

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

DOENÇAS INFLAMATÓRIAS BACTERIANAS QUE AFETAM O SISTEMA  
NERVOSO DE RUMINANTES NO RIO GRANDE DO SUL

GUILHERME KONRADT

PORTO ALEGRE

2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

DOENÇAS INFLAMATÓRIAS BACTERIANAS QUE AFETAM O SISTEMA  
NERVOSO DE RUMINANTES NO RIO GRANDE DO SUL

GUILHERME KONRADT

Dissertação apresentada como requisito para a  
obtenção do grau de Mestre em Ciências  
Veterinárias na área de concentração em  
Cirurgia, Morfologia e Patologia Animal, da  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Orientador: Prof. Dr. Saulo Petinatti Pavarini

PORTO ALEGRE

2016

## CIP - Catalogação na Publicação

Konradt, Guilherme

DOENÇAS INFLAMATÓRIAS BACTERIANAS QUE AFETAM O SISTEMA NERVOSO DE RUMINANTES NO RIO GRANDE DO SUL / Guilherme Konradt. -- 2016.  
39 f.

Orientador: Saulo Petinatti Pavarini.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre, BR-RS, 2016.

1. Doenças de ruminantes . 2. Neuropatologia . 3. listeriose. 4. leptomeningite/meningoencefalite supurativa. 5. abscessos cerebrais e medulares . I. Pavarini, Saulo Petinatti, orient. II. Título.

Guilherme Konradt

DOENÇAS INFLAMATÓRIAS BACTERIANAS QUE AFETAM O SISTEMA  
NERVOSO DE RUMINANTES NO RIO GRANDE DO SUL

Aprovada em 06 de Setembro de 2016.

APROVADA POR:

---

Prof. Dr. Saulo Petinatti Pavarini  
Orientador e Presidente da Comissão

---

Prof. Dr. David Driemeier  
Membro da Comissão

---

Prof. Dr. Claudio Severo Lombardo de Barros  
Membro da Comissão

---

Prof. Dr<sup>a</sup> Luciana Sonne  
Membro da Comissão

## AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus pela vida, saúde e proteção ao longo da minha vida.

Agradeço em especial ao meu pai Daltro Luis Konradt, minha mãe Loreni Teresinha Konradt e ao meu irmão Felipe Konradt, por todo o apoio, amor, dedicação, incentivo e educação ao longo destes anos.

Ao meu orientador, professor Saulo Petinatti Pavarini pela oportunidade, pela confiança, pelo entusiasmo e dedicação atribuída ao desenvolvimento deste trabalho.

Ao professor David Driemeier e a professora Luciana Sonne pelos ensinamentos, pela amizade e pela dedicação ao longo deste período de mestrado no Setor de Patologia Veterinária.

Um agradecimento em especial a minha noiva Daniele Mariath Bassuino pelo amor, companheirismo, dedicação, amizade e pela ajuda ao longo desta etapa em minha vida.

Um agradecimento aos amigos Fernando Reimann, Matheus Viezzer Bianchi, Suyene Oltramari, Claudio Laisse, Marina Lorenzett, Raquel Sales, Welden Panziera pela amizade, carinho, ajuda, incentivo, paciência e por todo apoio nos momentos difíceis.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de mestrado.

***“ Não sei se é longe ou se é perto, só sei que é certo correr atrás de um sonho, mesmo que esteja distante, pois em um instante, a estrada se alarga e o coração encontra a carga, quando o sonho é brasa que aquece a alma”.***

## Resumo

Distúrbios do sistema nervoso central (SNC) em ruminantes abrangem um importante grupo de enfermidades responsáveis por grandes perdas econômicas em todo o mundo. As principais doenças neurológicas causadas por bactérias em ruminantes e que envolvem processos inflamatórios incluem listeriose, leptomeningites e meningoencefalites supurativas, abscessos cerebrais e medulares, empiema basilar e neurotuberculose. Esta dissertação teve por objetivo a caracterização epidemiológica, patológica, microbiológica e imuno-histoquímica das doenças inflamatórias de origem bacteriana que afetam o SNC de ruminantes no Rio Grande do Sul. Foi realizado um estudo retrospectivo no período compreendido entre janeiro de 1996 a dezembro de 2015, onde um total de 3.274 bovinos, 596 ovinos e 391 caprinos foram avaliados. Destes, 219 bovinos, 21 ovinos e sete caprinos foram diagnosticados com doenças inflamatórias no SNC. As doenças neurológicas inflamatórias de origem bacteriana totalizaram 60 casos divididos em 34 bovinos, 19 ovinos e sete caprinos, os quais foram subdivididas em: meningoencefalite por *L. monocytogenes* (oito ovinos, cinco caprinos e quatro bovinos), leptomeningite e meningoencefalite supurativa (14 bovinos, dois caprinos e um ovino), abscessos cerebrais (seis bovinos e dois ovinos) e medulares (sete ovinos), empiema basilar (quatro bovinos e um ovino) e neurotuberculose (seis bovinos). O exame imuno-histoquímica foi realizado em todos os casos diagnosticados com listeriose (anticorpo anti-*L. monocytogenes*), meningite e meningoencefalite supurativa (anticorpo anti-*Escherichia coli*) e neurotuberculose (anticorpo anti-*Mycobacterium tuberculosis*). A meningoencefalite por *L. monocytogenes* representou a principal enfermidade neurológica em ovinos e caprinos, seguido dos abscessos medulares em ovinos. Nos bovinos, a leptomeningite e meningoencefalite supurativa foi a doença neurológica mais prevalente para a espécie, frequentemente relacionada com a falha na transmissão da imunidade passiva. O empiema basilar, frequentemente diagnosticado em bezerras, está diretamente relacionado com o manejo do desmame interrompido através da utilização de tabletas nasais. A neurotuberculose causada por *Mycobacterium* spp. é uma importante doença neurológica em bovinos jovens e deve ser considerada como diagnóstico diferencial de doenças neurológicas. Dos dados analisados neste período, as doenças neurológicas inflamatórias bacterianas representaram um total de 24,3% entre as doenças neurológicas inflamatórias diagnosticadas neste período e, com isso, conclui-se que representam importantes causas de mortalidade para os ruminantes domésticos.

**Palavras chaves:** doenças de ruminantes, neuropatologia, doenças bacterianas, meningites, listeriose, empiema basilar, neurotuberculose, abscessos cerebrais e medulares.

## Abstract

*Central nervous system (CNS) diseases are worldwide economically important conditions in ruminants. The main neurological bacterial diseases which involve inflammation in ruminants are listeriosis, suppurative leptomeningitis and meningoencephalitis, brain and spinal cord abscesses, basilar empyema and neurotuberculosis. This study aim to describe the epidemiological, pathological, microbiological and immunohistochemical findings of the bacterial inflammatory diseases that affect the CNS of ruminants in Rio Grande do Sul state. A retrospective study was performed from January 1996 to December 2015, during which samples of 3.274 cattle, 596 sheep and 391 goats were evaluated. Of these, 219 cattle, 21 sheep and seven goats were diagnosed with inflammatory diseases affecting the CNS. The neurological inflammatory bacterial diseases accounted for 60 cases, which corresponded to 34 cases in cattle, 19 in sheep and seven in goats. These were further subdivided in: meningoencephalitis by *L. monocytogenes* (eigth sheep, five goats and four cattle), suppurative leptomeningitis and meningoencephalitis (14 cattle, two goats and one sheep), brain abscesses (six cattle and two sheep) and spinal cord (seven sheep), basilar empyema (four cattle and one sheep) and neurotuberculosis (six cattle). Immunohistochemical exam was performed in all cases diagnosed as listeriosis (antibody anti-*L. monocytogenes*), as suppurative leptomeningitis and meningoencephalitis (antibody anti-*E. coli*), and as neurotuberculosis (antibody anti-*Mycobacterium tuberculosis*). *L. monocytogenes* meningoencephalitis was the main neurological disease in sheep and goats, followed by spinal cord abscesses in sheep. In cattle, suppurative leptomeningitis and meningoencephalitis was the most frequent neurological disease, and its ocorrunce is related to the failure in passive immunity transmission. Basilar empyema is frequently diagnosed in calves and is directly related to early weaning handling through the use of nose-flaps. Neurotuberculosis caused by *Mycobacterium spp.* is an important neurological disease in young cattle and should be consired as a differential diagnosis of granulomatous meningoencephalitis. During the described period, neurological inflammatory bacterial diseases accounted for 24.3% of the neurological inflammatory diseases, and, thus, these are important causes of death in domestic ruminants.*

**Key words:** diseases ruminants, neuropathology, bacterial diseases, meningitis, listeriosis, basilar empyema, neurotuberculosis, brain and spinal abscesses.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>8</b>
	REFERÊNCIAS.....	11
	ARTIGO 1 .....	14
	ARTIGO 2 .....	32
<b>2</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>39</b>



## 1 INTRODUÇÃO

Distúrbios do sistema nervoso central (SNC) em ruminantes abrangem um importante grupo de enfermidades responsáveis por grandes perdas econômicas em todo o mundo. Em um levantamento realizado no Rio Grande do Sul, cerca de 10% de um total 6.021 bovinos necropsiados apresentaram sinais neurológicos (SANCHES et al., 2000). Já em um estudo no estado do Mato Grosso do Sul 47,38% dos bovinos necropsiados apresentam sinais neurológicos (MORI; LEMOS, 1998). A importância do estudo dessas enfermidades cresceu desde o surgimento da encefalopatia espongiforme transmissível dos bovinos em meados da década de 80 (WELLS et al., 1987) e sua importância ainda mais salientada a partir de sua correlação com uma nova variante da doença de Creutzfeldt-Jakob (CJD) na Inglaterra (WILL et al., 1996, ALMOND; PATTINSON, 1997).

O termo inflamação abrange processos reativos resultantes de uma injúria tecidual, caracterizando-se por lesões com intensa participação do sistema imune (CANTILE; YOUSSEF, 2016). A evidência morfológica da inflamação no SNC é representada pelo acúmulo de células inflamatórias nas leptomeninges, nos espaços perivasculares e no neurópilo. Grande parte destas lesões está associada a doenças infecciosas ou ainda resultantes de alterações no sistema imune (VANDEVELDE; HIGGINS; OEVERMANN, 2012). Diferente de outros órgãos parenquimatosos, o encéfalo depende unicamente da imunidade inata residente para reconhecer e eliminar os possíveis patógenos invasores (CANTILE; YOUSSEF, 2016). O SNC está protegido pelo perióstio e dura-máter de penetrações diretas de infecções; tais barreiras são extremamente eficientes, mas tornam-se suscetíveis quando em presença de processos piogênicos nos tecidos adjacentes (GRAÇA et al., 2016).

As bactérias podem chegar ao SNC por diferentes vias, uma delas é através do fluxo axonal retrógrado pelos nervos craniais ou periféricos, como é a via de acesso da *Listeria monocytogenes* (GRAÇA et al., 2016). Ainda, por via hematogênica, extensão direta, trauma e via iatrogênica (GRAÇA et al., 2016, CANTILE; YOUSSEF, 2016).

A listeriose é uma enfermidade infecciosa que afeta diversas espécies animais, porém ruminantes parecem ser mais suscetíveis (SCHILD, 2007). O principal agente é a bactéria gram-positiva *Listeria monocytogenes*, a qual sobrevive em locais com matéria vegetal em degradação (GRAÇA et al. 2016). São reconhecidas três formas da doença: a

forma septicêmica, com a formação de abscessos em múltiplas vísceras; forma reprodutiva, com aborto, metrite e placentite em bovinos e ovinos; e a forma neurológica, com meningoencefalite (SCHILD, 2007). Essa ocorre, quase exclusivamente, em ruminantes adultos, e sua patogênese, é parcialmente compreendida (CANTILE; YOUSSEF, 2016). A evolução da doença é de sete a 14 dias e os sinais clínicos refletem lesão inflamatória do tronco encefálico (GRAÇA et al, 2016). Lesões macroscópicas, geralmente, não são observadas (CANTILE; YOUSSEF, 2016), mas as leptomeninges podem estar hiperêmicas e opacas, além de em alguns casos serem observados pequenos focos de malacia no neurópilo (GRAÇA et al., 2016), com a formação de numerosos microabscessos na histopatologia (SCHILD, 2007).

A meningite refere-se à inflamação das meninges (ZACHARY, 2013), e pode ser classificada pela duração (aguda ou crônica), estruturas afetadas (meningite, meningoencefalite ou meningoventriculite), localização, causa ou tipo de infiltrado inflamatório presente (FECTEAU; GEORGE, 2004). Em animais, a meningite é comumente causada por bactérias, como *Escherichia coli* e *Streptococcus* spp., as quais atravessam as leptomeninges e o espaço subaracnoide pela via hematogênica (FECTEAU; SMITH; GEORGE, 2009, ZACHARY, 2013). Acometem ruminantes jovens, devido à falha na transmissão de imunidade passiva, provocada pela inadequada ingestão de colostro, desnutrição e infecções virais concomitantes (FECTEAU; SMITH; GEORGE, 2009).

