

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

**CARACTERIZACIÓN ANATÓMICA E HISTÓLOGICA
DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL DE EJEMPLARES DE MURCIÉLAGOS
PERTENECIENTES A LAS ESPECIES *Desmodus rotundus* y *Tadarida
brasiliensis* DE URUGUAY**

por

María Elena LANDONI GONZÁLEZ
Florescia LARROSA MOREIRA

TESIS DE GRADO presentada como uno
de los requisitos para obtener el Título de
Doctor en Ciencias Veterinarias
Orientación: Higiene, Inspección -
Control y Tecnología de los Alimentos.
Medicina Veterinaria

MODALIDAD: Ensayo experimental

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2018**

PÁGINA DE APROBACIÓN

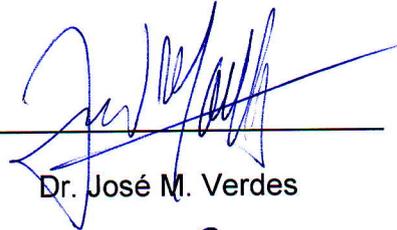
Tesis de grado aprobada por:

Presidente de mesa:



Dr. Claudio Borteiro

Segundo miembro (Tutor):



Dr. José M. Verdes

Tercer miembro:



Dra. Graciela Pedrana

Cuarto miembro:

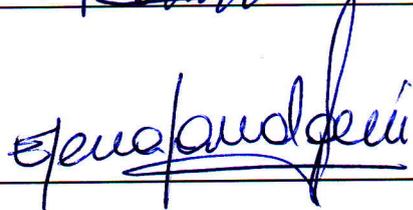
Dr. Alejandro Crampet

Fecha:

13/12/2018



Autores:



María Elena Landoni González

Florencia Larrosa Moreira

AGRADECIMIENTOS

De ambas autoras:

A nuestras familias y amigos por su apoyo incondicional a lo largo de nuestra carrera universitaria.

A nuestro tutor el Dr. José Manuel Verdes, quien nos brindó su tiempo y conocimiento, así como el constante apoyo y reconocimiento a nuestro trabajo.

A nuestro co-tutor “veterinario inusual” el Dr. Alejandro Crampet quien nos orientó en el trabajo de laboratorio y colaboró con el procesamiento de los materiales

A funcionarios, docentes y colaboradores honorarios del Área Patología de la Facultad de Veterinaria - UdelaR, quienes prestaron constante apoyo no solo técnico sino también de conocimiento y contención en el día a día.

A la Dra. Laura Decia del Área de Parasitología de la Facultad de Veterinaria-UdelaR por colaborar con material para nuestro trabajo.

Al Lic. Germán Botto (Museo Nacional de Historia Natural) por los ejemplares donados.

Al Prof. Fabiano Sant’Ana del Laboratorio de Patología Veterinaria de la Facultad de Veterinaria de la Universidade de Brasilia (UBr, Brasil) por su aporte de materiales.

A todos aquellos que de alguna manera fueron parte de nuestra formación; docentes, compañeros y funcionarios de la Facultad de Veterinaria.

Personales de Elena Landoni:

A mi esposo, “Pancho” Francisco Puignau por su incondicional apoyo, siempre confiando en mí y estando a mi lado, sobre todo en los momentos de duda.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	2
AGRADECIMIENTOS.....	3
LISTA DE CUADROS Y FIGURAS.....	5
RESUMEN	7
SUMMARY	8
1. INTRODUCCIÓN	9
1.1 Epidemiología y ciclos biológicos.....	9
1.2 Características generales de los quirópteros que forman parte del ciclo aéreo.....	11
1.2.1 Quirópteros hematófagos.....	11
1.2.2 Quirópteros no hematófagos.....	11
1.3 Localización en Uruguay.....	13
1.4 Antecedentes de estudios similares y objetivos del trabajo.....	14
2. MATERIALES Y MÉTODOS	16
2.1 Animales.....	16
2.1.1 <i>Tadarida brasiliensis</i>	16
2.1.2 <i>Desmodus rotundus</i>	16
2.2 SNC de quirópteros.....	17
2.3 Histopatología.....	17
2.4 Inmunohistoquímica.....	18
3. RESULTADOS	19
3.1 Registro fotográfico macroscópico de los encéfalos de ambas especies.....	19
3.2 Categorización de preparados histológicos.....	21
3.3 Identificación de regiones específicas del SNC de <i>Desmodus rotundus</i>	23
3.3.1 Sección Fronto-Parietal.....	23
3.3.2 Sección Parietal Media y Cerebro Medio.....	28
3.3.3 Sección Colículo Posterior.....	31
3.3.4 Sección Cerebelo.....	31
3.3.5 Sección Médula Posterior.....	35
3.4 Identificación de regiones específicas del SNC de <i>Tadarida brasiliensis</i>	38
3.4.1 Sección Fronto-Parietal y Parietal Media.....	38
3.4.2 Sección Cerebelo.....	42
3.4.3 Sección Médula Posterior.....	45
3.5 Histopatología contra virus rábico.....	48
3.5.1 SNC de bovino (caso positivo).....	48
3.5.2 SNC de bovino (caso negativo).....	48
3.5.3 SNC de <i>Tadarida brasiliensis</i>	48
3.5.4 SNC de <i>Desmodus rotundus</i>	48
4. DISCUSIÓN	50
4.1 <i>Desmodus rotundus</i>	50
4.2 <i>Tadarida brasiliensis</i>	50
4.3 Comparación entre <i>Desmodus rotundus</i> y <i>Tadarida brasiliensis</i>	50
5. CONCLUSIONES	53
6. BIBLIOGRAFÍA	54

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

		Página
Cuadro I	Criterio de categorización de calidad de preparados histológicos.....	18
Cuadro II	Categorización de preparados histológicos para los ejemplares de <i>Desmodus rotundus</i>	21
Cuadro III	Categorización de preparados histológicos para los ejemplares de <i>Tadarida brasiliensis</i>	22
Figura 1	Rabia en Uruguay: eventos epidemiológicos registrados vinculados a la transmisión o potencial transmisión del virus rábico al humano.....	9
Figura 2	Distribución geográfica de <i>Desmodus rotundus</i> y <i>Tadarida brasiliensis</i> en Uruguay (2004).....	13
Figura 3	Distribución geográfica de <i>Desmodus rotundus</i> y <i>Tadarida brasiliensis</i> en Uruguay (2010).....	14
Figura 4	Fotografía de un ejemplar <i>Tadarida brasiliensis</i>	16
Figura 5	Fotografía de un ejemplar de <i>Desmodus rotundus</i>	17
Figura 6	Encéfalo macroscópico de <i>Desmodus rotundus</i>	19
Figura 7	Encéfalo macroscópico de <i>Tadarida brasiliensis</i>	20
Figura 8	Ilustración de corte histológico de la sección frontal del Encéfalo de <i>Desmodus rotundus</i>	23
Figura 9	Ilustración de corte histológico de la sección fronto-parietal de <i>Desmodus rotundus</i>	24
Figura 10	Sección fronto-parietal de encéfalo de <i>Desmodus rotundus</i> (tinción de HE y AT).....	25
Figura 11	Sección fronto-parietal de encéfalo de <i>Desmodus rotundus</i> (tinción de HE y AT).....	25
Figura 12	Corteza frontal del encéfalo de <i>Desmodus rotundus</i> (tinción AT).....	26
Figura 13	Sección fronto-parietal de encéfalo de <i>Desmodus rotundus</i> (tinción de HE y AT).....	26
Figura 14	Sección fronto-parietal de encéfalo de <i>Desmodus rotundus</i> (tinción AT).....	27
Figura 15	Ilustración de corte histológico de la sección Media Parietal y Cerebro Medio de <i>Desmodus rotundus</i>	28
Figura 16	Sección Media Parietal y Cerebro Medio de encéfalo de <i>Desmodus rotundus</i> (tinción de HE).....	29
Figura 17	Sección Media Parietal y Cerebro Medio de encéfalo de <i>Desmodus rotundus</i> (tinción de HE).....	29
Figura 18	Sección Media Parietal y Cerebro Medio de encéfalo de <i>Desmodus rotundus</i> (tinción de HE).....	29
Figura 19	Sección Media Parietal y Cerebro Medio de encéfalo de <i>Desmodus rotundus</i> (tinción HE).....	30
Figura 20	Ilustración de corte histológico de la sección Cerebelo de <i>Desmodus rotundus</i>	32
Figura 21	Sección Cerebelo de <i>Desmodus rotundus</i> (tinción de HE y AT).....	32
Figura 22	Sección Cerebelo de <i>Desmodus rotundus</i> (tinción de HE y AT).....	33
Figura 23	Sección Cerebelo de <i>Desmodus rotundus</i> (tinción de HE y AT).....	33
Figura 24	Cerebelo de <i>Desmodus rotundus</i> (tinción AT).....	33
Figura 25	Capas del Cerebelo de <i>Desmodus rotundus</i> (tinción AT).....	34
Figura 26	Ilustración de corte histológico de la sección Médula Posterior de <i>Desmodus rotundus</i>	35
Figura 27	Sección Médula Oblonga de <i>Desmodus rotundus</i> (tinción HE y AT).....	36

Figura 28	Sección de Médula Oblonga de <i>Desmodus rotundus</i> (tinción HE y AT).....	36
Figura 29	Zona reticulada en Médula Oblonga de <i>Desmodus rotundus</i> (tinción HE y AT).....	36
Figura 30	Zona reticulada en Médula Oblonga caudal de <i>Desmodus rotundus</i> (tinción AT).....	37
Figura 31	Zona reticulada en Médula Oblonga caudal de <i>Desmodus rotundus</i> (tinción HE y AT).....	37
Figura 32	Capas del Cerebelo de <i>Desmodus rotundus</i> (tinción HE y AT).....	37
Figura 33	Ilustración de corte histológico de la sección fronto-parietal de <i>Tadarida brasiliensis</i>	38
Figura 34	Sección fronto-parietal de encéfalo de <i>Tadarida brasiliensis</i> (tinción HE).....	39
Figura 35	Sección fronto-parietal del cerebro de <i>Tadarida brasiliensis</i> (tinción HE).....	39
Figura 36	Sección fronto-parietal del encéfalo de <i>Tadarida brasiliensis</i> (tinción HE).....	40
Figura 37	Sección fronto-parietal del encéfalo de <i>Tadarida brasiliensis</i> (tinción HE).....	40
Figura 38	Sección fronto-parietal del encéfalo de <i>Tadarida brasiliensis</i> (tinción HE).....	40
Figura 39	Sección fronto-parietal del encéfalo de <i>Tadarida brasiliensis</i> (tinción HE).....	41
Figura 40	Sección de Cerebelo de <i>Tadarida brasiliensis</i> (tinción HE).....	42
Figura 41	Puente en la Sección de Cerebelo de <i>Tadarida brasiliensis</i> (tinción HE).....	42
Figura 42	Puente en la Sección Cerebelo de <i>Tadarida brasiliensis</i> (tinción HE).....	43
Figura 43	Puente en la Sección de Cerebelo de <i>Tadarida brasiliensis</i> (tinción HE).....	43
Figura 44	Sección Cerebelo de <i>Tadarida brasiliensis</i> , capas cerebelares (tinción HE).....	43
Figura 45	Sección Cerebelo de <i>Tadarida brasiliensis</i> (tinción HE).....	44
Figura 46	Sección Cerebelo de <i>Tadarida brasiliensis</i> , folias cerebelares y capas (tinción HE).....	44
Figura 47	Sección Cerebelo de <i>Tadarida brasiliensis</i> (tinción HE).....	44
Figura 48	Ilustración de corte histológico de la sección de médula posterior de <i>Tadarida brasiliensis</i>	45
Figura 49	Sección de médula posterior de <i>Tadarida brasiliensis</i> (tinción HE).....	46
Figura 50	Sección de médula posterior de <i>Tadarida brasiliensis</i> (tinción HE).....	46
Figura 51	Sección de médula posterior de <i>Tadarida brasiliensis</i> (tinción HE).....	46
Figura 52	Sección de médula posterior en <i>Tadarida brasiliensis</i> , zona reticulada (tinción HE).....	47
Figura 53	Corteza cerebelar de bovino (tinción HE, AT, IHQ).....	49

RESUMEN

En Uruguay se ha descrito la circulación de las variantes virales de la Rabia asociadas a los quirópteros *Tadarida brasiliensis* y *Desmodus rotundus*, ambas especies presentes en el país. El sistema nervioso central (SNC), es el órgano diana de este virus. El objetivo de este trabajo fue describir el SNC de cada especie y a su vez realizar la búsqueda de posibles lesiones compatibles con la Rabia, mediante técnicas de histopatología (tinciones de Hematoxilina Eosina, Azul de Toluidina e Inmunohistoquímica). Se utilizaron 2 ejemplares de *D. rotundus* obtenidos de un foco de rabia pasesiante y 2 ejemplares de *T. brasiliensis*, uno de los cuales presentó signos compatibles con cuadro neurológico. Concluimos que *D. rotundus* presentó mayor tamaño y volumen encefálico lo cual se asocia a su complejidad comportamental. A nivel microscópico la descripción neuroanatómica fue similar en ambas especies, identificándose múltiples áreas de importancia en los cortes realizados. No se registraron en ninguno de los casos lesiones histopatológicas asociadas a encefalitis rábica.

SUMMARY

In Uruguay, the circulation of the viral variants of Rabies associated with the bats *Tadarida brasiliensis* and *Desmodus rotundus*, both species which are present in the Uruguay, has been described. The central nervous system (CNS) is the target organ of this virus. The objective of this work was to describe the CNS of each species and to search for possible lesions compatible with the disease, by using histopathology techniques (Hematoxylin Eosin, Toluidine Blue and Immunohistochemical stains). Two specimens of *D. rotundus* obtained from a focus of paresis rabies and two specimens of *T. brasiliensis* were used, one of which showed signs compatible with neurological symptoms. We conclude that *D. rotundus* presented a larger brain size and volume, which is associated with its behavioral complexity. At the microscopic level, the neuroanatomical description was similar in both species, identifying multiple areas of importance in the cuts made in the nervous system of the specimens studied. No histopathological lesions associated with rabies encephalitis were recorded in any of the cases.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Epidemiología y ciclos biológicos

La rabia es una encefalitis viral aguda y mortal causada por el virus rábico (RABV), que pertenece a la familia Rhabdoviridae, género *Lyssavirus*. Puede afectar a todas las especies de mamíferos domésticos y silvestres. Los reservorios de RABV son animales pertenecientes a los órdenes Carnivora y Chiroptera. Según varios estudios de caracterización genética y antigénica los murciélagos son uno de los más importantes reservorios del virus (Pinto Jorge y col., 2010). La Rabia es una zoonosis de gran importancia para la Salud Pública Veterinaria debido a la mortalidad mundial estimada entre 40.000 y 100.000 humanos por año (Academia Nacional de Veterinaria, 2008).

Según la OIE, en Uruguay la enfermedad está ausente en animales domésticos desde marzo del 2017 pero presente en animales salvajes.

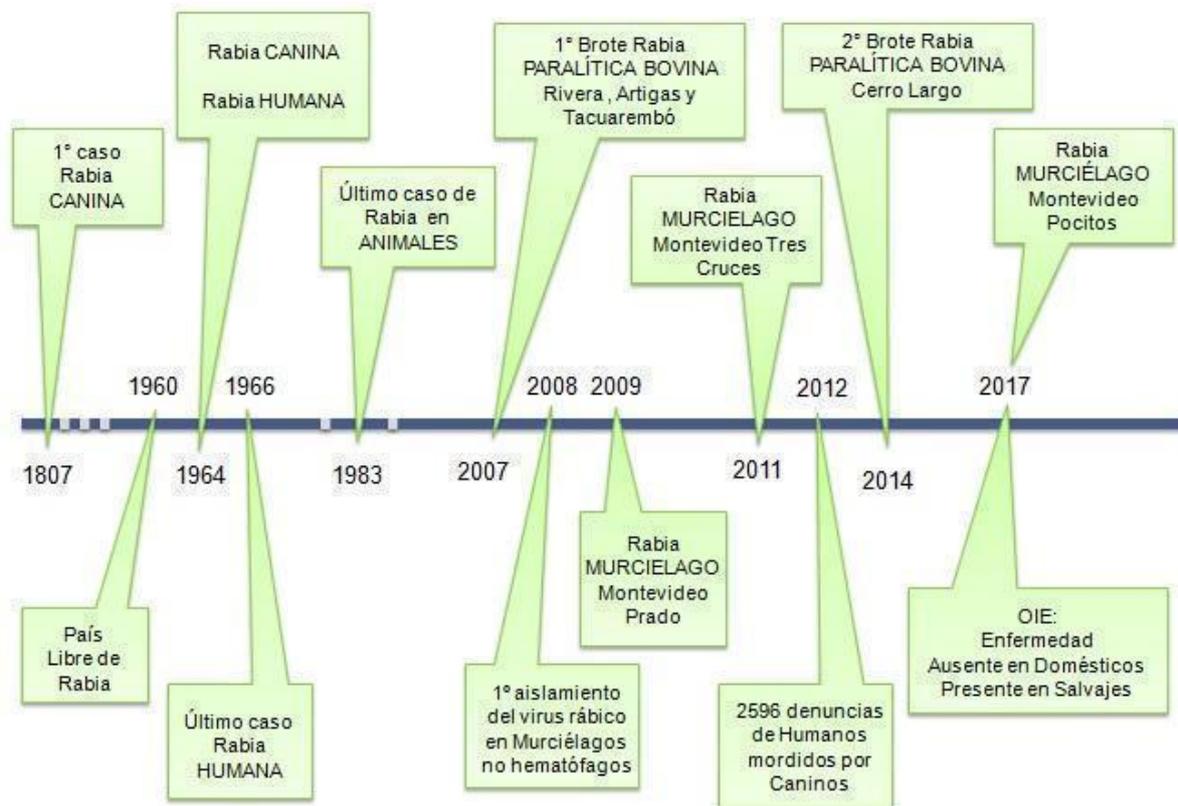


Figura 1. Rabia en Uruguay: eventos epidemiológicos registrados vinculados a la transmisión o potencial transmisión del virus rábico al humano (denuncias de mordeduras a humanos, 2012). Elaborado a partir de datos de Filippini (2001) y Guarino y col. (2013), Ministerio de Salud Pública (MSP); Organización Internacional de Epizootias (OIE).

Epidemiológicamente, se reconocen cuatro ciclos:

- urbano.
- rural.
- silvestre.
- aéreo.

El ciclo urbano, tiene al perro como principal transmisor y reservorio, mientras que en el ciclo silvestre este rol lo cumple fundamentalmente el murciélago hematófago *Desmodus rotundus*.

Actualmente se considera que los ciclos urbano y silvestre están interrelacionados, siendo varias especies importantes en la transmisión y perpetuación del virus (independientemente de las diferentes variantes virales). Dentro de las especies silvestres que se han propuesto que podrían cumplir esta función, se identifican especialmente a los murciélagos insectívoros, zorros, mapaches, entre otras (Guarino, 2008).

El ciclo aéreo es aquel que involucra a los murciélagos, siendo clave para el mantenimiento del virus entre las diversas especies, tanto hematófagas, frugívoras e insectívoras, diseminándose así, sin barreras geográficas por su condición única de mamíferos voladores. Todas las especies de quirópteros son susceptibles a la rabia, pueden transmitir la enfermedad y presentar sintomatología seguida de la muerte (Riet-Correa, 2008).

La transmisión intra-específica de la rabia en el vampiro (*D. rotundus*) se produce dentro o fuera de los refugios, por mordeduras agresivas o defensivas entre congéneres. Los vampiros sanos, al ser mordidos por vampiros enfermos, pueden enfermarse o tolerar la infección. Los vampiros mordidos por congéneres rabiosos que toleran la infección, no eliminan virus por la saliva, ni manifiestan síntomas, y de ellos no se aísla virus ni del cerebro, ni de tejidos periféricos, pero una elevada proporción desarrolla anticuerpos antirrábicos (Delpietro et al., 2008). Los animales que enferman, presentarán los síntomas de inquietud, hiperreflexia, agresividad, paresia, incapacidad de vuelo, contracturas, deshidratación y muerte, pudiendo incluso en algunos casos llegar a morir sin presentar sintomatología (Delpietro et al., 2008).

