIL, 2017; CERTOMA et al., 2018). O clássico vírus da raiva (RABV), causa infecção em mamíferos terrestres, morcegos hematófagos e morcegos não-hematófagos das Américas e pertence ao genótipo 1 (TORDO et al., 1998; FAHL, 2009; BRASIL, 2017; CERTOMA et al., 2018).

Diversos genótipos já foram descritos, como Lagos bat virus (LBV), ou genótipo 2, isolado de morcego frugívoro da região do Lagos (Nigéria), em 1956, o Mokola vírus (MOKV), ou genótipo 3, que foi isolado de mussaranhos (*Crocidura* sp.), de humanos e de felinos em Zimbábue, Nigéria e Etiópia (COERTSE et al., 2016; BRASIL, 2017). O Duvenhage vírus (DUVV), ou genótipo 4, foi isolado de humano e de morcegos insetívoros da África do Sul e Zimbábue (KUZMIN et al., 2003; BRASIL, 2017). Posteriormente, foi identificado o European bat lyssavirus 1 (EBLV1, genótipo 5), que agrupou os isolamentos de morcegos do gênero *Eptesicus*, e o European bat lyssavirus 2 (EBLV2, genótipo 6), que reuniu os isolamentos de morcegos do gênero *Myotis* (BRASIL, 2017). Na década de 90, foi isolada na Austrália uma nova cepa, de morcegos frugívoros (*Pteropus alecto*), denominada “Australian bat lyssavirus” (ABLV), classificada como genótipo 7 (BRASIL, 2017; CERTOMA et al., 2018).

A transmissão pelo vírus rábico, classicamente ocorre por via percutânea, através da mordedura de animais infectados (CARTER et al., 2005; ABREU et al. 2012; JUNIOR et al., 2019), mas existem relatos de outras formas de transmissão, uma delas é através das vias aéreas superiores (aerossóis), porém sem importância epidemiológica (SRINIVASAN et al., 2005). Outros relatos em literatura científica incluem dois indivíduos que entraram em cavernas, povoadas por morcegos infectados, de pessoas que manipularam o vírus em laboratório sem ter feito esquema de pré-exposição e sem medidas de biossegurança (BRASIL, 2017). Por meio de transplantes de órgãos na China (ZHANG et al., 2018) e em quatro pessoas nos Estados Unidos, que receberam o transplante de mesmo doador infectado (SRINIVASAN et al., 2005; WHO, 2019). No Brasil, existe o relato de dois casos da doença através da prática de zoofilia (BRASIL, 2017) e na Etiópia, a forma inter-humana foi observada em uma mulher que adquiriu raiva pela mordedura do filho e outra através de beijo na boca do filho infectado (BRASIL, 2017; WHO 2019) e ainda no Vietnã, através da ingestão que através do histórico do paciente, compreendeu-se que houve transmissão da raiva a partir da manipulação e/ou ingestão de carnes de animais infectados (BRASIL, 2017).

A replicação viral é iniciada em células musculares estriadas próximas ao local da inoculação do vírus e este entra nas terminações nervosas periféricas e ocorre a replicação viral (CARTER et al., 2005; SRINIVASAN et al., 2005; STEIN et al., 2010). Através do fluxo axoplasmático retrógrado, o vírus é transportado ao SNC (DINIZ et al., 2003; STEIN et al., 2010). Em carnívoros, a presença do vírus na saliva é um fator determinante

na transmissão da raiva através da mordedura (CARTER et al., 2005; SRINIVASAN et al., 2005; STEIN et al., 2010).

As manifestações clínicas são variáveis entre espécies (DINIZ et al., 2003; BRASIL, 2017) e evoluem após a lesão neuronal causada pela replicação viral, posteriormente segue sentido centrífugo, espalhando-se pelos demais sistemas orgânicos (CARTER et al., 2005; ABREU et al. 2012). Inicialmente os animais se isolam, apresentam dificuldade para defecar, sialorreia, andar cambaleante (DINIZ et al., 2003), engasgos, aumento da sensibilidade e prurido na região da mordedura, hiperexcitabilidade e aumento da libido, que progride para uma paralisia dos membros pélvicos, decúbito e movimentos de pedalagem, dificuldade respiratória, opistótono, asfixia e morte (PEDROSO et al., 2009).

Para o diagnóstico *post mortem* da raiva recomenda-se coletar o encéfalo dos animais suspeitos e, em algumas espécies como os equinos, além do encéfalo, recomenda-se enviar ao laboratório fragmentos de medula espinhal (PEDROSO et al., 2010; BRASIL, 2017). O primeiro método laboratorial rápido proposto para o diagnóstico de raiva foi a detecção de corpúsculos de Negri, método este descrito por Adelchi Negri há mais de um século. Esses corpúsculos são característicos da doença e consistem em agregados de nucleocapsídeos, que se depositam no interior do citoplasma dos neurônios infectados (TIERKEL; ATANASIU, 1996).

As principais técnicas laboratoriais para diagnóstico *post mortem* de raiva descritas são: a pesquisa de corpúsculo de Negri na histopatologia (BRASIL, 2017), isolamento viral em cultivo celular, prova biológica (inoculação intracerebral em camundongos), imunofluorescência para pesquisa de antígeno da raiva (IFD), a prova de reação em cadeia da polimerase (PCR) (ARSLAN et al., 2004) e a imuno-histoquímica (MACHADO et al., 2004; PEDROSO et al., 2008).

A pesquisa de corpúsculo de Negri pode ser realizada por meio de impressões ou esfregaços de pequenos fragmentos do cérebro, bulbo e cerebelo corados pelos métodos de Seller, Faraco ou outros. O tecido precisa ser fresco, com a técnica de *imprint* ou *squash* (MACHADO, 1965; TIERKEL; ATANASIU, 1996). Preconiza-se hipocampo, córtex (células piramidais) e cerebelo (células de Purkinge), nestes locais é feita a pesquisa dos corpúsculos de Negri (TIERKEL; ATANASIU, 1996).

De acordo com Tierkel; Atanasiu (1996), baseia-se em usar amostras frescas e fucsina básica ou eosina com azul de metileno como sua base e a partir disso, tecidos são dissecados e com pequenos fragmentos do cérebro, bulbo e cerebelo, faz-se a impressão

ou esfregaço destes, que são corados e a pesquisa do corpúsculo de Negri feita; estes assumem-se acidofílicos na reação de coloração, de cor rosa/magenta. Na histopatologia a lesão é caracterizada por infiltrado linfoplasmocitário, associadas com corpúsculo de Negri no interior de citoplasma dos neurônios, principalmente em células piramidais do hipocampo e/ou células de Purkinge do cerebelo (BRASIL, 2017).

2.2.2 Cinomose

O agente etiológico da cinomose é um vírus RNA, pertencente à família Paramixoviridae e ao gênero Morbilivírus, conhecido como vírus da cinomose canina (VCC), que causa doença com alta morbidade e mortalidade em cães domésticos e carnívoros selvagens (MCGAVIN; ZACHARY, 2009; FERNANDES; BERNARDINI, 2010; PRATELLI, 2011; BUDASZEWSKI et al., 2014). No Brasil e em outros países onde a cinomose é endêmica, milhares de cães morrem todo o ano, já em países europeus a mesma ocorre na forma de surtos esporádicos (HEADLEY; GRAÇA, 2000). Em alguns países a enfermidade é vista como risco econômico em potencial, como a Finlândia, que é grande produtora de pele de animais como a raposa e o mink (RIKULA et al., 2001). Em carnívoros selvagens, a cinomose pode contribuir para a extinção das espécies (PRATELLI, 2011; BUDASZEWSKI et al., 2014).

O vírus é transmitido através de aerossóis (MCGAVIN; ZACHARY, 2009; PRATELLI, 2011). Pela via respiratória, o vírus avança no organismo do animal e invade órgãos linfoides, antes de se difundir por via hematogênica e promover lesões nos sistemas respiratórios e/ou digestório até chegar ao SNC e a evolução da enfermidade dependerá da cepa viral e da imunidade do hospedeiro (MCGAVIN; ZACHARY, 2009; FERNANDES; BERNARDINI, 2010).

Os cães que têm uma resposta imunológica deficiente apresentam manifestações clínicas mais abrangentes e até sistêmicas, caracterizadas por distúrbios gastroentéricos, oftalmológicos, dermatológicos, respiratórios e neurológicos; são aqueles não vacinados ou vacinados com doses incompletas, colostro materno com título baixo de anticorpos ou sem título, imunossuprimidos e com histórico de contato com animais infectados (PORTELA, et al., 2017).

A cinomose causa leucopenia, cujo o grau está relacionado com a gravidade da enfermidade e a persistência do vírus no tecido linfóide e no sistema nervoso central, o que leva à imunossupressão e à suscetibilidade do hospedeiro a infecções secundárias,

que são a principal causa de mortes relacionadas à cinomose (FERNANDES; BERNARDINI, 2010; PRATELLI, 2011).

A doença é constituída por algumas fases observadas através de manifestações clínicas e com grande capacidade de acometer o sistema nervoso central desde o início, independente do desenvolvimento de sinais neurológicos. Desta forma é considerada uma enfermidade desmielinizante, de natureza infecciosa, que age em células epiteliais, macrófagos e astrócitos (MCGAVIN; ZACHARY, 2009; FERNANDES; BERNARDINI, 2010).

No passado, a presença de corpúsculos de inclusão intracitoplasmáticos era o único teste usado na rotina para confirmar o diagnóstico *post-mortem* de cinomose; além disso, a desmielinização é uma notável característica, pois a lesão na bainha de mielina está associada à presença de vírus (LAUDER et al., 1954; SUMMERS et al., 1994). Foi reportado que as alterações degenerativas dos oligodendrócitos se relacionam a uma infecção viral incompleta, sem produção de proteína viral, porém com alteração na expressão de vários genes, em particular dos responsáveis pela codificação das proteínas que produzem mielina (GRABER et al., 1995; ZURBRIGGEN et al., 1998). Contudo, nunca foi possível comprovar a replicação do vírus em oligodendrócitos e também não se comprovou o mecanismo de desmielinização (GRABER et al., 1995)

Atualmente sabe-se que a formação de corpúsculos de inclusão intranucleares é uma contradição para os vírus RNA, pois o mesmo replica inteiramente no citoplasma, entretanto, o VCC promove uma resposta celular que carrega a nucleoproteína viral para dentro do núcleo (SUMMERS et al., 1994).

O diagnóstico pode ser investigado através do exame físico, laboratorial e anamnese e o vírus pode ser identificado em: urina, sangue total, leucócitos, fezes, saliva e exsudato respiratório (NEGRÃO et al., 2007), na imunofluorescência direta (MACLACHLAN; DUBOVI, 2011), e na interpretação histopatológica da visualização de corpúsculos de inclusão viral, associado com lesões desmielinizantes, gliose e meningoencefalomielite não supurativa no sistema nervoso central (FERNANDES; BERNARDINI, 2010), imuno-histoquímica (IHQ), (HAINES et al., 1999), hibridização *in situ* e PCR (KAPIL et al., 2008).

A lesão histológica no SNC de cães com cinomose é geralmente constituída de inflamação com infiltrado mononuclear perivascular e leptomeníngeo, que é caracterizada como subaguda ou crônica. Na fase aguda são poucos achados histológicos, inflamação leve e pouca desmielinização. Na fase subaguda, muitas vezes não ocorre

malácia, e geralmente é acompanhada de sinais sistêmicos. Na enfermidade crônica, a desmielinização e a inflamação aumentam acentuadamente e comumente há malácia. Pode-se relacionar a forma de apresentação destas de acordo com a idade. Os casos agudos podem ocorrer em filhotes e os casos mais crônicos em adultos (SILVA, 2009). O cerebelo, córtex frontal, áreas periventriculares do cerebelo e ponte são as áreas acometidas mais frequentemente pelas lesões (GREENE; APPEL 2006; BEINEKE et al., 2009; SILVA et. al., 2009), que também podem acometer o encéfalo sistemicamente (TIPOLD, 1995).

2.2.3 Neoplasias intracranianas e medulares

Os tumores podem ser primários ou com origem em tumores que metastatizam ou ainda, por infiltração do tumor a partir de estruturas vizinhas (O'BRIEN; COATS, 2010; SANTOS et al., 2012). As neoplasias primárias são as mais frequentes no SNC e acometem muito mais o encéfalo do que a medula espinhal (FERNANDES; BERNARDINI, 2010; SANTOS et al., 2012), mas também há casos de neoplasias que circundam o sistema nervoso efetuando uma compressão ou invasão local, com localização única ou no âmbito de um quadro generalizado e pode ocorrer em cães de meia idade ou idosos (FERNANDES; BERNARDINI, 2010; MARCASSO et al., 2015).

A classificação histológica das neoplasias no sistema nervoso são: neuroepiteliais, embrionárias ou mesenquimais. Os principais tumores encefálicos primários em cães incluem meningiomas, gliomas (astrocitomas, oligodendrogliomas e ependimomas) e tumores neuroepiteliais (SNYDER et al, 2008; DA COSTA; MOORE, 2010; FERNANDES; BERNARDINI, 2010; MARCASSO et al., 2015). Na maioria das vezes, são intracranianos, geralmente rostrais ao tentório, na convexidade dos hemisférios ou ligados à dura-máter, disposta entre os dois hemisférios cerebrais (FERNANDES; BERNARDINI, 2010).

As neoplasias de medula espinhal podem ter tumores similares aos do encéfalo, mas sua ocorrência varia, sendo classificados em: extramedulares, intradurais-extramedulares e intramedulares de acordo com sua localização. As extramedulares são mais frequentes, incluindo as metástases e as neoformações primárias que recobrem o revestimento dural (osteossarcomas) (FERNANDES; BERNARDINI, 2010).

A manifestação clínica está mais dependente da localização do que da natureza da lesão (FERNANDES; BERNARDINI, 2010; MARCASSO et al., 2015). No sistema

nervoso não é incomum a apresentação aguda ou subaguda, que está relacionada com o crescimento do tumor que pode provocar uma variação imprevista da pressão intracraniana (FERNANDES; BERNARDINI, 2010; SANTOS et al., 2012).

A localização das neoplasias intracranianas ou medulares pode ser obtida através da tomografia computadorizada (TC) e ressonância magnética (RM), que são os exames de imagem mais realizados para investigação clínica, porém o exame histopatológico garante o diagnóstico definitivo (DA COSTA; MOORE 2010).

2.2.4 Traumas cranianos e medulares

As lesões traumáticas em cães geralmente são resultado de atropelamentos, quedas, briga com outros animais ou maus-tratos causados por humanos (MCGAVIN; ZACHARY, 2009). O diagnóstico de um paciente traumatizado dependerá do dano causado e de todos os efeitos patogênicos secundários a ele, alguns que são produzidos pelo próprio organismo para poder compensar o déficit (BAGLEY et al., 1999; FERNANDES; BERNARDINI, 2010).

Os traumas cranianos e medulares se classificam em lesões primárias ou secundárias, sendo que as primárias aparecem no momento da ocorrência da lesão e as secundárias podem aparecer minutos a dias após o trauma, por conta de modificações locais intracelulares e extracelulares, relacionadas a lesões sistêmicas como hemorragia, hipóxia e outras decorrentes do trauma (LECOUTEUR, 1998).

Os sinais clínicos dos animais com trauma no crânio ou na coluna vertebral podem causar consequências no encéfalo ou medula espinhal, respectivamente. Contudo, quando as lesões afetarem o encéfalo, os sinais clínicos podem ser falta de consciência, seguida por recuperação ou agravamento, com depressão e comportamentos anormais e quanto aos sinais clínicos associados com lesões na medula espinhal, dependerão da severidade do dano e da evolução clínica, um deles é a paralisia que pode ser o resultado de rompimento de medula ou disco e sinais clínicos de paresia e ataxia são consequências de lesões menos graves (MCGAVIN; ZACHARY, 2009; ZACHARY, 2009).

As lesões traumáticas no cérebro mais frequentes são concussão, contusão, lesão compressiva e hemorragia. Na medula espinhal, as lesões mais frequentes são consequências de fraturas vertebrais, luxações vertebrais, hérnias discais, hemorragias epidurais e subdurais. No sistema nervoso periférico, em um nervo ou mais que são próximos entre si, o trauma pode comprometer uma rede neuronal, da qual se derivam

vários nervos (MCGAVIN; ZACHARY, 2009; FERNANDES; BERNARDINI, 2010) e as alterações histológicas são as hemorragias.

Para o diagnóstico clínico de traumatismo craniano e/ou vertebral, recomenda-se realizar radiografias do crânio e de toda coluna vertebral e não somente no local que houve a lesão (FERNANDES; BERNARDINI, 2010).

2.2.5 Doenças inflamatórias do SNC

As enfermidades inflamatórias em cães podem ser de origem infecciosa ou idiopática, acometem indivíduos de qualquer idade, principalmente filhotes. O curso clínico das enfermidades inflamatórias pode ser agudo ou subagudo e podem acometer o encéfalo, medula espinhal e meninges (FERNANDES; BERNARDINI, 2010). Os diagnósticos de enfermidades inflamatórias idiopáticas em cães têm sido divididos em: leucoencefalite necrosante do Yorkshire (LEN), meningoencefalite necrosante (MEN) e meningoencefalite granulomatosa (MEG). Para distinguir estas doenças é muito importante caracterizar a raça do indivíduo afetado, assim como sua localização neuroanatômica e as características histopatológicas relacionadas à necrose e inflamação (TIPOLD, 1995; PARK et al., 2012).

As doenças inflamatórias não infecciosas idiopáticas podem ser investigadas através do histórico do paciente, predisposição da raça, exames clínicos, laboratoriais e de imagem e estas, devem ser diferenciadas de doenças infecciosas, anomalias genéticas, metabólicas, enfermidades idiopáticas, neoplasias e intoxicação (CHERUBINI et al., 2006; TAYLOR, 2010), preconiza-se fazer a histopatologia para o diagnóstico confirmatório (TIPOLD, 1995). Sendo assim, o clínico deve ser capaz de explicar todas as anormalidades neurológicas detectadas com base em uma única lesão (TAYLOR, 2010).

A grande variedade de meningoencefalomielites é de etiologia desconhecida e a maioria delas são mencionadas em publicações de relatos de caso (TIPOLD, 1995; TAYLOR, 2010). Estudos sistemáticos já foram realizados sem sucesso, para definir possíveis causas e resultaram na hipótese de que essas doenças apresentam mecanismo imunomediado ou hereditário. Contudo, as avaliações da eficácia do tratamento são, portanto, quase sempre baseadas somente em um diagnóstico presumível (TAYLOR, 2010).

2.2.5.1 Leucoencefalite Necrosante do Yorkshire (LEN)

A etiopatogenia da encefalite necrosante é desconhecida e atinge cães da raça Yorkshire de ambos os sexos, adultos e idosos e seu diagnóstico definitivo é baseado nas lesões macroscópicas e histológicas (KOBAYASHI et al., 1994). Macroscopicamente, observa-se lesões de tonalidade marrom na *corona radiata* do cérebro ou no tronco encefálico e histologicamente, notam-se áreas de malácia, com grande quantidade de células inflamatórias não supurativas (KOBAYASHI et al., 1994; FERNANDES; BERNARDINI, 2010).

Esta doença inflamatória de caráter necrosante, com etiologia ainda desconhecida, foi primeiramente descrita em cães da raça Pug, como a encefalite do cão Pug, atingindo substância cinzenta e branca (KOBAYASHI et al., 1994; BELTRAN; OLLIVET, 2000). Em contrapartida, em outras raças como Yorkshire Terrier, Chihuahua e Shih Tzu, a área da lesão histológica é mais observada na substância branca do encéfalo (DE LAHUNTA; GLASS, 2009).

O prognóstico dessas encefalites é classificado como desfavorável e a terapia indicada é imunossupressora agressiva, mas dependerá do quadro clínico e a evolução dos sinais neurológicos. Os principais sinais podem incluir: convulsões, dor cervical, andar em círculos, andar compulsivo e déficits visuais, com início agudo que pode progredir para a morte em questão de dias a meses (KOBAYASHI et al., 1994; FERNANDES; BERNARDINI, 2010).

2.2.5.2 Meningoencefalite Necrosante (MEN)

Relacionada intimamente à encefalite do cão Pug (ECP) devido às suas semelhanças, bem como à leucoencefalite necrosante (LEN), a doença tem um caráter necrótico único (VIOLIN et al., 2008).

Histologicamente, na MEN, observa-se meningoencefalite não-supurativa, caracterizada principalmente, por sua natureza necrosante, pela presença de manguitos perivascularares, microgliose, neuronofagia e evidência de intensa lesão neuronal, representado pelos neurônios fantasmas, envolvendo substância cinzenta do córtex (CORDY; HOLLIDAY, 1989, KOBAYASHI et al., 1994). Além de malácia, alterações e lesões inflamatórias são mais evidentes no córtex cerebral, hipocampo e tálamo (PARK et al., 2012). O tipo de lesão histológica se assemelha a LEN, distinguindo-se pela

localização preferencial das lesões e a não ocorrência na substância cinzenta do córtex cerebral (SCHATZBERG et al., 2005).

As manifestações clínicas são caracterizadas por crises convulsivas, andar compulsivo, ataxia e alterações comportamentais ligadas ao prosencéfalo (CORDY; HOLLIDAY, 1989). De acordo com Park et al., (2012), a doença é constituída por três fases caracterizadas histopatologicamente, são elas: aguda, subaguda e crônica. Na fase aguda há regiões de leve infiltração celular inflamatória, na subaguda observam-se alterações de malácia moderada e reações inflamatórias intensas, já na fase crônica, a extensa malácia é predominante com área de infiltração leptomenígea e as reações inflamatórias avançam continuamente ao longo da progressão da doença.

2.2.5.3 Meningoencefalite Granulomatosa (MEG)

A MEG é uma doença infrequente do sistema nervoso central de cães que pode ocorrer em cães de qualquer raça, com idade entre seis meses e doze anos e é mais visto em fêmeas (MAXIE; YOUSSEF, 2016). É uma doença inflamatória não infecciosa do sistema nervoso central (SNC) definida por lesões não supurativas com células mononucleares envolvendo o encéfalo, meninges e medula espinhal (CORDY, 1979; THOMAS, 1989; TAYLOR, 2010).

Essa doença possui um início agudo, progressivo com sinais de doença multifocal, podendo levar a óbito se não for tratado adequadamente (THOMAS, 1989; SCHATZBERG et al., 2010). A causa é desconhecida, as lesões encontradas no sistema nervoso central produzem quadros de disfunção vestibular com sinais clínicos de paresia de membros, convulsões e mudanças de comportamento com uma grande variedade de alterações neurológicas (TAYLOR, 2010; MAXIE; YOUSSEF, 2016).

As lesões são caracteristicamente angiocêntricas ou lesões granulomatosas nodulares (PARK et al., 2012). O infiltrado inflamatório é constituído principalmente por macrófagos, com linfócitos, monócitos, plasmócitos e menor número de neutrófilos e células gigantes multinucleadas, geralmente observados no prosencéfalo, tronco cerebral, cerebelo, medula oblonga, e medula espinhal (CORDY, 1979; TIPOLD, 1995; KIPAR et al., 1998; TAYLOR, 2010; PARK et al., 2012; MAXIE; YOUSSEF, 2016).

