



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

JULIANA MASSITEL CURTI

**CONCENTRAÇÃO DO LACTATO L E DE OUTROS
CONSTITUINTES BIOQUÍMICOS NO LÍQUIDO
CEFALORRAQUIDIANO DE BOVINOS COM ENCEFALITES
VIRAL OU BACTERIANA**

Londrina
2018

JULIANA MASSITEL CURTI

**CONCENTRAÇÃO DO LACTATO L E DE OUTROS
CONSTITUINTES BIOQUÍMICOS NO LÍQUIDO
CEFALORRAQUIDIANO DE BOVINOS COM ENCEFALITES
VIRAL OU BACTERIANA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina como requisito parcial para a obtenção de título de mestre.

Orientador: Prof. Dr. Júlio Augusto Naylor Lisboa.

Londrina
2018

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Curti, Juliana Massitel Curti.

Concentração do lactato L e de outros constituintes bioquímicos no líquido cefalorraquidiano de bovinos com encefalites viral ou bacteriana / Juliana Massitel Curti Curti. - Londrina, 2018.
56 f.

Orientador: Júlio Augusto Naylor Lisboa Lisboa.
Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, , 2018.
Inclui bibliografia.

1. Diagnóstico - Tese. 2. Biomarcador - Tese. I. Lisboa, Júlio Augusto Naylor Lisboa. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. . III. Título.

JULIANA MASSITEL CURTI

**CONCENTRAÇÃO DO LACTATO L E DE OUTROS CONSTITUINTES
BIOQUÍMICOS NO LÍQUIDO CEFALORRAQUIDIANO DE BOVINOS
COM ENCEFALITES VIRAL OU BACTERIANA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina como requisito parcial para a obtenção de título de mestre.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Júlio Augusto Naylor Lisboa
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Paulo Henrique Jorge da Cunha
Universidade Federal de Goiás - UFG

Prof^a. Dr^a. Karina Keller Marques da Costa Flaiban
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 12 de janeiro de 2018.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao meu esposo, Murilo,
e aos meus pais, Eduardo e Olga por sempre
acreditarem que esse sonho era possível.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus por me dar o dom da vida e pelas bênçãos alcançadas.

Ao meu querido esposo, Murilo Curti, que sempre me incentivou e me deu forças para seguir em frente. Obrigada pelo apoio incondicional!

Aos meus pais, Eduardo e Olga, que desde pequena me mostraram o caminho correto, e por todo o esforço que eles realizaram em prol da minha educação. Nunca mediram esforços para me dar o melhor. Amo muito vocês.

Às minhas irmãs, Isabela e Fernanda, minhas companheiras de vida. Obrigada por sempre estarem ao meu lado.

Aos meus sogros, José Carlos e Verdi, e aos meus cunhados, Carlos Everton, Jeanine, Flávio e Flávia, por me apoiarem durante essa jornada.

Ao Prof. Dr. Júlio Augusto Naylor Libôa, que desde o início de minha graduação aceitou ser meu orientador. Obrigada pelas oportunidades, ensinamentos e, principalmente, pela amizade que construímos durante esses oito anos.

Ao Gustavo Rodrigues Queiroz, por ser integrante fundamental nesse trabalho.

Às minhas amigas, Stéfany Lia, Priscilla Fajardo, Gabriela Bregadioli, obrigada por me ajudarem nesses anos, vocês foram essenciais.

Aos meus queridos amigos de residência, Gustavo Gonçalves, Jackson Schade, José Guilherme Marcondes e Efa Depe, vocês são inspiração em minha vida, obrigada por essa amizade que construímos, levo vocês em meu coração.

À Angelita Zanata, que por muitas vezes me deu conselhos e um ombro amigo.

Aos colegas de laboratório Maíra Moreira, José Antônio Bessegatto, Bruna Parapinski, Gabriel Cucunubo, obrigada pelos momentos de descontração e pela parceria nos experimentos.

Aos residentes da Clínica Médica, Cirúrgica e Reprodução de Grandes Animais, por todo o apoio e ajuda durante as colheitas do experimento.

Ao residentes e funcionários do laboratório de Patologia Clínica, em especial à Amanda Hasuda, por me ajudar nas análises.

Aos professores da banca de qualificação, Ana Paula Bracarense e Lucas Alécio Gomes, que fizeram boas contribuições ao trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, pela oportunidade e apoio fornecidos durante o período do mestrado.

À CAPES, pela bolsa concedida durante o mestrado.

Ao CNPq e ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) pelo financiamento dos projetos de doenças neurológicas em bovinos no estado do Paraná (processo nº 578645/2008-4 e 478254/2012-1).

E a todos que, direta ou indiretamente, me auxiliaram para chegar até aqui, muito obrigada!

CURTI, Juliana Massitel. **Concentração do lactato L e de outros constituintes bioquímicos no líquido cefalorraquidiano de bovinos com encefalites viral ou bacteriana.** 2018. 56 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2018.

RESUMO

A concentração elevada de lactato L no líquido cefalorraquidiano (LCR) é utilizada como critério confiável, na rotina clínica, para reforçar o diagnóstico das encefalites bacterianas no homem, distinguindo-as das encefalites virais. Nos animais, há poucas informações sobre o assunto e é incerto que a sua concentração no LCR possa contribuir para o diagnóstico diferencial entre as encefalites. Não há estudos que tenham investigado essa hipótese em bovinos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a concentração do lactato L e de outras variáveis bioquímicas no LCR de bovinos sadios e com encefalites viral ou bacteriana. Foram colhidas e avaliadas amostras de LCR de bovinos sadios (n=10) e naturalmente acometidos pela raiva (n=15), meningoencefalite por BoHV-5 (n=16), histofilose (n=6) e encefalite bacteriana (n=4). O LCR foi colhido por punção no espaço atlanto-occipital. O plasma fluoretado foi obtido após a centrifugação do sangue colhido, por punção da veia jugular, imediatamente antes da colheita de LCR. No LCR fresco, foram realizadas as análises físicas, bioquímicas (proteínas e glicose) e celulares rotineiras. Para as demais determinações bioquímicas, as amostras de LCR e de plasma foram conservadas por congelamento até o processamento. As concentrações de lactato L foram mensuradas no LCR e no plasma. As concentrações de Na⁺, de K⁺, de Cl⁻, de Ca e de Mg foram determinadas somente no LCR. A análise de variância foi empregada para comparação entre os grupos e a correlação entre as variáveis foi estudada. A concentração de lactato L no LCR foi maior na encefalite bacteriana quando comparada à dos bovinos sadios. No entanto, não houve diferença entre as encefalites virais e bacterianas. As concentrações dos eletrólitos no LCR não diferiram, mas Na⁺ e Cl⁻ tenderam a aumentar na encefalite bacteriana. A concentração de Ca foi menor nos bovinos doentes. A concentração de lactato L no LCR se correlacionou com a concentração de lactato L no plasma, com as concentrações de Na⁺, de Cl⁻, de proteínas e de glicose e com o número de células nucleadas, polimorfonucleadas (PMN) e mononucleadas (MN) presentes no LCR. Apesar do número reduzido de casos de encefalite bacteriana incluídos no estudo, pode-se concluir que a concentração de lactato L no LCR não possui importância como critério diagnóstico que auxilia na diferenciação entre as encefalites virais e as bacterianas em bovinos. Outros estudos como maior número de observações são necessários para esclarecer esse aspecto no caso específico da listeriose.

Palavras-chave: Diagnóstico. Biomarcador. Raiva. Meningoencefalite por BoHV-5. Histofilose.

CURTI, Juliana Massitel. **L lactate and other biochemical components concentrations in cerebrospinal fluid of cattle with viral or bacterial encephalitis**. 2018. 56 p. Dissertation (Master's Degree in Animal Science) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2018.

ABSTRACT

The high concentrations of L lactate in cerebrospinal fluid (CSF) is used as a criteria in the clinical practice to reinforce the diagnosis of bacterial encephalitis in humans, distinguishing them from viral encephalitis. In animals, there are little informations on the subject and it is uncertain that its concentration in CSF may contribute to the differential diagnosis between encephalitis. There aren't researches investigating this hypothesis in cattle. The aim of this study was to evaluate the L lactate and other biochemical components concentrations in CSF of healthy cattle and suffering from viral or bacterial encephalitis. The samples of CSF were collected and evaluated from healthy cattle (n=10) and naturally affected by rabies (n=15), BoHV-5 meningoencephalitis (n=16), histophilosis (n=6) and bacterial encephalitis (n=4). The CSF was collected at the atlanto-occipital site. Blood were obtained from the jugular vein, and after fluoridated plasma was obtained by centrifugation, immediately before CSF was collected. In fresh CSF physical, biochemical (protein and glucose) and cellular analysis were performed. For another biochemicals determination, CSF and plasma were kept frozen until processing. The L lactate concentrations were mensured in CSF and plasma. The concentrations of Na^+ , K^+ , Cl^- , Ca, Mg were mensured only in CSF. The analysis of variance was used for comparison between groups and correlation test was studied. The L lactate CSF concentrations were higher in bacterial encephalitis than in healthy cattle, however did not differ between viral and bacterial encephalitis. The eletrolytes concentrations of CSF did not differ, however Na^+ and Cl^- tended to increase in the bacterial encephalitis. The Ca concentrations were lower in encephalitis cattle. The L lactate CSF concentrations were correlated with L lactate plasma concentrations, Na^+ , Cl^- , protein and glucose and the number of nucleated cells, polymorphonuclear and mononuclear cells, presented in CSF. Despite the small number of cases of bacterial encephalitis included in this study, it may be concluded that L lactate concentration is not important as a diagnostic method for differentiaton between viral and bacterial encephalitis in cattle. Additional studies with higher number of observations are necessary to clarify this aspect in the especific listeriosis case.

Keywords: Diagnosis. Biomarker. Rabie. BoHV-5 meningoencephalitis. Histophilosis

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Concentração do lactato L e de outros constituintes no LCR de bovinos sadios e com encefalites viral ou bacteriana.....	52
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
SNC	Sistema nervoso central
LCR	Líquido cefalorraquidiano
Na ⁺	Sódio
K ⁺	Potássio
Cl ⁻	Cloreto
Ca	Cálcio
Mg	Magnésio
IFD	Imunofluorescência direta
ICC	Inoculação intracerebral em camundongos
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCR	Reação em cadeia pela polimerase
BHE	Barreira hematoencefálica

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1	PRINCIPAIS ENCEFALITES VIRAIS NO BRASIL.....	14
2.1.1	Raiva.....	14
2.1.2	Meningoencefalite por BoHV-5	15
2.2	PRINCIPAIS ENCEFALITES BACTERIANAS NO BRASIL	16
2.2.1	Listeriose.....	16
2.2.2	Histofilose.....	17
2.3	LÍQUIDO CEFALORRAQUIDIANO	18
	REFERÊNCIAS	24
3	HIPÓTESES	29
4	OBJETIVOS	30
4.1	OBJETIVO GERAL	30
4.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	30
5	ARTIGO – CONCENTRAÇÃO DE LACTATO L E DE OUTROS CONSTITUINTES BIOQUÍMICOS NO LÍQUIDO CEFALORRAQUIDIANO DE BOVINOS COM ENCEFALITES VIRAL OU BACTERIANA	31
	CONCLUSÃO	53
	ANEXOS	54
	ANEXO A – Aprovação e registro na comissão de ética no uso de animais.....	54

1 INTRODUÇÃO

O rebanho bovino brasileiro consiste em 218,23 milhões de cabeças, o montante representa um aumento de 1,4% em comparação com o ano de 2015 segundo pesquisa do IBGE (BRASIL, 2017). As doenças do sistema nervoso central (SNC) em bovinos abrangem um grupo de enfermidades responsáveis por grandes perdas econômicas em todo o mundo, pois quase sempre provocam a morte dos animais acometidos e, na maioria das vezes, ocorrem sob a forma de surtos (MAYHEW, 2009; LIMA et al., 2005).

As encefalites virais, como a raiva e a meningoencefalite por BoHV-5, são as enfermidades que possuem maior incidência no Brasil. Diferentemente, as encefalites bacterianas, como no caso da listeriose são pouco frequentes (RIBAS et al., 2013; KONRADT et al., 2017; QUEIROZ, 2017; TERRA, 2017).

Entre as doenças neurológicas que ocorrem no Brasil, a raiva tem grande importância na sanidade dos bovinos e na saúde pública por se tratar de zoonose. Estima-se que as perdas anuais de herbívoros por raiva no Brasil sejam de aproximadamente 1800 cabeças por ano, que equivalem a aproximadamente a 900.000 mil dólares (BRASIL, 2018), levando em consideração que cada um caso notificado existem outros dez que não tiveram o diagnóstico realizado. No estado do Paraná, a raiva é considerada endêmica e com ocorrência variável, acometendo principalmente a espécie bovina com 86,9% dos casos dentre os herbívoros (DOGNANI et al., 2016).