Os abscessos no SNC ocorrem, principalmente, em animais jovens com menos de um ano de idade (SCHILD, 2007, GRAÇA et al., 2016), e ocasionalmente afetam animais mais velhos (RADOSTITS et al., 2007). São incomuns, mas surgem após a entrada de uma bactéria no SNC por extensão direta ou pela via hematogênica (ZACHARY, 2013). As espécies mais afetadas são ovinos, caprinos e bovinos, porém suínos e potros também podem ser afetados (GRAÇA et al., 2016). Doenças que causam bacteremia ou septicemia resultam em agentes infecciosos presos no leito vascular no interior do SNC (encéfalo e medula espinhal) e meninges (FERNANDES; SCHILD, 2007, ZACHARY, 2013). As bactérias piogênicas mais envolvidas são *Trueperella pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus* spp., *Fusobacterium necrophorum* e *Pseudomonas* spp (FERNANDES; SCHILD, 2007, GRAÇA et al., 2016). Especialmente em cordeiros, a osteomielite e os abscessos na medula espinhal, podem ser consequência de onfaloflebites, feridas de castração ou ainda relacionados com a prática de caudectomia (FERNANDES; SCHILD, 2007, RISSI et al., 2010).

Tuberculose é uma doença infecto-contagiosa crônica caracterizada pelo desenvolvimento de granulomas (COUSINS et al., 2004). Em bovinos, é causada pelo bacilo álcool-ácido resistente, *Mycobacterium bovis*, pertencente ao complexo *Mycobacterium tuberculosis* (COUSINS et al., 2004, RADOSTITS et al., 2007). Casos de tuberculose com envolvimento do SNC são raramente descritos em bovinos, com poucos casos relatados (GUEDES et al., 1997; ROELS et al., 2003; ORUÇ, 2005; DEL FAVA et al., 2010). Os sinais clínicos incluem incoordenação motora, decúbito lateral e opistótono, associados à distribuição multifocal das lesões no SNC (SANCHES et al., 2000; ORUÇ, 2005; ROELS et al., 2003). As lesões macroscópicas são observadas em leptomeninges da região basilar do encéfalo (GUEDES et al., 1997, ORUÇ, 2005, DEL FAVA et al., 2010) e histologicamente consistem de meningoencefalite granulomatosa as quais afetam, principalmente, bovinos jovens (ROELS et al., 2003; DEL FAVA et al., 2010). Outras condições que causam meningoencefalite granulomatosa devem ser incluídas no diagnóstico diferencial, como a infecção por *Cryptococcus neoformans* (RIET-CORREA et al., 2011) ou *Naegleria fowleri* (MORALES et al., 2006) e intoxicação *Vicia villosa* (RECH et al., 2004), no entanto, a distribuição e padrão histológico dessas lesões são distintas.

O empiema basilar ou síndrome do abscesso pituitário é uma condição descrita em bovinos (FERNANDES et al., 2000, LORETTI et al., 2003, GUARANÁ et al., 2008; CAMARA et al., 2009), caprinos (BATH et al., 2005), ovinos (RADOSTITS et al., 2007), equinos (REILLY et al., 1994) e humanos (SU et al., 2006) caracterizada pela formação de abscessos no plexo vascular sobre o osso baso-esfenoide, podendo comprometer por extensão a glândula pituitária ou estruturas vizinhas (RADOSTITS, 2007). Tem sido descrito de forma esporádica ou em surtos em bezerros de três a 12 meses de idade, em consequência da rinite traumática pelo uso de tableta nasal para desmame interrompido (FERNANDES et al., 2000, LORETTI et al., 2003), e, também, após a colocação de argolas nasais em bovinos de qualquer idade (MORIN, 2004). *Trueperella pyogenes* é o agente mais frequentemente isolado (FERNANDES et al., 2000, LORETTI et al., 2003).

O objetivo deste trabalho é caracterizar os aspectos epidemiológicos, patológicos, microbiológicos e imuno-histoquímicos das doenças inflamatórias de origem bacteriana que afetam o sistema nervoso central de ruminantes no Rio Grande do Sul.

## REFERÊNCIAS

- ALMOND, J.; PATTISON, J. Human BSE. **Nature**, v.389, p. 437-438, 1997.
- BATH, G.F.; VAN WYK, J.A.; PETTEY, K.P. Control measures for some important and unusual goat diseases in southern Africa. **Small Ruminant Research**, v.60, n.1-2, p. 127-140, 2005.
- CAMARA, A.C.L. et al. Síndrome do abscesso pituitário em bezerros na Região Centro-Oeste. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, n. 11, p.925-930, 2009.
- CANTILE, C., YOUSSEF, S. Nervous system. In: JUBB, K.V.F., KENNEDY, P.C.; PALMER, N. (Eds.). **Pathology of Domestic Animals**. v.1. 6th ed. St Louis: Elsevier, 2016. Cap. 4, p. 250-406.
- COUSINS, D.V. et al. Tuberculosis. In: Coetzer J.A.W. & Tustin R.C. (Eds). **Infectious Diseases of Livestock**. v. 3. 2th ed. Cape Town: Oxford University Press, 2004. p. 1973-1993.
- DEL FAVA, C. et al. Granulomatous meningomyeloencephalitis in a calf caused by *Mycobacterium bovis*. **Arquivo do Instituto Biológico**, v.77, n.2, p.335-338, 2010.
- FECTEAU, G.; GEORGE, L.W. Bacterial meningitis and encephalitis in ruminants. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.20, p. 363–377, 2004.
- FECTEAU, G.; SMITH, B.P.; GEORGE, L.W. Septicemia and meningitis in the newborn calf. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.25, p. 195-208, 2009.
- FERNANDES, C.G., et al. Pituitary abscess in young calves associated with the use of a controlled suckling device. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.12, n.1, p.70-71, 2000.
- FERNANDES, C.G.; SCHILD, A.L. Abscessos do Sistema Nervoso Central. In: RIET-CORREA, F. et al. (Eds.). **Doenças de Ruminantes e Equídeos**. v.1, 3 ed. Santa Maria: Palloti, 2007. p.202-207.
- GRAÇA, D.L. et al. Patologia do Sistema Nervoso. In: SANTOS, R.L; ALESSI, A.C. (Eds.). **Patologia Veterinária**. São Paulo: Roca, 2010. p. 525-610.
- GUARANÁ, E.L.S. et al. Abscesso pituitário em bezerro jovem. Encontro Nacional de Diagnóstico Veterinário, 2008, Campo Grande. **Anais II**. Campo Grande: Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, 2008, p.167-168.
- GUEDES, R.M.C. et al. Meningite tuberculosa bovina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.49, p.131-135, 1997.
- LORETTI, A.P. et al. Síndrome do abscesso pituitário em bezerros associada ao uso de tabuleta nasal para desmame interrompido. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.23, n.1, p.39-46, 2003.

- MORALES, J.A. et al. Naegleria fowleri-associated encephalitis in a cow from Costa Rica. **Veterinary Parasitology**, v.139, p.221–223, 2006.
- MORI, A.E.; LEMOS, R.A.A. Raiva. In: LEMOS R.A.A. (Ed.). **Principais Enfermidades de Bovinos de Corte do Mato Grosso do Sul: reconhecimento e diagnóstico**. Campo Grande: Editora UFMS, 1998. p. 47-58.
- MORIN, D.E. Brainstem and cranial nerve abnormalities: Listeriosis, otitis media and pituitary abscess syndrome. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.20, n.2, p.243-273, 2004.
- ORUÇ, E., Meningoencephalitis tuberculosa in a holstein cow. **Veterinary Pathology**, v.42, p.856–858, 2005.
- RADOSTITIS, O.M. et al. Diseases associated with bacteria. In: Ibid. (Eds). **Veterinary Medicine**. 10th ed. Edinburgh: Saunders Elsevier, 2007. P.1007-1017.
- RECH, R.R. et al. Meningoencefalite em bovinos em pastoreio de ervilhaca (*Vicia* spp). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.24, n.3, p.169-172, 2004.
- REILLY, L. et al. Pituitary abscess and basilar empyema in 4 horses. **Equine Veterinary Journal**, v.26, n.5, p.424-426, 1994.
- RIET-CORREA, F. et al. Bovine cryptococcal meningoencephalitis, **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.23, n.5, p.1056–1060, 2011.
- RISSI, D. R. et al. Doenças neurológicas de ovinos na região Central do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 30(3):222-228, 2010.
- ROELS, S. et al. *Mycobacterium bovis* meningitis in a cow with clinical signs of BSE. **Veterinary Record**, v.152, p.807–808, 2003.
- SANCHES, A.W.D. et al. Doenças do sistema nervoso central em bovinos no sul do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.20, n.3, p.113-118, 2000.
- SCHILD, A.L. Listeriose. In: RIET-CORREA, F. et al. (Eds.). **Doenças de Ruminantes e Equídeos**. v.1, 3 ed. Santa Maria: Palloti, 2007. p.352-357.
- SU, Y-H.; CHEN, Y.; TSENG, S-H. Pituitary abscess. **Journal of Clinical Neuroscience**, v.13, n.10, p.1038-1041, 2006.
- WELLS, G.A.H. et al. A novel progressive spongiform encephalopathy in cattle. **Veterinary Record**, v. 121, p.419-420, 1987.
- WILL, R.G. et al. A new variant of Creutzfeldt-Jakob disease in the UK. **The Lancet**, v. 347, p. 921-925, 1996.
- ZACHARY, J. Sistema Nervoso. In: ZACHARY, J.; MCGAVIN, M.D. **Bases da Patologia Veterinária**. 5 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013. p. 774-873.

VANDEVELDE, M.; HIGGINS, R.; OEVERMANN, A. **Veterinary Neuropathology: essentials of theory and practice.** 5<sup>th</sup> ed. Wiley-Blackwell, Iowa USA, 2012, 200p.

## **ARTIGO 1**

Neste item é apresentado o artigo “Achados patológicos e epidemiológicos de doenças inflamatórias supurativas do sistema nervoso central de ruminantes” a ser submetido ao periódico *Pesquisa Veterinária Brasileira*.

## **Doenças infecciosas supurativas do sistema nervoso central de ruminantes domésticos<sup>1</sup>**

Guilherme Konrad<sup>2</sup>, Daniele M. Bassuino<sup>2</sup>, Klaus Scherer Prates<sup>2</sup>, Matheus Viezzer Bianchi<sup>2</sup>, Luciana Sonne<sup>2</sup>, David Driemeier<sup>2</sup> e Saulo Petinatti Pavarini<sup>2\*</sup>

**ABSTRACT.-** Konrad G., Bassuino D.M., Prates K.S., Sonne L., Driemeier D. & Pavarini S.P., 2016. [**Suppurative infectious diseases of the central nervous system of domestic ruminants**] Doenças infecciosas supurativas no sistema nervoso central de ruminantes domésticos. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(00)00-00. Setor de Patologia Veterinária, Departamento de Patologia Clínica Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Av. Bento Gonçalves 9090, Porto Alegre, RS 91540-000, Brazil. E-mail: [saulo.pavarini@ufrgs.br](mailto:saulo.pavarini@ufrgs.br)

This study describes the suppurative infectious neurological diseases affecting domestic ruminants. A retrospective study was conducted on the files on necropsy and histopathological exams performed in ruminants in our laboratory from January 1996 to December 2015. A total of 3,274 cattle, 596 sheep and 391 goats were found. Of those, 219 cattle, 21 sheep and seven goats presented a diagnosis of central nervous system inflammatory disease, of which 54 cases presented as suppurative infectious neurological diseases. These affected 28 cattle, 19 sheep and seven goats, and consisted of listerial meningoencephalitis (eight sheep, five goats and four cattle), suppurative leptomeningitis and meningoencephalitis (14 cattle, two goats and one sheep), cerebral (six cattle and two sheep), and spinal cord (seven sheep) abscesses, and basilar empyema (four cattle and one sheep). Bacterial culture identified *Listeria monocytogenes* (9/54 cases), *Escherichia coli* (7/54 cases), *Trueperella pyogenes* (6/54 cases), and *Proteus mirabilis* (1/54 cases). Immunohistochemical examination was performed in all cases diagnosed as meningoencephalitis by *L. monocytogenes*, suppurative leptomeningitis and meningoencephalitis using anti-*E. coli* antibody. Meningoencephalitis by *L. monocytogenes* was the main neurological disease in sheep and goats, followed by spinal abscesses in sheep. In cattle, leptomeningitis and suppurative meningoencephalitis was the most frequent neurological disease for the species, usually associate to failure in transmission of passive immunity. Basilar empyema, mainly diagnosed in cattle, is related to nasal plates applied in calves for interrupted weaning.

**INDEX TERMS:** Diseases of ruminants, neuropathology, suppurative meningitis, listeriosis, basilar empyema, cerebral abscesses, spinal cord abscess.

**RESUMO.-** Neste trabalho são descritas as doenças neurológicas infecciosas supurativas de ruminantes. Através de um estudo retrospectivo de casos de necropsias e histopatológicas no período compreendido entre Janeiro de 1996 a Dezembro de 2015. Um total de 3,274 bovinos, 596 ovinos e 391 caprinos foram avaliados. Destes, 219 bovinos, 21 ovinos e sete caprinos foram diagnosticados como doenças inflamatórias no sistema nervoso central, das quais 54 casos correspondiam a DNS. Essas afetavam 28 bovinos, 19 ovinos e sete caprinos, e consistiam de meningoencefalite por *Listeria monocytogenes* (oito ovinos, cinco caprinos e quatro bovinos), leptomeningite e



meningoencefalite supurativa (14 bovinos, dois caprinos e um ovino), abscessos cerebrais (seis bovinos e dois ovinos) e medulares (sete ovinos); e empiema basilar (quatro bovinos e um ovino). Através do isolamento bacteriano foram identificados: *L. monocytogenes* (9/54 casos), *Escherichia coli* (7/54 casos), *Trueperella pyogenes* (6/54 casos) e *Proteus mirabilis* (1/54 casos). O exame imuno-histoquímica foi realizado em todos os casos diagnosticados com meningoencefalite por *Listeria monocytogenes*, leptomeningite e meningoencefalite supurativa utilizando anticorpo anti-*Escherichia coli*. A meningoencefalite por *L. monocytogenes* representou a principal enfermidade neurológica em ovinos e caprinos, seguido dos abscessos medulares em ovinos. Nos bovinos, a leptomeningite e meningoencefalite supurativa foi a doença neurológica mais frequente para a espécie, normalmente associado com a falha na transmissão da imunidade passiva. O empiema basilar, frequentemente diagnosticado em bovinos, está diretamente relacionado com o manejo do desmame interrompido através da utilização de tabletas nasais.