Hasta el momento no hay evidencias conclusivas de la existencia de portadores asintomáticos entre los vampiros, como se pensaba anteriormente. Al igual que ocurre en otros animales, en general, mueren a raíz de la infección y eliminan el virus por saliva durante 10 días o más antes de la muerte. Lo que parece ocurrir en algunos, es que manifiestan la enfermedad más tardíamente gracias a un prolongado período de incubación a consecuencia de una adaptación única del sistema inmune del murciélago (Schnoutz, 2013). Incluso existe evidencia de que algunos de ellos, podrían recuperarse de la enfermedad, a semejanza de lo que también se ha comunicado en otros mamíferos silvestres (Riet-Correa, 2008).

En especies silvestres como coatíes, mapaches, grandes felinos y diversos cánidos se ha comprobado la presencia de anticuerpos neutralizantes frente a virus rábico, sin manifestación de signos clínicos compatibles con la enfermedad en un período de observación de hasta 50 meses (Pinto Jorge y col., 2010).

Sin embargo, Fernandes de Almeida y col. (2011) destacan como mecanismos de la elevada prevalencia de anticuerpos neutralizantes frente a rabia (en animales salvajes y murciélagos sin síntomas de enfermedad), la exposición al virus rábico inmediato al nacimiento, infecciones subclínicas o asintomáticas, infecciones subletales e incluso estado de portador y virus latente activado por estrés.

1.2 Características generales de los quirópteros que forman parte del ciclo aéreo de la rabia

1.2.1 Quirópteros hematófagos

Desmodus rotundus perteneciente a la familia Phyllostomidae, popularmente conocido como “vampiro común”, es el murciélago de mayor tamaño dentro de los quirópteros del Uruguay (Acosta y Lara, 1950; González, 1989; Langguth y Achaval, 1972), siendo el principal reservorio del virus de la rabia pasesiante en Sudamérica y el principal transmisor de esta zoonosis mortal. Es la única especie de murciélago hematófago en nuestro país.

Su distribución en América Latina va desde el Norte de México al Sur de Uruguay (González y Martínez, 2010). Habita en grupos estables con los cuales comparte su refugio durante el día en cuevas naturales, árboles huecos, construcciones humanas, y en zonas serranas o boscosas. Se alimenta durante la noche de sangre de distintas presas, entre las que se encuentran:

- Aves de corral
- Rumiantes domésticos
- Equinos
- Animales silvestres (como el venado y el carpincho)
- Seres humanos, los cuales pueden ser una presa ocasional y alternativa cuando no disponen de sus presas favoritas (ganado doméstico y grandes herbívoros) aumentando así el riesgo zoonótico.

Se ha responsabilizado a *D. rotundus* de los focos de rabia pasesiante en rumiantes que se diagnostican periódicamente en Rio Grande do Sul (Brasil) en regiones fronterizas con nuestro país, así como en los brotes de los años 2007 y 2014 en Uruguay. La identificación del virus rábico en estas instancias se realizó mediante técnicas de inmunofluorescencia directa y por la prueba de inoculación en ratón neonato que son las pruebas estándar en los laboratorios de diagnóstico veterinario en todo el mundo (Guarino y col., 2013).

En marzo-abril del 2014, se volvió a registrar un brote de rabia pasesiante en las Sierras de Aceguá (departamento de Cerro Largo, en una zona cercana a la frontera con Brasil), ocasionando la muerte de 30 rumiantes, lográndose la confirmación de la enfermedad por parte de los laboratorios nacionales de referencia (DILAVE Miguel C Rubino, MGAP). Actualmente el foco está bajo control y se realizan revisiones periódicas de la zona afectada por parte de técnicos de la DILAVE en colaboración con científicos brasileiros. En todos los casos mencionados en este nuevo brote, se identificó como fuente del virus a *D. rotundus* (Correa, 2014).

1.2.2 Quirópteros no hematófagos

Las familias Phyllostomidae, Molossidae y Vespertilionidae, son las de mayor diversidad y abundancia entre los quirópteros, siendo además los integrantes de estas familias los que con mayor frecuencia se encuentran asociados a actividades humanas. En América Latina, se ha identificado el virus rábico en varias especies pertenecientes a estas familias (Fernandes de Almeida, 2011; Riet-Correa, 2008).

En especial, dentro de la familia Molossidae encontramos al murciélago insectívoro *Tadarida brasiliensis*. Es de mediano porte (aproximadamente de 9-10

cm de largo), siendo conocido como “murciélago cola de ratón”. Se encuentra ampliamente distribuido en el continente Americano y se caracteriza por formar colonias de miles de especímenes.

En Uruguay este murciélago es el más común y veloz (González, 1989). Se han encontrado colonias en ciudades y poblados, sótanos, edificios de apartamentos, campanarios, huecos de árboles y cavernas entre otros (Achaval y col., 2004).

Tadarida brasiliensis, se alimenta de diversos insectos en horario nocturno los cuales caza al vuelo a elevadas alturas. Las grandes ciudades ofrecen un ambiente favorable, tanto para *T. brasiliensis* como para otros murciélagos insectívoros, dada la gran disponibilidad de alimento que proveen los focos lumínicos, la ausencia de sus predadores naturales y la presencia de una infraestructura adecuada para formar colonias (Fernandes de Almeida, 2011).

Debido a su gran adaptabilidad, *T. brasiliensis* puede compartir refugio con otras especies y ha encontrado la manera de sobrevivir en los ecosistemas urbanos, formando colonias más pequeñas ubicadas por ejemplo en túneles de ventilación y cajas de persianas de los edificios. Esta capacidad de adaptación le ha permitido expandirse geográficamente a lo largo de América Latina (Favic y col., 1999).

La transmisión del virus rábico por murciélagos no hematófagos está generalmente restringida a los mismos, pues su contacto con otros mamíferos es ocasional (Riet-Correa, 2008). Esta situación varía cuando dichos murciélagos enferman de rabia, debido a que manifiestan comportamientos anormales previos a morir, como vuelo errático y deambular en horas diurnas, haciendo más probable el contacto con otras especies, cobrando así relevancia epidemiológica. La transmisión a humanos puede ocurrir mediante mordeduras accidentales durante una inadecuada manipulación de los mismos (Riet-Correa, 2008), tanto por desconocimiento como por negligencia. En el caso de los animales domésticos, perros y especialmente gatos, dicha transmisión ocurre por predación de murciélagos infectados (Delpietro et al., 2008).

En Estados Unidos 58% de los 36 casos de rabia humana diagnosticados entre los años 1980 y 2000, se asociaron con variantes de virus de murciélagos insectívoros (Messenger, Smith y Rupprecht, 2002). En tanto en América Latina entre los años 1996 y 2010 se registraron 240 casos de rabia humana transmitida por murciélagos, de los cuales el 6,7% se asociaron a murciélagos no hematófagos (Fernandes de Almeida, 2011). Los datos anteriormente mencionados reflejan la importancia de estas especies en la transmisión de la enfermedad al humano a pesar la baja probabilidad de contacto.

En Chile, Argentina, Brasil y Uruguay, *T. brasiliensis* es el principal responsable de mantener la circulación del virus rábico (variante viral AgV4) (Piñero y col., 2012). Puntualmente en nuestro país, se plantea que la identificación de diferentes linajes genéticos del virus rábico en especies de murciélagos insectívoros podría indicar la circulación endémica de virus entre colonias de murciélagos (Guarino y col., 2013).

Es por ello, que el estudio y mejor conocimiento de la circulación de las diferentes variedades de virus rábico, entre otras especies no hematófagas, resulta de importancia en la vigilancia epidemiológica de la enfermedad con la intención de entender mejor su ciclo aéreo.

1.3 Localización en Uruguay

En lo que respecta a la ubicación geográfica de ambas especies de quirópteros en nuestro país, un relevamiento realizado en el año 2004 arroja una distribución acotada a algunos departamentos (Figura 2), mientras que un trabajo del año 2010, las consideran presentes y coincidentes en todo el territorio (Figura 3).

En los departamentos de Rivera y Artigas, donde tuvieron lugar los brotes de rabia parásita, se mantiene la presencia tanto de *Tadarida* como de *Desmodus*. Estas áreas cobran relevancia epidemiológica no solo por la coincidencia geográfica de ambas especies sino también por su proximidad a colonias de murciélagos de ambas especies en el estado de Río Grande do Sul (Brasil).

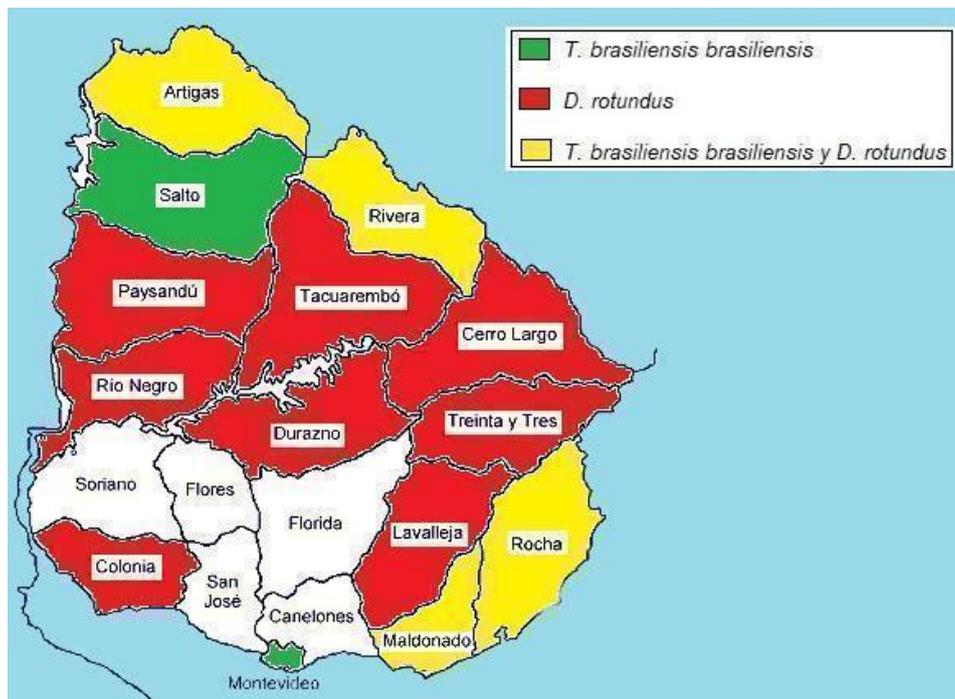


Figura 2. Distribución geográfica de *Desmodus rotundus* y *Tadarida brasiliensis brasiliensis* en Uruguay (elaborado a partir de datos de Achaval y col., 2004).



Figura 3. Distribución geográfica de *D. rotundus* y *T. brasiliensis brasiliensis* en Uruguay (elaborado a partir de datos de González y Martínez, 2010).

1.4 Antecedentes de estudios similares y objetivos de este trabajo

Desmodus rotundus ha sido objeto de numerosas investigaciones debido a sus excepcionales características biológicas, comportamentales y neuroanatómicas que lo destacan de entre casi 276 especies de murciélagos. Dentro de ellas, es el que posee mayor desarrollo neocortical. Además tiene capacidades olfativas excepcionales y un sistema olfatorio accesorio; motivos por los que es considerado uno de los quirópteros más evolucionados entre los estudiados hasta la fecha.

Existen publicaciones de neuroanatomía en quirópteros que centran su estudio en descripción de individuos de una misma especie (Baron, Stephan y Frahm, 1996; Henson, 1970; Humphrey 1936; Mann, 1963; Mc Daniel, 1976; Schneider, 1966; 1957), así como un atlas de la histología del sistema nervioso para *Desmodus* spp. (Bhatnagar, 2006), no existiendo trabajos previos que comparen paralelamente al *Desmodus* con otras especies de vampiros o murciélagos no hematófagos.

A su vez resulta interesante familiarizarse con el estudio de la histología normal de su sistema nervioso central (SNC), así como la búsqueda de lesiones, en aquellos casos de murciélagos con signos neurológicos y cambios comportamentales, que presentan positividad a anticuerpos contra el virus rábico. Para ello, existen referencias de las lesiones descritas para otras especies, las cuales en general no se condicen con la severidad de los síntomas observados (Summers et al., 1995).

Por lo mencionado hasta aquí, es que entendemos de gran importancia introducirnos en la anatomía, histología, así como intentar la caracterización inmunohistoquímica contra virus rábico en SNC en estos quirópteros.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Animales

2.1.1 *Tadarida brasiliensis*

En los meses de agosto y octubre de 2017 se recibieron en el Laboratorio del Área Patología de Facultad de Veterinaria (UdelaR), dos especímenes de *T. brasiliensis*, procedentes del barrio Pocitos (Montevideo, Uruguay). Estos ejemplares fueron manipulados por personal inmunizado previamente contra rabia, procediendo al registro fotográfico de los animales y su sacrificio humanitario por dislocación cervical. Se realizó el examen *post-mortem* de los cadáveres, posteriormente se fijaron muestras de tejidos en formol al 10%. El ejemplar clasificado como T.b 1 (*T. brasiliensis* 1) presentaba cambios comportamentales (vuelo diurno y dificultades para iniciar vuelo).



Figura 4. Fotografía de un ejemplar *Tadarida brasiliensis* vista dorsal. Bar= 5 cm. Recuadro. Detalle rostro.

2.1.2 *Desmodus rotundus*

Se trabajó con 14 ejemplares de *D. rotundus* fijados en formol al 10% donado por el Lic. Germán Botto (GBN 503 a GBN 516). Éstos fueron capturados en 2007, durante salidas de campo realizadas durante el brote de rabia parasiante en el departamento de Rivera, en cuevas cercanas a donde se produjeron los focos en rumiantes. La colecta estuvo a cargo de miembros del equipo del Museo Nacional

de Historia Natural del Ministerio de Educación y Cultura. No se tiene registro sobre ningún cambio de comportamiento previo al sacrificio.



Figura 5. Fotografía de un ejemplar de *Desmodus rotundus*, vista ventral. Bar= 5 cm.

2.2 SNC de los quirópteros

A partir de los individuos de ambas especies fijados en formol al 10%, se procedió a la disección, observación macroscópica y registro fotográfico del encéfalo y a la toma de muestras para su inclusión en parafina y posterior procesamiento.

2.3 Histopatología

Tanto las muestras de *T. brasiliensis*, como las de *D. rotundus* fueron incluidas en parafina, preparándose posteriormente láminas histológicas mediante cortes a 5 μ m con micrótopo (Leitz, modelo 1512, Alemania).

Luego se seleccionaron láminas para su tinción con Hematoxilina Eosina (HE), habiéndose preparado previamente láminas teñidas con Azul de Toluidina (AT) de las muestras de *D. rotundus* capturados en 2007.

Para la identificación de regiones del SNC de *D. rotundus* y *T. brasiliensis* se utilizaron como referencia los trabajos de los autores Bhatnagar (2008) y Humphrey (1936), respectivamente.

La observación y categorización de láminas histológicas de ambas especies se realizó siguiendo el criterio descripto en la Cuadro I.

Cuadro I. Criterio de categorización de calidad de preparados histológicos.

Categoría	Características
-	No se reconocen estructuras ni regiones Defectos de técnica significativos No apto para registro fotográfico
+	Se reconocen algunas estructuras o regiones Defectos de técnica menores No apto para registro fotográfico
++	Se reconocen fácilmente estructuras y regiones Defectos de técnica poco significativos Apto para registro fotográfico
+++	Se reconocen fácilmente estructuras y regiones Defectos de técnica poco significativos o ausentes, y/o aislados Apto para registro fotográfico

Se realizó posteriormente un registro fotográfico, así como ilustraciones representando las secciones principales. Todas las ilustraciones fueron realizadas por la tesista F. Larrosa.

2.4 Inmunohistoquímica (IHQ)

Para la puesta a punto de la técnica de IHQ se preparó controles positivos y negativos contra antígeno de virus rábico. Los controles positivos fueron muestras donadas por el Prof. Fabiano Sant'Ana del Laboratorio de Patología Veterinaria de la Facultad de Veterinaria de la Universidade de Brasília (UBr), Brasília DF, Brasil, provenientes de 4 casos de bovinos diagnosticados por inmunofluorescencia directa (IFD) e histopatología (HE) en el Laboratorio de Patología Veterinaria de la Universidade Federal de Goiás, Campus de Jataí, Brasil, y confirmados por IHQ contra antígeno de virus rábico en el Laboratorio del Área Patología de la Facultad de Veterinaria de la UdelaR (Verdes et al., 2016).

Los controles negativos fueron muestras de sistema nervioso central de bovinos sin antecedentes nerviosos, muertos por otras causas y que fueron negativos a la prueba de IFD.

Para el desarrollo de la técnica contra ribonucleoproteína de virus rábico se siguió el protocolo descrito en Verdes et al. (2016), usando un anticuerpo primario de cabra (IgG) conjugado a isotiocianato de fluoresceína (originalmente desarrollado y utilizado para IFD, Chemicon/Millipore, Temecula, CA, EE.UU.), a una dilución de 1:1000 (por detalles ver Verdes et al., 2016).

3. Resultados

3.1 Registro fotográfico macroscópico de los Encéfalos de ambas especies.

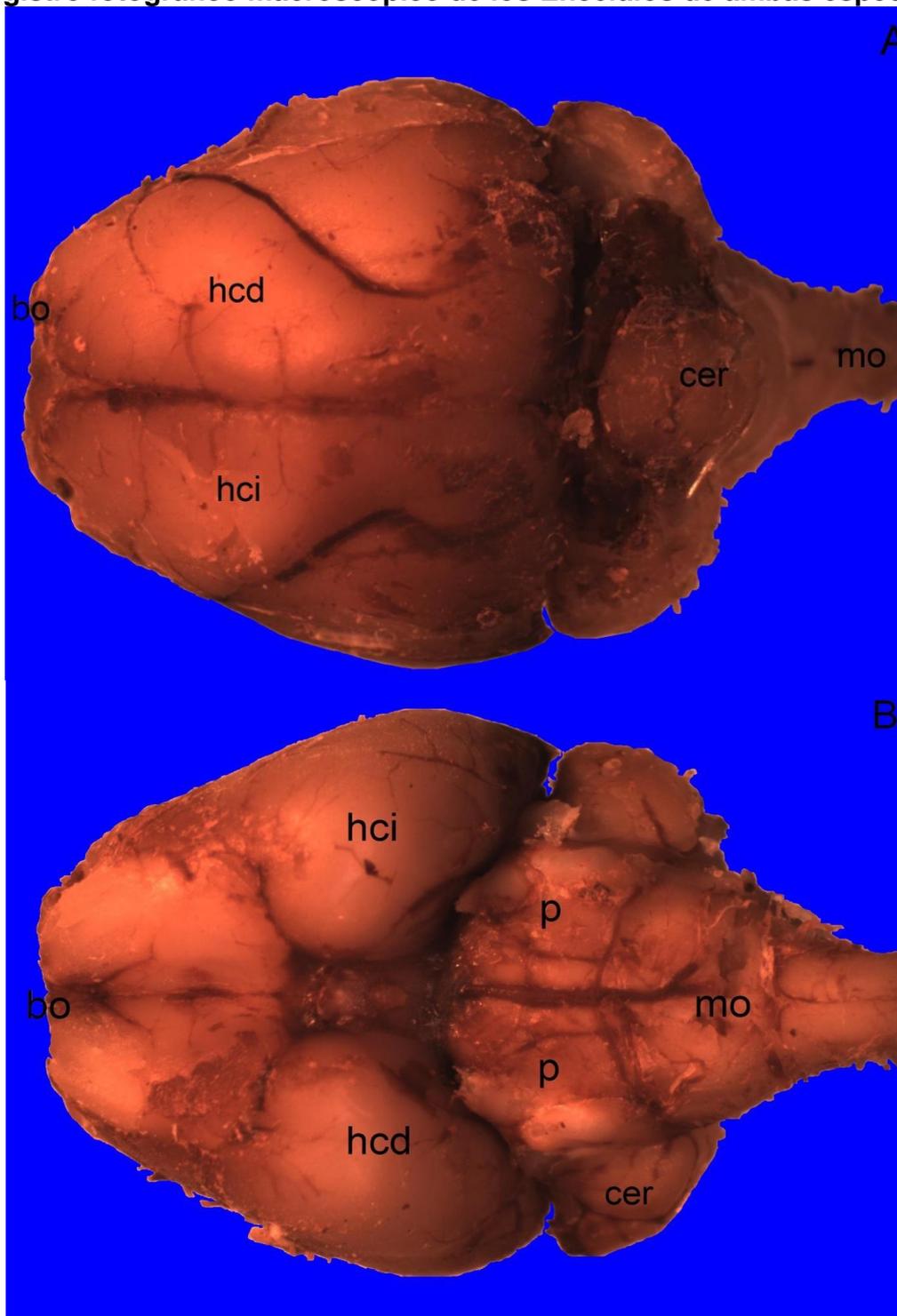


Figura 6. Encéfalo de *Desmodus rotundus*, vista macroscópica. A: vista dorsal, B: vista ventral, bo: bulbo olfatorio, hcd: hemisferio cerebral derecho, hci: hemisferio cerebral izquierdo, cer: cerebelo, mo: médula oblonga, p: puente.