O diagnóstico da maioria das doenças neurológicas é realizado *postmortem* com o auxílio da histopatologia e de outros exames complementares (MAYHEW, 2009; SMITH; GEORGE, 2009). No entanto, a utilização de métodos de diagnóstico *antemortem* facilitaria a definição precoce da enfermidade, possibilitando intervenções rápidas do clínico o que pode evitar a propagação de surtos e direcionar o tratamento quando possível (STOKOL et al., 2009).

A análise do líquido cefalorraquidiano (LCR) é o exame, de caráter preliminar, frequentemente utilizado nos casos de doenças neurológicas, e a amostra é obtida de forma rápida e fácil (NAGY, 2017). A análise líquórica rotineira fornece informações sobre a celularidade e sobre as concentrações de proteínas e de glicose, permitindo concluir se o processo é de natureza inflamatória ou não (SCOTT, 2004). Outros componentes podem ser mensurados no LCR, como sódio (Na⁺), potássio (K⁺),

cloreto (Cl⁻), cálcio (Ca), magnésio (Mg) (WELLES et al., 1992; ST-JEAN et al., 1997) e o lactato L (CAINES et al., 2013).

A concentração do lactato L no LCR possui aplicabilidade prática na medicina, pois auxilia a diferenciar de forma rápida se a encefalite é de origem viral ou bacteriana (CHEN et al., 2012; GRILLE et al., 2012; MASKIN et al., 2013; LI et al., 2015; XIAO et al., 2016). Já na medicina veterinária existem poucas informações em cães (CAINES et al., 2013), gatos (INAO et al., 1988) e em equinos (GREEN and CONSTANTINESCU, 1993; TENNENT-BROWN, 2012). Em bovinos não há estudos realizados.

Portanto, o presente trabalho tem como objetivo determinar a concentração de lactato L, eletrólitos e bioquímicos, e verificar se a concentração do lactato L no LCR pode ser admitida como marcador biológico para diferenciar as encefalites virais de bacterianas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PRINCIPAIS ENCEFALITES VIRAIS NO BRASIL

2.1.1 Raiva

A raiva é uma enfermidade infecciosa viral, causada pelo vírus *Lyssavirus* da família *Rhabdoviridae* (KOBAYASHI et al., 2005), que não possui predileção por sexo ou raça e acomete rebanhos de bovinos de corte e de leite (LANGOHR et al., 2003; QUEIROZ, 2017). No Brasil, o morcego hematófago *Desmodus rotundus* é o principal reservatório e transmissor do vírus para os herbívoros (BRASIL, 2009).

De acordo com os levantamentos de doenças neurológicas realizados pelo Brasil, a raiva é considerada a principal encefalite viral (RISSI et al., 2010), no Rio Grande do Sul (SANCHES et al., 2000), no Semi árido nordestino (GALIZA et al., 2010), no Mato Grosso do Sul (RIBAS et al., 2013) e em Goiás (TERRA, 2017). No Paraná a enfermidade em herbívoros é conhecida desde 1927 e acomete 47,6% dos municípios do estado. A cada dez bovinos com sinais de disfunção neurológica, três são confirmados como raiva (DOGNANI, et al., 2016).

Os bovinos doentes podem apresentar sinais clínicos variáveis, que dependerá da área acometida no sistema nervoso central (SNC). O vírus pode acometer cérebro, tronco encefálico, cerebelo e a medula espinhal. Entre os sinais clínicos mais observados destacam-se a depressão, incoordenação, paralisia dos membros pélvicos, sialorreia, flacidez de língua, dificuldade de deglutição, amaurose e bruxismo (LIMA et al., 2005). O período de latência pode variar entre 20 a 177 dias, no entanto, o vírus pode permanecer incubado por até seis meses segundo a organização mundial de saúde animal (OIE) (BRASIL, 2009).

A colheita e análise do LCR pode ser empregada, e os achados consistem em hiperproteínoorraquia (44,74 mg/dL) e pleocitose (21,18 leucócitos/mm³) discreta. Em alguns casos pode não haver alterações líquóricas (QUEIROZ, 2017).

O diagnóstico definitivo para a raiva é realizado pelo exame de imunofluorescência direta (IFD) e teste de inoculação intracerebral em camundongos (IIC). Esses exames são amplamente utilizados e recomendados pela Organização Mundial da Saúde (OMS). Os fragmentos de encéfalo que devem ser encaminhados para

a realização do exame são: córtex, cerebelo e tronco cerebral (BRASIL, 2009). O material colhido deve ser refrigerado até a chegada ao laboratório. Caso o período entre a colheita e o envio ao laboratório seja prolongado, é recomendado o congelamento da amostra (BARROS et al., 2006; BRASIL, 2009). Não há tratamento para a raiva, e a doença é fatal em todos os casos uma vez iniciados os sinais clínicos (BRASIL, 2009).

O controle deve ser efetivado pela vacinação de todo o rebanho de bovinos, ovinos, caprinos, equídeos e suínos. A vacina contém o vírus inativado, e deve ser administrada na dose de 2 mL por animal por via subcutânea a partir dos 3 meses de idade (BRASIL, 2009).

2.1.2 Meningoencefalite por BoHV-5

A meningoencefalite herpética é causada pelo herpesvírus bovino 5 (BoHV-5), que acomete principalmente animais jovens, na faixa etária entre 60 dias até 18 meses de idade (SALVADOR et al., 1998; BARROS et al., 2006; LISBÔA et al., 2009; QUEIROZ, 2017). O BoHV-5 é um vírus envelopado da família *Herpesviridae* e subfamília *Alphaherpesvirinae* (LUNARDI et al., 2009).

Depois da raiva, a meningoencefalite por BoHV-5 é a principal causa de encefalopatia em bovinos no Brasil, com surtos em vários estados como Goiás, Mato Grosso do Sul, São Paulo, Minas Gerais, Rio Grande do Sul, Mato Grosso e Pará (CUNHA, 2010). No Paraná, alguns surtos já foram descritos comprovando que a doença tem importância (CLAUS et al., 2002; LISBÔA et al., 2009; LUNARDI et al., 2009). Diferentemente dos outros estados, no levantamento epidemiológico realizado no estado do Paraná entre os anos de 2009 a 2015 demonstrou-se que a meningoencefalite por BoHV-5 é principal causa de encefalite (QUEIROZ, 2017).

Os sinais neurológicos variam de acordo com a lesão e a área afetada do SNC. Os bovinos exibem síndrome cerebral desde o início dos sinais clínicos, como amaurose, opistótono, convulsões, tremores musculares e depressão (RISSI et al., 2006; LISBÔA et al., 2009; QUEIROZ, 2017). No entanto, a doença pode se apresentar de forma assintomática. Em estudo realizado por Isernhagen et al. (2011) com sete bezerros infectados experimentalmente com o BoHV-5, três não desenvolveram sinais clínicos durante 30 dias pós infecção.

O exame de LCR tem demonstrado importância nessa enfermidade, com presença de pleocitose mononuclear moderada (242 leucócitos/mm³) e

hiperproteiorraquia (99,97 mg/dL) (QUEIROZ, 2017; ISERNHAGEN et al., 2011; LISBÔA et al., 2009). O exame de PCR do LCR tem baixa sensibilidade, em que a cada dez bovinos acometidos, somente dois serão positivos (MASSITEL et al., 2016).

Durante a necropsia pode não haver alterações macroscópicas, mas quando estão presentes são descritas áreas de malácia no encéfalo, depressão das circunvoluções, congestão e hemorragia (BARROS et al., 2006; RISSI et al., 2006). O exame histopatológico é caracterizado por meningite não supurativa necrotizante com infiltrado mononuclear, gliose e meningite (ISERNHAGEN et al., 2011).

O diagnóstico definitivo é realizado com a histopatologia, a imunohistoquímica, o isolamento viral e a reação em cadeia pela polimerase (PCR). O exame de PCR apresentou sensibilidade alta em amostras armazenadas por longos períodos (CAGNINI et al., 2017).

Não há tratamento específico para a meningoencefalite por BoHV-5, e a prevenção consiste na vacinação do rebanho, e associar manejo que não cause estresse no rebanho, evitando dessa maneira imunossupressão e desenvolvimento da enfermidade (BARROS et al., 2006).

2.2 ENCEFALITES BACTERIANAS NO BRASIL

2.2.1 Listeriose

A listeriose é uma doença causada pela bactéria gram-positiva *Listeria monocytogenes*. Sua primeira observação foi no ano de 1911 por Hulphers, que isolou de focos necróticos de fígado de coelho uma bactéria, na época denominada de *Bacillus hepatis* (BARROS et al., 2006).

A listeriose pode causar três formas diferentes de manifestação clínica, como a sepsse com abscessos em vísceras, abortos ou doença neurológica. Nos bovinos causa principalmente abortos e doenças neurológicas (BARROS et al., 2006).

A *L. monocytogenes* sobrevive por longos períodos no solo, em plantas, em silagens e nas fezes (SMITH; GEORGE, 2009). O desenvolvimento da doença está associado ao consumo de silagem de milho e gramíneas de má qualidade, em que o pH acima de 5,5 favorece a multiplicação da *L. monocytogenes* nesses locais (BARROS et al., 2006).

No Brasil, estudos epidemiológicos demonstraram que a presença de listeriose é baixa, correspondendo menos que 1% dos casos no Paraná (QUEIROZ, 2017), no semiárido nordestino (GALIZA et al., 2010), no Rio Grande do Sul (KONRADT et al., 2017), e no Mato Grosso do Sul (RIBAS et al., 2013). Diferentemente, nos países do hemisfério norte a incidência é alta (NILES, 2017). Em estudo retrospectivo realizado nos Estados Unidos, entre todos os casos de encefalite bacteriana, 38% foram positivos para listeriose (STOKOL et al., 2009).

Os sinais clínicos dependem da localização das lesões no tronco encefálico, e incluem depressão, andar em círculos e outras disfunções relacionadas com os pares de nervos cranianos do V a XII. A evolução clínica é variável, normalmente é de 7 a 14 dias, e com alta taxa de letalidade (SMITH; GEORGE, 2009).

O exame de LCR tem importância diagnóstica, em que provavelmente, o LCR será turvo, haverá hiperproteinorraquia e pleocitose acentuada, no entanto esses achados não refletem a gravidade da doença (SCOTT, 2004). O diagnóstico definitivo é realizado com base na histopatologia com presença de microabscessos multifocais no tronco encefálico e no isolamento da *L. monocytogenes* em tecido cerebral (BARROS et al., 2006; SMITH; GEORGE, 2009).

O tratamento tem bons resultados quando realizado na fase inicial da doença, e consiste na administração de clortetraciclina (10 mg/kg) durante cinco dias ou a administração de penicilina (44000 UI/kg) durante 7-14 dias. O Brasil ainda não tem disponível a vacina para a listeriose (BARROS et al., 2006).

2.2.2 Histofilose (Meningoencefalite tromboembólica por *Histophilus somni*)

A histofilose é uma doença multissistêmica causada pela bactéria gram-negativa *Histophilus somni*, que pode produzir diferentes síndromes, entre elas a meningoencefalite tromboembólica (SMITH; GEORGE, 2009).

A doença acomete bovinos de todas as idades em confinamento, porém é mais comum ocorrer em bovinos jovens, logo após o desmame (MAYHEW, 2009). Entretanto há relatos de histofilose em bovinos adultos criados de forma extensiva (HEADLEY et al., 2015).

Os sinais clínicos iniciais são febre, anorexia, depressão e ataxia. Outros sinais observados incluem opistótono, convulsões, tetraparesia, nistagmo, estrabismo, déficit proprioceptivo e evolução rápida para a morte em aproximadamente 36 horas

(SMITH; GEORGE, 2009). Normalmente a evolução da doença é hiperaguda, porém é variável e em alguns casos pode durar semanas (MAYHEW, 2009; HEADLEY et al., 2015).

No exame de LCR pode-se encontrar xantocromia, hiperproteinorraquia e pleocitose (SCOTT, 2004; BARROS et al., 2006), no entanto pode não haver alteração (HEADLEY et al., 2015). No exame hematológico espera-se leucocitose, neutrofilia, hiperfibrinogenemia (HEADLEY et al., 2015).

O diagnóstico definitivo é realizado por histopatologia associado a PCR. Nos achados macroscópicos encontram-se infartos múltiplos no encéfalo, com focos marrom-avermelhados devido a necrose hemorrágica. Os achados microscópicos compreendem acúmulos de polimorfonucleares e mononucleares (BARROS et al., 2006), além de microtrombos nos vasos da meninge (HEADLEY et al., 2015).

O tratamento da histofilose deve ser iniciado quando os primeiros sinais neurológicos aparecerem. O *H. somni* é sensível a vários tipos de antimicrobianos, incluindo tetraciclina, sulfonamidas, penicilinas e fluorquinolonas (MAYHEW, 2009). O antibiótico de escolha é a oxitetraciclina (10mg/kg) administrada por via intravenosa, duas vezes ao dia durante três dias, ou realizar três doses de 20 mg/kg de formulação de ação prolongada a cada 48 horas (SMITH; GEORGE, 2009).