**TERMOS DE INDEXAÇÃO:** doenças de ruminantes, neuropatologia, meningites supurativas, listeriose, empiema basilar, abscessos cerebrais, abscessos medulares.

## INTRODUÇÃO

Doenças do sistema nervoso central (SNC) em ruminantes abrangem um grupo de enfermidades responsáveis por perdas econômicas em todo mundo, e as infecções bacterianas são importantes causas de mortalidade e distúrbios neurológicos em animais de produção (Fecteau et al. 1997, Kessell et al. 2011; Allen et al. 2013). As principais doenças neurológicas inflamatórias causadas por bactérias em ruminantes são: listeriose, meningites e meningoencefalites supurativas, abscessos cerebrais e medulares, empiema basilar e neurotuberculose (Loretti et al. 2003, Rissi et al. 2010, Câmara et al. 2014, Konradt et al. 2016). O acometimento do sistema nervoso central por agentes infecciosos pode ocorrer por quatro vias: a partir da disseminação hematogena ou linfática oriunda de diferentes locais do corpo (Morin 2004, Stober 2005), por lesões penetrantes diretas, por extensão de uma lesão supurativa adjacente, ou ainda por infecção ascendente centrípeta via nervos periféricos (Barros et al. 2006, Radostitis et al. 2007). *L. monocytogenes* é um importante agente causador de encefalite em ruminantes, todavia destacam-se também *E. coli*, *Salmonella* spp. e *Pasteurella* spp. em bezerros (Vandeveldt et al. 2012); *Streptococcus* sp., *Staphylococcus* sp., e *Trueperella pyogenes* em ovinos e caprinos (Fecteau e George 2004, Filioussis et al. 2013). O objetivo deste trabalho é descrever as doenças neurológicas infecciosas supurativas que afetam ruminantes no Rio Grande do Sul.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado um estudo retrospectivo dos laudos de necropsias e histopatológico de ruminantes domésticos em busca de casos de doenças neurológicas infecciosas supurativas (DNIS) diagnosticadas no período compreendido entre Janeiro de 1996 a Dezembro de 2015. Todos os animais eram oriundos do Rio Grande do Sul, especialmente

da região metropolitana de Porto Alegre. Foram revisados os dados epidemiológicos, achados patológicos e métodos de diagnóstico [isolamento bacteriano e/ou técnica de imuno-histoquímica (IHQ)], e agrupadas frente às principais DNIS de bovinos, ovinos e caprinos. Fragmentos do sistema nervoso central foram submetidos à técnica de imuno-histoquímica para *L. monocytogenes* nos casos de listeriose e para *E. coli* nos casos de leptomeningites e meningoencefalites supurativas.

Para o exame de IHQ foram utilizados anticorpo monoclonal anti-*L. monocytogenes* (BD®, New Jersey, USA) e anticorpo policlonal anti-*E. coli* (Rabbit Antibody to *E. coli* 1001-Virostat-USA), nas diluições 1:200 em PBS (solução salina fosfatada tamponada). A recuperação antigênica foi realizado com tampão Citrato<sup>e</sup> pH6,0 (10 minutos em potência máxima no forno de micro-ondas) e o bloqueio das reações inespecíficas em ambos protocolos realizado com leite desnatado 5% (Molico®). Ambos anticorpos primários foram incubados *overnight* em temperatura ambiente, seguidos por anticorpo conjugado biotilado (LSAB-HRP) e streptavidina-peroxidase (LSAB-HRP) 20 minutos cada. O cromógeno utilizado para a revelação foi 3-amino-9-etilcarbazol (AEC). Para contra coloração utilizou-se a hematoxilina de Mayer seguida de montagem em meio aquoso. Controles positivos, previamente testados, foram inseridos simultaneamente com as lâminas testadas, de casos positivos para enterite por *E. coli* e de meningoencefalite por *L. monocytogenes*. Como controle negativo, utilizou-se PBS ao invés de anticorpo primário nas lâminas do caso e nos controles.

## RESULTADOS

No período analisado, foram avaliados laudos de necropsia e histopatológicos de 3274 bovinos, 596 ovinos e 391 caprinos. Desses 219 bovinos, 21 ovinos e sete caprinos foram diagnosticados com doenças inflamatórias no sistema nervoso central (247 casos). As DNIS totalizaram 54 casos, que afetaram 28 bovinos, 19 ovinos e sete caprinos, e foram subdivididas em meningoencefalite por *L. monocytogenes* (oito ovinos, cinco caprinos e quatro bovinos), leptomeningite e meningoencefalite supurativa (14 bovinos, dois caprinos e um ovino), abscessos cerebrais (seis bovinos e dois ovinos) e medulares (sete ovinos); e empiema basilar (quatro bovinos e um ovino).

### Meningoencefalite por *L. monocytogenes*

O maior número de casos de listeriose foi diagnosticado em ovinos (8/19 casos), seguido de caprinos (5/7 casos) e bovinos (4/28 casos). A idade média foi de 18 meses para ovinos e caprinos, e 24 meses para bovinos. Não foram observados predisposição racial ou pelo sexo nas espécies afetadas. Em oito casos (quatro bovinos, três caprinos e um ovino), os animais estavam ingerindo silagem de milho de baixa qualidade (pH superior a 5,5). As lesões macroscópicas no SNC consistiam em discreta a acentuada hiperemia dos vasos das leptomeninges (Fig. 1A). Histologicamente, foram observados meningoencefalite, predominantemente, em rombencéfalo (17/17), por vezes estendendo-se até o mesencéfalo (12/17), diencéfalo (9/17) e substância branca cerebelar (3/17). As lesões eram compostas por infiltrado inflamatório perivascular de linfócitos, macrófagos e plasmócitos (Fig. 1B), além de áreas multifocais aleatórias de infiltrado inflamatório de neutrófilos degenerados (microabscessos) no neurópilo (Fig. 1C). Nestas

áreas, havia ainda inúmeras células gitter, necrose neuronal, neuroniofagia e esferoides axonais em substância branca. Em três casos (dois ovinos e um caprino) foram observadas estruturas bacterianas basofílicas bacilares intralesionais na coloração de H&E (Fig. 1D). Todos os casos exibiram discreto infiltrado de macrófagos e linfócitos em leptomeninges. O isolamento bacteriano foi obtido em nove casos (quatro caprinos, três ovinos e dois bovinos). Na técnica de IHQ para *L. monocytogenes*, 14/17 casos houve marcação puntiforme discreta a acentuada, predominantemente, no citoplasma de neutrófilos e macrófagos, e por vezes livres no neurópilo adjacente às lesões (Fig. 1E). Além desse padrão de marcação na IHQ, 3/17 casos em que a bactéria foi visualizada através da coloração de HE, observou-se marcação das bactérias livres no neurópilo (Fig. 1F).

### **Leptomeningite e meningoencefalite supurativa**

Leptomeningite e meningoencefalite supurativa foram diagnosticadas com maior frequência em bovinos (14/28 casos), seguido por caprinos (2/7 casos) e ovinos (1/19 casos). Os dados referentes à espécie, idade, sexo, raça, lesões extraneurais e cultivos microbiológicos estão apresentados no Quadro 1. As lesões macroscópicas foram observadas, predominantemente, em leptomeninges do SNC, e consistiam de opacidade, hiperemia, e discreta a moderada deposição de fibrina sobre a superfície (Fig. 2A). Adicionalmente, foram observadas em um bovino áreas de malacia, caracterizada por cavitações multifocais irregulares de coloração acinzentada que se estendiam de corpo estriado à diencéfalo (Fig. 2B). Histologicamente, em leptomeninges havia intenso infiltrado inflamatório composto por neutrófilos íntegros e degenerados, além de leve a moderado infiltrado de macrófagos, linfócitos e plasmócitos, associados a deposição de fibrina e miríades de bactérias cocobacilares basofílicas intralesionais (Fig. 2C). Lesões histológicas distintas foram observadas em três bovinos, que consistiam de intensa degeneração e necrose fibrinoide de vasos sanguíneos, trombose multifocal e abundante infiltrado de células gitter, associados a manguitos perivasculares composto por neutrófilos, macrófagos, linfócitos e plasmócitos (Fig. 2D). *E. coli* foi isolado do SNC em seis bovinos e um caprino; e *Trueperella pyogenes* em um bovino. Na técnica de IHQ para *E. coli*, 12/17 casos (9 bovinos, 2 caprinos e 1 ovino) obtiveram marcação no interior de macrófagos e neutrófilos em leptomeninges, e entremeados em meio a fibrina (Fig. 2E). Além disso, nos três casos com meningoencefalite observou-se intensa marcação no entorno dos vasos (Fig. 2F).

### **Abscessos cerebrais e medulares**

Os abscessos medulares foram observados somente em ovinos (7/19), com idade média de cinco meses. Em todos os casos o fator predisponente observado foi contaminação pós-caudectomia. Macroscopicamente, foram observados intenso conteúdo amarelado friável intramedular, delimitado por uma fina cápsula brancacenta que se estendia da medula espinhal sacral à medula espinhal lombar (Fig. 3A). Histologicamente, havia extensas áreas de necrose liquefativa em região central da medula espinhal associado a intenso infiltrado inflamatório de neutrófilos íntegros e degenerados, e macrófagos na periferia, delimitados por discreta proliferação de tecido

conjuntivo fibroso e neovascularização, além de miríades de bactérias cocobacilares intralesionais (Fig. 3B). Adjacente à lesão, havia moderada vacuolização em substância branca com esferoides axonais, numerosas células gitter e infiltrado perivascular de neutrófilos, macrófagos e linfócitos. Adicionalmente, havia acentuado infiltrado de neutrófilos e intensa deposição de fibrina em leptomeninges. Em três casos obteve-se o isolamento bacteriano dos seguintes agentes: *E. coli*, *Trueperella pyogenes* e *Proteus mirabilis*.

Os abscessos cerebrais compreenderam um total de seis bovinos e dois ovinos. A idade dos animais acometidos, variou de 18 meses a sete anos. Em três bovinos foram observadas lesões extraneurais, que consistiam de otite interna (dois casos) e pneumonia abscedativa crônica (um caso). Nos demais casos, não foram observados fatores predisponentes ao desenvolvimento dos abscessos. As lesões macroscópicas à abertura da calota craniana, consistiam de achatamento de circunvoluções, herniação cerebelar e assimetria de lobos telencefálicos em três bovinos e um ovino (Fig. 3C). Ao corte do SNC, as lesões eram observadas, predominantemente, em córtex telencefálico (6/8), e com menor frequência no cerebelo (2/8), as quais consistiam de abundante quantidade de material purulento amarelado delimitado por uma fina cápsula brancacenta (Fig. 3D e 3E). Ainda em um bovino, havia acentuada deposição de conteúdo amarelado purulento sobre as leptomeninges do córtex telencefálico esquerdo (ruptura da cápsula do abscesso) (Fig. 3F). Histologicamente, as lesões eram caracterizadas por extensas áreas de necrose liquefativa associadas a intenso infiltrado inflamatório composto por neutrófilos íntegros e degenerados entremeados por abundante quantidade de miríades bacterianas cocobacilares basofílicas, delimitados por discreta proliferação de tecido conjuntivo fibroso com neoformações vasculares e infiltrado inflamatório perivascular de linfócitos e plasmócitos. *Trueperella pyogenes* foi isolada do SNC de dois bovinos e de dois ovinos.

### **Empiema basilar**

O empiema basilar foi diagnosticado em quatro bovinos e um ovino. Os dados referentes à espécie, idade, sexo, raça, fator predisponente e cultivos microbiológicos estão sumarizados no Quadro 2. À necropsia, todos os animais apresentaram moderada a acentuada deposição de material purulento amarelado em região do osso baso-esfenoide (Fig. 4A), envolvendo *rete mirabile* carotídea, hipófise (Fig. 4B) e região hipotalâmica (Fig. 4C) que se estendiam ainda para as leptomeninges, predominantemente, na região basal de diencéfalo, mesencéfalo e rombencéfalo (Fig. 4D), além de, por vezes, à região de medula espinhal cervical (bovinos 3 e 4) (Fig. 4E). Histologicamente, havia infiltrado inflamatório acentuado de neutrófilos degenerados entremeados por abundante deposição de fibrina e miríades de cocobacilos basofílicas, por vezes formando extensas áreas de necrose de coagulação em região de *rete mirabile* carotídea, hipófise e hipotalâmica basal. Adjacente a estas áreas havia moderada proliferação de tecido conjuntivo fibroso e infiltrado linfoplasmocítico. Havia ainda, acentuado deposição de fibrina associado a moderado infiltrado de neutrófilos, macrófagos e linfócitos sobre leptomeninges que estendiam-se à medula espinhal cervical (Fig. 4F).

