

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**ALTERAÇÕES NO ENCÉFALO DE BOVINOS  
SUBMETIDOS À VIGILÂNCIA DAS ENCEFALOPATIAS  
ESPONGIFORMES TRANSMISSÍVEIS**

**TESE DE DOUTORADO**

**RAQUEL RUBIA RECH**

**Santa Maria, RS, Brasil  
2007**

**ALTERAÇÕES NO ENCÉFALO DE BOVINOS SUBMETIDOS  
À VIGILÂNCIA DAS ENCEFALOPATIAS ESPONGIFORMES  
TRANSMISSÍVEIS**

**por**

**Raquel Rubia Rech**

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Patologia Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Medicina Veterinária.**

**Orientador: Claudio Severo Lombardo de Barros**

**Santa Maria, RS, Brasil  
2007**

**Universidade Federal de Santa Maria  
Centro de Ciências Rurais  
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,  
aprova a Tese de Doutorado

**ALTERAÇÕES NO ENCÉFALO DE BOVINOS SUBMETIDOS À  
VIGILÂNCIA DAS ENCEFALOPATIAS ESPONGIFORMES  
TRANSMISSÍVEIS**

elaborada por  
**Raquel Rubia Rech**

como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Doutor em Medicina Veterinária**

**COMISSÃO EXAMINADORA:**

**Claudio Severo Lombardo de Barros, PhD**  
(Presidente/Orientador)

**Corrie Cabell Brown, PhD**  
(UGA)

**David Driemeier, Dr.**  
(UFRGS)

**Dominguita Lühers Graça, PhD**  
(UFMS)

**Ricardo Antonio Amaral de Lemos, Dr.**  
(UFMS)

Santa Maria, fevereiro de 2007.

## RESUMO

Tese de Doutorado  
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária  
Universidade Federal de Santa Maria

### ALTERAÇÕES NO ENCÉFALO DE BOVINOS SUBMETIDOS À VIGILÂNCIA DAS ENCEFALOPATIAS ESPONGIFORMES TRANSMISSÍVEIS

AUTORA: Raquel Rubia Rech

ORIENTADOR: Claudio Severo Lombardo de Barros

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 23 de fevereiro de 2007.

Este estudo derivou do exame macroscópico e microscópico de 3.338 encéfalos de bovinos, realizado entre 2001-2005, como parte do programa de vigilância para a encefalopatia espongiforme bovina (BSE) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Este trabalho foi realizado no Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria (LPV/UFSM), que é o laboratório de referência nacional para o diagnóstico da BSE e outras encefalopatias espongiformes transmissíveis e foi dividido em quatro partes. Inicialmente, são descritos os principais eventos relacionados à etiologia, epidemiologia, sinais clínicos, patologia e controle da BSE para dar ao leitor uma idéia da situação que levou o MAPA a implantar esse programa de vigilância. Na segunda parte, é explicado em detalhes o funcionamento do programa de vigilância para a BSE no Brasil, com as principais instruções determinadas pelo MAPA relacionadas a esse programa incluídas em anexos. A terceira parte descreve os achados macro e microscópicos observados nos 3.338 encéfalos examinados. No exame macroscópico foram considerados os seguintes aspectos: distribuição, cor, tamanho e consistência e outros aspectos gerais de alterações particulares. A análise macroscópica também incluiu descrições de não-lesões (estruturas anatômicas normais que podem ser interpretadas como lesões), lesões de pouco significado clínico, alterações *postmortem* e outros artefatos. Todas essas alterações podem confundir o patologista durante o exame do sistema nervoso central (SNC). Essa mesma metodologia foi utilizada para descrever os achados microscópicos, incluindo a descrição de componentes normais do SNC e suas reações à lesão. A quarta seção é constituída pelos trabalhos publicados que resultaram do exame histológico desses 3.338 encéfalos durante o programa de vigilância para a BSE nesses 5 anos. Os trabalhos foram divididos em dois grupos: o primeiro grupo inclui os trabalhos que são parte direta desta tese e nos quais a autora da tese (Rech R.R.) é o primeiro autor. Estes trabalhos são: 1) Rech R.R. et al. 2004. Meningoencefalite granulomatosa em bovinos em pastoreio de ervilhaca (*Vicia spp*). *Pesq. Vet. Bras.* 24:169-172, 2) Rech R.R. et al. 2005. Febre catarral maligna em bovinos no Rio Grande do Sul: epidemiologia, sinais clínicos e patologia. *Pesq. Vet. Bras.* 25:97-105, 3) Rech R.R. et al. 2006. Histomorfologia do gânglio de Gasser, da *rete mirabile* carotídea e da hipófise de bovinos: estudo de 199 casos. *Pesq. Vet. Bras.* 26:105-111, 4) Rech R.R. et al. 2006. Intoxicação por *Solanum fastigiatum* (Solanaceae) em bovinos: epidemiologia, sinais clínicos e morfometria das lesões cerebelares. *Pesq. Vet. Bras.*, 26:183-189, 5) Rech et al. 2006. Raiva em herbívoros: 27 casos. Encontro Nacional de Laboratórios de Diagnóstico Veterinário, Campo Grande, p. 43-44, e 6) Rech R.R. et al. 2007. *Poisonous plants affecting the central nervous system (CNS) of cattle in Brazil*, p. 238-243. In: Panter K.E.; Wierenga T.L. & Pfister J.A. (ed.). *Poisonous Plants: Global Research and Solutions*. Wallingford: CAB International. O segundo grupo inclui trabalhos onde foi utilizado material do programa de vigilância da BSE, mas que foram desenvolvidos por outro estudante de pós-graduação do LPV/UFSM e no qual a autora da tese é co-autora. Estes trabalhos são: 1) Rodrigues A. et al. 2005. Babesiose cerebral em bovinos: 20 casos. *Ciência Rural* 35:121-125, 2) Barros R.R. et al. 2006. Intoxicação por *Ramaria flavo-brunnescens* (Clavariaceae) em bovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 26:87-96, 3) Rissi D.R. et al. 2006. Epidemiologia, sinais clínicos e distribuição das lesões encefálicas em bovinos afetados por meningoencefalite por herpesvírus bovino-5. *Pesq. Vet. Bras.* 26:123-132, e 4) Barros R.R. et al. 2006. Carcinoma de células escamosas no olho de bovino com invasão cerebral através dos nervos cranianos. *Ciência Rural* 36:1651-1654. Durante parte do programa de doutorado, a autora realizou o programa de intercâmbio com bolsa-sanduíche da CAPES por 10 meses (03/2006 a 12/2006)

na *The University of Georgia* em Athens, Estados Unidos. Durante esse período, foi desenvolvido um protocolo de imunistoquímica para a detecção de antígeno da raiva em blocos de parafina com encéfalos fixados em formol. A descrição desse protocolo e os resultados parciais desse trabalho estão incluídos nesta tese. A maioria das conclusões desta tese estão nos trabalhos acima citados. Conclusões adicionais são que o MAPA programou e colocou em funcionamento um sistema de vigilância para a BSE relativamente eficiente. No entanto, pontos fracos do programa incluem um insuficiente número de encéfalos encaminhados aos laboratórios credenciados de bovinos que testaram negativo para raiva nos laboratórios oficiais de diagnóstico de raiva no Brasil, de bovinos importados e de bovinos submetidos ao abate de emergência em frigoríficos com serviço de inspeção federal. Do material examinado durante esses 5 anos, as doenças inflamatórias mais frequentes na região de abrangência do LPV/UFSM foram raiva, meningoencefalite por herpesvírus bovino-5 e febre catarral maligna, e as doenças degenerativas mais comuns são encefalopatia hepática e intoxicação por *Solanum fastigiatum*.

**Palavras-chave:** doenças de bovinos, neuropatologia veterinária.

## ABSTRACT

Doctoral Thesis in Veterinary Medicine  
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária  
Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brazil

### CHANGES OBSERVED IN THE BRAINS OF CATTLE SUBMITTED TO THE BRAZILIAN SURVEILLANCE PROGRAM FOR THE TRANSMISSIBLE SPONGIFORM ENCEPHALOPATHIES

AUTHOR: Raquel Rubia Rech

ADVISER: Claudio Severo Lombardo de Barros

Santa Maria, February 23, 2007

This study stems from the findings during the gross and histopathological exam of 3,338 cattle brains as part of the bovine spongiform encephalopathy (BSE) active surveillance program of the Brazilian Ministry of Agriculture, Livestock and Supply (MAPA) from 2001-2005. The work was carried out in the Veterinary Pathology Laboratory (LPV) of the Federal University of Santa Maria (UFSM) which is the national reference laboratory for the diagnosis of BSE and other transmissible spongiform encephalopathies. This work is presented in four parts. Initially the key events about the significance, etiology, epidemiology, clinical signs, pathology, and control of BSE are presented in order to provide the reader with the background that led the MAPA to develop this surveillance program for BSE. In the second part, the mechanics of the surveillance program are explained in detail and most of the written rules and ordinances issued by MAPA in order to strength the surveillance for BSE are included as annexes. The third part deals with the gross and histopathological examinations of the 3,338 cattle brains. Both gross and histopathological methodologies are described. Gross exam considered distribution, color, form, size, consistency and other general aspects of any particular change. Gross examinations included also *non-lesions* (anatomical normal structures that may be interpreted as lesions), lesions of limited or no clinical significance, *postmortem* changes and other artifacts. All these are considered pitfalls in the examination of the central nervous system (CNS). Accordingly equivalent pitfalls were described in the histopathological examination; additionally the normal CNS components are described together with their general reactions to injury. In the fourth part of the work, copies of papers that resulted from the systematic examination of 3,338 cattle brains during the BSE active surveillance program are included. The papers are allotted to two groups: the first group includes those primary papers that are a direct part of this thesis and in which the thesis' author is the senior author. These papers are: 1) Rech R.R. et al. 2004. Granulomatous meningoencephalitis in cattle grazing vetch (*Vicia* spp). *Pesq. Vet. Bras.* 24:169-172, 2) Rech R.R. et al. 2005. Malignant catarrhal fever in cattle in Rio Grande do Sul, Brazil: Epidemiology, clinical signs and pathology. *Pesq. Vet. Bras.* 25:97-105, 3) Rech R.R. et al. 2006. Histomorphology of the Gasserian ganglion, carotid rete mirabile and pituitary gland in cattle: A study of 199 cases. *Pesq. Vet. Bras.* 26:105-111, 4) Rech R.R. et al. 2006. Poisoning by *Solanum fastigiatum* (Solanaceae) in cattle: Epidemiology, clinical signs and morphometry of cerebellar lesions. *Pesq. Vet. Bras.*, 26:183-189, 5) Rech et al. 2006. Rabies in herbivores: 27 cases. Proceedings of the Annual National Meetings Veterinary Diagnostic Labs in Brazil, March 2006 (Abstract) and 6) Rech R.R. et al. 2007. Poisonous plants affecting the central nervous system (CNS) of cattle in Brazil, p. 238-243. In: Panter K.E.; Wierenga T.L. & Pfister J.A. (ed.). *Poisonous Plants: Global Research and Solutions*. Wallingford: CAB International. The second group of papers includes those that derived from the surveillance BSE program but were developed by another Graduate Student of the LPV/UFSM and in which this thesis' author (RR) is a co-author. These papers are: 1) Rodrigues A. et al. 2005. Cerebral babesiosis in cattle: 20 cases. *Ciência Rural* 35:121-125, 2) Barros R.R. et al. 2006. Ocular squamous cell carcinoma in a cow with cerebral invasion through cranial nerves. *Ciência Rural* 36:1651-1654, 3) Barros R.R. et al. 2006. Poisoning by *Ramaria flavo-brunnescens* (Clavariaceae) in cattle. *Pesq. Vet. Bras.* 26:87-96 and 4) Rissi D.R. et al. 2006. Epidemiology, clinical signs and distribution of the encephalic lesions in cattle affected by meningoencephalitis caused by bovine herpesvirus-5. *Pesq. Vet. Bras.* 26:123-132. During part of the Graduate Program that led to this Thesis the author stayed for 10 months in a CAPES-Sandwich-Fellowship in The University of Georgia at

Athens, USA where a protocol for immunohistochemistry (IHC) for detection of rabies antigen in formalin fixed paraffin blocks from bovine brain was established under the supervision of Prof. Corrie Brown. The description of this protocol and the partial results of the IHC diagnosis for rabies in cattle are included in the text of this Thesis. Most of the conclusions drawn from the work presented here are detailed in the papers listed above. Additionally conclusions are that the MAPA design and implemented an adequate system for BSE surveillance. Weak points in the program are that not enough samples from cattle that tested negative in the official laboratories for rabies diagnosis in Brazil, from imported cattle and from cattle submitted to emergence slaughter in abattoirs under federal Meat Inspection are arriving at the LPV/UFSM. From the material examined, it was also concluded that the more frequent inflammatory diseases in the brain of cattle are rabies, meningoencephalitis by bovine herpesvirus 5 and malignant catarrhal fever and the more frequent degenerative diseases are hepatic encephalopathy and poisoning by *Solanum fastigiatum*.

**Key words:** diseases of cattle, veterinary neuropathology.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Nas encefalopatias espongiformes transmissíveis (ou doenças priônicas), a PrP (PrP<sup>c</sup>), uma proteína normal de neurônios, é convertida em uma isoforma anormal composta de placas  $\beta$ -plissadas (PrP<sup>sc</sup>) através da interação de PrP<sup>sc</sup> com PrP<sup>c</sup>. (Reproduzido de Zachary J.F. 2007. Nervous system, p.833-971. In: McGavin M.D. & Zachary J.F. (ed.) Pathologic Basis of Veterinary Disease. 4<sup>th</sup> ed. Mosby Elsevier, St Louis. 1476p).....21

FIGURA 2 – Sinais clínicos, alterações histológicas no cérebro e infectividade tecidual em intervalos após o desafio com o agente da BSE por via oral durante um estudo experimental sobre patogênese (reproduzido de Bradley R. 2002. Bovine spongiform encephalopathy. Update. Acta Neurobiol. Exp. 62:183-195).....24

FIGURA 3 – Evolução da epidemia no Reino Unido. Número total de casos: 184.453. Fonte: www.oie.int. \*Dados colhidos até setembro de 2006.....27

FIGURA 4 – Número de casos de BSE (1989-2006) relatados em bovinos ao redor do mundo (excluindo o Reino Unido). Número total de casos: 5.601. Fonte: www.oie.int..... 27

FIGURA 5 – GBR (*Geographical BSE Risk*). No nível I, representados pela cor verde, são incluídos Argentina, Austrália, Islândia, Nova Zelândia, Nova Caledônia, Panamá, Paraguai, Cingapura, Uruguai e Vanuatu. No nível II, representados pela cor verde-clara, são incluídos, Botsuana, Brasil, Costa Rica, Croácia, El Salvador, Índia, Quênia, Colômbia, Maurícia, Namíbia, Nicarágua, Nigéria, Noruega, Paquistão, Suazilândia e Suécia. No nível III, representados pela cor azul, estão África do Sul, Albânia, Alemanha, Andorra, Áustria, Bielorrússia, Bélgica Bulgária, Canadá, Chile, Dinamarca, Eslováquia, Eslovênia, Espanha, Estados Unidos, Estônia, Finlândia, França, Holanda, Hungria, Irlanda, Israel, Itália, Japão,



Letônia, Liechtenstein, Lituânia, Luxemburgo, Macedônia, Malta, México, Polônia, República Tcheca, Romênia, São Marinho, Suíça, Turquia e Chipre. No nível IV estão Reino Unido e Portugal. Fonte: [www.efsa.eu.int](http://www.efsa.eu.int).....32

FIGURA 6 – Organograma do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) com ênfase nos serviços veterinários. *Cortesia: Coordenação da Raiva dos Herbívoros e outras Encefalopatias – MAPA*.....37

FIGURA 7 – Organograma do Departamento de Saúde Animal (DSA) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) do Brasil. *Cortesia: Coordenação da Raiva dos Herbívoros e outras Encefalopatias – MAPA*.....38

FIGURA 8 – Rede dos laboratórios credenciados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para o diagnóstico das encefalopatias espongiformes transmissíveis em ruminantes. Os estados com a mesma cor pela qual é representada um laboratório, devem enviar seus materiais para diagnóstico naquele laboratório. *Cortesia: Coordenação da Raiva dos Herbívoros e outras Encefalopatias - MAPA*.....40

FIGURA 9 – Programa de computador DXSNC. A. Página de tela de abertura do programa. B. Página de cadastro da amostra. ....43

FIGURA 10 – Condição da amostra que chega ao laboratório para o exame histológico. Essa amostra é catalogada como “partes anatômicas pertinentes não incluídas” devido à ausência do bulbo na altura do óbex, local anatômico onde se realiza o diagnóstico de BSE.....47

FIGURA 11 – Número de encéfalos de bovinos examinados de 2001-2005 durante o programa de vigilância das encefalopatias espongiformes transmissíveis, no Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria.....215

FIGURA 12 – Porcentagem de encéfalos com e sem alterações histológicas examinados entre 2001-2005, durante o programa de vigilância das encefalopatias espongiformes transmissíveis, no Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria.....215

FIGURA 13 – Número de encéfalos de bovinos examinados em cada categoria da amostra (em azul) e de encéfalos com lesões (em cor vinho), entre 2001-2005 durante o programa de vigilância das encefalopatias espongiformes transmissíveis no Laboratório de Patologia da Universidade Federal de Santa Maria.....216

FIGURA 14 – Categoria de lesões encontradas em 279 encéfalos de bovinos com alterações histológicas examinados entre 2001-2005, durante o programa de vigilância das encefalopatias espongiformes transmissíveis no Laboratório de Patologia da Universidade Federal de Santa Maria.....216

FIGURA 15 – Número de encéfalos de bovinos examinados entre 2001-2005, em cada categoria da condição da amostra, durante o programa de vigilância das encefalopatias espongiformes transmissíveis, no Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria.....219

FIGURA 16 – Número de encéfalos de bovinos examinados a cada ano (2001-2005), em cada categoria da condição da amostra, durante o programa de vigilância das encefalopatias espongiformes transmissíveis, no Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria.....219

FIGURA 17 – Número de encéfalos de bovinos examinados entre 2001-2005, por categoria da amostra, durante o programa de vigilância das encefalopatias espongiformes transmissíveis, no Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria.....220

## LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 – Encefalopatias espongiformes transmissíveis (TSEs) em pessoas.....	18
QUADRO 2 – Encefalopatias espongiformes transmissíveis (TSEs) em animais.....	19
QUADRO 3 – Nomenclatura das diferentes isoformas da proteína príon.....	22
QUADRO 4 – Resumo dos testes rápidos para detecção <i>postmortem</i> de isoformas alteradas de PrP no encéfalo de bovinos.....	31
QUADRO 5 – Laboratórios credenciados para a vigilância das encefalopatias espongiformes transmissíveis (EETs) e respectivos estados de atuação.....	40
QUADRO 6 – Categorias de amostras recebidas pelos laboratórios credenciados como parte do programa de vigilância das encefalopatias espongiformes transmissíveis.....	42
QUADRO 7 – Lista de diagnósticos de doenças ou lesões do sistema nervoso central de ruminantes utilizada no programa DXSNC.....	49
QUADRO 8 – Procedimentos para explicar erros de registros em cadernos de anotações, de acordo com listagem numérica.....	51

## **LISTA DE TABELAS**

TABELA 1 – Diagnósticos realizados em 279 encéfalos de bovinos examinados entre 2001-2005, durante o programa de vigilância das encefalopatias espongiformes transmissíveis, no Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria.....217

TABELA 2 – Diagnósticos por categoria da amostra realizados em 3.338 encéfalos de bovinos examinados entre 2001-2005, durante o programa de vigilância das encefalopatias espongiformes transmissíveis, no Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria.....217