A prevenção é realizada mediante a vacinação, principalmente nos bovinos jovens que estão em confinamento. A utilização de aditivos alimentares com oxitetraciclina também podem ser úteis na prevenção da doença (SMITH; GEORGE, 2009).

2.3 LÍQUIDO CEFALORRAQUIDIANO

A análise do líquido cefalorraquidiano (LCR) fornece informações ao clínico, e auxilia no diagnóstico, pois indica se o processo é de natureza inflamatória ou não (SCOTT, 2004). As doenças neurológicas podem ou não alterar o LCR, devido a isso uma anamnese e exame neurológico são necessários para a interpretação das alterações presentes no exame do LCR (TERLIZZI; PLATT, 2006; STOKOL et al., 2009).

O LCR é o líquido que envolve o SNC, e possui quatro funções principais que são, proporcionar suporte físico, excreção de metabólitos, o transporte de nutrientes e o controle dos constituintes bioquímicos do SNC (TERLIZZI; PLATT, 2006; VERNAU; VERNAU; BAILEY, 2008). Além disso, o LCR exerce seu efeito protetor

sobre o SNC mudando seu volume de acordo com a pressão intracraniana. Dessa maneira protege o encéfalo de alterações de pressão arterial e venosa associada à postura, respiração e esforço (DE LAHUNTA, 2009).

2.3.1 Formação e Absorção do LCR

De acordo com a hipótese clássica, a formação ocorre principalmente nos plexos coroides e a outra pequena fração ocorre extracoroide, nos espaços perivasculares do SNC. A formação nos plexos coroides envolve dois processos distintos e que ocorrem de forma concomitante; a primeira é a filtração através da parede do capilar coroidal e a segunda é a secreção pelo epitélio coroidal (SCOTT, 2004; TERLIZZI; PLATT, 2006).

Dentro do plexo coroide, a pressão hidrostática dos capilares faz a transferência de água e íons para o fluido intersticial e após para o epitélio coroide. A água e os íons são transferidos para o ventrículo tanto por movimento intracelular através das membranas epiteliais quanto por circulação intercelular nas junções apicais entre as células epiteliais. Ambos os processos dependem de transporte ativo para ocorrer. A secreção de LCR depende da bomba sódio-potássio que está localizada na superfície apical do epitélio coroide. A presença de terminações nervosas sugere um controle neural da secreção de LCR, no entanto o funcionamento desta inervação é desconhecido (VERNAU; VERNAU; BAILEY, 2008).

Após ser formado nos ventrículos laterais, o LCR flui para o terceiro ventrículo e através do aqueduto mesencefálico (ou de Sylvius), chega ao quarto ventrículo. A maior parte atinge o espaço subaracnoide posteriormente, e pequena fração é destinada ao canal medular (DE LAHUNTA, 2009).

A taxa de formação se mantém relativamente estável e está correlacionada com o peso da espécie (TERLIZZI; PLATT, 2006). Nos bovinos a velocidade de formação do LCR é de 290 $\mu\text{L}/\text{min}$ (DE LAHUNTA, 2009).

A maior parte da absorção do LCR ocorre nas vilosidades aracnoides, que se projetam para os seios durais, porém existem outras duas vias de absorção: a) nos canais linfáticos localizados na dura máter; b) nas bainhas perineurais dos nervos cranianos, principalmente, o olfatório. A absorção pelas vilosidades aracnoides ocorre de forma transcelular, e a absorção é unidirecional, sendo do LCR para o sangue venoso (DE LAHUNTA, 2009).

2.3.2 Colheita e análise do LCR

A colheita e análise do LCR é componente importante no diagnóstico e avaliação das doenças neurológicas (SCOTT, 2004). O LCR deve ser colhido quando há suspeita de doença neurológica inflamatória, infecciosa, traumática, neoplásica ou degenerativa (TERLIZZI; PLATT, 2009).

Para realizar a colheita de LCR deve-se escolher o tamanho adequado da agulha, o campo de colheita deve ter ampla tricotomia e antissepsia e, caso haja infecção na pele no local de punção deve-se evitar a colheita nesse ponto (DE LAHUNTA, 2009).

A colheita de LCR pode ser realizada em dois locais distintos nos bovinos, o espaço atlanto-occipital ou no espaço lombossacro (SCOTT, 2004; NAGY, 2017). No espaço atlanto-occipital, deve ser realizada sedação leve e o bovino permanece posicionado em decúbito lateral direito. Após a tricotomia e antissepsia o pescoço deve ser flexionado em ângulo de 90°, a agulha é inserida 1 a 2 cm depois de ponto correspondente à intersecção da linha média dorsal com uma linha traçada entre as faces craniais das asas do atlas, normalmente esse ponto encontra-se a uma distância de 6 a 9 cm do ponto alto da nuca do bovino. A agulha deve prosseguir lentamente, e após a penetração da dura mater o LCR deve fluir (STOBER, 1993; SMITH; GEORGE, 2009; DE LAHUNTA, 2009). A colheita no espaço atlanto-occipital foi descrita com auxílio de ultrassonografia facilitando a técnica (BRAUN; ATTIGER; BRAMMERTZ, 2015).

No espaço lombossacro, sedação leve pode ser utilizada e o bovino deve permanecer em estação. A introdução da agulha é feita no meio do “sulco” elástico, situado entre os ângulos mediais do íleo, o processo espinhoso da última vértebra lombar e o sacro. A agulha deve ser introduzida verticalmente, quando dura mater é perfurada há uma reação súbita de dor, e após poucos milímetros é possível obter o LCR (STOBER, 1993). A colheita no espaço atlanto-occipital ou lombossacro não influencia significativamente na análise do LCR posteriormente (VERNAU; VERNAU; BAILEY, 2008; DE LAHUNTA, 2009).

A composição e análise do LCR de bovinos e bezerros, respectivamente, é bem estabelecida (WELLES et al., 1992; ST. JEAN et al., 1997). A análise líquórica é constituída rotineiramente por análise física, citológica, contagem diferencial de leucócitos, proteína, glicose e densidade. A análise física consiste em cor, aspecto e viscosidade. O LCR normal deve ser incolor, límpido e possuir a mesma

viscosidade da água, porém, em condições patológicas pode apresentar alteração na coloração (TERLIZZI; PLATT, 2009).

A análise citológica pode ser realizada em qualquer câmara de contagem de células, porém normalmente utiliza-se a câmara de Fuchs-Rosenthal. Para a diferenciação de hemácias e leucócitos deve-se conhecer as características de cada célula. Os eritrócitos apresentam-se com contorno regular e presença de halos no centro, projeções finas e pontiagudas podem aparecer no caso de hemácias crenadas. Os leucócitos possuem aspecto granular e são levemente refringentes. Fisiologicamente os bovinos possuem no máximo, 10 leucócitos por mm^3 (COMAR et al., 2009; DE LAHUNTA, 2009).

A contagem diferencial de leucócitos é uma etapa fundamental da análise, pois conforme a predominância de célula estabelece-se conduta terapêutica adequada. Nas encefalites virais espera-se pleocitose com predomínio de células mononucleares, e nas encefalites bacteriana pleocitose com predomínio de células polimorfonucleares (SCOTT, 2004; STOKOL et al., 2009; NAGY, 2017). Em alguns casos a colheita seriada de LCR se faz necessária para acompanhar a evolução do quadro clínico ou avaliar eficácia no tratamento, em estudo realizado comprovou-se que o intervalo de colheita de LCR de 96 horas não produz inflamação local ou alteração nos valores citológicos e bioquímicos rotineiramente mensurados (CUNHA et al., 2017).

A concentração fisiológica de proteína no LCR de bovinos varia de 20 a 40 mg/dL (SMITH; GEORGE, 2009). O aumento na concentração de proteína do LCR pode ser ocasionado por diversos fatores como aumento da permeabilidade da barreira hematoencefálica com passagem de proteínas da circulação para o LCR, produção de globulinas por via intra tecal e interrupção do fluxo ou absorção do LCR (VERNAU; VERNAU; BAILEY, 2008). Nas encefalites virais e bacterianas há marcada hiperproteinorraquia (STOKOL et al., 2009).

O aumento da concentração de glicose no LCR indica hiperglicemia e a sua diminuição acompanha, normalmente, os casos de encefalite bacteriana. Os principais fatores para a diminuição da glicose são alteração na membrana da barreira hematoencefálica com diminuição da entrada e aumento de glicólise pelo tecido neural. A concentração de glicose normalmente varia entre 35 a 70 mg/dL (SCOTT, 2004; SMITH; GEORGE, 2009).

Além da análise rotineira, outros constituintes bioquímicos podem ser mensuradas no LCR, tais como, o sódio (Na^+), potássio (K^+), cloreto (Cl^-), cálcio total (Ca), magnésio (Mg) (SCOTT, 2004; NAGY, 2017) e o lactato L (CAINES et al., 2013).

Em relação a concentração dos eletrólitos, espera-se que a concentração de Na^+ e Cl^- sejam levemente maiores no LCR quando comparado com o plasma, e que o K^+ , esteja em menor concentração (TERLIZZI; PLATT, 2006).

A concentração de Ca no LCR é independente da concentração do plasma. Quando há inflamação no SNC, como no caso de encefalite ou meningite, normalmente ocorre influxo de compostos inorgânicos, como Na^+ , K^+ e Cl^- , porém isso não é observado com o Ca, pois ele é secretado pelo plexo coiroide que age de forma semelhante a uma membrana retendo de 30-40% do cálcio sérico (TERLIZZI; PLATT, 2006).

Nos bovinos a análise líquórica tem sido utilizada para o diagnóstico *antemortem* de intoxicação por sal, em que valores acima de 160 mmol/L de Na^+ no LCR confirmam a doença (WELLES et al., 1992; NILES, 2017). Utiliza-se também a concentração de Mg no LCR, que acompanham os quadros de hipomagnesemia (GOFF, 1999). Sabe-se que a concentração do magnésio no LCR menor que 1mg/dL indica convulsões clônicas devido à hipomagnesemia, e esse parâmetro pode ser utilizado até 12 horas *postmortem* (GOFF, 1999, NAGY, 2017).

A mensuração da concentração do lactato L no LCR não é um procedimento rotineiro na medicina veterinária. No entanto, em humanos a concentração de lactato L no LCR tem sido utilizada para diferenciar as encefalites de origem viral de bacteriana (CHEN et al., 2012; MASKIN et al., 2013; LI et al., 2014; XIAO et al., 2016). Paralelamente, outras disfunções neurológicas podem elevar a sua concentração, como nos casos de convulsões (TUMANI et al., 2015), na esclerose múltipla (ALBANESE et al., 2016) e na doença de Alzheimer (LIGUORI et al., 2014), demonstrando a sua importância diagnóstica.

O lactato é considerado marcador de hipóxia tecidual, e a sua produção ocorre em condições anaeróbicas, pois com a privação de oxigênio há bloqueio da oxidação aeróbica da glicose pelo ciclo do ácido tricarbóxico, ou em células sem mitocôndrias, como os eritrócitos. Nesses casos, o piruvato é reduzido a lactato L, liberando uma molécula de trifosfato de adenosina (ATP) (CORLEY; DONALDSON; FURR, 2005; GONZÁLEZ; SILVA, 2006).

Na medicina veterinária, estudos com cães (CAINES et al., 2013), gatos (INAO et al., 1988) e equinos (GREEN; CONSTANTINESCU, 1993; TENNENT-BROWN, 2012) foram realizados. Em estudo experimental com gatos pode-se observar que o aumento da concentração de lactato no LCR se intensifica de acordo com a gravidade da lesão cerebral, ou seja, quanto maior o dano maior a concentração do lactato. Nos casos de lesão cerebral grave a concentração de lactato L no LCR foi de $4,1 \pm 0,4$ mmol/L (INAO et al., 1988). No trabalho que avaliou a concentração de lactato L no LCR de cães saudáveis e com doenças intracranianas não houve diferença ($1,6 \pm 0,4$ mmol/L nos cães saudáveis e $2,1 \pm 0,8$ mmol/L nos cães com doenças intracranianas). Entretanto, o número de observações foi pequeno, somente 11 casos, e com ampla variedade nas doenças (CAINES et al., 2013). Em equinos, foi descrito aumento na concentração de lactato L no LCR nos casos de abscessos cerebrais, encefalomielite equina do leste e no trauma encefálico (GREEN; CONSTANTINESCU, 1993; TENNENT-BROWN, 2012).

REFERÊNCIAS

ALBANESE, M.; ZAGAGLIA, S.; LANDI, D.; BOFFA, L.; NICOLETTI, C.G.; MARCIANI, M.G.; MANDOLESI, G.; MARFIA, G.A.; BUTTARI, F.; MORI, F.; CENTONZE, D. Cerebrospinal fluid lactate is associated with multiple sclerosis disease progression. **Journal of Neuroinflammation**. v.13, p.36-42, 2016.

