

## RAIVA HUMANA. ESTUDO NEUROPATOLÓGICO DE TRINTA CASOS

R. V. C. ASSIS e S. ROSEMBERG

### RESUMO

O estudo epidemiológico e neuropatológico concernente a trinta autópsias de encefalite rábica foi realizado, tendo sido os dados obtidos comparados com aqueles da literatura. Não houve relação estatística entre a topografia lesional e o local da mordida, entre o período de incubação ou a duração da doença e a presença ou ausência de inclusões virais (IV) assim como entre a intensidade do processo inflamatório (PI) e a presença de IV. A dispersão do PI e das IV através o SNC foi diretamente proporcional à sua intensidade. A estrutura mais frequentemente comprometida pelo PI foi o mesencéfalo, seguido pelo bulbo, ponte e medula espinhal. A estrutura mais intensamente afetada foi o bulbo. As IV foram particularmente proeminentes no hipocampo e cerebelo.

### INTRODUÇÃO

O conhecimento concernente às lesões neurológicas produzidas pelo vírus da raiva baseia-se em algumas poucas publicações referentes a pequenos grupos<sup>7,18</sup>, relatos de casos isolados<sup>5</sup> e a revisões de literatura<sup>6,13,15</sup>, cujos resultados nem sempre são concordantes. Apenas dois trabalhos baseiam-se em ampla casuística: DUPONT & EARLE<sup>8</sup> (hoje considerado um clássico) e SALAS-MARTINEZ<sup>14</sup> que estudaram, respectivamente, 49 e 39 casos. A análise destes trabalhos revela algumas divergências relacionadas com a topografia lesional e com certas questões como, por exemplo, a relação entre o local do inóculo e injúria neuronal.

Estas condições são, em parte, possivelmente devidas ao caráter retrospectivo da maioria dos trabalhos. Nosso objetivo é delinear os achados neuropatológicos, confrontá-los com os dados epidemiológicos, a partir do estudo de 30 autópsias consecutivas de raiva humana.

### MATERIAL E MÉTODOS

Todos os casos tiveram o diagnóstico de raiva confirmado pelo Instituto Pasteur de São Paulo, através o teste de fluorescência direta<sup>9</sup>, inoculação em camundongo<sup>10</sup> e/ou pela coloração de SELLERS<sup>17</sup>.

De cada caso, 73 fragmentos de todo o neuro-eixo foram rotineiramente retirados. Com relação a medula espinhal, em 9 casos apenas os primeiros segmentos cervicais foram isolados e, em 1 caso, esta estrutura não foi examinada. Todos os cortes foram corados pela hematoxilina-eosina e, nos casos em que não se visualizou inclusões virais (IV), lâminas do hipocampo e cerebelo foram coradas pela eosina ácida fosfotúngstica, segundo MASSIGNANI<sup>12</sup>.

A intensidade do processo inflamatório (PI) foi subjetivamente graduado de 0 a 4 e os critérios para a graduação acham-se na Tabela I. A frequência de IV também foi graduada em cruzes, segundo sua quantidade, por campo de 400x de aumento, como segue:

+ = infreqüente (1 IV em 10 campos)  
++ = moderada (2 a 3 IV em 10 campos)

T A B E L A I

Raiva: escala de graus da análise quantitativa para o processo inflamatório

Graus	Crítérios histológicos
0	Ausência de alterações histológicas
1	Raros vasos (2 — 3) com perivasculite discreta (*); ausente ou mínima reação microglial difusa.
2	Raros vasos com perivasculite discreta ou densa (**); discreta reação microglial difusa ou nodular e raras figuras de neuronofagia.
3	Vários vasos (mais de 3) com perivasculite discreta ou densa; evidente reação microglial com pequenos nódulos e várias figuras de neuronofagia.
4	Vários vasos com perivasculite densa; intensa reação microglial difusa e nodular, necrose focal do parênquima com infiltrado inflamatório e numerosas figuras de neuronofagia.

(\*) Perivasculite discreta: somente uma camada de células inflamatórias em torno do vaso

(\*\*) Perivasculite densa: duas ou mais camadas de células inflamatórias circundando o vaso

+++ = muito freqüente (+ 3 IV em 10 campos).

O teste exato de Fischer foi o utilizado para a análise estatística.

