

Lesiones histopatológicas producidas con variantes moleculares de fauna silvestre del virus de la rabia que circula en México

Histopathological lesions in mice caused by rabies virus molecular variants circulating in Mexican wildlife

José E. Weimersheimer^a, Elizabeth Loza-Rubio^a, Elizabeth Morales Salinas^b

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue conocer si algunas de las variantes moleculares del virus de la rabia detectadas en México producían diferencias histopatológicas en el sistema nervioso central de ratón. Se formaron cinco grupos con seis ratones cada uno, que se inocularon por vía intracerebral con tres variantes de fauna silvestre. Grupo 1) lince/zorro; Grupo 2) murciélago hematófago; Grupo 3) zorrillo; Grupo 4) virus estándar de desafío (CVS); Grupo 5) cerebro normal de ratón (CNR). El Grupo 4 y los animales inoculados con los tres diferentes aislamientos, resultaron positivos por anticuerpos fluorescentes. El Grupo 1 presentó lesiones características de inflamación en el sistema nervioso central: encefalitis no supurativa, infiltrado linfocitario perivascular de moderado a severo afectando sólo el hipocampo y región del tálamo; inclusiones eosinofílicas intracitoplasmáticas en las neuronas (corpúsculos de Negri), microgliosis leve, y vacuolas de diferentes tamaños en la neurópila dando el aspecto de espongirosis. Los Grupos 2 y 3, presentaron lesiones similares pero no espongirosis ni corpúsculos de Negri. Ningún animal presentó neuronofagia. El Grupo 5 no presentó alteraciones. Es recomendable realizar el diagnóstico diferencial con la enfermedad de encefalopatía espongiiforme bovina, ya que con la variante zorro/lince se observaron lesiones muy similares.

PALABRAS CLAVE: Rabia, Fauna silvestre, Variantes moleculares, Ciclo epidemiológico, Espongirosis, Encefalopatía espongiiforme bovina.

ABSTRACT

The purpose of this study was to know whether some molecular variants of the rabies virus detected in Mexican wildlife could produce histopathological differences in mouse central nervous system. Five 6-mouse groups were inoculated intracerebrally with three different virus variants isolated from wildlife. Group 1) lynx/fox; Group 2) vampire bat; Group 3) skunk; Group 4) challenge virus standard (CVS); Group 5) normal mouse brain (NMB). Animals in Group 4 and those inoculated with all three different isolates resulted positive to the fluorescent antibody test. Animals in Group 1 had lesions characteristic of central nervous system (CNS), such as: inflammation, non-suppurative encephalitis, moderate-to-severe perivascular lymphocytic infiltration affecting only the hippocampus and the thalamic region; intra-cytoplasmic inclusions in the neurons (Negri's corpuscles), mild microgliosis, and spongiosis-like vacuoles of different sizes in the neuropil. Animals in Groups 2 and 3 showed similar lesions, but no spongiosis or Negri's corpuscles. None of the animals showed neuronophagia. No changes were found in Group 5. Differential diagnosis with bovine spongiform encephalopathy (BSE) is recommended, since very similar lesions were observed with the fox/lynx variant.

KEY WORDS: Rabies, Wild animals, Molecular variants, Epidemiological cycle, Spongiosis, Bovine spongiform encephalopathy.

En Latinoamérica aproximadamente el 74.8 % de la gente habita en áreas urbanas, lo cual es significativo ya que durante 1997 el 50.5 % de los

In Latin America, 74.8 % people live in urban areas. This is important since in 1997, 50.5 % of human rabies cases occurred in urban areas, while

Recibido el 13 de octubre de 2003 y aceptado para su publicación el 15 de abril de 2004.

^a Centro Nacional de Investigaciones en Microbiología. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). weimersheimer.jose@inifap.gob.mx; loza.elizabeth@inifap.gob.mx. Correspondencia al primer autor.

^b Departamento de Patología. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM.

casos de rabia en humanos ocurrieron en estas áreas, y la otra mitad sucedió en las rurales⁽¹⁾. En estas regiones las interacciones de la población y los animales domésticos con las diferentes especies silvestres se ha incrementado. Esto ha hecho que los ciclos urbanos y silvestres se hayan traslapado, complicando el entendimiento de la epidemiología de la rabia, así como su control y presentación, por lo que la identificación del actual curso de la infección de rabia en humanos y animales domésticos se ha tornado crítica, para determinar específicamente la transmisión y el establecimiento de la relación epidemiológica entre los casos y los brotes⁽²⁾.