BRASIL 2009. Controle da raiva dos herbívoros. Disponível em <<http://www.agricultura.gov.br>> Acesso em 10 out. 2017

BRASIL. Revista globo rural. 2017. Disponível em: <<http://revistagloborural.globo.com/Noticias/Criacao/noticia/2017/09/em-2016-rebanho-bovino-brasileiro-era-de-21823-milhoes-de-cabecas.html>>. Acesso em: 10 out. 2017.

BRASIL. Controle da raiva dos herbívoros e encefalopatia espongiiforme bovina – EEB. 2018. Disponível em < <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/prog-nacional-de-controle-da-raiva-dos-herbivoros-e-outras-encefalopatias>> Acesso em 22 jan. 2018.

BARROS, C.S.L.; DRIEMEIER, D.; DUTRA, I.S.; LEMOS, R.A.A. **Doenças do sistema nervoso de bovinos no Brasil**. Montes Claros: Vallée, 2006

BRAUN, U.; ATTIGER, J.; BRAMMERTZ, C. Ultrasonographic examination of the spinal cord and collection of cerebrospinal fluid from the atlanto-occipital space in cattle. **BMC Veterinary Research**. p.1-7, 2015.

CAGNINI, D.G., ANDRADE, D.G.A.; CUNHA, P.H.J., OLIVEIRA-FILHO, J.P.; AMORIM, R.L.; ALFIERI, A.A.; BORGES, A.S. Retrospective study of bovine herpesvirus 5 meningoencephalitis in cattle from São Paulo state, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.69, n.2, p.299-304, 2017.

CAINES, D.; SINCLAIR, M.; WOOD, D.; VALVERDE, A.; DYSON, D.; GAITERO, L.; NYKAMP, S. Evaluation of cerebrospinal fluid lactate and plasma lactate concentrations in anesthetized dogs with and without intracranial disease. **The Canadian Journal of Veterinary Research**. v.77, p.297-302, 2013.

CHEN, Z.; WANG, Y.; ZENG, A.; CHEN, L.; WU, R.; CHEN, B.; CHEN, M.; BO, J.; ZHANG, H.; PENG, Q.; LU, J.; MENG, Q.H. The Clinical diagnostic significance of cerebrospinal fluid d-lactate for bacterial meningitis. **Clinica Chimica Acta**. v.413, p.1512-1515, 2012.

CLAUS, M.P.; ALFIERI, A.F.; ALFIERI, A.A. Herpesvírus Bovino Tipo5 e Meningoencefalite Herpética Bovina. **Semina Ciências Agrárias**. v.23, n.1, p.131-141, 2002.

COMAR, S.R.; MACHADO, N.A.; DOZZA, T.G.; HAAS, P. Análise citológica do líquido cefalorraquidiano. **Estudos de Biologia**. v.31, p.93-102, 2009.

CORLEY, K.T.T.; DONALDSON, L.L.; FURR, M.O. Arterial lactate concentration, hospital survive, sepsis and SIRS in critically ill neonatal foals. **Equine Veterinary Journal**. v.37, n.1, p.53-59, 2005.

CUNHA, P.H.J. Polioencefalomalácia em Bovinos ocasionado pela ingestão de dieta com alto teor de enxofre ou pelo Herpesvírus Bovino Tipo 5. **Tese (Doutorado)** Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2010.

CUNHA, P.H.J.; ANDRADE, D.G.A.; OLIVEIRA-FILHO, J.P.; BADIAL, P.R.; PASSARELLI, D.; TAKAHIRA, R.K.; LISBÔA, J.A.N.; BORGES, A.S. Parâmetros citológicos e bioquímicos do líquido cefalorraquidiano coletado de bovinos sadios em dois momentos, com intervalo de 96 horas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.69, p.1393-1397, 2017.

DE LAHUNTA. Cerebrospinal fluid and hydrocephalus. In:____. **Veterinary neuroanatomy and clinical neurology**. Elsevier, 2009, p.54-76.

DOGNANI, R.; PIERRE, E.J.; SILVA, M.C.P.; PATRÍCIO, M.A.C.; COSTA, S.C.; PRADO, J.R.; LISBÔA, J.A.N. Epidemiologia descritiva da raiva dos herbívoros notificados no estado do Paraná entre 1977 e 2012. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.36, n.12, p.1145-1154, 2016.

GALIZA, G.J.N.; SILVA, M.L.C.R.; DANTAS, A.F.M.; SIMÕES, S.V.D.; RIETCORREA, F. Doenças do sistema nervoso de bovinos no semiárido nordestino. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.30, n.3, p.267-276, 2010.

GOOF, J.P. Treatment of calcium, phosphorus and magnesium balance disorders. **The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**. v.15, p.619-639, 1999.

GONZÁLEZ, F.H.D.; SILVA, S.C. Bioquímica clínica de glicídeos. In:____. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. 2 ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2006. p.153-210.

GREEN, E.; CONSTANTINESCU, G. Equine cerebrospinal fluid: analysis. **Compendium on continuing education for the practicing veterinarian**. v.15, p.288-302, 1993.

GRILLE, P.; TORRES, J.; PORCIRES, F.; BAGNULO, H. Value of cerebrospinal fluid lactate for the diagnosis of bacterial meningitis in postoperative neurosurgical patients. **Neurocirurgia**. v.23, n.4, p.131-135, 2012.

HEADLEY, S.A.; BRACARENSE, A.P.F.R.L.; OLIVEIRA, V.H.S.; QUEIROZ, G.R.; OKANO, W.; ALFIERI, A.F.; FLAIBAN, K.K.M.C.; LISBÔA, J.A.N.; ALFIERI, A.A. Histophilus somni-induced thrombotic meningoencephalitis in cattle from northern Paraná, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.35, n.4, p.329-336, 2015.

INAO, S.; MARMAROU, A.; CLARKE, G.; ANDERSEN, B.; FAOUROS, P.P.; YOUNG, H.F. Production and clearance of lactate from brain tissue, cerebrospinal fluid and serum following experimental brain injury. **Journal of Neurosurgical**. v.69, p.736-744, 1988.

ISERNHAGEN, A.J.; COSENZA, M.; COSTA, M.C.C.; MÉDICI, K.C.; BALARIN, M.R.S.B.; BRACARENSE, A.P.F.R.L.; ALFIERI, A.A.; LISBÔA, J.A.N. Asymptomatic encephalitis in calves experimentally infected with bovine herpesvirus-5. **Canadian Veterinary Journal**, v.52, p.1312-1318, 2011.

KOBAYASHI, Y.; SATO, G.; SHOJI, Y.; SATO, T.; ITOU, T.; CUNHA, E.M.S.; SAMARA, S.I.; CARVALHO, A.A.B.; NOCITI, D.P.; ITO, F.H.; SAKAI, T. Molecular epidemiological analysis of bat rabies viruses in Brazil. **Journal of Veterinary Medical Science**. v.67, n.7, p.647-652, 2005.

KONRADT, G.; BASSUINO, D.M.; PRATESM K.S.; BIANCHI, M.V.; SNEL, G.G.M.; SONNE, L.; DRIEMEIER, D.; PAVARINI, S.P. Suppurative infectious diseases of the central nervous system in domestic ruminants. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.37, n.8, p.820-828, 2017.

LANGOHR, I.M.; IRIGOYEN, L.F.; LEMOS, R.A.A.; BARROS, C.S.L. Aspectos epidemiológicos, clínicos e distribuição das lesões histológicas no encéfalo de bovinos com raiva. **Ciência Rural**. v.33, n.1, p.125-131, 2003.

LI, Y.; ZHANG, G.; MA, R.; DU, Y.; ZHANG, L.; LI, F.; FANG, F.; LV, H.; WANG, Q.; ZHANG, Y.; KANG, X. The diagnostic value of cerebrospinal fluids procalcitonin and lactate for the differential diagnosis of post-neurosurgical bacterial meningitis and aseptic meningitis. **Clinical Biochemistry**. v.48, p.50-54, 2015

LIGUORI, C.; STEFANI, A.; SANCESARIO, G.; SANCESARIO, G.M.; MARCIANI, M.G.; PIERANTOZZI, M. CSF lactate levels, proteins, cognitive decline: a dynamics relationship in Alzheimer's disease. **Journal Neurology Neurosurgery Psychiatry**. p.01-05, 2014.

LIMA, E.F.; RIET-CORREA, F.; CASTRO, R.S.; GOMES, A.A.B.; LIMA, F.S. Sinais clínicos, distribuição das lesões no sistema nervoso e epidemiologia da raiva em herbívoros na região nordeste do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.25, n.4, p.250-264, 2005.

LISBÔA, J.A.N.; ISERNHAGEN, A.J.; BORGES, A.S.; AMORIM, R.M.; BALARIN, M.R.S.; LUNARDI, M.; ALFIERI, A.A. Hematological and Cerebrospinal Fluid Changes in Cattle Naturally and Experimentally Infected with the Bovine Herpesvirus 5. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 52, p. 69-76, nov, 2009.

LUNARDI, M.; CLAUS, M.P.; LISBÔA, J.A.N.; AMUDE, A.M.; HEADLEY, S.A.; ALFIERI, A.F.; ALFIERI, A.A. Neurological and Epidemiological Aspects of BoHV-5 Meningoencephalitis Outbreak. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.52, p.77-85, 2009.

MASKIN, L.P.; CAPPARELLI, F.; MORA, A.; HLAVNICKA, A.; ORELLANA, N.; DÍAZ, M.F.; WAINSZTEIN, N.; DEL CASTILLO, M. Cerebrospinal fluid lactate in post-neurosurgical bacterial meningitis diagnosis. **Clinical Neurology and Neurosurgery**. v.115, p.1820-1825, 2013.

- MASSITEL, J.L.; WESGUEBER, J.; OLIVEIRA, R.A.M.; QUEIROZ, G.R.; FRITZEN, J.T.T.; ALFIERI, A.A.; LISBÔA, J.A.N. Presença do genoma de BoHV-5 no líquido cefalorraquidiano de bovinos com meningoencefalite herpética. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.68, n.2, p.548-552, 2016.
- MAYHEW, J. **Large animal neurology**. 2nd. ed. Oxford: Wiley-Blackwell, 2009, 453p.
- NAGY, D.W. Diagnostics and ancillary tests of neurologic dysfunction in the ruminant. **The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**. v. 33, n.2, p. 9-18, 2017.
- NILES, G.A. Toxicoses of the ruminant nervous system. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**. v. 33, n.2., p. 111-138, 2017.
- QUEIROZ, G.R. Investigação e diagnóstico diferencial das doenças neurológicas dos bovinos no estado do Paraná. **Tese (Doutorado)**. Programa de Pós Graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina. 2017, 105p.
- RIBAS, N.L.S.; CARVALHO, R.I.; SANTOS, A.C.; VALENÇOELA, R.A.; GOUVEIA, A.F.; CASTRO, M.B.; MORI, A.E.; LEMOS, R.A.A. Doenças do sistema nervoso de bovinos no Mato Grosso do Sul: 1082 casos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.33, n.10, p.1183-1194, 2013.
- RISSI, D.R.; OLIVEIRA, F.N.; RECH, R.R.; PIEREZAN, F.; LEMOS, R.A.A.; BARROS, C.S.L. Epidemiologia, sinais clínicos e distribuição das lesões encefálicas em bovinos afetados por meningoencefalite por herpesvírus bovino-5. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.26, n.2, p.123-132, 2006.
- RISSI, D.R.; PIEREZAN, F.; OLIVEIRA FILHO, J.C.; LUCENA, R.B.; CARMO, P.M.S.; BARROS, C.S.L. Abordagem diagnóstica das principais doenças do sistema nervoso de ruminantes e quinos no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.30, n.11, p.958-967, 2010.
- SALVADOR, S.C.; LEMOS, R.A.A.; RIET-CORREA, F.; ROEHE, P.M.; OSÓRIO, A.L.A.R. Meningoencefalite em bovinos causada por herpesvírus bovino-5 no Mato Grosso do sul e São Paulo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.18, n.2, p.76-83, abr./jun. 1998.
- SANCHES, A.W.D.; LANGOHR, I.M.; STIGGER, A.L; BARROS, C.S.L. Doenças do sistema nervoso central em bovinos no Sul do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.20, n.3, p.113-118, 2000.
- SCOTT, P.R. Diagnostic techniques and clinicopathologic findings in ruminant neurologic disease. **The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**. v. 20, p. 215-230, 2004.
- SMITH, M.O.; GEORGE, L.W. Diseases of the nervous system. In: SMITH, B.P. **Large Animal Internal Medicine**. Mosby Elsevier, 4ed., 2009, p.972-1111.

ST-JEAN, G.; YVORCHUK-ST JEAN, K.; ANDERSON, D.E.; MOORE, W.E. Cerebrospinal fluid constituents collected at the atlanto-occipital site of xylazine hydrochloride sedated, healthy 8-week-old holstein calves. **The Canadian Journal of Veterinary Research**. v.61, p.108-112, 1997.