## RESULTADOS

### Dados clínicos e epidemiológicos

Dos 30 casos, 11 eram do sexo feminino e 19 do masculino. A média de idade foi 21 anos, o mais jovem com 2 anos e o mais velho, com 68 anos. O período de incubação mais curto foi 20 dias e o mais longo, 80 dias (média, 67 dias). A evolução clínica mais rápida foi 2 dias e a mais longa de 20 dias (média, 8 dias). Os dados concernentes a local da mordida, período de incubação e duração da doença estão na Tabela II. Vinte e nove pacientes apresentaram

T A B E L A II  
Dados clínicos e epidemiológicos (\*)

Local da mordida	Período de incubação: média 67 dias (curto < 67 dias, longo > 67 dias)	Duração da doença. Média: 8 dias (curto < 8 dias; longo > 8 dias)
<b>Cabeça:</b> 4 casos	Curto — 3 casos Longo — 1 caso	Curto — 4 casos Longo — 0 caso
<b>Membro superior:</b> 7 casos	Curto — 3 casos Longo — 4 casos	Curto — 3 casos Longo — 4 casos
<b>Membro inferior:</b> 9 casos	Curto — 5 casos Longo — 4 casos	Curto — 2 casos Longo — 7 casos

(\*) Dados completos não disponíveis em 10 casos

a forma clínica clássica e um, a forma parálitica. Trepanação para uma derivação ventricular externa foi realizada em sete casos e, em três destes, interferon foi inoculado diretamente nos ventrículos.

### Dados neuropatológicos

As lesões básicas na encefalite rábica foram: a) **infiltrado inflamatório**, sempre composto de células mononucleares, essencialmente linfócitos em situação perivascular. Mesmo nos casos de evolução mais rápida, a infiltração neutrofílica foi insignificante; b) **reação microglial**, difusa ou focal. Usualmente, a intensidade da reação glial foi proporcional ao PI; c) **alterações neuronais**, essencialmente representadas por neuronofagia (tanto mais freqüente quanto mais intenso era o PI) e raramente por cromatólise central; d) **inclusões**

virais, do tipo corpúsculo de Negri e, mais raramente, do tipo lyssa; e) **alterações tissulares**, infreqüentes e caracterizadas por pequenos focos de necrose.

A associação entre PI e IV estava presente em 24 casos (80%); em 5 casos (16,66%) apenas PI foi observado, enquanto em um caso (3,33%) somente IV foram encontrados, sem inflamação associada.

O estudo topográfico revelou que a estrutura mais freqüentemente envolvida foi o mesencéfalo, seguido pelo bulbo, ponte e medula espinhal. A distribuição das estruturas comprometidas e seus respectivos percentuais estão na Fig. 1.

A análise da distribuição do PI em cada caso indicou que no mesencéfalo, a localização preferencial foi a substância cinzenta pe-