Clinicamente, existem três formas distintas de MEG e os sinais clínicos refletem a localização e a natureza da lesão (TIPOLD, 1995; TAYLOR, 2010). A forma focal gera sinais clínicos sugestivos de uma única massa crescente, com sinais neurológicos

lentamente progressivos compatíveis com um tumor e uma única lesão granulomatosa é observada em exames de imagem (TAYLOR, 2010). A forma disseminada de MEG causa manifestações rapidamente progressivas de doença multifocal ou localmente extensiva, se apresenta de forma aguda e pode ser fatal sem o tratamento (SCHATZBERG; TAYLOR, 2010). A forma ocular é a menos comum, caracterizada clinicamente por cegueira e pupilas não responsivas dilatadas em decorrência de lesão de neurite óptica e os cães com esta forma da doença podem progressivamente desenvolver a forma disseminada (SCHATZBERG, et al., 2010).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local

A reavaliação dos registros de necropsias (4.991 casos) e coleta de dados foram feitos no Setor de Anatomia Patológica, localizado no Anexo I do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, BR-465, Km 7, Seropédica, RJ.

3.2 Espécie estudada

O estudo foi baseado na reavaliação de todos os casos diagnosticados no SAP/UFRRJ através da leitura dos históricos, laudos de necropsias e lâminas histológicas provenientes de cães com história clínica de sinais neurológicos, entre janeiro de 1949 a dezembro de 2019.

3.3 Período

Os casos de cães necropsiados com histórico de manifestações nervosas entre os anos de janeiro de 1949 a dezembro de 2019 (71 anos), foram revisados, estudados e agrupados de acordo com o diagnóstico obtido.

3.4. Levantamento dos Casos e Reavaliação das Lâminas do Setor de Anatomia Patológica (SAP/UFRRJ)

Os laudos de necropsia e as informações foram obtidas nos livros de diagnóstico do SAP e casos de cães com histórico de manifestações nervosas foram reavaliados com relação aos seguintes parâmetros: histórico, lesões macroscópicas, lesões histológicas e exames complementares.

Cada ficha foi revisada, os blocos disponíveis foram localizados e produzidas novas lâminas histológicas e estas, reavaliadas. Os diagnósticos foram inicialmente considerados como conclusivos ou inconclusivos. Os diagnósticos conclusivos foram agrupados em diferentes categorias de acordo com sua natureza etiológica: doenças infecciosas, lesões causadas por agentes físicos (traumas), neoplasias, distúrbios do desenvolvimento, outros distúrbios e intoxicações. Amostras de vários órgãos foram

coletadas, fixadas em formalina tamponada a 10% e processadas de acordo com a técnica histológica de rotina.

O exame imuno-histoquímico foi realizado em amostras de um caso de neuroblastoma periférico pouco diferenciado com localização toracolombar. Através da avaliação imuno-histoquímica, testando-se os anticorpos primários: anti-CD56, anti-sinafifisina, anti-GFAP (marcadores de células gliais), anti-cromogranina (marcador das células cromafins da Adrenal) e anti-Olig2 (marcador para oligodendroglioma e glioblastoma), conforme descrito por Marcasso et al., (2015). Os cortes histológicos em lâminas previamente silanizadas foram desparafinizados e submetidos à recuperação antigênica pelo calor. Posteriormente seguiu-se o bloqueio da peroxidase endógena e incubação com os anticorpos primários. Em seguida, procedeu-se a incubação com anticorpo secundário pelo método do polímero durante 20 minutos em temperatura ambiente e revelação com a solução cromógena. Seguiu-se a contra-coloração com hematoxilina de Harris e montagem da lâmina. Controles positivos e negativos de cães foram utilizados em todas as reações de acordo com as recomendações do fabricante.

Os casos de raiva canina foram diagnosticados pela técnica histoquímica de Faraco com tecido fresco. A correlação entre a incidência por ano e cães raivosos foi determinada pela correlação de coeficiente de Pearson. Os casos espaço-temporais da raiva canina foram analisados e gerados mapas com a utilização do software ArcGISTM v. 10.6.1 licenciado para o Laboratório de Pesquisas Hidrogeológicas da Universidade Federal do Paraná (LPH / UFPR)

Foram selecionados oito casos mais recentes de cinomose para avaliar a distribuição anatômica das lesões. Sendo assim, em 3 casos com suspeita de cinomose realizaram-se exames como reação em cadeia da polimerase (PCR) (AMUDE et al., 2007) e em outros 2 cães realizaram-se exame sorológico para detecção de antígenos virais para diagnóstico de cinomose através de teste com kits rápidos (imunocromatográficos) (TIPOLD, 1995; BRAZ, 2009).

4. RESULTADOS

Durante o período de 71 anos (1949-2019), das 4.991 necropsias realizadas em cães no Setor de Anatomia Patológica da UFRRJ (SAP/UFRRJ), 621 apresentaram histórico de sinais neurológicos compreendendo 12,4% das necropsias desse período. A faixa etária dos cães deste estudo variou de 2 meses a 18 anos com a maior prevalência de alterações clínicas neurológicas em animais adultos, de mais de um ano de idade, totalizando 39,4% (245/621) dos casos e em 58% (376/621) não havia dados com relação a idade, sexo e raça (Figura 1).

Em 88,6% (546/621) dos casos, foi possível estabelecer diagnóstico definitivo e 14% (87/577) eram inconclusivos. Além disso, todos os animais submetidos à necropsia passaram pelo exame histopatológico e as etapas do diagnóstico realizadas no SAP/UFRRJ, estão descritas no fluxograma da Figura 2. As enfermidades do sistema nervoso central diagnosticadas no SAP/UFRRJ e o número de casos registrados, encontram-se dispostos na Tabela 1.

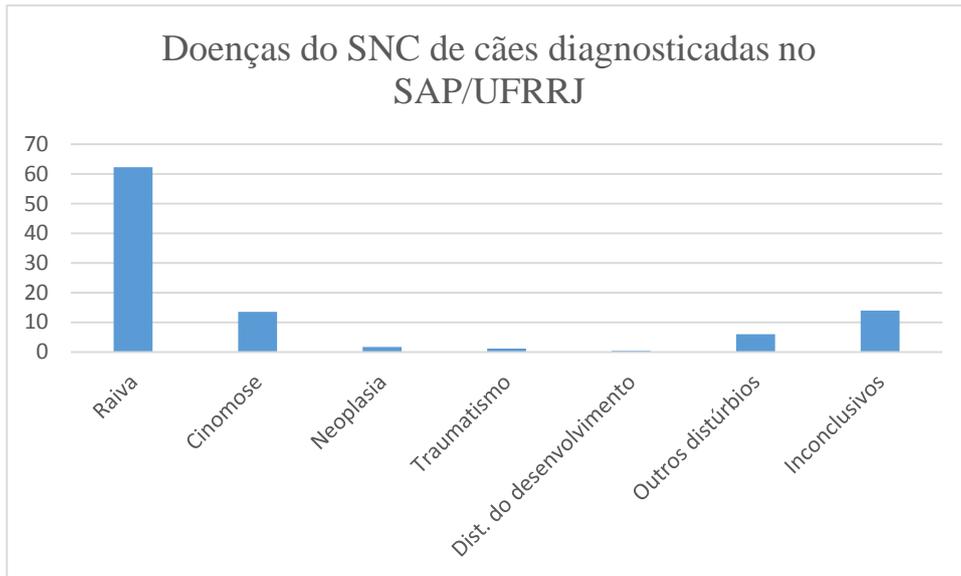


Figura 1: Principais diagnósticos de distúrbios do SNC de cães diagnosticadas no Setor de Anatomia Patológica da UFRRJ.

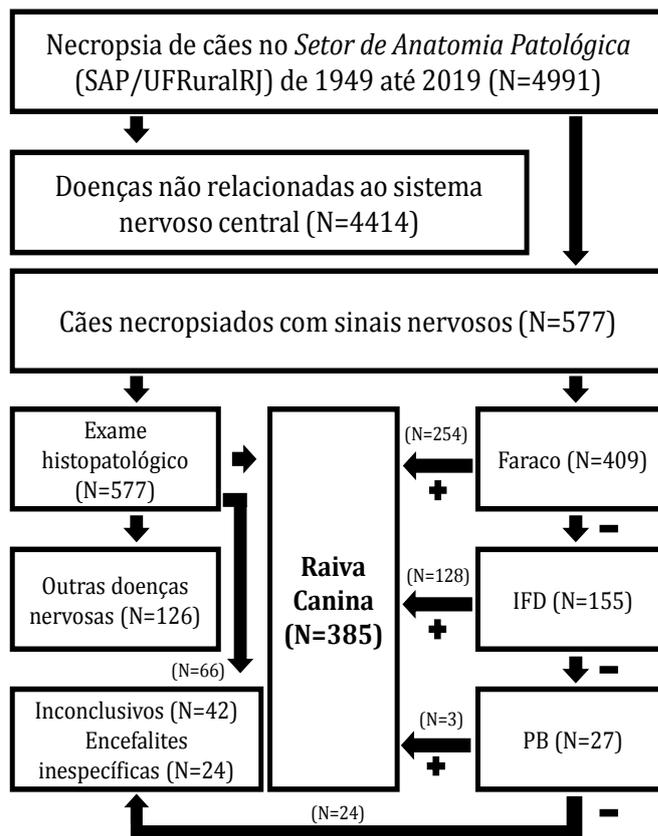


Figura 2. Fluxograma das etapas para o diagnóstico de raiva canina no SAP/UFRRJ

Tabela1. Doenças do sistema nervoso central em cães no Setor de Anatomia Patológica da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (1949-2019)

Categorias/Doenças/Distúrbios		Casos	%
Infecciosas	Raiva	385	62,3
	Cinomose	84	13,5
Distúrbios causados por agentes físicos	Traumatismo espinomedular	5	0,8%
	Traumatismo cranioencefálico	2	0,3%
Neoplasias	Neuroblastoma	1	0,1%
	Oligodendroglioma	1	0,1%
	Ependimoma	1	0,1%
	Astrocitoma	5	0,8%
	Linfoma multicêntrico	1	0,1%
	Mieloma múltiplo com compressão medular	1	0,1%
	Meningioma encefálico	2	0,3%
	Meningioma de cauda equina	1	0,1%
	Adenoma de <i>pars distalis</i> da pituitária	1	0,1%
Distúrbios do desenvolvimento	Hidrocefalia	3	0,4%
Outros Distúrbios	Leucoencefalite necrosante	2	0,3%
	Meningoencefalite necrosante	1	0,1%
	Meningoencefalite granulomatosa	1	0,1%
	Meningoencefalite linfoplasmocítica	32	5,1%
	Doença do Disco Intervertebral	3	0,4%
	Infarto hemorrágico	1	0,1%
Tóxicas	Intoxicação por estricnina	1	0,1%
Inconclusivos		87	14%
Total		621	100%

4.2 Doenças infecciosas

As doenças infecciosas 469/621, representaram 75,5% das doenças do SNC de cães e todas eram de etiologia viral: 385/621 casos de raiva e 84/621 casos de cinomose.

A maioria dos diagnósticos foi de raiva, 62,3% (385/621), nos quais as fichas clínicas indicaram sinais neurológicos, agressividade ou apenas suspeita de raiva. Enfim, não foram observadas diferenças significativas em relação ao sexo, raça e idade nos cães raivosos pois havia predomínio de casos sem registros completos. Por outro lado, alterações macroscópicas encontradas nos cães com raiva não foram associadas com o quadro clínico e, portanto, foram consideradas como achados inespecíficos.

Os casos de raiva ocorreram no período entre 1949 a 1982 (Figura 3) e os métodos utilizados para o diagnóstico estão apresentados no fluxograma da Figura 2 e consistiram de: histoquímica de Faraco, Imunofluorescência Direta (IFD) e Inoculação Intracerebral em Camundongos (Prova Biológica) para os negativos na IFD (tabela 2).

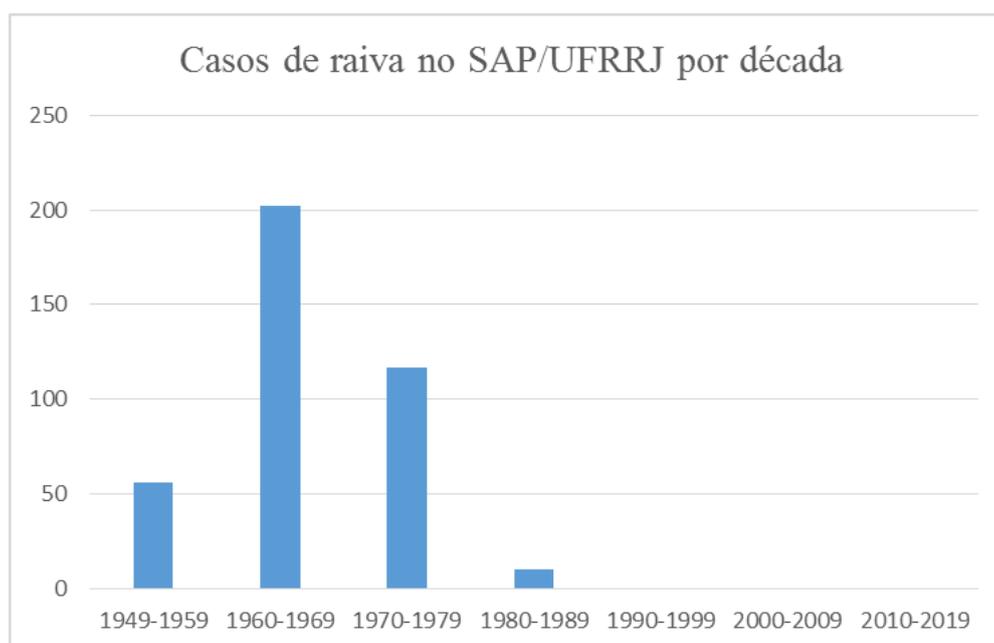


Figura 3: Diagnósticos de raiva no Setor de Anatomia Patológica/UFRRJ por década.

Tabela 2. Diagnóstico da frequência de positividade do Faraco DFA e prova biológica

Teste diagnóstico	Positivo/Testado
Faraco	254/409
DFA	128/155
BT	3/27

DFA = Teste Imunofluorescência direta, PB = Prova biológica

A distribuição de casos da raiva canina por estado foi: 77,7% (299/385) no estado do Rio de Janeiro, 2,6% (10/385) no estado de Minas Gerais e 1,6% (6/385) no estado de São Paulo, porém a origem de 70 cães raivosos não pôde ser estabelecida porque não haviam registros disponíveis. O município com maior número de casos foi Seropédica, no estado do Rio de Janeiro, com 38,7% (149/385) (Figura 4).

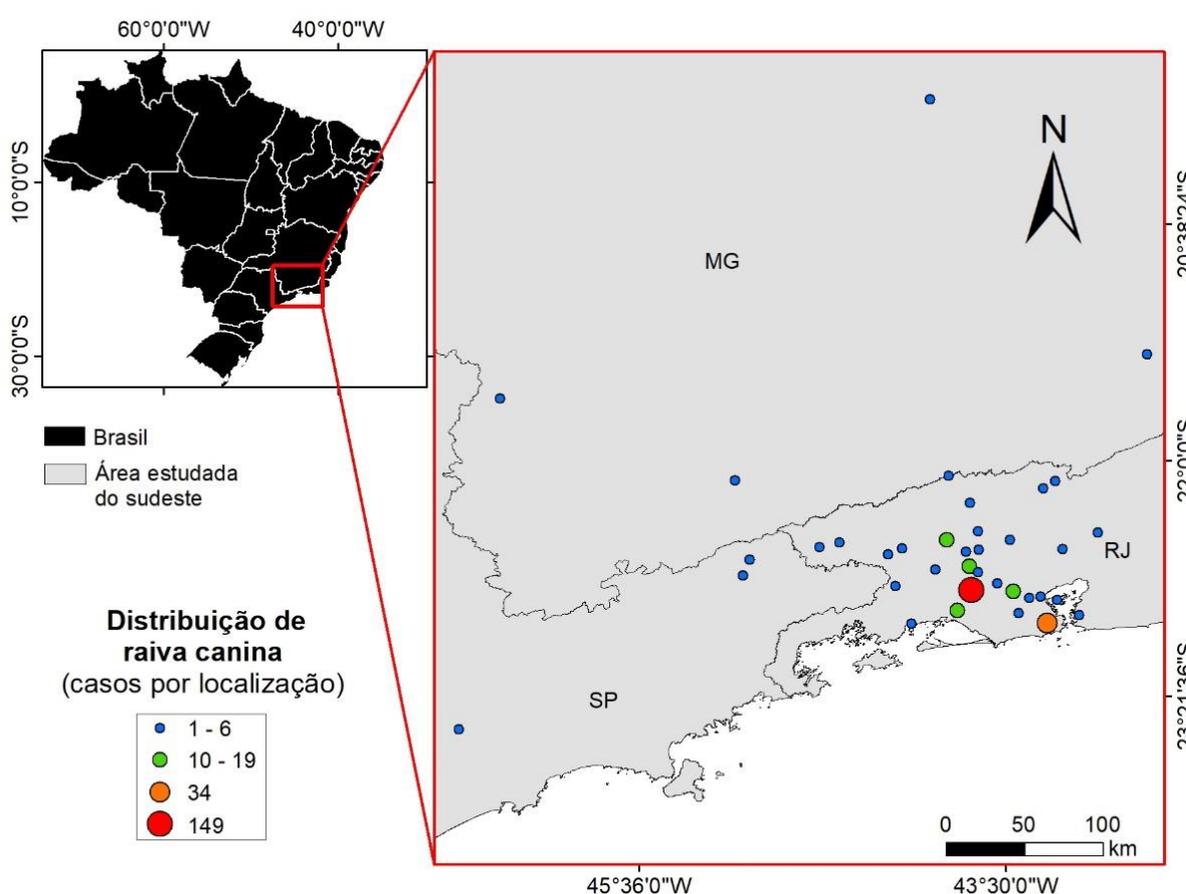


Figura 4. Frequência de casos de raiva canina diagnosticados na região sudeste do Brasil (1949-1982).

O exame da prevalência e incidência da raiva canina por intervalo de datas revela os seguintes padrões de distribuição para o sudeste do Brasil: 51 casos em 1949-1960, 240 em 1961-1970 e 94 em 1971-1982 (Figura 5). A correlação entre a incidência por ano e os cães raivosos pela correlação de coeficiente de Pearson determinou uma diminuição na incidência de raiva canina de 1949 a 2019, com uma correlação linear negativa ($r = -0,37$).

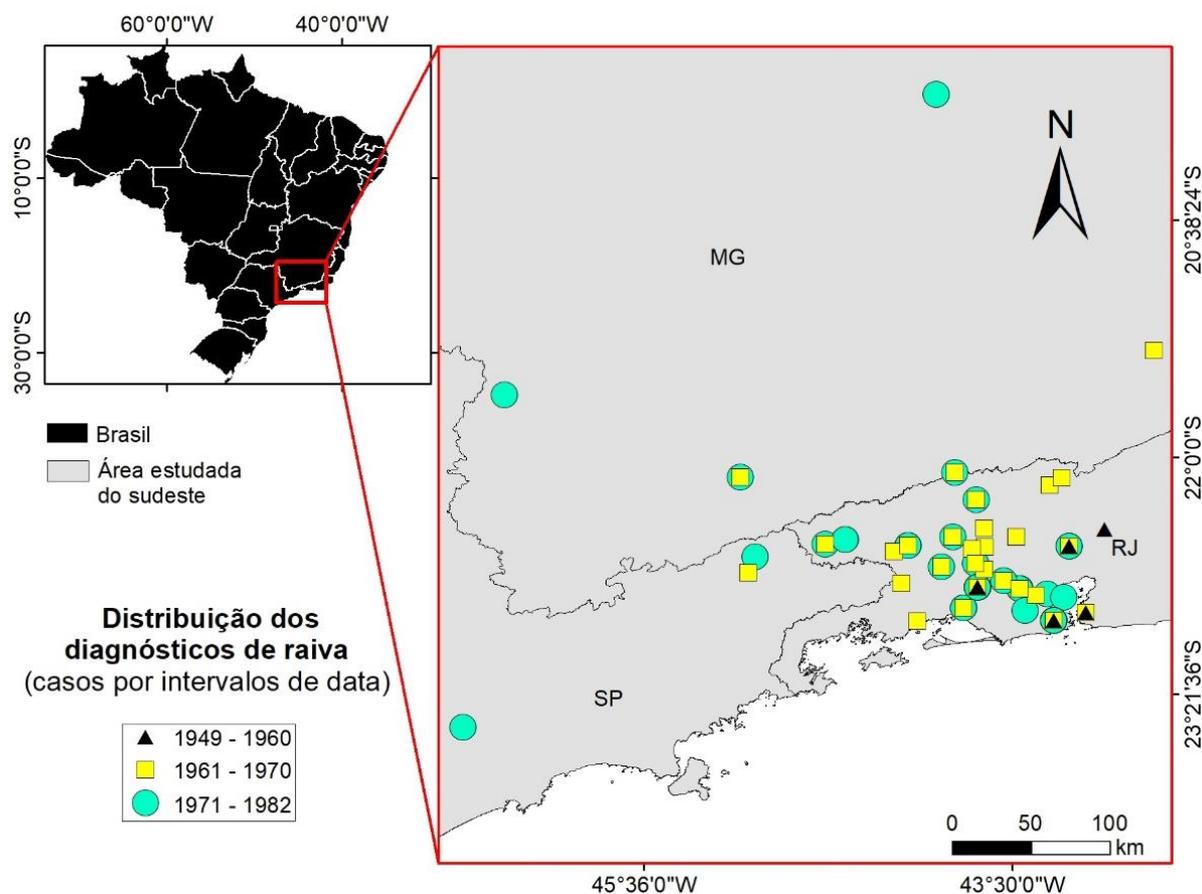


Figura 5. Distribuição espacial/temporal de raiva canina diagnosticada na região sudeste do Brasil (1949-1982).

Dos 84 casos de cinomose diagnosticados com acometimento nervoso, 70 apresentavam exclusivamente sinais neurológicos e destes, sete cães apresentaram sinais neurológicos associados a sinais respiratórios, três a digestórios, dois com lesões cutâneas e oculares e dois com linfonodomegalia.