## DISCUSSÃO

Infecções bacterianas são importantes causas de distúrbios neurológicos em ruminantes (Fecteau et al. 1997, Kessell et al. 2011). Nos bovinos deste estudo, as DNIS obtiveram uma frequência de 13,2 %, dentre as enfermidades inflamatórias do SNC, levemente superior ao observado na região nordeste (Galiza et al. 2014) e inferior ao observado na região sul do Brasil (Sanches et al. 2000), que somaram 12,3 % e 14,2 %, respectivamente. Nesta espécie a doença que mais frequente foram as leptomeningites e as meningoencefalites supurativas, semelhante ao observado por Sanches et al. (2000), seguida pelos abscessos cerebrais. Na América do Norte, 41,5% das doenças neurológicas de ovinos são de origem bacteriana (Romoldi et al. 2016), semelhante ao observado no presente estudo, as quais foram, predominantemente, compostas por meningoencefalite por *L. monocytogenes*, seguida pelos abscessos medulares.

A meningoencefalite por *L. monocytogenes* em ovinos e caprinos, representa a principal doença neurológica de origem bacteriana para as espécies (Oevermann et al. 2010, Câmara et al. 2014, Allen et al. 2013). Segundo Allen et al. (2013), dois terços dos casos diagnosticados nos USA em caprinos com DNIS, eram de meningoencefalite por *L. monocytogenes*, esses dados são semelhantes aos encontrados no presente trabalho em que 71,42% (5/7) dos caprinos foram afetados. Segundo Brugère-Picoux (2008), casos esporádicos ou surtos da doença, estão relacionadas ao consumo de silagem pobremente fermentada (pH >5,5), o que é um importante fator predisponente. A ocorrência de casos não associados ao consumo de silagem, são relatados de forma ocasional em outros países relacionados à contaminação bacteriana ambiental (George 2002, Brugère-Picoux 2008). Lesões macroscópicas geralmente estão ausentes. Entretanto, no presente estudo, observou-se congestão e hiperemia das leptomeninges em todos os casos. De forma ocasional, podem ainda ser observadas áreas de malacia em regiões de rombencéfalo e mesencéfalo (Rissi et al. 2010, Oevermann et al. 2010). As lesões histopatológicas são consideradas patognomônicas (Braun et al. 2002, Oevermann et al. 2010) e incluem uma combinação de lesões no neurópilo (microabscessos, necrose liquefativa, gliose e infiltrado linfoplasmocítico perivascular), observados, predominantemente, em região de rombencéfalo, por vezes estendendo-se a mesencéfalo e diencéfalo (Rissi et al. 2010). Além disso, foram observadas lesões em substância branca cerebelar em três ovinos, as quais, embora menos frequentes, podem estar relacionadas ao curso clínico mais longo da doença (Oevermann et al. 2010). Inúmeras bactérias foram observadas livres no neurópilo em três casos (dois ovinos e um caprino) através da coloração de HE, o que é raro e está diretamente relacionado com lesões agudas da listeriose (Oevermann et al. 2010). A técnica de IHQ foi uma importante ferramenta auxiliar para o diagnóstico de listeriose, através da qual obteve-se marcação positiva em 100% dos casos (17 casos), o que difere do descrito por Johnson et al. (1995), que obteve marcação em 83,3% dos casos.

As leptomeningites e as meningoencefalites supurativas foram as principais causas de DNIS em bovinos, o que é semelhante aos dados obtidos por Ribas et al. (2013) e Assis-Brasil et al. (2013). A leptomeningite de origem bacteriana representa a principal enfermidade neurológica em ruminantes neonatos (Barros et al. 2006, Fecteau et al. 2009), assim como observado no presente estudo, no qual a idade observada variou de três a 30 dias. A predisposição nessa faixa etária está associada, principalmente, com a

falha na transmissão de imunidade passiva devido à inadequada ingestão de colostro, malnutrição e infecções virais concomitantes (Fecteau et al. 2009). A opacidade, hiperemia, deposição de fibrina e infiltrado neutrofílico sobre leptomeninges são lesões semelhantes às descritas por outros autores (Barros et al. 2006, Fecteau et al. 2009, Vandeveldt et al. 2012, Cantile e Youssef 2016), intensa degeneração e necrose fibrinoide de vasos do SNC associada à trombose multifocal e infiltrado de inúmeras células gitter também foram observadas, e estão diretamente relacionadas com infecções causadas por *E. coli*, de modo que lesões vasculares resultam em infartos cerebrais (Seimiya et al. 1992, Zachary 2013). *E. coli* é o principal agente bacteriano envolvido em casos de meningite supurativa e septicemia neonatal (Kessell et al. 2011, Assis-Brasil et al. 2013), o que é atribuído a capacidade de adesão, sobrevivência no soro, produção de aerobactina e síntese de toxinas pela bactéria na invasão do sistema imune (Fecteau et al. 2009). Outros agentes também estão envolvidos em processos septicêmicos que levam ao desenvolvimento de doenças neurológicas no período neonatal, entre os quais destacam-se: *Salmonella* spp., *Streptococcus* spp., *Mycoplasma* spp., *Pasteurella* spp., *Trueperella pyogenes* e infecções por *Chromobacterium violaceum* (Ajithdoss et al. 2009, Kessell et al. 2011). Lesões extraneurais, como poliartrite, hipópion, onfaloflebite são decorrentes da septicemia bacteriana (Catry et al. 2004, Ajithdoss et al. 2009, Cantile & Youssef 2016) e foram observadas em 14 casos, que incluíram ainda, abscessos hepáticos, pericardite e malformações congênitas (artrogripose). A técnica de imuno-histoquímica para *E. coli*, foi fundamental para o diagnóstico conclusivo no presente estudo, permitindo detectar o agente em 70,6% dos casos de leptomeningite e meningoencefalite supurativa.

Os abscessos cerebrais e medulares representaram a segunda doença neurológica mais prevalente em bovinos e ovinos. Em ovinos, o principal fator predisponente previamente descrito é a caudectomia, a qual favorece infecções bacterianas ascendentes e a formação de meningomielite e abscesso em medula espinhal subseqüentes (Rissi et al. 2010). Segundo Kessell et al. (2011), a frequência com que animais jovens desenvolvem abscessos cerebrais, com idade inferior a um ano, é relativamente maior quando comparado à ruminantes adultos, o que difere ao observado no presente estudo, em que os abscessos cerebrais acometeram, principalmente, ruminantes adultos. Os abscessos desenvolvem-se em qualquer região do SNC, entretanto, foram observados, predominantemente, em região de córtex telencefálico. Cantile & Youssef (2016), sugerem uma predileção ao desenvolvimento de abscessos nesta região de forma secundária a uma disseminação hemotóxica. Entre as bactérias frequentemente isoladas de processos supurativos no SNC, destaca-se *Trueperella pyogenes* (Mayhew 2009), a qual foi observada em quatro casos no presente estudo. Entre outros agentes bacterianos menos isolados estão: *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Streptococcus* sp., *Fusobacterium necrophorum* e *Pseudomonas* spp. (Kessell et al. 2011, Radostits et al. 2007).

Empiema basilar, também denominado síndrome do abscesso da pituitária, é relatado em bovinos e, raramente, em ovinos e caprinos (Morin 2004, Smith 2006, Câmara et al. 2009, Helman 2010, Ribas et al. 2013). Caracteriza-se por ser uma doença neurológica esporádica ou em forma de surtos que afeta, especialmente, bezerras e, ocasionalmente, bovinos e ovinos adultos (Radostits et al. 2007, Câmara et al. 2009, Helman 2010), dados epidemiológicos semelhantes aos encontrados neste trabalho. O

empiema basilar está usualmente relacionado a lesões crônicas na cavidade nasal, pela utilização de tabletas de desmame interrompido e/ou argolas de metais no focinho de bovinos adultos (Barros et al. 2006, Smith 2006, Câmara et al. 2009), os quais foram observados em todos os bovinos com empiema basilar do presente estudo. A patogênese da condição está relacionada com a proximidade das estruturas vasculares da hipófise, *rete mirabile* e seio cavernoso, que aumentam a susceptibilidade na disseminação de bactérias através de outros sítios infecciosos (Morin 2004, Câmara et al. 2009, Muller et al. 2014). O agente bacteriano frequentemente isolado é *Trueperella pyogenes* (Câmara et al. 2009), o qual foi isolado em quatro casos do presente estudo. Outras bactérias, como *Staphylococcus* sp., *Streptococcus* sp., *Fusobacterium necrophorum* e *Corynebacterium pseudotuberculosis* podem também ser observadas (Morin, 2004, Radostits et al., 2007).

### CONCLUSÃO

As doenças neurológicas infecciosas supurativas representaram importantes enfermidades diagnosticadas em ruminantes. A meningoencefalite por *L. monocytogenes* foi a principal doença neurológica em pequenos ruminantes, enquanto a leptomeningite e meningoencefalite supurativa foi a enfermidade mais frequente em bovinos. Bactérias gram-negativas, como *E. coli*, foram isoladas em 70,6% desses casos e estão diretamente envolvidas em processos septicêmicos e distúrbios neurológicos em ruminantes neonatos. Em ovinos, os abscessos medulares foram a segunda doença neurológica mais frequente e geralmente estão ligados a infecções bacterianas ascendentes pós-caudectomia. O empiema basilar foi o distúrbio neurológico frequente em bovinos jovens, e está diretamente relacionado com o manejo do desmame interrompido através da utilização de tabletas nasais. Para tanto, as características destas enfermidades, quanto as suas particularidades em determinadas regiões, auxiliam no diagnóstico e no estabelecimento de medidas preventivas ao surgimento de novos casos.

### REFERÊNCIAS

- Ajithdoss D.K., Porter B.F., Calise D.V., Libal M.C. & Edwards J.F. 2009. Septicemia in a neonatal calf associated with *Chromobacterium violaceum*. Vet. Pathol. 46:71–74.
- Allen A.L., Goupil B.A. & Valentine B.A. 2013. A retrospective study of brain lesions in goats submitted to three veterinary diagnostic laboratories. J Vet Diag Inves. 25(4):482-489.
- Assis-Brasil N.D., Marcolongo-Pereira C., Hinnah F.L., Ladeira S.R.L., Sallis E.S.V., Grecco F.B. & Schild A.L. 2013. Enfermidades diagnosticadas em bezerros na região sul do Rio Grande do Sul. Pes. Vet. Bras. 33(4):423-430.
- Barros C.S.L., Driemeier D., Dutra I.S. & Lemos R.A.A. 2006. Doenças do sistema nervoso de bovinos no Brasil. Coleção Vallée, São Paulo. 207p.
- Braun U., Stehle C. & Ehrensperger F. 2002. Clinical findings and treatment of listeriosis in 67 sheep and goats. Vet. Rec. 150:38–42.
- Brugère-Picoux J. 2008. Ovine listeriosis. Small Ruminant Reseach 76:12-20.

- Câmara A.C.L., Borges J.R.J., Godoy R.F., Moscardini A.R.C., Mustafa V.S., Castro M.B., Ximenes F.H.B., Paludo G.R., Perecmanis S. & Drummond V.O. 2009. Síndrome do abscesso pituitário em bezerros na região Centro-Oeste. *Pesq. Vet. Bras.* 29(11):925-930.
- Câmara A.C.L., Vale A.M. & Batista J.S. 2014. Suppurative intracranial processes in 15 domestic ruminants. *Pesq. Vet. Bras.* 34(5):421-426.
- Cantile C. & Youssef S. 2016. Nervous System, p. 251-406. In: Jubb K.V.F., Kennedy P.C., & Palmer's N. *Pathology of Domestic Animals*. 6th ed. New York: Academic Press. V. 1. 796p.
- Catry B., Opsomer G., Decostere A., Feyen B., Kruif A. & Haesebrouck F., 2004. Fatal meningitis in a calf caused by *Mannheimia varigena*. *Research in Veterinary Science* 77:187–188.
- Fecteau G. & George L.W. 2004. Bacterial meningitis and encephalitis in ruminants. *Vet. Clin. Food. Anim.* 20:363-377.
- Fecteau G., Smith B.P. & Gerge L.W. 2009. Septicemia and meningitis in the newborn calf. *Vet. Clin. Food. Anim.* 25:195–208.
- Fecteau G., Van Metre D.C., Pare J., Smith B.P., Higgins R., Holmberg C.A. Jang S. & Guterbock W. 1997. Bacteriological culture of blood from critically ill neonatal calves. *Can. Vet. J.* 38:95-100.
- Filioussis G., Petridou E., Karavanis E., Giadinis N.D., Xexaki A., Govaris A. & Kritas S. K. 2013. An outbreak of caprine meningoencephalitis due to *Escherichia coli* O157:H7. *J. Vet. Diagn. Invest.* 25(6):816–818.
- Fry M.M. & McGavin M.D. 2015. *Pathologic basis of disease*. 6th edn. St. Louis: Elsevier Mosby, 1322p.
- Galiza G.J.N., Silva M.L.C.R., Dantas A.F.M., Simões S.V.D. & Riet-Correa F. 2010. Doenças do sistema nervoso de bovinos no semiárido nordestino. *Pesq. Vet. Bras.* 30(3):267-276.
- George L.W. 2002. Listeriosis, p.946-949. In: Smith B.P. (Ed.), *Large Animal Internal Medicine*. 3rd ed. Mosby, St Louis. 1735p.
- Helmann, S. 2010. A case basilar empyema in a Texel ewe lamb. *UK vet.* 5:41-48.
- Johnson G.C., Fales W.H., Maddox C.W. & Ramos-Vara J.A. 1995. Evaluation of laboratory tests for confirming the diagnosis of encephalitic listeriosis in ruminants. *J. Vet. Diagn. Invest.* 7:223–228.
- Kessell A.E., Finnieb J.W. & Windsor P.A. 2011. Neurological diseases of ruminant livestock in Australia. III: bacterial and protozoal infections. *Australian Veterinary Journal*, 89: 289-296.
- Konradt G., Bassuino D. M., Bianchi M.V., Bandinelli M.B., Driemeier D. & Pavarini S.P. 2016. Neurotuberculosis in cattle in southern Brazil. *Trop. Anim. Health Prod.* 28(5): 1089-1094.
- Loretti A.P., Ilha M.R.S., Riet-Correa G., Driemeier D., Colodel E.M. & Barros C.S.L. 2003. Síndrome do abscesso pituitário em bezerros associada ao uso de tabuleta nasal para desmame interrompido. *Pesq. Vet. Bras.* 23(1):39-46.