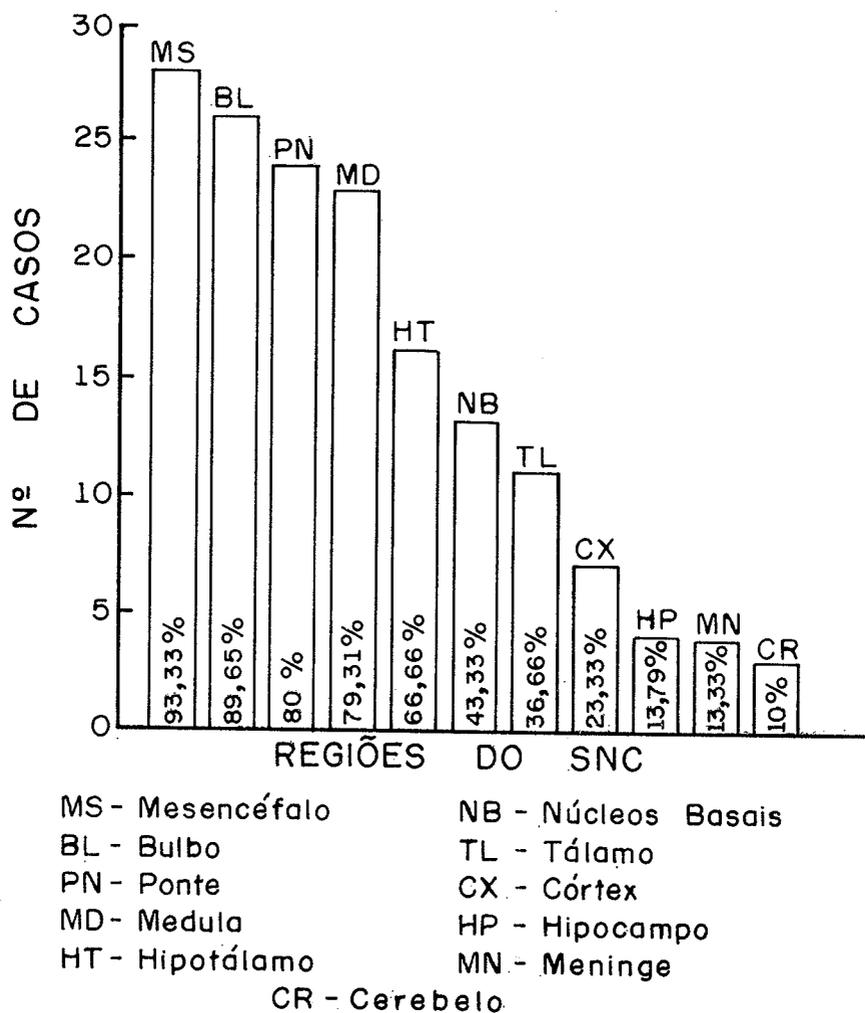


Fig. 1 — Raiva. Distribuição topográfica das lesões inflamatórias, segundo a frequência, nos 30 casos

ri-aquedutal (28 vezes), seguida pelo tegmento (25 vezes) e substância negra (19 vezes; na ponte, a região mais afetada foi a vizinhança do soalho do IV ventrículo (24 vezes) seguida pelo griseum pontis (11 vezes); no bulbo o PI também mostrou uma predominância dorsal, na região do soalho do IV ventrículo (26 vezes), estando as olivas comprometidas em 12 casos; na medula espinhal, as lesões, limitadas à substância cinzenta, distribuíram-se uniformemente por esta estrutura; o hipotálamo estava igualmente comprometido nos vários níveis estudados; nos gânglios basais, a distribuição do PI, quando presente, foi uniforme entre núcleo caudado, putamen e globo pálido; geralmente, os núcleos talâmicos posteriores achavam-se mais comprometidos que os anteriores; no cór-

tex cerebral, as lesões tendiam a uma distribuição uniforme entre os diferentes lobos, sem relação com qualquer camada em especial; no hipocampo, o PI compromete a camada de células piramidais no setor de Sommer, sempre poupando a fascia dentada; nos 3 casos em que o cerebelo estava comprometido, o PI interessou sempre o núcleo denteado e, apenas uma vez, o córtex vermiano; a substância branca dos hemisférios cerebrais e o corpo caloso jamais mostraram-se afetados.

As IV estavam presentes em 25 dos 30 casos e os neurônios da camada piramidal do allo-córtex foram os mais comprometidos (22 casos), sendo seguidos pelas células de Purkinje (17 casos). A Fig. 2 mostra a distribuição

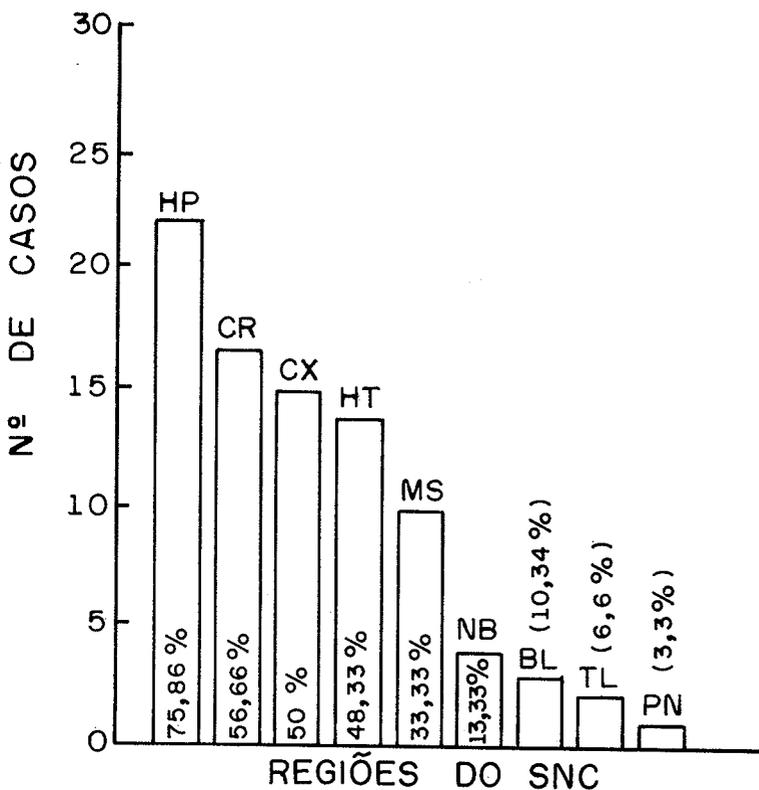


Fig. 2 — Raiva. Distribuição topográfica das inclusões virais segundo a incidência, nos 30 casos

HP - Hipocampo      MS - Mesencéfalo  
 CR - Cerebelo      NB - Núcleos Basais  
 CX - Cortex      BL - Bulbo  
 HT - Hipotálamo    TL - Tálamo  
 PN - Ponte

das IV através as várias estruturas do neuroeixo.