STOBER, M. Sistema Nervoso Central. In: DIRKSEN, G.; GRUNDER, H.; STOBER, M. **Exame Clínico dos Bovinos**. Guanabara Kogan, 1993, p. 341-362.

STOKOL, T.; DIVERS, T.J.; ARRIGAN, J.W.; MCDONOUGH, S.P. Cerebrospinal fluid findings in cattle with central nervous system disorders: a retrospective study of 102 cases (1990-2008). **Veterinary Clinical Pathology**. v.38, p.103-112, 2009.

TENNENT-BROWN, B.S. Interpreting lactate measurement in critically ill horses: diagnosis, treatment, and prognosis. **Compendium Continuing Education for Veterinarians**. p.E1-E6, 2012.

TERLIZZI, R.D.; PLATT, S. The function, composition and analysis of cerebrospinal fluid in companion animals: Part I – Function and composition. **The Veterinary Journal**. v.172, p.422-431, 2006.

TERRA, J. Doenças neurológicas de bovinos no estado de Goiás (2010-2017). **Dissertação (Mestrado)**. Programa de Pós Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal de Goiás. 2017. 68p.

TERLIZZI, R.D.; PLATT, S. The function, composition and analysis of cerebrospinal fluid in companion animals: Part II - Analysis. **The Veterinary Journal**. v.180, p.15-32, 2009.

TUMANI, H.; JOBS, C.; BRETTSCHEIDER, J.; HOPFNER, A.C.; KERLING, F.; FAUSER, S. Effect of epileptic seizures on the cerebrospinal fluid – A systematic retrospective analysis. **Epilepsy Research**. v.114, p.23-31, 2015.

VERNAU, W.; VERNAU, K.A.; BAILEY, C.S. Cerebrospinal Fluid. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. Academic press, 2008, p.769-819.

WELLES, E.G.; TYER, J.W.; SORJONEN, D.C.; WHATLEY, E.M. Composition and analysis of cerebrospinal fluid in clinically normal adult cattle. **American Journal of Veterinary Research**. v.53, n.11, p.2050-2057.

XIAO, X.; ZHANG, Y.; ZHANG, L.; KANG, P.; JI, N. The diagnostic value cerebrospinal fluid lactate for post-neurosurgical bacterial meningitis: a meta-analysis. **BMC Infectious Disease**. v.16, n.483, p.1-9, 2016.

3 HIPÓTESES

H₀: A concentração de lactato L não se eleva no LCR de bovinos portadores de encefalite bacteriana, e não auxilia no diagnóstico diferencial com as encefalites virais

H₁: A concentração de lactato L se eleva no LCR de bovinos portadores de encefalite bacteriana, auxiliando no diagnóstico diferencial com as encefalites virais.

H₀: As concentrações de Na⁺, de K⁺, de Cl⁻, de Ca e de Mg não se modificam no LCR de bovinos quando acometidos por encefalites.

H₁: As concentrações de Na⁺, de K⁺, de Cl⁻, de Ca e de Mg se modificam no LCR de bovinos quando acometidos por encefalites.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar se as concentrações de alguns constituintes bioquímicos se alteram no LCR de bovinos naturalmente acometidos por encefalites.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Estabelecer comparação entre as concentrações de lactato L no LCR de bovinos sadios e portadores de encefalites viral ou bacteriana;

Estabelecer comparação entre as concentrações de eletrólitos no LCR de bovinos sadios e portadores de encefalites viral ou bacteriana;

Correlacionar a concentração do lactato L com outras variáveis no LCR de bovinos sadios e portadores de encefalites viral ou bacteriana.

5 ARTIGO**CONCENTRAÇÃO DO LACTATO L E DE OUTROS CONSTITUINTES
BIOQUÍMICOS NO LÍQUIDO CEFALORRAQUIDIANO DE BOVINOS COM
ENCEFALITES VIRAL OU BACTERIANA**

*Artigo formatado conforme as normas para a publicação no periódico Research in Veterinary Science (endereço eletrônico: <https://www.journals.elsevier.com/research-in-veterinary-science/>)

Concentração de lactato L e de outros constituintes bioquímicos no líquido cefalorraquidiano de bovinos com encefalites viral ou bacteriana

L lactate and other biochemical components concentrations in cerebrospinal fluid of cattle with viral or bacterial encephalitis

Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar a concentração do lactato L e de outras variáveis bioquímicas no líquido cefalorraquidiano (LCR) de bovinos sadios e com encefalites viral ou bacteriana. Foram colhidas e avaliadas amostras de LCR de bovinos sadios (n=10) e naturalmente acometidos pela raiva (n=15), meningoencefalite por BoHV-5 (n=16), histofilose (n=6) e encefalite bacteriana (n=4). O LCR foi colhido por punção no espaço atlanto-occipital. O plasma fluoretado foi obtido após a centrifugação do sangue colhido, por punção da veia jugular, imediatamente antes da colheita de LCR. No LCR fresco, foram realizadas as análises físicas, bioquímicas (proteínas e glicose) e celulares rotineiras. Para as demais determinações bioquímicas, as amostras de LCR e de plasma foram conservadas por congelação até o processamento. As concentrações de lactato L foram mensuradas no LCR e no plasma. As de Na⁺, de K⁺, de Cl⁻, de Ca e de Mg foram determinadas somente no LCR. A análise de variância foi empregada para comparação entre os grupos e a correlação entre as variáveis foi estudada. A concentração de lactato L no LCR foi maior na encefalite bacteriana quando comparada à dos bovinos sadios. No entanto, não houve diferença entre as encefalites virais e bacterianas. As concentrações dos eletrólitos no LCR não diferiram, mas Na⁺ e Cl⁻ tenderam a aumentar na encefalite bacteriana. A concentração de Ca foi menor nos bovinos doentes. A concentração de lactato L no LCR se correlacionou com a concentração de lactato L no plasma, com as

concentrações de Na^+ , de Cl^- de proteínas e de glicose, e com o número de células nucleadas, polimorfonucleadas (PMN) e mononucleadas (MN) presentes no LCR. Apesar do número reduzido de casos de encefalite bacteriana incluídos no estudo, pode-se concluir que a concentração de lactato L no LCR não possui importância como critério diagnóstico que auxilia na diferenciação entre as encefalites virais e as bacterianas em bovinos. Outros estudos com maior número de observações são necessários para esclarecer esse aspecto no caso específico da listeriose.

Palavras-chave: diagnóstico, biomarcador, raiva, meningoencefalite herpética, histofilose

Abstract

The aim of this study was to evaluate the L lactate and other biochemical components concentrations in cerebrospinal fluid (CSF) of healthy cattle and suffering from viral or bacterial encephalitis. The samples of CSF were collected and evaluated from healthy cattle (n=10) and naturally affected by rabies (n=15), BoHV-5 meningoencephalitis (n=16), histophilosis (n=6) and bacterial encephalitis (n=4). The CSF was collected at the atlanto-occipital site. Blood were obtained from the jugular vein, and after fluoridated plasma was obtained by centrifugation, immediately before CSF was collected. In fresh CSF physical, biochemical (protein and glucose) and cellular analysis were performed. For another biochemicals determination, CSF and plasma were kept frozen until processing. The L lactate concentrations were measured in CSF and plasma. The concentrations of Na^+ , K^+ , Cl^- , Ca, Mg were measured only in CSF. The analysis of variance was used for comparison between groups and correlation test was studied. The L lactate CSF concentrations were higher in bacterial encephalitis than in healthy cattle, however did not differ between viral and bacterial encephalitis. The electrolytes concentrations of CSF did not differ, however Na^+ and Cl^- tended to increase in the

bacterial encephalitis. The Ca concentrations were lower in encephalitis cattle. The L lactate CSF concentrations were correlated with L lactate plasma concentrations, Na^+ , Cl^- , protein and glucose and the number of nucleated cells, polymorphonuclear and mononuclear cells, presented in CSF. Despite the small number of cases of bacterial encephalitis included in this study, it may be concluded that L lactate concentration is not important as a diagnostic method for differentiation between viral and bacterial encephalitis in cattle. Additional studies with higher number of observations are necessary to clarify this aspect in the specific listeriosis case.

Key words: diagnosis, biomarker, rabie, herpetic meningoencephalitis, histophilosis

Introdução

As encefalites nos bovinos causam perdas econômicas expressivas, pois normalmente ocorrem em forma de surtos e provocam a morte de grande número de animais (Lima et al., 2005; Ribas et al., 2013). O estabelecimento do diagnóstico definitivo em vida é dificultado pelo fato de as doenças se confundirem entre si devido à manifestação de sinais inespecíficos (Constable, 2004). A análise do líquido cefalorraquidiano (LCR) é frequentemente utilizada nos casos das doenças neurológicas, e os resultados permitem interpretação preliminar útil para o diagnóstico antes da morte (Nagy, 2017).

A análise líquórica rotineira fornece informações sobre a celularidade e concentrações de proteínas e de glicose, permitindo concluir se o processo é de natureza inflamatória ou não (Scott, 2004). Outros constituintes bioquímicos podem ser mensuradas no LCR, tais como, sódio (Na^+), potássio (K^+), cloreto (Cl^-), cálcio total (Ca) e magnésio (Mg) (Scott, 2004; Nagy, 2017). Em bovinos, a concentração elevada de Na^+

define o diagnóstico de intoxicação por sal (Niles, 2017), e a concentração reduzida de Mg ocorre nos casos de hipomagnesemia acompanhado por convulsão (Goff, 1999).

A concentração do lactato no LCR é importante para diferenciar as meningites de origens bacteriana ou viral em humanos e a mensuração é frequentemente empregada na rotina clínica neurológica (Chen et al., 2012; Grille et al., 2012; Maskin et al., 2013; Li et al., 2015; Xiao et al., 2016). Além dessa aplicação, há evidências de que o lactato L do LCR pode se elevar nos casos de convulsões (Chow et al., 2005; Tumani et al., 2015), de esclerose múltipla (Albanese et al., 2016), de Alzheimer (Liguori et al., 2014) e na depressão (Bradley et al., 2015).

Ao contrário do uso rotineiro para o diagnóstico diferencial das encefalites no ser humano, a mensuração da concentração do lactato L no LCR não é usualmente empregada na clínica veterinária. A sua elevação já foi confirmada em algumas doenças do encéfalo nos equinos (Green and Constantinescu, 1993; Tennent-Brown, 2012) e nos cães (Caines et al., 2013), assim como em gatos com lesão cerebral induzida (Inao et al., 1988). No caso específico dos bovinos com encefalopatias, os autores desconhecem informações científicas sobre a concentração do lactato L no LCR.

A hipótese que sustenta o presente estudo é que, assim como na medicina, o lactato L no LCR seja um marcador biológico para diferenciar as encefalites virais das bacterianas. O objetivo desse estudo foi avaliar as concentrações de lactato L e de outros constituintes bioquímicos no LCR de bovinos sadios, com encefalites viral ou bacteriana.

Material e métodos

Os projetos de pesquisa foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UEL) sob os números de registro 051/2013 e 11856.2016.65, referentes aos bovinos doentes e sadios, respectivamente. Foram avaliadas 51 amostras de LCR e

de plasma fluoretado colhidas de bovinos sadios (n=10) ou acometidos naturalmente com doenças neurológicas, como raiva (n=15), meningoencefalite por herpesvírus bovino 5 (BoHV-5) (n=16), histofilose (n=6) e encefalite bacteriana (n=4).

Os bovinos sadios pertenciam ao rebanho do hospital veterinário da Universidade Estadual de Londrina e eram compostos por nove fêmeas e um macho, mestiços, com idades variando entre 12 meses e 10 anos. Permaneciam em piquete de coast-cross (*Cynodon dactylon*) recebendo silagem de milho e feno de coast-cross, com livre acesso a água e a suplemento mineral. Na véspera da colheita das amostras, os bovinos foram separados em baia e mantidos em privação hídrica e alimentar durante 12 horas.

Para a colheita do LCR, os bovinos sadios foram sedados com xilazina 2%, na dose de 0,1 mg/kg por via intramuscular, e contidos em decúbito lateral direito com auxílio de cordas. Após tricotomia e antissepsia, o LCR foi colhido por meio da punção no espaço atlanto-occipital (Nagy, 2017), utilizando-se a agulha metálica do catéter intravenoso 18G com 5 cm de comprimento. A colheita foi realizada por gotejamento espontâneo desprezando-se o volume inicial de 3 mL.

Os bovinos doentes eram criados em propriedades rurais localizadas no estado do Paraná, Brasil, e foram examinados a campo. Foram submetidos à eutanásia em estágio avançado da doença, de acordo com a evolução e a gravidade dos sinais clínicos observados. O protocolo empregado para a eutanásia era constituído por administração de xilazina 2% (0,1 mg/kg) por via intramuscular, seguida por anestesia com cetamina (5 mg/kg) por via intravenosa e indução da parada cardíaca com solução de KCl 20% por via intravenosa. As amostras de LCR foram colhidas com a mesma técnica descrita para os bovinos sadios, logo após a sedação com xilazina.