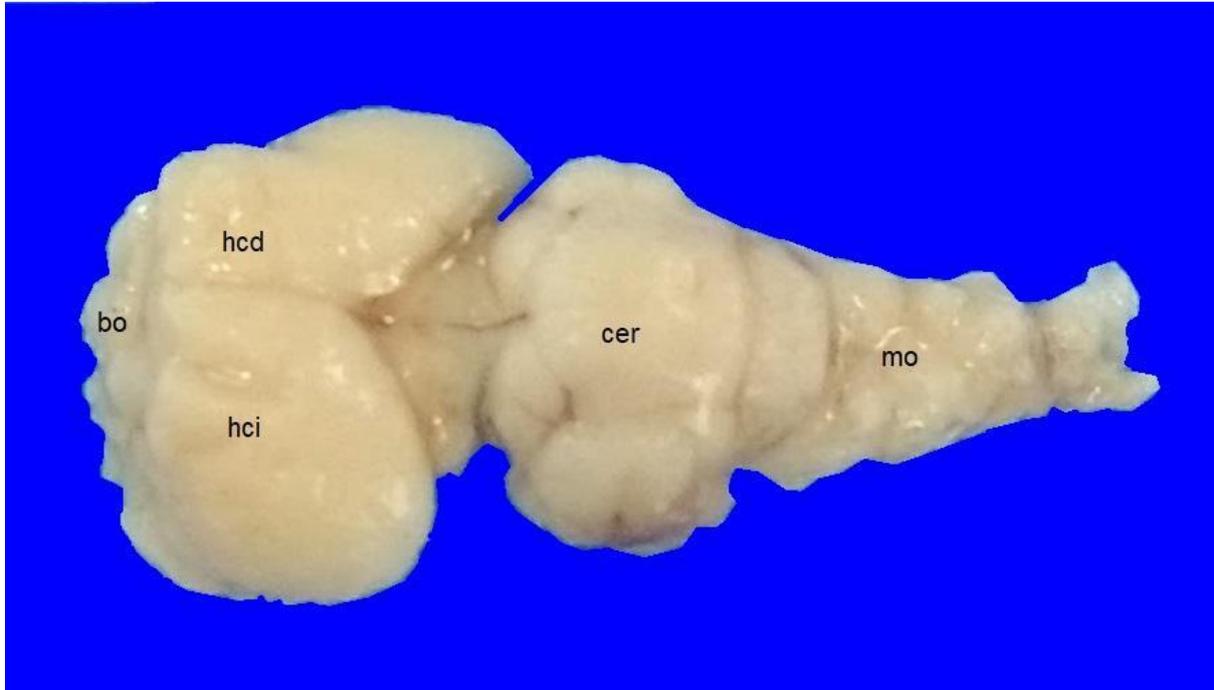


Figura 7. Encéfalo de *Tadarida brasiliensis*, vista macroscópico dorsal. bo: bulbo olfatorio, hcd: hemisferio cerebral derecho, hci: hemisferio cerebral izquierdo, cer: cerebelo, mo: médula oblonga.

3.2 Categorización de preparados histológicos

Cuadro II. Categorización de preparados histológicos para los ejemplares de *Desmodus rotundus*.

Lámina	<i>D. rotundus 1</i>		<i>D. rotundus 2</i>	
	AT	HE	AT	HE
1	+	-	+	-
2	-	-	++	+
3	++	+++	+	++
4	+	+	+	+++
5	+	+	+	+
6	++	++	++	+
7	+	+++	+++	+
8	-	-	++	++

AT = Tinción Azul de Toluidina
HE = Tinción Hematoxilina Eosina
-, +, ++, +++ = ver Cuadro I

Cuadro III. Categorización de preparados histológicos para los ejemplares de *Tadarida brasiliensis*.

Lámina	<i>T. brasiliensis 1</i>	<i>T. brasiliensis 2</i>
	HE	HE
100 a	+	+++
100 b	+	+++
100 c	NA	+++
101	++	+++
102	+	+++
103	+	+++
104	+	+++
105	+	+++
106	++	+++
107	+++	+++
108	+	++
109	++	+++
110	+++	++
111	++	++
112	+	++
201	+++	+++
202	+	+++
203	+	++
204	+	+++
205	++	+++
206	+	+++
207	++	+++
208	+	+++
209	+	+++
210	+	+++
211	+	+++
212	+	+++
213	NA	+++
214	NA	+++
301	++	-
302	+	+
303	++	+
304	+++	+
305	++	++
306	++	+
307	+++	+
308	-	-
309	+++	++
310	+++	+++
311	++	++
312	+++	++

HE = Tinción Hematoxilina Eosina

NA= no aplica

-, +, ++, +++ = ver Cuadro I

3.3 Identificación de regiones específicas del SNC de *Desmodus rotundus*.

3.3.1 Sección Fronto-parietal

La sección fronto-parietal corresponde a los sectores más frontales del Encéfalo abarcando Telencéfalo y Diencefalo (Figura 8 y Figura 9).

Pudimos observar y describir las siguientes estructuras:

- Ambos hemisferios cerebrales, simétricos (Figura 8).
- Meninges recubriendo ambos hemisferios cerebrales en la totalidad de su superficie (Figura 9).
- Corteza cerebral frontal y parietal compuesta por una capa celular molecular y otra granulosa (Figura 10).
- Transición entre la corteza fronto-parietal y la sustancia blanca donde se observan oligodendrocitos y fibras neuronales (Figura 12).
- Cuerpo calloso, cingulum del cuerpo calloso y fornix del cuerpo calloso (Figura 9 y 11).
- Células ependimales que forman el epitelio de revestimiento de los ventrículos laterales, en esta sección solamente se logra apreciar el comienzo de los mismos (Figura 13).
- Cápsula interna (Figura 14).
- Fimbria del hipocampo, cuyo recorrido es paralelo al comienzo de cada ventrículo lateral (Figura 11 y Figura 13).

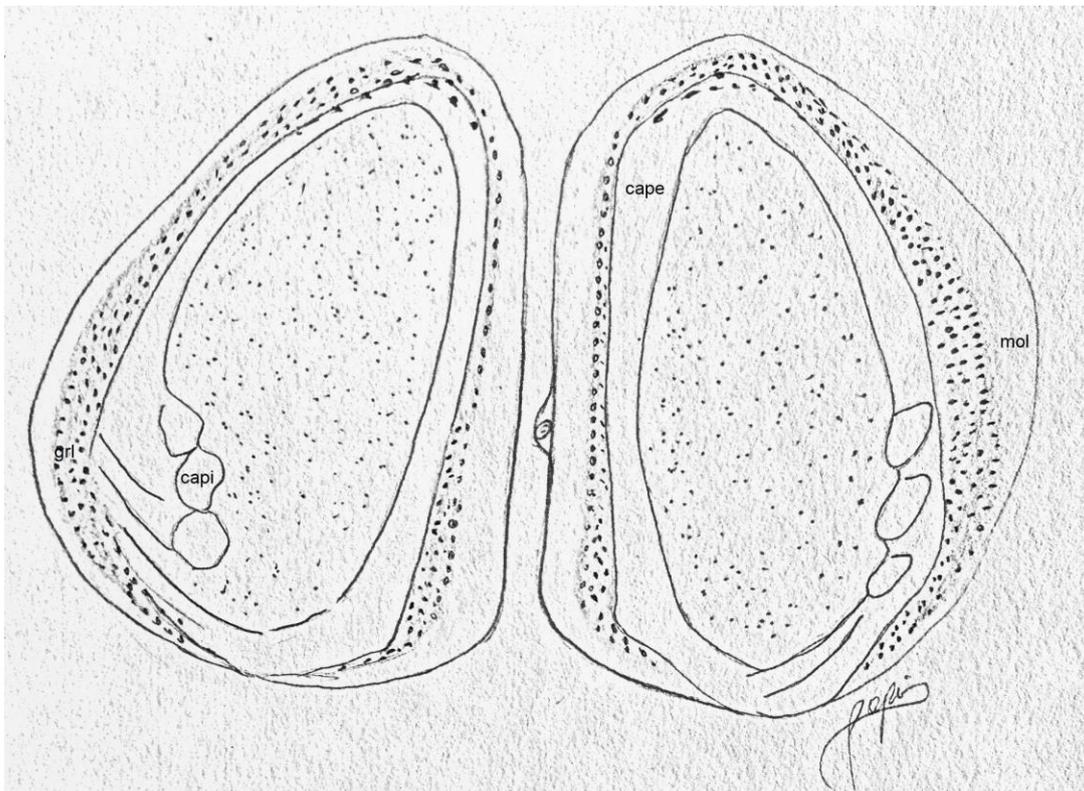


Figura 8. Ilustración de corte histológico de la sección frontal del Encéfalo de *Desmodus rotundus*; capi: cápsula interna, cape: cápsula externa, mol: capa molecular de la corteza frontal, gri: capa granulosa de la corteza frontal.

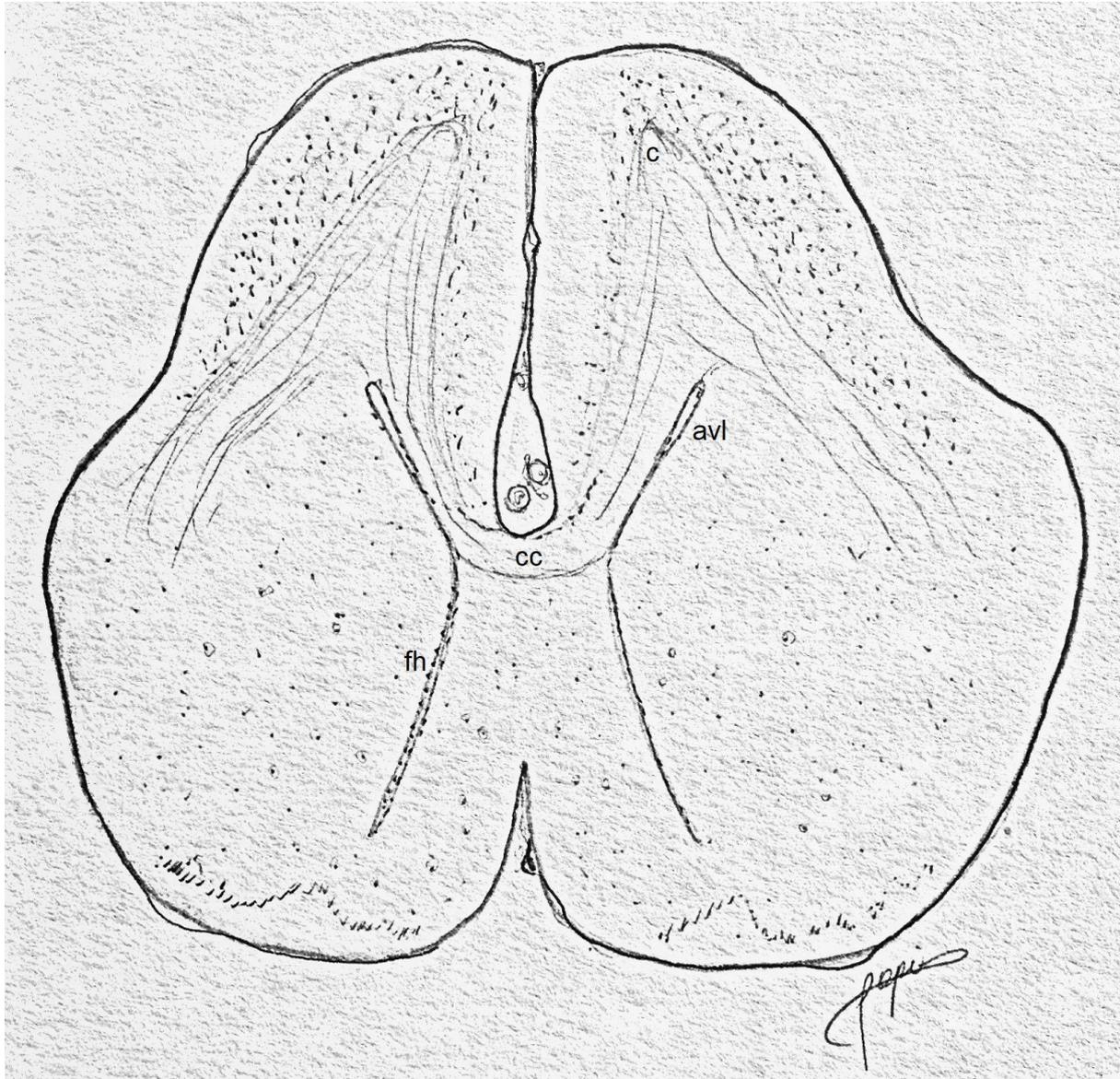


Figura 9. Ilustración de corte histológico de la sección fronto-parietal de *Desmodus rotundus*; cc: cuerpo calloso, c: cingulum del cuerpo calloso, fh: fimbria del hipocampo, avl: apertura del ventrículo lateral.

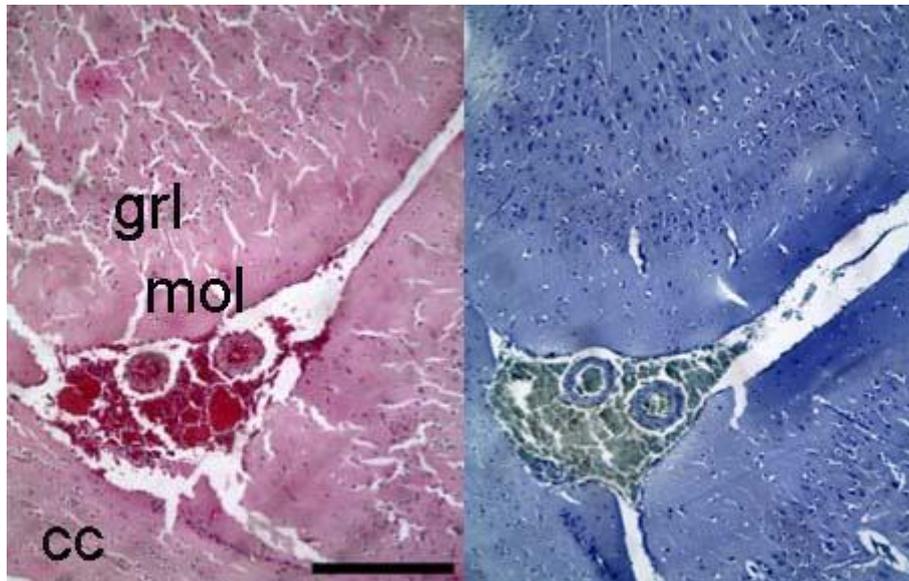


Figura 10. Sección fronto-parietal de encéfalo de *Desmodus rotundus*, con técnicas de HE (izquierda) y AT (derecha); grl: capa granulosa, mol: capa molecular, cc: cuerpo caloso, capa molecular recubierta por las meninges. Nótese entre los hemisferios la presencia de hemorragia y grandes arterias. Bar= 300 μ m.

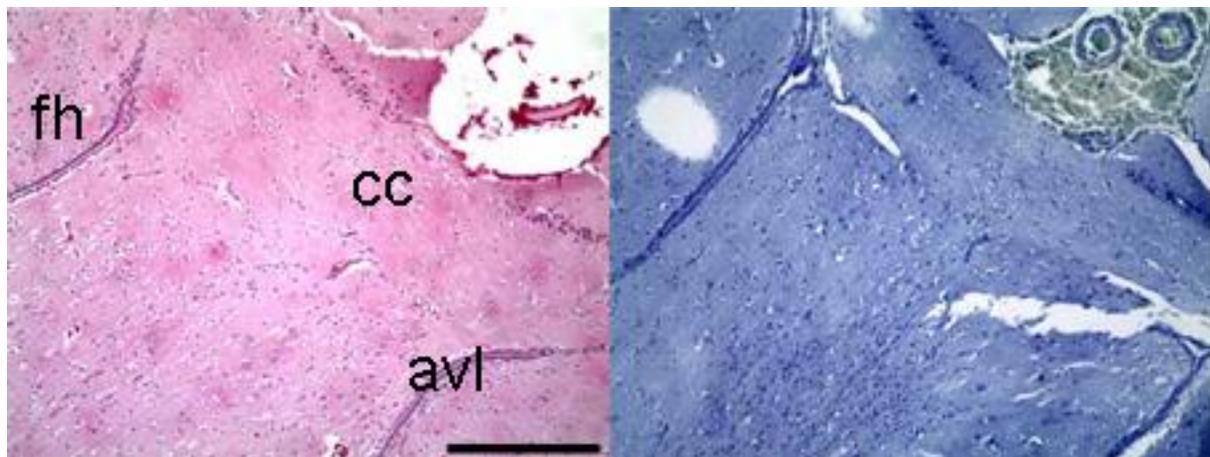


Figura 11. Sección fronto-parietal de encéfalo de *Desmodus rotundus*, con técnicas de HE (izquierda) y AT (derecha); cc: cuerpo caloso, fh: fimbria hipocampo, avl: abertura ventrículo lateral, glia. Bar= 300 μ m.

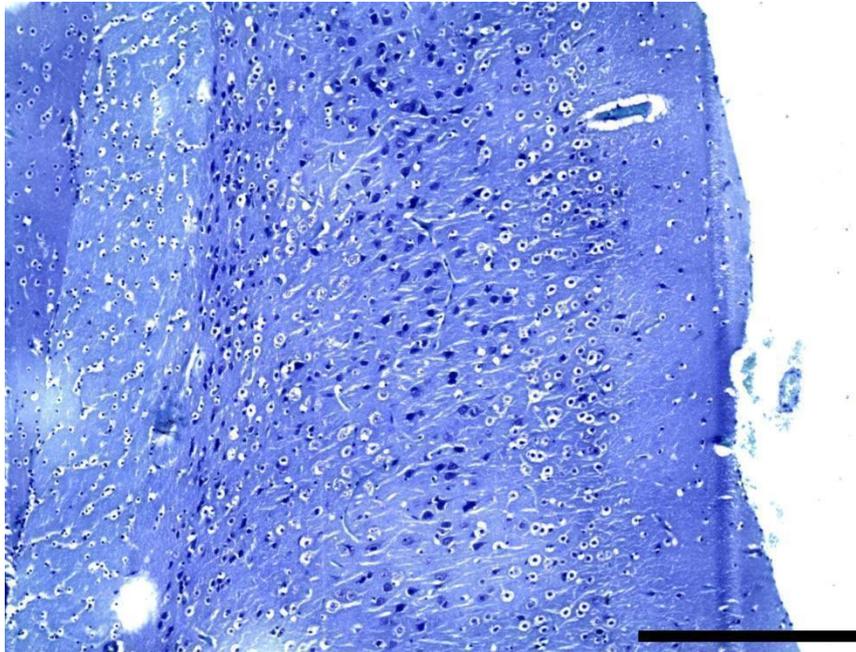


Figura 12. Corteza frontal del encéfalo de *Desmodus rotundus*, con técnica de AT. Nótese de izquierda a derecha: sustancia blanca, cápsula externa, granulosa, molecular. Bar= 300 μ m.