Ademais, estabeleceu-se uma relação com a época do ano, no inverno houve maior ocorrência de casos de cinomose com 54,4% (45/84). Quanto à idade dos cães que tinham a ficha de dados completa, 14 eram adultos com idade variando entre três até 18 anos e

dois eram filhotes, um com 6 meses e outro com 8 meses. As lesões histopatológicas compatíveis com cinomose foram caracterizadas por vacuolização redonda a ovoide na substância branca do córtex e no cerebelo (desmielinização) associada ao infiltrado linfoplasmocítico e corpúsculos de inclusão. Em apenas um caso foi visto áreas de malácia e necrose com numerosos macrófagos em fagocitose de mielina (células *gitter*). Dos 84 casos de cinomose, em 70/85 casos (83,3%) havia desmielinização e infiltrado perivascular no encéfalo, 4/85 casos (4,7%) havia desmielinização e infiltrado perivascular na medula espinhal e 11/85 casos (12%) havia somente desmielinização ou somente infiltrado perivascular. Dos exames complementares, 3 casos foram diagnosticados através da PCR (AMUDE et al., 2007) e em 2 casos através do exame sorológico para detecção de antígenos virais. (TIPOLD, 1995; BRAZ, 2009).

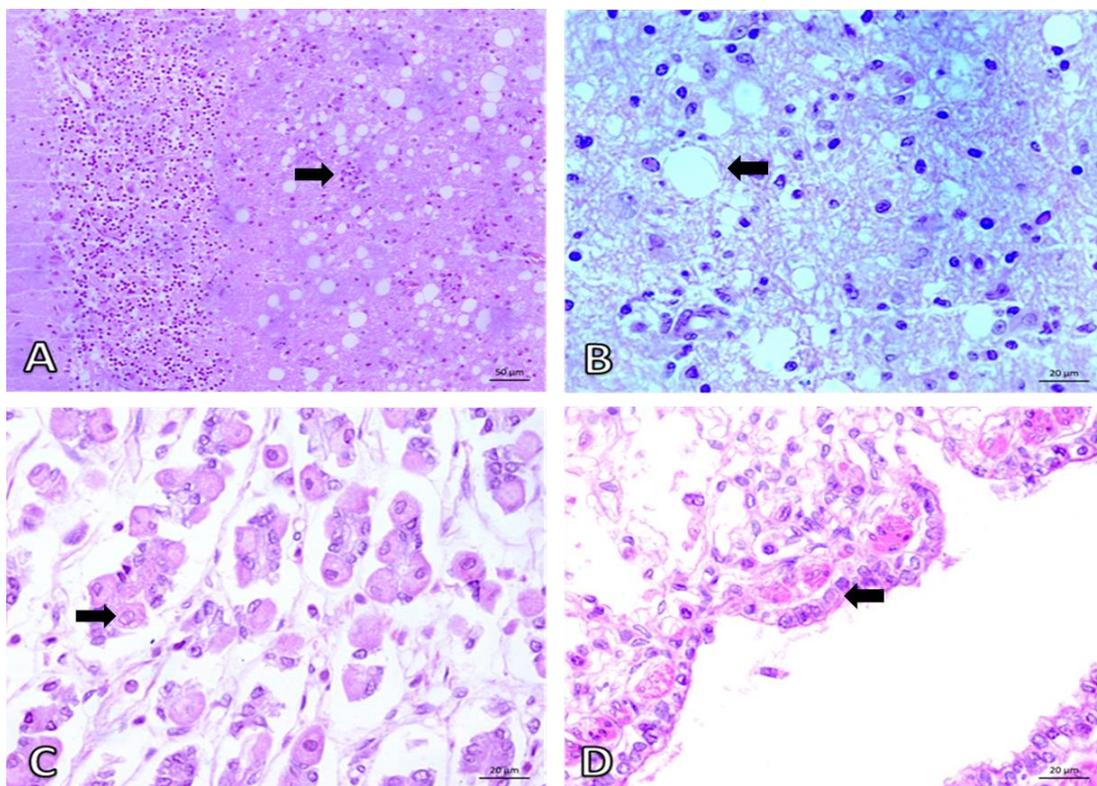


Figura 6. Cão. Cinomose. (A e B) Cerebelo com moderada desmielinização da substância branca e manguitos perivascular (seta preta). HE, obj.20x. (B) Desmielinização indicada pela seta preta. HE, obj.40x. (C) As estruturas esféricas anfófilas intranucleares (corpúsculo de inclusão viral) também foram visualizadas em células parietais do estômago (seta preta). HE, obj.63x. e (C) em células epiteliais de bronquíolos (seta preta). HE, obj.63x.

Através da clivagem sistemática de oito casos de cinomose foi possível avaliar a distribuição anatômica das lesões (Tabela 3).

Tabela 3. Características histopatológicas de oito casos de cinomose diagnosticados em cães no Setor de Anatomia Patológica da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (1949-2019).

Alterações Histopatológicas	Casos
Vacuolização de substância branca	8/8
Infiltrado inflamatório	8/8
Corpúsculo de inclusão	5/8
Malácia	1/8
Astrocitose	4/8
Astrócitos gemistócitos	2/8
Esferoides axonais	1/8
Câmara de digestão	2/8

4.5 Neoplasias

As neoplasias (Figuras 7-17) apresentaram 2% (13/577), sendo que 10/13 eram encefálicas e 3/13 medulares. A neoplasia cranial mais encontrada foi o astrocitoma (5/13), seguida pelo meningioma (2/13). Os astrocitomas eram anaplásicos (Figura 7) e os dois meningiomas encefálicos encontrados eram transicionais (Figura 8 e 9).

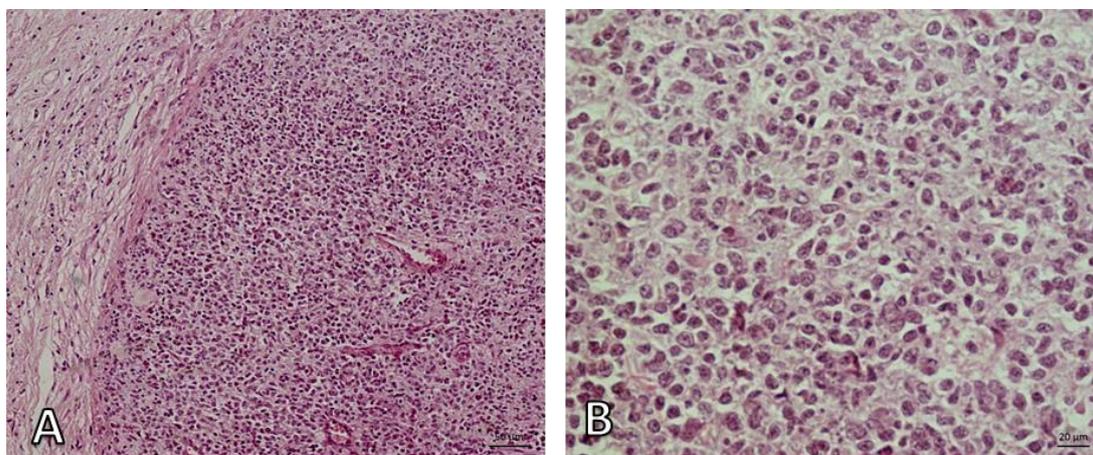


Figura 7. Astrocitomas. (A) Proliferação neoplásica expandindo a neuropila. HE, obj. 20x. (B) Astrócitos anaplásicos apresentando anisocitose, atipia nuclear e nucléolos múltiplos evidentes. HE, obj.63x.

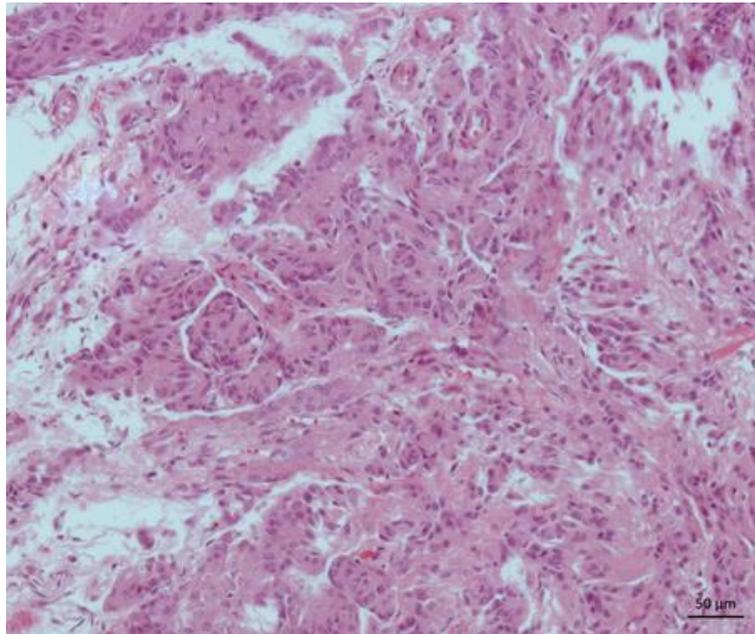


Figura 8. Cão. Meningioma transicional. Observam-se células fusiformes com limites celulares indistintos, arranjadas em formações espirais, com lóbulos bem demarcados. HE, obj.20x.

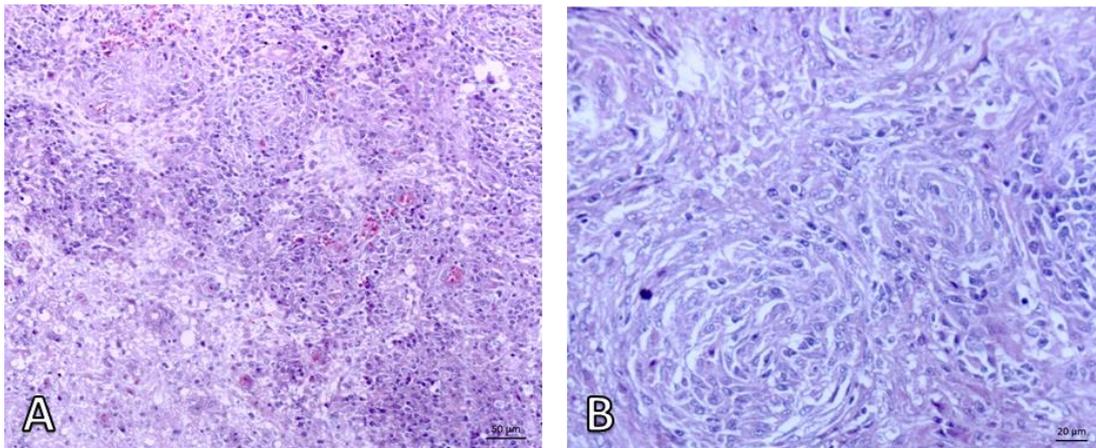


Figura 9. Cão. Meningioma transicional. HE, obj.20x. **(A)** As células neoplásicas dispostas predominantemente em arranjo concêntrico se delimitam em lóbulos por finos septos de tecido conjuntivo fibroso. HE, obj.20x. **(B)** As células neoplásicas apresentam pleomorfismo celular, anisocitose e anisocariose moderados.

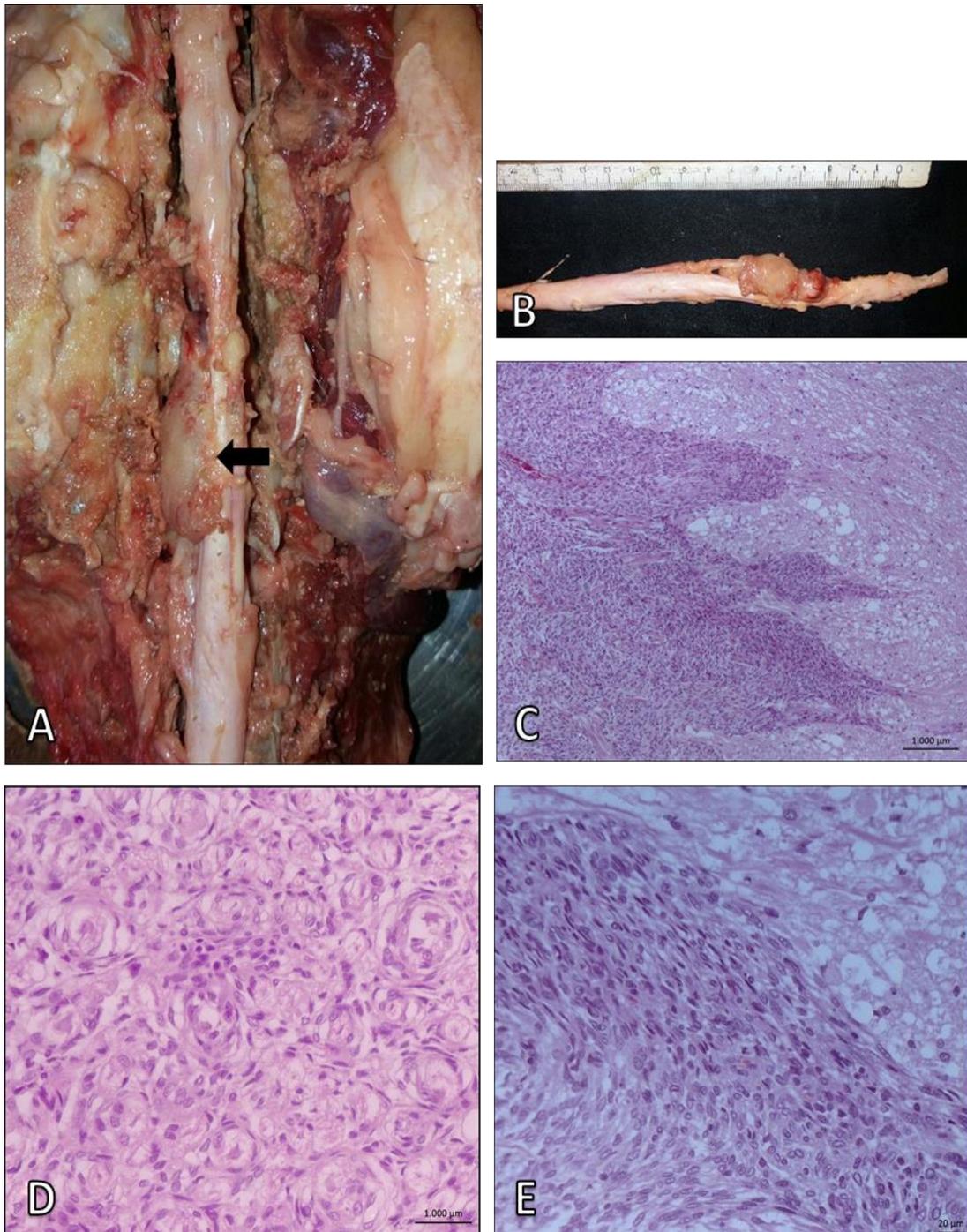


Figura 10. Cão. Meningioma de cauda equina. (A e B) segmentos da medula espinal lombo-sacral (entre L-7 e S1/2), com massa expansiva de 6,5x1,5x1cm, de superfície irregular, bem delimitada, esbranquiçada, maciça e macia aos cortes, que obliterava o canal medular (seta preta). (C) Infiltração e substituição por células neoplásicas na substância branca da medula espinal lombar. (D) As células neoplásicas se dividiam em lóbulos por finos septos de tecido conjuntivo fibroso, e encontravam-se dispostas majoritariamente em arranjo concêntrico. HE, obj. 20x. (E) As células neoplásicas apresentam pleomorfismo celular, anisocitose e anisocariose moderados.

Das neoplasias que fizeram invasão para o SNC, apenas um caso de linfoma multicêntrico foi registrado (1/14) (figura 11) e os outros casos (12/14) foram de neoplasias com origem no tecido nervoso. Outras neoplasias também foram registradas como mieloma múltiplo, ependimoma e oligodendroglioma com 1/14 cada (figuras 12, 13 e 14).

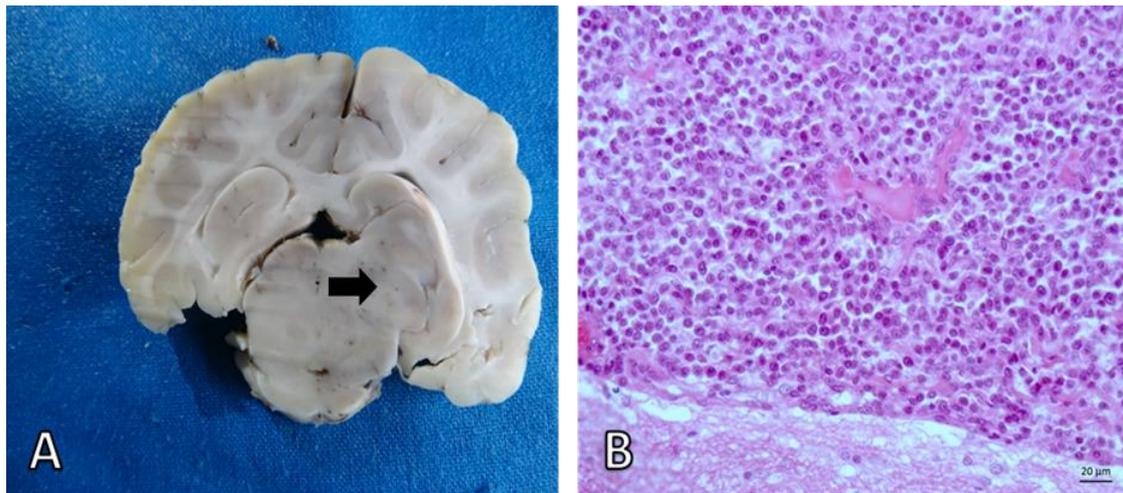


Figura 11. Cão. **Linfoma multicêntrico.** (A) Na porção do tálamo há uma proliferação dorso-lateral-esquerda que comprime a fímbria do hipocampo ipsilateral. (B) Proliferação difusa de linfócitos neoplásicos em padrão monomórfico. HE, obj.40x.

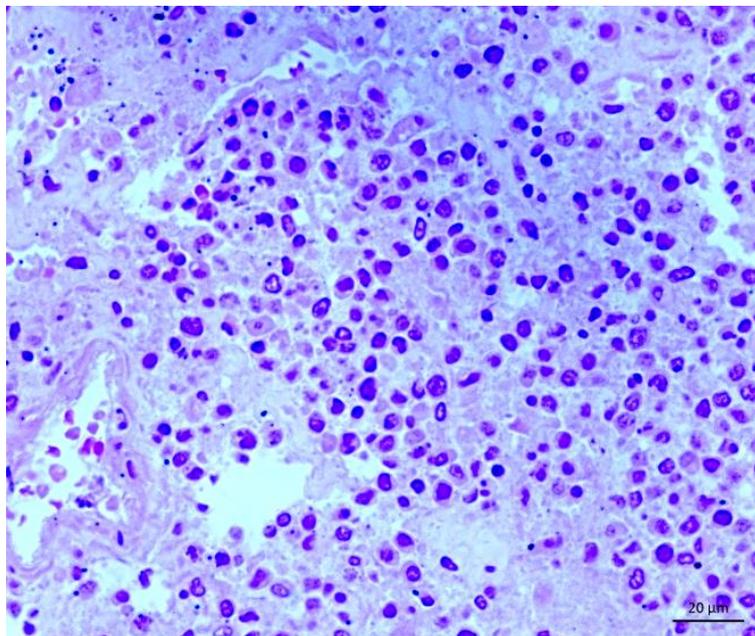


Figura 12. Cão. **Mieloma Múltiplo.** Presença de plasmócitos pleomórficos com núcleos arredondados e cromatina granular. HE, obj.63x.

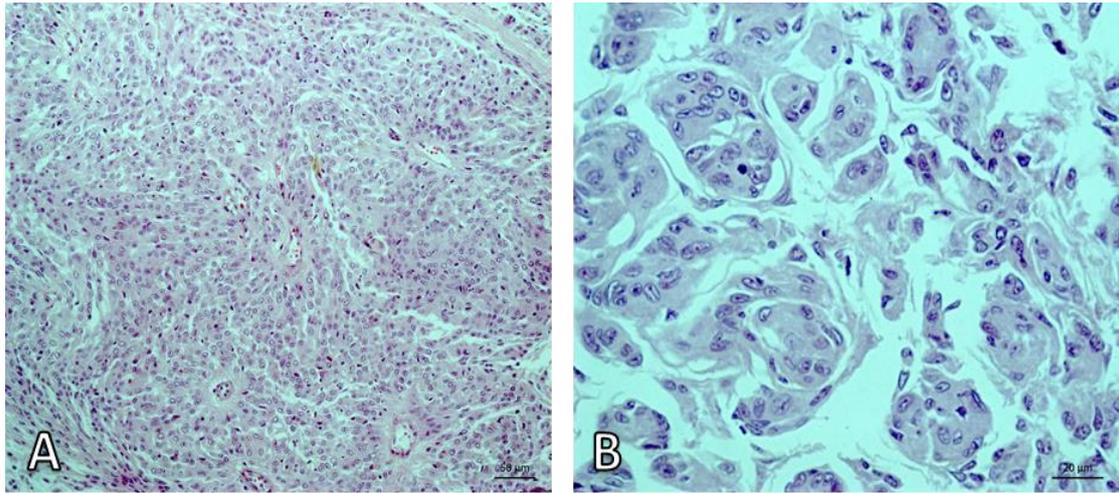


Figura 13. Cão. Ependimomas. (A e B) Observa-se proliferação epitelial ependimária em arranjo radial ao redor de vasos, aos quais lançam um prolongamento. Os núcleos ficam a certa distância do vaso, deixando um halo anucleado (róseo) perivascular (pseudorosetas perivasculares). HE, obj.20x. e obj.40x.

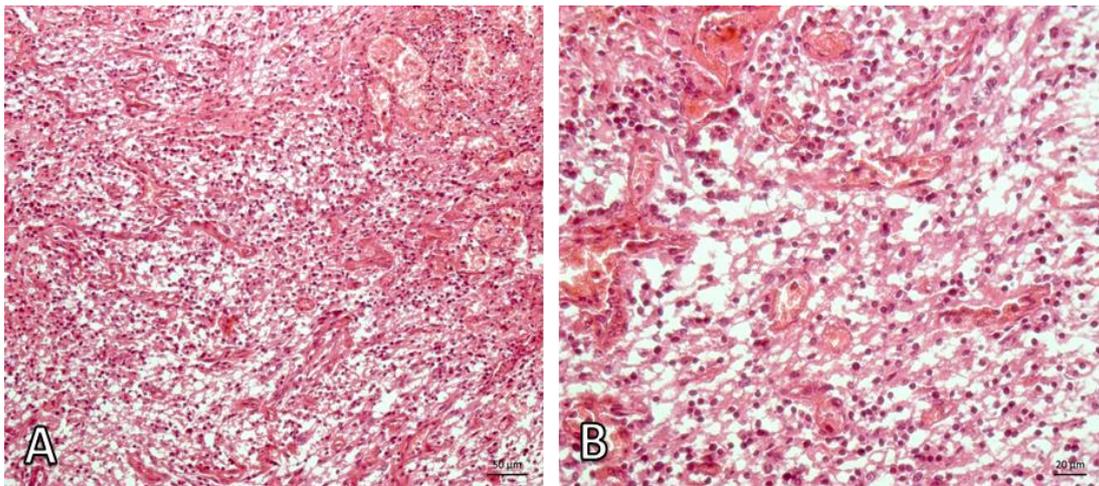


Figura 14. Cão. Oligodendroglioma. (A e B) Observa-se proliferação de astrócitos caracterizada por células uniformes, arredondadas e sem prolongamentos com vacúolos claros perinucleares. Os vasos são delicados e formam uma fina trama que divide o tumor em lóbulos. HE, obj.20x. e obj.40x.