- Mayhew I.G.J. 2009. Large Animal Neurology. 2nd ed. Wiley-Blackwell, Iowa. 453p.
- Morin D.E. 2004. Brainstem and cranial nerve abnormalities: Listeriosis, otitis media and pituitary abscess syndrome. *Vet. Clin. North Am., Food Anim. Pract.* 20(2):243-273.
- Müller K.R., Blutke A., Matiasek K. & Wieland M.J. 2014. Pituitary abscess syndrome in a Simmental heifer. *Vet. Rec. Case Rep.* 2: 25-28.
- Oevermann A., Di Palma S., Doherr M.G., Abril C., Zurbriggen A. & Vandeveld V.M. 2010. Neuropathogenesis of naturally occurring encephalitis caused by *Listeria monocytogenes* in ruminants. *Brain. Pathol.* 20:378–390.
- Radostits O.M., Gay C.C., Hinchcliff K.W. & Constable P.D. 2007. *Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats.* 10th ed. W.B. Saunders, Edinburg. 2156p.
- Ribas N.L.K.S., Carvalho R.I., Santos A.C., Valençoa 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: 1082 casos. *Pesq. Vet. Bras.* 33(10):1183-1194.
- Rimoldi G., Mete A., Adaska J. M., Anderson M. L., Symmes K. P. & Diab S. 2016. West Nile Virus Infection in Sheep. *Vet. Path.* 1 – 4.
- Rissi D. R., Figuera R.A., Irigoyen L.F., Glaucia D. Kommers G.D. & Barros C.S.L. 2010. Doenças neurológicas de ovinos na região Central do Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.* 30(3):222-228.
- Rissi D.R., Rech R.R., Barros R.R., Kommers G.D., Langohr I.M., Pierezan F. & Barros C.S.L. 2006. Forma nervosa de listeriose em caprinos. *Pesq. Vet. Bras.* 26(1):14-20.
- 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. *Pesq. Vet. Bras.* 20:113-118.
- Seimiya Y., Ohshima K., Itoh H., Ogasawara N., Okutomo M. & Tanaka S. 1992. Central nervous system lesions due to *E. coli* infection in neonatal calves. *J. Vet. Med. Sci.* 54:767-8.
- Smith, M.O. 2006. Diseases of the nervous system. In: Smith, B.P. (Ed.), *Large Animal Internal Medicine.* 3rd ed. Mosby, St. Louis, pp. 873–1018.
- Stöber M. 2005. Enfermedades de los órganos del sistema nervioso central, p.933-1057. In: Dirksen G., Gründer H.D. & Stöber M. (Eds), *Medicina Interna y Cirugía del Bovino.* Vol.2. 4ª ed. Intermédica, Buenos Aires.
- Vandeveld M., Higgins R. & Oevermann A. 2012. *Veterinary Neuropathology: essentials of theory and practice.* 5<sup>th</sup> ed. Wiley-Blackwell, Iowa USA, 200p.

## Legendas das Figuras

Fig. 1. **Meningoencefalite por *L. monocytogenes* em ruminantes.** A. Caprino. Acentuada hiperemia dos vasos das leptomeninges do encéfalo. B. Bovino. Intenso infiltrado inflamatório perivascular de linfócitos, macrófagos e plasmócitos. HE, Obj. 10x. C. Ovino. Áreas multifocais aleatórias de infiltrado inflamatório de neutrófilos degenerados (microabscessos) no neurópilo. HE, Obj. 20x. D. Ovino. Inúmeras estruturas bacterianas bacilares basofílicas no neurópilo associado a infiltrado neutrofilico multifocal. HE, Obj. 20x. E. Caprino. Imuno-histoquímica para *L. monocytogenes*, marcação puntiformes, predominantemente, no citoplasma de neutrófilos e macrófagos. Cromógeno AEC, Obj. 40x. F. Ovino. Imuno-histoquímica para *L. monocytogenes*. Marcação de estruturas bacilares, visualizadas no HE. Cromógeno AEC, Obj. 40x.

Fig. 2. **Meningite e meningoencefalite supurativa em bovinos.** A. Deposição de material amarelado friável (fibrina) sobre a superfície das leptomeninges. B. Áreas multifocais de malacia, caracterizadas por cavitações irregulares de coloração acinzentada em corpo estriado. C. Intenso infiltrado inflamatório de neutrófilos íntegros e degenerados, além de discreto infiltrado de macrófagos, linfócitos e plasmócitos, associados a deposição de fibrina em leptomeninges. HE, Obj. 20x. D. Acentuada degeneração e necrose fibrinoide de vasos sanguíneos, trombose multifocal e abundante infiltrado de células gitter, associado a manguitos perivascularares composto por neutrófilos, macrófagos, linfócitos e plasmócitos. HE, Obj. 20x. E. Imuno-histoquímica para *E. coli*. Intensa marcação em leptomeninges no citoplasma de neutrófilos e macrófagos, por vezes livres em meio a fibrina. Cromógeno AEC, Obj. 40x. F. Imuno-histoquímica para *E. coli*. Acentuada marcação em espaços perivascularares. Cromógeno AEC, Obj. 40x.

Fig. 3. **Abscessos cerebrais e medulares em ruminantes.** A. Ovino. Abscesso intramedular em região sacral e lombar. B. Ovino. Área focalmente extensa de necrose liquefativa em região central da medula espinhal associado a intenso infiltrado inflamatório composto por neutrófilos, e macrófagos na periferia, delimitados por discreta proliferação de tecido conjuntivo fibroso. HE, Obj. 10x. C. Ovino. Assimetria de lobo telencefálicos e herniação cerebelar. D. Ovino. Abscesso cerebral em região lobo parietal telencefálico. E. Bovino. Abscesso cerebral em região lobo parietal telencefálico com comunicação com a superfície cerebral rompido. F. Bovino. Acentuada deposição de material amarelado amorfo sobre as leptomeninges do córtex telencefálico esquerdo (ruptura da cápsula do abscesso).

Fig. 4. **Empiema basilar em ruminantes.** A. Ovino. Intensa deposição de material purulento amarelado em região do osso baso-esfenoide. B. Bovino. Acumulo de material purulento em *rete mirabile* carotídea. C (ovino) e D (Bovino). Abundante quantidade de material purulento em região basilar do encéfalo (região hipolâmica estendo-se até o tronco encefálico). E. Bovino. Acentuado espessamento, amarelado de leptomeninges em medula espinhal cervical. F. Bovino. Acentuada deposição de fibrina associado a moderado infiltrado de neutrófilos, macrófagos e linfócitos sobre leptomeninges da medula espinhal cervical. HE. Obj. 04x.

**Quadro 1: Espécie, idade, raça, sexo, lesões extraneurais e identificação do agente bacteriano em casos de leptomeningite e meningoencefalites bacterianas em ruminantes.**

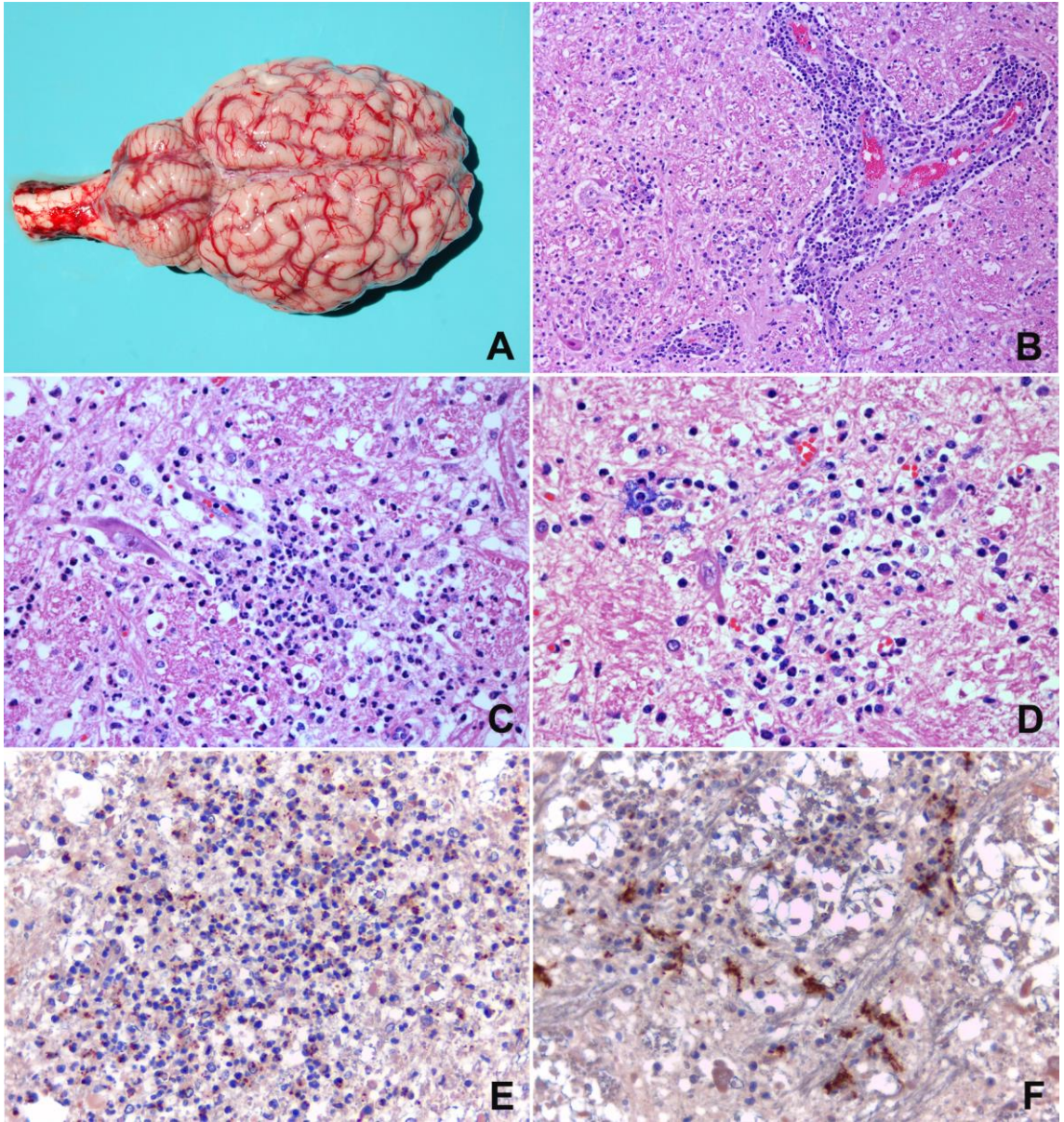
Espécie	Idade	Raça	Sexo	Lesões associadas	Identificação do agente
Bovino	7 dias	Angus	Fêmea	Poliartrite	<i>Escherichia coli</i> (IB e IHQ)
Bovino	3 dias	SRD	Macho	NI	<i>Escherichia coli</i> (IB e IHQ)
Bovino	8 dias	SRD	Macho	Poliartrite	<i>Escherichia coli</i> (IB e IHQ)
Bovino	4 meses	SRD	Fêmea	NI	<i>Escherichia coli</i> (IHQ)
Bovino	NI	NI	Macho	Poliartrite	<i>Escherichia coli</i> (IHQ)
Bovino	7 dias	NI	Fêmea	Hipópion bilateral, pericardite e poliartrite	<i>Escherichia coli</i> (IHQ)
Bovino	14 dias	SRD	Macho	Hipópion unilateral e poliartrite	<i>Escherichia coli</i> (IB e IHQ)
Bovino	10 dias	SRD	Macho	Artrogripose	NI
Bovino	30 dias	Angus	Fêmea	Onfaloflebite e abscessos hepáticos	<i>Trueperella pyogenes</i> (IB)
Bovino	30 dias	Devon	Macho	Onfaloflebite e poliartrite	<i>Escherichia coli</i> (IB e IHQ)
Bovino	3 dias	Charolês	Macho	Hipópion unilateral	NI
Bovino	2 meses	Angus	Fêmea	Abscessos hepáticos e obstrução esofágica	NI
Bovino	30 dias	Holandês	Fêmea	Enterite bacteriana aguda	NI
Bovino	15 dias	SRD	Macho	Pneumonia aspirativa, hipópion unilateral	<i>Escherichia coli</i> (IHQ)
Caprino	5 meses	Boer	Fêmea	NI	<i>Escherichia coli</i> (IHQ)
Caprino	2 meses	Boer	Fêmea	Enterite bacteriana aguda	<i>Escherichia coli</i> (IB e IHQ)
Ovino	10 dias	SRD	Macho	Abscessos hepáticos e hipópion bilateral	<i>Escherichia coli</i> (IHQ)

IB: isolamento bacteriano; IHQ: Imuno-histoquímica; SRD: sem raça definida; NI: não identificado.