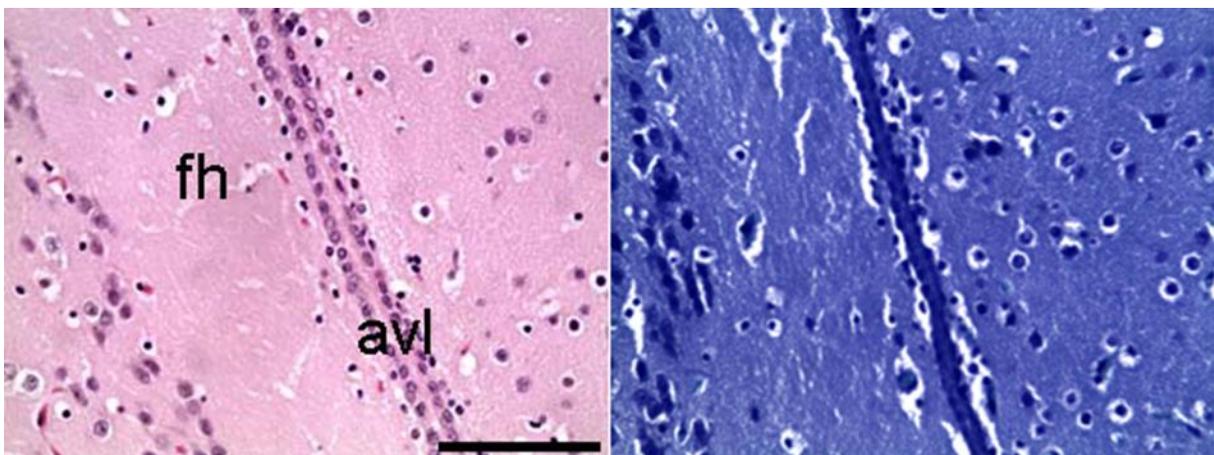


Figura 13. Sección fronto-parietal de encéfalo de *Desmodus rotundus*, con técnicas de HE (izquierda) y AT (derecha); fh: fimbria del hipocampo, avl: abertura ventrículo lateral izquierdo. Bar= 75 μ m.

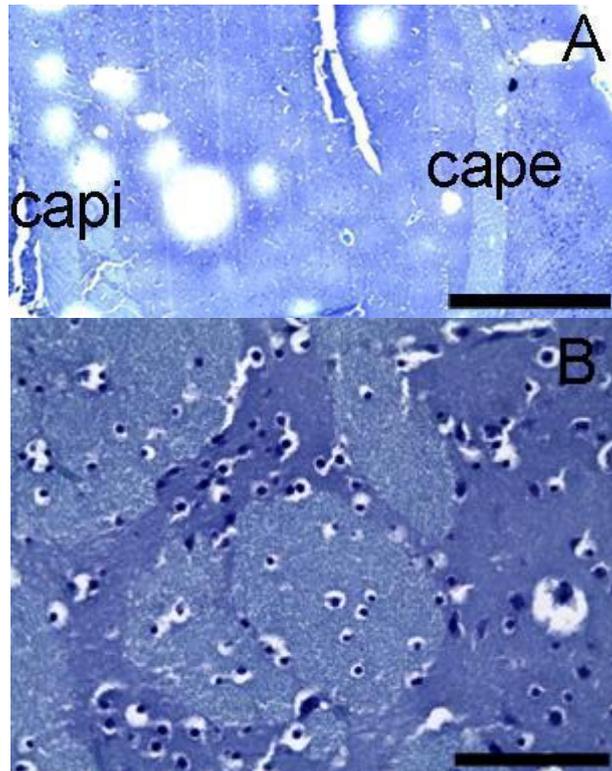


Figura 14. Sección fronto-parietal de encéfalo de *Desmodus rotundus*, con técnica de AT. A: capi: cápsula interna, cape: cápsula externa. Bar= 750 µm.
B: detalle de cápsula interna y glía. Bar= 75 µm.

3.3.2 Sección Parietal Media y Sección Cerebro medio:

La sección Medio Parietal y Cerebro medio corresponden a los sectores medios del Encéfalo, abarcando Diencéfalo y Mesencéfalo (Figura 15).

Pudimos observar y describir las siguientes estructuras:

- En la región del Hipocampo (Figura 15) identificamos el Núcleo del hipocampo y el giro dentado (Figura 16).
- Ventriculos laterales (Figura 15 y Figura 16), comienzo del Tercer Ventriculo y plexo coroideo (Figura 17), Acueducto de Silvio (Figura 18) y epitelio ependimal (Figura 19). Estructuras en las cuales se forma y circula el líquido cefalorraquídeo.
- Meninges (Figura 18).
- En el área Hipotalámica observamos el Núcleo arcuatus como un grupo de neuronas de gran tamaño simétrico a ambos lados del Acueducto de Silvio (Figura 19).

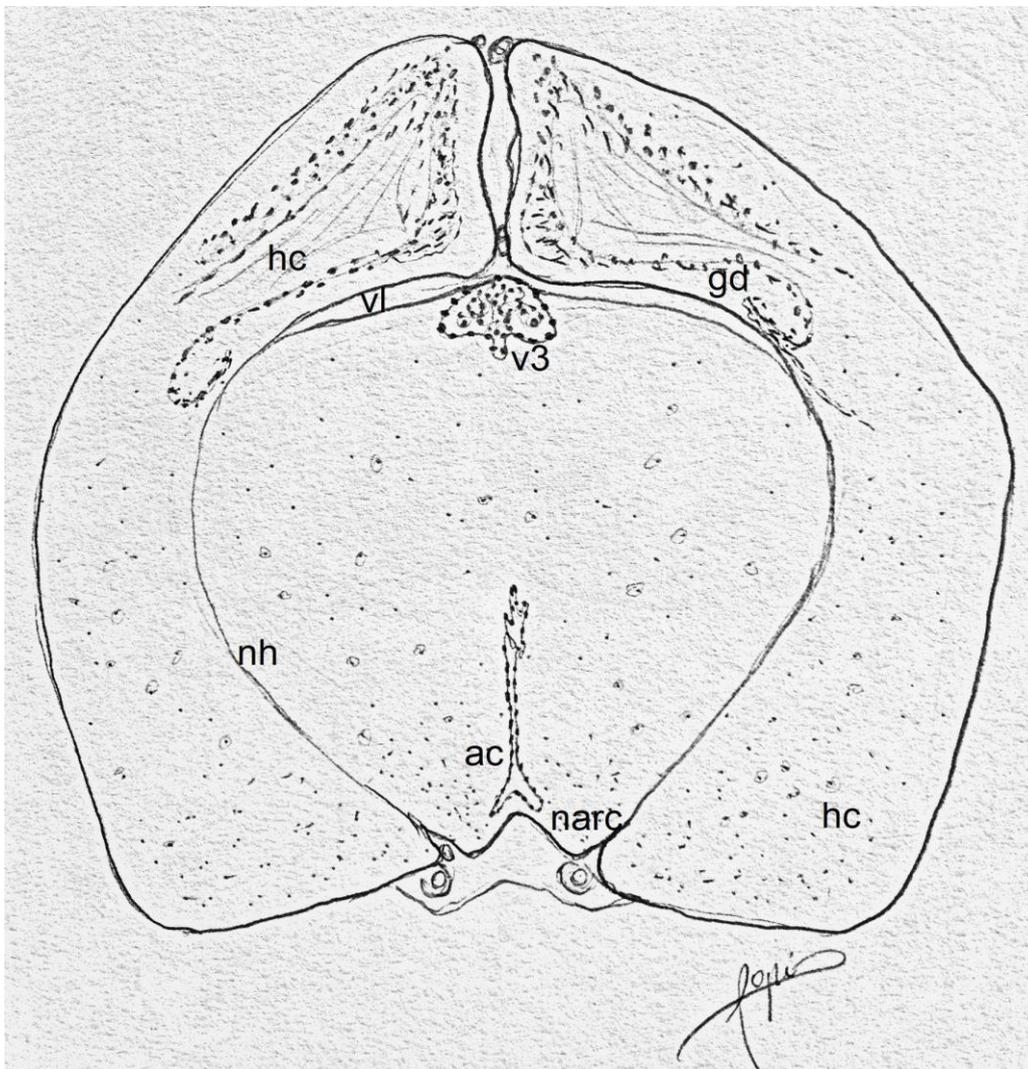


Figura 15. Ilustración de corte histológico de la sección Media Parietal y Cerebro Medio de *Desmodus rotundus*, hc: Hipocampo, vl: ventrículo lateral, gd: Giro Dentado, v3: Tercer Ventriculo, nh: núcleo del hipocampo, ac: acueducto de Silvio, narc: núcleo arcuatus.

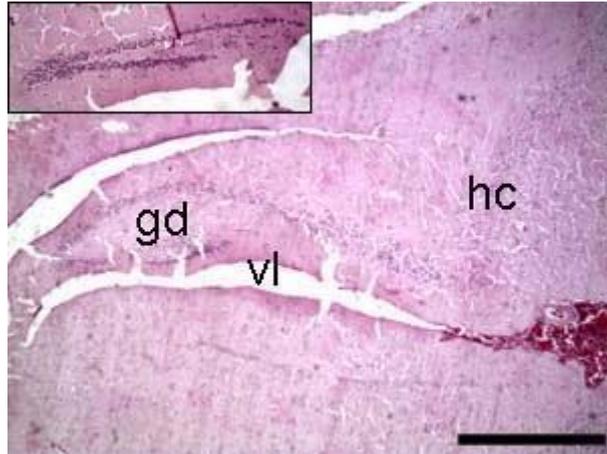


Figura 16. Sección Media Parietal y Cerebro Medio de encéfalo de *Desmodus rotundus*, con técnica HE, hc: hipocampo, gd: giro dentado, vl: ventrículo lateral. Bar= 750 μ m. Recuadro. Giro dentado

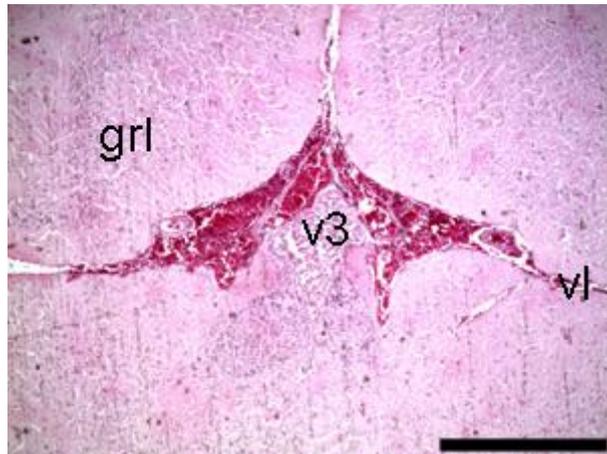


Figura 17. Sección Media Parietal y Cerebro Medio de encéfalo de *Desmodus rotundus*, con técnica HE, v3: Tercer ventrículo y plexo coroideo, grl: capa granulosa de la corteza parietal, vl: ventrículo lateral. Bar= 750 μ m.

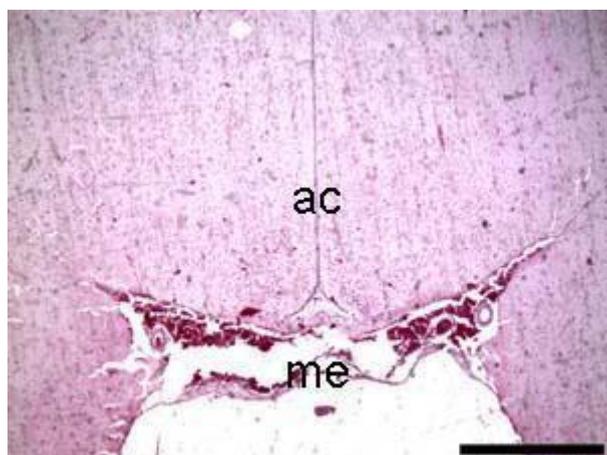


Figura 18. Sección Media Parietal y Cerebro Medio de encéfalo de *Desmodus rotundus*, con técnica HE, ac: acueducto de Silvio, me: meninges. Bar= 750 μ m.

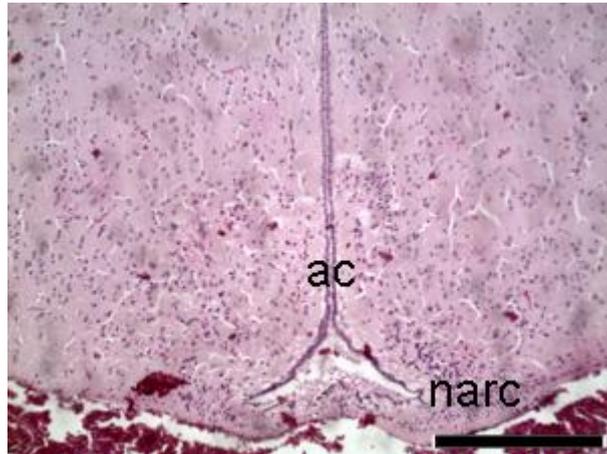


Figura 19. Sección Media Parietal y Cerebro Medio de encéfalo de *Desmodus rotundus*, con técnica HE, narc: núcleo arcuatus, ac: acueducto de Silvio y epitelio ependimal. Bar= 300 μ m.

3.3.3 Sección Colículo Posterior:

La sección de Colículo Posterior corresponde a la región del Mesencéfalo. En la misma pudimos observar y describir las siguientes estructuras:

- Hipocampo
- Amígdala Cerebral compuesto por un conjunto de núcleos de neuronas.
- Acueducto de Silvio y epitelio ependimal.

3.3.4 Sección Cerebelo:

La sección de Cerebelo pertenece a la región de Rombencéfalo, aquí pudimos observar y describir las siguientes estructuras (Figura 20):

- Se pueden identificar el Cerebelo y el Puente separados por el cuarto ventrículo el cual posee el plexo coroideo (Figura 20).
- Dentro del Cerebelo identificamos la Corteza cerebelar con sus respectivas capas celulares: molecular, granulosa, capa de células de Purkinje y sustancia blanca (Figura 24).
- Cuarto Ventrículo, plexo coroideo y epitelio ependimal (Figura 20).
- Dentro del Puente describimos al Nervio Trigémico (par craneal V) como un conjunto de fibras nerviosas simétrico y bien delimitado. Justo por debajo el Núcleo de dicho nervio se reconoce como un grupo de cuerpos neuronales de gran tamaño (Figura 21).
- También dentro del Puente identificamos Núcleos formados por neuronas que componen el Sistema Olivar Superior. Se observa el comienzo de la formación de la zona reticulada (Figura 20).

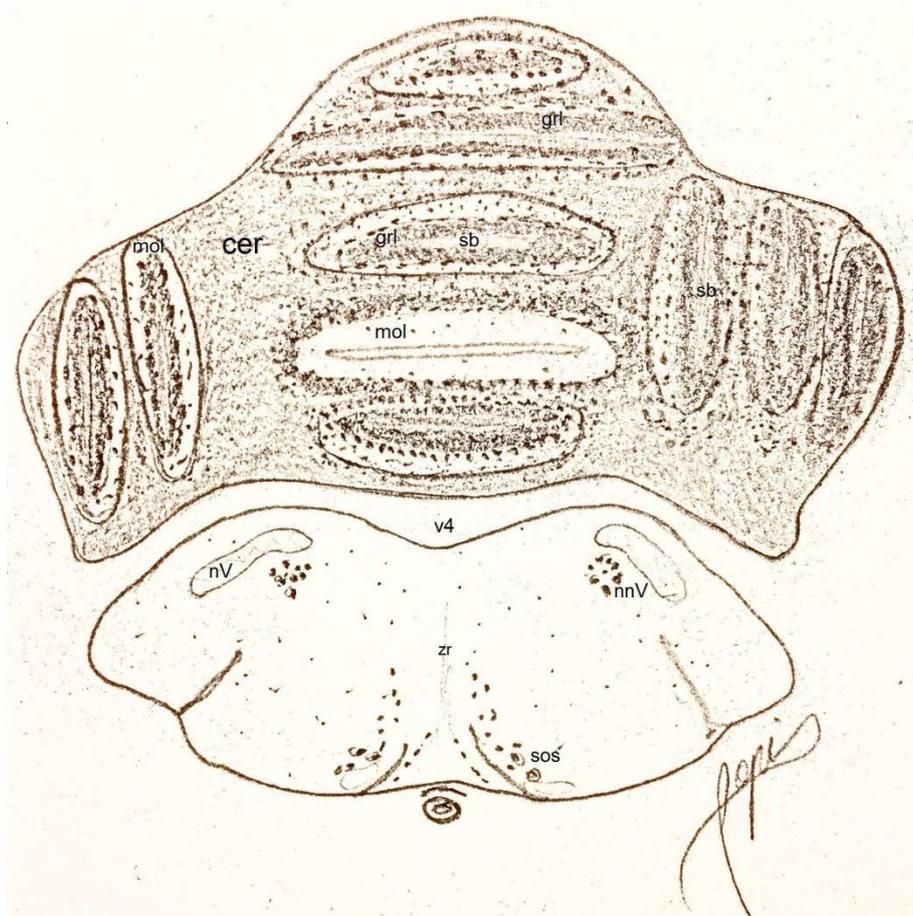


Figura 20. Ilustración de corte histológico de la sección Cerebelo de *Desmodus rotundus*, cer: cerebelo, grl: capa granulosa del cerebelo, mol: capa molecular del cerebelo, sb: sustancia blanca del cerebelo, v4: cuarto ventrículo, zr: zona reticulada, sos: sistema olivar superior, nV: nervio Trigémico, nnV: núcleo del Nervio Trigémico.

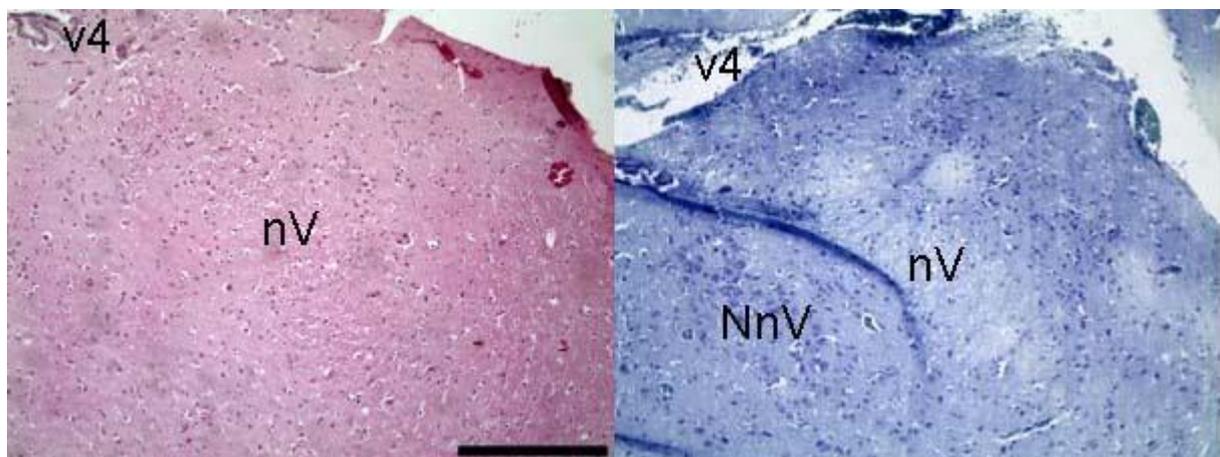


Figura 21. Sección Cerebelo de *Desmodus rotundus*, con las técnicas de HE (izquierda) y AT (derecha), v4: cuarto ventrículo, nV: nervio V, NnV: núcleo del Nervio V. Bar= 300 μ m.