## SUMÁRIO

<b>RESUMO.....</b>	<b>4</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>6</b>
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>8</b>
<b>LISTA DE QUADROS.....</b>	<b>11</b>
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>12</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>15</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>17</b>
2.1 Encefalopatia espongiforme bovina (BSE).....	17
2.2 Serviço de Vigilância para BSE no Brasil.....	37
<b>3. ALTERAÇÕES MACROSCÓPICAS E MICROSCÓPICAS DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL DE BOVINOS (PROGRAMA DXSNC 2001-2005).....</b>	<b>93</b>
3.1 Exame macroscópico.....	94
3.2 Exame microscópico.....	102
3.3 Neurocitopatologia.....	126
<b>4. TRABALHOS E RESUMO PUBLICADOS.....</b>	<b>143</b>
4.1 Meningoencefalite granulomatosa em bovinos em pastoreio de ervilhaca ( <i>Vicia</i> spp.).....	147
4.2 Febre catarral maligna em bovinos no Rio Grande do Sul: epidemiologia, sinais clínicos e patologia.....	151
4.3 Histomorfologia do gânglio de Gasser, da <i>rete mirabile</i> carotídea e da hipófise de bovinos: estudo de 199 casos.....	160
4.4 Intoxicação por <i>Solanum fastigiatum</i> (Solanaceae) em bovinos: epidemiologia, sinais clínicos e morfometria das lesões cerebelares.....	167
4.5 Poisonous plants affecting the central nervous system (CNS) of cattle in Brazil...	174
4.6 Raiva em herbívoros: 27 casos.....	180

4.7 Outros trabalhos ligados ao Programa DXSNC.....	186
4.7.1 Babesiose cerebral em bovinos: 20 casos.....	186
4.7.2 Intoxicação por <i>Ramaria flavo-brunnescens</i> (Clavariaceae) em bovinos.....	191
4.7.3 Epidemiologia, sinais clínicos e distribuição das lesões encefálicas em bovinos afetados por meningoencefalite por herpesvírus bovino-5.....	201
4.7.4 Carcinoma de células escamosas no olho de bovino com invasão cerebral através dos nervos cranianos.....	211
<b>5. RESULTADOS DO PROGRAMA DXSNC (2001-2005).....</b>	<b>215</b>
<b>6. DISCUSSÃO.....</b>	<b>221</b>
<b>7. CONCLUSÕES.....</b>	<b>226</b>
<b>8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>227</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Em 1986, casos de uma doença com sinais clínicos peculiares e lesões histológicas características no encéfalo foram observados em bovinos por veterinários ingleses e pesquisadores do *Central Veterinary Laboratory* de Weybridge, na Inglaterra. Essa doença foi rapidamente classificada como uma nova encefalopatia espongiforme (Wells et al. 1987) e foi denominada como encefalopatia espongiforme bovina (BSE). O que de início era apenas mais uma curiosidade do restrito número de doenças neurológicas de bovinos, transformou-se, nos anos subseqüentes, em uma epidemia catastrófica. A percepção negativa da epidemia atingiu seu clímax quando, em 1996, foram relatados, no Reino Unido, os 10 primeiros casos de uma nova forma de encefalopatia espongiforme em pessoas (a variante da doença de Creutzfeldt-Jakob - *vCJD*) (Will et al. 1996) que apresentava sólidas evidências de ser relacionada à ingestão de alimentos oriundos de bovinos infectados pelo agente da BSE; a doença dos bovinos passava então a ser percebida não só como uma doença epidêmica, mas também como uma zoonose.

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil (MAPA) reconheceu em seguida que teriam de ser adotadas medidas de vigilância que impedissem a entrada da BSE no país e, ao mesmo tempo, permitissem seu rápido reconhecimento e controle caso essa introdução ocorresse. O Laboratório de Patologia Veterinária (LPV) do Departamento de Patologia (DP) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) foi um colaborador de primeira hora do MAPA e já em janeiro de 1991 um docente do LPV/UFSM (Prof. Claudio Barros) fez parte de uma missão à Inglaterra para avaliar a situação da BSE. Em 2001, o LPV/UFSM começou a liderar a organização de uma rede de laboratórios para diagnóstico diferencial de doenças do sistema nervoso central (SNC) de bovinos (incluindo BSE), ministrando cursos em vários locais do Brasil e editando manuais sobre a doença. O LPV/UFSM tornou-se o laboratório de referência nacional do MAPA para o diagnóstico das encefalopatias espongiformes transmissíveis. Isso levou a um aumento no número de encéfalos examinados pelo laboratório e criou uma oportunidade para que assuntos relacionados à patologia do SNC de bovinos fossem estudados de maneira criteriosa e sistemática. Este trabalho é o resultado desse estudo realizado em cinco anos (2001-2005).

De janeiro de 2001 até dezembro de 2005, foram examinados no LPV/UFSM, 3.338 encéfalos de bovinos. Esse material formou o núcleo central deste estudo. Todos os encéfalos foram avaliados para determinar a morfologia, a distribuição e a frequência de alterações do SNC de bovinos, a fim de fornecer dados úteis que facilitem a interpretação dessas alterações por patologistas que têm a tarefa de examinar o SNC de bovinos para fins de diagnóstico. Além disso, pretendeu-se fazer uma breve revisão histórica da BSE para colocá-la no contexto desse estudo e descrever os métodos de vigilância adotados pelo governo brasileiro para evitar a introdução da doença no país. O trabalho foi então dividido em quatro partes: 1) revisão bibliográfica sobre a BSE; 2) descrição do programa de vigilância para BSE instituído pelo MAPA; 3) descrição e interpretação das alterações relacionadas às doenças, não-lesões e alterações incidentais do SNC dos bovinos examinados desde 2001 até 2005, e 4) publicação de trabalhos científicos de algumas doenças e lesões observadas durante o serviço de vigilância, com ênfase na descrição de achados epidemiológicos, clínicos e anatomopatológicos que facilitem o diagnóstico diferencial das doenças que afetam o SNC de bovinos na área de abrangência do LPV/UFSM.



## **2 REVISÃO DA LITERATURA**

### **2.1 ENCEFALOPATIA ESPONGIFORME BOVINA (BSE)**

#### **2.1.1 BSE, uma ausência marcante**

Desde seu reconhecimento oficial em novembro de 1986 (Wells et al. 1987) a BSE tem assombrado pessoas de vários países por diferentes razões. Mesmo em países como o Brasil, onde existe uma vigilância relativamente eficiente para a BSE e onde essa doença jamais foi diagnosticada, os consumidores de carne, as autoridades sanitárias, os profissionais da veterinária e outros segmentos da sociedade convivem com o espectro ameaçador da BSE, mormente agora em que se sabe que a doença é uma zoonose (Will et al. 1996, Almond & Pattison 1997, Hill et al. 1997). Embora ausente do país, sua ameaça constante tem levado os governos brasileiros a investir consideráveis somas de dinheiro em métodos de vigilância e controle da BSE. Em razão disso, durante os quase 20 anos de seu reconhecimento, a doença levou pesquisadores e veterinários em geral a olhar com mais interesse e cuidado para as doenças do sistema nervoso central (SNC) em bovinos.

Sem dúvida, uma grande parte do material apresentado nesta tese é o subproduto da perseguição a uma doença que nunca foi encontrada. No entanto, pelo caminho encontraram-se outras enfermidades e lesões que enriqueceram a nossa casuística de doenças do SNC de bovinos e a nossa compreensão da anatomia, histologia e patologia desse sistema tão complexo. Esses acréscimos ao nosso conhecimento sobre o normal e o alterado no SNC de bovinos são relatados nas seções seguintes. Mas, pelo exposto acima é justificável que, antes disso, se faça uma breve revisão sobre a BSE.

#### **2.1.2 Definição**

A BSE é uma doença neurodegenerativa progressiva de bovinos (Stevenson et al. 2000). Casos foram observados pela primeira vez em 1985-86 na Inglaterra, em bovinos que provavelmente haviam se infectado quando bezerros no inverno de 1981-1982 (Collee & Bradley 1997a). A BSE é caracterizada clinicamente por nervosismo,

reação exagerada a estímulos externos, dificuldade de locomoção, principalmente nos membros pélvicos (Wells et al. 1987), e recebeu logo de início a denominação coloquial de “doença da vaca louca”. Pertence a um grupo de doenças denominadas encefalopatias espongiformes transmissíveis (TSEs) ou doenças priônicas, i.é, causadas por *prions* (Woolhouse & Anderson 1997, Foster et al. 2001, Weissman et al. 2002, Soto 2004, Weissman 2004, Johnson 2005, Mabbot & McPherson 2006, Saá et al. 2006). As TSEs ocorrem em seres humanos (Quadro 1) e animais (Quadro 2) e caracterizam-se por serem doenças neurológicas progressivas e invariavelmente fatais, apresentarem um longo período de incubação (meses ou anos), desenvolver lesões (alterações espongiformes) restritas ao SNC, serem transmissíveis natural ou experimentalmente e não induzirem resposta imune-inflamatória.

Quadro 1. Encefalopatias espongiformes transmissíveis (TSEs) em pessoas

Doença esporádica (sem antecedentes prévios conhecidos)	Doença de Creutzfeldt-Jakob (CJD). Ocorre em todo o mundo com uma incidência de cerca de um caso por um milhão de pessoas
Doença adquirida pela contaminação com o agente infeccioso	Kuru (canibalismo, epidêmica na população Foré de Papua-Nova Guiné) CJD iatrogênica (transplantes, administração de hormônios) Nova variante da CJD (vCJD, ingestão de alimentos contaminados pelo agente da BSE)
Doença familiar (herdada geneticamente)	CJD familiar. Representa 10%-15% de todos os casos de CJD Síndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker (GSS). Incidência de cerca de um caso por 10 milhões de pessoas Insônia fatal familiar Doenças priônicas atípicas. Não se ajustam facilmente aos critérios diagnósticos das TSEs

Reproduzido de Ridley R.M. & Baker H.F. 1998. Fatal protein. The story of CJD, BSE and other prion diseases, p. 3. Oxford University Press, Oxford, England. 249p.

Quadro 2. Encefalopatias espongiformes transmissíveis (TSEs) em animais

<i>Scrapie</i>	Doença endêmica rara de ovinos e caprinos. Considerada o protótipo das TSEs
Encefalopatia transmissível dos visons (TME)	Doença de visons criados para fins comerciais (pele). Provavelmente causada pela alimentação dos visons com carne de ovelha contaminada com <i>scrapie</i>
Doença depauperante crônica (CWD)	Doença de origem obscura que afeta alces selvagens e em cativeiro nos Estados Unidos e Canadá
Encefalopatia espongiforme dos bovinos (BSE)	Doença epidêmica em bovinos de leite, principalmente no Reino Unido. Causada provavelmente pela alimentação de bovinos com rações contendo restos de ovinos infectados por <i>scrapie</i> , de bovinos infectados por BSE ou de ambos
Encefalopatia espongiforme felina (FSE)	Doença observada em gatos domésticos e em alguns outros felídeos selvagens em cativeiro (puma, guepardo e ocelote). Causada provavelmente pela alimentação desses animais com ração contendo material contaminado por BSE
Encefalopatia espongiforme em outras espécies	Identificada em vários ruminantes de zoológico (por ex., kudu, ôrix árabe e cimitar). Causada provavelmente pela alimentação desses animais com ração contendo material contaminado por BSE

Reproduzido de Ridley R.M. & Baker H.F. 1998. Fatal protein. The story of CJD, BSE and other prion diseases, p. 8, Oxford University Press, Oxford, England. 249p.

### 2.1.3 Etiologia

A primeira transmissão de uma TSE foi conseguida por cientistas franceses (Cuillé & Chelle 1936), que inocularam um ovino intraocularmente com material de cérebro de outro ovino afetado por *scrapie*. O animal do experimento desenvolveu a doença, mas somente 18 meses após a inoculação, o que suscitou dúvidas entre causa e efeito. No entanto, no ano seguinte a transmissibilidade das TSEs foi acidentalmente confirmada quando um veterinário inoculou 18.000 ovinos na Escócia com uma vacina contra uma doença viral daquela região, a *louping ill* (Ridley & Baker 1998). Essa vacina era feita com um extrato de cérebro inativado com formol e uma partida fora feita com cérebros de ovinos afetados por *scrapie*. Surpreendentemente, 2-3 anos após a vacinação, 35% do rebanho vacinado desenvolveu *scrapie*, naquela época já uma conhecida encefalopatia espongiforme de ovinos. Subseqüentemente, a *scrapie* foi

experimentalmente transmitida para ovinos e camundongos. A semelhança das lesões morfológicas de *scrapie* com uma TSE de humanos (Hadlow 1959) denominada Kuru, que ocorria na Nova Guiné em pessoas que praticavam canibalismo ritualístico, levou à suspeita da natureza infecciosa da doença humana. Isso foi comprovado com a reprodução da Kuru em chimpanzés pela inoculação de homogenados de cérebros de pessoas mortas por Kuru (Gajdusek et al. 1966). A confirmação da transmissibilidade de outra TSE humana, a doença de Creutzfeldt-Jakob (CJD), foi um seguimento óbvio dessas pesquisas sobre a transmissibilidade das TSEs (Gibbs et al. 1968). Assim essas enfermidades começaram a ser percebidas como um grupo distinto de doenças.

No entanto, a natureza do agente etiológico era desconhecida e controversa e permanece controversa até os dias de hoje. O agente foi inicialmente denominado “vírus lento” (Cho 1976) devido ao longo tempo decorrido entre a infecção e o desenvolvimento dos sinais clínicos. Doenças produzidas por vírus lentos não traziam a cognição de doença crônica, mas de doença em que os eventos patogénéticos desenvolvem-se em “câmara lenta”. A teoria viral, embora desacreditada por muitos, não foi ainda totalmente abandonada por alguns pesquisadores. No entanto, o agente difere dos vírus e de outros agentes convencionais. Já em 1967, pesquisadores relataram que o agente da *scrapie* era extremamente resistente a tratamentos que normalmente destruíam os ácidos nucleicos, como a luz ultravioleta e radiação (Alper et al. 1967). Os achados desses autores indicavam que ácidos nucleicos não eram necessários para a replicação do agente e conduziram a hipóteses alternativas. Uma delas é que o agente fosse um *virino*, i.é, uma molécula de informação (muito provavelmente um fragmento de ácido nucleico) protegida por uma capa protéica (Kimberlin 1982). As dimensões diminutas do ácido nucleico e a forte capa protéica poderiam explicar a resistência aos procedimentos que normalmente destroem os ácidos nucleicos. Apesar disso, nenhum fragmento de ácido nucleico foi encontrado em mais de 30 anos de pesquisa que se seguiram.

Já em 1967 foi proposto pela primeira vez que o agente responsável pela transmissão da *scrapie* era apenas uma proteína capaz de replicar no organismo (Griffith 1967). Esse trabalho lançou a hipótese conhecida hoje como “hipótese de apenas proteína” (*protein only-hypothesis*) que foi levada adiante pelos trabalhos de Stanley Prusiner, que batizou a proteína de príon, sigla em inglês para (*proteinaceous infectious particle*) (Prusiner 1982) ou PrP. As evidências para a “hipótese de apenas uma proteína” se acumularam ao longo dos anos subseqüentes e geraram a hipótese

quase universalmente aceita como etiologia das TSEs. Foi demonstrado também que a PrP pode existir em duas formas: a isoforma normal, um polipeptídeo de 33-35 kd, encontrada principalmente em neurônios (denominada PrP<sup>c</sup>, *c* de célula) e uma isoforma anormal, um polipeptídeo de 27 a 30 kd denominado de PrP<sup>sc</sup> (*sc* de *scrapie*, a doença protótipo das TSEs) que é uma desfiguração na estrutura tridimensional da proteína normal (PrP<sup>c</sup>). Embora o mecanismo de formação da PrP<sup>sc</sup> não seja completamente entendido, uma transformação pós-translacional da PrP<sup>c</sup> é sugerida (Figura 1). Esse mecanismo propõe que a PrP<sup>sc</sup> atue como um molde sobre o qual a estrutura da PrP<sup>c</sup> é alterada: a disposição espacial de aminoácidos em  $\alpha$ -hélice predominante em PrP<sup>c</sup> é alterada para uma disposição em placas  $\beta$ -plissadas, características da PrP<sup>sc</sup>. Um glossário dos vários tipos de príons está no Quadro 3 (Soto 2004).

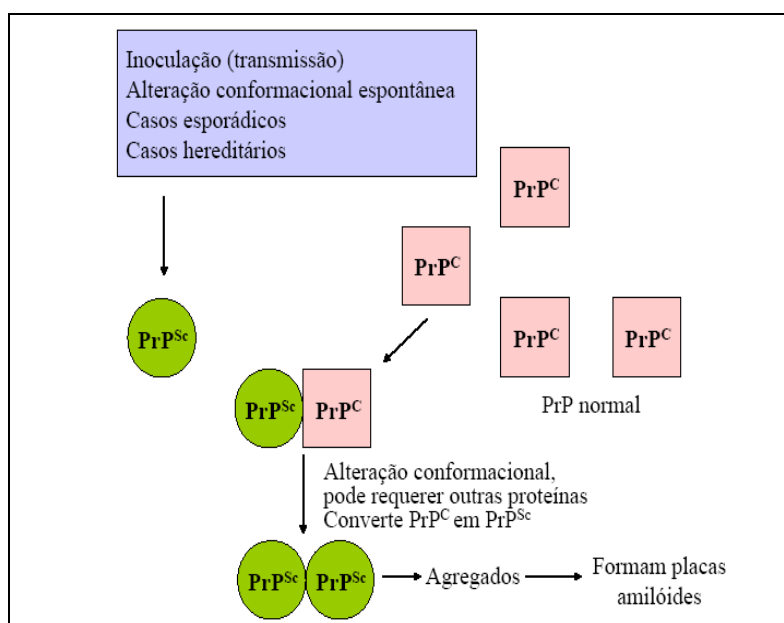


Figura 1. Nas encefalopatias espongiformes transmissíveis (ou doenças priônicas), a PrP (PrP<sup>c</sup>), uma proteína normal de neurônios, é convertida em uma isoforma anormal composta de placas  $\beta$ -plissadas (PrP<sup>sc</sup>) através da interação de PrP<sup>sc</sup> com PrP<sup>c</sup>. (Reproduzido de Zachary J.F. 2007. Nervous system, p.833-971. In: McGavin M.D. & Zachary J.F. (ed.) Pathologic Basis of Veterinary Disease. 4<sup>th</sup> ed. Mosby Elsevier, St Louis. 1476p.

Quadro 3. Nomenclatura das diferentes isoformas da proteína príon

<b>PrP</b> Refere-se a todas as proteínas príon e não distingue entre as diferentes isoformas.
<b>PrP<sup>c</sup></b> A isoforma celular normal que está presente em pessoas e animais saudáveis. Essa forma é rica em conformação em $\alpha$ -hélice, é solúvel e sensível às proteases.
<b>PrP<sup>sc</sup></b> A proteína príon “mal dobrada” associada à doença e que está presente em indivíduos afetados por TSEs. É infecciosa, ocorre em grande parte com conformação em placas $\beta$ -plissadas. É insolúvel e, na sua maior parte, resistente às proteases.
<b>PrP<sup>res</sup></b> Refere-se à proteína príon, resistente à protease, rica em $\beta$ -plissada, que pode ou não ser idêntica à PrP <sup>sc</sup> . Em particular esse termo se refere à proteína resistente à protease que é produzida <i>in vitro</i> e que não foi comprovada experimentalmente como sendo infecciosa.
<b>PrP 27-30</b> É o núcleo resistente à protease que permanece após o tratamento da PrP <sup>sc</sup> ou PrP <sup>res</sup> . Consiste dos últimos dois terços da proteína.

Adaptado de Soto C. 2004. Diagnosing prion diseases: needs, challenges and hopes. Nature Reviews, Microbiology 2:809-819.