As amostras de sangue venoso foram colhidas, imediatamente antes da obtenção do LCR nos bovinos sadios e com doenças neurológicas, por meio de punção da veia jugular com o uso de frasco a vácuo contendo anticoagulante EDTA e fluoreto de sódio.

No caso dos bovinos sadios, as amostras de LCR e de sangue foram processadas logo após a colheita. No caso dos bovinos doentes, as amostras foram mantidas refrigeradas por, no máximo, quatro horas após a colheita, até a chegada ao laboratório. O plasma foi obtido por centrifugação. Uma alíquota da amostra de LCR e o plasma obtido foram armazenados congelados (-20°C) para análise laboratorial posterior.

O LCR foi analisado empregando-se métodos convencionais (Scott, 2004). Nas amostras frescas ou refrigeradas avaliaram-se cor e aspecto, e a contagem de células foi realizada em câmara de Fuchs-Rosenthal. Para a contagem celular diferencial e para a avaliação morfológica utilizou-se a técnica de coloração de Romanowsky (Instant prov[®]; New Prov). As concentrações de glicose (Glucose Flex[®]) e de proteínas (Urinary/Cerebrospinal Fluid Protein Flex[®]) foram determinadas por métodos enzimáticos colorimétricos.

As demais análises bioquímicas foram realizadas nas amostras de LCR conservadas por congelação. As concentrações de Na⁺, de K⁺ e de Cl⁻ foram mensuradas por método do eletrodo íon seletivo (QuickLYTE[®] Integrated Multisensor, Siemens); e as concentrações de Ca (Calcium Flex[®] reagent cartridge) e de Mg (Magnesium Flex[®] reagent cartridge) foram mensuradas por testes enzimáticos colorimétricos. As concentrações de lactato L foram mensuradas no LCR e no plasma empregando-se método enzimático colorimétrico (Lactic acid Flex[®] reagent cartridge), baseado na oxidação do lactato em piruvato. Todas as determinações bioquímicas foram realizadas em analisador automático (Dimension Xpand Plus[®], Siemens). A relação entre as concentrações de lactato L no LCR e no plasma foi calculada por operação de divisão.

O exame de necropsia dos bovinos acometidos por doença neurológica foi realizado na propriedade e, de acordo com as alterações encontradas, foram colhidos fragmentos de diferentes órgãos. O encéfalo foi colhido por inteiro, acompanhado do conjunto composto por gânglios do nervo trigêmeo, rede admirável carotídea e hipófise. Fragmentos do cerebelo, do córtex occipital, do tálamo e da medula cervical, conservados por refrigeração, foram encaminhados para o exame de imunofluorescência direta (IFD) com a finalidade de confirmação do diagnóstico da raiva. Fragmentos de diferentes regiões do encéfalo, mantidos refrigerados, foram destinados ao exame de PCR para confirmar a presença de DNA de BoHV-5 (Claus et al., 2005), *Histophilus somni* (Headley et al., 2013) e *Listeria monocytogenes* (Headley et al., 2014). O restante do sistema nervoso e os fragmentos de outros órgãos colhidos foram fixados em formol 10% e processados para a rotina de histopatologia. As definições dos diagnósticos de meningoencefalite por BoHV-5, de histofilose e de listeriose basearam-se na combinação das lesões histológicas características e da presença do DNA dos agentes. Os demais casos de encefalites bacterianas foram diagnosticados por evidências macroscópicas e histopatológicas.

A análise de variância foi empregada para a comparação entre os grupos nos casos em que as variáveis apresentavam distribuição gaussiana. O teste de Tukey foi empregado para a comparação múltipla. No caso das células do LCR, utilizou-se o teste de Kruskal-Wallis. O teste de correlação de Pearson foi utilizado para verificar as relações entre as variáveis. Admitiu-se a probabilidade de erro de 5%. O programa Sigma Plot 13.0 foi empregado para a realização da análise estatística.

Resultados

A concentração do lactato L no LCR foi maior nos bovinos acometidos por encefalite bacteriana ($p=0,024$) quando comparada à dos bovinos sadios, e os valores foram intermediários nos casos de raiva, de meningoencefalite por BoHV-5 e de histofilose (Tabela 1). O lactato plasmático não diferiu entre os bovinos sadios e com encefalites ($p=0,319$), assim como a relação entre as concentrações liquóricas e plasmáticas ($p=0,336$).

A raiva, a meningoencefalite por BoHV-5, a histofilose e a encefalite bacteriana não afetaram os valores de Na^+ ($p=0,086$), de K^+ ($p=0,869$) e de Cl^- ($p=0,051$) no LCR (Tabela 1). Porém, as concentrações de Na^+ e de Cl^- tenderam a aumentar na encefalite bacteriana. Nas encefalites, de modo geral, a concentração de Ca foi inferior no LCR ($p<0,001$), destacando-se o menor valor na meningoencefalite por BoHV-5 em comparação à encefalite bacteriana. Não houve diferenças nas concentrações de Mg ($p=0,051$), de glicose ($p=0,215$) e de proteínas ($p=0,210$) entre os grupos.

As células nucleadas ($p<0,001$) em conjunto e as células mononucleadas (MN) ($p<0,001$) foram mais numerosas na encefalite bacteriana e na meningoencefalite por BoHV-5 do que nos bovinos sadios e nos acometidos por histofilose (Tabela 1). Os valores foram intermediários na raiva. Os bovinos com encefalite bacteriana se distinguiram pelo valor elevado de células polimorfonucleadas (PMN) no LCR ($p=0,002$). O número de hemácias não diferiu entre os grupos ($p=0,060$).

A concentração de lactato L no LCR se correlacionou com a concentração de lactato L no plasma ($r=0,611$; $p<0,001$); com as concentrações de Na^+ ($r=0,479$; $p<0,001$), de Cl^- ($r=0,435$; $p=0,002$), de glicose ($r=0,561$; $p<0,001$) e de proteínas ($r=0,348$; $p=0,015$) no LCR; e com o número de células nucleadas ($r=0,636$; $p<0,001$), PMN ($r=0,627$; $p<0,001$)

e MN ($r=0,502$; $p<0,001$) presentes no LCR. Não houve correlação entre o lactato L do LCR e os eritrócitos presentes ($r=-0,020$; $p=0,888$).

Discussão

No presente trabalho constatou-se que a concentração de lactato L não diferiu no LCR de bovinos com encefalites viral ou bacteriana. Na medicina, o aumento na concentração de lactato L no LCR tem sido utilizado como marcador biológico eficiente para diferenciar as encefalites virais das bacterianas (Grille et al., 2012; Maskin et al., 2013; Li et al., 2015; Xiao et al., 2016). Com base nos resultados, sugere-se que isso não pode ser admitido como verdadeiro para os bovinos.

Existem poucas informações sobre a concentração do lactato L no LCR dos animais, e a maioria delas se origina de relatos de observações clínicas. Em equinos, a concentração aumentada foi descrita nos casos de abscessos cerebrais, encefalomielite equina do leste e no trauma encefálico (Green and Constantinescu, 1993; Tennent-Brown, 2012). Em estudo realizado com 20 gatos, observou-se que quanto mais acentuada a lesão cerebral, maior a concentração de lactato L no LCR (Inao et al., 1988). Em cães, não houve diferença na concentração do lactato L entre o grupo sadio e o portador de doenças do encéfalo. No entanto, o número de cães doentes era reduzido, somente 11 casos, e havia variedade ampla de enfermidades neurológicas (Caines et al., 2013). Os autores desconhecem a existência de estudos anteriores que tenham comparado a concentração do lactato L no LCR de animais com encefalites virais ou bacterianas.

Nos humanos, a etiologia das meningites bacterianas é bem estabelecida e sabe-se que os principais patógenos envolvidos são *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis* e *Haemophilus influenzae* tipo B (Mantese et al., 2002; Jiang et al., 2017). Essas espécies bacterianas são produtoras

dos isômeros L e D do lactato, o que provoca aumento da concentração desse metabólito no LCR (Wellmer et al., 2001; Chen et al., 2012).

A meningoencefalite bacteriana nos bovinos pode ser provocada por *Listeria monocytogenes* e por *Histophilus somni*, além de outras bactérias não específicas que tenham acesso ao SNC, casualmente (Scott, 2004; Konradt et al., 2017). Não se sabe se essas espécies bacterianas específicas são produtoras ou não de lactato. O grupo encefalite bacteriana foi composto por, unicamente, quatro bovinos, tratando-se de número limitado de observações. Dentre eles, confirmou-se somente um caso de listeriose. Nos outros três casos, as bactérias envolvidas não foram identificadas, e o diagnóstico foi concluído por meio das alterações macroscópicas e histopatológicas presentes no SNC. No caso do bovino acometido por listeriose observou-se concentração alta de lactato L no LCR (18,2 mmol/L) e a concentração de lactato L no plasma foi 5,8 mmol/L. Esses achados sugerem que *Listeria monocytogenes* produza o lactato L. Nos demais casos desse grupo, as concentrações de lactato L no LCR não foram tão elevadas, variando de 4,5 a 5,3 mmol/L.

Optou-se por agrupar todos os casos de histofilose separados dos demais casos de encefalite bacteriana pois a inflamação presente no SNC era discreta e a presença de pequenos trombos nos vasos meningeais era a característica distinta (Headley et al., 2015). Diferentemente dos outros casos de encefalite bacteriana, somente um dos bovinos acometidos por histofilose apresentava pleocitose (14 leucócitos/mm³) no LCR. A concentração de lactato L no LCR no grupo histofilose não diferiu da concentração nos bovinos sadios ou com encefalites virais. Contudo, com base nos resultados individuais que variaram entre 4,0 e 11,9 mmol/L, pode-se admitir que essa bactéria também produza lactato L.

O número reduzido de encefalites bacterianas no presente estudo se deve à incidência baixa dessas enfermidades no Brasil. Nos levantamentos de doenças

neuroológicas em bovinos realizados no país, as encefalites virais, como a raiva e a meningoencefalite por BoHV-5, aparecem como as principais causas de doença inflamatória do encéfalo, e a incidência de listeriose e de outras encefalites bacterianas é reduzida (Sanches et al., 2000; Galiza et al., 2010; Ribas et al., 2013; Konradt et al., 2017). Isso contrasta com a importância que a listeriose possui como causa de encefalite em bovinos nos países da América do Norte (Stokol et al., 2009; Boileau and Gilliam, 2017). A confirmação de que a concentração elevada de lactato L no LCR seja um marcador biológico e auxilie no diagnóstico de listeriose requer investigação futura com número maior de bovinos acometidos. Um estudo dessa natureza é mais viável em países que possuam incidência alta da doença.

Uma explicação possível para a diferença observada em humanos e em bovinos quanto à relevância da concentração do lactato L do LCR como critério para o diagnóstico diferencial entre as meningoencefalites de origens viral ou bacteriana, seria a capacidade de síntese de lactato por espécies diferentes de bactérias. Pode-se admitir que as espécies que provocam meningoencefalite no homem produzam, afinal, quantidades maiores desse metabólito em comparação a *Listeria monocytogenes* e *Histophilus somni*. De fato, as concentrações de lactato L observadas no LCR de crianças ou adultos acometidos por meningite bacteriana variam de 6,0 a 10,5 mmol/L (Maskin et al., 2013), 3,2 a 38,5 mmol/L (Filho et al., 2014) e de 2,2 a 10,6 mmol/L (Li et al., 2015).

A concentração de lactato L no LCR dos bovinos incluídos no estudo se correlacionou moderadamente com o número de leucócitos presentes no líquido, independentemente de serem células MN ou PMN. A síntese bacteriana não é a única causa para a elevação do lactato L no LCR. A sua produção pelas células do SNC, em situação de hipóxia (Wellmer et al., 2001), e por leucócitos atraídos para o tecido nervoso no caso da inflamação, notadamente células PMN e macrófagos (Haji-Michael et al.,

1999; Backer, 2003), pode contribuir, de forma significativa, para o aumento da concentração do lactato L no LCR. Isso poderia variar de acordo com a extensão e a intensidade do processo inflamatório presente e ocorre tanto nos casos de etiologia viral quanto nos bacterianos. Destaca-se, no grupo encefalite bacteriana, a pleocitose com PMN (Tabela 1), o que também pode ter contribuído para a elevação do lactato L no LCR.