En los últimos años con el uso de la biología molecular, los progresos sobre rabia han sido considerables^(3,4). En México, mediante estudios moleculares usando el polimorfismo del largo de los fragmentos de restricción (RFLP) y la secuenciación de fragmentos de los genes G y N^(5,6,7,8), se ha determinado la presencia de ciclos endémicos de rabia no descritos previamente, especialmente en la fauna silvestre. Además de un ciclo que se presenta en zorros del norte de México, se identificaron dos ciclos que circulan en zorrillos provenientes de Baja California Sur y del altiplano central del país (Aguascalientes y San Luis Potosí), a los que se les denominó hipervariables⁽⁷⁾; especialmente el que se encuentra en el norte del país (Baja California Sur) varía casi en un 19 % en su genoma con respecto a los ciclos conocidos como el terrestre, cuyo reservorio principal a nivel urbano es el perro, y el aéreo, cuyo agente transmisor generalmente es el murciélago hematófago^(8,9). De igual manera fue posible demostrar con ambos genes que las variantes de virus rábico aislados de zorrillos de México son diferentes a los de Kansas y California en los Estados Unidos⁽²⁾.

Conociendo esta situación, en la actualidad se realizan diferentes estudios empleando muestras positivas a rabia, proveniente tanto de fauna doméstica como silvestre, con el propósito de caracterizar biológicamente a las variantes del virus que se encuentran dentro del sero/genotipo 1, que es el que se ha detectado en México⁽⁶⁾.

the remaining half occurred in rural areas⁽¹⁾. In these regions, the interaction of humans and domestic animals with different wildlife species has been increased, resulting in overlapping of both urban and wildlife cycles. This complicates our understanding of rabies epidemiology, presentation and control. Currently, the identification of rabies in humans and domestic animals has become critical to specifically determine the transmission and establishment of the epidemiological relationship between cases and outbreaks⁽²⁾.

In recent years, molecular biology has allowed us to increase considerably our understanding of rabies^(3,4). In Mexico, restriction fragment length polymorphism (RFLP) and G/N gene fragment sequencing molecular studies^(5,6,7,8), have allowed the determination of endemic rabies cycles not previously described, particularly in wild animals. In addition to one cycle present in foxes in Northern Mexico, two additional cycles were identified that circulate among skunks living in Baja California Sur (South Baja California State) and in Mexico's central high plateau (Aguascalientes and San Luis Potosí). These last two cycles were called hyper-variable cycles⁽⁷⁾. The cycle found in Northern Mexico (Baja California Sur) shows a nearly 19 % variation in its genome, when compared with those cycles known as the terrestrial cycle (which main urban reservoir is the dog), and the aerial cycle (which typical transmitting agent is the hematophagous bat)^(8,9). Similarly, it was possible to demonstrate with both genes, that the rabies virus variants isolated from foxes in Mexico are different from those reported in the US in Kansas and California⁽²⁾.

Knowing this situation, different studies are currently being performed using rabies-positive samples from both domestic and wild animals, aiming to biologically characterize virus variants belonging to serum/genotype 1, which is the one detected in Mexico⁽⁶⁾.

This research aims to establishing whether some of the rabies virus genetic variants existing in Mexico –such as those from lynx/fox, hematophagous bats,

Este trabajo busca establecer si algunas de las variantes genéticas del virus de la rabia que existen en México, como las de lince/zorro, vampiro y zorrillo, producen diferentes grados de lesiones histológicas en ratones.