A BSE tem sido transmitida experimentalmente, via parenteral, de bovinos para camundongos, bovinos, suínos, ovinos e caprinos, visons, sagüis, macaco *cynomolgus*, e cobaias, mas não para hamsters e galinhas (Collee & Bradley 1997a, Wells & Wilesmith 2004). Pela via oral o agente já foi transmitido (em alguns casos com doses bastante altas) para bovinos, ovinos, cabras, camundongos e lêmures (*Microcebus murinus*) (Wells & Wilesmith 2004). Um grama de cérebro de bovino infectado por BSE é suficiente para transmitir a doença por via oral para outro bovino (Wells 2003). Algumas espécies, notavelmente suínos, cães e veados criados em fazenda não se infectam. Suínos não foram afetados pelo menos até 6,5 anos depois do desafio por via oral (Wells 2003).

#### 2.1.4 Patogênese

As TSEs são causadas pela transformação da PrP<sup>c</sup> em PrP<sup>sc</sup> e essas doenças são caracterizadas por vacuolização de neurônios, astrogliose, apoptose neuronal e acúmulo da proteína “corrompida” no SNC. Esse acúmulo assume, por vezes, a conformação do amilóide, i.é, placas  $\beta$ - plissadas (Soto 2004).

Nas TSEs, na maioria das vezes, a infecção ocorre por via oral. Estudos em humanos e em ovinos com *scrapie* indicam que os príons ingeridos por via oral são absorvidos no intestino, principalmente nas placas de Peyer, e transportados pelo sangue e pela linfa. Após replicar em órgãos do sistema reticuloendotelial (SRE) como baço, apêndice e tonsilas ou outros tecidos linfóides, os príons são transportados para o encéfalo, principalmente pelos nervos periféricos (Aguzzi 2003). A penetração no encéfalo através da barreira hematoencefálica também é possível (Mabbott & MacPherson 2006).

Um estudo da patogênese da BSE em bovinos (Wells et al. 1998, Wells 2003) examinou o desenvolvimento espacial e temporal da infecção e as alterações patológicas em bezerros de 4 meses após inoculação oral com 100 g de homogenado de cérebro de bovino afetado por BSE. Os bezerros foram mortos seqüencialmente em intervalos de 4 meses e um grande número de tecidos foi colhido para ensaios convencionais de infectividade em camundongos. O bezerro que mostrou os sinais clínicos mais cedo adoeceu 35 meses após a dosagem. A infectividade em tecidos não-neurais esteve confinada à porção distal do íleo (6-18 meses e 36-40 meses após a dosagem). No SNC o aparecimento mais precoce da PrP anormal (32 meses após dosagem) coincidiu com a infectividade mais precoce e ocorreu antes de serem observadas as alterações histológicas no cérebro, aos 36, 38 e 40 meses após a dosagem. A infectividade foi também demonstrada em gânglios sensoriais do sistema nervoso periférico 32-40 meses após a dosagem. Traços de infectividade foram observados na medula óssea de bovinos sacrificados 38 meses após a exposição. A patogênese da BSE em bovinos, embora pareça em muitos aspectos semelhante à da *scrapie* e de outras TSEs de animais após exposição oral (Soto 2004), difere pelo fato de apresentar um mínimo envolvimento do SRE (Wells 2003).

Na Figura 2 (Bradley 2002) estão representados os intervalos de aparecimento, sinais clínicos, alterações histológicas no encéfalo e infectividade tecidual após o desafio com BSE por via oral.

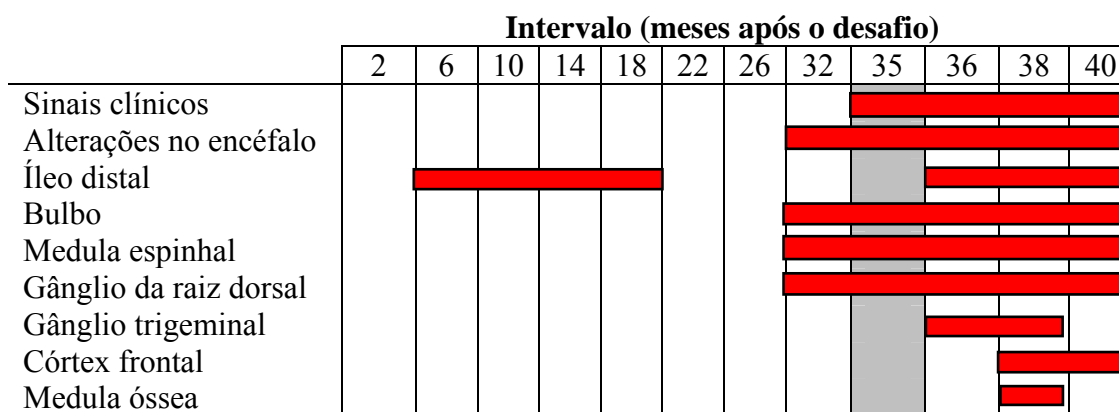


Figura 2. Sinais clínicos, alterações histológicas no cérebro e infectividade tecidual em intervalos após o desafio com BSE por via oral durante um estudo experimental sobre patogênese (Reproduzido de Bradley R. 2002. Bovine spongiform encephalopathy. Update. Acta Neurobiol. Exp. 62:183-195).

### 2.1.5 Epidemiologia

A BSE disseminou-se na população bovina através da alimentação com rações de farinha de carne ou de osso contaminadas pelo príon. A ingestão de 1 grama de encéfalo de um animal infectado é suficiente para produzir a doença. Não há evidência de que a BSE se dissemine horizontalmente, mas sugere-se que a transmissão maternal ou vertical possa acontecer em níveis baixos (Wilesmith et al. 1997).

A fonte da infecção pode ter sido a entrada na cadeia alimentar (farinha de carne e osso) de ovinos infectados com *scrapie* ou bovinos afetados por uma forma esporádica da doença, até então não detectada. Alternativamente, ruminantes exóticos de zoológicos afetados por uma TSE não detectada podem ter sido a fonte da infecção, quando suas carcaças foram processadas para alimentação animal (Ridley & Baker 1998). Para testar a hipótese de que a BSE se originou de ovinos infectados por *scrapie*, várias fontes de *scrapie* em ovinos e caprinos foram transmitidas para bovinos por injeção intracerebral ou outras vias parenterais, mas a transmissão não foi conseguida por via oral e o agente não se alterou na sua primeira passagem de bovino para bovino por inoculação intracerebral. Dessa forma, acredita-se que o isolado de BSE é um agente de TSE, que após várias passagens, tornou-se adaptado em bovinos. Não se exclui a possibilidade de que uma cepa de *scrapie* poderia ter produzido o fenótipo da BSE através de passagens seriadas em bovinos (Wells & Wilesmith 2004). A entrada dos primeiros bovinos infectados na cadeia alimentar desencadeou a epidemia.



Com frequência aparecem várias teorias, impossíveis de comprovar, mas também difíceis de refutar, sobre a origem do agente da BSE. Por exemplo, recentemente (Colchester & Colchester 2005) foi sugerido que o agente da BSE tenha se originado de restos de cadáveres humanos provenientes do subcontinente indiano. Nessa área, por motivos religiosos, os restos de pessoas que morrem devem ser lançados num rio, preferencialmente o Rio Ganges. Nas décadas de 1960 e 1970, o Reino Unido importou centenas de milhares de toneladas de ossos inteiros e moídos e parte de cadáveres de mamíferos. Cerca de 50% dessas importações vieram da Índia e Paquistão e foram comercializadas no Reino Unido como fertilizante e como alimento animal. Muito desse material foi dragado de rios no subcontinente indiano e consistia de restos humanos, que, segundo os autores, poderiam conter o príon (de uma pessoa com a doença de Creutzfeldt-Jakob) que deu origem à epidemia na Inglaterra. Essa teoria é bastante contestada (Shankar & Satishchandra 2005), mas foi publicada num periódico científico (*The Lancet*) de prestígio.

Alterações nos processos de fabricação das rações de farinha de carne e de osso podem ter contribuído para o aparecimento da doença. Essas mudanças foram as seguintes (Collee & Bradley 1997b): a farinha de carne e de osso era produzida na Inglaterra a partir de carcaças de animais rejeitados para consumo ou mesmo mortos na fazenda. Esse processo era feito por um tipo de indústria conhecido no Reino Unido e nos Estados Unidos como *rendering plants*, que pode ser traduzido livremente por graxaria, mas que são fábricas que recebem restos de animais de fazenda mortos, doentes e em outras condições não-adequadas para consumo. O uso dessa farinha de carne na alimentação de bovinos foi iniciado na Inglaterra em 1940 e interrompido pela lei em julho de 1988, após o surgimento da BSE. Nessa época havia 46 graxarias no Reino Unido. O material era fragmentado e processado em vários sistemas em temperaturas que variavam de pouco abaixo de 100°C até 150°C. O sebo derretido (*tallow*) quando separado dos sólidos ricos em proteínas (*greaves* é o resíduo não-derretido que sobra após a gordura animal ser processada e, portanto pode ser traduzido livremente por *torresmo*). A farinha de carne e de osso era feita moendo-se o torresmo. Nesse estágio, o torresmo bruto poderia conter cerca de 14% de gordura, mas o processamento do torresmo tradicionalmente incluía ainda mais um passo, visando aumentar o índice de gordura derretida extraída no processo através de calor adicional prolongado (cerca de 8 horas a 70°C) na presença de solvente de hidrocarboneto. Após esse processo, o torresmo continha menos que 1% de gordura. O

resíduo de solvente no torresmo era recuperado por tratamento de vapor sob pressão. No final da década de 1970 e início da década de 1980 esses dois passos no processo (remoção da gordura do torresmo por solvente e recuperação do solvente por vapor) foram omitidos por razões comerciais (o preço do sebo tinha caído) e de segurança (o solvente de hidrocarbonetos era cancerígeno). Assim, o agente da BSE que estivesse presente nesse material, não seria mais submetido à ação do solvente e tenderia a ficar mais protegido no torresmo com porcentagem maior de gordura. Em 1981–82, a última graxaria retirou o solvente do processo da fabricação de farinha de carne e osso, o que estaria de acordo com o aparecimento da BSE em 1985–86.

Os primeiros casos de BSE ocorreram pela primeira vez na Inglaterra em 1985-1986 e 97% dos casos ocorreram no Reino Unido (Bradley 2002), embora a doença já tenha se espalhado por 24 países (Alemanha, Áustria, Bélgica, Canadá, Dinamarca, Eslováquia, Eslovênia, Espanha, Estados Unidos, Finlândia, França, Grécia, Holanda, Irlanda, Israel, Itália, Japão, Liechtenstein, Luxemburgo, Polônia, Portugal, República Tcheca, Suécia, Suíça), num número relativamente pequeno de bovinos nativos. Acredita-se que nesses casos o agente infeccioso foi adquirido por via oral na ração de farinha de carne e de osso importada da Grã-Bretanha. É altamente provável que a alta incidência de BSE no Reino Unido tenha ocorrido pela concatenação de diversas circunstâncias, que ocorreram somente nessa área e incluem: alta taxa de ovinos em relação aos bovinos, alta prevalência de *scrapie* na população ovina, e a massiva alimentação dos bovinos com farinha de carne e osso e as mudanças no seu processo de fabricação (Wells & Wilesmith 2004). A evolução da epidemia pode ser acompanhada nas Figuras 3 e 4. O uso dessa farinha de carne e osso para animais de produção foi banido em janeiro de 2001 em toda a União Européia. Por isso é improvável que grandes epidemias, como a que ocorreu no Reino Unido, ocorram em outros países.

No curso da epidemia da BSE, até dezembro de 2002, 43 e 93 casos de encefalopatia espongiforme foram diagnosticados em ruminantes selvagens mantidos em cativeiro e em gatos (domésticos e selvagens), respectivamente. Estudos epidemiológicos demonstraram que esses animais foram expostos com a mesma alimentação usada para bovinos ou a ração comercial utilizada na indústria pet que continha tecidos bovinos considerados de alto risco (ex.: cabeças) (Wells e Wilesmith 2004). Em relação à vCJD, 146 pessoas foram diagnosticadas com a doença no Reino Unido e mais 10 no resto do mundo (Prusiner 2004).

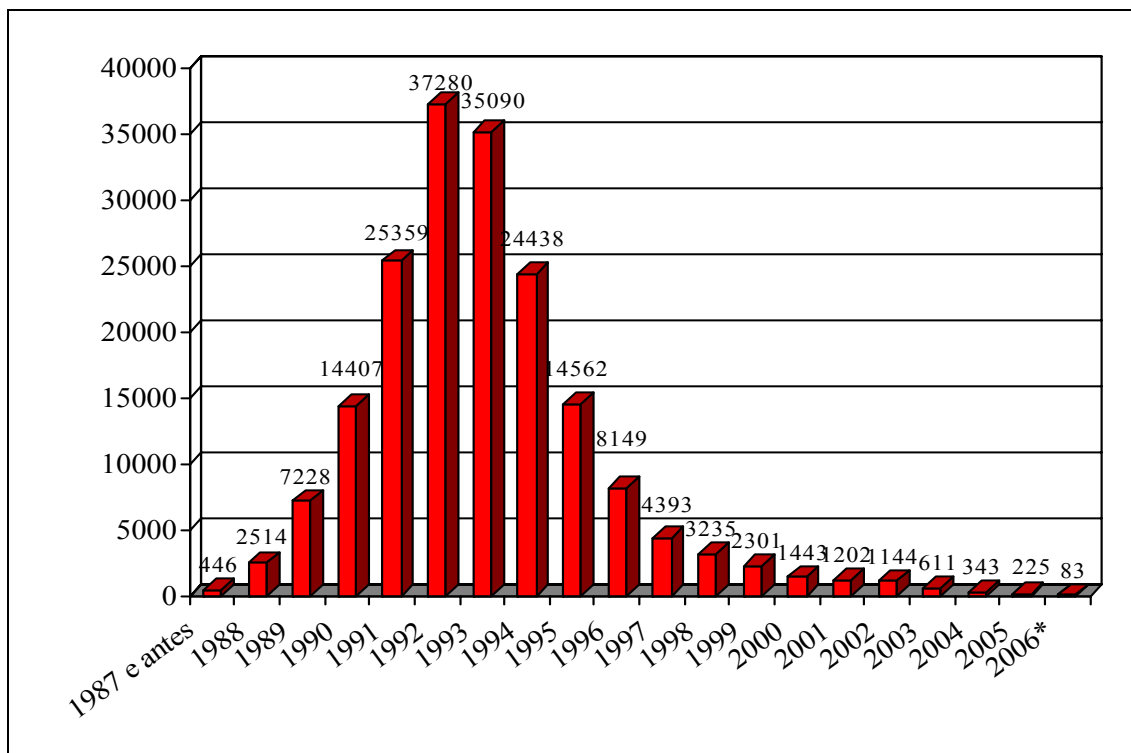


Figura 3. Evolução da epidemia no Reino Unido. Número total de casos: 184.453. Fonte: [www.oie.int](http://www.oie.int). \*Dados colhidos até setembro de 2006.

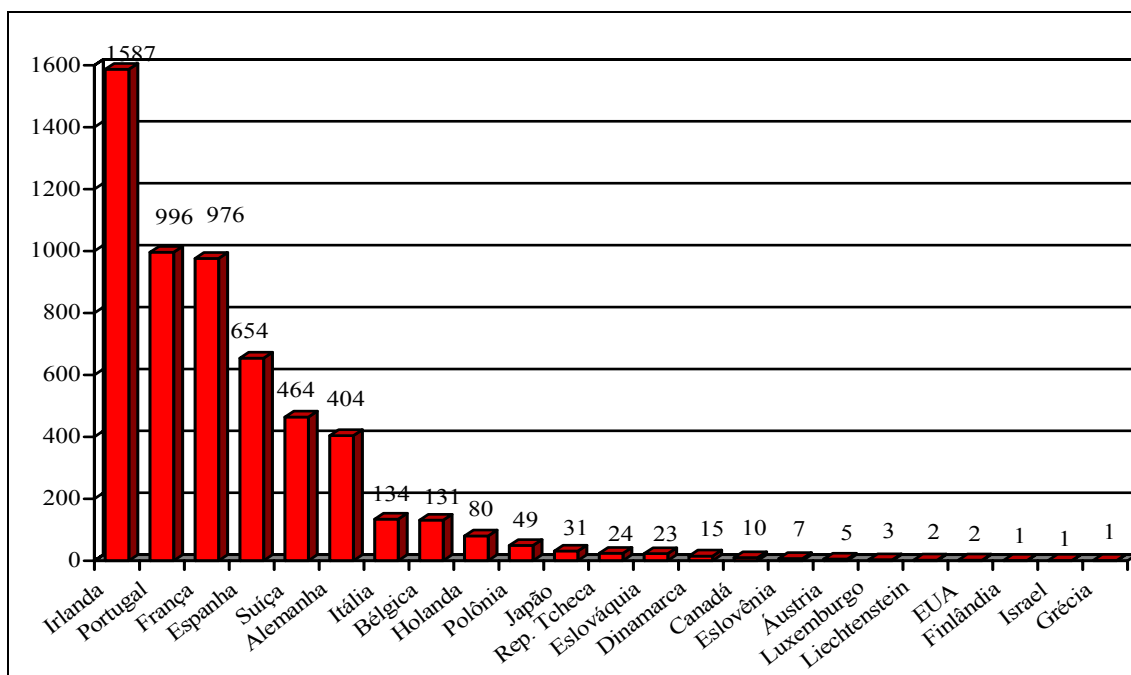


Figura 4. Número de casos de BSE (1989-2006) relatados em bovinos ao redor do mundo (excluindo o Reino Unido). Número total de casos: 5.601. Fonte: [www.oie.int](http://www.oie.int)

Menos que 50 casos de BSE em bovinos importados do Reino Unido foram relatados em outros países. Considerando que mais que 50.000 bovinos foram exportados pela Inglaterra no período crítico após 1985, é surpreendente que um número tão pequeno de casos tenham sido relatados em outros países. É também surpreendente que relativamente poucos casos de BSE tenham sido relatados em bovinos de outros países da Europa e da América do Norte, uma vez que grande quantidade de farinha de carne e de osso (> de 71.000 toneladas) tenha sido exportada pelo Reino Unido para esses países até 1990 (Collee & Bradley 1997a).

A idade média de ocorrência da BSE é 5 anos; a idade do bovino mais novo afetado era 20 meses e a do mais velho 18 anos. Não foi detectada predileção por raça ou sexo. Bovinos adultos de leite eram principalmente afetados na epidemia porque essa categoria recebia, quando bezerro, farinha de carne e de osso que continha o agente e porque geralmente bovinos dessa categoria vivem mais e alcançam a idade de desenvolvimento da doença. Na Inglaterra, bezerros machos paridos por vacas leiteiras são abatidos para consumo ao redor de dois anos de idade. Poucos animais são afetados por rebanho. Trinta e cinco por cento das fazendas tiveram apenas um caso e 69% tiveram 4 casos ou menos (Collee & Bradley 1997a). A baixa incidência por rebanho (<3% em qualquer determinado período de 6 meses desde que a epidemia no Reino Unido começou) é atribuída à baixa exposição dos bovinos a “pacotes” de infectividade que eram amplamente espaçados em diferentes partidas de ração (Kimberlin & Wilesmith 1994).

### **2.1.5 Sinais clínicos**

O período de incubação da BSE é, em média  $5 \pm 1,6$  anos (Wells & Wilesmith 2004). Após o aparecimento dos sinais clínicos, a doença evolui invariavelmente para a morte num curso de 3 semanas a 6 meses. Bovinos afetados por BSE sofrem de degeneração progressiva do SNC e podem apresentar alterações do comportamento, da sensibilidade e da locomoção (Davis et al. 1991, Wells et al. 1987).