A Fig. 3 mostra a intensidade do PI nas diversas estruturas do SNC. Como se observa, as mais intensamente comprometidas por ordem decrescente foram o bulbo, mesencéfalo e a porção lombar da medula espinhal.

Tanto no que diz respeito ao PI quanto às IV, observou-se que, quanto mais intensos e frequentes estas alterações, mais dispersas elas encontravam através o SNC.

#### Correlação estatística entre os dados clínicos, epidemiológicos e morfológicos

As seguintes correlações não foram estatisticamente significantes pelo teste exato de Fis-

cher ( $P > 0,05$ ): a) local da mordida (cabeça/membros) x período de incubação ( $< 67$  dias/ $> 67$  dias); b) local da mordida x duração da doença ( $< 8$  dias/ $> 8$  dias); c) período de incubação x presença de IV; d) duração da doença x presença ou ausência de IV; e) local da mordida x presença de IV.

#### DISCUSSÃO

A análise estatística mostrou não haver relação entre o local da mordida e o período da incubação ou duração da doença, contrariamente aos achados de AHUJA & BROOKS<sup>3</sup>, SALAS-MARTINEZ<sup>14</sup> e de ADAMS<sup>2</sup>. Igualmente, não há significância estatística entre o período de incubação ou a duração da doença e a presen-

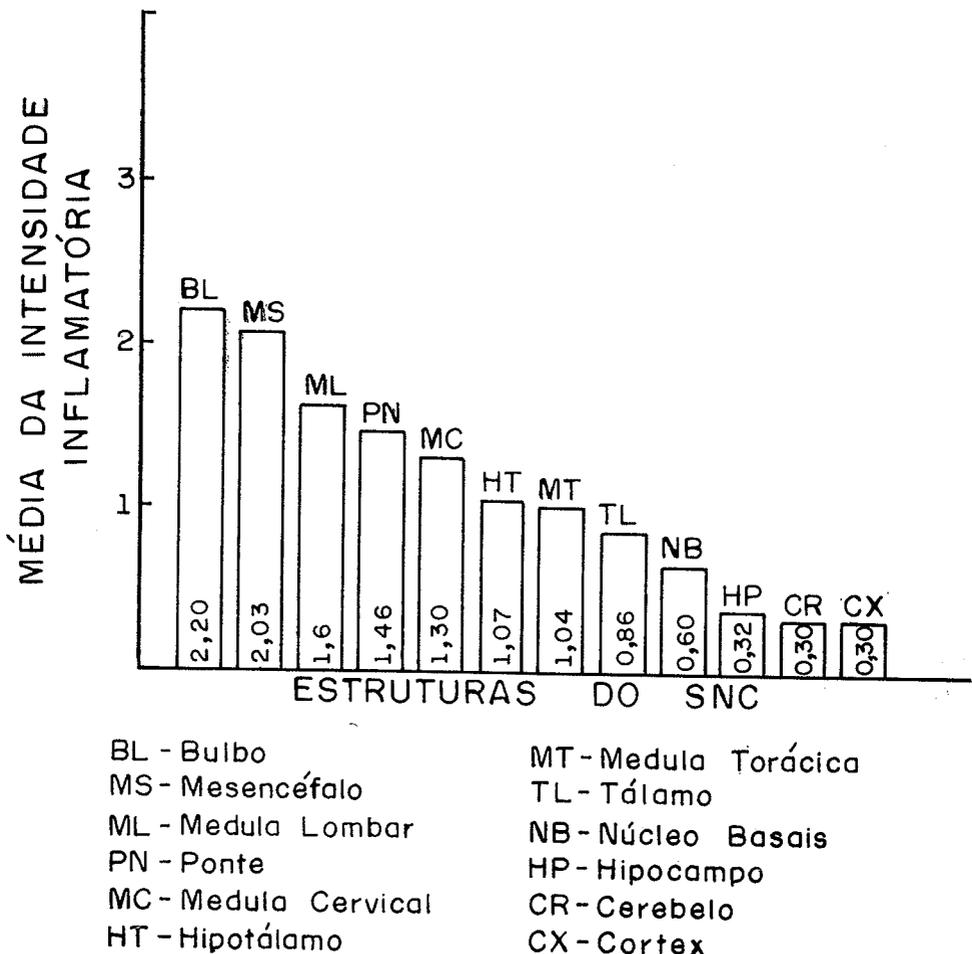


Fig. 3 — Raiva. Distribuição da intensidade inflamatória por região do SNC nos 30 casos