Se utilizaron 30 ratones cepa CD-1, los cuales se dividieron en cinco grupos, integrados con seis ratones cada uno, los cuales se inocularon por vía intracerebral con una suspensión al 20%. Se utilizó un inóculo perteneciente a cada ciclo, con una concentración viral entre 5 y 50% DL ratón por mililitro. Esto se realizó en tres diferentes ocasiones. Los grupos fueron: 1) de ciclo terrestre proveniente de lince/zorro; 2) de ciclo aéreo (murciélago hematófago); 3) de ciclo hipervariable (zorrillo); 4) el testigo positivo inoculado con virus estándar de desafío (CVS); 5) testigo negativo inoculado con suspensión de cerebro normal. Los ratones se sacrificaron al presentar los signos de la enfermedad. El período de incubación como promedio fue para el ciclo hipervariable (zorrillo) 18 días; ciclo aéreo (murciélago hematófago) 13 días; y el terrestre (zorro/lince) 14 días. Al presentar los signos de la enfermedad, los animales se sacrificaron mediante una exposición prolongada al cloroformo. En los cerebros obtenidos se realizó la prueba de inmunofluorescencia para confirmar la presencia del virus de la rabia. Para el estudio histopatológico, los cerebros se fijaron en formalina al 10%, se procesaron con la técnica histológica de rutina, se incluyeron en parafina, se cortaron a 3 μm de grosor y se tineron con hematoxilina y eosina para identificar lesiones características de rabia, revisándose las siguientes zonas anatómicas de cada cerebro: hipocampo, corteza cerebral, cerebelo, puente y región talámica.

Los ratones pertenecientes al Grupo 1 (lince/zorro) presentaron las siguientes lesiones en el sistema nervioso central: en todos los casos se apreció encefalitis no supurativa, caracterizándose por infiltrado linfocitario perivascular de moderado a severo, afectando sólo el hipocampo y la región talámica; además se encontraron inclusiones eosinofílicas intracitoplásmicas en las neuronas (corpúsculos de Negri), microgliosis leve, y presencia

and skunks– cause different degrees of histological lesions in mice.

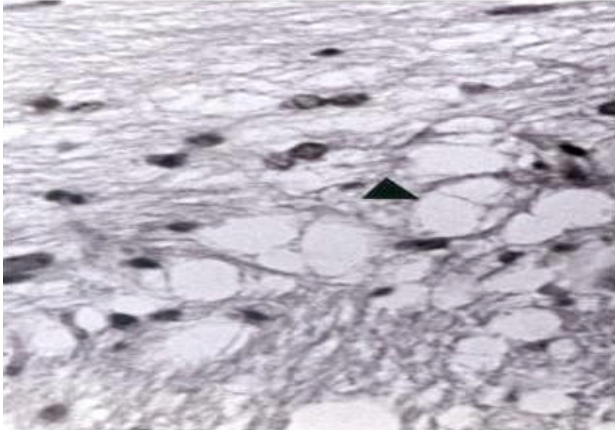
Thirty (30) CD-1 strain mice were divided into five 6-mouse groups. Mice were inoculated intracerebrally with a 20% virus suspension. One inoculum from each cycle was used with a virus concentration of five-50 mouse lethal doses (LD/ml). This was done in three different occasions. Groups were: 1) terrestrial cycle from lynx/fox; 2) aerial cycle (hematophagous bat); 3) hyper-variable (skunk) cycle; 4) positive control inoculated with the CVS; and 5) negative control inoculated with a normal brain suspension. Mice were killed as they showed rabies signs. Average incubation periods were 18, 13, and 14 d for the hyper-variable (skunk) cycle, the aerial (hematophagous bat) cycle, and the terrestrial (fox/lynx) cycle, respectively. When rabies signs appeared, animals were killed by extended chloroform exposure. Mouse brains were subjected to the immunofluorescence test in order to confirm the presence of rabies virus. For the histopathological study, brains were fixed in 10% formalin, and then processed using the routine histological technique. For this purpose, organ samples were included in paraffin, cut into 3 μm sections, and then stained with hematoxylin-eosin, in order to identify typical rabies lesions. The following anatomical areas of the brain were analyzed: hippocampus, brain cortex, cerebellum, bridge, and thalamic region.

Mice in Group 1 (lynx/fox) showed the following CNS lesions: in all cases, non-suppurative encephalitis was present, characterized by moderate-to-severe perivascular lymphocytic infiltration affecting only the hippocampus and the thalamic region. In addition, intra-cytoplasmic, eosinophilic inclusions (Negri's corpuscles) were found in the neurons, together with mild microgliosis, and the presence of spongiosis-like vacuoles of different sizes in the neuropil (Figure 1).

Mice in Group 2 (aerial cycle) showed the following lesions: mild-to-moderate perivascular infiltrations in both the cerebellum and brain cortex, mild perivascular infiltrations in the hippocampus, thalamic region, and bridge, with mild microgliosis.