Os distúrbios do comportamento incluem nervosismo, medo ou agressividade, postura anormal, incoordenação e dificuldade em levantar. Bovinos com BSE são freqüentemente muito nervosos, alertas e excitáveis, alterações que podem se manifestar por um tipo de movimento espasmódico de todo o corpo. Esses distúrbios

no comportamento são mais evidentes quando o bovino é perturbado. Lamber freqüente do focinho, franzir do nariz e ranger de dentes são sinais clínicos comuns. Outros sinais clínicos possíveis de ocorrer são salivação e um olhar assustado com olhos esbugalhados. Alguns bovinos exibem movimentos nervosos das orelhas. Nos estágios terminais da BSE, o bovino apresenta dificuldade em levantar-se ou pode permanecer em decúbito permanente. Sinais clínicos relacionados com distúrbios da sensibilidade incluem reação exagerada ao toque (a mais comum), ao som e à luz. Os distúrbios da locomoção comumente observados são andar rígido, incoordenação, hipermetria e ataxia generalizada. A hipermetria é mais acentuada nos membros pélvicos e confere aos bovinos um passo alto, semelhante ao observado em cavalos com harpejamento. A ataxia grave evolui para quedas e finalmente paresia dos membros pélvicos e decúbito.

### **2.1.6 Patologia**

Não há lesões macroscópicas diretamente relacionadas à doença, mas as lesões microscópicas da BSE são bastante específicas (Wells et al. 1989, Wells et al. 1991, Simmons et al. 1996). São lesões degenerativas, simétricas e bilaterais e localizam-se em certas regiões da substância cinzenta do tronco encefálico (Wells et al. 1989, Wells et al. 1991). Qualitativamente essas alterações consistem de alteração espongiforme, vacuolização neuronal, reação astrocitária e degeneração neuronal (Wells & Wilesmith 2004). Duas apresentações de vacuolização neuronal são observadas. Na neurópila, há vacúolos nos neuritos de até 20  $\mu\text{m}$  de diâmetro (alteração espongiforme). No pericário, ocorrem vacúolos maiores, solitários ou múltiplos, que chegam a 30-40  $\mu\text{m}$  de diâmetro. Esses vacúolos distendem o pericário, produzindo neurônios balonosos que conservam apenas uma fina margem de citoplasma. A presença de vacúolos na neurópila da substância cinzenta e no pericário dos neurônios são os critérios para o diagnóstico positivo de BSE, no exame histológico (Wells et al. 1991).

A distribuição das lesões é bastante regular. As áreas mais afetadas são o núcleo do trato solitário, trato espinhal do nervo trigêmeo, núcleo vestibular, formação reticular do bulbo, substância cinzenta periaqueductal do mesencéfalo, área paraventricular do tálamo e septo talâmico. A densidade de vacúolos é maior no bulbo, mesencéfalo e tálamo. A medula espinhal foi avaliada em apenas 10 casos confirmados

da doença e as alterações vacuolares foram confinadas ao corno dorsal da substância cinzenta nas regiões cervical, torácica e lombar (Wells & Wilesmith 2004).

O mapeamento das lesões em 684 cérebros afetados por BSE revelou que, em 99,6% dos casos, o corte do bulbo no nível do óbex apresentou as alterações características da doença, principalmente as alterações espongiiformes no núcleo do trato solitário e no trato espinhal do nervo trigêmeo, indicando que esse é o corte do encéfalo mais importante para o diagnóstico (Wells et al. 1991). Estudos em camundongos e ovinos têm demonstrado que há dois principais determinantes para o padrão da lesão observada nas TSEs: o genótipo do hospedeiro (principalmente em relação ao gene *PRNP*) e o agente ou cepa do príon. A uniformidade das lesões da BSE sugere que há pouca variação no genótipo do hospedeiro e que há um único agente ou cepa de príon (Wells & Wilesmith 2004). Em 2004, surgiram casos de BSE na Itália que demonstraram padrão de localização do PrP<sup>Sc</sup> na imunoistoquímica diferente do padrão observado em casos antes observados, que consistem de depósitos granulares no pericário e na neurópila. Esses casos atípicos caracterizavam-se por depósitos de placas amilóides, depósitos gliais e granulares extracelulares no tálamo, substância branca subcortical e camadas profundas do córtex cerebral. O padrão bioquímico foi similar ao encontrado nos casos esporádicos de CJD (Casalone et al. 2004). Esse novo fenótipo de BSE ficou conhecida com BASE (*bovine amyloidotic spongiform encephalopathy* – encefalopatia espongiiforme amiloidótica bovina). Três casos atípicos de BSE também foram observados na França e um no Japão (Biacabe et al. 2004, Yamakawa et al. 2003).

Ultra-estruturalmente, a BSE é caracterizada por numerosos vacúolos nos processos neuronais, reação astrocitária caracterizada por processos com abundantes filamentos gliais, distrofia neuroaxonal e estruturas tubulovesiculares. Vacúolos intracelulares com membrana foram observados predominantemente nos dendritos e dentro de poucos axônios mielinizados. Esses vacúolos continham fragmentos de membrana circulares, câmaras secundárias, vesículas e material amorfo (Liberski et al. 1992).

### **2.1.7. Diagnóstico**

Não há ainda teste para diagnosticar BSE no bovino vivo. A doença clínica pode ser confirmada *postmortem* pelo exame microscópico do tecido encefálico ou pela

detecção da isoforma anormal do príon (PrP<sup>Sc</sup>), que pode ser feita por microscopia eletrônica ou por métodos imunológicos. Quando extratos de cérebros de animais afetados com TSEs são examinados ao microscópio eletrônico, as PrP<sup>Sc</sup> aparecem como estruturas em forma de bastonete denominadas SAFs (*scrapie associated fibrils*). Métodos imunológicos incluem a detecção da proteína (PrP<sup>Sc</sup>) por imunoistoquímica, por *western immunoblotting* (Farquar et al. 1989, Grassi et al. 2001), pelos chamados “testes rápidos” baseados em ELISA ou em *immunoblotting* (Quadro 4). Alguns desses testes podem fornecer resultados acurados e rápidos (alguns em menos de duas horas) e testar grande número de animais com relativamente pouca mão-de-obra técnica.

Quadro 4. Resumo dos testes rápidos para detecção *postmortem* de isoformas alteradas de PrP no encéfalo de bovinos

<b>Técnica</b>	<b>Princípio</b>	<b>Limite de detecção</b>	<b>Vantagens</b>	<b>Desvantagens</b>
Prionics-Check Western test	Eletroforese em gel e Western blot	5.0–20 pmol	Boa reprodutibilidade, baixos índices de falsos positivos	Poucos testes por unidade de tempo, baixa sensibilidade
Enfer test	ELISA simples	1.0–10 pmol	Rápido e simples	Potencial para falsos positivos
CEA/Biorad test	ELISA sanduíche usando dois anticorpos diferentes	0.5–2.0 pmol	Alta sensibilidade	Mais demorado e mais trabalhoso; potencial para falsos positivos
Prionics-Check LIA test	ELISA sanduíche usando dois anticorpos diferentes	1.0–5.0 pmol	Rápido, automatizado e simples	Variabilidade dependendo da preparação da amostra; potencial para falsos positivos
Conformational-dependent immunoassay	Ligação diferencial de anticorpo a PrP nativo e desnaturado	0.5–5.0 pmol	Independente da digestão da protease, alta sensibilidade	Complicado e envolve mais passos que os outros testes

Reproduzido de Soto C. 2004. Diagnosing prion diseases: needs, challenges and hopes. *Nature Reviews, Microbiology* 2:809-819.

### 2.1.8 Avaliação de risco dos países e controle da BSE

A avaliação de risco de um país em relação à BSE é feito através do GBR (*Geographical BSE Risk*) que é um indicador qualitativo da probabilidade da presença de um ou mais bovinos infectados com BSE, num determinado momento, num país. Essa forma de avaliação foi criada pela União Européia. Nesse sistema, os países são incluídos em uma das quatro categorias do GBR que determinam o risco de cada país. No nível I são incluídos países em que a ocorrência de BSE é altamente improvável; no nível II, países em que a possibilidade da BSE é improvável mas não excluída; no nível III, países em que a possibilidade de BSE é provável, mas não confirmada ou confirmada em baixos níveis e no nível IV, países em que a BSE é confirmada em altos níveis. A Figura 5 mostra os países classificados e os respectivos níveis para o GBR.

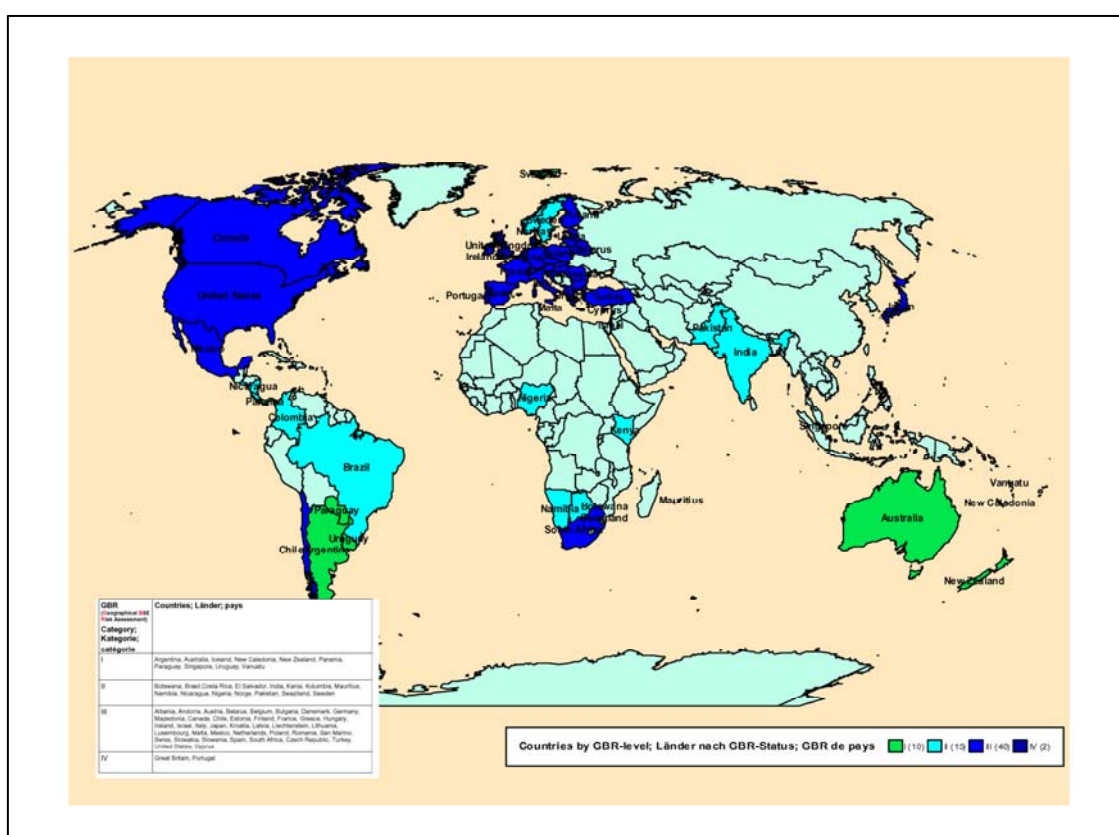


Figura 5. GBR (*Geographical BSE Risk*). No nível I, representados pela cor verde, são incluídos Argentina, Austrália, Islândia, Nova Zelândia, Nova Caledônia, Panamá, Paraguai, Cingapura, Uruguai e Vanuatu. No nível II, representados pela cor verde-clara, são incluídos, Botsuana, Brasil, Costa Rica, Croácia, El Salvador, Índia, Quênia, Colômbia, Maurícia, Namíbia, Nicarágua, Nigéria, Noruega, Paquistão, Suazilândia e Suécia. No nível III, representados pela cor azul, estão África do Sul, Albânia, Alemanha, Andorra, Áustria, Bielorrússia, Bélgica, Bulgária, Canadá, Chile, Dinamarca, Eslováquia, Eslovênia, Espanha, Estados Unidos, Estônia, Finlândia, França, Holanda, Hungria, Irlanda, Israel, Itália, Japão, Letônia, Liechtenstein, Lituânia, Luxemburgo, Macedônia, Malta, México, Polônia, República Tcheca, Romênia, São Marinho, Suíça, Turquia e Chipre. No nível IV estão Reino Unido e Portugal. Fonte: [www.efsa.eu.int](http://www.efsa.eu.int)



Até 2005, o Brasil era incluído no nível I do GBR. Em meados de 2005, após um relatório oficial da União Européia, o Brasil foi rebaixado para o nível II. Segundo esse documento (*EFSA scientific report*, 2005), a vigilância brasileira em relação à BSE foi passiva de 1980 a 2000 e a partir de 2001 começou a vigilância ativa.

Não há tratamento ou vacina para impedir o aparecimento da BSE. A proteção dos países que ainda não possuem casos de BSE depende da execução de medidas para prevenir a introdução da doença no país que inclui não importar bovinos de países com casos de BSE ou de países cuja situação epidemiológica seja desconhecida; se ocorrerem importações, determinar medidas para que o agente não se recicle, banindo a alimentação de ruminantes com proteína de origem animal ou com cama de frango e impedir a permanência de cadáveres no campo.

Há a possibilidade da ocorrência de casos esporádicos de BSE quando príons patogênicos se originam espontaneamente em uma população bovina, e esses bovinos podem não ser detectados na amostragem de testes convencionais (histopatologia e imunoistoquímica). Por isso, é recomendável o uso dos testes rápidos em frigoríficos para aumentar a amostragem dos bovinos a serem testados. No entanto, esses testes possuem limitações, pois dependem de altos níveis de PrP<sup>Sc</sup> acumulados no cérebro do bovino. São ideais para serem usados em bovinos velhos (Prusiner 2004). Para detecção de bovinos assintomáticos jovens, pesquisas para amplificar PrP<sup>Sc</sup> no sangue *in vivo* têm sido desenvolvidas. Dessa forma, um teste sanguíneo poderia ser utilizado para detecção da PrP<sup>Sc</sup> antes do sacrifício do animal (Saá et al. 2006).

A mais nova tecnologia publicada para o controle e utópica erradicação da BSE é a produção de bovinos *knockout* para PrP<sup>c</sup> (*PRNP*<sup>-/-</sup>). Bezerros produzidos dessa maneira, estavam clinicamente, fisiologicamente, histopatologicamente, imunologicamente e reprodutivamente normais até os 20 meses de idade. Células do cérebro dos bovinos *PRNP*<sup>-/-</sup> foram resistentes à propagação *in vitro* de duas diferentes cepas de príon, PrP<sup>BSE</sup> e PrP<sup>TME</sup>. Esses bovinos poderiam ser usados na produção de leite, gelatina, colágeno, soro e plasma. Além disso, esses bovinos tornariam impossível a ocorrência de casos espontâneos de BSE, devido à falta de PrP<sup>c</sup> endógena; já que há indícios de que os casos de BSE do Alabama e Texas (EUA) sejam casos atípicos (Richt et al. 2007).

### 2.1.9 Referências bibliográficas

- Aguzzi A. 2003. Prions and the immune system: a journey through gut, spleen, and nerves. *Adv. Immunol.* 81:123.
- Almond J. & Pattison J. 1997. Human BSE. *Nature* 389:437-438.
- Alper T., Cramp W.A., Haig D.A. & Clarke M.C. 1967. Does the agent of scrapie replicate without nucleic acid? *Nature* 214, 764-766.
- Biacabe A.N., Laplanche J.L., Ryder S. & Baron T. 2004. Distinct molecular phenotypes in bovine prion diseases. *Embo Reports* 5:110-114.
- Bradley R. 2002. Bovine spongiform encephalopathy. Update. *Acta Neurobiol. Exp.* 62:183-195.
- Casalone C., Zanusso G., Acutis P., Ferrari S., Capucci L., Tagliavini F., Monaco S. & Caramelli M. 2004. Identification of a second bovine amyloidotic spongiform encephalopathy: Molecular similarities with sporadic Creutzfeld-Jacob disease. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 101:3065-3070.
- Cho H.J. 1976. Is the scrapie agent a virus? *Nature* 262, 411-412.
- Colchester A.C.F. & Colchester N.T.H. 2005. The origin of bovine spongiform encephalopathy: the human prion disease hypothesis. *Lancet* 366:856-861.
- Collee J.G. & Bradley R. 1997a. BSE: a decade on – part I. *Lancet*: 349: 636-641.
- Collee J.G. & Bradley R. 1997b. BSE: a decade on – part II. *Lancet*: 349: 715-721.
- Cuillé J. & Chelle P.L. 1936. La maladie dite tremblante de mouton est-elle inoculable? *Comptes Rendus de Academie des Sciences (Paris)* 203:1552-1554.
- Davis A.J., Jenny A.L. & Miller L.D. 1991. Diagnostic characteristics of bovine spongiform encephalopathy. *J. Vet. Diagn. Invest.* 3:266-271.
- EFSA Scientific report. 2005. 38, 1-5 on the Assessment of the Geographical BSE risk of Brazil. Disponível em: [www.efsa.eu.int](http://www.efsa.eu.int)
- Farquar J., Sommerville R.A. & Ritchie L.A. 1989. Postmortem immunodiagnosis of scrapie and bovine spongiform encephalopathy. *J. Virol. Methods* 24:215-222.
- Foster J., Goldmann W., Parnham D., Chong A. & Hunter N. 2001. Partial dissociation of PrP<sup>Sc</sup> deposition and vacuolation in the brains of scrapie and BSE experimentally affected goats. *J. Gen. Virol.* 82:267-273.
- Gajdusek D.C., Gibbs, C.J. & Alpers M.P. 1966. Experimental transmission of a kuru-like syndrome to chimpanzees. *Nature* 209:794-796.
- Gibbs C.J., Gajdusek D.C., Asher D.M., Alpers M.P., Beck E., Daniel P.M. & Mathews W.B. 1968. Creutzfeldt-Jakob disease (spongiform encephalopathy): transmission to chimpanzee. *Science* 161:338-339.

Grassi J., Simon S., Créminon C., Frobert C.Y., Trapmann S., Schimmel H., Hawkins S.A.C., Moynagh J., Deslys J.P. & Wells G.A.H. 2001. Rapid test for the preclinical postmortem diagnosis of BSE in central nervous system tissue. *Vet. Rec.* 149:577-582.

Griffith J.S. 1967. Self-replication and scrapie. *Nature* 215:1043-1044.

Hadlow W.J. 1959. Scrapie and Kuru. *Lancet* 2:289-290.

Hill A.F., Debruslais M., Joiner S., Siddle K.C.I., Gowland I. & Collinge J. 1997. The same prion strain causes vCJD and BSE. *Nature* 389:448-450.

Johnson R.T. 2005. Prion diseases. *Lancet Neurol.* 4:635-642.

Kimberlin R.H. & Wilesmith J.W. 1994. Bovine spongiform encephalopathy (BSE) epidemiology, low dose exposure and risks. *Ann. NY Acad. Sci.* 724:210-220.

Kimberlin R.H. 1982. Scrapie agent: prions or virinos? *Nature* 297:107-108.

Liberski P.P., Yanagihara R., Wells G.A.H., Gibbs C.J. & Gadjusek D.C. 1992. Comparative ultrastructural neuropathology of naturally occurring bovine spongiform encephalopathy and experimentally induced *scrapie* and Creutzfeldt-Jakob disease. *J. Comp. Pathol.* 106:361-381.

Mabbot N.A. & McPherson G.G. 2006. Prions and their lethal journey to the brain. *Nature Reviews, Microbiology* 4:201-211.

Prusiner S.B. 1982. Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. *Science* 216:136-144.

Prusiner S.B. 2004. Detecting mad cow disease. *Scientific American* 161:60-65.