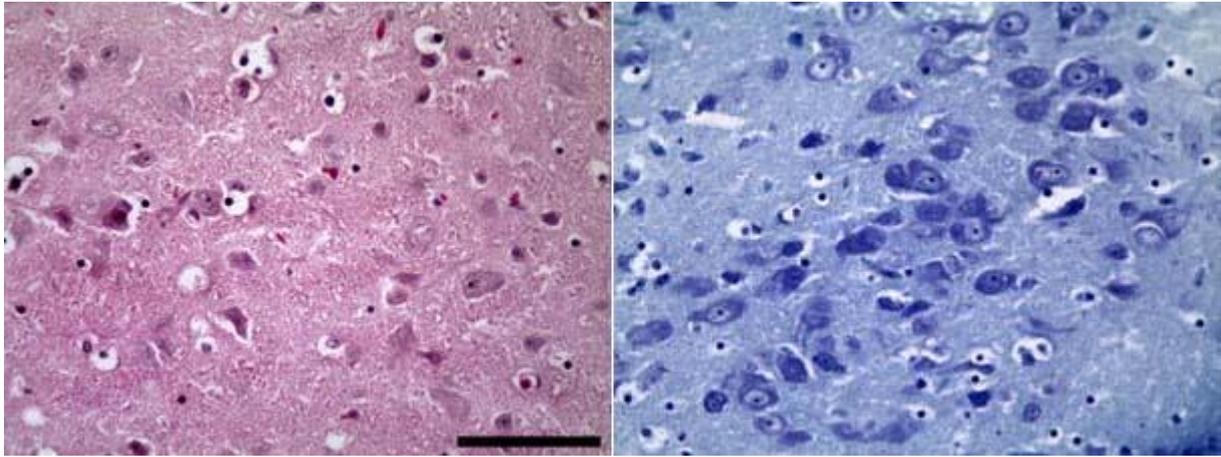


Figura 22. Sección Cerebelo de *Desmodus rotundus*, con las técnicas de HE (izquierda) y AT (derecha), núcleo del Nervio V. Bar= 75 μ m.

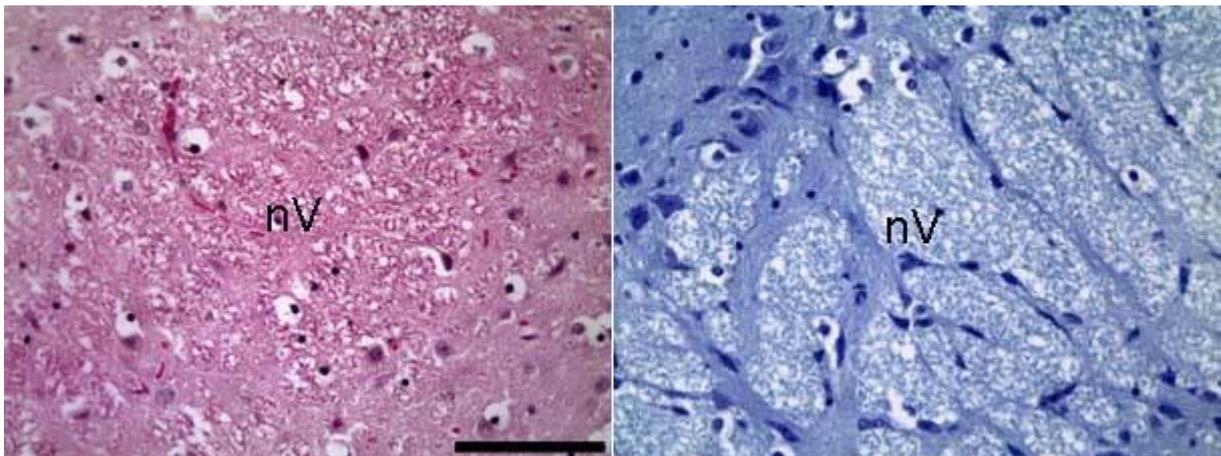


Figura 23. Sección Cerebelo de *Desmodus rotundus*, con las técnicas de HE (izquierda) y AT (derecha), nV:nervio V. Bar= 75 μ m.

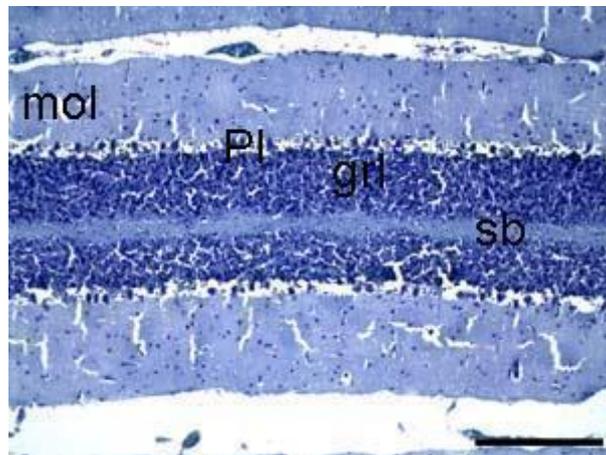


Figura 24. Cerebelo de *Desmodus rotundus*, tinción AT. Folia cerebelar; mol: capa molecular, pl: capa de células de Purkinje, grl: capa granulosa, sb: sustancia blanca. Bar= 300 μ m.

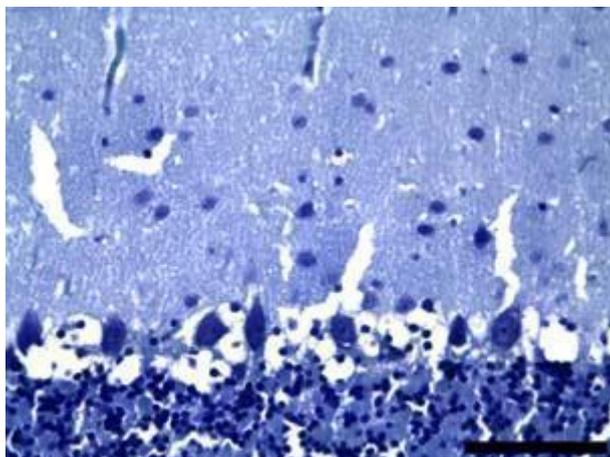


Figura 25. Capas del Cerebelo de *Desmodus rotundus*, nótese la capa de células de Purkinje entre las capas molecular (arriba) y granulosa (abajo). Bar= 75 μ m.

3.3.5 Sección Médula Posterior:

Esta sección pertenece junto con la anterior, al Rombencéfalo. Aquí encontramos las estructuras que componen el tallo del encéfalo (Figura 26).

Se describen:

- Cerebelo en su parte más caudal, conteniendo menos folias, donde se observan las mismas capas celulares anteriormente descritas (molecular, de Purkinje, granulosa y sustancia blanca). (Figura 27).
- Cuarto Ventrículo revestido por el epitelio endotelial, conteniendo el plexo coroideo (Figura 27).
- Foramen de Luschka ubicado en el ángulo lateral del Cuarto ventrículo formando las aperturas laterales del mismo (Figura 26).
- Médula oblonga donde se destaca la zona reticular como un conjunto de haces axonales en forma de cruz, rodeada por grandes neuronas, las cuales componen los diversos núcleos que forman esta estructura. La misma se encuentra a lo largo de todo el tallo encefálico (Figura 28 y Figura 29).
- Médula Oblonga caudal donde la zona reticulada se ensancha (Figura 30 y Figura 31).
- Sistema Olivario Inferior, el cual se identifica en la zona ventral de la médula oblonga. Aquí también describimos el tracto piramidal (Figura 26).

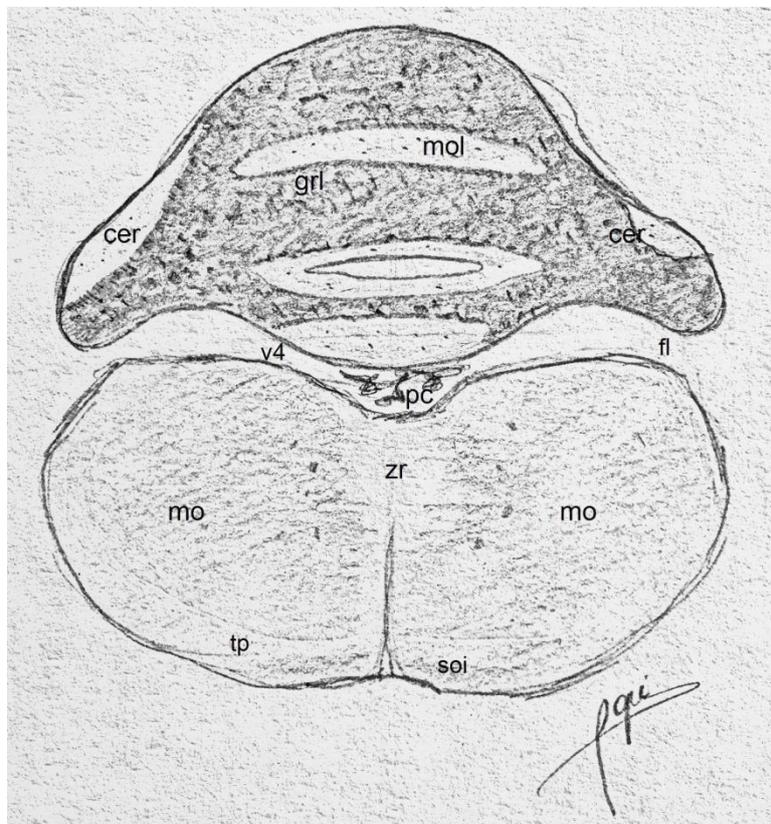


Figura 26. Ilustración de corte histológico de la sección Médula Posterior de *Desmodus rotundus*, cer: cerebelo, mol: capa molecular del cerebelo, grl: capa granulosa del cerebelo, v4: cuarto ventrículo, pc: plexo coroideo, fl: foramen de Luschka, mo: médula oblonga, zr: zona reticulada, tp: tracto piramidal, soi: sistema olivar inferior.

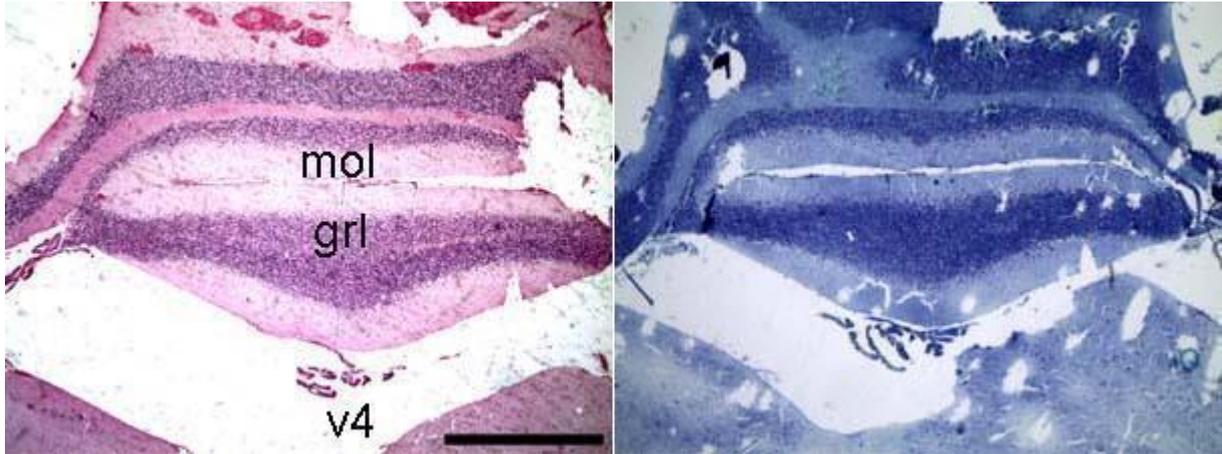


Figura 27. Sección Médula Oblonga de *Desmodus rotundus*, tinción HE (izquierda) y AT (derecha), mol:molecular del cerebelo, grl:granulosa del cerebelo, v4: cuarto ventrículo con plexo coroideo en su interior. Bar= 750 μ m.

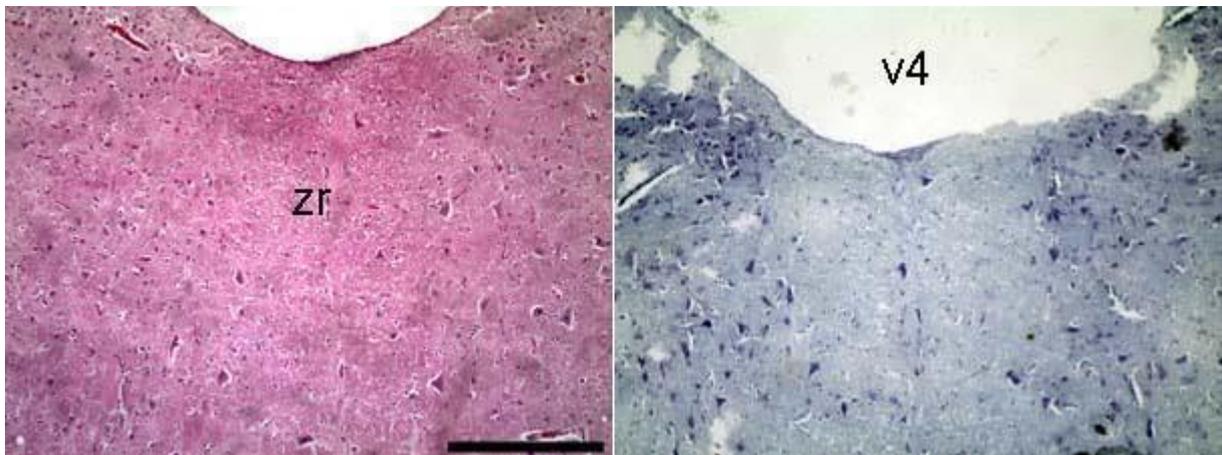


Figura 28. Sección de Médula Oblonga de *Desmodus rotundus*, tinción HE (izquierda) y AT (derecha), zr: zona reticulada, v4: cuarto ventrículo. Bar= 300 μ m.

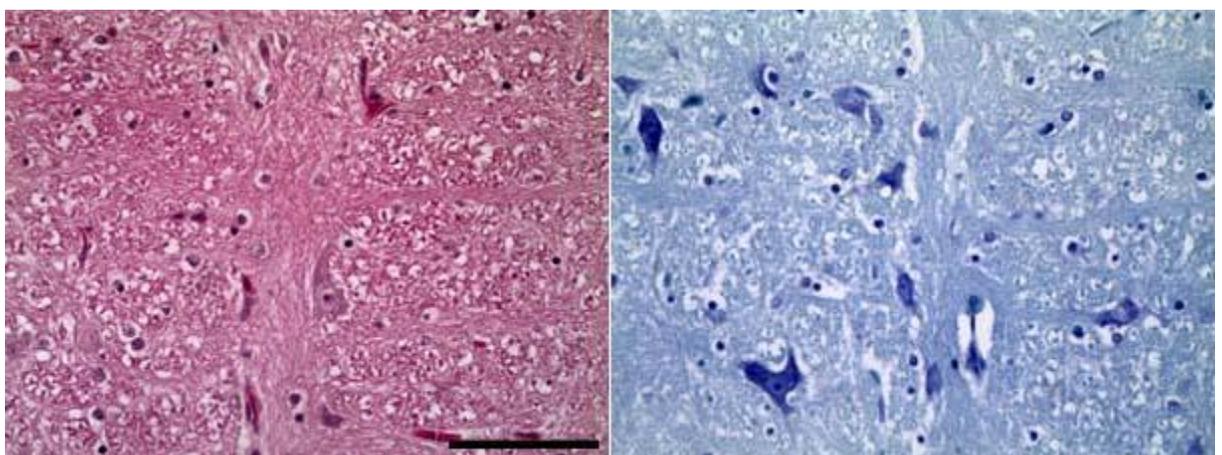


Figura 29. Zona reticulada en Médula Oblonga de *Desmodus rotundus*, tinción HE (izquierda) y AT (derecha). Bar= 75 μ m.

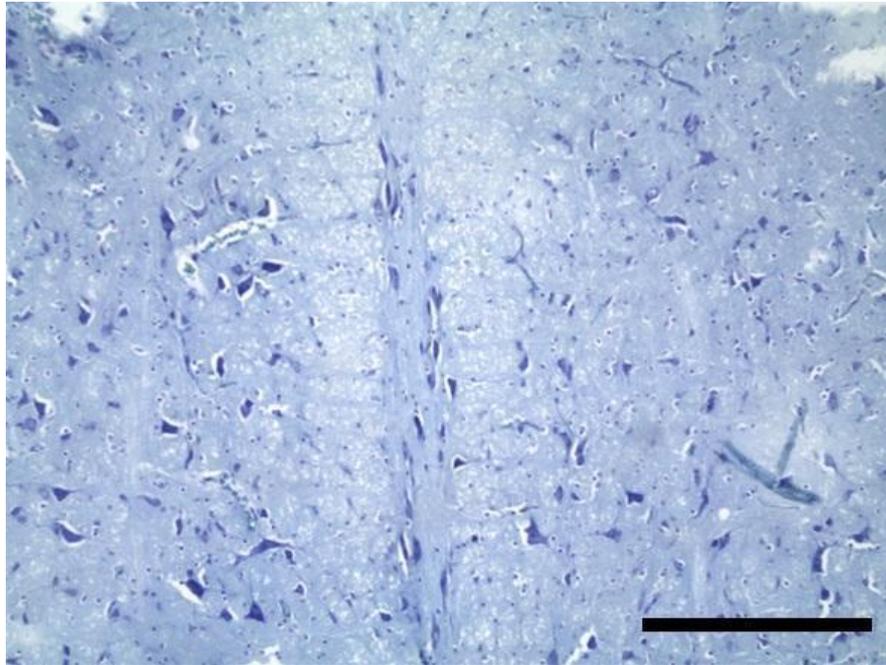


Figura 30. Zona reticulada en Médula Oblonga caudal de *Desmodus rotundus*, tinción AT. Bar= 300 μ m.

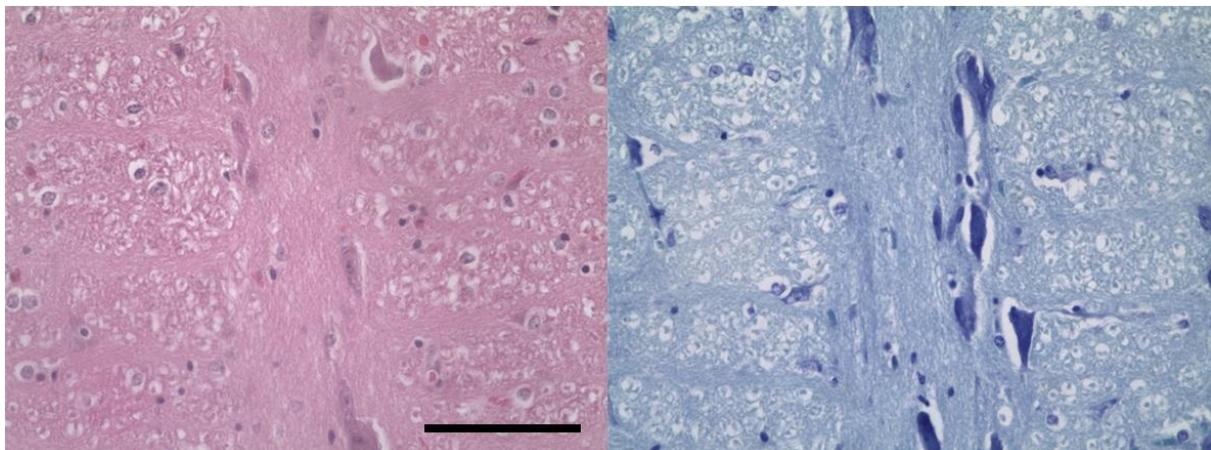


Figura 31. Zona reticulada en Médula Oblonga caudal de *Desmodus rotundus* tinción HE (izquierda) y AT (derecha). Bar= 75 μ m

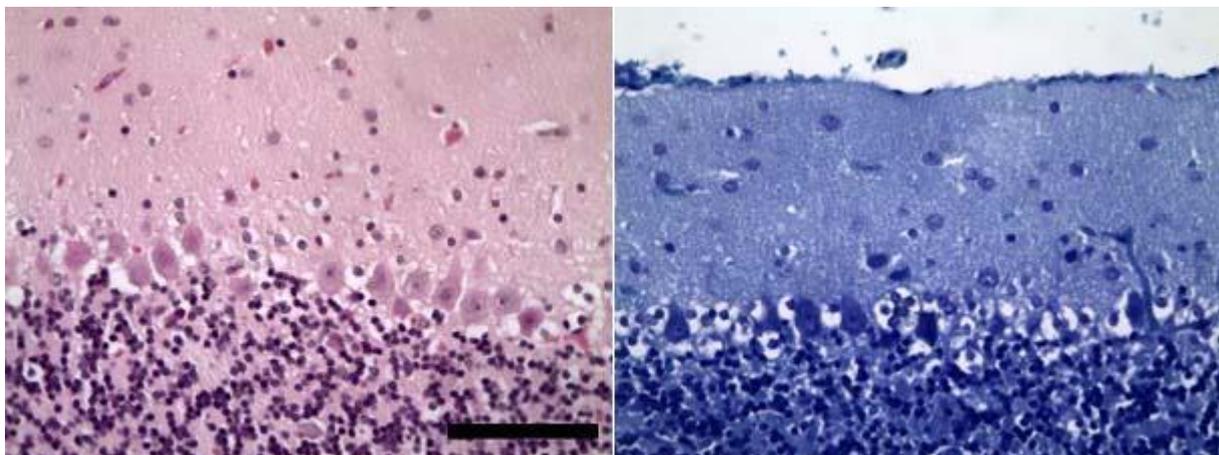


Figura 32. Capas del Cerebelo de *Desmodus rotundus*, con las técnicas de HE (izquierda) y AT (derecha). Nótese la capa de célula de Purkinje entre las capas molecular (arriba) y granulosa (abajo). Bar=75 μ m.