Em relação à idade dos cães com neoplasia, havia registro de 4/13 casos, sendo estes todos adultos com idade acima de 4 anos. Bem como, o exame de imunohistoquímica em um canino com neuroblastoma revelou positividade para os marcadores anti-CD56, anti-sinafofisina, anti-GFAP (marcadores de células gliais), e negatividade para os marcadores anti-cromogranina (marcador das células cromafins da Adrenal) e anti-Olig2 (marcador para oligodendroglioma e glioblastoma) (Figura 15).

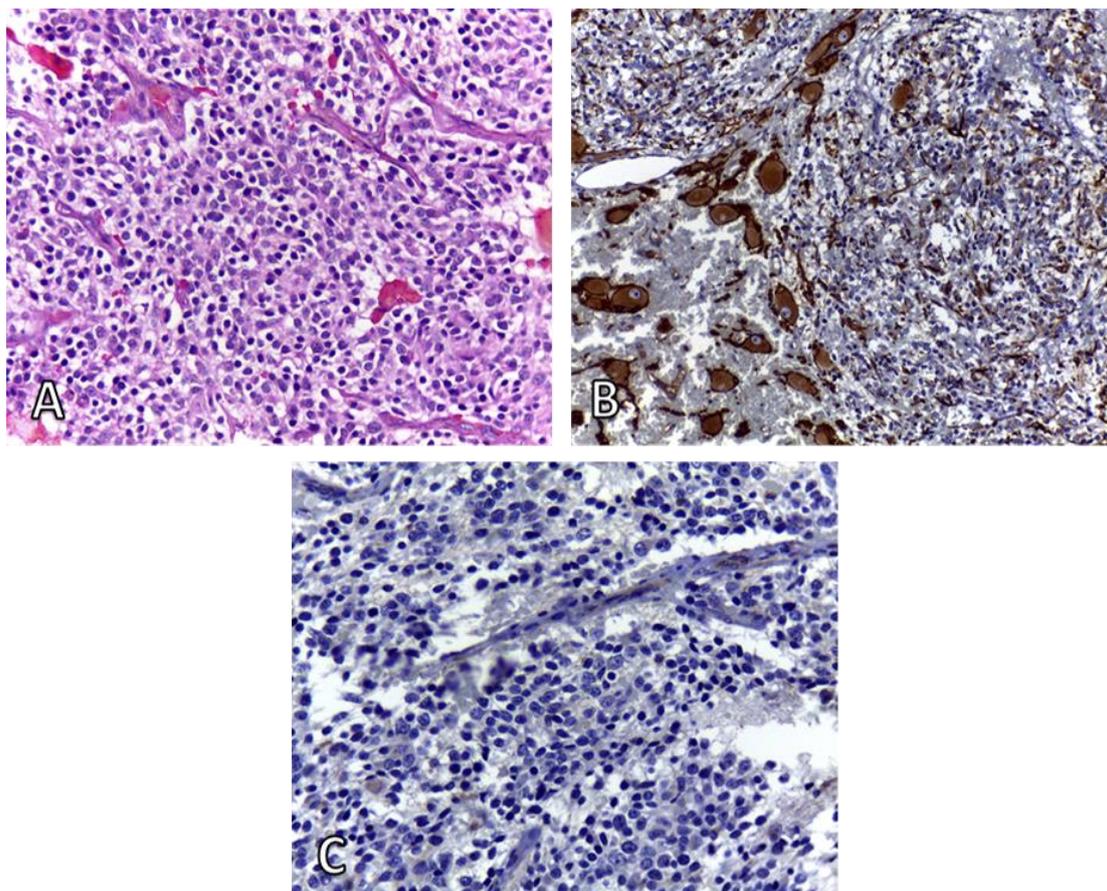


Figura 15. Cão. Neuroblastoma periférico. (A) Células neoplásicas neuroblásticas redondas, de limites moderadamente distintos, citoplasma escasso, dispostas em ninhos sustentados por fino estroma fibrovascular. HE; 40x. (B) Células marcadas em castanho com maturação neuronal em meio à população de neuroblastos GFAP, obj.20x]. (C) As células neoplásicas não apresentam imunorreatividade para Olig2, obj.40x.

4.6 Distúrbios causados por agentes físicos

Os traumas esqueléticos com consequências lesionais no sistema nervoso central somaram 1,1%, (7/621) dos casos. Bem como, os principais casos foram de traumas vertebrais com lesões espinomédulares com 0,8% (5/7), enquanto os traumatismos cranianos com lesões encefálicas associadas à morte representaram dois de um total de sete 0,3% (2/7). Além disso, todos os casos foram oriundos de atropelamento por veículo automotivo e dos traumatismos cranianos registrados, apenas um caso havia laceração do crânio com exposição do tecido cerebral (figura 16).



Figura 16. Traumatismo craniano. Área focal com hematoma extradural na região frontal-temporal.

4.7 Distúrbios do desenvolvimento

Neste estudo, apenas uma anomalia do desenvolvimento foi encontrada, a hidrocefalia congênita, com dilatação dos ventrículos laterais apresentando 0,4% (3/621) dos casos.

4.8 Outros distúrbios do sistema nervoso central (inflamatório não infeccioso, circulatório e degenerativo)

Nesta categoria, foram diagnosticados 6,7% (42/621) casos e destes 42 casos, os diagnósticos estabelecidos foram: doença do disco intervertebral com 3 casos (Figura 17), leucoencefalite necrosante do Yorkshire com 2 casos (Figura 19), meningoencefalite necrosante (Figura 20), meningoencefalite granulomatosa (Figura 21) com 1 caso cada e meningoencefalite linfoplasmocítica com 32 casos, um caso de infarto hemorrágico (Figura 18) e um caso de intoxicação por estricnina, sendo este confirmado pelo histórico clínico.

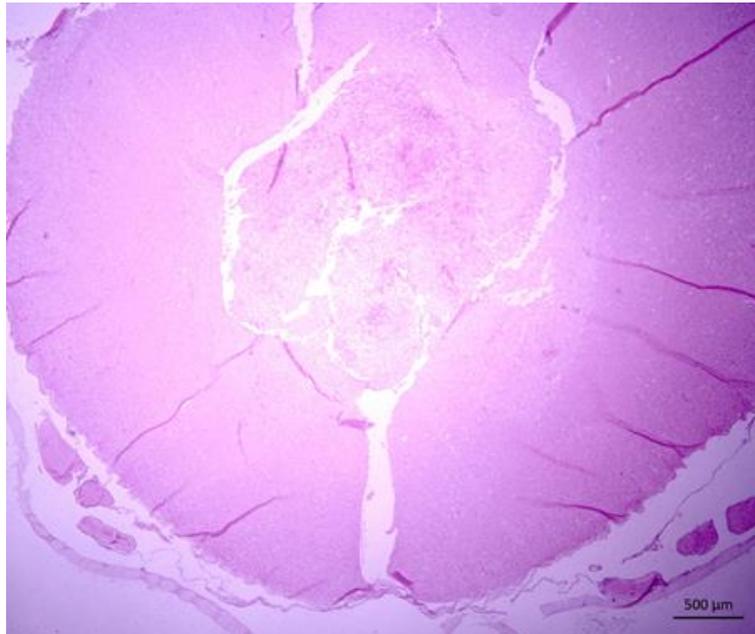


Figura 17. Cão. **Doença do disco intervertebral (DDIV).** Observa-se focalmente extensa na medula espinhal lombar com malácia e hemorragia na substância cinzenta. HE, obj.2,5x.

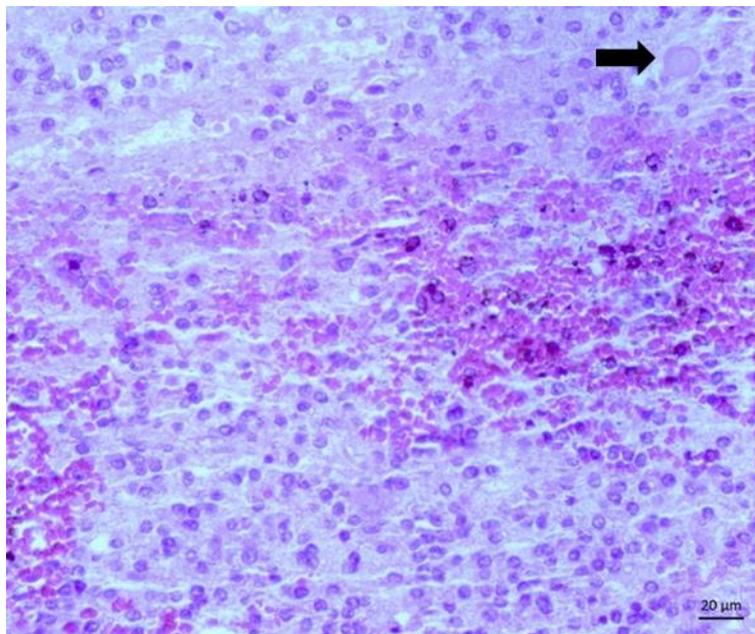


Figura 18. Cão. **Infarto Cerebral.** Na área de malácia há debris teciduais, esferoides axonais (seta), vacuolização da bainha de mielina e macrófagos. Observa-se hemorragia severa, proliferação endotelial vascular e severa proliferação de astrócitos, muitos dos quais apresentam-se com citoplasma eosinofílico e amplo e com pleomorfismo nuclear. HE, obj.40x.

A leucoencefalite necrosante do Yorkshire, foi observada em dois cães da raça Yorkshire, caracterizada por áreas de malácia e desmielinização em hipocampo, mesencéfalo, e região periventricular em substância branca (Figura 19).

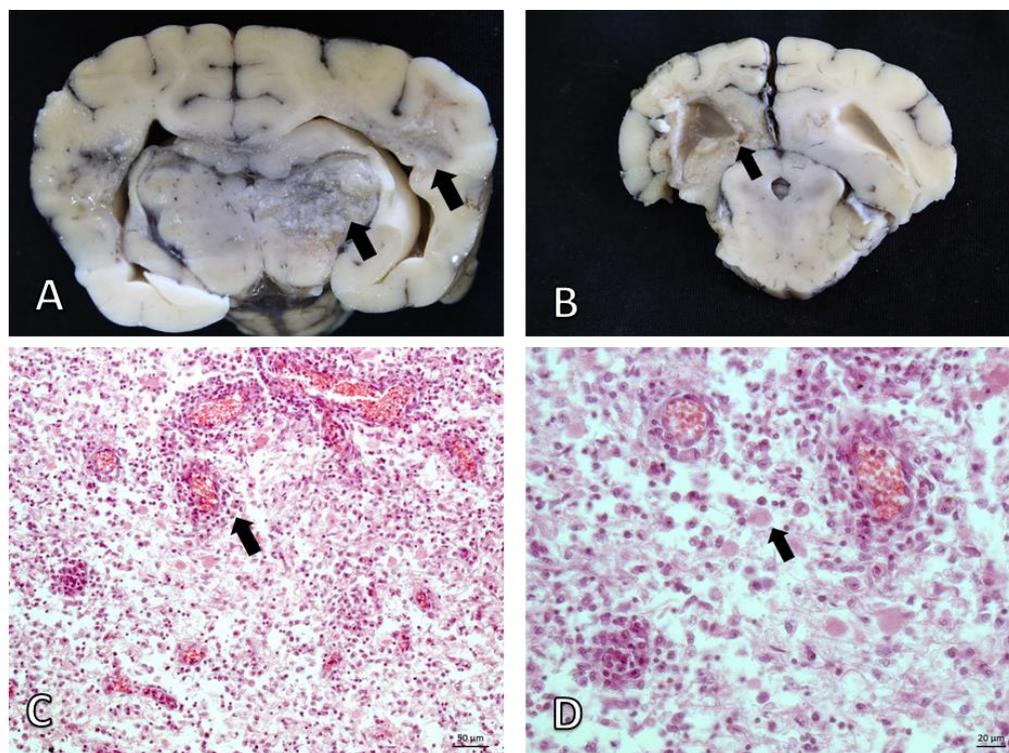


Figura 19. Leucoencefalite em canino da raça Yorkshire. (A e B) Assimetria do córtex telencefálico. Observa-se áreas de malácia na *corona radiata* do córtex parietal, temporal, região periventricular e tálamo em porção dorsal afetando os núcleos geniculados (setas pretas). (C) Cortex e hipocampo: substância branca com acentuada área de malácia (necrose), há intenso infiltrado linfocitário perivascular composto por linfócitos, plasmócitos e macrófagos (seta preta). A neuropila está moderadamente vacuolizada (edema localmente extensivo) com acentuada quantidade de astrócitos (astrocitose), moderada quantidade de macrófagos (*gitter cells*) e hiperemia. HE, obj.20x e (D) Proliferação de astrócitos gemistocíticos indicado pela seta preta (citoplasma eosinofílico grande e pleomórfico). HE, obj.40x.

A meningoencefalite necrosante (MEN) no presente estudo, foi encontrada em apenas um cão da raça Labrador, caracterizada por meningoencefalite não-suprativa, áreas de cavitação cerebral e na microscopia, perda de células do parênquima em certas regiões do córtex cerebral e principalmente, por sua natureza necrotizante, além de presença de manguitos perivasculares, microgliose, neuronofagia e predominância de intenso sofrimento neuronal, retratado pelos neurônios fantasmas, abrangendo substância cinzenta e branca do córtex (Figura 20).

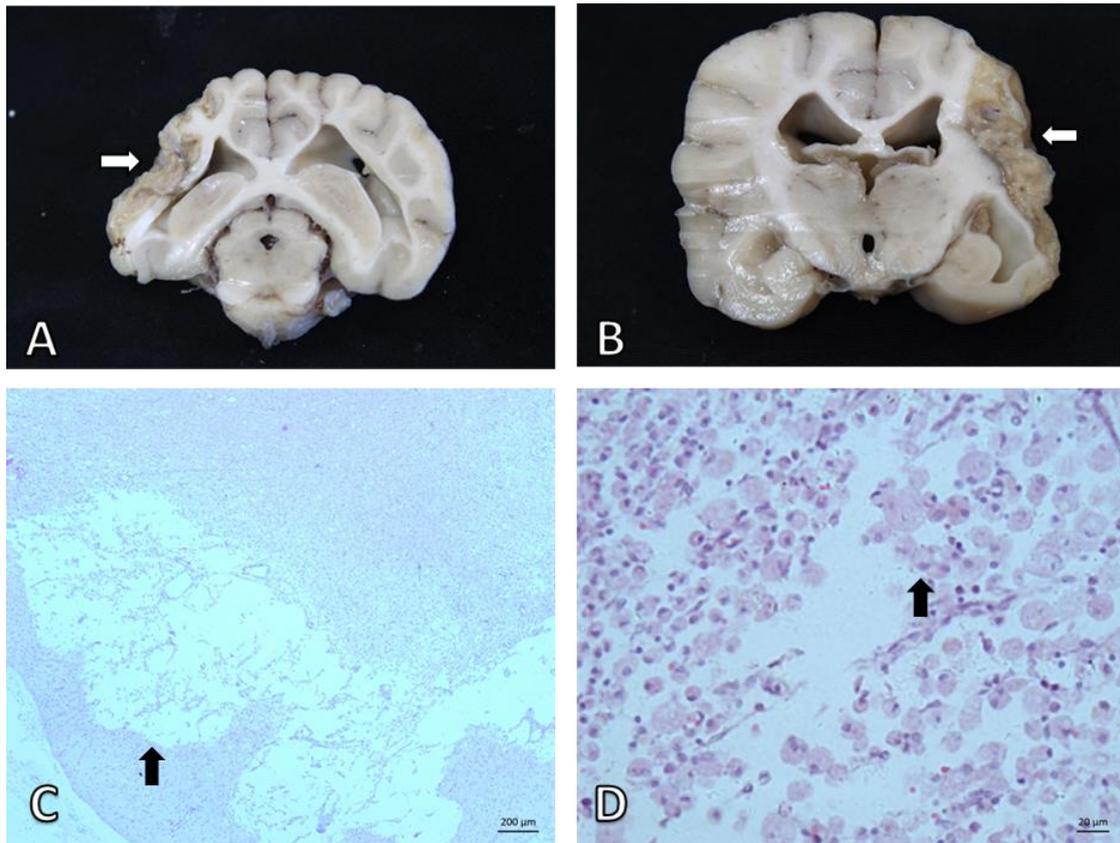


Figura 20. Cão. **Meningoencefalite necrosante.** (A e B) Extensas área de malácia no hemisfério telencefálico direito do encéfalo, envolvendo a porção ventral do córtex frontal, temporal e occipital, indicadas por seta branca. (C) acentuada área com vacúolos (seta preta) (D) A seta preta indica área de malácia (necrose), com acentuada quantidade de macrófagos (gitter cells) HE, obj.63x.

Na meningoencefalite granulomatosa registrada em um caso, observaram-se lesões granulomatosas nodulares/angiocêntricas compostas por macrófagos, células epitelioides, linfócitos, células plasmáticas e neutrófilos, localizadas principalmente no mesencéfalo e no tálamo e acometendo no cerebelo, medula oblonga e medula espinhal (Figura 21).

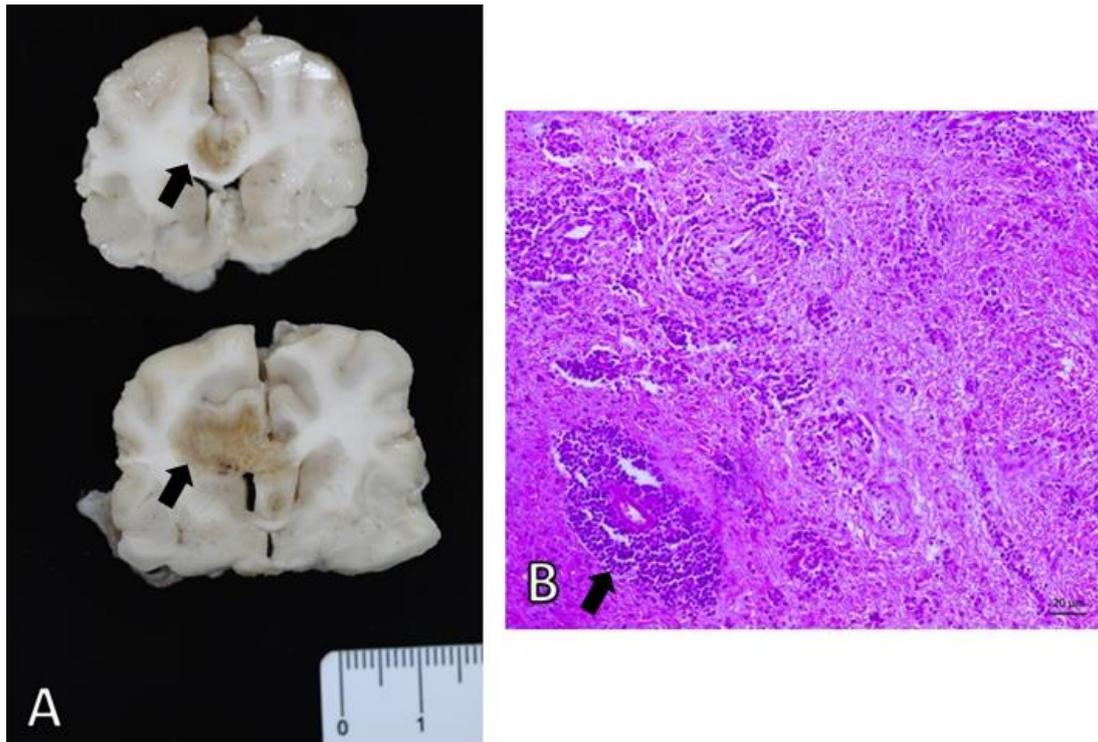


Figura 21. Cão. Meningoencefalite granulomatosa. (A) Áreas multifocais amarelas, bem delimitadas, que variam entre 0,8 a 0,1cm de diâmetro na região do giro do cíngulo, com característica expansiva da substância branca em direção a cinzenta. *(B)* Observa-se acentuado infiltrado perivascular histiocitário e linfoplasmocitário moderado. O infiltrado histiocitário comprime os manguitos e se estende por toda substância branca até a interface com a substância cinzenta. HE, obj.40x.

5. DISCUSSÃO

Através do presente estudo, foram identificadas 21 diferentes enfermidades diagnosticadas em cães com sinais clínicos neurológicos no Setor de Anatomia Patológica da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (SAP/UFRRJ). Deste modo, este levantamento retrospectivo representa em boa amostragem de distúrbios do sistema nervoso central de cães na região metropolitana do Rio de Janeiro, principalmente no município de Seropédica, RJ.

A partir de um total de 4.991 necropsias de cães, foi possível diagnosticar 621 (12,4%) cães com doenças neurológicas. Ao se avaliar temporalmente os dados foi possível observar que de 1949 a 1982 (34 anos) ocorreram 385 casos de raiva e 11 casos de cinomose. Durante o período de 1983 a 2019 (37 anos) foram diagnosticados apenas 225 casos de doenças neurológicas em cães, sendo que a cinomose representou 73 (40,3%) casos. Com isso, atribuímos a baixa frequência de diagnósticos no período mais recente ao fato de que a raiva não é mais uma suspeita inicial para cães com

sintomatologia neurológica, portanto os clínicos diminuíram o envio de cadáveres ao Setor de Anatomia Patológica. Observa-se que as complicações consequentes deste comportamento, podem refletir em subdiagnóstico de doenças que acometem o sistema nervoso central de cães.

Durante 37 anos realizamos em média 5 necropsias por ano de cães com sintomatologia neurológica. Conforme Frade et al., (2018) obtiveram resultado de 29 necropsias por ano de cães com sinais nervosos, no município de Patos na Paraíba num período de 12 anos (2003 a 2014) com 1.205 necropsias, 354 (29%) tiveram histórico de distúrbios neurológicos e destas, 53% se tratavam de cinomose.

Segundo Zamboni (2017) que descreveu a frequência de 19 necropsias de cães com doenças neurológicas por ano no município de Pelotas, Rio Grande do Sul. Num período de estudo de 38 anos, 9.814 necropsias de cães foram realizadas e constatou-se que 739 (7,5%) eram oriundas de cães com sinais neurológicos e 54,8% destas eram de origem viral, sendo elas: cinomose com 28,55% e raiva com 26,25%.

Por outro lado, outros estudos clínicos refletem maior casuística em atendimentos clínicos neurológicos, como Chaves et al., (2014), no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Santa Maria, no Rio Grande do Sul em um período de sete anos (2006 a 2013), 1.277 atendimentos de cães com manifestação clínica neurológica, e destas, 49% eram de doença do disco intervertebral (DDIV). Nossos resultados diferem de outros levantamentos em que a cinomose (FIGHERA et al., 2008b; FRADE et al., 2018) ou DDIV (CHAVES et al., 2014) foram a principal doença neurológica diagnosticada como causa de morte em cães.