Richt J.A., Kasinathan P., Hamir, A.N., Castilla J., Sathiyaseelan T., Vargas F., Sathiyaseelan J., Wu H., Matsushita H., Koster J., Kato S., Ishida I., Soto C., Robl J.M. & Kuroiwa Y. 2007. Production of cattle lacking prion protein. *Nature Biotechnology* 25:132-138.

Ridley R.M. & Baker H.F. 1998. *Fatal Protein. The Story of CJD, BSE and Other Prion Diseases*, p. 1-17. Oxford University Press, Oxford, England. 249p.

Saá P, Castilla J. & Soto C. 2006. Presymptomatic detection of prions in blood. *Science* 313:92-94.

Shankar S.K. & Satishchandra P. 2005. Did BSE in the UK originate from the Indian subcontinent? *Lancet* 366:790-791.

Simmons M.M., Harris P., Jeffrey M., Meek S.C., Blamire I.W.H. & Wells G.A.H. 1996. BSE in Great Britain: consistency of the neurohistopathological findings in two random annual samples of clinically suspect cases. *Vet. Rec.* 138:175-177.

- Soto C. 2004. Diagnosing prion diseases: needs, challenges and hopes. *Nature Reviews, Microbiology* 2:809-819.
- Stevenson M.A., Wilesmith E.J., Ryan J.B.M., Morris R.S., Lockhart J.W., Lin D. & Jackson R. 2000. Temporal aspects of the epidemic of bovine spongiform encephalopathy in Great Britain: individual animals associated risk factors for the disease. *Vet. Rec.*147:349-354.
- Weissmann C. 2004. The state of the prion. *Nature Reviews, Microbiology* 2:861-871.
- Weissmann C., Enari M., Klöhn P.C., Rossi D. & Flechsig E. 2002. Molecular biology of prions. *Acta Neurobiol. Exp.* 62:153-166.
- Wells G.A.H., Hancock R.D., Cooley W.A., Richards R.J., Higgins R.J. & David G.P. 1989. Bovine spongiform encephalopathy: Diagnostic significance of vacuolar changes in selected nuclei of the medulla oblongata. *Vet. Rec.* 125:521-524.
- Wells G.A.H., Wilesmith J.W. & McGill I.S. 1991. Bovine spongiform encephalopathy: A neuropathological perspective. *Brain Pathol.* 1:69-78.
- Wells G.A.H. 2003. Pathogenesis of BSE. *Vet. Res. Com.* 27 Suppl. 1:25–28.
- Wells G.A.H., Hawkins S.A.C., Green R.B., Austin A.R., Dexter I., Spencer Y.I., Chaplin M.J., Stack M.J. & Dawson M. 1998. Preliminary observations on the pathogenesis of experimental bovine spongiform encephalopathy (BSE): an update. *Vet. Rec.* 141:103-106.
- Wells G.A.H., Scott A.C., Johnson C.T., Gunning R.F., Hancock R.D, Jeffrey M., Dawson M. & Bradley R. 1987. A novel progressive spongiform encephalopathy in cattle. *Vet. Rec.* 121:419-420.
- Wells G.A.H & Wilesmith J.W. 2004. p.595-628. In: Prusiner S.B. *Prion biology and diseases*. 2<sup>a</sup> ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York. 1050p.
- Wilesmith J.W., Wells G.A.H., Ryan J.B.M., Gavier-Widen D. & Simmons M.M. 1997. A cohort study to examine maternally-associated risk factors for bovine spongiform encephalopathy. *Vet. Rec.* 141:239-243.
- Will R.G., Ironside J.W., Zeidler M., Cousens S.N., Estibeiro K. & Alperocitch A. 1996. A new variant of Creutzfeldt-Jakob disease in the UK. *Lancet*, 347:921-925.
- Woolhouse M.E.J. & Anderson R.M. 1997. Understanding the epidemiology of BSE. *Trends in Microbiology* 5: 422-424.
- Yamakawa Y., Hagiwara K., Nohtomi K., Nakamura Y., Nishijima M., Higuchi Y., Sato Y. & Sata T. 2003. Atypical proteinase K-resistant prion protein (PrP<sup>res</sup>) observed in an apparently healthy 23-month-old Holstein steer. *Jpn. J. Infect. Dis.* 56:221-222.
- Zachary J.F. 2007. Nervous system, p.833-971. In: McGavin M.D. & Zachary J.F. (ed.) *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. 4<sup>th</sup> ed. Mosby Elsevier, St Louis. 1476p.

## 2.2 SERVIÇO DE VIGILÂNCIA PARA A BSE NO BRASIL

### 2.2.1 Programa Nacional de Controle da Raiva dos Herbívoros e outras Encefalopatias (PNCRH)

O PNCRH é um dos programas da área da saúde animal do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (Figura 6) vinculado ao Departamento de Saúde Animal (DSA). Esse programa, que até o advento da BSE era dedicado exclusivamente ao controle da raiva dos herbívoros, foi ampliado em 09/12/97, pela Portaria Ministerial 516, (Anexo 1) para atender às exigências da vigilância da BSE e da *scrapie*. Essa portaria foi alterada pela Instrução Normativa (IN) 005, de 1º. de março de 2002 (Anexo 2). O PNCRH é coordenado pela Coordenação da Raiva dos Herbívoros e outras Encefalopatias (CRHE) que foi criada em fevereiro de 2005, e faz parte da Coordenação Geral de Combate às Doenças (Figura 7) do DSA, da Secretaria de Defesa Agropecuária (SDA).

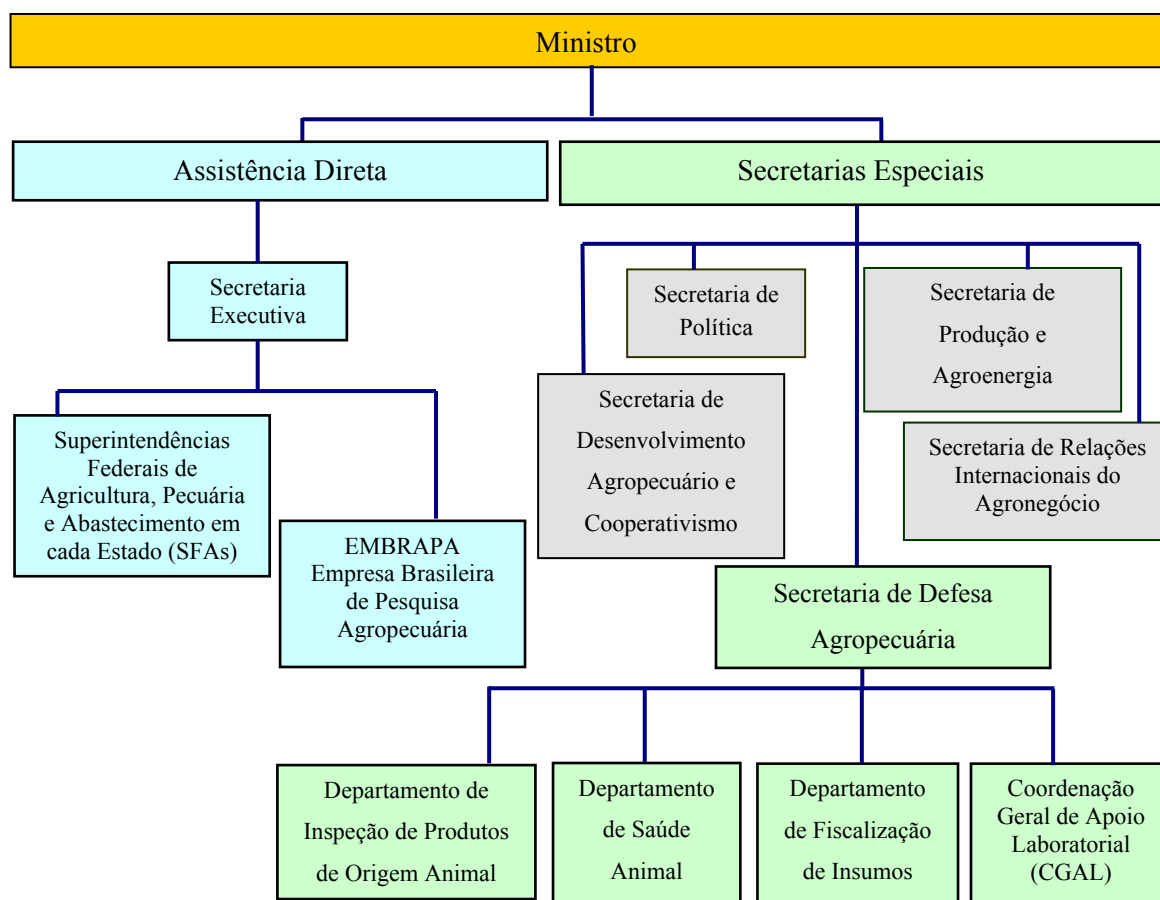


Figura 6. Organograma do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) com ênfase nos serviços veterinários. *Cortesia: Coordenação da Raiva dos Herbívoros e outras Encefalopatias – MAPA.*

Nessa área, há mais oito programas: Programa Nacional de Educação Sanitária Animal (PNESA), Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA), Programa Nacional de Sanidade dos Caprinos e Ovinos (PNSCO), Programa Nacional de Sanidade Suídea (PNSS), Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose (PNCEBT), Programa Nacional de Sanidade dos Equinos (PNSE), Programa Nacional de Erradicação da Febre Aftosa (PNEFA) e Programa Nacional de Sanidade dos Organismos Aquáticos (PNSOA).

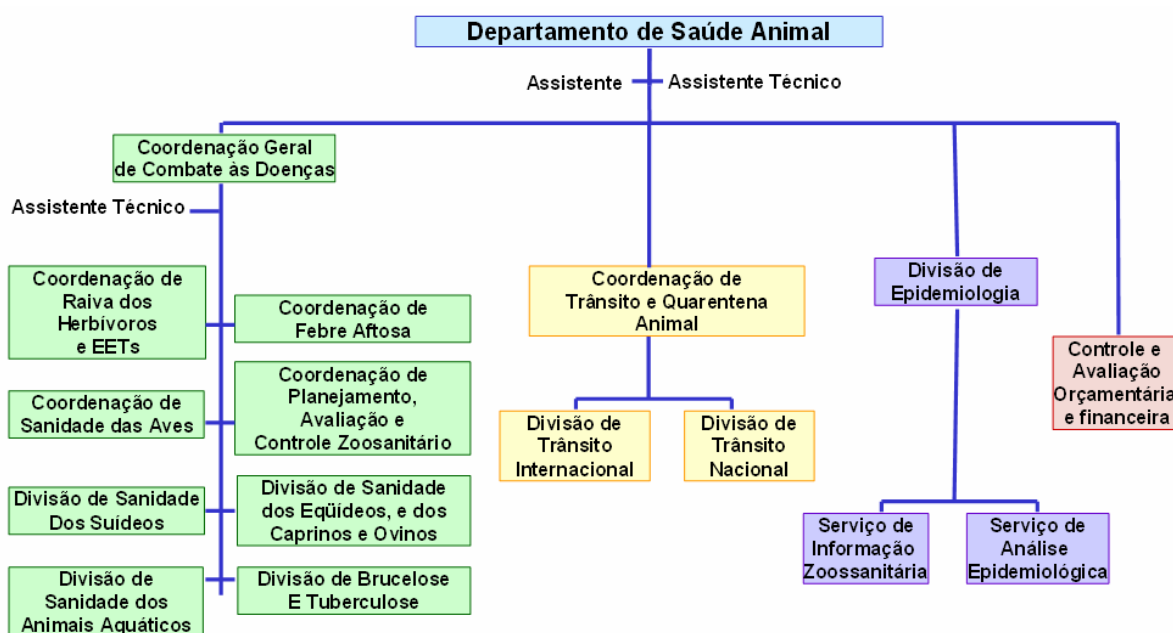


Figura 7. Organograma do Departamento de Saúde Animal (DSA) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abatecimento (MAPA) do Brasil. *Cortesia: Coordenação da Raiva dos Herbívoros e outras Encefalopatias – MAPA.*

As principais atribuições da CRHE podem ser verificadas acessando o sítio oficial do MAPA ([www.agricultura.gov.br](http://www.agricultura.gov.br)). Este sítio também inclui noções básicas para o diagnóstico da BSE, os laboratórios credenciados para a vigilância da BSE no país e a versão *online* de formulários, procedimentos e manuais, incluindo a segunda edição do Manual de Procedimentos para o Diagnóstico das Doenças do Sistema Nervoso Central de Bovinos de autoria do professor Claudio Barros, do Departamento de Patologia da UFSM, e do Coordenador Geral de Combate às Doenças, Dr. Guilherme Marques. Esse manual, editado em português, espanhol e inglês, inclui informações básicas sobre a BSE e as doenças do SNC de bovinos mais freqüentes no Brasil, a técnica de coleta do encéfalo de bovinos para exame laboratorial e o processamento do encéfalo para o diagnóstico histológico das doenças do SNC de bovinos. A versão

impressa do manual também é distribuída gratuitamente a médicos veterinários do MAPA e a todos os médicos veterinários da iniciativa privada que participam do curso para padronização das atividades do PNCEBT e noções básicas sobre BSE.

### **2.2.2 Laboratórios brasileiros credenciados para o diagnóstico das encefalopatias espongiformes transmissíveis (EETs)**

Para realizar a vigilância epidemiológica das doenças do SNC de bovinos, o MAPA por meio da IN SDA nº. 15, de 15 de fevereiro de 2002 (Anexo 3), credenciou três laboratórios de Patologia Veterinária no Brasil: o da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) sob a coordenação do Prof. Claudio Severo Lombardo de Barros, o da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (SPV/UFRGS), sob a coordenação do Prof. David Driemeier e o da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (UFMS) sob a coordenação do Prof. Ricardo Antônio Amaral de Lemos, posteriormente substituído pelo Prof. Eurípedes Batista Guimarães. O Laboratório de Patologia Veterinária da UFSM é o laboratório de referência que tem como atribuições receber casos suspeitos de BSE e de *scrapie* de outros laboratórios. Conforme as lesões histológicas observadas, é realizado o diagnóstico ou o envio do material em blocos de parafina para o SPV/UFRGS para a realização de imunoistoquímica.

Em 2003, por meio da mesma instrução normativa, foram incorporados ao programa mais três laboratórios: o da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) sob a coordenação do Prof. Franklin Riet-Correa, o do Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA/MG) sob a coordenação do Prof. Anilton César Vasconcelos e o do Instituto Biológico de São Paulo (IB/SP) sob a coordenação do Dr. Romeu Macruz, posteriormente substituído pela Dra. Claudia del Fava. Em 2005, o Laboratório Nacional Agropecuário (LANAGRO) do Recife/PE sob a coordenação da Dra. Ana Karina Cunha Callado assumiu as funções antes realizadas pelo laboratório da UFCG. Os atuais laboratórios e respectivos estados de atuação estão no Quadro 5 e Figura 8. Além de receber materiais dos estados listados no Quadro 5, cada laboratório faz a vigilância das doenças em bovinos na sua área regional de abrangência, através da realização de necropsias e recebimento de material de médicos veterinários da região. O endereço completo e contato dos laboratórios com os respectivos responsáveis estão listados no Anexo 4 e também podem ser acessados no sítio do MAPA.

Quadro 5. Laboratórios credenciados para a vigilância das encefalopatias espongiformes transmissíveis (EETs) e respectivos estados de atuação.

Laboratório	Estados de procedência do material para exame histopatológico
UFSM	RS, SC, PR, GO
UFRGS	RS, MT, RJ, ES
UFMS	MS, RO, AC
LANAGRO/PE	Região Nordeste, AM, PA, RR, TO, AP
IMA/MG	MG
IB/SP	SP

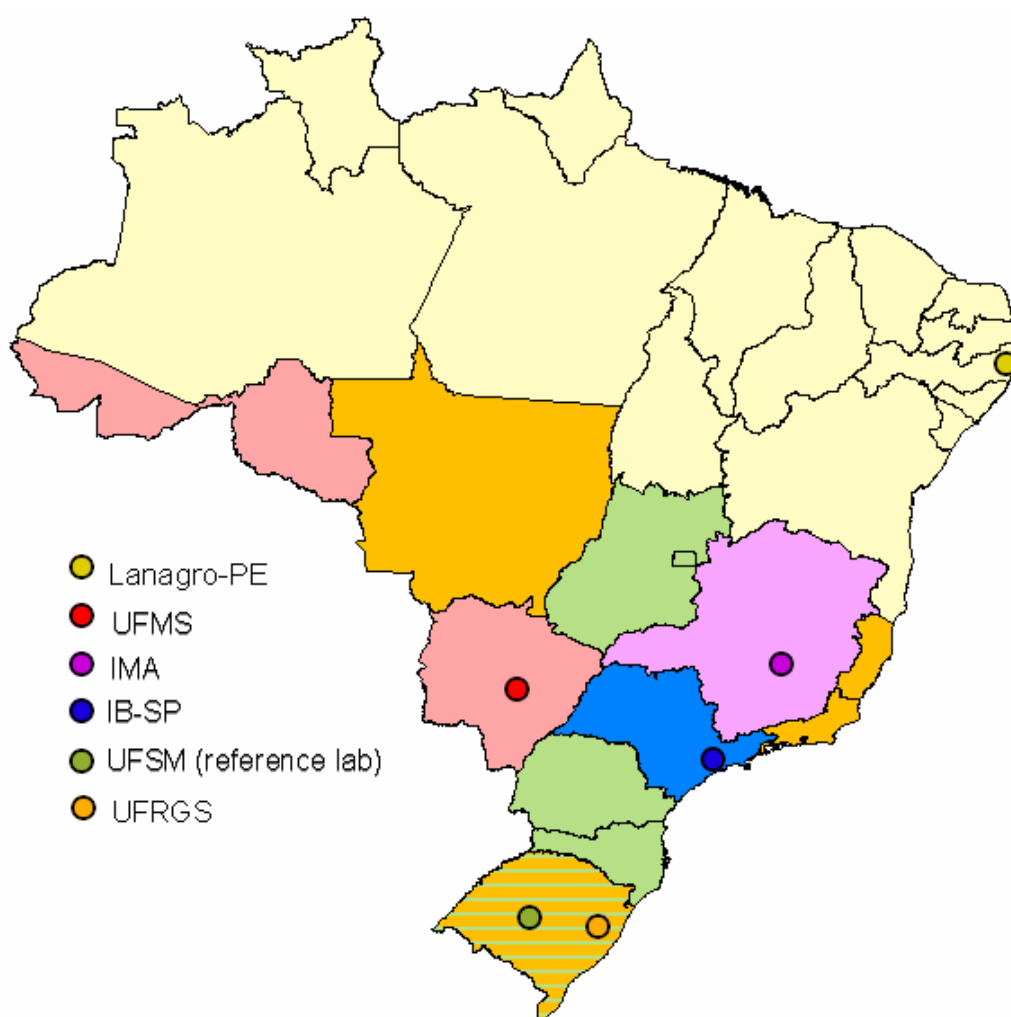


Figura 8. Rede dos laboratórios credenciados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para o diagnóstico das encefalopatias espongiformes transmissíveis em ruminantes. Os estados com a mesma cor pela qual é representada um laboratório, devem enviar seus materiais para diagnóstico naquele laboratório. *Cortesia: Coordenação da Raiva dos Herbívoros e outras Encefalopatias - MAPA*



Pela IN SDA n° 18, de 27 de fevereiro de 2004 (Anexo 5), o Setor de Patologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul foi credenciado para realizar o exame de imunoistoquímica para as EETs.