ça ou ausência de IV. Com respeito a estes dados, MARINESCO & STROESCO<sup>11</sup> crêem que a ausência de IV esteja relacionado a um período curto de incubação; ADAMS<sup>2</sup> acha que a ausência de IV esteja relacionada à morte precoce. DUPONT & EARLE<sup>8</sup> e SANDHYAMANI & col.<sup>16</sup> postulam que quanto maior for o período de incubação, maior a possibilidade de encontro de IV.

De modo geral, a análise topográfica da distribuição das lesões em nosso material não difere da encontrada na literatura, no sentido de que a encefalite rábica é predominantemente uma polioencefalite com predomínio marcante no tronco cerebral e medula espinal. Entretanto, enquanto DUPONT & EARLE<sup>8</sup> postulam que o tronco cerebral é a estrutura mais comumente comprometida como um todo, sem

particularizar o mesencéfalo, em nosso estudo esta estrutura foi de todo o SNC, a mais frequentemente afetada, seguida pelo bulbo e medula espinal. Nesta última, o PI interessou igualmente os cornos anteriores e posteriores, contrariamente ao postulado por SALAS-MARTINEZ<sup>14</sup>, SALIDO-RENGELL<sup>15</sup> e por MENESES-VIONET & VEGA-CERDA<sup>13</sup> de que os cornos posteriores eram as porções mais envolvidas. O hipotálamo e núcleos lentiformes mostraram-se comprometidos em 50% dos casos, e os tálamos em 1/3 dos casos. O envolvimento dos córtex cerebral e cerebelar foi excepcional. O caráter polioencefalicótico da raiva torna-se nítido na ausência de lesões da substância branca cerebral e cerebelar e do corpo caloso.

Desta maneira, a distribuição das lesões na encefalite rábica é bastante uniforme e não relacionada ao local do inóculo, conforme o postulado por SALAS-MARTINEZ<sup>14</sup> e SALIDO-RENGELL<sup>15</sup>.

Apesar do fato de o PI ter sido mais freqüente no mesencéfalo, sua intensidade predominou no bulbo, vindo a seguir o próprio mesencéfalo, a medula espinhal e a ponte. Raramente as lesões eram muito intensas em outras estruturas, correspondendo estes casos àquele onde as lesões eram mais dispersas.

As IV foram encontradas em 80% dos casos (70% no trabalho de DUPONT & EARLE<sup>8</sup>). Os neurônios da camada piramidal do hipocampo e as células de Purkinje foram, de longe, os mais comprometidos. Este fato está conforme as observações da maioria dos Autores<sup>1,11,6,8,4,14,13</sup>. Ocasionalmente, neurônios do córtex cerebral, do hipotálamo e do mesencéfalo mostravam IV. Contrariamente às observações de DUPONT & EARLE<sup>8</sup> e MENESES-VIONET & VEGA CERDA<sup>13</sup>, em nenhum de nossos casos observou-se IV nos neurônios medulares.

A presença de IV em regiões não envolvidas pelo PI foi um achado conspicuo. Entretanto, os corpúsculos de Negri podem estar presentes em áreas inflamadas, ocorrendo tal fato sobretudo no mesencéfalo, onde IV foram vistas em 1/3 dos casos. Estatisticamente, não houve correlação entre a intensidade do PI e a freqüência de IV.

Houve uma relação positiva entre a intensidade e dispersão tanto do PI como das IV. Na maioria esmagadora dos casos, quanto mais intenso o PI ou freqüentes as IV, mais dispersos se achavam estas alterações através o SNC. Este fato, provavelmente, depende de uma resposta imunitária do hospedeiro, uma vez que, em nossos casos, a variabilidade do quadro neuropatológico não tinha relação com fatos clínico-epidemiológicos. As raras observações, que fugiram a esta regra (houve 2 casos nós quais a alta atividade inflamatória não se acompanhou de grande dispersão, e um no qual as intensas IV eram limitadas) podem dizer respeito a casos extremos de competência imunológica.