O SAP tradicionalmente, desde 1933 tinha sua rotina laboratorial direcionada a casos de doenças em animais domésticos de fazenda, no entanto, desde os primórdios do SAP até o ano de 1982, este Setor recebia além de animais de produção, cadáveres de cães com suspeita de raiva, o que justifica a casuística da raiva neste período de tempo em relação a outras enfermidades.

A raiva foi a doença com maior frequência, totalizando 62,3%, (385/621) dos diagnósticos e a maioria dos casos ocorreu em animais residentes em Seropédica, RJ, sendo o município com maior número de registros no estado do Rio de Janeiro, com 38,7% (149/385) dos casos. Esse resultado pode ser explicado pela localização do Setor de Anatomia Patológica da Universidade Federal do Rio de Janeiro (SAP/UFRRJ). Além do mais, nas descrições clínicas e epidemiológicas para solicitação de necropsia dos cães com sinais neurológicos deste estudo, relatava-se suspeita de encefalite ou alteração de

comportamento até mesmo agressividade e em alguns casos o histórico mencionava mordedura dos cães nos próprios tutores.

O diagnóstico de 254/621 foi obtido através da técnica histoquímica de Faraco, nos quais foram visualizados os Corpúsculos de Negri e de acordo com os autores Belotto et al. (2005) e Silva et al. (1973), esta técnica baseia-se em usar amostras frescas, largamente utilizada nas décadas de 60 a 80, porém caiu em desuso devido aos riscos na manipulação dessas amostras. A partir disso, outros testes passaram a ser utilizados para diagnóstico, como a IFD e a PB com 95% e 98% de sensibilidade, respectivamente, o que inviabilizou o uso do teste Faraco, pois este apresenta baixa sensibilidade (56%) em relação a IFD e PB.

A Imunofluorescência Direta (IFD) e a Prova Biológica (PB) são técnicas de diagnóstico oficialmente reconhecidas para diagnóstico de raiva em cães pelo Ministério da Saúde (BRASIL 2017). Neste trabalho realizamos o diagnóstico de raiva baseado na IFD em 155 cães e em outros 27 cães com raiva que tiveram diagnóstico confirmado pela PB.

O último caso de raiva canina realizado no SAP ocorreu no mês de novembro do ano de 1982 e este resultado, fortalece nossa hipótese de que as campanhas de vacinação e vigilância que se iniciaram na década de 1980 foram eficientes. Observa-se que os últimos casos diagnosticados de raiva em cães e gatos no estado do Rio de Janeiro ocorreram em 2001 (OLIVEIRA et al., 2010) e de raiva humana em 2006 (MARTINS et al., 2015; VARGAS et al., 2019) e que as ações de vigilância, vacinação e avaliação de cobertura vacinal devem ser constantes (MOUTINHO, 2015).

Semelhantemente, dos resultados obtidos neste estudo, dados de Oliveira et al., (2010), afirmaram que em 1983 se iniciaram as campanhas de vacinação parenteral de cães e foram bem-sucedidas no estado do Rio de Janeiro. Segundo esses autores, como resultado, a partir desta década, houve uma redução do número de casos de raiva canina em todos os municípios do estado.

Segundo Teixeira et al., (2008), em um estudo feito no Rio Grande do Sul entre 1985 e 2007, houve correlação linear negativa entre os casos de raiva em cães e o ano de ocorrência, assim como no presente estudo, explicada pelo fato de que, no decorrer dos anos, com a efetividade das campanhas e a vigilância da raiva houve redução no número de casos e concomitantemente, uma redução nos casos de raiva humana.

Neste levantamento, o maior número de casos de raiva canina foi relatado na década de 1960, predominantemente no estado do Rio de Janeiro, devido à localização

do Setor de Anatomia Patológica (SAP), onde o diagnóstico da raiva foi realizado. Trinta e sete anos de falta de detecção da raiva canina, confirmam nossa hipótese sobre a correlação inversa entre a implementação, o impacto e a importância de campanhas de vacinação, esforços educacionais e vigilância como medidas preventivas e tendência decrescente de ocorrência de doenças na área de estudo e em todo o país.

Entretanto, destaca-se que no ano de 2019 não houve campanha de vacinação e de acordo com o Ministério da saúde, a distribuição da mesma será retomada apenas em agosto de 2020. Com isso, este dado alerta para o reaparecimento da raiva canina e é particularmente relevante para famílias de baixa renda (MAGALHÃES, 2019), como em Seropédica, RJ, onde a maioria dos surtos de raiva deste trabalho foram descritos. Ademais, durante o 12º Seminário de Vigilância e Controle da Raiva, em Águas de Lindóia, SP, Brasil, 5-7 de novembro 2019, o Ministério da Saúde informou que os estoques de vacinas contra a raiva no Brasil eram suficientes apenas para 30% da população canina e seria retida apenas para surtos (G1 Rio, 2019a, 2019b).

A cinomose foi a segunda doença a se destacar neste estudo, com 13,5% dos casos, quantidade aproximadamente similar à encontrada nos cães em um estudo no estado do Rio Grande do Sul, 11,7% (250/2136) do total de cães (HEADLEY; GRAÇA, 2000). A cinomose é considerada pelo Ministério da Saúde como o principal diagnóstico diferencial da raiva, dentre outras doenças que acometem o sistema nervoso de cães (BRASIL, 2017).

Em relação ao diagnóstico da cinomose, a presença de corpúsculos de inclusão intra nucleares ou intra citoplasmáticos e a lesão de desmielinização foram considerados, pois era o único método usado e disponível na rotina nas décadas de 50 a 80 para confirmar o diagnóstico de cinomose. Afinal, a infecção pelo vírus induz a formação dos corpúsculos de inclusão intranucleares e intracitoplasmáticos e a desmielinização, associa-se à presença do vírus nos oligodendrócitos responsáveis pela formação de mielina (LAUDER et al., 1954; SUMMERS et al., 1994).

O diagnóstico clínico da cinomose é fundamentado no exame físico, anamnese e exames complementares, mas muitas vezes, é inconclusivo (AMUDE et al., 2007). Contudo, muitos testes mais específicos são eficazes para o diagnóstico da doença, um exemplo são os testes sorológicos de anticorpos anti-VCC que indicam infecção recente (APPEL, 1987).

No presente estudo, tivemos três diagnósticos laboratoriais utilizados além da histopatologia, como PCR para detecção de RNA de *Morbilivirus* em amostras do líquido

em três casos e também em outro feito teste com kits rápidos (imunocromatográficos). Porém, estes exames complementares apareceram nos registros somente após o ano de 2015 em diante e de acordo com GALANTE (2009), o uso de outros exames para diagnosticar a cinomose, provavelmente se deve a popularização, praticidade e rapidez e diante disso, frequentemente são usados em clínicas (testes rápidos), capazes de detectar o anticorpo ou o antígeno (TIPOLD, 1995; BRAZ, 2009).

Alguns estudos epidemiológicos têm demonstrado que as infecções são mais frequentes durante o período mais frio (HEADLEY e GRAÇA, 2000), pois, segundo SWANGO (1997), as partículas virais mantêm uma estabilidade maior nas estações mais frias do ano, sendo associadas à imunossupressão, inclusive em cães recém-nascidos, recém-desmamados e não vacinados corretamente. Nos diagnósticos de cinomose realizados Setor de Anatomia Patológica da Rural, 54,4% (45/84) também ocorreram nos três meses mais frios do ano (maio a julho) porém, uma prevalência sazonal de infecção por VCC ainda não está muito bem esclarecida (HEADLEY; GRAÇA, 2000).

Certamente as lesões histológicas, como a desmielinização da substância branca, áreas de necrose, corpúsculos de inclusão em astrócitos e infiltrados perivasculares são achados frequentes na cinomose (MCGAVIN; ZACHARY, 2009). Silva et al., (2009) tiveram resultados semelhantes ao presente estudo, no qual os autores encontraram 51,4% (36/70) casos com lesões histopatológicas de desmielinização e apenas 10% com infiltrados perivasculares no encéfalo. No nosso trabalho, 83,3% (70/84) dos casos de cinomose havia desmielinização no encéfalo.

As lesões estavam distribuídas anatomicamente, principalmente no cerebelo e córtex frontal, compatível com os achados de SILVA et. al., (2009). De acordo com Greene; Appel (2006); Beineke et al., (2009), as áreas mais acometidas pela desmielinização apresentam sítios de predileção que incluem as áreas periventriculares do cerebelo e ponte, este dado corrobora aos resultados obtidos neste trabalho, em que as áreas mais afetadas pela desmielinização foram também cerebelo e córtex frontal. Diferentemente, Tipold (1995) observou predominantemente lesões multifocais (38%) e em medula espinhal (33%). Nos nossos resultados apenas 4 cães apresentaram lesões em medula espinhal.

Por conseguinte, a frequência com que as lesões de cinomose afetam as diferentes regiões do SNC é fundamental nos casos em que o patologista não possui informações do exame neurológico. De acordo com Silva et al. (2009) as lesões ocorrem principalmente

no cerebelo, diencéfalo, lobo frontal, ponte e mesencéfalo em 70%-90% dos casos (SILVA et al., 2009).

Entretanto, existe o conceito de que cães jovens tenham principalmente lesões agudas (FENNER 2004), o que não pôde ser confirmado por este estudo, pois não tivemos registros suficientes de cães jovens para se confirmar esta hipótese. Dos casos de cinomose que tinham ficha completa, apenas dois eram cães filhotes. Contudo, de acordo com Silva et al., (2009), é impreciso inferir as lesões da cinomose com base apenas na idade dos cães, visto que as lesões encontradas em filhotes (cães com menos de um ano de idade) foram interpretadas como subagudas (48,5%) ou crônicas (30,3%), mais do que agudas (21,2%).

As neoplasias observadas em caninos neste estudo compreenderam a quarta causa de distúrbios do SNC. Dentre elas, a que mais predominou foi o astrocitoma seguido pelo meningioma. Esses resultados diferem dos encontrados por CHAVES et al. (2018), cuja a neoplasia do SNC de cães com ocorrência foi o de origem mesodérmica (meningioma), considerados também por outros autores como os tumores intracranianos mais comuns em humanos e animais domésticos (STOICA et al., 2004; MONTOLIU et al., 2006, SNYDER et al., 2008; SANTOS et al., 2012; ZAMBONI, 2017). Marcasso et al., (2015), relataram que dos meningiomas intracranianos nos cães observados de 1998 a 2013 em Londrina, 36,6% eram meningiomas transicionais (4/14) corroborando com os resultados deste levantamento.

Segundo Stoica et al., (2004), num estudo realizado no Texas, os tumores intracranianos com maior prevalência em cães foram os astrocitomas, similarmente a este trabalho (5/14). Esses mesmos autores encontraram 12 casos de astrocitoma gemistocítico, do total de 31 cães acometidos por astrocitomas, já neste levantamento, todos astrocitomas se tratavam de astrocitoma anaplásico.

Dos traumas derivados de agentes físicos, neste estudo a totalidade dos traumas ocorreram em consequência de atropelamento por veículo automotivo e isto se deve provavelmente pelo alto número de cães criados em condições peridomiciliares. Os principais registros foram de traumas espinomédulares, diferentemente de Fighera et al., (2008a) e de Pellegrino et al., (2011), que relataram maior frequência de lesões cranioencefálicas. Por sua vez, Correia (2016) observou que 4% cães tiveram múltiplas fraturas cranianas/espinhais com déficit neurológico.

Similarmente ao observado por Fighera et al., (2008a), a maioria dos cães observados neste estudo, representaram casos que foram notadas lesões traumáticas que

explicavam a morte destes e o principal achado macroscópico e microscópico em todos os casos foi hemorragia.

Conforme Tipold (1995), descreve as meningoencefalites sendo difíceis de se distinguir quanto às várias formas existentes com base clínica, podendo representar até 25% das doenças do SNC canino. Dos 50% dos casos analisados por este autor, na meningoencefalite granulomatosa, os pacientes tiveram histórico de doença progressiva crônica ao longo de várias semanas a meses, pela lenta deterioração e progressão dos sinais neurológicos, enquanto que na meningoencefalite necrosante os cães desenvolveram convulsões e as lesões do SNC ocorreram de maneira progressiva.

Neste trabalho, estas enfermidades inflamatórias necrosantes corresponderam a 5/17 casos dentro da categoria “outros distúrbios”. Nesta mesma categoria, que inclui doenças idiopáticas e inflamatórias, Pellegrino et al., (2011) encontraram 23% e 16% respectivamente. Além disso, segundo Fluehmann et al., (2006) e Pellegrino et al., (2011), existe uma relação do diagnóstico de epilepsia com as altas taxas de pacientes diagnosticados com enfermidades de origem idiopática, o que neste trabalho foi visto em três casos. Porém Chaves et al., (2014), encontrou a maior prevalência das doenças neurológicas de cães relacionadas à medula espinhal e o tálamo-córtex, as enfermidades mais frequentes eram de origem degenerativa, assim como também foi observado por Fluehmann et al., (2006) em sua pesquisa.

Contudo, as encefalites nas quais não foram possíveis estabelecer causas, também estavam presentes no trabalho de Frade (2018), sendo representadas por 4,2% das doenças investigadas e se aproxima dos nossos resultados (5.6%). Nestas enfermidades, o líquido cerebrospinal pode ter alterações e geralmente revela um aumento na concentração de proteínas e uma pleocitose (células inflamatórias no líquido) mononuclear leve a acentuada, composta por linfócitos, monócitos e células plasmáticas, que são indicativos de inflamação (SMITH, 2009; TAYLOR, 2010).

Além disso, as seguintes encefalites registradas neste levantamento: meningoencefalite granulomatosa (MEG), meningoencefalite necrosante (MEN) e leucoencefalite necrosante (LEN), mesmo com inúmeras tentativas sendo utilizadas para diferenciá-las, apenas com base em aspectos clínicos e laboratoriais, características do exame de imagem e predisposição da raça, o diagnóstico definitivo não pode ser obtido sem o exame histopatológico (TIPOLD, 1995; TAYLOR, 2010; PARK et al., 2012).

Segundo alguns autores, as raças Pug (BELTRAN; OLLIVET, 2000), Maltês (VIOLIN et. al., 2008), Shih-tzu, Papillon, Chihuahua, Pequinês, e Buldogue Francês são

raças mais predispostas às meningoencefalites necrosantes, principalmente em cães com média de dois anos de idade (PARK et al., 2012). Enquanto em algumas raças, como a Yorkshire Terrier e Bulldog Francês, as lesões são predominantemente observadas na substância branca, denominada Leucoencefalite Necrosante (LEN), também com média de 2 anos de idade. (TIPOLD, 1995; BELTRAN; OLLIVET, 2000, PARK et al., 2012). A meningoencefalite granulomatosa, é mais relatada em fêmeas e as raças “toys” são mais acometidas (Poodles e Terries) com idade entre seis meses e 12 anos (TAYLOR, 2010; MAXIE; YOUSSEF, 2016).

A grande variedade de meningoencefalomielites é de etiologia desconhecida e a maioria delas estão descritas em publicações de relatos de caso (VIOLIN et al., 2008; TALARICO; SCHATZBERG, 2010; DA SILVA, et al., 2015). Neste levantamento, foram identificadas encefalites linfoplasmocitárias e elas somaram 5,1% (32/621) dos registros, número relativamente baixo em relação a Tipold (1995) que relatou 20% de encefalites em que não foi identificado o agente etiológico. Devida a ampla variedade de condições inflamatórias, a distinção entre as causas e a identificação do agente etiológico das meningoencefalites, torna-se um desafio diagnóstico e terapêutico para o clínico (THOMAS, 1989; TIPOLD, 1995). Dos distúrbios inflamatórios não infecciosos idiopáticos, denota-se, uma capacidade genética, imunológica e ambiental com possível característica multifatorial (TALARICO; SCHATZBERG, 2010; PARK et al., 2012).

A Leucoencefalite Necrosante do Yorkshire (LEN), acometeu dois cães da raça Yorkshire neste trabalho, fazendo parte do grupo “outros distúrbios”. Foram observadas áreas de malácia e desmielinização, que estão de acordo com as lesões no tálamo da maioria dos casos de LEN descritos por alguns autores SCHATZBERG et al., (2005) e Park et al., (2012), além de hipocampo, mesencéfalo, cerebelo, e medula espinhal em alguns casos (PARK et al., 2012).

A Meningoencefalite Necrosante (MEN) neste levantamento, foi relatada em apenas um cão e os resultados histopatológicos como áreas de cavitação e malácia também foram obtidos por KOBAYASHI et al., (1994) e VIOLIN et al., (2008).

A Meningoencefalite Granulomatosa (MEG), também foi identificada em apenas um cão. Tipold, (1995) e Park et al., (2012) observaram lesões granulomatosas nodulares/angiocêntricas compostas por macrófagos, células epitelioides, linfócitos, plasmócitos e neutrófilos localizados no cerebelo, medula oblonga e medula espinhal principalmente em mesencéfalo e tálamo, sendo compatível com os achados deste

trabalho, diferindo apenas dos locais de lesão em córtex, pois estas se encontravam precisamente no cíngulo.

Numa comparação estabelecida por Park et al., (2012), sobre as populações celulares inflamatórias, de MEN, LEN e MEG, os linfócitos T CD3 positivos foram identificados como os mais presentes nessas doenças e foram mais frequentemente observadas nas lesões MEG, seguidos por LEN e MEN, confirmando o que foi encontrado por KIPAR et al., (1998). É provável que os macrófagos que se infiltram nas lesões de malácia no cérebro de cães com MEN ou LEN, atuem como células sequestradoras, removendo produtos da necrose ou da inflamação e na MEG, os macrófagos nas lesões granulomatosas são parte de uma resposta imune (PARK et al., 2012).

Nesta mesma categoria (outros distúrbios), as doenças degenerativas tiveram baixa frequência com 0,4% (3/621), comparativamente diferente do que foi observado por Fluehmann et al., (2006) e Chaves et al., (2014), que reportaram que as doenças degenerativas foram as de maior número, somando 38% dos diagnósticos.

A hidrocefalia foi o único distúrbio do desenvolvimento deste levantamento, correspondendo a 0,4% (3/621) e de acordo com MCGAVIN; ZACHARY (2009) é a malformação de sistema nervoso mais frequente na medicina veterinária. Segundo Taylor (2010), a condição de hidrocefalia é caracterizada pela dilatação do sistema ventricular cerebral em consequência da obstrução do fluxo de líquido cefalorraquidiano em seu ponto de absorção para a circulação sistêmica através das vilosidades aracnoides. Na maioria dos casos é congênita, mas também pode haver obstrução decorrente de inflamação, neoplasia ou hemorragia e sendo assim, a condição congênita foi determinada para os três casos deste levantamento, cujas idades variaram de 5 a 7 meses.

Devida a amplitude temporal do presente trabalho, de 71 anos (1949-2019), justifica-se, que muitas doenças podem ter sido subdiagnosticadas por consequência das limitações diagnósticas existentes na época, além da menor procura às especialidades veterinárias consequente dos poucos dados científicos acerca das doenças neurológicas de cães e também pela menor proximidade do tutor com seus animais. No presente estudo, o percentual de diagnósticos inconclusivos foi de 14% (87/621) e destes, 25 eram casos com tecidos autolisados, 30 eram casos com material insuficiente e sem histórico e 5 eram casos que não haviam lesões macroscópicas e histopatológicas. Assim sendo, os históricos precisam ser adequadamente preenchidos pois afetam no diagnóstico final. Com relação aos diagnósticos inconclusivos, considera-se um resultado relativamente

baixo, comparado aos resultados obtidos por Zamboni (2017), com 25,6% e ao que foi visto por Frade et al., (2018) que obteve em torno de 6,1% inconcludentes.

Portanto, o diagnóstico de doenças do sistema nervoso é um desafio para clínicos e patologistas. Estudos que usam grandes bancos de dados de registros clínico-epidemiológicos e histopatológicos, são de grande valia devido à quantidade de dados disponíveis, as análises e a relevância dos resultados.

6. CONCLUSÕES

- A principal enfermidade neurológica em cães diagnosticada no Setor de Anatomia Patológica foi a raiva com 385 casos, seguida da cinomose com 84 casos.
- Os casos de raiva ocorreram entre 1949 e 1982. A década de 1960 teve maior número de diagnósticos, com 202 casos de raiva canina. A redução progressiva da raiva canina ao decorrer dos anos, culminou com um período de 37 anos (1983-2019) sem detecção de raiva canina. Atribuímos esses resultados às campanhas de vacinação que se iniciaram na década de 1980.
- Entre 1983 e 2019 diagnosticamos 96 casos de doenças neurológicas em cães, sendo que cinomose foi a doença mais frequente com 63 casos e as encefalites inflamatórias não idiopáticas representaram o segundo grupo de doenças mais frequentes, com 36 casos diagnosticados.
- Este estudo demonstra o potencial do Setor de Anatomia Patológica como uma base de dados regional das doenças do sistema nervoso central de cães. Alertamos aos médicos veterinários a importância das enfermidades neurológicas que afetam cães.
- Causas infecciosas, neoplasias, traumatismos, distúrbios do desenvolvimento, outros distúrbios (DDIV, encefalites inflamatórias não idiopáticas, infartos cerebrais e intoxicações) devem ser incluídas em diagnósticos diferenciais ao avaliarem cães com sinais clínicos neurológicos.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU C.C., NAKAYAMA P.A., NOGUEIRA C.I., MESQUITA L.P., LOPES P.F.R., VARASCHIN M.S., SEIXAS J.N., FERREIRA E.; BEZERRA JR. P.S. Domestic microwave processing for rapid immunohistochemical diagnosis of bovine rabies. *Histol Histopathol.* 27:1227-1230, 2012.

AMUDE A.M., CARVALHO G.A., ALFIERI A.A. & ALFIERI A.F. Virus isolation and molecular characterization of canine distemper virus by RT-PCR from a mature dog with multifocal encephalomyelitis. *J. Microbiol.* 38:354-356. 2007

APPEL M.J.G. Canine distemper virus. In: *Virus Infections of Carnivores*. Elsevier: Amsterdam, p.133-159. 1987.

BAGLEY, R. S.; HARRINGTON, M. L., SILVER, G. M.; CAMBRIDGE, A. J. CONNORS, R. L.; MOORE, M. P. Exogenous spinal trauma: clinical assessment and initial management. *Veterinary Neurology*, 21 (12): 1138-1143, 1999.

BEINEKE, A., PUFF, C., SEEHUSEN, F.; BAUMGÄRTNER, W. Pathogenesis and immunopathology of systemic and nervous canine distemper. *Vet. Immun. and Immunopathol.*, 127(1-2):1- 18, 2009.

BELTRAN, W.A.; OLLIVET, F.F. Homonymous hemianopia in a pug with necrotising meningoencephalitis. *J Small Anim Pract*, 41 (4): 161-164, 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde (MS). *Guia de Vigilância Epidemiológica*. Brasília, 706p. 2017.