O PNCRH possui um comitê Científico Consultivo sobre Encefalopatias Espongiformes Transmissíveis (CEET) formado pela instrução de Serviço DDA n° 07, de 06 de março de 2003 e substituída pela portaria DDA n°. 69, de 17 de agosto de 2004 (Anexo 6). Esse comitê é constituído pelos seguintes profissionais: Claudio Severo Lombardo de Barros, profissional especializado do laboratório de referência nacional para o diagnóstico de EET (UFSM), Amauri Alcindo Alfieri, profissional especializado em virologia e medicina veterinária preventiva (UEL), Antônio Carlos Alessi, profissional especializado em diagnóstico de EET (UNESP/Jaboticabal), Cleber Oliveira Soares, profissional especializado em medicina veterinária preventiva (EMBRAPA Gado de Corte/MS), Vicente Mateo Astudillo Caldés, profissional especializado em epidemiologia, (Centro Panamericano de Febre Aftosa/RJ), Edwiges Maristela Pituco, profissional especializada em virologia (IB/SP) e Vitor Salvador Picão Gonçalves, profissional especializado em epidemiologia, (UNB/DF). O CEET tem função de assessorar o MAPA em assuntos relacionados às EETs. Os membros desse comitê reúnem-se periodicamente para discutir assuntos relacionados à legislação nacional das EETs e direções sugeridas por órgãos internacionais como Escritório Internacional de Epizootias (OIE) e Comunidade Européia.

### **2.2.3 Recebimento do material nos laboratórios, protocolamento das amostras e armazenamento dos dados**

Os encéfalos são provenientes de necropsias de ruminantes realizadas por (1) docentes em hospitais veterinários de cada universidade ou de visitas a fazendas, (2) veterinários dos serviços oficiais (MAPA ou Secretaria de Agricultura), (3) veterinários do serviço privado ou de cooperativas, e (4) de encéfalos submetidos à rede de laboratórios de diagnóstico de raiva. Após o recebimento, o frasco contendo o material é etiquetado com o número do DX (ex. DX0097/05). O mesmo número é anotado no formulário de encaminhamento do material onde constam todos os dados do ruminante (espécie, sexo, idade, raça), e proprietário, veterinário remetente e procedência (Anexo II do Anexo 3). Após o recebimento do número do DX, os dados do formulário são

repassados para um livro Ata e para um programa de computador denominado DXSNC, que é um banco de dados construído no programa Access<sup>®</sup> do Office<sup>®</sup>. O livro Ata deve conter, no mínimo, as seguintes informações: número do DXSNC, protocolo do remetente, nome do veterinário remetente e procedência (município/estado), nome da pessoa que recebeu o material no laboratório, nome do proprietário remetente e procedência (município/estado), espécie, sexo, idade e raça do ruminante, data de recebimento, de encaminhamento do material, data de saída do diagnóstico e o resultado (Anexo III do Anexo 3). Essas informações e outras informações adicionais como categoria da amostra, condições de recebimento da amostra, endereço completo do proprietário, número do SIF (serviço de Inspeção Federal) remetente (se for o caso) e encaminhamento ou não para imunoistoquímica são também preenchidos no programa de computador. As categorias de amostras estão listadas no Quadro 6. A Figura 9 demonstra a página de abertura e os dados a serem preenchidos no programa DXNSC.

Quadro 6. Categorias de amostras recebidas pelos laboratórios credenciados como parte do programa de vigilância das encefalopatias espongiformes transmissíveis

<b>Nº da categoria</b>	<b>Característica da categoria</b>
Categoria 1	Encéfalo de bovino com sinais clínicos de distúrbios nervosos que apresentaram resultado negativo para raiva em laboratórios da rede oficial
Categoria 2	Encéfalo de bovino com sinais clínicos de distúrbios nervosos
Categoria 3	Encéfalo de bovino com doença depauperante, crônica ou caquetizante ou em decúbito.
Categoria 4	Encéfalo de animais importados de países de risco para BSE
Categoria 5*	Encéfalo de bovino proveniente de abatedouro
Categoria 6	Encéfalo de bovino proveniente de abate de emergência
Categoria 7	Encéfalo de ovino com sinais clínicos de distúrbios nervosos
Categoria 8	Encéfalo de ovino proveniente de abatedouro
Categoria 9	Encéfalo de caprino com sinais clínicos de distúrbios nervosos
Categoria 0	Encéfalo de caprino proveniente de abatedouro

\* Categoria excluída no programa de vigilância atual.

DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DAS DOENÇAS DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL

**Agricultura**  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

**EEB**  
"PROTECTOR DO BOM PASTOR"

**DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DAS DOENÇAS DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL**


**Objetos**  
Cadastro  
Consulta  
Tabelas  
Exportação  
Importação

**Opções**  
Proprietário  
Amostra  
SIF  
Usuário  
IHQ

**DXSNC V 2.0**

**Data atual:** terça-feira, 2 de janeiro de 2007  
**Hora:** 15:04:34

**Produto licenciado para:**

 **Instituição:** Universidade Federal de Santa Maria  
**Responsável:** Claudio Barros  
**Endereço:** Faixa de Camobi, Km 9 Campus Universitário  
**Telefone:** (55) 32208168 **Fax:** (55) 32208284  
**Credenciamento:** UFSM

Termos de utilização © 2001/2005 Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento- MAPA  
Coordenação Geral de Apoio Laboratorial Todos os direitos reservados  
Desenvolvido por LRSILVA (61) 3218-2277 lrsilva@agricultura.gov.br

**Cadastro Amostra**

**Dados Iniciais**  
Prot lab.: 0097/05  
Prot. Rem.: Va-157-05  
Nome do veterinário: Gilmar Bassotto

**Categoria**  
Cat Amostra: 2  
Encéfalo de caprino proveniente de matadouro-frigorífico  
Encéfalo de bovino com sinais clínicos de distúrbios nervosos e que testou negativo para raiva em La  
Encéfalo de bovino com sinais clínicos de distúrbios nervosos  
Encéfalo de bovino com doença crônica, caquetizante ou depauperante  
Encéfalo de animais importados

**Diagnóstico**  
Meningoencefalite não-purulenta inespecífica  
Meningoencefalite por herpesvírus  
Meningoencefalite purulenta inespecífica  
Neoplasia  
Polioencefalomalacia  
Raiva  
Sraiva

**Condições da amostra recebida**  
Autolisado  
Congelado  
Partes anatómicas pertinentes não incluídas  
Danificação durante o transporte  
Amostras não identificadas  
Encéfalo inadequadamente retirado  
Não se aplica (adequado)

**Procedência**  
SIF: não se aplica  
UF: RS  
Município: SÃO PEDRO DO SUL

**Espécie / Raça**  
BOVINA Pesquisa.....  
OVINA Charolês  
CAPRINA Charolês  
OUTRAS  
Sexo: F  
Idade: 12 anos

**Proprietário**  
Luiz Roque Wiana  
Luiz Schmidt  
Luiz Sérgio do Amaral Godinho  
Novo Proprietário Atualizar

**Laboratório**  
Nome: Universidade Federal de Santa Maria Sigla: UFSM  
Patologista Responsável: Claudio Barros UF do laboratório: RS

**Data**  
Entrada: 5/5/2005  
Saída: 16/5/2005  
Nº registro: 6298 Data de envio: 24/1/2006

**TRONHISTOQUÍMICA**  
Sim Não

Localizar: Protocolo Laboratório: 009705

Salvar Excluir Cancelar Laudo

Registro: 3124 de 3962

Figura 9. Programa de computador DXSNC. A. Página de tela de abertura do programa. B. Página de cadastro da amostra.

Na **categoria 1** são incluídos os bovinos que apresentaram resultado negativo nas provas de imunofluorescência direta e/ou prova biológica para a raiva em laboratórios da rede oficial. Nesse caso, os materiais provenientes desses laboratórios são encaminhados para os laboratórios de patologia credenciados pelo MAPA, a fim de tentar esclarecer a causa dos sinais neurológicos do bovino. Os laboratórios de raiva da rede oficial constam no Anexo 7. Na **categoria 2** são incluídos os bovinos com sinais clínicos de distúrbios nervosos que são atendidos na área de abrangência de cada laboratório ou material enviado por médicos veterinários da região. Na **categoria 3** são incluídos bovinos que apresentam doença caquetizante ou depauperante ou que estão em decúbito, mas sem sinais clínicos prévios de distúrbios nervosos. Exemplos de bovinos nessa categoria na área de abrangência do LPV/UFSM são os afetados por intoxicação crônica por samambaia (*Pteridium aquilinum*) e bovinos que apresentam emagrecimento progressivo por diversas causas. Na maioria das vezes, o exame histológico do encéfalo desses bovinos não revela alterações. Na **categoria 4** são incluídos todos os ruminantes importados (bovinos, ovinos ou caprinos). Essa categoria tem prioridade sobre as outras categorias, pois mesmo que tenham sido feitas as provas de IFD e/ou biológica para a raiva e mesmo que esses animais apresentem alguma doença caquetizante ou neurológica, eles devem sempre ser inseridos na categoria 4 e não na 1, 2 ou 3, 7 ou 9. O cumprimento dessa norma é importante, pois todos os animais importados de países onde houve diagnóstico de BSE em animais nativos, devem, no final da vida reprodutiva, ser sacrificados e os proprietários, indenizados; sob hipótese alguma qualquer animal dessa categoria pode ser enviado para abate e consumo. Essa conduta facilita a rastreabilidade dos ruminantes importados no país, ou seja, garante que o ruminante importado não entrou na cadeia alimentar e, através do exame histológico, pode-se comprovar de que esse animal não tinha lesões de EET. Há uma área específica no formulário de envio do material que deve ser preenchida para o caso de ruminante importado; os dados dessa área incluem nome e número (geralmente o número de registro ou número do Sistema Brasileira e Identificação e Certificação de Origem Bovina e Bubalina - SISBOV) do animal, se o animal apresenta sinais clínicos nervosos e se o proprietário recebe ou não indenização (Anexo II do Anexo 3). A indenização só ocorre quando o animal está vivo e o proprietário solicita sua destruição. Os dados referentes ao ruminante importado também são transcritos para o laudo histopatológico (Anexo 13). A IN n° 8, de 13 de fevereiro de 2001, que regia as normas para animais importados no país, foi revogada. Vigora a Instrução Normativa n° 18, de

15 de dezembro de 2003 (Anexo 8). Na **categoria 5** eram incluídos os encéfalos de bovinos provenientes de matadouro com mais de 30 meses e que tinham sido alimentados com ração de origem animal em algum período de sua vida. Essa categoria foi excluída do programa devido à proibição da proteína animal na alimentação de ruminantes de acordo a vigente IN nº 8, de 25 de março de 2004 (Anexo 9) e porque não era, sob o ponto de vista do MAPA, uma amostra epidemiologicamente adequada para pesquisa de possíveis casos de BSE. Na **categoria 6** são incluídos encéfalos de bovinos provenientes do abate de emergência. A Instrução de Serviço Nº 002/2003/DOI/DIPOA rege as normas e procedimentos para animais encaminhados ao abate de emergência (Anexo 10). Os motivos do abate de emergência desses bovinos são geralmente fratura em membros pélvicos ou torácicos ou contusões generalizadas. Alguns desses bovinos já chegam mortos ao frigorífico, e mesmo assim, o encéfalo é retirado para exame histopatológico. O formulário que acompanha esse material consta no Anexo 11. Na **categoria 7** são incluídos ovinos com sinais clínicos nervosos; na **categoria 8**, ovinos provenientes de abatedouros. A **categoria 9** é composta por caprinos com sinais clínicos nervosos e a **categoria 0** é composta por caprinos provenientes de abatedouros. Na rotina diagnóstica do LPV/UFSM, o número de encéfalos de ovinos e caprinos é bem menor que o de bovinos. Isso se reflete, em parte, pelo número total de caprinos e ovinos no Brasil estimado respectivamente em 9.581.653 e 14.556.484 de cabeças, em comparação às 195 milhões de cabeças de bovinos no país<sup>1</sup>.

Os encéfalos também são analisados em relação à condição da amostra e devem ser alocados em uma das seguintes categorias listadas a seguir: (1) autolisado, (2) congelado, (3) partes anatômicas pertinentes não incluídas, (4) danificação durante o transporte, (5) amostras não identificadas, (6) encéfalo inadequadamente retirado e (7) não se aplica (quando adequado). Esse dado é importante para o MAPA e para o laboratório que está processando o material, pois permitem que os técnicos do MAPA verifiquem a eficácia da coleta de encéfalos no campo e avaliem a necessidade da realização de cursos de treinamento para os médicos veterinários. O curso de treinamento de coleta do encéfalo para médicos veterinários oficiais do MAPA, bem como para os da iniciativa privada são realizados nos cursos de Treinamento em Métodos de Diagnóstico e Controle de Brucelose e Tuberculose Animal e Noções de

---

<sup>1</sup> IBGE, 2003.

Encefalopatias Espongiformes Transmissíveis. Esses cursos são ministrados em diversas Universidades do país e têm duração de 5 dias. Para habilitação de novos ministrantes, o MAPA promove cursos em Brasília, DF, geralmente ministrados pelo Prof. Claudio Barros ou pelo Prof. David Driemeier. O curso em Brasília geralmente dura dois dias e consiste de uma parte teórica com palestras visando noções gerais sobre as encefalopatias espongiformes transmissíveis, e uma parte prática que consiste na retirada do encéfalo de cabeças de bovinos provenientes de abatedouro e reconhecimento das principais áreas anatômicas do encéfalo para correto envio do material ao laboratório. Na ocasião dos cursos, os médicos veterinários recebem o Manual de Procedimentos para o Diagnóstico das Doenças do Sistema Nervoso Central de Bovinos, que conforme mencionado anteriormente, contém todas as informações básicas para a coleta e remessa do material para os laboratórios.

A condição da amostra de encéfalo é importante para o laboratório, porque decide as partes anatômicas a serem processadas. Por exemplo, materiais provenientes de frigorífico geralmente consistem apenas do tronco encefálico. Muitas vezes, esse material está coberto por coágulos de sangue, devido ao método de eutanásia (pistola pneumática), e isso dificulta a fixação em formol. Materiais provenientes de laboratórios que realizam exames para raiva, geralmente não apresentavam amostras em boas condições (Figura 10), mas à medida que os cursos de habilitação têm sido ministrados pelo MAPA, a qualidade da condição da amostra tende a melhorar. A integridade do encéfalo é muito importante para o exame histopatológico. Quanto maior a manipulação, maior a possibilidade da introdução de artefatos no tecido nervoso.



Figura 10. Condição da amostra que chega ao laboratório para o exame histológico. Essa amostra é catalogada como “partes anatômicas pertinentes não incluídas” devido à ausência do bulbo na altura do óbex, local anatômico onde se realiza o diagnóstico de BSE.

#### **2.2.4 Encaminhamento e processamento das amostras**

Os cortes realizados no encéfalo dependem da condição da amostra. Os cortes a serem processados e analisados histologicamente constam na Figura 13 da seção 3 que trata das alterações macroscópicas e microscópicas do sistema nervoso central de bovinos. Geralmente, cada seção do encéfalo é encaminhada em um cassete. A ficha de encaminhamento utilizada no LPV/UFSM consta no Anexo 12. Essa ficha facilita o controle interno do material que está sendo processado e auxilia no arquivamento de blocos e lâminas. O processamento do material é realizado de acordo com o Anexo I da IN nº. 15, de 15 de fevereiro de 2002 (Anexo 3). Todo o material é encaminhado com o número do DXSNC (Ex.: DX0097/05), independente se é proveniente da rotina do laboratório ou de órgãos oficiais.

### 2.2.5 Resultado da amostra

Durante a leitura das lâminas, são anotados os achados incidentais bem como os associados a doenças em cada seção de encéfalo examinada. Esses achados são descritos na seção “histopatologia” do laudo histopatológico (Anexo 13). No diagnóstico vai o nome da doença em questão ou “sem alterações histopatológicas”. Mesmo quando se descrevem vários achados incidentais, como alterações associadas à idade, o diagnóstico continua sendo “sem alterações histopatológicas”. Um exemplo comum são os encéfalos provenientes de frigoríficos. Geralmente, macro e microscopicamente observa-se hemorragia subdural e intracerebral, mas o diagnóstico não é “hemorragia traumática”, pois essa lesão foi infligida em um encéfalo previamente normal. O mesmo acontece com animais que apresentam raros manguitos perivasculares no encéfalo. Esse é um achado incidental, pode ser descrito na seção histopatologia do laudo, e o diagnóstico não será dado como meningoencefalite não-supurativa, mas como “sem alterações histopatológicas”.

A importância de se cadastrar laboratórios de diagnóstico para a vigilância epidemiológica da BSE se deve à possibilidade de se aliar epidemiologia e sinais clínicos aos achados macro e microscópicos, e dessa forma, realizar a correta interpretação das lesões e escolha do diagnóstico mais apropriado. Alguns diagnósticos dependem de dados epidemiológicos (ex.: intoxicação por plantas, intoxicação por carbamato, tétano). No Quadro 7, observa-se a lista de diagnósticos utilizada no programa DXSNC. O número de casos de cada doença pode variar dependendo da região do país, mas todos os laboratórios devem ter a mesma lista de diagnósticos. Um diagnóstico inserido em um laboratório deve ser imediatamente comunicado ao MAPA e aos outros laboratórios para a adição ao programa DXSNC.



Quadro 7 – Lista de diagnósticos de doenças ou lesões do sistema nervoso central de ruminantes utilizada no programa DXSNC.

Abscessos cerebrais	Intoxicação por <i>Halimium braziliensis</i>
Artrite encefalite caprina	Intoxicação por organofosforados
Babesiose cerebral	Intoxicação por <i>Prosopis juliflora</i>
Botulismo (por outros métodos)*	Intoxicação por <i>Sida carpinifolia</i>
Cenurose	Intoxicação por <i>Solanum fastigiatum</i>
Cetose (por outros métodos)	Leucose enzoótica
Compressão medular	Listeriose
Encefalomalacia focal simétrica	Maedi-Visna
Encefalopatia hepática	Meningite bacteriana
Febre catarral maligna	Meningoencefalite não-purulenta inespecífica
Febre vitular (por outros métodos)	Meningoencefalite por herpesvírus
Hemorragia traumática	Meningoencefalite purulenta inespecífica
Hipomagnesemia (por outros métodos)	Neoplasia
Intoxicação por <i>Aspergillus clavatus</i>	Polioencefalomalacia
Intoxicação por <i>Ateleia glazioviana</i>	Raiva
Intoxicação por carbamatos	<i>Scrapie</i>
Intoxicação por <i>Claviceps paspali</i>	Sem alterações histopatológicas
Intoxicação por <i>Cynodon dactylon</i>	Tétano (por outros métodos)
Intoxicação por <i>Dyplodia maydis</i>	Em andamento**

\* Por outros métodos significa que o diagnóstico foi realizado pelo exame de outros órgãos, pelos sinais clínicos e dados epidemiológicos.

\*\*Quando o diagnóstico ainda está pendente.

Alguns diagnósticos permanecem pendentes e o resultado no programa de computador permanece “em andamento”. Isso ocorre quando um dos fragmentos do encéfalo é enviado para realização da técnica de imunoistoquímica para PrP<sup>sc</sup> no SPV-UFRGS. No acompanhamento da rotina do DXSNC em 5 anos (2001-2005), casos de ovinos e bovinos com vacuolização neuronal intracitoplasmática no tronco encefálico foram enviados para a realização de imunoistoquímica. Na maioria das vezes, o diagnóstico de *scrapie* em ovinos foi confirmado. Todos os materiais de bovinos enviados foram negativos, demonstrando que é normal a presença de vacúolos esporádicos em neurônios do tronco encefálico (principalmente núcleos vermelho e oculomotor do mesencéfalo) e que a histopatologia é um método de diagnóstico confiável.