**Quadro 2: Espécie, idade, raça, sexo, fator predisponente e identificação do agente bacteriano em casos de empiema basilar em ruminantes.**

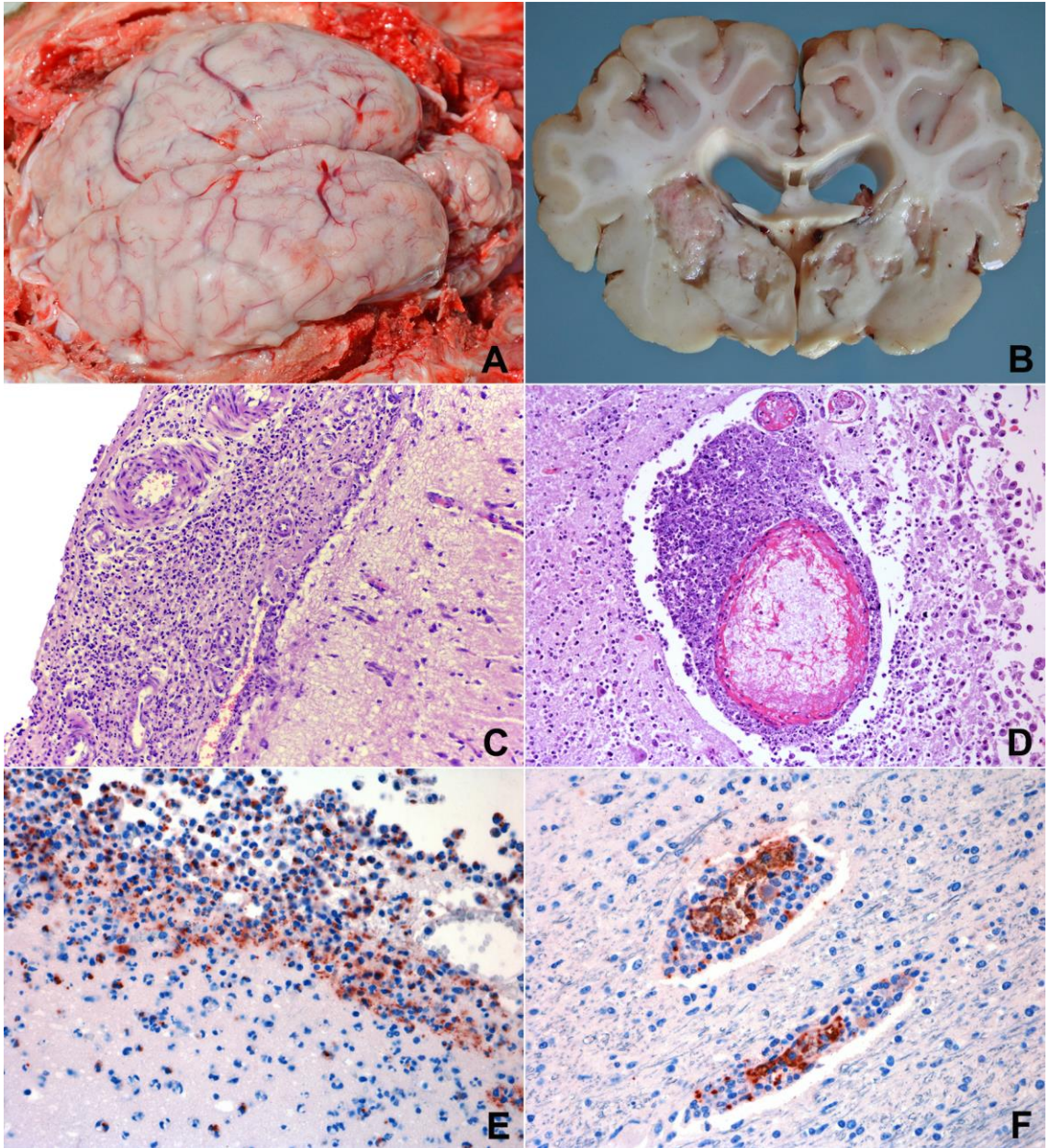
Nº	Espécie	Idade	Raça	Sexo	Fator Predisponente	Identificação do agente
1	Bovino	04 meses	Angus	Macho	Rinite traumática (uso de tabuleta nasal)	<i>Trueperella pyogenes</i> (IB)
2	Bovino	48 meses	Gir	Macho	Rinite traumática (uso de argola nasal)	<i>Trueperella pyogenes</i> (IB)
3	Bovino	24 meses	Holandês	Fêmea	Rinite traumática (uso de tabuleta nasal)	<i>Trueperella pyogenes</i> (IB)
4	Bovino	06 meses	SRD	Fêmea	Rinite traumática (uso de tabuleta nasal)	NI
5	Ovino	18 meses	Corriedale	Macho	Sinusite purulenta (origem traumática)	<i>Trueperella pyogenes</i> (IB)

IB: isolamento bacteriano; SRD: sem raça definida; NI: não identificado.



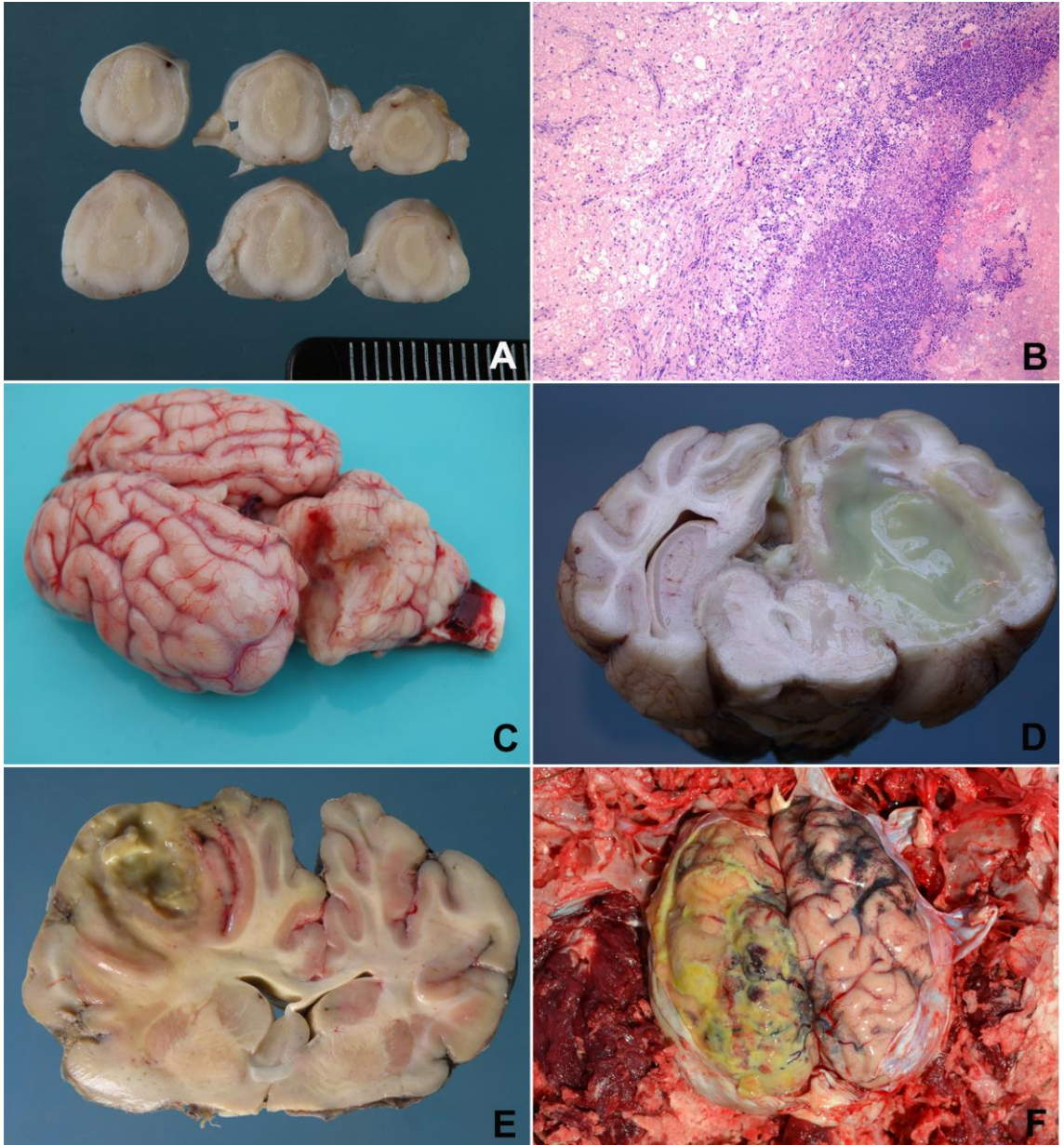
**FIGURA 1**



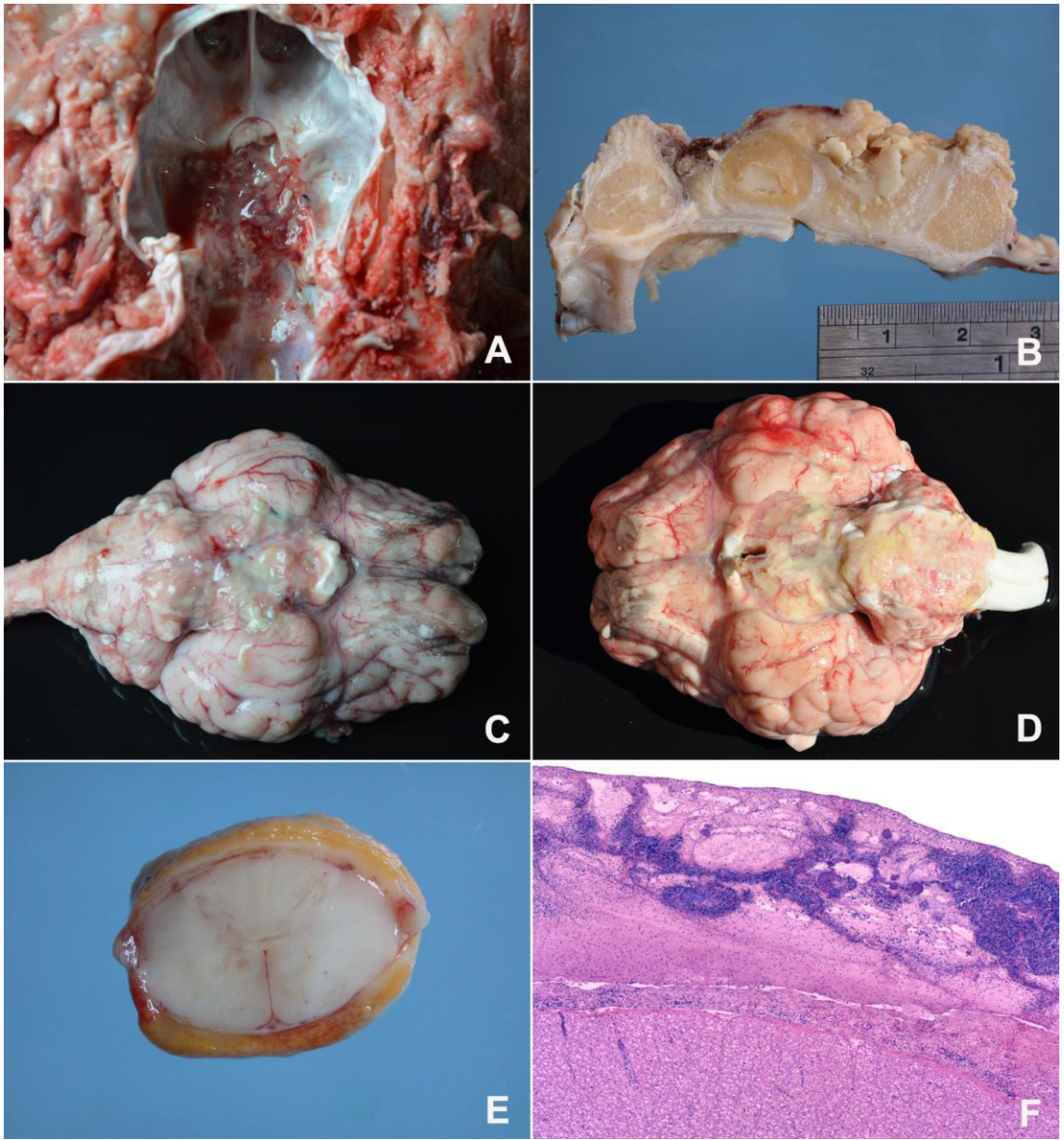


**FIGURA 2**





**FIGURA 3**



**FIGURA 4**



## **ARTIGO 2**

Neste item é apresentado o artigo “Neurotuberculosis in cattle in southern Brazil” publicado na revista *Tropical Animal and Health Production* (2016), Vol. 48: 1089-1094.