BRAZ, G. F. Padronização e teste da técnica de imunofluorescência direta para o diagnóstico da cinomose canina, 43 f. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, 2009.

BUDASZEWSKI R.D.F., PINTO L.D., WEBER M.N., CALDART E.T., ALVES C.D., MARTELLA V., IKUTA N., LUNGE V.R.; Canal C.W. Genotyping of canine distemper virus strains circulating in Brazil from 2008 to 2012. *Virus. Res.* 180: 76-83. 2014.

CARTER M.E, MARKEY B.K, QUINN P.J, DONNELLY W.J. *Vet. microbiol.*, 23: 115-28. 2005.

CERTOMA, A., LUNT R. A., VOSLOO W., SMITH I., COLLING A, WILLIAMS D. T., TRAN T., BLACKSELL S. D. Assessment of a Rabies Virus Rapid Diagnostic Test for the Detection of Australian Bat Lyssavirus. *Tropical medicine and infectious disease*, 3:109. 2018.

CHAVES, R. O., DIEGO VILIBALDO BECKMANN, ROSMARINI PASSOS DOS SANTOS, GRACIANE AIELLO, AMANDA OLIVEIRA ANDRADES, RAQUEL BAUMHARDT, LAÍS BARBIERI SILVEIRA E ALEXANDRE MAZZANTI. Doenças neurológicas em cães atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Santa Maria, RS: 1.184 casos (2006-2013). *Pesq. Vet. Bras.* 34 (10): 996-1001. 2014.

CHAVES, R. O., FERANTI, J. P., COPAT, B., RIPPLINGER, A., FRANÇA, R. T., KOMMERS, G. D., FIGHERA, R. A.; MAZZANTI, A. Neoplasias encefálicas em 40 cães: aspectos clínico-epidemiológicos e patológicos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 38(4): 734-740. 2018.

COERTSE, J., MARKOTTER, W., LE ROUX, K., STEWART, D., SABETA, C. T., & NEL, L. H. New isolations of the rabies-related Mokola virus from South Africa. *BMC Vet Res.* 13(1): 37. 2016.

CORDY, D. R. Canine granulomatous meningoencephalomyelitis. *Veterinary Pathology*, 16: 325-333. 1979.

CHERUBINI, G. B., PLATT, S. R., ANDERSON, T. J., RUSBRIDGE, C., LORENZO, V., MANTIS, P.,; CAPPELLO, R. Characteristics of magnetic resonance images of granulomatous meningoencephalomyelitis in 11 dogs. *Journal of the British Veterinary Association*, v.159, p.110-115, 2006.

CORREIA, F R.G. Estudo das lesões decorrentes de atropelamento em cães. 2016. Dissertação de Mestrado.

DA COSTA RC. Neoplasia do Sistema Nervoso. In: Daleck C. R; Nardi A. B; Rodaski S. Oncologia em cães e gatos. 1ª ed. São Paulo: Rocca, 412-435. 2009.

DA SILVA, G. M. M., MACHADO, J. P., DA COSTA JÚNIOR, J. D.; CARVALHO, G. D. Meningoencefalite necrosante em cão pug: relato de caso. ANAIS SIMPAC. 3(1). 2015.

DA SILVA, R. A.; DA SILVA, N. M.; GUIMARÃES, R. S. A utilização do método de imunofluorescência comparativamente com os métodos histoquímico e biológico no diagnóstico da raiva. Pesq. Agrop. Bras. 8(6):1-4, 1973.

DINIZ, C.C.C; REIS, R. Comparação de provas de imunofluorescência indireta e soroneutralização na titulação de anticorpos anti-rábicos em soro de bovinos vacinados. Arq. Esc.Vet. UFMG, 27:29-37. 1975.

FERNANDES, V. L.; BERNARDINI, M. Neurologia em cães e gatos. Editora MedVet, São Paulo, 2010.

FERNANDES, T. R., RISSO, D. F. A., MARINI, M. R., & MANHOSO, F. F. R. Principais Afecções diagnosticadas em pacientes caninos geriátricos atendidos no município de Marília/SP no período de 2008 a 2012. Revista Unimar Ciências, 22: 1-2. 2017.

FIGHERA, R.A., SILVA, M.C., SOUZA, T.M. et al., Aspectos patológicos de 155 casos fatais de cães atropelados por veículos automotivos. Ciência Rural, Santa Maria, v.38, n.5, p.1375-1380, agosto, 2008a.

FIGHERA R.A., SOUZA T.M., SILVA M.C., BRUM J.S., GRAÇA D.L., KOMMERS G.D., IRIGOYEN L.F.; BARROS C.S.L. Causas de morte e razões para eutanásia de cães

da Mesorregião do Centro Ocidental Rio-Grandense (1965-2004). *Pesq. Vet. Bras.* 28(4): 223-230. 2008b.

FLUEHMANN, G.; DOHERR, M. G.; JAGGY, A. Canine neurological diseases in a referral hospital population between 1989 and 2000 in Switzerland. *J Small Anim Pract*, 47(10): 582-587, 2006.

FLINT, S. J., ENQUIST, L.W., RANCANIELLO, V. R., SKALKA, A. M. Principles of virology, Molecular Biology, Pathogenesis and control animal viruses, 2^a ed. ASM Press, USA. 2004.

FRADE, M. T., FERREIRA, J. S., NASCIMENTO, M. J., AQUINO, V. V., MACÊDO, I. L., CARNEIRO, R. S.; DANTAS, A. F. Doenças do sistema nervoso central em cães. *Pesq. Vet. Bras*, 38(5): 935-948. 2018.

G1 Rio, 2019a. Campanha de vacinação contra a raiva em animais é adiada para dezembro no Rio. Disponível em: <https://g1.globo.com/rj/rio-de-janeiro/noticia/2019/09/02/campanha-de-vacinacaocontra-a-raiva-em-animais-e-adiada-para-dezembro-no-rio.ghtml>. Acesso em: 2 de setembro de 2019.

G1 Rio, 2019b. Sem repasse de vacinas, São Carlos e Araraquara suspendem campanha contra raiva pela 2^a vez. Disponível em: <https://g1.globo.com/sp/sao-carlos-regiao/noticia/2019/11/27/semrepasse-de-vacinas-sao-carlos-e-araraquara-suspendem-campanha-contra-raiva-pela-2a-vez.ghtml>. Acesso em: 12 de novembro de 2019.

GRABER, H. U., MÜLLER, C. F., VANDEVELDE, M., & ZURBRIGGEN, A. Restricted infection with canine distemper virus leads to down-regulation of myelin gene transcription in cultured oligodendrocytes. *Acta Neuropathol.*, 90(3): 312-318. 1995.

GREENE C.E.; APPEL M.J. Canine Distemper, p.25-41. In: Greene C.E. (ed.), *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. 3th ed. Elsevier, St Louis. 1387p. 2006.

HEADLEY S.A.; GRAÇA D.L. Canine distemper: epidemiological findings of 250 cases. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 37:136-140. 2000.

HAINES, D. M.; MARTIN, K. M.; CHELACK, B. J.; SARGENT, R. A.; OUTERBRIDGE, C. A.; CLARK, E. G. Immunohistochemical detection of canine distemper virus in haired skin, nasal mucosa, and footpad epithelium: a method for antemortem diagnosis of infection. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 11(5): 396-399. 1999.

JEON, J. H., KANG, B. T., JI, C. M., LEE, H. C., MOON, J. H., CHO, K. W.; JUNG, D. I. A Retrospective Study of 172 Neurological Patients Presented to the Gyeongsang National University Animal Medical Center; From Jan. 2008 to Jan. 2012. In *Future Information Technology, Application, and Service* (pp. 135-140). Springer, Dordrecht. 2012.

KOBAYASHI, Y., OCHIAI, K., UMEMURA, T., GOTO, N., ISHIDA, T.,; ITAKURA, C.. Necrotizing meningoencephalitis in pug dogs in Japan. *J Comp Pathol*, v.110, n.2, p.129-136, 1994.

KAPIL, S. et al., Diagnostic investigation of emerging viruses of companion animals. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, Philadelphia, 38(4): 755-774. 2008.

KUZMIN, I. V., ORCIARI, L. A., ARAI, Y. T., SMITH, J. S., HANLON, C. A., KAMEOKA, Y., & RUPPRECHT, C. E. Bat lyssaviruses (Aravan and Khujand) from Central Asia: phylogenetic relationships according to N, P and G gene sequences. *Virus Research*, 97(2): 65-79. 2003.

LAUDER I.M., MARTIN W.B., GORDON E.B., LAWSON D.D., CAMPBELL R.S.F.; WATRACH A.M. Survey of canine distemper. *Vet. Rec.* 66:623- 632. 1954.

LECOUTEUR, R. A. Spinal cord and vertebral column trauma. In: *international veterinary and critical care symposium*, 6., 1998, San Antonio.Proceedings. San Antonio: IVECCS, 291-295p. 1998.

MACHADO, C.G. Raiva humana. II Simpósio Bras. Raiva, 28-36, Rio de Janeiro, 1965.

MACHADO, G. F.; SILVA, L. H. Q.; NUNES, C. M. Detecção de antígenos do vírus da raiva em encéfalos de cão mantido em formol durante longo período. *Revta Port. Ciênc. Vet*, 99:89-92, 2004.

MACLACHLAN, N.J.; DUBOVI, E.J. FENNER'S. *veterinary virology*. 4^a ed. Amsterdam; Boston: Elsevier Academic Press. 507p. 2011.

MAGALHÃES, M.I. Por falta de vacina, Rio não terá campanha nacional de vacinação gratuita contra raiva. Disponível em: <https://odia.ig.com.br/columnas/e-o-bicho/2019/08/5677008-por-falta-de-vacina--rionao-tera-campanha-nacional-de-vacinacao-gratuita-contra-raiva.html#foto=1>. Acesso em : 30 de Agosto de 2019.

MARTINS, V. B., DE OLIVEIRA, F. G., DIAS, A. V. A. B. ; MOREIRA, W. C. Avaliação do diagnóstico laboratorial do programa de controle da raiva urbana no Rio de Janeiro, Brasil entre 2002-2011. *Vig. Sanit. em Debate: Sociedade, Ciên.; Tecnol.*, 3(3): 56-63. 2015.

MARCASSO, R. A., MOREIRA, J. R., VALENTIM, L. G., ARIAS, M. V. B., & BRACARENSE, A. P. F. R. L. Meningiomas em cães: aspectos clínicos, histopatológicos e imuno-histoquímicos. *Pesq. Vet. Bras.* 35(10): 844-852. 2015.

MAXIE M.G.; YOUSSEF S. Nervous system. In: MAXIE, M.G. Jubb, Kennedy, and Palmer's *Pathology of Domestic Animals*. 5 ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 281-457. 2016.

MONTOLIU P.; ANOR S.; VIDAL E.; PUMAROLA M. Histological and immunohistochemical study of 30 cases of canine meningioma. *J. Comp. Pathol.* 135(4):200-207. 2006.

MOUTINHO, F. F. B., NASCIMENTO, E. R. D.; PAIXÃO, R. L. Raiva no Estado do Rio de Janeiro, Brasil: análise das ações de vigilância e controle no âmbito municipal. *Ciência; saúde coletiva*, 20, 577-586. 2015.

MCGAVIN; ZACHARY, M. D.; ZACHARY, J. F. Bases da patologia em veterinária. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier/Mosby. 1475 p. 2009.

NEGRÃO, F.J.; ALFIERI, A.A.; ALFIERI, A.F. Avaliação da urina e de leucócitos como amostras biológicas para detecção ante mortem do vírus da cinomose canina por RT-PCR em cães naturalmente infectados. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 59(1): 253-257, 2007.

OLIVEIRA ASS, BEZERRA FFM, AZEVEDO FRMA. Descrição do perfil epidemiológico da raiva no Estado do Rio de Janeiro no período de 1981 a 2007. *Rev Rede de Cuidados em Saúde*. 4(2):1-12. 2010.

O'BRIEN D.P.O. & COATES J.R. Brain disease, p.668-725. In: Ettinger S.J. & Feldman E.C. (Eds), *Veterinary Internal Medicine*. 7th ed. Elsevier Mosby, Philadelphia. 2010.

PARK, E. S.; UCHIDA, K.; NAKAYAMA, H. Comprehensive immunohistochemical studies on canine necrotizing meningoencephalitis (NME), necrotizing leukoencephalitis (NLE), and granulomatous meningoencephalomyelitis (GME). *Vet. pathol.*, 49(4): 682-692. 2012.

PEDROSO, P. M., PESCADOR, C. A., BANDARRA, P. M., RAYMUNDO, D. L., BORBA, M. R., WOUTERS, F., E. 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. *Pesq. Vet. Bras*. 28(12):627-632. 2008.

PEDROSO P.M.O., COLODEL E.M., PESCADOR C.A., 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. *Pesq. Vet. Bras*. 29(11):899-904. 2009.

PEDROSO P.M.O., COLODEL E.M., GOMES D.C., VARASCHIN M.S., BEZERRA JÚNIOR P.S., BARBOSA J.D., TOKARNIA C.H.; DRIEMEIER D. Aspectos clínico-patológicos e imuno-histoquímicos de equídeos infectados pelo vírus da raiva. *Pesq. Vet. Bras*. 30:909-914. 2010.

PELLEGRINO, F.C.; PACHECO, E.L.; VAZZOLER, M.L. Caracterización de los trastornos neurológicos en los perros: 1652 casos (marzo 2008-junio 2010). Parte I. Revista Argentina de Neurología Veterinaria. 2(1): 78-96. 2011.

PORTELA, V. A. B., Lima, T. M.; Maia, R. C. C. Cinomose canina: revisão de literatura. Medicina Veterinária (UFRPE), 11(3):162-171. 2017.

PRATELLI, A. Canine distemper virus: The emergence of new variants. The Veterinary Journal. 187:290-291. 2011.

RAHMADANE, CERTOMA, A. F., PECK, G. R., FITRIA, Y., PAYNE, J., COLLING, A., & MORRISSY, C. Development and validation of an immunoperoxidase antigen detection test for improved diagnosis of rabies in Indonesia. Plos negl. trop. Dis., v. 11, n. 11, p. e0006079, 2017

RIKULA U., PÄNKÄLÄ L., JALKANEN L.; SIHVONEN L. Distemper vaccination of farmed fur animals in Finland. Prev. Vet. Med. 49:125-133. 2001.

SANTOS R.P., BECKMANN D.V., AIELLO G., BERTÉ L., RIPPLINGER A., NETO D.P.; MAZZANTI A. Recuperação funcional de cães paraplégicos com doença do disco intervertebral toracolombar sem percepção à dor profunda, submetidos ao tratamento cirúrgico: 15 casos (2006-2010). Pesq. Vet. Bras. 32(3):243-246. 2012.

SCHATZBERG, S. J. Idiopathic Granulomatous and Necrotizing Inflammatory Disorders of the Canine Central Nervous System. Veterinary Clinics: Small Animal Practice. 40:101-120. 2010.

SCHATZBERG S, J. Idiopathic granulomatous and necrotizing inflammatory disorders of the canine central nervous system. Veterinary Clinics: Small Animal Practice. 40(1): 101-120. 2010.

SHARP N.J.H.; WHEELER S.J. Postoperative care, p.339-362. In: *Ibid.* (Eds), *Small Animal Spinal Disorders: diagnosis and surgery*. 2nd ed. Elsevier Mosby, Philadelphia. 2005.

SILVA, M. C., FIGHERA, R. A., MAZZANTI, A., BRUM, J. S., PIEREZAN, F.,; BARROS, C. S. Neuropatologia da cinomose canina: 70 casos (2005-2008). *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 29(8): 643-652. 2009.

SNYDER J.M., LIPITZ L., SKORUPSKI K.A., SHOFRER F.S.; VAN WINKLE T.J. Secondary intracranial neoplasia in the dog: 177 cases (1986-2003). *J. Vet. Intern. Med.* 22(1):172-177. 2008.

SRINIVASAN A., BURTON E.C., KUEHNERT M.J., RUPPRECHT C., SUTKER W.L., KSIAZEK T.G., PADDOCK C.D., GUARNER J., SHIEH W., GOLDSMITH C., HANLON C.A., ZORETIC J., FISCHBACH B., NIEZGODA M., EL-FEKY W.H., ORCIARI L., SANCHEZ E.Q., LIKOS A., KLINTMALM G.B., CARDO D., LEDUC J., CHAMBERLAND M.E., JERNIGAN D.B.; ZAKI, S. R. Transmission of rabies virus from an organ donor to four transplant recipients. *New England Journal of Medicine*. 352:1103-1111. 2005.

STEIN L.T., RECH R.R., HARRISON L.; BROWN C.C. Immunohistochemical Study of Rabies Virus Within the Central Nervous System of Domestic and Wildlife Species. *Vet. Pathol.* 47: 630-633. 2010.

STOICA, G., KIM, H. T., HALL, D. G., & COATES, J. R. Morphology, immunohistochemistry, and genetic alterations in dog astrocytomas. *Vet. Pathol.* 41(1):10-19. 2004.

SUMMERS, B. A.; APPEL, M. J. G. Aspects of canine distemper virus and measles virus encephalomyelitis. *Neuropathology and Applied Neurobiology*, Oxford. 20(6): 525-534. 1994.

TALARICO, L. R.; SCHATZBERG, S. J. Idiopathic granulomatous and necrotising inflammatory disorders of the canine central nervous system: a review and future perspectives. *The Journal of Small Animal Practice*. 51(3): 138–149. 2010.

TAYLOR, S.M. Encefalite, Mielite e Meningite. In: NELSON, R. W.; COUTO, C.G. *Medicina interna de pequenos animais*. 4.ed. Rio de Janeiro, RJ: Elsevier, p. 1056-1060, 2010.

TEIXEIRA, T.F., HOLZ, C.L., CAIXEITA, S.P.M.B., DEZEN, D., CIBULSKI, S.P., SILVA, J.R., ROSA, J.C.A., SCHMIDT, E., FERREIRA, J.C., BATISTA, H.B.C.R., FRANCO, A.C., ROEHE, P.M. Diagnóstico de raiva no Rio Grande do Sul, Brasil, de 1985 a 2007. *Pesq. Vet. Bras*. 28:515–520. 2008.

TIERKEL E.; ATANASIU P. Rapid microscopic examination for Negri bodies and preparation of specimens for biological tests. In: Meslin F.X., Kaplan M.M., Koprowski H., (Eds), *Laboratory Techniques in Rabies*, 4th, Geneva: World Health Organization, 55-65 p. 1996.

TIPOLD, Andrea. Diagnosis of inflammatory and infectious diseases of the central nervous system in dogs: a retrospective study. *J Vet Intern Med*. 9(5): 304-314. 1995.

TORDO, N, CHARLTON K, WANDELER A. I. Rhabdoviruses: Rabies. *Microbiology and microbial infections*. 1: 665-692. 1998.

VIOLIN, K. B., DE QUEIROZ, N. G. T., HOSOMI, F. Y. M., RAMOS, A. T., DO AMARAL, H. A., KOGIKA, MERY. M. MACHADO F.; MAIORKA, P. C. Meningoencefalite necrotizante de cão Maltês. *Ciênc. Rural*. 38(3): 836-838. 2008.

VARGAS, A., ROMANO, A. P. M. MERCHÁN-HAMANN, E. HUMAN RABIES IN BRAZIL: a descriptive study, 2000-2017. *Epidemiol. Serv. Saúde*. 28(2): 1. 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. Rabies. Updated march 2013a.
Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs099/en/index.html>>.
Acesso em: 12 de novembro de 2019.

ZAMBONI, R. Doenças e/ou lesões que afetam o sistema nervoso central de caninos no sul do Rio Grande do Sul. 2017. 52f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. 2017.

ZHANG, J., LIN, J., TIAN, Y., MA, L., SUN, W., ZHANG, L. & ZHANG, L. Transmission of rabies through solid organ transplantation: a notable problem in China. *BMC Infect Dis.* 18(1): 273. 2018.

ZURBRIGGEN, A., SCHMID, I., GRABER, H. U.; VANDEVELDE, M. Oligodendroglial pathology in canine distemper. *Acta Neuropathol.* 95(1): 71-77. 1998.

Anexo 1. Artigo submetido à revista *PLOS NEGLECTED TROPICAL DISEASES*

Anexo 2. Ficha de solicitação de exame do Setor de Anatomia Patológica/ UFRRJ

Daniel Guimarães Ubiali

Natália Braz de Almeida Pereira

PLOS Neglected Tropical Diseases

Syndromic surveillance of canine rabies in southeastern Brazil: A retrospective study (1949-2019)

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:	PNTD-D-19-02144
Full Title:	Syndromic surveillance of canine rabies in southeastern Brazil: A retrospective study (1949-2019)
Short Title:	Surveillance of canine rabies in southeastern Brazil
Article Type:	Research Article
Keywords:	zoonosis, rabies, canine, prevention and control, diagnostics, disease surveillance, vaccination
Corresponding Author:	Daniel Ubiali Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro SEROPEDICA, RIO DE JANEIRO BRAZIL
Corresponding Author Secondary Information:	
Corresponding Author's Institution:	Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Corresponding Author's Secondary Institution:	
First Author:	Natália Braz
First Author Secondary Information:	
Order of Authors:	Natália Braz Axel Colling Daniel Ubiali
Order of Authors Secondary Information:	
Abstract:	Dog transmitted rabies in humans is considered a neglected disease in seven Latin America countries. This study aimed to monitor spatial-temporal patterns of canine rabies between 1949 and 2019. During this period, 385 dogs with syndromic patterns were diagnosed with canine rabies by histopathology and complementary exams. The last diagnosis of canine rabies was in November of 1982. Thirty-seven years of absence of disease detection support our hypothesis that implementation of vaccination campaigns together with surveillance and education efforts resulted in successfully reducing the occurrence of canine rabies in the study area and countrywide. To maintain and increase efficiency of rabies control, activities need to be supported by preventive measures including regulatory measures at local public health level.
Suggested Reviewers:	<p>Claudio Barros, PhD Professor, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul claudioslbarros@uol.com.br He is an expert on central nervous system diseases in animals.</p> <p>David Driemeier, PhD Professor, Universidade Federal do Rio Grande do Sul ddriemeier@gmail.com Professor David has done research on animal rabies</p> <p>Antônio Flávio Dantas, PhD Professor, Universidade Federal de Campina Grande Centro de Ciencias Biologicas e da Saude dantas.af@uol.com.br Professor Flávio is an expert on diseases of dogs and recently published a paper about a CNS case series.</p>

Pedro Bezerra Júnior, PhD
Professor, Universidade Federal do Para
psbezerrajunior@gmail.com
Professor Pedro has done important research with rabies in animals.

Opposed Reviewers:

Additional Information:

Question

Response

Financial Disclosure

Enter a financial disclosure statement that describes the sources of funding for the work included in this submission. Review the [submission guidelines](#) for detailed requirements. View published research articles from [PLOS NTDs](#) for specific examples.

This statement is required for submission and **will appear in the published article** if the submission is accepted. Please make sure it is accurate.