## 2.2.6 Envio dos resultados

Os laudos (Anexo 13) são remetidos ao laboratório que enviou o material fixado em formol (geralmente os laboratórios da rede oficial), para a Coordenação Geral de Apoio Laboratorial (CGAL) e uma cópia permanece no laboratório que gerou o resultado, para futuras auditorias. A partir de 2004, os laudos são gerados pelo programa de computador DXSNC. Os laboratórios devem encaminhar o relatório das atividades mensais ao Departamento de Saúde Animal, até o 10º dia útil do mês subsequente.

### **2.2.7 Arquivamento dos tecidos fixados, blocos e lâminas**

O MAPA estabelece que blocos e lâminas devem ser guardados durante 7 anos no laboratório credenciado, para verificação em futuras auditorias tanto do MAPA quanto de órgãos internacionais. O armazenamento de tecidos fixados no laboratório credenciado é opcional. No LPV-UFSM são guardados encéfalos em formol para interesse didático ou que serão utilizados em projetos futuros, sem a realização de imunoistoquímica, já que o longo período de fixação é um fator limitante para a técnica.

### **2.2.8 Arquivamento dos documentos**

Os formulários que acompanham os materiais fixados em formol e os laudos histopatológicos são arquivados em pastas anuais. Documentos referentes à legislação, livros Ata, procedimentos operacionais padrão e referentes ao programa DXSNC são também arquivados.

### **2.2.9 Procedimentos operacionais padrão (POPs)**

Cada laboratório é regido por procedimentos operacionais padrão (POPs). Esses POPs determinam regras a serem utilizadas para recebimento de material, erros de registros em cadernos de anotações, e descarte dos materiais que foram analisados. No Quadro 8, podem ser visualizadas as regras a serem utilizadas quando ocorrem erros no livro Ata. Esse POP deve ser fixado no livro Ata para fácil consulta. Quando se comete um erro no livro Ata, este deve ser riscado com apenas uma linha, rubricado, datado, e

um dos números apresentados no Quadro 8 será colocado ao lado da rubrica com um círculo em volta.

Quadro 8. Procedimentos para explicar erros de registros em cadernos de anotações, de acordo com listagem numérica.

<b>Número</b>	<b>Motivo para utilização</b>
1	Erro de ortografia
2	Erro matemático
3	Registro errado (data, número de amostra, palavra, etc)
4	Erro de transposição
5	Mudança de procedimento
6	Conclusão errada
7	Registro ilegível
8	Registro desnecessário
9	Explicação com nota de rodapé
10	Informações adicionais

**Anexo 1 – Portaria ministerial nº 516, de 9 de dezembro de 1997**MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO  
GABINETE DO MINISTRO

## PORTARIA Nº 516, DE 9 DE DEZEMBRO DE 1997

O MINISTRO DE ESTADO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, no uso da atribuição que lhe confere o Art. 87, Parágrafo Único, inciso II, da Constituição da República, tendo em vista o disposto no Art. 71 do Regulamento do Serviço de Defesa Sanitária Animal, aprovado pelo Decreto nº 24.548, de 3 de julho de 1934, considerando a decisão da 65ª Assembléia Geral do Comitê Internacional do Escritório Internacional de Epizootias - OIE que alterou o capítulo 3.2.13 - Encefalopatia Espongiforme Bovina, do Código Zoossanitário Internacional, resolve:

Art. 1º Declarar o Brasil livre de encefalopatia espongiforme bovina, de acordo com o que estabelece o artigo 3.2.13.2 do Código Zoossanitário Internacional.

Art. 2º Incluir a encefalopatia espongiforme bovina e a paraplexia enzoótica dos ovinos (*scrapie*) na relação de doenças passíveis de aplicação de medidas de defesa sanitária animal constante do artigo 61 do Regulamento do Serviço de Defesa Sanitária Animal, aprovado pelo Decreto nº 24.548, de 3 de julho de 1934.

Parágrafo único - A encefalopatia espongiforme bovina e a paraplexia enzoótica dos ovinos (*scrapie*) são doenças de notificação obrigatória e suas ocorrências ou suspeições devem ser imediatamente informadas à autoridade de defesa sanitária animal da jurisdição.

Art.3º Determinar a aplicação a partir de 1º de janeiro de 1998 das recomendações para prevenção da encefalopatia espongiforme bovina e outras encefalopatias espongiformes transmissíveis dos animais, constantes do artigo 3.2.13.1 do Código Zoossanitário Internacional, especialmente:

a) a identificação dos perigos potenciais de introdução da doença mediante análise de risco que inclua a importação de animais vivos e produtos e sub-produtos de origem animal;

b) a incorporação da encefalopatia espongiforme bovina, da paraplexia enzoótica dos ovinos (*scrapie*) e outras doenças com sintomatologia nervosa de caráter progressivo no sistema de vigilância da raiva dos herbívoros domésticos, na forma a ser estabelecida em ato do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento".

c) a proibição do uso de qualquer fonte de proteína de ruminantes na alimentação dos mesmos, com exceção das proteínas lácteas.

Art. 4º Delegar competência à Secretaria de Defesa Agropecuária para baixar as instruções complementares necessárias à implementação do disposto nesta Portaria.

Art. 5º O ingresso no Brasil de animais e produtos e sub-produtos de origem animal originários de terceiros países fica condicionado à comprovação do atendimento às medidas de vigilância das encefalopatias espongiformes transmissíveis e que são recomendadas no Capítulo 3.2.13 do Código Zoossanitário Internacional.

Art. 6º Esta Portaria entra em vigor na data de sua publicação.

MARCUS VINICIUS PRATINI DE MORAES

**Anexo 2 – Instrução Normativa nº 005, de 1 de março de 2002****MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO  
GABINETE DO MINISTRO****INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 005, DE 1º DE MARÇO DE 2002**

O MINISTRO DE ESTADO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, no uso da atribuição que lhe confere o art. 87, parágrafo único, da Constituição, tendo em vista o disposto no art. 86, do Regulamento de Defesa Sanitária Animal, aprovado pelo Decreto nº 24.548, de 3 de julho de 1934, e o que consta do Processo nº 21000.009298/2001-82, resolve:

Art. 1º Aprovar as Normas Técnicas para o controle da raiva dos herbívoros domésticos, em conformidade com o Anexo a esta Instrução Normativa.

Art. 2º O item “b”, do art. 3º, da Portaria nº 516, de 9 de dezembro de 1997, passa a vigorar com a seguinte redação:

b) a incorporação da encefalopatia espongiforme bovina, da paraplexia enzoótica dos ovinos (*scrapie*) e outras doenças com sintomatologia nervosa de caráter progressivo no sistema de vigilância da raiva dos herbívoros domésticos, na forma a ser estabelecida em ato do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento”.

Art. 3º Esta Instrução Normativa entra em vigor na data de sua publicação.

Art. 4º Fica revogada a Portaria nº 126, de 18 de março de 1976.

MARCUS VINICIUS PRATINI DE MORAES

**ANEXO  
NORMAS TÉCNICAS PARA O CONTROLE DA RAIVA DOS HERBÍVOROS  
DOMÉSTICOS****CAPÍTULO I  
DAS DISPOSIÇÕES PRELIMINARES**

Art. 1º Para efeito destas Normas, considera-se como proprietário aquele que seja possuidor, depositário ou a qualquer título mantenha em seu poder animais susceptíveis à raiva.

Art. 2º O proprietário deverá notificar de imediato, ao Serviço Veterinário Oficial, a ocorrência ou a suspeita de casos de raiva, assim como a presença de animais atacados por morcegos hematófagos ou a existência de abrigos de tal espécie.

Art. 3º O Serviço Veterinário Oficial deverá tomar as providências necessárias ao atendimento dos animais e à coleta de material para diagnóstico da raiva e de outras encefalites diferenciais.

Art. 4º Os servidores que trabalham em laboratório ou em atividades de controle da doença devem estar protegidos mediante imunização preventiva, segundo esquema recomendado pela Organização Mundial da Saúde.

## CAPÍTULO II

### DO OBJETIVO E DA ESTRATÉGIA DE ATUAÇÃO DO PROGRAMA

Art. 5º O Programa Nacional de Controle da Raiva dos Herbívoros tem como objetivo baixar a prevalência da doença na população de herbívoros domésticos.

Art. 6º A estratégia de atuação do Programa é baseada na adoção da vacinação dos herbívoros domésticos, do controle de transmissores e de outros procedimentos de defesa sanitária animal que visam à proteção da saúde pública e o desenvolvimento de fundamentos de ações futuras para o controle dessa enfermidade.

## CAPÍTULO III

### DA VACINAÇÃO

Art. 7º Na profilaxia da raiva dos herbívoros, será utilizada vacina inativada, na dosagem de 2 (dois) ml, administrada pelo proprietário, através da via subcutânea ou intramuscular.

Art. 8º Nas áreas de ocorrência de raiva, a vacinação será adotada sistematicamente, em bovídeos e eqüídeos com idade igual ou superior a 3 (três) meses, sob a supervisão do médico veterinário.

§ 1º A vacinação de bovídeos e eqüídeos com idade inferior a 3 (três) meses e a de outras espécies poderá ser realizada a critério do médico veterinário.

§ 2º Animais primovacinações deverão ser revacinações após 30 (trinta) dias.

Art. 9º O atestado de vacinação anti-rábica será expedido por médico veterinário, sendo válido pelo período de proteção conferido pela vacina usada.

Parágrafo único. Para complementar a comprovação da vacinação, poderá ser solicitado ao proprietário dos animais:

I - a nota fiscal de aquisição da vacina, a qual deve constar o número da partida, a validade e o laboratório produtor;

II - a anotação da data da vacinação, o número de animais vacinados por espécie e a respectiva identificação dos animais.

Art. 10. A duração da imunidade das vacinas para uso em herbívoros, para efeito de revacinação, será de no máximo 12 (doze) meses.

## CAPÍTULO IV

### DA PRODUÇÃO, CONTROLE E COMERCIALIZAÇÃO DE VACINAS

Art. 11. A produção e o controle de todas as partidas de vacina obedecerão às normas do Departamento de Defesa Animal, junto ao qual todas as vacinas deverão estar previamente licenciadas.

Art. 12. Só será aprovada vacina com prazo de validade igual ou superior a 1 (um) ano.

Art. 13. Desde a produção até seu uso, a vacina anti-rábica deverá ser mantida em temperatura entre dois e oito graus centígrados.

Art. 14. Sempre que exigido pelo Serviço Veterinário Oficial, o estabelecimento responsável pela comercialização da vacina fica obrigado a comunicar a compra, a venda e o estoque de vacina.

Art. 15. Sempre que necessário, será procedida a coleta, para análise fiscal, de vacinas anti-rábicas, elaboradas no país ou importadas, onde quer que se encontrem, visando à avaliação da sua eficácia.

## CAPÍTULO V

### DO CONTROLE DE TRANSMISSORES

Art. 16. As equipes que atuam em focos de raiva deverão realizar inquéritos para determinação de outras espécies que não a dos morcegos, que possam atuar como transmissores.

Art. 17. O método escolhido para controle de transmissores dependerá da espécie animal, da topografia da região e das possíveis restrições legais.

Art. 18. Até que sejam realizados estudos a respeito de outros produtos, o método para o controle de morcegos hematófagos basear-se-á na utilização de substâncias anti-coagulantes.

Art. 19. A aplicação de substâncias anti-coagulantes em morcegos hematófagos deverá ser realizada sob a supervisão de médico veterinário.

Art. 20. A aplicação de substâncias anti-coagulantes, ao redor das lesões recentes provocadas por morcegos hematófagos em herbívoros, deverá ser feita pelo produtor, sob orientação de médico veterinário.

Art. 21. As substâncias anti-coagulantes e as redes de “nylon” empregados no controle de morcegos hematófagos constituem materiais de uso exclusivo do programa.

Art. 22. Em refúgios, recomenda-se a utilização de outros métodos de controle de morcegos hematófagos, desde que os locais sejam de fácil acesso e apresentem condições para os trabalhos, a critério do médico veterinário.

Art. 23. Os refúgios de morcegos hematófagos, notadamente os da espécie *Desmodus rotundus*, notificados ao Serviço Veterinário Oficial, deverão ser cadastrados e revisados periodicamente, visando a manter o efetivo controle das populações de morcegos neles existentes.

Art. 24. Ocorrendo raiva em carnívoro silvestre, deverá ser realizado levantamento epidemiológico, a fim de verificar a origem do caso e, se existir um surto atingindo uma ou mais espécies, promover-se-á o controle dessa população, por meio de capturas sistemáticas, para determinar a atividade viral e a extensão do surto.

## CAPÍTULO VI

### DAS OUTRAS MEDIDAS DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA

Art. 25. Na vigilância epidemiológica da doença, será estabelecido um sistema de informações que compreenderá a notificação obrigatória de casos e informações contínuas.

Art. 26. Será efetuado um diagnóstico permanente da situação epidemiológica, bem como a análise dos fatores condicionantes, a magnitude, a distribuição e a propagação da raiva.

Art. 27. Será considerada área de ocorrência de raiva aquela onde a doença tenha sido confirmada durante os 2 (dois) anos precedentes.

Art. 28. Será considerada zona ou área controlada aquela na qual o controle da raiva tenha alcançado níveis satisfatórios, com os bovídeos e eqüídeos devidamente vacinados e a população de transmissores reduzida.

Art. 29. Será considerada área de atuação imediata aquela na qual seja reconhecido estado endêmico de raiva, bem como a que requeira pronta intervenção.

Art. 30. A realização de vacinações focais e perifocais compreenderá todas as propriedades existentes na área infectada, abrangendo um raio de até 12 (doze) km, devendo ser procedida do mesmo modo com relação ao combate aos transmissores.

Art. 31. A vigilância dos transmissores deverá ser constantemente mantida por meio da verificação do coeficiente de mordeduras e da dinâmica de suas populações.

## CAPÍTULO VII

### DA COLETA DE MATERIAL E DOS EXAMES DE LABORATÓRIO

Art. 32. A coleta de material de animais suspeitos de raiva será orientada por médico veterinário e efetuada por este ou por auxiliar que tenha recebido treinamento adequado e que esteja devidamente imunizado.

Art. 33. Do animal suspeito de raiva deverão ser coletadas amostras do sistema nervoso central após o óbito, ou quando sacrificado na fase adiantada da doença (fase paralítica).

Art. 34. Ao laboratório deverão ser remetidas amostras do sistema nervoso central do animal suspeito, bem como 10% (dez por cento) dos morcegos hematófagos capturados.

Art. 35. Os exames dos materiais coletados serão processados por meio da técnica de imunofluorescência direta e prova biológica (inoculação em camundongos ou células), ou outra técnica que venha a ser recomendada pela Organização Mundial da Saúde, em laboratório oficial ou privado, credenciado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA.

## CAPÍTULO VIII DA EDUCAÇÃO SANITÁRIA E DIVULGAÇÃO

Art. 36. Na educação sanitária e divulgação, deverão ser utilizados todos os meios e informações disponíveis, assim como representantes dos níveis políticos, eclesiásticos e educacionais, visando a atingir o maior número possível de criadores e outros membros da comunidade rural.

Art. 37. A organização dos diferentes atores sociais da comunidade em Conselhos Municipais ou Intermunicipais de Sanidade Animal, integrados a um Conselho Estadual de Sanidade Animal, determina uma condição fundamental para a efetiva solução do problema raiva dos herbívoros domésticos.

## CAPÍTULO IX DISPOSIÇÕES GERAIS

Art. 38. O pessoal técnico e auxiliar encarregado do controle da raiva deverá receber treinamento especializado contínuo nos setores de controle de vacina, epidemiologia, estatística, planejamento e administração de campanhas sanitárias, diagnóstico de laboratório, bioecologia e controle de morcegos hematófagos, manejo de não-hematófagos e educação sanitária.

Art. 39. As atividades de combate à raiva terão caráter nacional e as unidades da federação deverão estabelecer legislação específica baseada nas presentes Normas.

Art. 40. Os laboratórios produtores de vacinas terão o prazo de 180 (cento e oitenta) dias, após a publicação da presente Instrução Normativa, para as adequações necessárias ao atendimento pleno da mesma.

Art. 41. Incorporar a vigilância da encefalopatia espongiforme bovina, da paraplexia enzoótica dos ovinos (*scrapie*) e de outras doenças que apresentem sintomatologia nervosa de caráter progressivo, ao sistema de vigilância da raiva dos herbívoros domésticos.

Art. 42. A Secretaria de Defesa Agropecuária - SDA, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, baixará instruções complementares sobre a matéria e resolverá os casos omissos.



**Anexo 3 – Instrução Normativa nº 15, de 15 de fevereiro de 2002**

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO  
SECRETARIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA  
INSTRUÇÃO NORMATIVA SDA N.º 15, de 15 de fevereiro de 2002

O SECRETARIO DE DEFESA AGROPECUÁRIA DO MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, no uso da atribuição que lhe confere o art. 83, inciso IV do Regimento Interno da Secretaria, aprovado pela Portaria Ministerial n.º 574, de 8 de dezembro de 1998, a Instrução Normativa nº 24, da Secretaria de Defesa Agropecuária, de 07 de junho de 2001 e a necessidade da instituição de Normas de Credenciamento de Laboratórios para o diagnóstico de Encefalopatia Espongiforme Transmissíveis e o que consta do Processo n.º 21000.000109/2002-97, resolve:

Art. 1º – Aprovar as Normas de Credenciamento e Monitoramento de Laboratórios de Diagnóstico das Encefalopatias Espongiforme Transmissíveis em ruminantes – EET.

Art. 2º - O credenciamento a que se refere o artigo anterior estará limitado às necessidades do Departamento de Defesa Animal no que se refere ao número e localização geográfica.

Art. 3º - Esta Portaria entra em vigor na data de sua publicação.

LUIZ CARLOS DE OLIVEIRA

**ANEXO**

**REQUISITOS DE QUALIDADE PARA O CREDENCIAMENTO E MONITORAMENTO DE  
LABORATÓRIOS DE DIAGNÓSTICO DAS ENCEFALOPATIAS ESPONGIFORMES  
TRANSMISSÍVEIS EM RUMINANTES – EET**

1 - Objetivos

Estabelecer os requisitos de qualidade no diagnóstico das encefalopatias espongiformes transmissíveis visando o credenciamento de laboratórios pelo Departamento de Defesa Animal - DDA.

2 - Aplicação

2.1- A presente Norma aplica-se ao laboratório que disponha de médico veterinário com especialização em patologia veterinária.

2.2- O credenciamento a que se refere a presente Norma está vinculado diretamente ao Médico Veterinário patologista, que será nomeado responsável técnico pelo diagnóstico de EET, mediante avaliação pelo DDA.

3 - Definições

3.1- Para efeito da presente Norma define-se:

3.1.1- ENCÉFALO: é a parte do sistema nervoso central, exceto a medula espinhal, incluindo mielencéfalo, metencéfalo, mesencéfalo, diencéfalo e telencéfalo.

3.1.2- TRONCO ENCEFÁLICO: é a parte compreendida pelo mielencéfalo (bulbo) e metencéfalo (com exceção do cerebelo) e diencéfalo. É o que resta do encéfalo quando se exclui o telencéfalo e o cerebelo.

#### 4 - Amostras

4.1- Amostra a ser colhida: material encefálico devidamente coletado, conforme está estabelecido no manual de procedimentos específico, aprovado pelo DDA.

4.2- Amostra a ser testada: fragmentos do encéfalo juntamente com a rede admirável carotídea, o gânglio do nervo trigêmeo e a hipófise deverão ser fixados em formol a 10% e processados conforme descrito no ANEXO I.

#### 5 - Recebimento das Amostras

5.1- As amostras deverão estar acompanhadas de Formulário de Requisição, conforme modelo estabelecido no ANEXO II.

5.2 - Não deverão ser recebidas amostras congeladas para exame histológico.