O lactato L plasmático não diferiu entre os bovinos sadios e os doentes (Tabela 1), mas foi possível constatar que 21 bovinos com encefalite exibiram hiperlactatemia, com valores superiores a 2,2 mmol/L (Kaneko et al., 2008), independente da enfermidade que apresentavam. O aumento pode estar relacionado com o decúbito permanente, decorrente de tetraparesia, e com a lesão muscular compressiva consequente (Shpigel et al., 2003). Tendo em vista a correlação moderada entre as concentrações plasmáticas e líquóricas do lactato L nos bovinos estudados, pode-se argumentar que a difusão do sangue para o SNC também tenha contribuído com a elevação no LCR. Muito embora esse tipo de difusão tenha sido comprovada em estudo experimental com bezerros sadios (Abeysekara et al., 2007), é pouco provável que tenha interferido com o resultados do presente estudo. A relação calculada entre as concentrações no LCR e no plasma confirmou que a concentração líquórica é duas a três vezes maior do que a plasmática mesmo nos bovinos sadios (Tabela 1), o que reafirma a importância da síntese de lactato L no SNC.

Em relação aos eletrólitos no LCR, as concentrações de Na^+ , de K^+ , de Cl^- , de Mg e de Ca dos bovinos sadios foram similares às obtidas por Welles et al. (1992) e por St-Jean (1997), em bovinos adultos e bezerros, respectivamente. Fisiologicamente, espera-se que as concentrações de Na^+ , de Mg e de Cl^- sejam ligeiramente maiores no LCR do que no plasma, e o contrário é esperado para o K^+ e para o Ca (Terlizzi and Platt, 2006). Na presença de meningoencefalite, espera-se que ocorra influxo de compostos

inorgânicos, como Na^+ , K^+ e Cl^- , para o LCR, devido à maior permeabilidade da barreira hematoencefálica (BHE), o que provoca aumento das concentrações (Terlizzi and Platt, 2006). Isso não se confirmou nos bovinos estudados, porém houve tendência à elevação de Na^+ e de Cl^- , particularmente na encefalite bacteriana.

A concentração de Ca, ao contrário, foi mais reduzida no LCR dos bovinos doentes. Distintamente do que acontece com o Na^+ e o Cl^- , o aumento da permeabilidade da BHE não facilita o ingresso de Ca para o LCR (Terlizzi and Platt, 2006). O plexo coroide é o responsável pela secreção de Ca, e a sua concentração no LCR é independente da concentração sérica (Terlizzi and Platt, 2006). Nos casos em que há morte celular ocorre o influxo do Ca para dentro das células, diminuindo, conseqüentemente, a sua concentração no LCR (Myers et al., 2013). Esse fato pode explicar a concentração baixa de Ca observada nos bovinos doentes. No caso da meningoencefalite provocada por BoHV-5, isso pode ser ainda mais intenso por causa da presença de áreas de malácia no córtex cerebral.

Considerando o intervalo fisiológico de 20-40 mg/dL para a concentração de proteína no LCR (Smith and George, 2009), todos os bovinos doentes apresentaram, na média, hiperproteínoorraquia. O aumento na concentração de proteína no LCR é esperado nas encefalites virais e bacterianas devido à inflamação. Com a inflamação estabelecida ocorrem dois eventos possíveis: a) influxo de proteínas plasmáticas para o LCR devido ao aumento da permeabilidade da BHE; e b) produção intratecal de globulinas (Scott 2004; Nagy 2017). A concentração de proteínas no LCR se correlacionou fracamente com a de lactato L e não se correlacionou com as das demais variáveis bioquímicas estudadas. Isso indica que não existe relação biológica relevante entre esses constituintes no LCR.

A concentração de glicose se correlacionou moderadamente com a concentração de lactato L no LCR. Nas encefalites bacterianas espera-se que a concentração de glicose

seja baixa devido ao consumo pelas bactérias instaladas no processo (Scott, 2004), e, nesses casos, a concentração de lactato L no LCR apresenta correlação negativa com a glicose (Cabeça et al., 2001; Maskin et al., 2013; Li et al., 2015). No entanto, no presente estudo o resultado foi distinto, e provavelmente se deve ao baixo número de observações de encefalite bacteriana.

As alterações presentes no LCR variam conforme a doença instalada e a magnitude das lesões no encéfalo (Vernau et al., 2008). O presente trabalho demonstrou e comparou as diferentes alterações líquóricas em bovinos sadios e com encefalites viral ou bacteriana, com ênfase para as concentrações de lactato L e de eletrólitos. Os autores desconhecem a existência de informações anteriores sobre o comportamento desses componentes em bovinos doentes, tratando-se, portanto, de contribuição original. Com base nos resultados obtidos não é possível afirmar que seja indicada a mensuração da concentração do lactato L no LCR de bovinos com encefalite. Maiores estudos são necessários para esclarecer se a concentração líquórica desse metabólito tem importância para discriminação do diagnóstico de listeriose em bovinos.

Conclusão

Apesar do número reduzido de casos de encefalite bacteriana incluídos no estudo, pode-se concluir que a concentração de lactato L no LCR não possui importância como critério diagnóstico que auxilia na diferenciação entre as encefalites virais e as bacterianas em bovinos, e que a concentração de cálcio no LCR é reduzida nos bovinos com encefalites.

Referência

- Abeysekara, S., Naylor, J.M., Wassef, A.W.A., Isak, U., Zello, G.A., 2007. D-Lactic acid-induced neurotoxicity in a calf model. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 293, 558-565.
- Albanese, M., Zagaglia, S., Landi, D., Boffa, L., Nicoletti, C.G., Marciani, M.G., Mandolesi, G., Marfia, G.A., Buttari, F., Mori, F., Centonze, D., 2016. Cerebrospinal fluid lactate is associated with multiple sclerosis disease progression. *J Neuroinflammation.* 13, 36-42.
- Becker, D., 2003. Lactic acidosis. *J Intensive Care Med.* 29, 699-702.
- Boileau, M.J., Gilliam, J., 2017. Brainstem and cranial nerves disorders of ruminants. *Vet Clin Food Anim.* 33(1), 67-99.
- Bradley, K.A.L., Mao, X., Case, J.A.C., Kang, G., Shungu, D.C., Gabbay, V., 2016. Increased ventricular cerebrospinal fluid lactate in depressed adolescents. *Eur Psychiatry.* 32, 1-8.
- Cabeça, H.L.S., Gomes, H.R., Machado, L.R., Livramento, J.A., 2001. Dosage of lactate in the cerebrospinal fluid in infectious diseases of the central nervous system. *Arq Neuropsiquiatr.* 59(4), 843-848.
- Caines, D., Sinclair, M., Wood, D., Valverde, A., Dyson, D., Gaitero, L., Nykamp, S., 2013. Evaluation of cerebrospinal fluid lactate and plasma lactate concentrations in anesthetized dogs with and without intracranial disease. *Can J Vet Res.* 77, 297-302.
- Chen, Z., Wang, Y., Zeng, A., Chen, L., Wu, R., Chen, B., Chen, M., Bo, J., Zhang, H., Peng, Q., Lu, J., Meng, Q.H., 2012. The clinical diagnostic significance of cerebrospinal fluid d-lactate for bacterial meningitis. *Clin Chim Acta.* 413, 1512-1515.
- Chow, S.L., Rooney, Z.J., Cleary, M.A., Clayton, P.T., Leonard, J.V., 2005. The significance of elevated CSF lactate. *Arch Dis Child.* 90, 1188-1189.

- Claus, M.P., Alfieri, A.F., Folgueras-Flatschart, A.V., Wosiacki, S.R., Médici, K.C., Alfieri, A.A., 2005. Rapid detection and differentiation of bovine herpesvirus 1 and 5 glycoprotein C gene in clinical specimens by multiplex PCR. *J Virol Methods*. 128, 183-188.
- Constable, P., D., 2004. Clinical examination of the ruminant nervous system. *Vet Clin Food Anim*. 20(2), 185-214.
- Filho, E.M., Horita, S.M., Gilio, A.E., Nigrovic, L.E., 2014. Cerebrospinal fluid lactate level as a diagnostic biomarker for bacterial meningitis in children. *Int J Emerg Med*. 7(14), 1-4.
- 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.
- Goff, J.P., 1999. Treatment of calcium, phosphorus and magnesium balance disorders. *Vet Clin Food Anim* 15(3), 619-639.
- Green, E.M., Constantinescu, G.M., Kroll, R.A., 1993. Equine cerebrospinal fluid: analysis. *Compend Contin Educ Vet*. 15(2), 288-302.
- Grille, P., Torres, J., Porcires, F., Bagnulo, H., 2012. Value of cerebrospinal fluid lactate for the diagnosis of bacterial meningitis in postoperative neurosurgical patients. *Neurocirurgia*. 23(4), 131-135.
- Haji-Michael, P., Ladrière, L., Sener, A., Vincent, J.L., Malaisse, W.J., 1999. Leukocyte glycolysis and lactate output in animal sepsis and ex vivo human blood. *Metabolism*. 48(6), 779-785.
- Headley, S.A., Oliveira, V.H.S., Figueira, G.F., Bronkhorst, D.E., Alfieri, A.F., Okano, W., Alfieri, A.A., 2013. *Histophilus somni*-induced infections on cattle from southern Brazil. *Trop Anim Health Prod*. 45, 1579-1588.

- Headley, S.A., Fritzen, J.T.T., Queiroz, G.R., Oliveira, R.A.M., Alfieri, A.F., Di Santis, G.W., Lisbôa, J.A.N., Alfieri, A.A., 2014. Molecular characterization of encephalitic bovine listeriosis from Southern Brazil. *Trop Anim Health Prod.* 46 (1), 19-25.
- Headley, S.A., Bracarense, A.P.F.R.L., Oliveira, V.H.S., Queiroz, G.R., Okano, W., Alfieri, A.F., Flaiban, K.K.M.C., Lisbôa, J.A.N., Alfieri, A.A., 2015. *Histophilus somni*-induced thrombotic meningoencephalitis in cattle from northern Paraná, Brazil. *Pesq Vet Bras.* 35(4), 329-336.
- Inao, S., Marmarou, A., Clarke, G., Andersen, B., Faouros, P.P., Young, H.F., 1988. Production and clearance of lactate from brain tissue, cerebrospinal fluid and serum following experimental brain injury. *J Neurosurg.* 69, 736-744.
- Jiang, H., Su, M., Kui, L., Huang, H., Qiu, L., Li, L., Ma, J., Du, T., Fan, M., Sun, Q., Liu, X., 2017. Prevalence and antibiotic resistance profiles of cerebrospinal fluid pathogens in children with acute bacterial meningitis in Yunnan province, China, 2012-2015. *Plos One.* 12(6), 1-13.
- Kaneko, J.J., Harvey, J.W., Bruss, M.L., 2008. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, 6th ed. Saunders-Elsevier, San Diego.
- Konradt, G., Bassuino, D.M., Prates, K.S., Bianchi, M.V., Snel, G.G.M., Sonne, L. Driemeier, D., Pavarini, S.P., 2017. Suppurative infectious diseases of the central nervous system in domestic ruminants. *Pesq Vet Bras.* 37(8), 820-828.
- Li, Y., Zhang, G., Ma, R., Du, Y., Zhang, L., Li, F., Fang, F., Lv, H., Wang, Q., Zhang, Y., Kang, X., 2015. The diagnostic value of cerebrospinal fluids procalcitonin and lactate for the differential diagnosis of post-neurosurgical bacterial meningitis and aseptic meningitis. *Clin Biochem.* 48, 50-54.

- Liguori, C.; Stefani, A., Sancesario, G., Sancesario, G.M., Marciani, M.G., Pierantozzi, M., 2014. CSF lactate levels, proteins, cognitive decline: a dynamics relationship in Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 86(6) 655-659.
- Lima, E.F., Riet-Correa, F., Castro, R.S., Gomes, A.A.B., Lima, F.S., 2005. Sinais clínicos, distribuição das lesões no sistema nervoso e epidemiologia da raiva em herbívoros na região nordeste do Brasil. *Pesq Vet Bras*. 25(4), 250-264.
- Mantese, O.C., Hirano, J., Santos, I.C., Silva, V.M., Castro, E., 2002. Perfil etiológico das meningitis bacterianas em crianças. *J Ped*. 78(6), 467-474.
- Maskin, L.P., Capparelli, F., Mora, A., Hlavnicka, A., Orellana, N., Diaz, M.F., Wainsztein, N., Castillo, M.D., 2013. Cerebrospinal fluid lactate in post-neurosurgical bacterial meningitis diagnosis. *Clin Neurol Neurosurg*. 115(9), 1820-1825.
- Myers, R.K., McGavin, M.D., Zachary, J.F., 2013. *Bases da Patologia em Veterinária*, 5th ed. Saunders-Elsevier, St Louis.
- Nagy, D.W., 2017. Diagnostics and ancillary tests of neurologic dysfunction in the ruminant. *Vet Clin Food Anim*. 33(1), 9-18.
- Niles, G., A., 2017. Toxicoses of the ruminant nervous system. *Vet Clin Food Anim*. 33(1), 111-138.
- 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(3), 113-118.
- Scott, P.R., 2004. Diagnostic techniques and clinicopathologic findings in ruminant neurologic disease. *Vet Clin Food Anim*. 20(2), 215-230.
- Shpilge, N.Y., Avidar, Y., Bogin, E., 2003. Value of measurements of the serum activities of creatine phosphokinase, aspartate aminotransferase and lactate dehydrogenase for predicting whether recumbent dairy cows will recover. *Vet Rec*. 152(25), 773-776.