Figura 1. Lesiones histopatológicas producidas con el virus de la rabia proveniente de la variante molecular zorro/lince

Figure 1. Histopathological lesions caused by rabies virus from the fox/lynx molecular variants



de vacuolas de diferentes tamanos en la neurópila, dando el aspecto de espongirosis (Figura 1).

Los ratones pertenecientes al Grupo 2 (ciclo aéreo) presentaron las siguientes lesiones: infiltrado perivascular siendo de leve a moderado en el cerebelo y corteza cerebral, y severo en hipocampo, región talámica y puente, además de microgliosis leve. No se encontró espongirosis ni corpúsculos de Negri (Figura 2).

Los ratones del Grupo 3 (ciclo hipervariable) presentaron las siguientes lesiones: infiltrado linfocitario perivascular siendo de moderado a severo en cerebelo, corteza cerebral y puente, y severo en hipocampo y región talámica, así como microgliosis leve. No se apreció espongirosis ni corpúsculos de Negri (Figura 3).

En los ratones del Grupo 4 (CVS) se apreció infiltrado linfocitario perivascular, siendo de leve a moderado en cerebelo, corteza cerebral y en puente; severo en hipocampo y región talámica, así como microgliosis leve. Tampoco se apreció espongirosis ni corpúsculos de Negri (Figura 4).

Los ratones pertenecientes al Grupo 5 no presentaron alteraciones (Figura 5). Cabe mencionar

Figura 2. Lesiones histopatológicas observadas al inocular virus de rabia proveniente de murciélago hematófago

Figure 2. Histopathological lesions observed after inoculation with rabies virus from a hematophagous bat

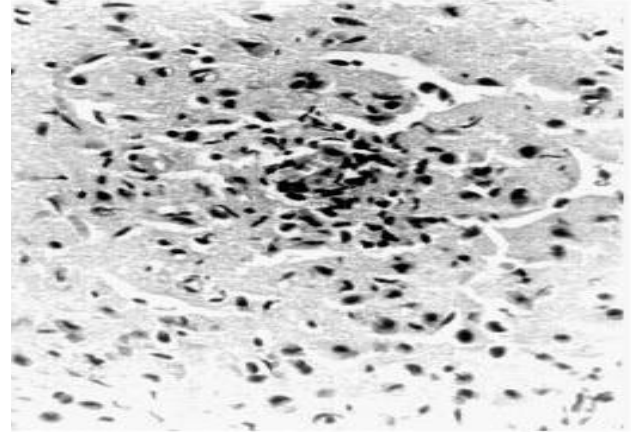
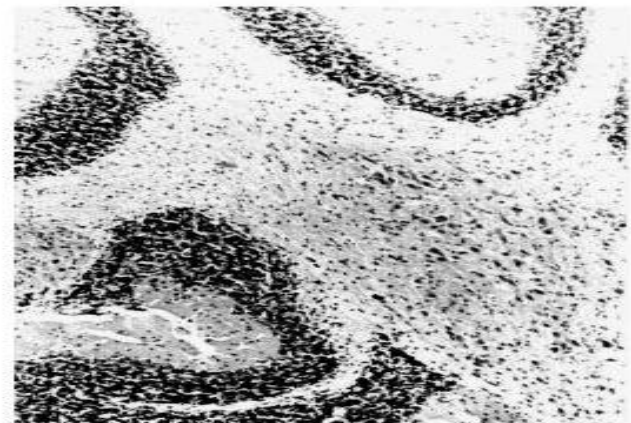


Figura 3. Lesiones histopatológicas producidas con el virus de la rabia proveniente de la variante molecular de zorrillo (ciclo hipervariable)

Figure 3. Histopathological lesions caused by rabies virus from the skunk (hyper-variable cycle) molecular variant

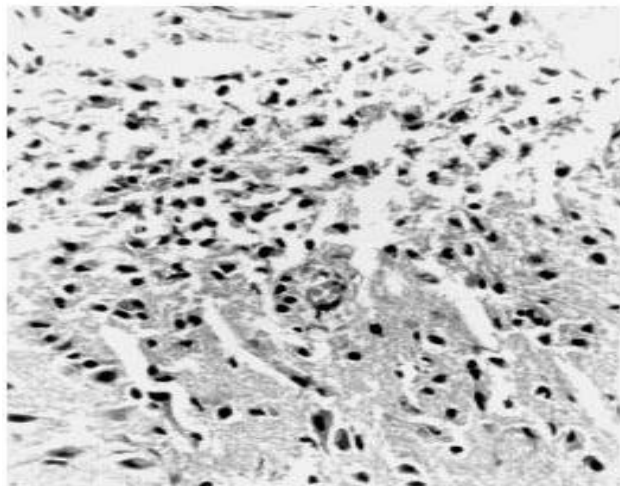


No spongiosis or Negri's corpuscles were found (Figure 2).