3.4 Identificación de regiones específicas del SNC de *Tadarida brasiliensis*

3.4.1 Sección Fronto-Parietal y Parietal media:

La sección fronto-parietal corresponde a los sectores más frontales del Encéfalo abarcando Telencéfalo y Diencéfalo (Figura 33).

Pudimos observar y describir las siguientes estructuras:

- Ambos hemisferios recubiertos por las meninges (Figura 34).
- Corteza frontal y corteza parietal compuestas por las capas celulares molecular y granulosa (Figura 35).
- Ventrículos laterales en su apertura más rostral (Figura 34).
- Plexo coroideo del ventrículo lateral (Figura 36).
- Cuerpo caloso y Cingulum (Figura 33 y Figura 34).
- Por debajo del Cuerpo caloso ubicamos el Septo.
- Hacia ventral identificamos como estructura diferenciada la Corteza piriforme la cual forma el córtex olfatorio (Figura 37).
- Cápsula externa e interna (Figura 38).
- Los Núcleos de la base (Accumbens, Putamen y Caudado) se ubican en relación con la cápsula interna (Figura 37 y Figura 39).

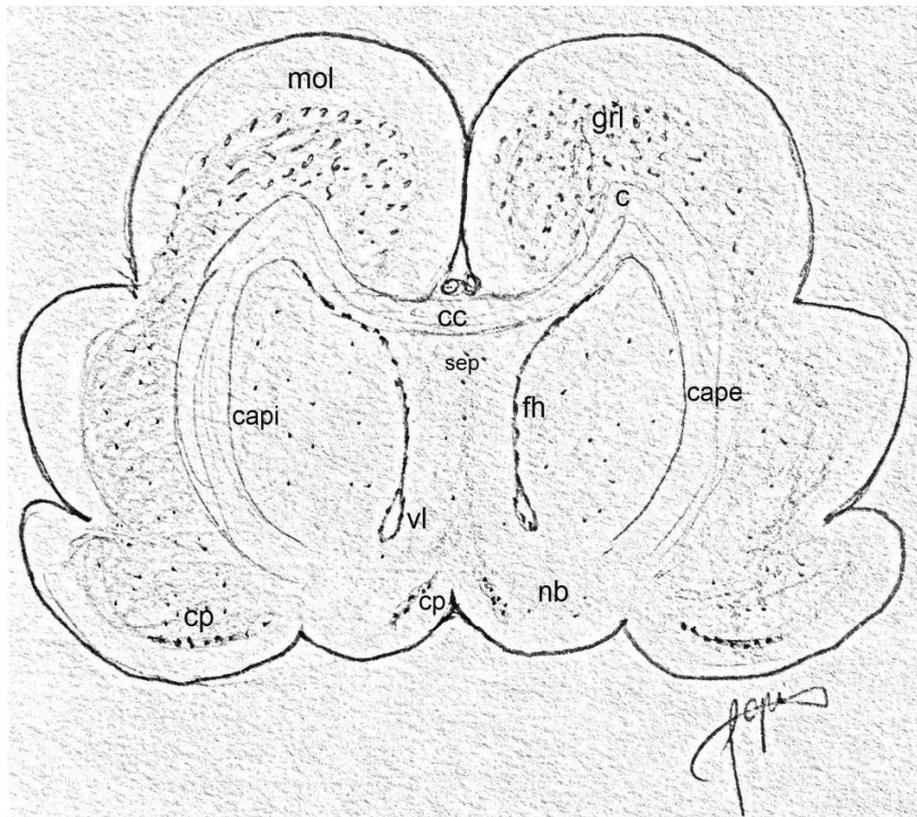


Figura 33. Ilustración de corte histológico de la sección fronto-parietal de *Tadarida brasiliensis*, mol: capa molecular, grl: capa granulosa, cc: cuerpo caloso, c: cingulum del cuerpo caloso, cape: cápsula externa, capi: cápsula interna, sep: septo, fh: fimbria del hipocampo, vl: ventrículo lateral, nb: núcleo de la base, cp: corteza piriforme.

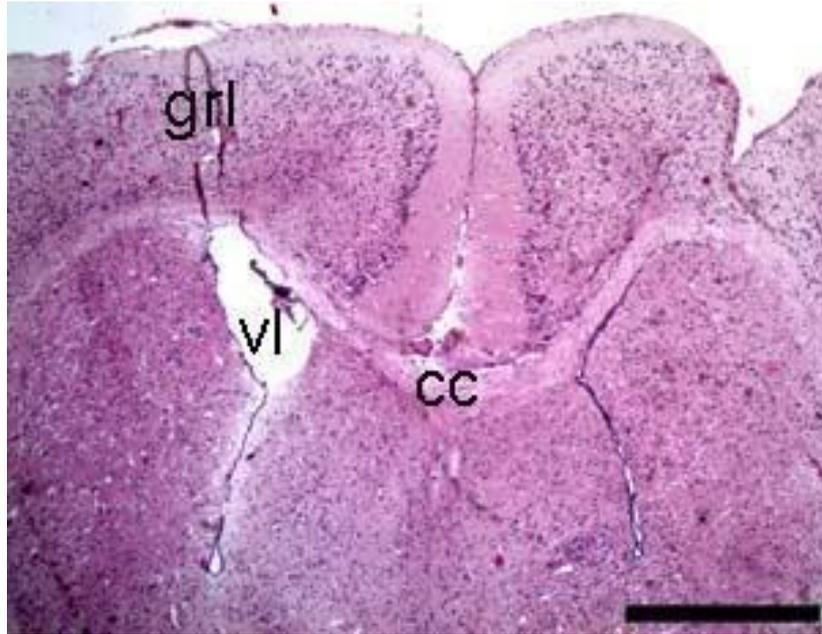


Figura 34. Sección fronto-parietal de encéfalo de *Tadarida brasiliensis*, con técnica de HE; grl: capa granulosa, mol: capa molecular, cc: cuerpo calloso, vl: ventrículo lateral, capa molecular recubierta por las meninges. Bar= 750 μ m.

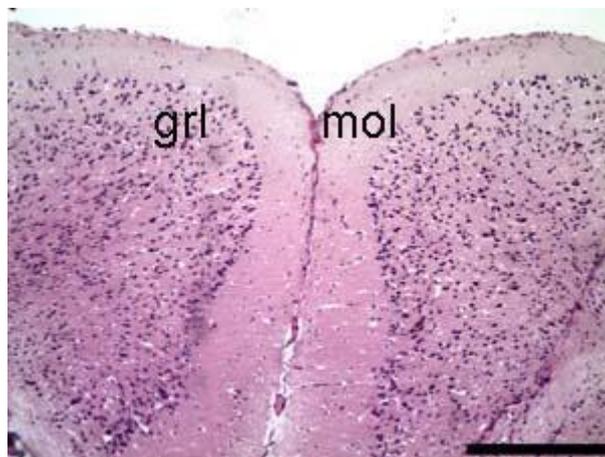


Figura 35. Sección fronto-parietal del cerebro de *Tadarida brasiliensis*, con técnica de HE; grl: capa granulosa, mol: capa molecular. Hemisferios cerebrales recubiertos por meninges. Bar= 300 μ m.

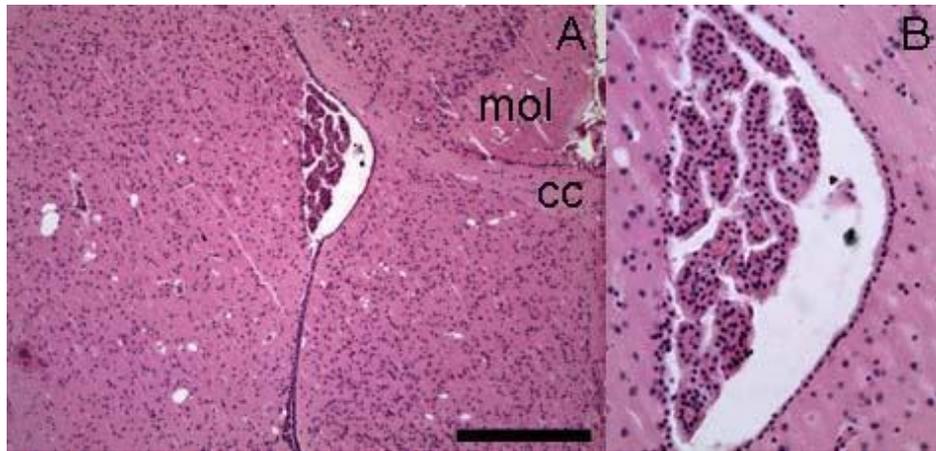


Figura 36. Sección fronto-parietal del encéfalo de *Tadarida brasiliensis*, con tinción de HE. A mol: molecular, cc: cuerpo calloso, y en el centro de la imagen notese el ventrículo lateral con epitelio ependimal (recubriendo el interior del ventrículo) y plexo coroideo. Bar= 300 μ m. B plexo coroideo y células ependimales del ventrículo lateral.

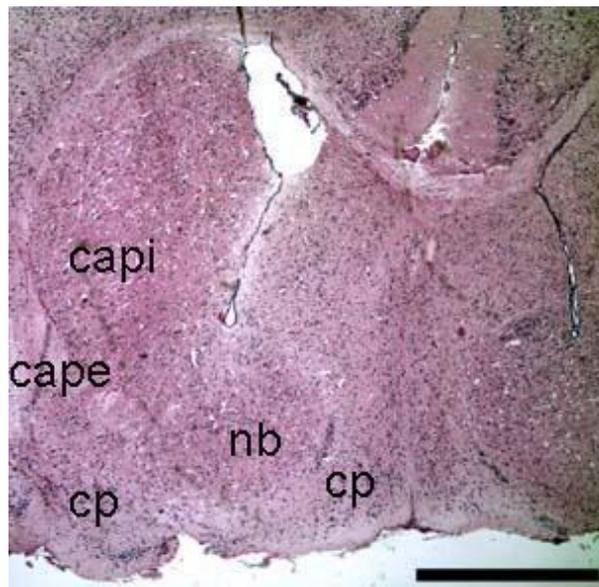


Figura 37. Sección fronto parietal de encéfalo de *Tadarida brasiliensis*, con tinción HE; cp: corteza piriforme, nb: núcleo de la base, capi: cápsula interna, cape: cápsula externa. Bar= 750 μ m.

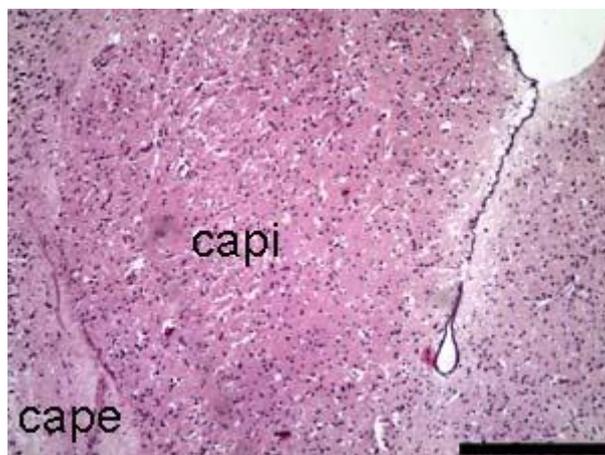


Figura 38. Sección fronto-parietal *Tadarida brasiliensis*, con tinción HE; capi: cápsula interna, cape: cápsula externa. Nótese a la derecha el ventrículo lateral recubierto por las células ependimales. Bar= 300 μ m.

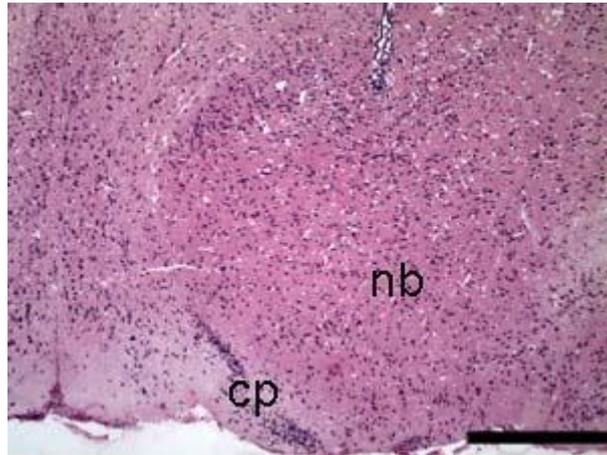


Figura 39. Sección fronto-parietal de encéfalo de *Tadarida brasiliensis*, con técnica de HE; cp: corteza piriforme, nb: núcleo de la base. Bar= 300 μ m.

3.4.2 Sección Cerebelo:

La sección de Cerebelo pertenece al Rombencéfalo, aquí pudimos observar y describir las siguientes estructuras:

- Se pueden identificar las folias del Cerebelo y el Puente separados por el cuarto ventrículo, el cual posee el plexo coroideo. Además, se observa el epitelio endotelial tapizando dicho ventrículo (Figura 40).
- Dentro del Cerebelo identificamos la Corteza cerebelar con sus respectivas capas celulares: molecular, de Purkinje, granulosa y sustancia blanca (Figura 44).
- Dentro del puente identificamos el fascículo longitudinal medio (Figura 43). como una estructura simétrica de forma redondeada, compuesta por fibras neuronales. A esta altura también se comienza a identificar la zona reticulada, la cual se reconoce por su típica forma de cruz, al estar compuesta por fibras nerviosas entrelazadas (Figura 41).
- Continuando dentro del puente pero ventralmente, identificamos las fibras longitudinales del puente, también simétricas, a ambos lados del preparado. Esta estructura se identifica como un conjunto grande de axones (Figura 42).

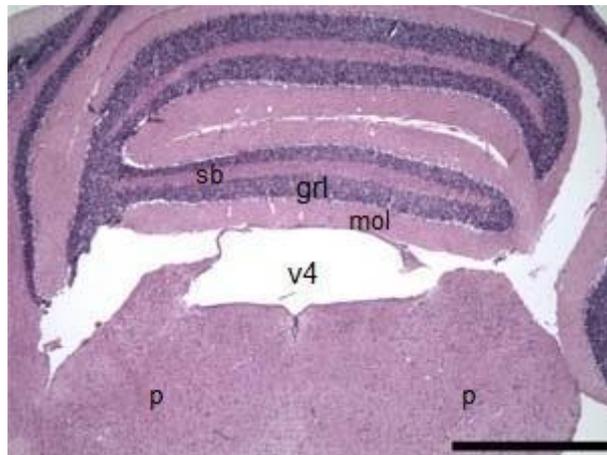


Figura 40. Sección de Cerebelo de *Tadarida brasiliensis*, con técnica de HE; v4: cuarto ventrículo con el epitelio endotelial que lo recubre, sb: sustancia blanca, grl: capa granulosa, mol: capa molecular, p: puente. Bar= 750 μ m.

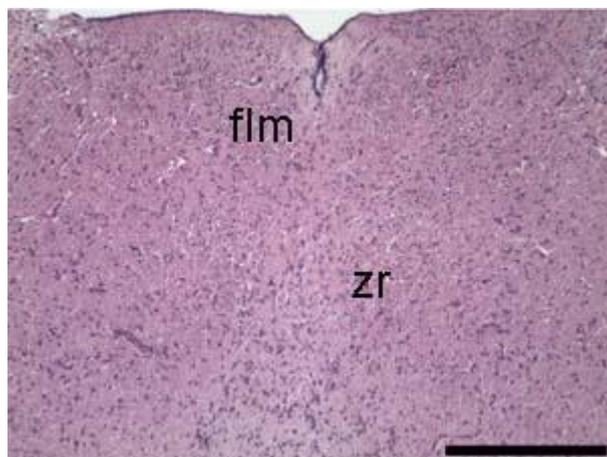


Figura 41. Puente en la Sección de Cerebelo de *Tadarida brasiliensis*, con técnica de HE; flm: fascículos longitudinales medios, zr: inicio de zona reticulada. Bar= 300 μ m.

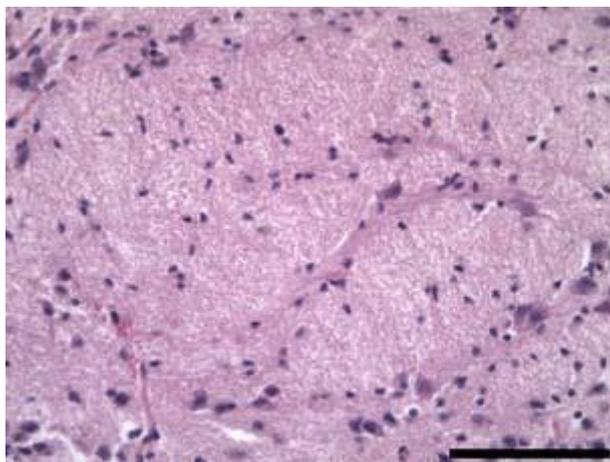


Figura 42. Puente en sección Cerebelo de *Tadarida brasiliensis*, con técnica de HE. Detalle de fibras longitudinales del puente. Bar= 75 μ m.

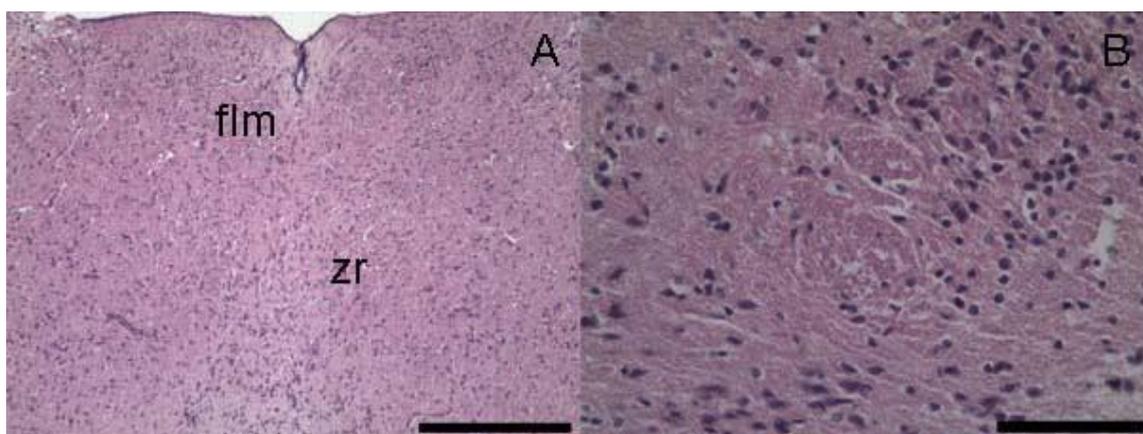


Figura 43. Puente en la Sección de Cerebelo de *Tadarida brasiliensis*, con técnica de HE. A: flm: fascículos longitudinales medio, zr: inicio de zona reticulada. Bar= 300 μ m. B: detalle de los fascículos longitudinales. Bar= 75 μ m.