- Smith, M.O., George, L.W., 2009. Diseases of the nervous system. In: Smith, B.P. 4th ed. Large animal internal medicine, Mosby Elsevier, Missouri, p. 972-1111.
- St-Jean, G., Yvorchuk-St Jean, K., Anderson, J.D.E., Moore, W.E., 1997. Cerebrospinal fluid constituents collected at the atlanto-occipital site of xilazyne hydrochloride sedated, healthy 8-week-old Holstein calves. *Can J Vet Res.* 61, 108-112.
- Stokol, T., Divers, T.J., Arrigan, J.W., McDonough, S.P., 2009. Cerebrospinal fluid findings in cattle with central nervous system disorders: a retrospective study of 102 cases (1990-2008). *Vet Clin Path.* 38(1),103-112.
- Ribas, N.L.K.S., Carvalho, R.I., Santos, A.C., Valençoa, R.A., Gouveia, A.F., Castro, M.B., Mori, A.E., Lemas, R.A.A., 2013. Doenças do Sistema nervosa de bovinos no Mato Grosso do Sul: 1082 casos. *Pesq Vet Bras.* 33(10), 1183-1194.
- Tennent-Brown, B.,S., 2012. Interpreting lactate measurement in critically ill horses: diagnosis, treatment, and prognosis. *Compend Contin Educ Vet* 34(1), E1-E6.
- Terlizzi, R.D., Platt, S., 2006. The function, composition and analysis of cerebrospinal fluid in companion animals: Part I. *Vet J.* 172, 422-431.
- Tumani, H., Jobs, C., Brettscheider, J., Hoppner, A.C., Kerling, F., Fauser, S., 2015. Effect of epileptic seizures on the cerebrospinal fluid – A systematic retrospective analysis. *Epilepsy Res*, 114, 23-31.
- Vernau, W., Vernau, K.A., Bailey, C.S., 2008. Cerebrospinal fluid, in: Kaneko, J.J., Harvey, J.W., Bruss, M.L. 6th ed., *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, Elsevier, San Diego, p. 769-819
- Welles, E.G., Tyler, J.W., Sorjonen, D.C., Whatley, E.M., 1992. Composition and analysis of cerebrospinal fluid in clinically normal adult cattle. *Am J Vet Res.* 53(11), 2050-2057.

Wellmer, A., Prange, J., Gerber, J., Zysk, G., Lange, P., Michel, U., Eiffert, H., Nau, R., 2001. D- and L-lactate in rabbit and human bacterial meningitis. *Scand J Infect Dis.* 33, 909-913.

Xiao, X., Zhang, Y., Zhang, L., Kang, P., Ji, N., 2016. The diagnostic value of cerebrospinal fluid lactate for post-neurosurgical bacterial meningitis: a meta-analysis. *BMC Infect Dis.* 16(483), 1-9.

Tabela 1. Concentração do lactato L e outros constituintes no líquido cefalorraquidiano de bovinos sadios e com encefalites viral ou bacteriana

Variáveis	Sadios (n=10)	Raiva (n=15)	Meningoencefalite por BoHV-5 (n=16)	Histofilose (n=6)	Encefalite bacteriana (n=4)
Lactato L no LCR (mmol/L)	2,86 ^b ± 0,28	4,85 ^{ab} ± 1,51	4,87 ^{ab} ±3,27	6,58 ^{ab} ±3,12	8,17 ^a ±6,69
Lactato L no plasma (mmol/L)	1,03 ^a ± 0,51	3,58 ^a ± 3,79	4,84 ^a ± 6,15	3,88 ^a ±4,03	3,20 ^a ±1,78
Lactato L LCR:plasma	3,36 ^a ± 1,52	2,73 ^a ± 2,50	1,95 ^a ± 1,64	3,60 ^a ±2,57	2,36 ^a ±0,55
K ⁺ no LCR (mmol/L)	2,97 ^a ±0,06	3,29 ^a ±0,57	4,56 ^a ±7,07	3,35 ^a ±0,45	3,85 ^a ±0,87
Na ⁺ no LCR (mmol/L)	149,40 ^a ±1,71	151,46 ^a ±35,45	132,75 ^a ±43,37	158,33 ^a ±11,77	182,75 ^a ±31,03
Cl ⁻ no LCR (mmol/L)	123,00 ^a ±1,94	119,26 ^a ±29,46	103,31 ^a ±33,81	124,16 ^a ±9,41	146,00 ^a ±26,58
Ca no LCR (mg/dL)	5,32 ^a ±0,07	2,11 ^{bc} ±0,74	1,95 ^c ±0,75	2,63 ^{bc} ±0,81	3,22 ^b ±1,23
Mg no LCR (mg/dL)	2,10 ^a ±0,07	1,48 ^a ±0,47	1,51 ^a ±0,52	2,03 ^a ±0,32	2,11 ^a ±0,32
Glicose no LCR (mg/dL)	62,10 ^a ±11,34	76,93 ^a ±18,36	72,81 ^a ±30,32	79,83 ^a ±32,35	100,87 ^a ±58,47
Proteína no LCR (mg/dL)	22,25 ^a ±5,31	49,31 ^a ±41,42	63,93 ^a ±54,85	52,90 ^a ±45,34	52,37 ^a ±26,57
Células nucleadas (/mm ³)	1,50 ^b (0,00 e 3,00)	14,00 ^{ab} (3,00 e 32,00)	35,00 ^a (18,00 e 49,00)	1,50 ^b (0,00 e 9,50)	130,00 ^a (19,50 e 1990,25)
Células polimorfonucleadas (/mm ³)	0,13 ^b (0,00 e 0,42)	0,50 ^b (0,22 e 2,70)	2,94 ^b (1,80 e 4,16)	0,15 ^b (0,00 e 3,98)	57,60 ^a (1,00 e 1658,31)
Células mononucleadas (/mm ³)	1,33 ^b (0,00 e 2,08)	13,72 ^{ab} (1,76 e 28,42)	31,50 ^a (16,20 e 46,06)	0,35 ^b (0,00 e 5,40)	72,50 ^a (18,50 e 331,94)
Hemácias (/mm ³)	3,00 ^a (1,25 e 30,00)	3,00 ^a (1,00 e 56,00)	147,00 ^a (12,75 e 1121,00)	150,00 ^a (50,75 e 7199,50)	87,50 ^a (2,50 e 19242,75)

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si (p<0,05)

CONCLUSÃO

Conclui-se que a concentração de lactato L no LCR não foi capaz de diferenciar a encefalite viral de bacteriana no presente trabalho, porém pode ser utilizado como exame complementar na detecção de encefalites em bovinos.

A concentração de Ca é menor nos bovinos acometidos por encefalites. As concentrações de Na^+ e de Cl^- tendem a ser maiores nos bovinos com encefalite bacteriana.

A concentração de lactato L no LCR se correlacionou com a sua concentração plasmática, com as concentrações líquóricas de Na^+ , de Cl^- , de glicose e de proteínas e com o número de células nucleadas, PMN e MN presentes no LCR.

Estudos futuros com número maior de bovinos acometidos são necessários para comprovar se a concentração de lactato L pode ser utilizada como biomarcador no caso da listeriose.

ANEXOS

ANEXO A – Aprovação e registro na comissão de ética no uso de animais

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

OF. CIRC. CEUA Nº 119/2016

Londrina, 17 de Junho de 2016.

Prezado Pesquisador,

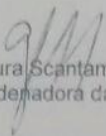
Certificamos que o projeto intitulado "Concentração do lactato L no líquido cefalorraquidiano de bovinos sadios e com doenças neurológicas", protocolo CEUA nº 11856.2016.65, sob a responsabilidade de **Júlio Augusto Naylor Lisboa**, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino), encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), foi **aprovado** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Londrina (CEUA/UJEL), em reunião realizada em **14/06/2016**.

O objetivo do projeto é verificar se a concentração do lactato L no LCR pode ser admitida como marcador biológico nas doenças neurológicas dos bovinos. Para isso serão utilizados um total de 122 animais, 12 de bovinos sadios que serão colhidas neste projeto e 110 amostras de bovinos doentes congeladas, cuja a coleta foi aprovada em um projeto passado CEUA/UJEL sob o número de registro 051/2013. Bovinos sadios: os bovinos sadios serão mantidos em baía com cama de maravalha um dia antes da colheita de LCR e mantidos em jejum hídrico e alimentar durante 12 horas, será colhido sangue venoso com anticoagulante de EDTA + fluoreto de sódio através de venopunção da jugular e posteriormente serão sedados com xilazina 2% na dose de 0,1 mg/Kg e contidos com auxílio de cordas para a colheita do LCR através da punção do espaço atlanto occipital. GI 2.

Vigência do Projeto	01/08/2016 a 31/12/2017
Espécie/linhagem	Bovino / Mestiço
Nº de animais	122 (34 Machos e 88 Fêmeas)
Peso/Idade	Variadas
Sexo	Machos e Fêmeas
Origem	Hospital Veterinário / UEL e Fazendas de Municípios do PR
Amostras a serem coletadas	Líquido cefalorraquidiano (LCR), sangue

Cumpra orientar que caso pretendam-se quaisquer alterações no protocolo experimental aprovado, deve-se submeter o novo protocolo à apreciação da CEUA/UJEL anteriormente à execução das modificações.

Coloco-me à disposição para quaisquer esclarecimentos que se fizerem necessária. Sem mais para o momento, subscrevo, cordialmente,


 Profa. Dra. Glaura Scantamburlo Alves Fernandes
 Coordenadora da CEUA/UJEL

Ilmo. Sr.

Prof. Dr. Júlio Augusto Naylor Lisboa

Coordenador do Projeto

Departamento de Clínicas Veterinárias / Centro de Ciências Agrárias

Com cópia para Chefe do Departamento de Clínicas Veterinárias e Diretor(a) do Centro de Ciências Agrárias



Universidade
Estadual de Londrina

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

OF. CIRC. CEUA Nº 051/2013

Londrina, 13 de Março de 2013.

Prezado Pesquisador,

A CEUA/UEL em sua 19ª de Fevereiro de 2013 avaliou o projeto de pesquisa intitulada "Doenças neurológicas dos bovinos no Estado do Paraná – diagnóstico diferencial e epidemiológico" processo CEUA nº 32340.2012.04, do Centro de Ciências Agrárias, desenvolvendo a sua responsabilidade. Esclarecidos os aspectos metodológicos solicitados o projeto foi aprovado para execução entendendo-se que os princípios éticos postulados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal estão respeitados.

Serão utilizados os animais sendo 180 bovinos de linhagens, peso e idade variado e 30 camundongos *Mus mus*, com idade de 30 dias e peso aproximado de 25 a 30g, procedentes de fazendas localizadas em diversos municípios do Paraná e do Biotério Central da UEL, respectivamente. O projeto tem como objetivo investigar a ocorrência de diferentes doenças causadas por distúrbios neurológicos em bovinos criados no estado do Paraná, estabelecendo o diagnóstico diferencial da raiva. Para isto os bovinos identificados com sintomas neurológicos de ocorrência natural serão examinados, e o sangue será coletado para realização de hemograma, exames imunológicos, bioquímicos e identificação dos gêmeos de CoHV-5 e BoHV-1. Os animais doentes serão submetidos à eutanásia e necropsiados. Estudos macroscópico e histopatológico dos órgãos. O isolamento do vírus CoHV-5 e BoHV-1 do encéfalo será realizado por PCR e imunofluorescência. Também será pesquisada a presença de outras doenças como: encefalite, febre hemagêmica, babesiose, intoxicação por plantas, chumbo ou aflatoxinas, acetona e botulismo. Especificamente para o estudo do botulismo, será empregada a prova biológica de inoculação intraperitoneal do extrato do fígado do bovino nos camundongos. O botulismo se desenvolve em 36 meses.

Cumpra o senhor e seu grupo pretendam-se quaisquer alterações no protocolo de aula prática aprovado, deverá submeter o novo protocolo à apreciação da CEUA/UEL anteriormente à execução das modificações. Sem mais para o momento, subscrevo-me. Cordialmente,

Waldiceu Ap. Verrini Junior
Dr. Waldiceu Aparecido Verrini Junior
Coordenador da CEUA/UEL

Ilmo. Sr.

Prof. Dr. Júlio Augusto de Aguiar Lisboa
Coordenador do Programa
Departamento de Clínica Médica e Cirúrgica de Grandes Animais
Centro de Ciências Agrárias

Com cópia para Sr. Edson de Sousa (Chefe da DCAPROPPG), Prof. Luiz Carlos Juliani (Diretor do Espaço Científico da UEL) e Diretor (a) do Centro de Ciências Agrárias.