Mice in Group 3 (hyper-variable cycle) showed the following lesions: moderate-to-severe perivascular lymphocytic infiltration in the cerebellum, brain

Figura 4. Lesiones producidas al inocular CVS

Figure 4. Lesions caused by CVS inoculation

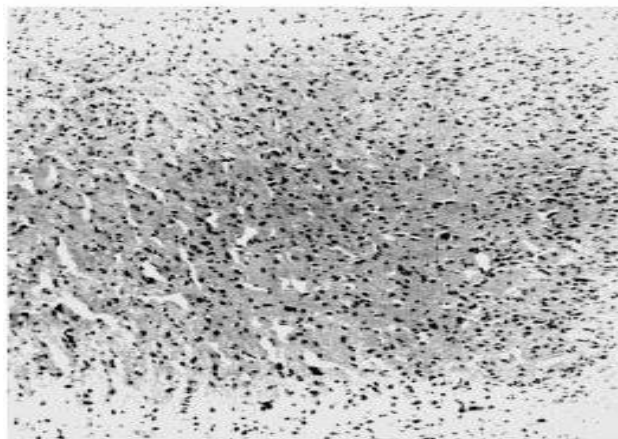


que en ninguno de los grupos experimentales se apreció neuronofagia.

Las lesiones encefálicas encontradas en los cuatro grupos inoculados con diferentes cepas de virus rábico, fueron características de la enfermedad. El hipocampo y región talámica fueron las regiones que presentaron lesiones más severas; sin embargo, puede apreciarse que existen algunas diferencias en estos grupos, por lo que se puede deducir que la patogenicidad de cada variante de virus rábico se comporta de manera diferente en forma experimental, siendo las diferencias básicas las siguientes: los ratones inoculados con el virus de origen terrestre (lince/zorro) fueron los únicos en donde se apreciaron lesiones espongiiformes (espongiosis) en la neurópila y corpúsculos de Negri, además de que sólo se apreciaron lesiones en hipocampo y región talámica, sugiriendo un tropismo del virus principalmente hacia estas regiones. Estudios experimentales previos indican que las vacuolas se forman en la infección temprana en las dendritas y menos frecuentemente en axones y astrocitos; se considera que estas vacuolas intracitoplasmáticas se agrandan hasta provocar la ruptura de la membrana plasmática, formando finalmente pequeños espacios en la neurópila^(10,11,12). También se ha documentado que estas vacuolas se

Figura 5. Apariencia microscópica de un cerebro normal de ratón

Figure 5. Microscopic appearance of a normal mouse brain.



cortex, and bridge, and severe perivascular lymphocytic infiltration in the hippocampus and thalamic region, together with mild microgliosis. Spongiosis or Negri's corpuscles were not found (Figure 3).

Mice in Group 4 (CVS) showed a mild-to-moderate perivascular lymphocytic infiltration in the cerebellum, brain cortex, and bridge; severe perivascular lymphocytic infiltration in the hippocampus and thalamic region, together with mild microgliosis. Spongiosis or Negri's corpuscles were not found (Figure 4).

Group 5 mice showed no changes (Figure 5). It is important to mention that neuronophagia was not seen in any of the experimental groups.

Brain lesions found in all four groups inoculated with the different rabies virus strains were typical of the disease. The hippocampal and thalamic regions were the ones that presented the most severe lesions. Nevertheless, several differences can be seen among these groups. Therefore, it can be deduced that the pathogenicity of each rabies virus variant shows different experimental behaviors. Basic differences are as follows: mice inoculated with the terrestrial-origin (lynx/fox) virus, were

han observado después de la infección por diferentes cepas o variantes antigénicas y moleculares del virus rábico, independientemente de la respuesta inmune, ruta de inoculación o preparación del virus^(13,14). Por otro lado, se sabe que no en todos los casos de encefalitis rábica se aprecian corpúsculos de Negri al microscopio de luz; en individuos con rabia, éstos se observan aproximadamente en el 70 % de los casos⁽¹⁵⁾.