Unfunded studies

Enter: *The author(s) received no specific funding for this work.*

Funded studies

Enter a statement with the following details:

- Initials of the authors who received each award
- Grant numbers awarded to each author
- The full name of each funder
- URL of each funder website
- Did the sponsors or funders play any role in the study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript?
- **NO** - Include this sentence at the end of your statement: *The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.*
- **YES** - Specify the role(s) played.

The author(s) received no specific funding for this work.

* typeset

Competing Interests

Use the instructions below to enter a competing interest statement for this submission. On behalf of all authors, disclose any [competing interests](#) that could be perceived to bias this work—acknowledging all financial support and any other relevant financial or non-financial competing interests.

This statement **will appear in the published article** if the submission is accepted. Please make sure it is accurate. View published research articles from [PLOS NTDs](#) for specific examples.

NO authors have competing interests

Enter: *The authors have declared that no competing interests exist.*

Authors with competing interests

Enter competing interest details beginning with this statement:

I have read the journal's policy and the authors of this manuscript have the following competing interests: [insert competing interests here]

* typeset

The authors have declared that no competing interests exist.

<p>Data Availability</p> <p>Authors are required to make all data underlying the findings described fully available, without restriction, and from the time of publication. PLOS allows rare exceptions to address legal and ethical concerns. See the PLOS Data Policy and FAQ for detailed information.</p> <p>A Data Availability Statement describing where the data can be found is required at submission. Your answers to this question constitute the Data Availability Statement and will be published in the article, if accepted.</p> <p>Important: Stating 'data available on request from the author' is not sufficient. If your data are only available upon request, select 'No' for the first question and explain your exceptional situation in the text box.</p> <p>Do the authors confirm that all data underlying the findings described in their manuscript are fully available without restriction?</p>	<p>No - some restrictions will apply</p>
<p>Describe where the data may be found in full sentences. If you are copying our sample text, replace any instances of XXX with the appropriate details.</p> <ul style="list-style-type: none"> If the data are held or will be held in a public repository, include URLs, accession numbers or DOIs. If this information will only be available after acceptance, indicate this by ticking the box below. For example: <i>All XXX files are available from the XXX database (accession number(s) XXX, XXX).</i> 	<p>sapufrrj@gmail.com</p> <p>All relevant data are within the manuscript and the source of data is physically available at Setor de Anatomia Patológica, UFRRJ. There are a lot of old books of diagnostic data that were used for this survey.</p>

- If the data are all contained **within the manuscript and/or Supporting Information files**, enter the following:

All relevant data are within the manuscript and its Supporting Information files.

- If neither of these applies but you are able to provide **details of access elsewhere**, with or without limitations, please do so. For example:

Data cannot be shared publicly because of [XXX]. Data are available from the XXX Institutional Data Access / Ethics Committee (contact via XXX) for researchers who meet the criteria for access to confidential data.

The data underlying the results presented in the study are available from (include the name of the third party and contact information or URL).

- This text is appropriate if the data are owned by a third party and authors do not have permission to share the data.

* typeset

Additional data availability information:

Tick here if the URLs/accession numbers/DOIs will be available only after acceptance of the manuscript for publication so that we can ensure their inclusion before publication.

December 18th, 2019

To the editor of the PLOS Neglected Tropical Diseases,

Dear editor,

We would like to submit the manuscript: “**Syndromic surveillance of canine rabies in southeastern Brazil: A retrospective study (1949-2019)**”.

In tropical countries such as Brazil, rabies is still an eminent public health concern. The southeastern state of Rio de Janeiro had considered to cease vaccination due to budget limitations and other public health priorities. Our paper support the hypothesis that ongoing vaccination, diagnosis and epidemiology are required to support control and eradication efforts of canine transmitted rabies.

Results presented over a 70 year period are original, the manuscript is not under consideration elsewhere, and has not been previously published. All authors involved with this study have read and approved all versions of the manuscript, its content, and its submission to the PLOS Neglected Tropical Diseases.

Please, if you have any questions, do not hesitate to contact me or the other authors included in this manuscript.

Thank you very much for considering this manuscript for publication.

Sincerely,

Dr. Daniel G. Ubiali

Setor de Anatomia Patológica (SAP/UFRRJ/Brazil)

Syndromic surveillance of canine rabies in southeastern Brazil: A retrospective study (1949-2019)

Natália Braz¹, Axel Colling² & Daniel G. Ubiali¹

¹ Setor de Anatomia Patológica (SAP), Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRuralRJ), Seropédica, RJ, Brazil. ² Australian Animal Health Laboratory/CSIRO, 5 Portarlington Road, 3219 Newcomb, Victoria, Australia.

Abstract

Dog transmitted rabies in humans is considered a neglected disease in seven Latin America countries. This study aimed to monitor spatial-temporal patterns of canine rabies between 1949 and 2019. During this period, 385 dogs with syndromic patterns were diagnosed with canine rabies by histopathology and complementary exams. The last diagnosis of canine rabies was in November of 1982. Thirty-seven years of absence of disease detection support our hypothesis that implementation of vaccination campaigns together with surveillance and education efforts resulted in successfully reducing the occurrence of canine rabies in the study area and countrywide. To maintain and increase efficiency of rabies control, activities need to be supported by preventive measures including regulatory measures at local public health level.

Author Summary

Rabies is an acute viral neurological infection of humans and animals. It is usually transmitted by animal bites. After an incubation period, a variety of neurological clinical signs is associated with inflammation of brain and nerves and causes contraction of respiratory and swallowing muscles. Laboratory investigations are important to confirm a diagnosis of rabies. No effective therapy is available for canine rabies, and survivors are uncommon. Seven Latin America countries have diagnoses of humans rabies transmitted by dogs. The Brazilian southeastern state of Rio de Janeiro currently had considered to cease vaccination due to other public priorities. We evaluated spatial-temporal patterns of canine rabies between 1949 and 2019 at southeastern Brazil. During this period, 385 dogs were diagnosed with rabies and the last diagnosis was in November of 1982. The Brazilian surveillance for canine rabies control started in 80s. Our paper support the hypothesis that ongoing vaccination, diagnosis and epidemiology are required to support control and eradication efforts of canine transmitted rabies.

Introduction

Human rabies is still an important public health problem worldwide (Udow et al., 2013). Most cases are reported in resource-limited countries, where transmission to humans occurs by dog bites (Belotto et al., 2005). Hematophagous bats play a relevant role for the transmission of virus to animals and humans. Laboratory experiments indicate that insectivorous, frugivorous, omnivorous, pollinivorous, and piscivorous bats are also susceptible hosts and capable of virus transmission (Araújo et al., 2014). Studies show that there are two distinct groups of rabies virus lineages circulating among domestic dogs and wild animals, such as marmosets (*Callithrix* spp.) and foxes (*Cerdocyon thous*, *Pseudalopex vetulus*) in Brazil (Bernardi et al., 2005; Carnieli et al., 2009).

In Brazil, a direct fluorescent antibody test (DFA) and biological testing (BT) (intracerebral inoculation in newborn mice or cell cultures) represent the official diagnosis (Brasil, 2017). Histopathologically, rabies can be diagnosed by observation of lymphoplasmacytic meningoencephalitis associated with characteristic Negri bodies. In cases without inclusion bodies, immunohistochemical techniques can be used for detection of viral antigen in formalin-fixed paraffin-embedded tissues (Stein et al., 2010). This test has similar sensitivity and specificity as DFA and can be used in laboratories that do not have access to a fluorescence microscope (Coetzer et al., 2014). Polymerase chain reaction (PCR) or viral isolation are also used (Belotto et al., 2005). Previously, diagnostic techniques such as Sellers' or Faraco methods, which detect Negri bodies on impression smears of stained brain fragments, were used as preliminary tests (Tierkel and Atanasiu, 1996). Unfortunately, both tests suffer from low sensitivity and may cause false-negative results, which are not acceptable for the diagnosis of a lethal zoonotic infection. Commercial tests have shown good results when compared with the DFA reference test (Andrea Certoma et al., 2018) and even low-budget solutions such as an immunoperoxidase antigen detection test have performed well in direct comparison with other established tests (Ibnu Rahmadane et al., 2017).

Brazil have developed successful rabies control programs in dogs and humans through mass parenteral vaccination of dogs (Schneider et al., 2007). However, there are still areas endemic to the urban cycle that encompasses domestic reservoirs such as dogs and cats and contribute to the maintenance and emergence of the wild cycle, with hosts such as bats, wild dogs, foxes, and non-human primates (Genaro, 2010; Moutinho et al., 2015). At the national level from 2015 to 2018 the Brazilian Ministry of Health reported 82, 11, 14 and 9 human cases, respectively of which 65.5% (76/116) were associated with domestic dog bites (Brasil, 2019).

Efforts from the Pan American Health Organization to control rabies include mass vaccination of dogs, human pre- and post-exposure prophylaxis, improvements of disease diagnosis and strengthened surveillance. Incidence of rabies in Latin America has dramatically declined over the last few decades with about 25000 cases

in 1980 to less than 300 cases in 2010. However, notification of dog-transmitted human rabies still occurs in Brazil, Bolivia, Peru, Honduras, Haiti, Dominican Republic and Guatemala (Vigilato et al., 2013).

This study aims to provide information about the epidemiology of canine rabies based on neurologic cases diagnosed with histopathology and complementary exams.

Materials and Methods

Our study considered 4991 necropsy reports of dogs received at the *Setor de Anatomia Patológica* (SAP) of the Federal Rural University of Rio de Janeiro (UFRuralRJ) during 1949-2019. Parameters such as origin, clinical signs, and lesions were recorded. Samples from multiple organs, including brain from 4991 dogs was collected for diagnostic purposes and fixed in 10% formalin for routine histopathological processing and hematoxylin and eosin (HE) staining.

Only 577 cases presented clinical, neurological signs, which resulted in death of the dogs (Figure 1). A “rabid positive dog” (infected by *Lyssavirus*) was defined as a patient with neurological signs, with lymphoplasmacytic encephalitis and at least one positive result in Faraco, DFA or BT (Figure 1). A “rabid negative dog” was defined as having a negative result in at the three tests and absence of rabies-specific histopathological lesions.

Fresh brain tissue samples from 409 dogs with neurological signs were submitted for histochemical evaluation using the Faraco method, which resulted in 254 positive samples. Sections of small fragments of the forebrain, bulb, hippocampus and cerebellum were smeared and examined for Negri bodies. A positive reaction is characterized by neurons with acidophilic (pink/magenta), spherical-to-ovoid, cytoplasmic Negri inclusion bodies (Tierkel and Atanasiu, 1996). The remaining material was fixed in 10% formalin and submitted for histopathology. Out of 155 (Faraco negative) fresh brain tissues, 128 were positive in the DFA test, which was performed at the official veterinary service. Fresh brain tissue samples from 27 DFA negative dogs were submitted for BT test and resulted in three positive results at the official veterinary service (Figure 1).

The correlation between the incidence per year and rabid dogs was determined by Pearson’s correlation coefficient.

The spatio-temporal cases of canine rabies were analyzed using ArcGIS™ v. 10.6.1 software licensed for the *Laboratório de Pesquisas Hidrogeológicas* at *Universidade Federal do Paraná* (LPH/UFPR) (Figure 2 and 3).

Results

Between 1949 and 2019, 4991 dogs were necropsied. Neurological clinical signs were reported in 577 dogs. Rabies was confirmed by histological examination in 385. Main histological findings of rabies-infected dogs included lymphoplasmacytic meningoencephalitis and meningomyelitis. Out of 409 brain tissue samples, 254 were positive in the Faraco showing acidophilic Negri bodies. Out of 155 negative samples in the Faraco test, 128 tested positive in the DFA. Out of 27 negative brain samples tested by DFA, 3 were positive by BT. Twenty four samples, which were negative in the BT showed unspecific encephalitis (lymphoplasmacytic meningoencephalitis) and tested negative for the presence of *Lyssavirus* or positive for other infectious agents (Table 1, Figure 1).

Table 1. Relative diagnostic sensitivity of Faraco, DFA and BT tests (in order of increasing sensitivity)

Diagnostic test	Positive/Tested
Faraco	254/409
DFA	128/155
BT	3/27

DFA = direct fluorescent antibody test; BT = biological testing.

Case distribution by state was: 77.7% (299/385) cases in Rio de Janeiro state, 2.6% (10/385) in Minas Gerais state, and 1.6% (6/385) in São Paulo state. The origin of 18,1% (70/385) rabid dogs could not be established because no records were available. The municipality with the largest number of cases was Seropédica, Rio de Janeiro state, with 38.7% (149/385) (Figure 2). Examination of the prevalence and incidence per date range reveals the following distribution patterns for southeastern Brazil: 51 cases in the 1949-1960, 240 in the 1961-1970, and 94 in the 1971-1982 (Figure 3). There was a decrease in canine rabies incidence from 1949 to 2019 ($r = -0.37$).

The majority of clinical reports indicated neurological symptoms, aggressiveness or just suspicion of rabies. A total of 126 dogs were diagnosed with neurological diseases other than rabies. Canine distemper was diagnosed in 84 dogs, other inflammatory cerebral and spinal cord lesions in 17 dogs, neoplasms in 12 dogs, fracture of the skull or vertebrae in 9 dogs, hydrocephalus in 3 dogs and strychnine poisoning in one dog. Forty two dogs submitted for necropsy and histological examination were classified as “inconclusive” because no gross and microscopic lesions or because of inadequate clinical and epidemiological information or due to autolysis (Figure 1).

Discussion

During the 12th Rabies Surveillance and Control Seminar, at Águas de Lindóia, SP, Brazil, 5-7 November 2019 the Ministry of Health informed that rabies vaccine stocks in Brazil were sufficient for 30% of the canine population and would be retained for outbreaks only. The Ministry of Health further declared that distribution of vaccine will resume only in August 2020 (G1 Rio, 2019a, 2019b). The impact of this shortage and delay is particularly relevant for low-income households such as in Seropédica, RJ, where most of the rabies outbreaks occurred (Magalhães, 2019).

In this study, the largest number of cases of canine rabies were reported in the 1960's, predominantly in the state of Rio de Janeiro, because of the location of the *Setor de Anatomia Patológica* (SAP), where rabies diagnosis were carried out. Thirty-seven years of lack of disease detection support our hypothesis about the inverse correlation between the implementation and impact of vaccination campaigns, educational efforts and surveillance as preventive measures and a decreasing trend of disease occurrence in the study area and country-wide. Our observations are supported by Oliveira et al., (2010), who reported a decrease of prevalence of canine rabies in dogs from 1131 in 1981, 65 in 1985, and 2 in 1989 in Rio de Janeiro state as a consequence of successful parenteral vaccination campaigns.

In the past 20 years, Latin American countries have been able to reduce cases of human and canine rabies by approximately 90%, which proves that the disease can be monitored and significantly reduced through well planned and implemented control programs (Schneider et al., 2007; Benavides et al., 2019) such as mass vaccination of dogs and prophylactic treatment of exposed humans (Belotto et al. 2005). Data from the Brazilian Ministry of Health show a linear reduction of rabies in humans after the implementation of vaccination campaigns in dogs (Brasil, 2019). Nevertheless, 39 human cases were diagnosed in the Americas in 2002 and 63% of them were transmitted by dogs (Belotto et al., 2005). Furthermore, poor seroconversion after vaccination is a global problem as examples from Brazil (Polo et al., 2013), Colombia (Trujillo-Rojas et al., 2018), and Rwanda (Ntampaka et al., 2019) indicate. Vaccines must contain sufficient antigen and quality to induce adequate immune response in dogs to provide protection from infection (Moore, 2019).

Control of rabies through mass vaccination has been successful in a number of different endemic situations (Hampson et al., 2015; Mello et al., 2019). In Brazil an average of 255/100,000, canine bite-injuries/people are reported on a yearly basis. Effective training of public health workers, who are responsible for delivering post-exposure prophylaxis in humans as an integrated bite-case-management approach in humans is of utmost importance (Benavides et al., 2019). The high dog-to-household ratio and increased numbers of stray-dogs are important factors that contribute to the epidemiology of the disease. Factors that decrease the efficiency of control activities for urban rabies are the lack of knowledge about the real numbers of dog and cat populations, as observed in several municipalities of the state of Rio de Janeiro (Moutinho et al., 2015). In addition, the percentage of rabies tests carried out in dogs and cats in the state and in the city of Rio de Janeiro is far below the WHO recommended 75% to ensure epidemiological surveillance in dogs (Martins et al., 2015).

The results of this study are consistent with those of other important Brazilian surveys on neurological canine diseases, demonstrating that canine rabies was not diagnosed from 1983 to 2019, and that canine distemper was the main diagnosed neurologic disease in this period. These results corroborate other studies in Latin America, where canine distemper is considered an important disease that affects the nervous system of dogs (Chaves et al., 2014; Frade et al., 2018; Silva et al., 2007). However, the last canine rabies was diagnosed at Rio de Janeiro state in 2001 (Oliveira et al., 2010).

In Brazil, every year \$ US 60 million are spent on human rabies prevention (Martins et al., 2015). The US Center for Disease Control and Prevention (CDC) estimates that in the US alone over \$ US 300 million are spent annually for the prevention, detection and control of rabies (Miller et al., 2013). Vaccination of dogs and cats, population control, and education are the pillars of effective disease control (Moore, 2019). With 59000 human cases worldwide and per year national health authorities in countries with high rabies incidence need to keep on developing consensus on the efficient implementation of simplified, cost-effective, and logistically feasible regimens for rabies prophylaxis on the basis of revised WHO guidelines (Pattanaik and Mani, 2019).

Rabies is the deadliest disease of bovines in Brazil (Galiza et al., 2010; Ribas et al., 2013; Rondelli et al., 2017; Sanches et al., 2000; Teixeira et al., 2008; Terra et al., 2018; Santos et al., 2019). Phylogenetic analysis suggested that bovine rabies in southeastern Brazil has lineages composed of Brazilian rabies viruses isolated from clusters of humans, dogs, cats and pigs, as well as livestock and hematophagous and non-hematophagous bats (Garcia et al., 2014). These data indicate that surveillance of rabies in susceptible species other than dogs is of importance for improved public health, (Miller et al., 2013; Polo et al., 2013; Appolinário et al., 2015; Martins et al., 2015) and a high priority for the "One Health" initiative (Kelly et al., 2017). Further, continent-wide cooperation is required in the Americas to secure the regional elimination of human rabies transmitted by dogs (Vigilato et al., 2013).

Acknowledgment. To Cássio de Almeida Pires from *Laboratório de Pesquisas Hidrogeológicas at Universidade Federal do Paraná*, for technical assistance with maps.

References

- Abela-Ridder, B., Knopf, L., Martin, S., Taylor, L., Torres, G., De Balogh, K., 2016. 2016: the Beginning of the End of Rabies? *The Lancet Global Health* 4, e780–e781. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(16\)30245-5](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(16)30245-5)
- Appolinário, C., Allendorf, S.D., Vicente, A.F., Ribeiro, B.D., Fonseca, C.R., Antunes, J.M., Peres, M.G., Kotait, I., Carrieric, M.L., Megid, J., 2015. The Brazilian Journal of Infectious Diseases Fluorescent antibody test, quantitative polymerase chain reaction pattern and clinical aspects of rabies virus strains isolated from main reservoirs in Brazil. *Journal of Infectious Diseases* 19, 479–485
- Araújo, J.L., Nascimento, E.M., Dantas, A.F.M., Galiza, G.J.N., Pedroso, P.M.O., Silva, M.L.C.R., Riet-Correa F., 2014. Rabies in the Insectivorous Pallas's Mastiff Bat (*Molossus molossus*) in Northeastern Brazil. *Journal of Wildlife Diseases* 50, 883–886. <https://doi.org/10.7589/2013-11-314>
- Belotto, A., Leanes, L.F., Schneider, M.C., Tamayo, H., Correa, E., 2005. Overview of rabies in the Americas. *Virus Research* 111, 5–12. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2005.03.006>
- Benavides, J.A., Megid, J., Campos, A., Rocha, S., Vigilato, M.A.N., Hampson, K. 2019. An evaluation of Brazil's surveillance and prophylaxis of canine rabies between 2008 and 2017. *PLoS Negl Trop Dis* 13(8): e0007564.
- Bernardi, F., Nadin-Davis, S.A., Wandeler, A.I., Armstrong, J., Gomes, A.A.B., Lima, F.S., Nogueira, F.R.B., Ito, F.H., 2005. Antigenic and genetic characterization of rabies viruses isolated from domestic and wild animals of Brazil identifies the hoary fox as a rabies reservoir. *Journal of General Virology* 86, 3153–3162. <https://doi.org/10.1099/vir.0.81223-0>
- Blanton, J.D., Dyer, J., Jesse, M., Rupprecht, C.E., 2012. Rabies surveillance in the United States during 2011. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 241, 712–722. <https://doi.org/10.2460/javma.253.12.1555>
- Brasil, 2017. Ministério da Saúde. Guia de vigilância epidemiológica. Brasília.
- Carnieli, P., Castilho, J.G., Fahl, W. de O., Vêras, N.M.C., Carrieri, M.L., Kotait, I., 2009. Molecular characterization of Rabies Virus isolates from dogs and crab-eating foxes in Northeastern Brazil. *Virus Research* 141, 81–89. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2008.12.015>
- Certoma, A., Lunt R. A., Vosloo W., Smith I., Colling A, Williams D. T., Tran T., Blacksell S. D. Assessment of a Rabies Virus Rapid Diagnostic Test for the Detection of Australian Bat Lyssavirus. *Tropical medicine and infectious disease* 3, 109. <https://doi.org/10.3390/tropicalmed3040109>
- Chaves, R.O., Beckmann, D.V., Passos, R., Aiello, G., Andrades, A.O., Baumhardt, R., Barbieri, L., Mazzanti, A., 2014. Doenças neurológicas em cães atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Santa Maria, RS. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 34, 996–1001.
- Coetzer, A., Sabeta, C.T., Markotter, W., Rupprecht, C.E., Nel, L.H. 2014. Comparison of biotinylated monoclonal and polyclonal antibodies in an evaluation of a direct rapid immunohistochemical test for the routine diagnosis of rabies in southern Africa. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 8, e3189. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003189>
- Frade, M.T.S., Ferreira, J.S., Nascimento, M.J.R., Aquino, V.V.F., Macêdo, I.L., Carneiro, R.S., Souza, A.P., Dantas, A.F.M., 2018. Doenças do sistema nervoso central em cães 1 38, 935–948. <https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-5100>
- G1 Rio, 2019a. Campanha de vacinação contra a raiva em animais é adiada para dezembro no Rio. September, 2, 2019. Accessed in: <https://g1.globo.com/rj/rio-de-janeiro/noticia/2019/09/02/campanha-de-vacinacao-contra-a-raiva-em-animais-e-adiada-para-dezembro-no-rio.ghtml>
- G1 Rio, 2019b. Sem repasse de vacinas, São Carlos e Araraquara suspendem campanha contra raiva pela 2ª vez. November, 27, 2019. Accessed in: <https://g1.globo.com/sp/sao-carlos-regiao/noticia/2019/11/27/sem-repasse-de-vacinas-sao-carlos-e-araraquara-suspendem-campanha-contra-raiva-pela-2a-vez.ghtml>
- 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. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 30, 267–276.
- Garcia, A.I.E., Peixoto, Haila C, Silva, Sheila O, Polo, Gina, Ana, J., Brandão, Paulo E, Cunha, E.M., Richtzenhain, L.J., I, A.E.G.A., Peixoto, H C, Silva, S O, Polo, G, Alves, A.J., Brandão, P E, 2014. Phylogenetic analysis of rabies virus isolated from herbivores in Minas Gerais and São Paulo border (2000-2009), Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 34, 1196–1202.
- Genaro, G., 2010. Gato doméstico: Futuro desafio para controle da raiva em áreas urbanas? *Pesquisa Veterinária Brasileira* 30, 186–189.
- Hampson, K., Coudeville, L., Lembo, T., Sambo, M., Kieffer, A., Attlan, M., Barrat, J., Blanton, J.D., Briggs, D.J., Cleaveland, S., Costa, P., Freuling, C.M., Hiby, E., Knopf, L., Leanes, F., Meslin, F., Metlin, A., Miranda, M.E., Müller, T., Nel, L.H., Recuenco, S., Rupprecht, C.E., Schumacher, C., Taylor, L., Antonio, M., Vigilato, N., Zinsstag, J., 2015. Estimating the Global Burden of Endemic Canine Rabies. *PLoS Neglected Tropical Disease* 16, e0003709. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003709>
- Kaare, M., Lembo, T., Hampson, K., Ernest, E., Estes, A., Mentzel, C., Cleaveland, S., 2009. Rabies control in rural Africa: Evaluating strategies for effective domestic dog vaccination. *Vaccine* 27, 152–160. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2008.09.054>
- Kelly, T.R., Karesh, W.B., Kreuder, C., Gilardi, K.V.K., Anthony, S.J., Goldstein, T., Olson, S.H., Machalaba, C., Consortium, P., Mazet, J.A.K., 2017. One Health proof of concept: Bringing a transdisciplinary approach to