## Neurotuberculosis in cattle in southern Brazil

Guilherme Konrad<sup>1</sup> · Daniele Mariath Bassuino<sup>1</sup> · Matheus Viezzer Bianchi<sup>1</sup> ·  
Marcelo Bettim Bandinelli<sup>1</sup> · David Driemeier<sup>1</sup> · Saulo Petinatti Pavarini<sup>1</sup>

Received: 7 October 2015 / Accepted: 14 March 2016 / Published online: 30 March 2016  
© Springer Science+Business Media Dordrecht 2016

**Abstract** Tuberculosis in cattle is a chronic infectious-contagious disease characterized by the development of nodular lesions (granulomas) in mainly the lungs and regional lymph nodes. It is caused by *Mycobacterium tuberculosis* complex, an acid-fast bacillus (AFB). Tuberculosis in the central nervous system is a rare condition in cattle. Herein, we describe the clinical and pathological findings of six neurotuberculosis cases in cattle diagnosed in Southern Brazil. The average age of the cattle affected was 12 months, and they varied in breed and sex. The clinical history ranged from 5 to 30 days and was characterized by motor incoordination, opisthotonus, blindness, and progression to recumbency. The cattle were euthanized, and grossly, the leptomeninges at the basilar brain showed marked and diffuse expansion, with nodular yellowish lesions ranging in size. On microscopic examination, there were multifocal granulomas located mainly in the meninges, though sometimes extending to adjacent neuropil or existing as isolated granulomas in neuropil. AFBs were observed in the cytoplasm of epithelioid macrophages and multinucleated giant cells through

Ziehl-Neelsen histochemical staining and identified as *Mycobacterium* sp. through immunohistochemistry.

**Keywords** Infectious diseases · Cattle · *Mycobacterium* sp. · Granulomatous meningitis · Neurological diseases

### Introduction

Tuberculosis is a chronic infectious-contagious disease that is characterized by the development of granulomas (Cousins et al. 2004). In cattle, tuberculosis is caused by *Mycobacterium bovis*, an acid-fast bacillus (AFB) that belongs to the *Mycobacterium tuberculosis* complex (Cousins 2001; Radostits et al. 2007). It is considered an important zoonosis, mainly in people infected by human immunodeficiency virus (HIV) in underdeveloped countries (Garg 2010; Thakur et al. 2011).

The main route of infection is the respiratory system, through aerosols, and primary infection occurs in the lungs and regional lymph nodes (Thoen and Chiodini 1993; Caswell and Williams 2007). The disease typically presents as a subclinical condition (Cousins et al. 2004). Another described presentation is in the alimentary tract, with lesions in the mesenteric lymph nodes. Generalized or miliary tuberculosis occurs through hematogenous or lymphatic spread of the agent, with systemic involvement (Caswell and Williams 2007). Tuberculosis affecting the central nervous system (CNS) is rare in cattle, with few cases described (Guedes et al. 1997; Roels et al. 2003; Onuç 2005; Del Fava et al. 2010). This work aims to describe the clinical and pathological features of neurotuberculosis diagnosed in cattle in Southern Brazil.

✉ Saulo Petinatti Pavarini  
saulo.pavarini@ufrgs.br

Guilherme Konrad  
guikonrad@yahoo.com.br

<sup>1</sup> Setor de Patologia Veterinária, Departamento de Patologia Clínica Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Av. Bento Gonçalves 9090, Porto Alegre, RS 91540-000, Brazil

## Materials and methods

Cattle necropsy archives from 1997 to 2015 were reviewed, and six cases compatible with *Mycobacterium* sp. infection involving the CNS in this species were selected. The animals were classified according to age, breed, sex, and clinical signs. All cattle were from rural properties located close to Porto Alegre, Rio Grande do Sul state, Brazil. Of these six animals, four were submitted to necropsy immediately after euthanasia, and multiple samples of the organs and CNS were collected and fixed in 10 % neutral buffered formalin. For the remaining animals (cattle 1 and 3), only the brain was submitted for histopathological examination. Tissue samples were trimmed, processed routinely for histopathology, and stained with hematoxylin and eosin (H&E). CNS sections were selected for Ziehl-Neelsen staining and immunohistochemistry (IHC).

For IHC examination, a polyclonal anti-*Mycobacterium tuberculosis* complex antibody (Gene Tex Inc., code GTX20905) and a monoclonal anti-*Mycobacterium avium* antibody (QED Bioscience Inc., San Diego, CA) were used at a dilution of 1:200 in phosphate-buffered saline (PBS) solution. Antigen retrieval was performed by incubating sections with protease XIV 0.5 % (Sigma Chemical Company, Poole, UK) for 15 min at room temperature, and non-specific binding was reduced by blocking with 5 % skimmed milk for 15 min. Primary antibody was incubated for 45 min at 37 °C. The amplification signal was achieved by incubating sections with biotinylated secondary antibody for 20 min, followed by labeled streptavidin-biotin-peroxidase (kit LSAB-HRP, DakoCytomation, Carpinteria, CA, USA) for 20 min; both incubations were performed at room temperature. The reaction was revealed with 3,3'-diaminobenzidine (DAB, DakoCytomation, Carpinteria, CA, USA). Slides were counterstained with Harris hematoxylin for 1 min. As positive controls, previously tested tissue sections of lymph nodes from swine with lymphadenitis caused by *M. avium* and a bovine with tuberculosis (Andreazza et al. 2015) were used. Neurotuberculosis tissue sections incubated with PBS were used as negative controls.

## Results

### Clinical signs

Data regarding the age, breed, sex, clinical signs, and clinical course of six cattle affected by neurotuberculosis are shown in Table 1.

### Gross lesions

The gross lesions consisted of leptomeningeal thickening, with multifocal to coalescing nodular structures that were

raised, yellowish, and firm, ranging from punctiform to 1 cm in diameter. These were more severe at the basilar brain (rhombencephalon and mesencephalon) (Fig. 1a). Also, on the cut surface, nodular yellowish lesions, measuring 0.4 to 1.0 cm in diameter, were observed in the cerebellum (cattle 4 and 5) and in the telencephalic cortex (cattle 2, 4, and 6) without affecting leptomeninges (Fig. 1b). Other abnormalities in the brain included hydrocephaly associated with severe (cattle 1) or moderate (cattle 2) expansion of the lateral ventricles and third ventricle (Fig. 1c), partial obstruction of the mesencephalic aqueduct by yellowish material (cattle 1), and cerebellar coning and flattening of telencephalic circumvolutions (cattle 1, 2, and 4).

Upon gross examination of the spinal cord, the leptomeninges were moderately expanded (cattle 2, 4, 5, and 6) by multiple multifocal yellowish and firm subdural nodules (0.1–1 cm in diameter) affecting all sections of the spinal cord (cattle 2, 4, and 5) (Fig. 1d). On the cut surface of the spinal cord of cattle 4, these nodules were also observed without meningeal contact. Extra-CNS lesions were observed in cattle 2, 4, and 5 and consisted of multifocal nodular, yellowish, and firm lesions in the lungs and the mediastinal, tracheobronchial, hepatic, and mesenteric lymph nodes, in addition to the retropharyngeal lymph node (cattle 2).

### Microscopic lesions

Histologically, cattle 1 and 3 showed granulomatous meningoencephalitis, while cattle 2, 4, 5, and 6 showed granulomatous meningoencephalomyelitis. The lesions were diffuse and severe, particularly on the leptomeninges at the base of the brain and spinal cord; multifocal in the ventricular system (ependymal cells and choroid plexus); and focal in the neural parenchyma. These lesions were composed of granulomas characterized by a central area of caseous necrosis that frequently exhibited dystrophic mineralization and was surrounded by an inner layer of epithelioid macrophages and multinucleated giant cells (Langhans and foreign body types) and an outer layer of lymphocytes and plasma cells (Fig. 2a). There were also foci of similar inflammatory infiltrate without associated necrosis (Fig. 2b). Often, the leptomeningeal inflammatory infiltrate extended to adjacent neuropil, which showed perivascular cuffs composed of lymphocytes and plasma cells, in addition to white matter vacuolation with multiple axonal spheroids, occasional gitter cells, and gemistocytic astrocytes. Cattle 6 did not show dystrophic mineralization in areas of necrosis; however, severe fibrin exudation, numerous degenerated neutrophils, and severe epithelioid macrophage inflammatory infiltrate in the leptomeninges were observed. The extra-CNS lesions observed in cattle 2, 4, and 5 were characterized by multifocal granulomas in the lungs and lymph node parenchyma with the same pattern of lesions observed in CNS. In these cases, there was



**Table 1** Age, breed, gender, clinical signs, and clinical course of six bovines affected by neurotuberculosis

N°	Age	Breed	Gender	Clinical signs and clinical course
1	6 months	Holstein	Female	Incoordination, evolving to lateral recumbency and opisthotonus. Clinical course of 5 days (euthanasia).
2	12 months	Mixed breed	Male	Weakest of the herd. Incoordination and blindness, evolving to lateral recumbency and opisthotonus. Clinical course of 8 days (euthanasia).
3	24 months	Angus	Male	Walking in circles with right-sided head tilt, evolving to lateral recumbency and opisthotonus. Clinical course of 14 days (euthanasia).
4	12 months	Girolando	Female	Incoordination, emaciation, evolving to lateral recumbency and opisthotonus. Clinical course of 21 days (euthanasia).
5	10 months	Holstein	Female	Incoordination and emaciation, evolving to sternal recumbency. Clinical course of 30 days (euthanasia).
6	10 months	Mixed breed	Female	Incoordination, evolving to lateral recumbency, followed by opisthotonus. Clinical course of 10 days (euthanasia).

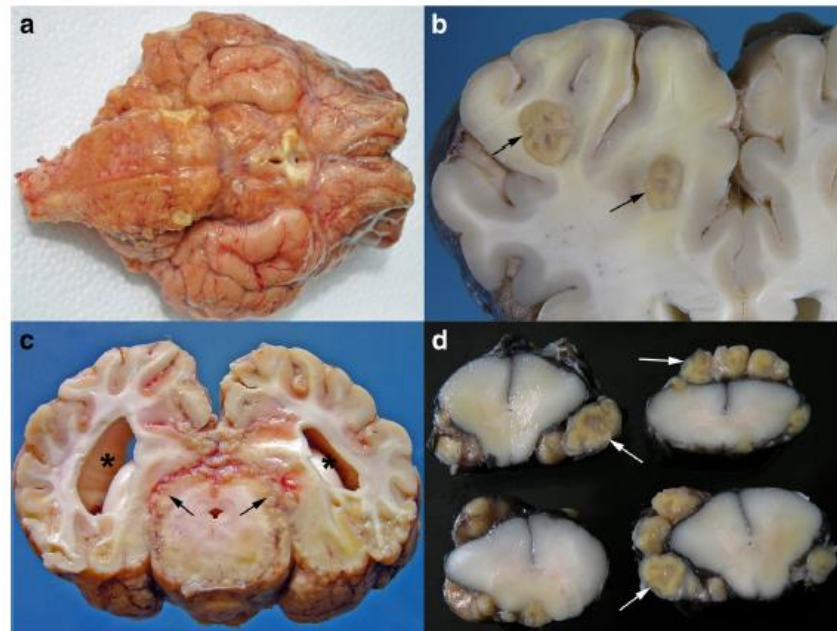
confirmation of acid-fast bacilli in the cytoplasm of epithelioid macrophages and multinucleated giant cells in the histochemical technique of Ziehl-Neelsen staining and IHC for *M. tuberculosis* complex. Ziehl-Neelsen histochemical examination and IHC were also performed to detect the agent on histological sections of the CNS lesions from the selected cattle. For all the cattle, Ziehl-Neelsen staining and IHC for *M. tuberculosis* complex showed acid-fast bacilli in the cytoplasm of epithelioid macrophages and multinucleated giant cells as well as in peripheral areas of caseous necrosis (Fig. 2c). This evidence of acid-fast bacilli and positive immunohistochemical staining for *M. tuberculosis* was mild in

cattle 3 and 5, moderate in cattle 1 and 2, and marked in cattle 4 and 6 (Fig. 2d). All cases submitted to IHC for *M. avium* were negative.