En los encéfalos de los ratones pertenecientes al Grupo 3 (ciclo hipervariable), la encefalitis rábica se apreció más severa, con respecto a los demás grupos experimentales, pudiendo indicar que esta variante de virus es capaz de estimular en forma más eficiente al sistema inmunitario del huésped. Es importante hacer notar que los encéfalos del Grupo 2 (ciclo aéreo) y los del Grupo 4 (CVS) mostraron lesiones similares, indicando aparentemente un comportamiento semejante de estos virus.

Se ha documentado que la infección neuronal por virus rábico no necesariamente provoca cambios citopáticos, por lo que no en todos los casos se observa microgliosis manifiesta y neuronofagia como lo observado en los grupos experimentales y el testigo positivo de este estudio⁽¹³⁾. Cabe mencionar que el periodo de incubación fue mayor con la variante del ciclo 3 o hipervariable (18 días) que en los ratones inoculados con la variante del ciclo zorro/lince (14 días), para el ciclo aéreo fue de 13 días en promedio. En el grupo testigo positivo (CVS) el periodo de incubación fue de seis días.

Las lesiones microscópicas producidas por el virus rábico en el sistema nervioso central en las diferentes especies animales, ya han sido descritas ampliamente resumiéndose en las siguientes: polioencefalomielitis, la cual se caracteriza por diferentes grados de infiltrado inflamatorio, lo cual es recomendable el hacer el diagnóstico diferencial con esta enfermedad en cerebros obtenidos a partir de rumiantes^(15,16,17).

Con estos resultados puede sugerirse que las variaciones genéticas de los virus de la rabia analizados en este estudio pueden producir

the only ones that caused spongiform lesions (spongiosis) in the neuropil, together with Negri's corpuscles. In addition, lesions were only observed in the hippocampus and the thalamic region, suggesting major virus tropism for these regions. Previous experimental work shows that vacuoles occur during the early infection of the dendrites, and less frequently in the axons and astrocytes. It is considered that these intra-cytoplasmic vacuoles get enlarged until they result in the rupture of the plasmatic membrane, finally causing small gaps in the neuropil^(10,11,12). These vacuoles have also been documented after the infection with different strains or antigenic/molecular variants of the rabies virus, regardless of the immune response, route of inoculation, and virus preparation^(13,14).

It is known that not all cases of rabies encephalitis show Negri's corpuscles under the light microscope, but they are observed approximately in 70 % of the rabid individuals⁽¹⁵⁾. In the brains from Group 3 mice (hyper-variable cycle), rabies encephalitis was more severe than that in the other experimental groups. Therefore, it can be said that this virus variant has the ability of stimulating more efficiently the host's immune system. It must be noticed that Group 2 (aerial cycle) brains, and Group 4 (CVS) brains, showed similar lesions, which apparently means a similar behavior of these two viruses. On the other hand, it has been documented that neuron infection by the rabies virus does not necessarily result in cytopathogenic changes. This is why not all cases show overt microgliosis and neuronophagia, as seen in the experimental groups and in the positive control of this study⁽¹³⁾. We must mention that the incubation period was longer with cycle 3 or hyper-variable variant (18 d) than in those mice inoculated with the fox/lynx cycle variant (14 d); while the period in the aerial cycle was 13 d. Incubation period in the CVS positive control group was 6 d.

Microscopic lesions caused by the rabies virus in the CNS of different animal species have been described in detail, and they can be summarized as follows: Polioencephalomyelitis characterized by different degrees of perivascular, mononuclear, inflammatory infiltration, different degrees of

diferencias en cuanto a la virulencia, provocando diferencias en el grado de las lesiones en el sistema nervioso central.