- surveillance for zoonotic viruses at the human-wild animal interface 137, 112–118. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2016.11.023>
- Magalhães, M.I. Por falta de vacina, Rio não terá campanha nacional de vacinação gratuita contra raiva. August, 30, 2019. Accessed in: <https://odia.ig.com.br/colunas/e-o-bicho/2019/08/5677008-por-falta-de-vacina--riao-nao-tera-campanha-nacional-de-vacinacao-gratuita-contra-raiva.html#foto=1>
- Martins, V.B., Oliveira, F.G., Dias, A.V.A.B., Moreira, W.C., 2015. Avaliação do diagnóstico laboratorial do programa de controle da raiva urbana no Rio de Janeiro, Brasil entre 2002-2011. *Vigilância Sanitária em Debate* 3, 56–63. <https://doi.org/10.3395/2317-269x.00245>.
- Mello, A.K.M., Brumatti, Ricardo C, Neves, Danielle A, Alcântara, Lilian O B, Araújo, Fábio S, Gaspar, Alberto O, Lemos, R.A.A., 2019. Bovine rabies: economic loss and its mitigation through vaccination. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 39, 179–185. <https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-6201>
- Miller, R.S., Farnsworth, M.L., Malmberg, J.L., 2013. Diseases at the livestock – wildlife interface : Status , challenges, and opportunities in the United States. *Preventive Veterinary Medicine* 110, 119–132. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2012.11.021>
- Moore, S.M., 2019. Rabies Current Preventive Strategies. *The Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice* 49, 629–641 <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2019.02.014>
- Moutinho, F.F.B., Nascimento, E.R. do, Paixão, R.L., 2015. Raiva no Estado do Rio de Janeiro, Brasil: análise das ações de vigilância e controle no âmbito municipal. *Ciência & Saúde Coletiva* 20, 577–586. <https://doi.org/10.1590/1413-81232015202.02352014>
- Ntampaka, P., Nyaga, P.N., Gathumbi, J.K., Tukei, M., 2019. Rabies serosurvey of domestic dogs in Kigali City , Rwanda. *Journal of Veterinary Medicine and Animal Health* 11, 64–72. <https://doi.org/10.5897/JVMAH2018.0742>
- Oliveira, A.S.S., Bezerra, F.F.M., Azevedo, M., Carvalho, S.C., 2010. Descrição do perfil epidemiológico da raiva no estado do Rio de Janeiro no período de 1981 a 2007. Descrição do perfil epidemiológico da raiva no Estado do Rio de Janeiro no período de 1981 a 2007. *Revista Rede de Cuidados em Saúde* 4, 1-12.
- Pattanaik, A., Mani, R.S., 2019. WHO's new rabies recommendations: implications for high incidence countries. *Current Opinion in Infectious Diseases* [Epub ahead of print]
- Polo, G., Acosta, C.M., Dias, R.A., 2013. Spatial accessibility to vaccination sites in a campaign against rabies in São Paulo city, Brazil. *Preventive Veterinary Medicine* 111, 10–16. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2013.03.010>
- Rahmadane, I., Certoma, A. F., Peck, G. R., Fitria, Y., Payne, J., Colling, A., Shiell, B. J., Beddome, G., Wilson, S., Yu, M., Morrissy, C., Michalski, W. P., Bingham, J., Gardner I. A., Allen, J. D. Allen. 2017. Development and validation of an immunoperoxidase antigen detection test for improved diagnosis of rabies in Indonesia. *PLoS neglected tropical diseases* 11, e0006079. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006079>
- Ribas, N.L.K.S., Carvalho, R.I., Santos, A.C., Valençuela, R.A, Gouveia, A.F, Castro, M.B., Mori, A.E., Lemos, R.A.A., 2013. Doenças do sistema nervoso de bovinos no Mato Grosso do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 33, 1183–1194.
- Rondelli, L.A.S., Silva, G.S, Bezerra, K.S, Rondelli, A.L.H., Lima, S.R., Furlan, F.H., Pescador, C.A., Colodel, E.M., 2017. Doenças de bovinos em Mato Grosso diagnosticadas no Laboratório de Patologia Veterinária da UFMT (2005-2014). *Pesquisa Veterinária Brasileira* 37, 432–440.
- Sanches, A.W.D., Langohr, I.M., Stigger, A.L., Barros, C.S.L., 2000. Doenças do sistema nervoso central em bovinos no Sul do Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 20, 113–118.
- Santos, B.L., Bruhn, F.R.P., Coelho, A.C.B., Estima-Silva, P., Echenique, J.Z., Sallis, E.S.V., Schild, A.L., 2019. Epidemiological study of rabies in cattle in southern Brazil: spatial and temporal distribution from 2008 to 2017. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 39, 460–468.
- Schneider, M.C., Belotto, A., Adé, M.P., Hendrckx, S., Leanes, L.F., Rodrigues, M.J.F., Medina, G., Correa, E., 2007. Current status of human rabies transmitted by dogs in Latin America Raiva humana transmitida por caninos: situação atual na América Latina. *Cadernos de Saúde Pública* 23, 2049–2063.
- Silva, M.C., Figuera, R.A., Brum, J.S., Graça, D.L., Kommers, D., Irigoyen, L.F., 2007. Aspectos clinicopatológicos de 620 casos neurológicos de cinomose em cães. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 27, 215–220.
- Stein, L.T., Rech, R.R., Harrison, L., Brown, C.C., 2010. Immunohistochemical study of rabies virus within the central nervous system of domestic and wildlife species. *Veterinary Pathology* 47, 630–636. <https://doi.org/10.1177/0300985810370013>
- Tang, X., Luo, M., Zhang, S., Fooks, A.R., Hu, R., Tu, C., 2005. Pivotal role of dogs in rabies transmission, China. *Emerging Infectious Disease* 11, 11–13.
- Tasiame, W., Johnson, S., Burimuah, V., Akyereko, E., Amemor, E., 2019. Dog population structure in Kumasi, Ghana: a missing link towards rabies control. *PanAfrican Medical Journal* 33, 1–11. <https://doi.org/10.11604/pamj.2019.33.13.18284>
- Teixeira, T.F., Holz, C.L., Caixeira, S.P.M.B., Dezen, D., Cibulski, S.P., Silva, J.R., Rosa, J.C.A., Schmidt, E., Ferreira, J.C., Batista, H.B.C.R., Franco, A.C., Roehe, P.M., 2008. Diagnóstico de raiva no Rio Grande do Sul, Brasil, de 1985 a

2007. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 28, 515–520.
- Terra, J.P., Blume, Guilherme R, Rabelo, Rogério E, Medeiros, Jussara T, Rocha, Caio G N, Chagas, Imara N, Aguiar, M.S., Ana, F.J.F.D.S., P, A.T.J., Blume, G R, Rabelo, R E, Medeiros, J T, Rocha, C G N, Chagas, I N, 2018. Neurological diseases of cattle in the state of Goiás. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 38, 1752–1760. <https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-5768>
- Tierkel, E.S., Atanasiu P. 1996. Rapid microscopic examination for Negri bodies and preparation of specimens for biological tests. In: Meslin FX, Kaplan MM, Koprowski H, editores. *Laboratory techniques in rabies*, 4th ed. Geneva: World Health Organization; p. 55-65.
- Trujillo-Rojas, L.M., Martínez-Gutierrez, M., Ruiz-Saenz, J., 2018. Low level of the immune response against rabies virus in dogs and cats, a cross-sectional study in sheltered animals, Santander, Colombia. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 38, 2117–2123. <https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-5997>
- Udow, S.J., Marrie, R.A., Jackson, A.C., 2013. Clinical features of dog- and bat-acquired rabies in humans. 57, 689–696. <https://doi.org/10.1093/cid/cit372>
- Vigilato, M.A.N., Clavijo, A., Knobl, T., Silva, H.M.T., Cosivi, O., Schneider, M.C., Leanes, L.F., Belotto, A.J., Espinal, M.A., 2013. Progress towards eliminating canine rabies: policies and perspectives from Latin America and the Caribbean. *Phil Trans R Soc B* 368: 20120143.
- World health organization (WHO). WHO expert consultation on rabies - 2005. [accessed on May, 16 2019]. http://www.who.int/rabies/trs931_%2006_05.pdf

Figure 1. Flowchart of canine rabies test algorithm.

Figure 2. Frequency of cases of canine rabies diagnosed in southeastern region of Brazil (1949-1982).

Figure 3. Spatial-temporal distribution of canine rabies diagnosed in southeastern region of Brazil (1949-1982).

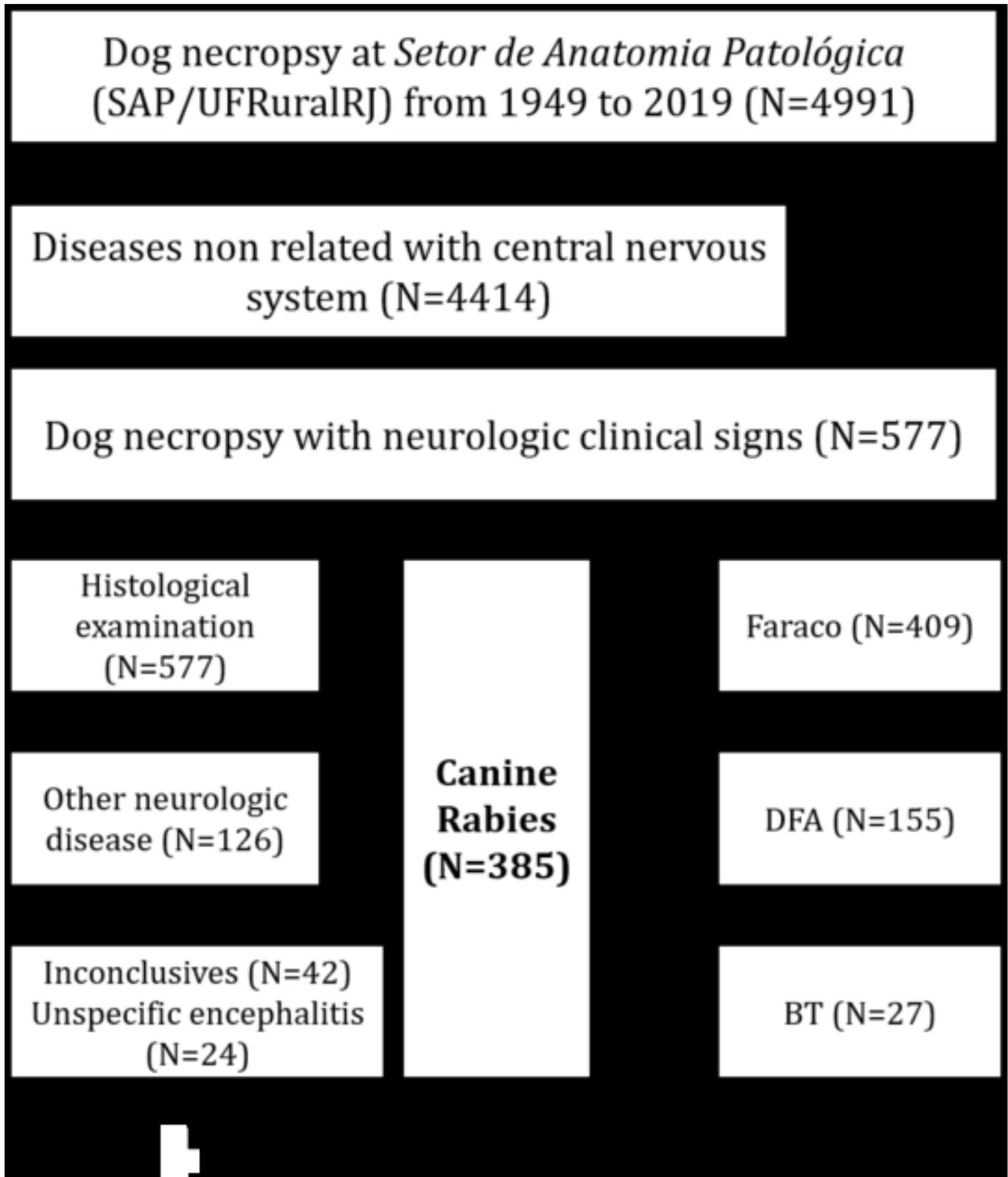


Figure 2. Map Cases

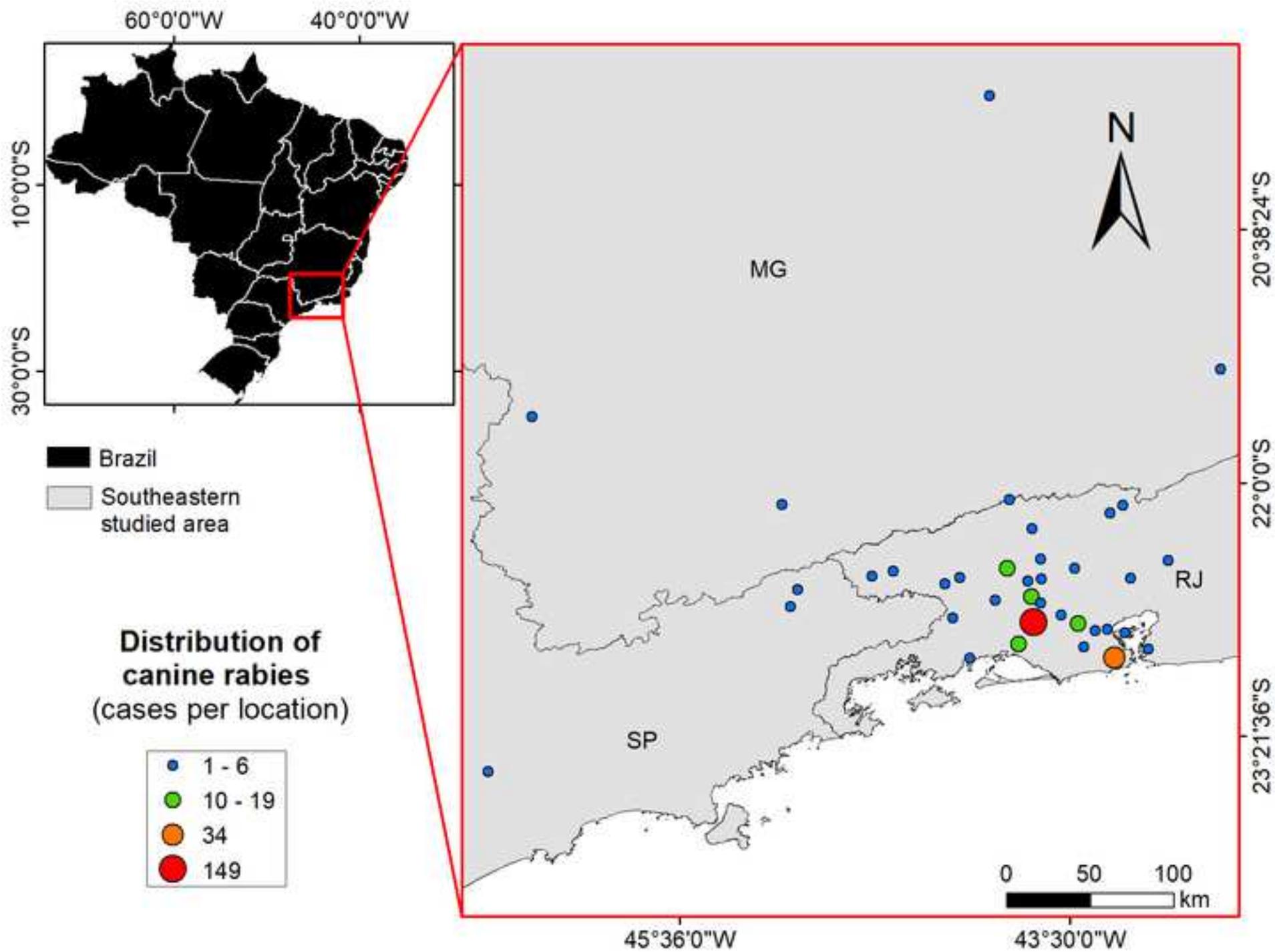
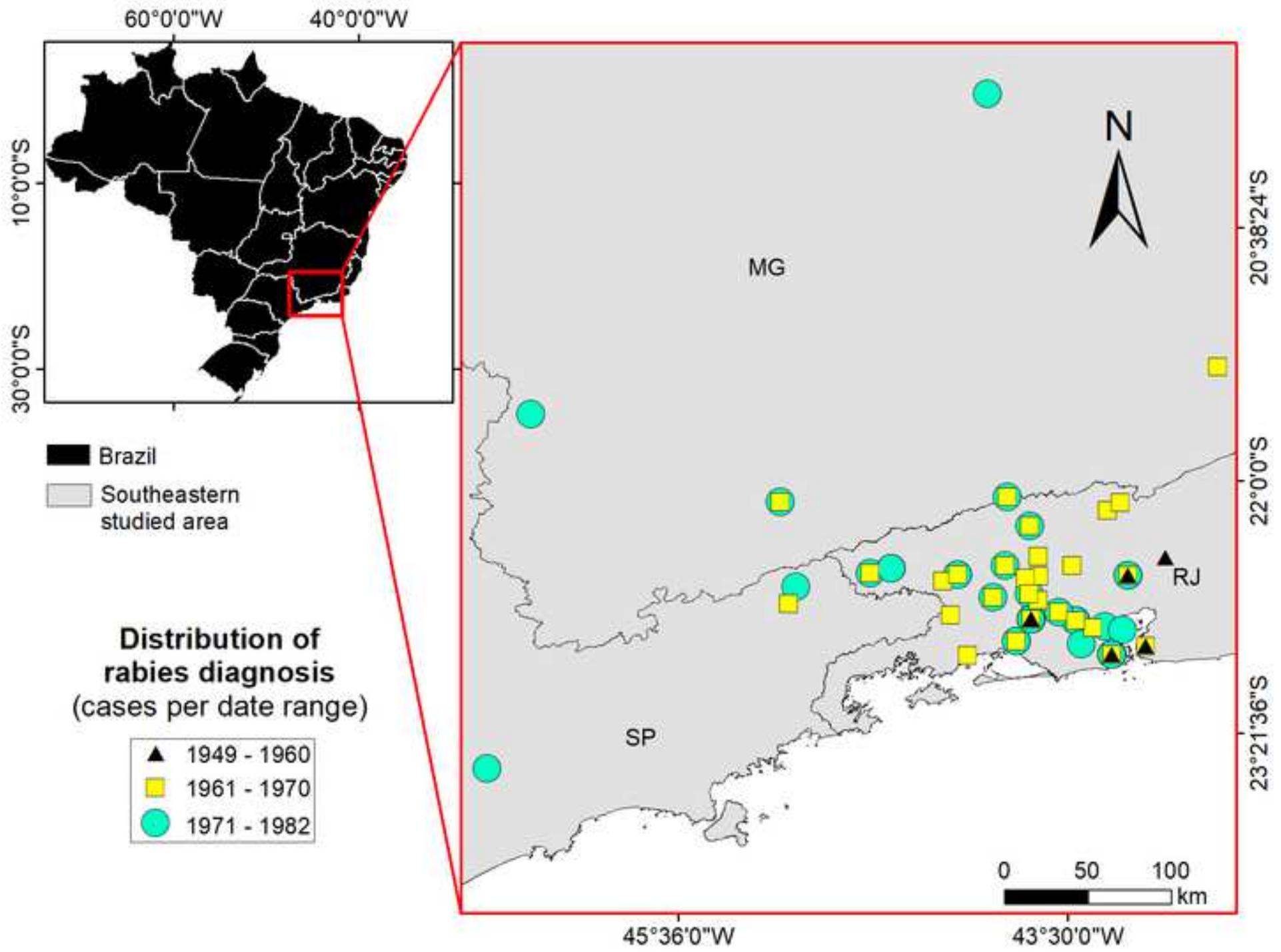


Figure 3. Map Dates





UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
DEPARTAMENTO DE EPIDEMIOLOGIA E SAÚDE PÚBLICA
SETOR DE ANATOMIA PATOLÓGICA

(21) 2682-2805
<http://institucional.ufrrj.br/sap/>

SOLICITAÇÃO DE EXAME DIAGNÓSTICO

DATA ___ / ___ / ___

Espécie	Veterinário:
Nome/número:	CRMV/RJ:
Raça:	Fone:
Sexo:	E-mail:
Idade:	Proprietário:
Pelagem:	Município:
RG HVPA:	Fone:
Data e hora da morte:	E-mail:
Natural <input type="checkbox"/> Eutanásia <input type="checkbox"/>	
Data e hora da necropsia:	

HISTÓRICO CLÍNICO:

EXAME SOLICITADO: Necropsia Histopatologia Citologia

SUSPEITA:

CONTATO PARA ENVIO DE RESULTADO:

Laudos serão emitidos apenas mediante pagamento. Prazo para envio de resultados: 10 dias úteis.

Assinatura do solicitante

Setor de Anatomia Patológica, BR 465, Km 7, Anexo 1 do Instituto de Veterinária 23890-000, UFRRJ, Seropédica/RJ