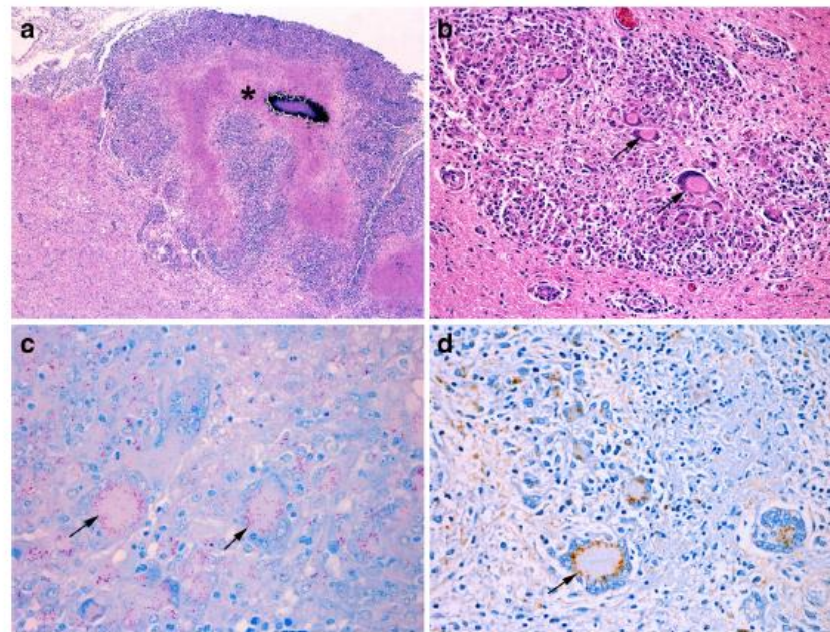
## Discussion

The diagnosis of neurotuberculosis in the cattle included in this study was based on clinical and pathological examinations, Ziehl-Neelsen staining, and IHC for *M. tuberculosis* complex. Tuberculosis affecting the CNS is considered a rare condition in cattle, with a higher prevalence among calves

**Fig. 1** Gross findings of neurotuberculosis in cattle. **a** Leptomeninges of the basilar brain were severely thickened with a nodular and yellowish aspect. **b** Multifocal tuberculomas in the telencephalic cortex, characterized by nodular yellowish lesions, measuring 0.4 to 1.0 cm in diameter without contact with the meninges (arrows). **c** The lateral ventricles were moderately expanded (hydrocephalus) (asterisk), with nodular thickening of the leptomeninges (arrows). **d** Subdural multifocal yellowish nodular structures that were compressing the spinal cord (arrows)







**Fig. 2** Histopathological and immunohistochemical findings of neurotuberculosis in cattle. **a** Rhombencephalon, granulomatous inflammation in the leptomeninges extending to adjacent neuropil, associated with a focal area of caseous necrosis and dystrophic mineralization (*asterisk*). H&E,  $\times 40$ . **b** Mesencephalon, inflammatory infiltrate composed of an inner layer of epithelioid macrophages and multinucleated giant cells (Langhans and foreign body types) (*arrows*)

and an outer layer of lymphocytes and plasma cells. H&E,  $\times 200$ . **c** Brain, evidence of intracytoplasmic acid-fast bacilli in epithelioid macrophages and multinucleated giant cells (*arrows*). Ziehl-Neelsen,  $\times 400$ . **d** Brain, immunostaining for *Mycobacterium tuberculosis* in the cytoplasm of epithelioid macrophages and multinucleated giant cells (*arrow*). DAB chromogen,  $\times 400$

(Francis 1947; Lan et al. 2001; Roels et al. 2003; Del Fava et al. 2010), as observed in this study, in which the mean age was 12 months. Natural routes of infection in calves include intra-uterine and through the ingestion of contaminated milk (Roels et al. 2003). Three of the four cattle described here that were submitted to necropsy presented extra-CNS tuberculosis lesions in multiple lymph nodes and the lung parenchyma. In these cases, the tuberculosis lesions in the CNS probably originated from the hematogenous spread of the agent (Guedes et al. 1997; Del Fava et al. 2010).

Clinical signs comprised incoordination, lateral recumbency, opisthotonus, and central blindness. Such clinical features were caused by the multifocal distribution of the lesions throughout the CNS (Sanches et al. 2000; Oruç 2005; Roels et al. 2003). All cattle in this study were submitted to euthanasia due to unfavorable prognosis and prolonged clinical course for an infectious neurological disease, reaching up to 30 days of evolution.

Grossly, all cattle in this study, as well as others described previously (Guedes et al. 1997; Oruç 2005; Del Fava et al. 2010), presented more severe lesions in the leptomeninges at the basilar brain, suggesting a possible site of predilection for cattle neurotuberculosis. Obstructive hydrocephalus secondary

to meningitis by *Mycobacterium* sp. is commonly described in humans (Raut et al. 2013), but it has not yet been described in cattle. Two of the cattle in this study presented acquired obstructive hydrocephalus; one was associated with a partial obstruction of the mesencephalic aqueduct by a granulomatous inflammatory infiltrate characteristic of the disease, while the other occurred due to a moderate obstruction of the lateral openings of the fourth ventricle, which were severely thickened by a granulomatous inflammatory infiltrate. Focal granulomas were observed grossly in the cerebellum and telencephalic cortex parenchyma of two cattle. In humans with neurotuberculosis, these lesions are referred to as tuberculomas and may or may not be associated with meningitis (Rock et al. 2008).

Histologically, the lesions were characterized by multifocal granulomas, as observed in extra-CNS cases of tuberculosis, and were distributed mainly in the leptomeninges, similar to descriptions in the literature (Oruç 2005; Del Fava et al. 2010). One case showed a distinct histological pattern, characterized by the absence of dystrophic mineralization and the presence of an inflammatory infiltrate composed of a large number of neutrophils and fibrin exudation. According to Caswell and Williams (2007), histological patterns and variation in the proportion of cellular components are directly related to the



length of the clinical course. In an experimental study, at 14–42 days after intranasal inoculation of *M. bovis* in cattle, the inflammatory infiltrate was predominantly composed of degenerated neutrophils and epithelioid macrophages (Cassidy et al. 1998), while dystrophic mineralization was observed later than 43 days after inoculation, which may suggest an association between the population of cells observed and the length of the clinical course of the disease in the remaining cattle in the study.

The evidence of acid-fast bacilli varied among the lesions following Ziehl-Neelsen staining and IHC. A marked presence was observed using both methods only in two cases and, according to Palmer et al. (2007), is related to the most recent tuberculosis lesions. The evidence of acid-fast bacilli in the remaining cattle varied from mild to moderate. All cases were negative upon IHC using anti-*M. avium*, excluding the presence of this agent in these lesions. On the IHC anti-*M. tuberculosis* complex, both *M. bovis* and *M. tuberculosis* may be observed due to the cross-reactivity of the polyclonal antibody. *M. bovis* is the main cause of tuberculosis in cattle (Radostits et al. 2007); however *M. tuberculosis* in humans is endemic in Brazil, which is classified as one of the 22 high-burden countries for tuberculosis (countries that hold 80 % of the tuberculosis cases) and actually ranks 14th in numbers of cases per year (Souza et al. 2014; WHO 2015). Thus, it was not possible to set a definitive cause for the neurotuberculosis cases, since both agents may be evidenced through IHC.

Other conditions that cause granulomatous meningoencephalitis in cattle should be included in the pathological differential diagnosis, including infection by *Cryptococcus neoformans* (Riet-Correa et al. 2011) or *Naegleria fowleri* (Morales et al. 2006) and poisoning by hairy vetch (*Vicia villosa*) (Rech et al. 2004). However, while these diseases present a morphological diagnosis of granulomatous meningoencephalitis, the distribution and histological pattern are distinct from those of neurotuberculosis cases. Furthermore, the identification of the acid-fast bacilli through Ziehl-Neelsen staining and IHC in neurotuberculosis cases excludes these differential diagnoses.

Tuberculosis involving the CNS is an important condition in cattle where the disease is endemic, such as in Brazil, and should be considered as a differential diagnosis of granulomatous meningoencephalitis in calves.

**Acknowledgments** This study was funded by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

**Compliance with ethical standards**

**Conflict of interest** The authors declare that they have no competing interests.

**Statement of animal rights** The manuscript does not contain clinical studies or patient data.

## References

- Andreazza, D., Boos, G., Boabaid, F., Wouters, A.T.B., Wouters, F., Souza, S.O., Menegat, M.B., Driemeier, D., 2015. Caracterização histológica e imuno-histoquímica das lesões de tuberculose em bovinos e de linfadenite granulomatosa em suínos, Pesquisa Veterinária Brasileira, 35(2), 129-136.
- Cassidy, J.P., Bryson, D.G., Pollock, J.M., Evans, R.T., Forster, F., Neill, S.D., 1998. Early lesion formation in cattle experimentally infected with *Mycobacterium bovis*, Journal of Comparative Pathology, 119, 27-44.
- Caswell, J.L., Williams, K.J., 2007. Respiratory system, 5th ed. In: Maxie, M.G., Jubb, Kennedy and Palmer's Pathology of Domestic Animals, vol. 2. Elsevier Saunders, Philadelphia, pp. 606-610.
- Cousins, D.V., Huchzermeyer, H.F.K.A., Griffin, J.F.T., Brückner, G.K., Van Rensburg, I.B.J., Kriek, N.P.J., 2004. Tuberculosis, p. 1973-1993. In: Coetzer J.A.W. & Tustin R.C. (Eds), Infectious Diseases of Livestock. Vol. 3. 2nd ed. Oxford University Press, Cape Town.
- Cousins, D. V., 2001. *Mycobacterium bovis* infection and control in domestic livestock, Revue Scientifique et Technique (Office International des Epizooties), 20, 71-85.
- Del Fava, C., Roxo, E., Baldassi, L., Cunha, E.M.S., Cabral, A.D., 2010. Granulomatous meningoencephalitis in a calf caused by *Mycobacterium bovis*, Arquivo do instituto biológico, São Paulo, 77 (2), 335-338. [http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/v77\\_2/delfava.pdf](http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/v77_2/delfava.pdf). Accessed 15 Dec 2015.
- Francis, J., 1947. Bovine tuberculosis, Staples Press, London.
- Garg, R.K., 2010. Tuberculous meningitis, Acta Neurologica Scandinavica, 122, 75–90.
- Guedes, R.M.C., Nogueira, R.H.G., Facury Filho, E.J., Lago, L.A., 1997. Meningite tuberculosa bovina, Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 49, 131-135. <http://cpro4576.publiccloud.com.br:8080/ediora/upload/trabalho/v49/v49n1a13.pdf>. Accessed 15 Dec 2015.
- Lan, S.H., Chang, W.N., Lu, C.H., Lui, C.C., Chang, H.W., 2001. Cerebral infarction in chronic meningitis: a comparison of tuberculous meningitis and cryptococcal meningitis, Quarterly Journal of Medicine, 94, 247-253.
- Morales, J.A., Chaves, A.J., Visvesvara, G.S., Dubey, J.P., 2006. *Naegleria fowleri*-associated encephalitis in a cow from Costa Rica, Veterinary Parasitology, 139, 221–223.
- Oruç, E., 2005. Meningoencephalitis tuberculosa in a holstein cow, Veterinary Pathology, 42, 856–858.
- Palmer, M.V., Waters, W.R. & Thacker T.C, 2007. Lesion development and immunohistochemical changes in granulomas from cattle experimentally infected with *Mycobacterium bovis*, Veterinary Pathology, 44, 863-874.
- Radostits, O.M., Gay, C.C., Hinchcliff, K.W., Constable, P.D., 2007. Diseases associated with bacteria - IV, p. 1007-1017. In: Ibid. (Eds), Veterinary Medicine. 10th ed. Saunders Elsevier, Edinburgh.
- Raut, T., Garg, R.K., Jain, A., Verma, R., Singh, M.K., Malhotra, H.S., Kohli, N., Parihar, A., 2013. Hydrocephalus in tuberculous meningitis: Incidence, its predictive factors and impact on the prognosis, Journal of Infection, 66, 330-337.
- Rech, R.R., Figuera R.A., Oliveira F.N., Barros C.C.L., 2004. Meningoencefalite em bovinos em pastoreio de ervilhaca (*Vicia spp*), Pesquisa Veterinária Brasileira, 24(3), 169-172.
- Riet-Correa, F., Krockenberger, M., Dantas, A.F.M., Oliveira, D.M., 2011. Bovine cryptococcal meningoencephalitis, Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, 23(5), 1056–1060.
- Rock, R.B., Olin, M., Baker, C.A., Molitor, T., Peterson, P.K., 2008. Central Nervous System Tuberculosis: Pathogenesis and Clinical Aspects, Clinical Microbiology Reviews, 21, 243–261.

- Roels, S., Walravens, K., Saegerman, C., Thelissen, M., Vanopdenbosch, E., Godfroid, J., 2003. *Mycobacterium bovis* meningitis in a cow with clinical signs of BSE, *Veterinary Record*, 152, 807–808.
- 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(3), 113-118.
- Souza, C.H., Yamane, A., Pandini, J.C., Ceretta, L.B., Ferraz, F., Da Luz, G.D., Simões, P.W., 2014. Incidence of tuberculous meningitis in the State of Santa Catarina, Brazil, *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 47(4), 483-489.
- Thakur, A., Sharma, M., Katoch, V.C., Dhar, P., Katoch, R.C., 2011. Detection of *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium tuberculosis* from cattle: Possible public health relevance, *Indian Journal Microbiology*, 52(2), 289-291. [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3386432/pdf/12088\\_2011\\_Article\\_200.pdf](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3386432/pdf/12088_2011_Article_200.pdf). Accessed 15 Dec 2015.
- Tohen, C.O., Chiodini, R., 1993. *Mycobacterium*. In: Pathogenesis of bacterial infection in animals, ed. Gyles, C.L. and Tohen, C.O., 2nd ed., pp. 44-56. Iowa State University Press, Ames, IA.
- WHO, 2015. Global tuberculosis report, 20<sup>th</sup> ed., World Health Organization, Geneva. [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/191102/1/9789241565059\\_eng.pdf?ua=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/191102/1/9789241565059_eng.pdf?ua=1). Accessed 15 Dec 2015.

## 2 CONCLUSÕES

Dos dados analisados neste período, as doenças neurológicas infecciosas bacterianas (DNIB) representaram um total de 24,3% entre as doenças neurológicas inflamatórias de ruminantes diagnosticadas pelo SPV-UFRGS.

A meningoencefalite por *L. monocytogenes* representou a doença neurológica mais frequente em ovinos e caprinos.

Em bovinos, a leptomeningite/meningoencefalite supurativa representou a principal enfermidade diagnosticada na espécie, e estão diretamente influenciadas pela falha na transmissão de imunidade passiva em bezerros neonatos.

Os abscessos medulares foram a segunda doença neurológica mais frequente em ovinos e estão ligados a infecções bacterianas ascendentes pós-caudectomia.

O empiema basilar acomete frequentemente bovinos jovens, e está diretamente relacionado com o manejo do desmame interrompido através da utilização de tabletas nasais.

A neurotuberculose representou uma importante condição em bovinos jovens com idade média de 12 meses com lesões observadas, predominantemente, em região basilar do encéfalo e deve ser considerada como possível diagnóstico diferencial de meningoencefalite granulomatosa para a espécie.