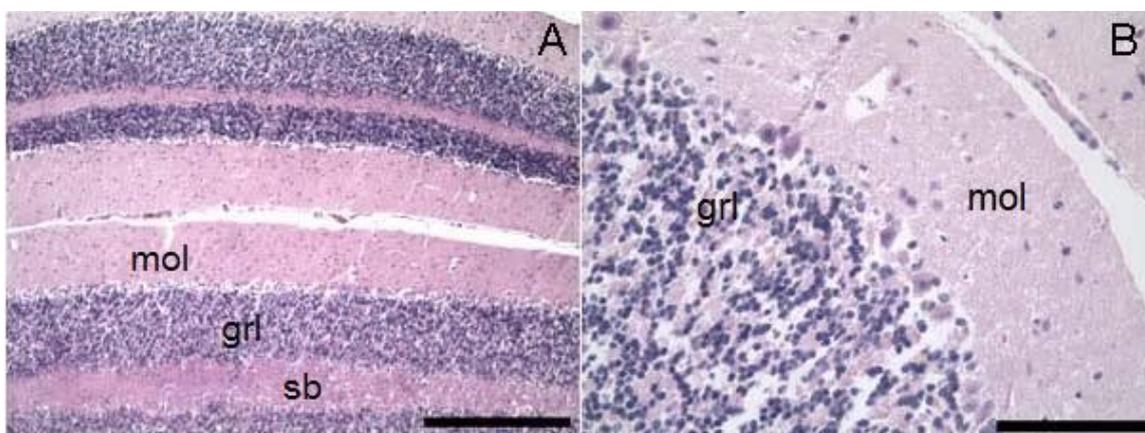


Figura 44. Sección de Cerebelo de *Tadarida brasiliensis*, capas cerebelares, con técnica de HE. A: mol: molecular, grl: granulosa, sb: sustancia blanca. Bar= 300 μ m. B: mol: capa molecular, de Purkinje, grl: capa granulosa. Bar= 75 μ m.

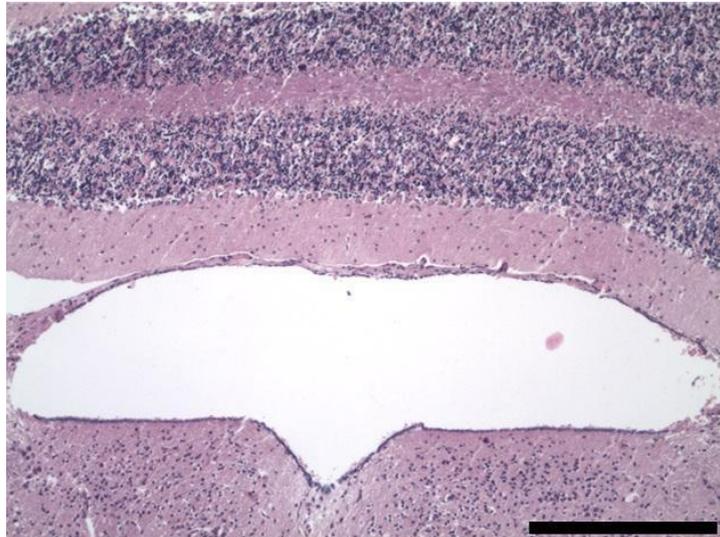


Figura 45. Sección de Cerebelo de *Tadarida brasiliensis*, con técnica de HE. Se muestra cuarto ventrículo con epitelio ependimal. Bar= 300 μ m.

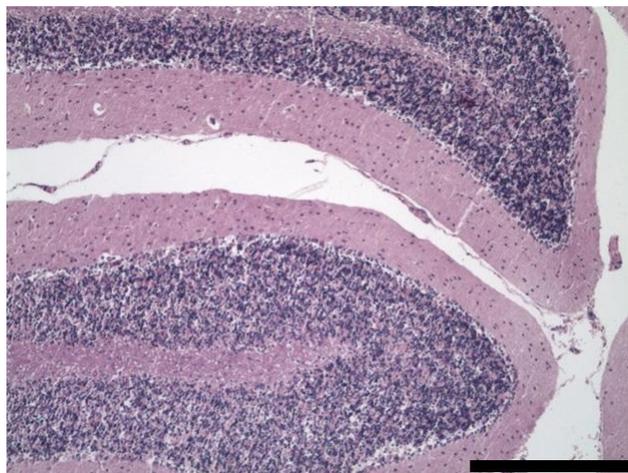


Figura 46. Sección de Cerebelo de *Tadarida brasiliensis*, imagen panorámica de folias cerebelares, con técnica de HE. Bar= 300 μ m.

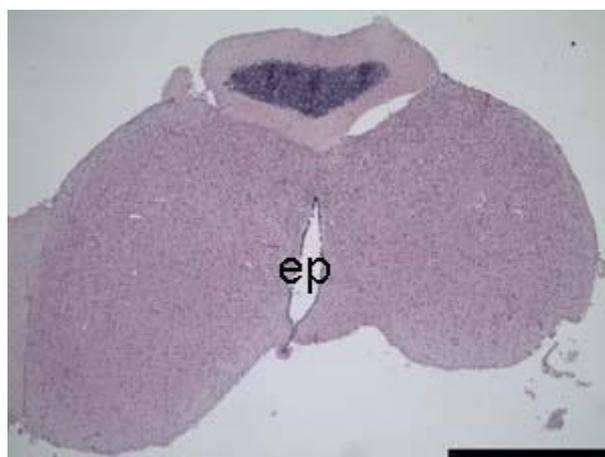


Figura 47. Sección de Cerebelo de *Tadarida brasiliensis*, con técnica de HE, ep: epitelio ependimal, en la parte superior se observa cerebelo. Bar= 750 μ m.

3.4.4 Sección Médula Posterior

Esta sección, pertenece junto con la anterior a la región de Rombencéfalo. Aquí encontramos las estructuras que componen el tallo del encéfalo (Figura 48).

Se describen:

- Plexo coroideo contenido en el cuarto ventrículo y en sus aperturas laterales (Figura 49).
- Médula oblonga donde se destaca la zona reticular como un conjunto de haces axonales en forma de cruz, rodeada por grandes neuronas, las cuales componen los diversos núcleos que forman esta estructura. La misma se encuentra a lo largo de todo el tallo encefálico (Figura 50 y Figura 52).
- Núcleo del Nervio Hipogloso (Par craneal XII), formado por grandes cuerpos neuronales en la zona dorsal (Figura 51).
- Tracto espinal del Nervio Trigémico (Par craneal V), compuesto por grandes fibras nerviosas que discurren a ambos lados de la médula posterior (Figura 50).
- Núcleo Olivar perteneciente al Sistema Olivar Inferior formado por grandes cuerpos neuronales, el cual se identifica en la zona ventral de la médula oblonga. Aquí también describimos el tracto piramidal (Figura 48 y Figura 50).

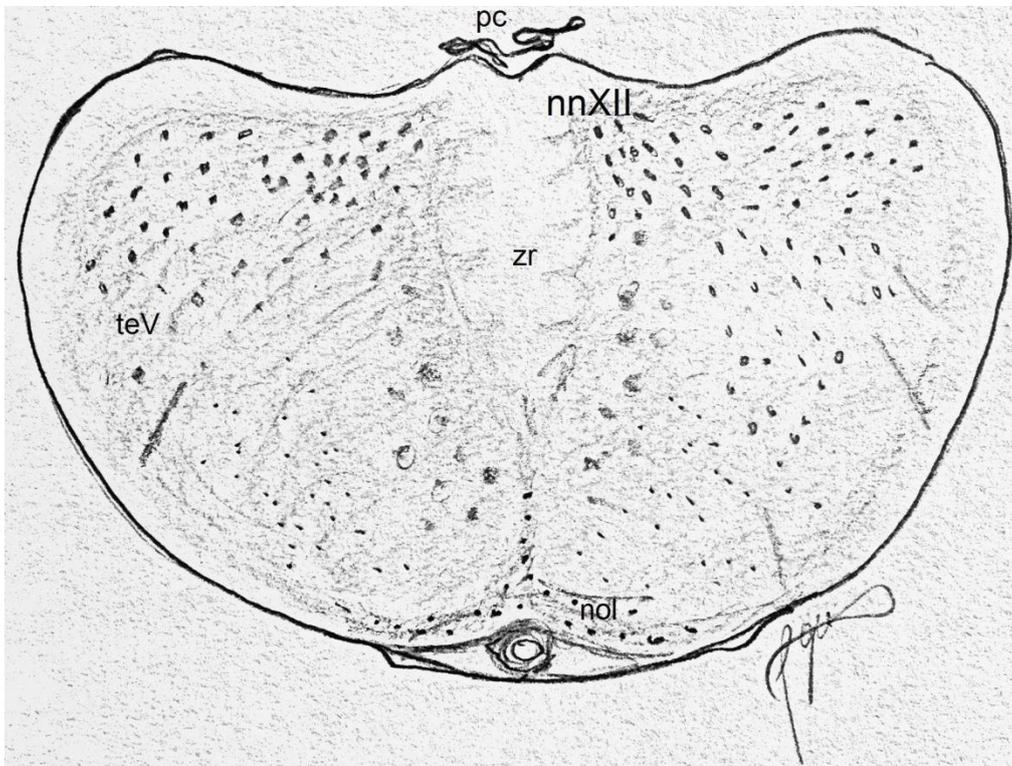


Figura 48. Ilustración de corte histológico de la sección de médula posterior de *Tadarida brasiliensis*; pc: plexo coroideo, nnXII: núcleo del Nervio Hipogloso (par XII), zr: zona reticulada, teV: tracto espinal del Nervio Trigémico (par V), nol: núcleo Olivar.

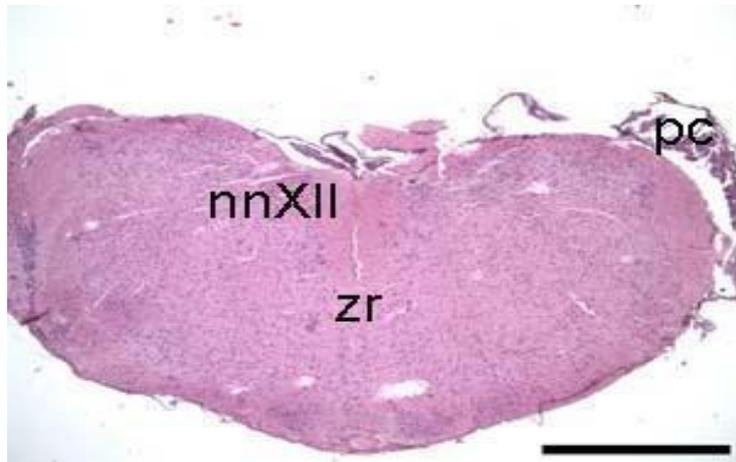


Figura 49. Sección de médula posterior de *Tadarida brasiliensis* con técnica de HE, zr: zona reticulada, nnXII: núcleo del NnXII (hipogloso), pc: plexo coroideo. Bar= 750 μ m.

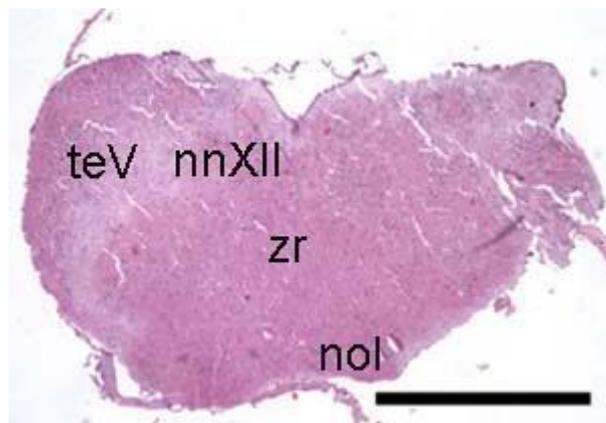


Figura 50: Sección de médula posterior de *Tadarida brasiliensis* con técnica de HE, teV: tracto espinal del nervio trigémino, nnXII: núcleo del nervio hipogloso, zr: zona reticular, nol: núcleo Olivar. Bar= 750 μ m.

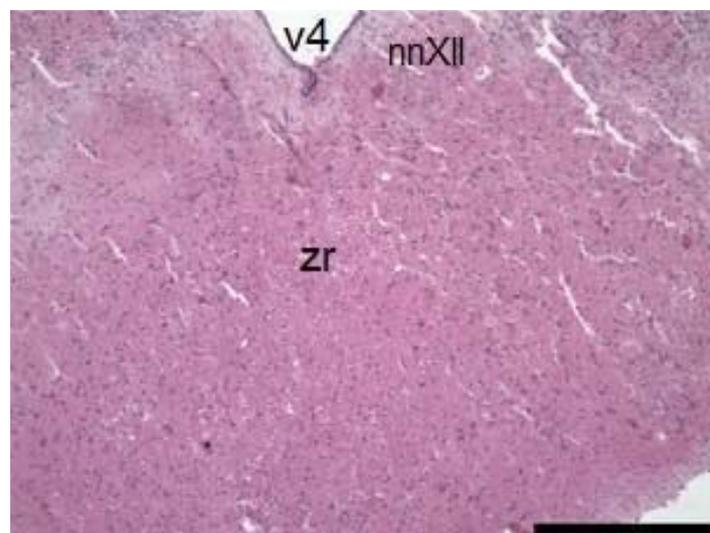


Figura 51. Sección de médula posterior de *Tadarida brasiliensis* con técnica de HE, v4: cuarto ventrículo, nnXII: núcleo del nervio hipogloso, zr: zona reticular. Bar= 300 μ m.

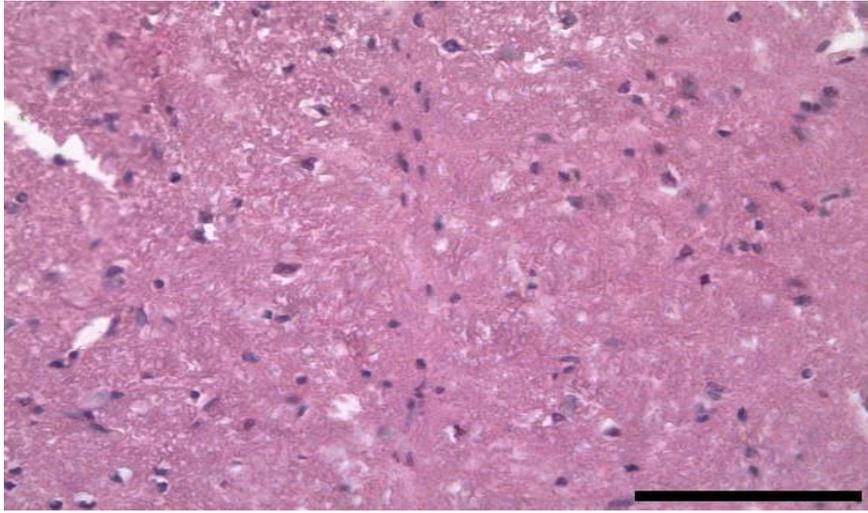


Figura 52. Sección de médula posterior en *Tadarida brasiliensis*, zona reticulada, con técnica de HE. Bar= 75 μ m.

3.5 Histopatología contra virus rábico

3.5.1 SNC de bovino (caso positivo).

En la técnica de tinción de HE (Figura 53 A) se observaron las distintas células que componen las capas del córtex cerebelar, identificando en la capa de Células de Purkinje la presencia de Cuerpos de Negri, los cuales contienen partículas víricas. Se caracterizan por ser redondeados, de bordes definidos, con coloración eosinofílica más intensa que el resto de la célula, distribuyéndose en citoplasma, pericarion, dendritas y axones.

Al realizar la tinción con Azul de Toluidina (Figura 53 B) se pudieron observar las mismas estructuras que con la tinción de HE, identificando con mayor facilidad los Cuerpos de Negri dentro de las Células de Purkinje.

Con respecto a la IHQ (Figura 53 C y D) contra la ribonucleoproteína del virus rábico identificamos estructuras intracitoplasmáticas homogéneas, ovals, marrones, distribuidas en los pericarios, procesos axonales y dendritas de las Células de Purkinje. Dichas estructuras corresponden a la inmunomarcación positiva del antígeno viral rábico.

3.5.2 SNC de bovino (caso negativo).

Tanto con las técnicas de HE, AT e IHQ frente al virus rábico, no se identificaron lesiones atribuibles a una encefalitis no supurativa de origen rábico (manguitos perivasculares, focos de gliosis y degeneración neuronal). Así como tampoco se encontraron Cuerpos de Negri en las células de Purkinje, ni inmunomarcación positiva contra el antígeno viral (Figura 53 E).

3.5.3 SNC de *Tadarida brasiliensis*

Con la técnica utilizada de HE no se observaron Cuerpos de Negri ni lesiones compatibles con Encefalitis viral. La IHQ frente a virus rábico resultó negativa.

3.5.4 SNC de *Desmodus rotundus*

No se reconocieron lesiones compatibles con el virus rábico con ninguna de las técnicas aplicadas (HE, AT).

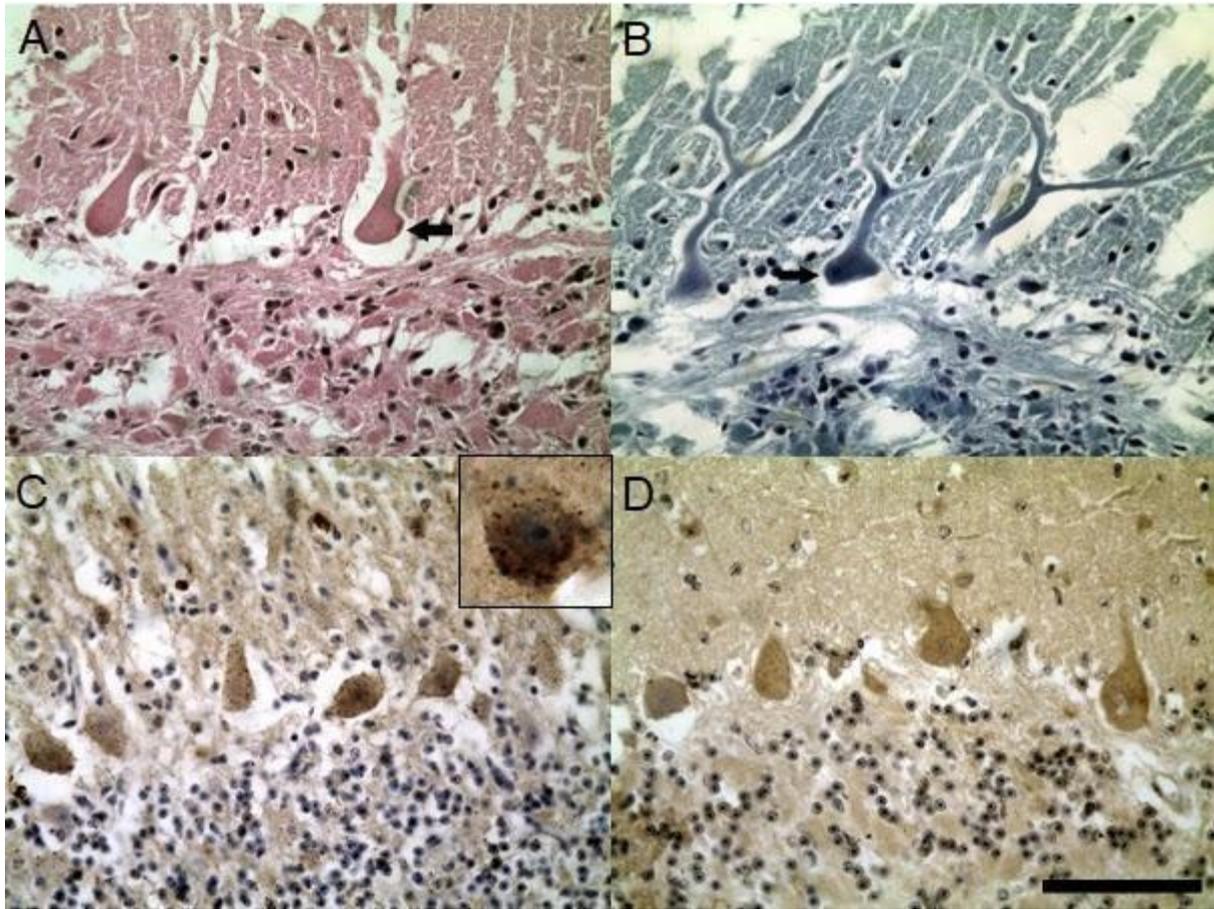


Figura 53. Corteza cerebelar de bovino. A. Bovino positivo a Rabia. Cuerpos de Negri en células de Purkinje (Flecha). HE. Bar=75 μ m. B. Bovino positivo a Rabia. Cuerpos de Negri en células de Purkinje (Flecha). AT. Bar=75 μ m. C. Bovino positivo a Rabia. Estructuras intracitoplasmáticas homogéneas, ovals, marrones, distribuidas en el pericarion, proceso axonal y dendritas de las células de Purkinje. IHQ frente a virus rábico. Bar=75 μ m. Recuadro. Detalle de Célula de Purkinje con múltiples estructuras inmunopositivas dentro del pericarion. E. Bovino negativo a Rabia. IHQ frente a virus rábico. Bar=75 μ m.