#### SUMMARY

#### Human rabies. Neuropathological study of thirty cases

Thirty autopsies of human rabies encephalitis were carried out and the results of some epidemiological data and neuropathological studies were compared with those previously reported. There was no statistical relation between the topography of the lesions and the site of bite, between the incubation period or disease duration and the presence or absence of viral inclusion bodies (VIB), and between the intensity of the inflammatory process (IP) and the presence of VIB. The dispersion of the IP and of the VIB throughout the CNS was in direct proportion to their intensity. The most frequently affected structure by the IP was the midbrain, followed by the medulla oblongata, pons and spinal cord. The most intensively injured structure was the medulla oblongata. The VIB had striking predominance in the hippocampus and cerebellum.

#### AGRADECIMENTOS

Os Autores agradecem ao Dr. Clovis Taki-guti, do Departamento de Medicina Preventiva da Faculdade de Medicina do Estado de São Paulo, pela análise estatística.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ACTON, H. W. & HARVEY, W. F. — The nature and specificity of Negri bodies. *Parasitology* 4: 255-271, 1911.
2. ADAMS, J. H. — Virus diseases of the nervous system. In: Blackwood, W. and CORSELLIS, JAN (ed). *Greenfield's Neuropathology*. 3rd. London, Edward Arnold, 1976, 236-292.
3. AHUJA, M. L. & BROOKS, A. G. — Hydrophobia in India. *Indian med. Gaz.* 85: 449-453, 1959.
4. ARAÚJO, M. de F.; BRITO, T. de & MACHADO, C. G. — Myocarditis in human rabies. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 13: 99-102, 1971.
5. BHATT, D. R.; HATTWICK, M. A. W.; GERDSEN, R.; EMMONS, R. W. & JOHNSON, H. N. — Human rabies. Diagnosis, complications and management. *Amer. J. Dis. Child.* 127: 862-869, 1974.
6. CASTRO, R. M. — Raiva humana. *Rev. Roche Probl. Saúde públ.* 19: 281-286, 1959.
7. DAYAN, A. D. — Rabies. In Spencer, H. (ed). *Tropical Pathology*. Berlin, Springer Verlag, 1959, 263-266.
8. DUPONT, J. R. & EARLE, K. M. — Human rabies encephalitis. A study of forty-nine fatal cases with a review of the literature. *Neurology (Minneapolis)* 15: 1023-1034, 1965.

9. GOLDWASSER, R. A. & KISSLING, R. E. — Fluorescent antibody staining of street and fixed rabies virus antigens. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* 98: 219-223, 1958.
10. KOPROWSKI, H. — Prueba de inoculación al ratón. In Kaplan, M. M. & Koprowski, H. (ed). *La Rabia. Técnicas de laboratorio*. 3a. ed. Ginebra, Organización Mundial de la Salud, 88-97, 1976.
11. MARINESCO, G. & STROESCO, G. — Études sur la pathologie de la rage. *Arch. roum. Path. exp.* 4: 243-288, 1931.
12. MASSIGNANI, A. M. — Phosphotungstic acid-eosin combined with hematoxylin as a stain for Negri bodies in paraffin sections. *Stain Technol.* 36: 5-8, 1961.
13. MENESES-VIONET, A. & VEGA-CERDA, M. — Patología de la rabia. *Salud públ. Méx.* 16: 365-374, 1974.
14. SALAS-MARTÍNEZ, M. — Encefalomiелitis rabica. *Gac. méd. Méx.* 104: 471-478, 1972.
15. SALIDO-RENGELL, F. — Patología y patogenia. *Salud públ. Méx.* 16: 361-363, 1974.
16. SANDHYAMANI, S.; ROY, S.; CODE, G. R. & KALLA, G. N. — Pathology of rabies: a light — and electron — microscopical study with particular reference of the changes in cases with prolonged survival. *Acta Neuropath. (Berl.)* 54: 247-251, 1983.
17. SELLERS, T. F. — A new method for staining Negri bodies of rabies. *Amer. J. publ. Hlth.* 17: 1080-1081, 1927.
18. WARRELL, D. A.; DAVIDSON, N. McD.; POPE, H. M.; BALLIE, W. E.; LAWRIE, J. H.; ORMEROD, L. D.; KERTESZ, A. & LEWIS, P. — Pathophysiologic studies in human rabies. *Amer. J. Med.* 60: 180-190, 1976.

Recebido para publicação em 18/6/1984.