LITERATURA CITADA

1. Vigilancia epidemiológica de la rabia en las Américas. Boletín de Vigilancia Epidemiológica de la Rabia en las Américas. Washington. DC. Pan American Health Organization and Geneva: World Health Organization (WHO). 1997:(29).
2. De Mattos CC, De Mattos CA, Loza-Rubio E, Aguilar A, Orciari L, Smith J. Molecular characterization of rabies virus isolates from México: Implications for transmission dynamics and human risk. *Am J Trop Med Hyg* 1999(6):587-597.
3. Tordo N, Poch O, Ermine A, Keith G. Primary structure of leader RNA and nucleoprotein genes of the rabies genome: segmented homology with VSV. *Nucl Acids Res* 1986(14):2671-2683.
4. Tordo N, Poch O, Ermine A, Keith G, Rougeon F. Completion of the rabies virus genome séquence detrimination: highly conserved domains along the L (polymerase) proteins of unsegmented negative strand RNA viruses. *Virology* 1988(165):565-576.
5. Bahloul Ch. Immunisation genique Immunogenicité de la glycoprotéin rabique et vaccines élargis aux Lyssavirus. Université de Paris XI. Paris. 1997.
6. Loza-Rubio E, Pedroza RR, Montano HJA, Aguilar Setién A. Caracterización con anticuerpos monoclonales del virus de la rabia aislado de fauna doméstica y silvestre de México. *Vet Méx* 1998;29:245.
7. Loza-Rubio E, Aguilar SA, Bahloul CH, Brochier B, Pastoret PP, Tordo N. Discrimination between epidemiological cycles of rabies in México. *Archives Med Res* 1999(30):144-149.
8. Smith J, Baer GM. Epizootiology of rabies in the Americas. In: Cambell JB, Charlton KM editors. Rabies. Boston: Kluwer Academic Publishers; 1988.
9. Loza Rubio E, Vargas R, Hernández EB, Batalla CD, Aguilar SA. Investigation of rabies virus strain in México with a panel of monoclonal antibodies used to classify Lyssavirus. *Bull. PAHO*, 1996(30):31-35.
10. Perl DP. The pathology of rabies in the central nervous system. In: Baer GM editor. The natural history of rabies. New York: Academic Press; 1988:235-272.
11. Smith JS, McLelland CL, Reid LF, Baer GM. Dual role of the immune response in street rabies virus infection of mice. *Infection Immun* 1982(35):213-221.
12. Jackson AC. Animal models of rabies neurovirulence, Lyssaviruses; Ruprecht CE, Dietzschold B, Koprowski H editors. Springer-Verlag, Berlín P. 1994:85-93.
13. Charlton KM. Rabies spongiform lesions in the brain. *Acta Neuropathol (Berlín)*.1984 (63):198-202.
14. Charlton KM, Casey GA, *et al*. Experimental rabies in skunks and foxes: pathogenesis of the spongiform lesions. *Lab Invest* 1987(57):634-645.
15. Iwasaki Y, Tobita M. Pathology. In: Jackson AC, Wunner WH editors. Rabies. San Diego, USA: Academic Press; 2002:283-306.
16. Correa GP. Enfermedad de las vacas locas (Encefalopatía espongiiforme bovina). INIFAP. Centro Nacional de Investigaciones en Microbiología Veterinaria. Folleto Nº 1. 2001.
17. PAHO / WHO (Panam. Health Organization / World Health Organization). PAHO / WHO Consultation on bovine espongiiform encephalopathy (BSE) scientific bases for policy - making in the Americas. XII Interamerican meeting in the ministerial level on health and agriculture. Montevideo, Uruguay, 2001:16-19.

microgliosis and neuronophagia, presence of intracytoplasmic, eosinophilic viral inclusions known as Negri's corpuscles, and occasionally leptomenigitis. It is known that neuro-pathological changes produced by the different variants of the rabies virus vary, and that frequently they are not related with the clinical signs of the disease⁽¹³⁾. These lesions are mainly found in the brain cortex, hippocampus, cerebellum, thalamic region, and bridge⁽¹³⁾. The presence of spongiform lesions characterized by vacuoles in the gray matter neuropil, were initially detected in experimental rabies cases in skunks and foxes, and they were further detected spontaneously in these and other species⁽¹⁴⁾. It is important to mention that BSE is characterized by spongiform lesions, similar to those observed in the CNS of animals inoculated with terrestrial (fox/lynx) cycle rabies virus. In BSE, spongiosis is only observed in the brain stem including the mesencephalon, bridge, and oblongated marrow with obex, while the spongiosis reported herein was found in the neuropil of the thalamic region. It causes histopathological lesions very similar to those found in Group 1 with the terrestrial (lynx/fox) rabies virus cycle, such as spongiform regions, perivascular lymphocytic infiltrate, and microgliosis. Therefore, the differential diagnosis with this disease in ruminant brains is recommended^(15,16).

These results suggest that rabies virus genetic variations analyzed in this study can result in virulence differences, causing different degrees of CNS lesions.

End of english version