4. Discusión

4.1 *Desmodus rotundus*

Utilizando como referencia el atlas de neuroanatomía realizado por Bhatnagar (2008), logramos identificar variadas regiones y estructuras del SNC, coincidiendo con el autor en la ubicación y características de las mismas. Dicho autor utilizó las técnicas de tinción de Lugol Fast Blue-cresyl violet y Gomori one step trichrome (Bhatnagar, 2008). En nuestro trabajo la confirmación de estructuras se realizó utilizando técnicas de tinción histológicas convencionales Hematoxilina Eosina y Azul de Toluidina que nos permitió identificar de forma complementaria las mismas regiones de ambas especies. La técnica de HE es la más utilizada y la de referencia internacional para realizar diagnóstico histopatológico. Mientras que la técnica de AT complementa a la anterior por marcar específicamente somas, axones y procesos dendríticos de las neuronas, logrando identificar más precisa y detalladamente la citoarquitectura neuronal.

4.2 *Tadarida brasiliensis*

En este caso, utilizamos de referencia el estudio publicado por Humphrey (1936), en donde la autora realiza una observación histológica detallada de las secciones más frontales del encéfalo (Telencéfalo y Mesencéfalo). Nuestro trabajo se extendió a regiones más caudales, abarcando todo el órgano, y para poder describirlo, utilizamos un atlas digital de tejido encefálico de ratón (RODENT CNS PROTOCOL CD ROM.), obteniéndose, por primera vez, información neuroanatómica de la totalidad del encéfalo para esta especie.

4.3 Comparación entre *Desmodus rotundus* y *Tadarida brasiliensis*

Los ejemplares de *Desmodus rotundus* no ofrecieron dificultades mayores para su identificación, ya que habían sido previamente clasificados. Esto no fue así para el caso de *Tadarida brasiliensis*, debido que al momento de su recepción, no contamos con datos taxonómicos. Para su clasificación utilizamos como referencia el texto “Clave de identificación de los murciélagos del cono sur de Sudamérica” de Díaz y col., (2011), y la “Guía para la identificación de los murciélagos del Uruguay” de González, (1989). Éste fue un paso fundamental que nos permitió no solo familiarizarnos con los principales rasgos de la especie, sino también, poder distinguirlos de otros insectívoros, ya que *T. brasiliensis* tiene un rol más importante dentro del ciclo de la rabia. Los datos taxonómicos y de localización geográfica de éstos especímenes coinciden con lo reportado por otros autores (Achaval y col., 2004; González y Martínez, 2010; Rodales, 2009).

En cuanto a la comparación neuroanatómica de ambas especies macroscópicamente, *D. rotundus* posee un encéfalo más grande en términos de tamaño y volumen mientras que el de *T. brasiliensis* es más pequeño y ahusado, siendo en ambas especies, fácil de distinguir las principales regiones encefálicas. Aquí podemos además afirmar que *Desmodus spp.*, tal como subrayan diversos autores (Bhatnagar, 2008), es un mamífero más evolucionado en términos de desarrollo anatómico del SNC en comparación con *T. brasiliensis*, infiriéndose que estas diferencias son las responsables de un comportamiento más complejo para el

vampiro, quien ha sido objeto de diversos estudios sobre organización y hábitos sociales (Carter et al, 2015).

Con respecto a regiones específicas para el caso de *D. rotundus*, el bulbo olfatorio es prominente y de fácil identificación, no siendo tan notorio en *T. brasiliensis* coincidiendo nuevamente con reportes anteriores (Bhatnagar, 2008; Humphrey, 1936) los hemisferios y el cerebelo son fácilmente identificables siendo el último proporcionalmente más grande en *T. brasiliensis*, sucediendo lo mismo para médula oblonga.

En cuanto a los resultados del estudio en citoarquitectura e histopatología logramos identificar las principales regiones y estructuras del SNC en ambas especies pudiendo además comparar varias de ellas. A destacar en la región frontal, resultaron de más fácil identificación en la especie *T. brasiliensis* los núcleos de la base constituidos por Putamen, Accumbens y Caudado y la corteza piriforme. Tal vez por la altura a la que se comenzó a cortar en *D. rotundus* no pudimos observar el bulbo olfatorio accesorio característico de este quiróptero. Continuando en la sección frontal al aplicar la tinción de AT en *D. rotundus* fueron fácilmente identificables los haces fibrosos de capsula externa, interna y el cuerpo calloso.

La metodología aplicada nos permitió entender y ubicar tridimensionalmente en el encéfalo de ambos quirópteros los ventrículos laterales, tercero y cuarto, así como el acueducto de Silvio, identificándose principalmente por su epitelio y plexos coroideos.

En los cortes de *T. brasiliensis* pudimos describir algunas estructuras en el puente, como las fibras longitudinales del puente y los fascículos laterales (pertenecientes al sistema piramidal), mientras que en *D. rotundus* identificamos fácilmente el nervio trigémino y su núcleo.

A nivel celular, no se encontraron mayores diferencias, aunque sí debemos destacar que la tinción de HE es más adecuada para el estudio celular, tal como pudimos confirmar al observar células de Purkinje en cerebelo bovino, conteniendo cuerpos de Negri, los cuales también fueron identificables con AT, pero con menos detalle y contraste.

Con respecto a la búsqueda bibliográfica de trabajos similares, la misma fue extensa para temas de ecología de éstas especies (hábitat, comportamiento, distribución geográfica) así como para el estudio epidemiológico de la rabia, dada la gran cantidad de reportes que existen en estas temáticas (Castilho, 2010; Favic, 1999; Fernandes de Almeida, 2011; Guarino, 2013.), existiendo incluso numerosos estudios referidos a aspectos inmunitarios de los murciélagos (Schountz, 2013; Steece, 1989; Turmelle, 2010), en un intento de ampliar el conocimiento en detalles del ciclo aéreo de la enfermedad aún no dilucidados, y por poseer además estos animales un rol importante en otras zoonosis. Sin embargo, los estudios en neuroanatomía son escasos, y la mayoría se han limitado a los sentidos auditivos y de ecolocalización.

Si bien los ejemplares estudiados de *D. rotundus* eran provenientes de un foco activo de rabia parasiante, con las técnicas de HE y AT, no se identificaron en ninguno de los cortes estudiados, las lesiones celulares típicas o compatibles con la neurodegeneración ocasionada por la acción del virus rábico sobre las neuronas (manguitos perivasculares, reacción glial y/o cuerpos de Negri), las cuales, si se describen en los casos de bovinos infectados por virus rábico por Verdes et al. (2016).

De los especímenes de *T. brasiliensis*, uno de ellos presentó sintomatología previa que podría considerarse como nerviosa, no registrándose tampoco en este caso lesiones histopatológicas a virus rábico.

Aunque ha sido reportado que estos mamíferos muestran una adaptación única para este virus (Schountz, 2013), pudiendo el mismo encontrarse no solo en SNC sino también en otros tejidos (como glándula salival, músculo y leche) e incluso algunos autores destacan su capacidad para recuperarse de la enfermedad (Steece, 1989), es más lógico concluir que los síntomas no fueron debidos a rabia, ya que una vez presentados, debería encontrarse en tejido nervioso alguna evidencia de la enfermedad.

Dentro de las técnicas de diagnóstico histopatológico, la Inmunohistoquímica es la única técnica específica recomendada para el diagnóstico de rabia, debido a que utilizando otras técnicas convencionales (HE) los Cuerpos de Negri pueden no observarse entre un 10-30% de los casos positivos (Guarino, 2007), y su expresión depende de la especie afectada (Stein et al, 2010).

Es importante igualmente destacar que la técnica diagnóstica de referencia (*gold standard technique*) para rabia es la inmunofluorescencia directa, seguida siempre por la prueba biológica de inoculación en cerebro de ratón, con un período de observación no menor a 21 días, ya que en algunas ocasiones las pruebas inmunodiagnósticas pueden arrojar resultados falsos negativos (Morikawa, 2012; Guarino 2007).

5. Conclusiones

A lo largo de nuestra tesis de grado adquirimos las siguientes habilidades y metodología para el desarrollo de un trabajo científico:

- Reconocimiento y familiarización con dos especies no habituales en nuestra formación curricular.
- Procesamiento de muestras para histopatología, técnicas de tinción, técnicas de diagnóstico de laboratorio y revisión bibliográfica.

Con respecto a las regiones y estructuras encefálicas descritas para *D. rotundus* y *T. brasiliensis*, podemos concluir que:

- Al estudio macroscópico *D. rotundus* posee un encéfalo más evolucionado.
- En cuanto a el estudio microscópico en ambas especies las estructuras se ubican de manera similar en rasgos generales a pesar de poseer diferencias comportamentales y de alimentación significativas.
- Son comparables con la neuroanatomía de otros mamíferos menores, particularmente con el ratón.
- Con respecto a los mamíferos mayores, como el Canino o el Bovino, las diferencias son más significativas.

En cuanto a las técnicas de tinción aplicadas Hematoxilina Eosina y Azul de Toluidina:

- Utilizando ambas técnicas en paralelo se logró una descripción más completa y satisfactoria del tejido nervioso.
- La tinción de AT resultó una valiosa herramienta para el estudio del SNC al destacar con mayor eficacia estructuras axonales y fibrosas.
- Sería interesante realizar tinciones con AT en *T. brasiliensis* con el fin de identificar con mayor detalle aquellas estructuras que con HE no son de fácil descripción.

Como resultado de la revisión bibliográfica podemos inferir que:

- Nuestro trabajo es el primero en describir histológicamente no solo las regiones frontales del encéfalo de *T. brasiliensis* sino también las más caudales llegando hasta Médula Oblonga.
- También es el primero en comparar la citoarquitectura de los SNC de *D. rotundus* y *T. brasiliensis*.

Acerca de la técnica de Inmunohistoquímica aplicada:

- El resultado no fue el esperado, se debería considerar un mayor adiestramiento en la misma para obtener resultados más satisfactorios.

6. Referencias bibliográficas

1. Academia Nacional de Veterinaria (2008). Rabia Paralítica, Montevideo, Ed. Trandico S.A, 74p.
2. Achaval F, Clara M, Olmos A (2004). 71. *Tadarida brasiliensis brasiliensis*. En: Achaval F, Clara M, Olmos A. Mamíferos de la República Oriental del Uruguay, Montevideo. Ed. Alejandro Olmos, pp. 100.
3. Achaval F, Clara M, Olmos A (2004). 72. *Desmodus rotundus rotundus*. En: Achaval, Achaval F, Clara M, Olmos A. Mamíferos de la República Oriental del Uruguay, Montevideo. Ed. Alejandro Olmos, pp. 101.
4. Allendorf S, Cortez A, Heinemann Marcos, Harary Camila, Antunes J, Peres M, Vicente A, Sodré M, da Rosa A, Megid J (2012). Rabies virus distribution in tissues and molecular characterization of strains from naturally infected non-hematophagous bats. *Virus Reserch* 165(2): 119-125. DOI: 10.1016/j.virusres.2012.01.011.
5. Alvas A, Novaes de Souza E, Lourenço R, Favoretto S, Martos M (2009). Perfil antig nico do vírus da raiva isolado de diferentes esp cies de morcegos n o hematófagos da Região de Presidente Prudente, Estado de São Paulo. *Rev Soc Bra Med Trop* 42(1): 15-17.
6. Bhatnagar KP (2008). The brain of the common vampire bat, *Desmodus rotundus murinus* (Wagner, 1840): a cytoarchitectural atlas. *Braz J Biol* 68: 583-599.
7. Canine Brain – Transections Atlas. Disponible en <http://vanat.cvm.umn.edu/brainsect/levels.html?17>, Fecha de consulta: 21/11/18.
8. Carter G, Leffer L (2015). Social grooming in bats: Are vampire bats exceptional? *PLoS ONE* 10(10): e0138430. DOI: 10.1371/journal.pone.0138430.
9. Castilho JG, Carnieli P, Oliveira RN, Fahl WO, Cavalcante R, Santana AA, Rosa WL, Carrieri ML, Kotait I (2010). A Comparative Study of Rabies Virus Isolates from Hematophagous Bats in Brazil. *J Wild Dis* 46(4): 1335-1339.
10. Díaz MM, Aguirre LF, Barquez RM (2011). Clave de identificación de los murciélagos del cono sur de Sudamérica. Centro de Estudios en Biología Teórica y Aplicada. Cochabamba, Bolivia. 94 p.
11. El País. Disponible en: <https://www.elpais.com.uy/informacion/encuentran-murcielago-rabia-corazon-pocitos.html>. Fecha de consulta: 15/10/2018.
12. Favic M, Yung PV, Pavletic BC, Ramirez V, De Mattos C, De Mattos CA. (1999). Rol de los murciélagos insectívoros en la transmisión de la rabia en Chile. *Arch Med Vet* 31(2): 1-9.

13. Fernandes de Almeida M, Alves F, Martos M, Arruda A, Ruckert da Rosa A, de Oliveira M, Amatuzzi E (2011). Rabies diagnosis serology in bats from the State of São Paulo, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 44(2): 140-145.
DOI: 10.1590/S0037-86822011005000011
14. Filippini, C. (2001). Breve historia de la rabia en el Uruguay. Seminario Regional de Rabia, Facultad de Veterinaria, Montevideo, Uruguay, [8-11] p.
15. García del Moral R (1993). Laboratorio de anatomía patológica. Madrid. Ed. McGraw-Hill- Interamericana de España 657p.
16. González E, Martínez-Lanfranco JA (2012). Mamíferos de Uruguay. En: González, E. y Martínez-Lanfranco, J.A. Mamíferos de Uruguay. 2a. ed. Montevideo. Ed. Banda Oriental pp. 142-163.
17. González JC (1989). Guía para la identificación de los murciélagos del Uruguay, Montevideo, Ed. Intendencia Municipal de Montevideo 50p.
18. Guarino H (2007). Primer diagnóstico de Rabia Paralítica en el Uruguay. *Rev Veterinarios* 12: 10-13.
19. Guarino H, Galera J, Souto J, de Novaes R, Carrieri M, Kotait I (2013). Antigenic and genetic characterization of rabies virus isolates from Uruguay. *Virus Reserch* 173(2013) 415-420.
<https://doi.org/10.1016/j.virusres.2012.12.013>.
20. Gury Dohman F, Beltrán F. (2008). Aislamiento de virus rábico en glándulas salivales de murciélagos insectívoros. *Rev sci tech Off int Epiz* 28(3): 987-993
21. Humphrey, T. (1936). The telencephalon of the bat. I. The noncortical nuclear masses and certain pertinent fiber connections. *J Comp Neur* 65(1): 603-711.
22. Kotait I (2007). Primer diagnóstico de Rabia Paralítica en el Uruguay. *Rev Veterinarios* 12: 14-16.
23. Méndez E (1972). Clasificación, biología y distribución de los vampiros. En: Murciélagos hematofagos y su importancia medica en Panamá. Buenos Aires, Ed. Centro Panamericano de Zoonosis pp. 5-20.
24. Messenger S.L., Smith J.S., Rupprecht C.E. (2002). – Emerging epidemiology of bat-associated cryptic cases of rabies in humans in the United States. *Clin. infect. Dis.*, 35(6): 738-747.
25. Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca (MGAP). Decreto 00513187 31/12/2007.
26. Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca (MGAP). Disponible en: <http://www.mgap.gub.uy/noticia/unidad-organizativa/direccion-general-de-servicios-ganaderos/28-09-2018/uruguay-se-une-al>. Fecha de consulta 15/10/2018.

27. Ministerio de Salud Pública. División Epidemiología. Dirección General de la Salud. (2017). Boletín Epidemiológico nº2 pp. 1-12.
28. Moraes J (2007). Primer diagnóstico de Rabia Paralítica en el Uruguay. *Rev Veterinarios* 12: 6-9.
29. Morikawa V, Ribeiro J, Welker A, Fellini A, Bier D, Beltrão M (2012). Cat infected by a variant of bat rabies virus in a 29-year disease-free urban area of southern Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 45(2): 255-256.
30. National Institute of Environmental Health Sciences (...). RODENT CNS PROTOCOL. CD ROM.
31. Organización Mundial de la Salud (OMS). Disponible en: <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/rabies>. Fecha de consulta: 15/10/18.
32. Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE). Disponible en: http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Countryinformation/Animalsituation. Fecha de consulta: 15/10/18.
33. Piñero C, Gury Dohmen F, Beltran F, Martinez L, Novaro L, Russo S, Palacios G, Cisterna D (2012). High Diversity of Rabies Viruses Associated with Insectivorous Bats in Argentina: Presence of Several Independent Enzootics. *PLoS Negl Trop Dis* 6(5): e1635. DOI: 10.1371/journal.pntd.0001635.
34. Pinto Jorge RS, Pereira MS, Morato RG, Scheffer KC, Carnieli PJ, Ferreira F, Furtado MM, Kashivakura CK, Silveira L, Jacomo ATA, Lima ES, de Paula RC, May-Junior. JA (2010). Detection of Rabies Virus Antibodies in Brazilian Free-Ranging Wild Carnivores. *J. Wildl Dis.* 46: 1310–1315.
35. Rodales AL, (2009). Quirópteros del Departamento de Montevideo, Uruguay. Distribución y Biología. Tesis para Licenciado en Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias UdelaR, Montevideo, Uruguay 30 p.
36. Sharon L. Messenger, Jean S. Smith, Charles E. Rupprecht; Epidemiología emergente de casos crípticos de rabia asociados a murciélagos en humanos en los Estados Unidos, *Clinical Infectious Diseases*, 35(6): 738–747. <https://doi.org/10.1086/342387>.
37. Schountz T (2013). Virology and Immunology of Bats. En: *Bat Evolution, Ecology, and Conservation*. Adams RA, Pedersen SC eds. Springer Science+Business Media, 393-412. DOI 10.1007/978-1-4614-7397-8_19.

38. Steece R, Altenbach S (1989). Prevalence of Rabies Specific Antibodies in the Mexican free-tailed Bat (*Tadarida brasiliensis mexicana*) at lava cave, New Mexico. *J of Wildl Dis* 25(4): 490-496.
39. Stein LT, Rech RR, Harrison L, Brown CC (2010). Immunohistochemical Study of Rabies Virus Within the Central Nervous System of Domestic and Wildlife Species. *J Vet Path* 47(4): 630- 636.
40. Summers BA, Cummings JF, de Lahunta A (1995). Inflammatory diseases of the central nervous system. En: Summers BA, Cummings JF, de Lahunta A. *Veterinary Neuropathology*. Ciudad, Mosby, pp. 95-188.
41. Turmelle A, Allen L, Schmit-French B, Jackson F, Kunz T, McCracken G, Rupprecht C (2010). *J of Zoo and Wild Med* 41(1): 140-143. DOI: 10.1638/2008-0161.1.
42. Verdes JM, de Sant´Ana FJF, Sabalsagaray MJ, Okada K, Calliari A, Moraña JA, de Barros CSL (2016). Calbindin D28k distribution in neurons and reactive gliosis in cerebellar cortex of natural *Rabies virus*-infected cattle. *J Vet Diagn Invest* 28: 361-368. DOI: 10.1177/1040638716644485.