5.3- As amostras serão registradas em livro próprio contendo as seguintes informações: nº do protocolo; remetente e endereço; responsável pelo recebimento; proprietário e endereço; espécie; sexo; idade; raça; data de encaminhamento; data de entrada; data de saída e resultado, conforme modelo indicado no ANEXO III.

#### 6 - Conservação e Estocagem

6.1- A amostra a ser analisada deverá ser conservada em formol a 10%, até a montagem dos blocos de parafina e a confecção das lâminas.

6.2- Os blocos de parafina e as preparações histológicas deverão ser arquivados por pelo menos sete anos.

#### 7- Segurança biológica

7.1- Deverão ser respeitadas as normas de segurança biológica em todos os procedimentos realizados com o material do exame.

7.2- As amostras quando descartadas deverão ser incineradas.

#### 8 - Métodos de Diagnóstico

8.1- O exame histológico é um dos indicados para o diagnóstico da encefalopatias espongiformes transmissíveis, conforme descrito no ANEXO I.

8.2- O DDA baixará os requisitos necessários ao credenciamento de laboratórios de diagnóstico de EET's, através de outras metodologias analíticas, conforme a necessidade.

8.3- Qualquer alteração na metodologia analítica deverá ser previamente aprovada pelo DDA.

8.4- Quando houver um caso suspeito, a amostra deverá ser encaminhada ao Laboratório de Referência das EET para análise.

#### 9 - Resultados e Relatórios

9.1- O resultados dos exames deverão ser emitidos em formulários próprios, conforme modelo proposto pelo DDA e de acordo com o seguinte fluxograma:

9.1.1- Resultado NEGATIVO: Será encaminhado ao órgão requisitante e ao DDA;

9.1.2- O Resultado SUSPEITO ou DUVIDOSO deve ser imediata e obrigatoriamente comunicado ao DDA e ao Laboratório de Referência para o diagnóstico das EET no Brasil;

9.1.3- Todo laboratório credenciado deverá encaminhar ao DDA, até o décimo dia útil do mês subsequente, relatório das atividades mensais, em formulários próprios.

## 10 - Do Laboratório

10.1- O laboratório deve possuir instalações e equipamentos aprovados para a realização do exame histológico.

10.1.1- Protocolo: sala destinada ao recebimento das amostras, registro, expedição dos resultados e arquivo dos mesmos.

10.1.2- Sala de Exame: Local onde as amostras serão processadas. Deverá estar provido de bancada impermeável e resistente à desinfecção, fontes de eletricidade suficientes e adequadas ao perfeito funcionamento dos equipamentos, fonte de gás quando necessária, e paredes com superfície lavável.

10.1.3- Esterilização e lavagem: Deverá estar provido de fontes de eletricidade, tanques ou pias que permitam a esterilização e a lavagem de todo material utilizado na realização da análise.

10.2- As instalações devem atender às normas de segurança biológica.

10.3- O laboratório deve possuir instalações, equipamentos e fluxos operacionais, aprovados para realização de exame histológico.

10.4- O laboratório deve designar um responsável técnico, com experiência específica comprovada, que realizará os exames.

10.5- Os laudos laboratoriais e o relatório mensal, deverão ser obrigatoriamente, assinados pelo responsável técnico ou seu substituto.

## 11 - Do responsável técnico e substituto

Para efeito de credenciamento e monitoramento, o responsável técnico e seu eventual substituto, serão submetidos a auditorias técnicas com acompanhamento do ensaio no próprio laboratório, realizadas por auditores designados pelo DDA.

### ANEXO I

#### PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO PARA DIAGNÓSTICO DAS ENCEFALOPATIAS ESPONGIFORMES TRANSMISSÍVEIS – EET

##### PROGRAMAÇÃO DE PROCESSAMENTO DO MATERIAL

O material após clivado deverá ser processado rotineiramente para exame histológico. Isso poderá ser feito em processador de tecidos automático (histotécnico) regulado conforme as conveniências do laboratório, mas obedecendo, em geral, os tempos abaixo discriminados. Esse processamento poderá ser feito manualmente.

CUBAS	REAGENTES	TEMPO DE IMERSÃO
Copo becker 1 (formol)	Álcool 95%	1:00 hora
Copo becker 2	Álcool 95%	1:00 hora
Copo becker 3	Álcool 95%	1:00 hora
Copo becker 4	Álcool absoluto	1:00 hora
Copo becker 5	Álcool absoluto	1:00 hora
Copo becker 6	Xilol	1:00 hora
Copo becker 7	Xilol	1:00 hora
Copo becker 8	Xilol	1:00 hora
Estufa 1	Parafina	1:30 horas
Estufa 2	Parafina	1:30 horas

Após o processamento descrito acima é feita a inclusão do material em parafina. O material nos blocos de parafina é cortado em 5 µm de espessura e corado pela técnica de hematoxilina e eosina, conforme descrito abaixo.

- 1- Xilol ..... 5 minutos
- 2- Xilol ..... 5 minutos
- 3- Álcool absoluto ..... 2 minutos
- 4- Álcool 95% ..... 2 minutos
- 5- Álcool 80% ..... 2 minutos
- 6- Álcool 70% ..... 1 minuto
- 7- Água corrente ..... lavar
- 8- Hematoxilina ..... 20-40 segundos
- 9- Água corrente ..... lavar
- 10- Água de amônia .... imergir até azular
- 11- Água corrente ..... lavar
- 12- Eosina ..... 1-2 minutos
- 13- Álcool 70% ..... rapidamente
- 14- Álcool 80% ..... rapidamente
- 15- Álcool 90% ..... rapidamente
- 16- Álcool absoluto .... 5 minutos
- 17- Álcool absoluto .... 5 minutos
- 18- Xilol ..... 5 minutos
- 19- Xilol ..... 5 minutos
- 20- Montar as lâminas utilizando bálsamo do Canadá (ou Entelan) para fixar a lamínula.

## ANEXO II

## Formulário de requisição de exames

Material nº: Laboratório / nº do protocolo / ano	Município: _____	UF: _____
Veterinário Remetente: _____	CRMV-UF nº: _____	
Endereço: _____	Telefone: ( ) _____	
Email: _____	Fax: ( ) _____	

<b>Para preenchimento exclusivo quando for bovino importado ( IN nº 08, de 13/02/2001)</b>	
Nome do animal: _____	Número do animal: _____
Com sintomatologia nervosa? Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Para indenização? Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/>	

Proprietário: _____	Propriedade: _____
Endereço: _____	Município: _____ UF: _____
Email: _____	Telefone: ( ) _____ Fax: ( ) _____
Espécie: Bovina ( ) Ovina ( ) Caprina ( ) Raça: _____	Idade: ___ meses
Havia outras espécies afetadas? Sim ( ) Não ( ) Categoria afetada: Macho ( ) Fêmea ( )	
Número de animais: no rebanho (____) doentes (____) mortos (____)	
O animal morto já foi vacinado para: Raiva ( ) Clostridiose ( ) Outras _____	
O animal consumia concentrado? Sim ( ) Não ( )	

Data do início do surto/doença: __/__/__	Duração do surto/doença: _____		
Tipos de sinais clínicos apresentados:			
Morte súbita ( )	Cegueira ( )	Torneio ( )	Paralisia flácida dos membros posteriores ( )
Depressão ( )	Incoordenação ( )	Convulsões ( )	
Ataxia ( )	Tétano ( )	Dismetria ( )	
Com paralisia, mas ainda alerta ( )	Agressividade ( )	Tremores ( )	Paralisia flácida dos membros anteriores ( )
	Opistótono ( )	Nistagmo ( )	
Duração dos sinais clínicos (desde o início até a morte): _____ horas			
Havia animais que se recuperaram dos sinais clínicos? Sim ( ) Não ( ) Que percentual? ___ %			

Dia e hora da morte: ___/___/___ às _____:	_____
Tempo decorrido entre a morte e a coleta do material: _____	horas
Tempo decorrido entre a morte e a fixação do material: _____	horas minuto
Material conservado em: _____	

Veterinário responsável pela coleta: _____	CRMV-UF nº: _____
Endereço: _____	Telefone: ( ) _____
Email: _____	Fax: ( ) _____

Observações: _____
--------------------

Local / Data: \_\_\_\_\_, \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_



**Anexo 4 – Rede de laboratórios credenciados pelo MAPA para o diagnóstico das encefalopatias espongiformes transmissíveis de ruminantes no Brasil**

**1. DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA – UFSM**

Resp.: Dr. Claudio Severo Lombardo de Barros  
CEP.:97105-900- Santa Maria/RS  
Fone: 55 (55) 3220.8168 Fax: 55 (55) 3220.8284  
e-mail: [claudioslbarros@uol.com.br](mailto:claudioslbarros@uol.com.br)

**2. LABORATÓRIO DE PATOLOGIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO MATO GROSSO DO SUL – UFMS**

Resp.: Dr. Eurípedes Batista Guimarães  
Av. Senador Felinto Muller, 2443 – Caixa Postal 549 - CEP.: 79070-900 - Campo Grande/MS  
Tel.: 55 (67) 345.3615 Fax: 55 (67) 345.3600  
e-mail: [ebg@nin.ufms.br](mailto:ebg@nin.ufms.br)

**3. LABORATÓRIO DE PATOLOGIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL – UFRGS**

Resp.: Dr. David Driemeier  
Av. Bento Gonçalves, 9090 – Caixa Postal 15094 - CEP.: 91540-000 - Porto Alegre/RS  
Telefone: 55 (51) 3316.6107 Fax: 55 (51) 3316.7305  
e-mail: [davetpat@ufrgs.br](mailto:davetpat@ufrgs.br)

**4. LABORATÓRIO NACIONAL AGROPECUÁRIO – LANAGRO/ RECIFE- PE**

Resp.: Dra. Ana Karina Cunha Callado  
Rua Manoel de Medeiros, s/nº - Dois Irmãos  
CEP: 52171-030 – Recife/PE  
Tel.: 55 (81) 3441-6311 e 3441-6024  
e-mail: [anakarina@agricultura.gov.br](mailto:anakarina@agricultura.gov.br)

**5. LABORATÓRIO DO INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA - IMA/MG**

Resp: Dr. Anilton César Vasconcelos  
Avenida do Contorno nº 1707 A – Floresta - CEP 30110-070 - Belo Horizonte /MG  
Tel.:55 (31) 3213-4263 , 3499-2887 Fax 55 (31) 3213-4263  
e-mail: [laboratorioanimalima@bhsol.com.br](mailto:laboratorioanimalima@bhsol.com.br); [anilton@icb.ufmg.br](mailto:anilton@icb.ufmg.br)

**6. LABORATÓRIO DE ANATOMIA PATOLÓGICA DO INSTITUTO BIOLÓGICO DE SÃO PAULO – SP**

Resp.: Dra Claudia del Fava  
Avenida Conselheiro Rodrigues Alves nº 1252, Vila Mariana - CEP 04014-002-São Paulo/SP  
Tel: 55 (11) 5087 – 1779 Fax 55 (11) 5087-1779  
e-mail: [lara@biologico.sp.gov.br](mailto:lara@biologico.sp.gov.br)

**Anexo 5 – Instrução Normativa nº 18, de 27 de fevereiro de 2004****MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO  
SECRETARIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA****INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 18, DE 27 DE FEVEREIRO DE 2004**

O SECRETÁRIO DE DEFESA AGROPECUÁRIA DO MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, no uso das atribuições que lhe conferem o inciso II, Art. 15, do Decreto nº 4.629, de 21 de março de 2003 e o art. 4º, da Portaria Ministerial nº 516, de 9 de dezembro de 1997, e tendo em vista o que consta do Processo nº 21000.012718/2003-70, resolve:

Art. 1º Estabelecer as normas sobre os requisitos de qualidade para efeito de credenciamento e monitoramento de laboratório pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) com vistas a procederem a diagnósticos das Encefalopatias Espongiformes Transmissíveis (EET) em ruminantes pela técnica de imunoistoquímica (IHQ), conforme disposto no Anexo I, bem como, aprovar os modelos de formulários para requisição e laudo de resultado de exames e registro de amostras, nas formas constantes dos anexos II a IV desta Instrução.

Parágrafo único. Para o credenciamento e monitoramento previstos no caput deste artigo serão observadas as normas sobre os requisitos de qualidade constantes do Anexo I desta Instrução Normativa e as da Instrução Normativa nº 51, de 27 de junho de 2003.

Art. 2º O laboratório a ser credenciado deverá dispor de Responsável Técnico (RT) com formação profissional de Médico Veterinário, experiência comprovada em patologia veterinária e domínio da técnica de IHQ.

Art. 3º Esta Instrução Normativa entra em vigor na data de sua publicação.

MAÇAO TADANO

**ANEXO**  
**REQUISITOS DE QUALIDADE PARA O CREDENCIAMENTO E MONITORAMENTO DE**  
**LABORATÓRIOS DE DIAGNÓSTICO DAS ENCEFALOPATIAS ESPONGIFORMES**  
**TRANSMISSÍVEIS (EET) EM RUMINANTES, PELA TÉCNICA DE IMUNO-**  
**HISTOQUÍMICA (IHQ)**

1. Objetivo

Estabelecer os requisitos de qualidade no diagnóstico das EET, pela IHQ, visando o credenciamento de laboratórios pelo MAPA.

2. Aplicação

2.1. A presente Norma aplica-se ao laboratório que disponha de Responsável Técnico (RT) Médico Veterinário com experiência comprovada em patologia veterinária e domine a técnica de IHQ.



### 3. Definições

3.1. BULBO: porção do tronco encefálico que inicia aproximadamente na altura da inserção do primeiro par de nervos cervicais e se estende rostralmente até o bordo caudal da ponte

3.2. ÓBEX: marcação anatômica no tronco encefálico que consiste na junção das tênias do IV ventrículo no ângulo posterior

3.3. CEREBELO: porção do metencéfalo localizada caudalmente aos lobos occipitais do telencéfalo e sobre a ponte e o bulbo (medula oblonga), formando a maior parte do teto do quarto ventrículo

3.4. ÓRGÃOS LINFÓIDES: locais de produção de células linfóides, como timo, baço e linfonodos e, agregados linfóides: tonsilas, placas de Peyer e 3ª pálpebra.

### 4. Amostras

4.1. A amostra de eleição a ser testada é constituída por fragmento de tecido devidamente fixado em formol a 10% e está discriminada conforme a espécie:

4.1.1. Bovinos - bulbo na altura do óbex

4.1.2. Ovinos e Caprinos - bulbo na altura do óbex, cerebelo e órgãos linfóides

### 5. Recebimento das Amostras

5.1. As amostras deverão estar acompanhadas de Formulário de Requisição de Exame, devidamente preenchido, conforme modelo estabelecido no ANEXO III.

5.2. As amostras serão registradas em livro próprio conforme modelo estabelecido no ANEXO IV.

### 6. Conservação e Estocagem

6.1. A amostra a ser analisada deverá ser conservada em formol a 10%, até a inclusão em blocos de parafina e a confecção das lâminas.

6.2. Os blocos de parafina e as preparações histológicas deverão ser arquivados por, pelo menos, sete anos.

### 7. Segurança biológica

7.1. O laboratório deverá seguir os procedimentos de biossegurança preconizados para doenças priônicas.

7.2. Na ocorrência de amostra positiva deverão ser adotados os seguintes procedimentos:

7.2.1. O material utilizado para o diagnóstico, no dia, deverá ser submetido a um processo de desinfecção com Hidróxido de Sódio a 2N por 2 horas e, após bem enxaguado, autoclavado a 134° C, por 1 hora.

7.2.2. O material a ser descartado deverá ser duplamente embalado em sacos adequados para lixos infecciosos e incinerado posteriormente.

### 8. Método de Diagnóstico

8.1. A técnica de IHQ, descrita no ANEXO I, é um dos métodos indicados para o diagnóstico das EET

8.2. Procedimentos no manejo de reativos utilizados na técnica de IHQ são descritos no ANEXO II

8.3. Qualquer alteração na metodologia analítica deverá ser previamente aprovada pelo MAPA

### 9. Resultados e Relatórios

9.1. O resultado dos exames deverá ser emitido em formulário próprio conforme modelo proposto pelo MAPA no anexo V, em duas vias, uma para arquivo do laboratório e outra para o órgão requisitante, de acordo com o seguinte fluxo:

9.1.1. Resultado NEGATIVO: Será encaminhado ao órgão requisitante e ao setor competente do MAPA;

9.1.2. Resultado SUSPEITO ou DUVIDOSO: deve ser imediata e obrigatoriamente comunicado ao setor competente do MAPA e ao Laboratório de Referência para o diagnóstico das EET no Brasil;

9.1.3. Todo laboratório credenciado deverá encaminhar ao setor competente do MAPA, até o décimo dia útil do mês subsequente, relatório das atividades mensais, por sistema específico.

## 10. Do Laboratório

10.1. O laboratório deve possuir instalações e equipamentos adequados para a realização do exame de IHQ

10.2. As instalações deverão obedecer a um fluxo operacional coerente com a técnica desenvolvida.

## 11. Instalações e equipamentos

### 11.1. Instalações

11.1.1. Protocolo: ambiente destinado ao recebimento das amostras, registro, expedição dos resultados e arquivo dos mesmos.

11.1.2. Exame: ambiente onde as amostras serão processadas. Deverá estar provido de bancada impermeável e resistente à desinfecção, fontes de eletricidade suficientes e adequadas ao perfeito funcionamento dos equipamentos e paredes com superfície lavável.

11.1.3. Esterilização e lavagem: deverá estar provido de fontes de eletricidade, tanques ou pias que permitam a esterilização e a lavagem de todo material utilizado na realização da análise.

### 11.2. Equipamentos

11.2.1. Arquivo

11.2.2. Microcomputador

11.2.3. Caixas para arquivo das lâminas e blocos de tecidos

11.2.4. Micrótomo

11.2.5. Processador automático de tecidos (opcional)

11.2.6. Autoinclusor de parafina (opcional)

11.2.7. Banho Maria histológico

11.2.8. Refrigerador/ freezer -20°C (vinte graus Celsius negativos)

11.2.9. Capela de fluxo contínuo

11.2.10. Capela de fluxo laminar

11.2.11. Estufa

11.2.12. Agitador de tubos (opcional)

11.2.13. Pipetas monocanais de 1-10 µl, 10-100 µl e 200-1000 µl, ou similares

11.2.14. Vidraria de laboratório

11.2.15. Armário para estoque dos reagentes e soluções

11.2.16. Microscópio óptico

11.2.17. Medidor de pH

11.2.18. Balança analítica

11.2.19. Autoclave

11.2.20. Destilador

11.2.21. Deionizador (opcional)

## 12. Do responsável técnico titular e substituto

12.1. O RT titular e seu eventual substituto, designado(s) pelo laboratório, deverá(ão) ser submetido(s) a treinamento, no laboratório de referência, na técnica utilizada.

12.2. Após o treinamento, e para efeito de credenciamento ou monitoramento, o RT titular e seu eventual substituto, será(ão) submetido(s) a auditorias técnicas com acompanhamento do ensaio no próprio laboratório, realizadas por auditores designados pelo MAPA.

12.3. Os laudos laboratoriais e o relatório mensal deverão ser, obrigatoriamente, assinados pelo responsável técnico titular ou seu substituto.

## ANEXO I PROTOCOLO PARA O DIAGNÓSTICO DAS EET EM RUMINANTES PELA TÉCNICA DE IHQ

### 1. Fixação e Descontaminação do material

1.1. Os tecidos frescos devem ser fixados em formalina a 10%, preferencialmente tamponada. O cérebro e linfonodos inteiros necessitam de, pelo menos, 3 a 5 dias de fixação antes de serem clivados. Biópsias de linfonodos requerem, pelo menos, 2 dias de fixação. Fragmentos de tecidos que tenham espessura em torno de 7 milímetros podem ser fixados em 1 dia.

1.2. Após o tempo necessário à fixação, os tecidos são clivados em fragmentos de aproximadamente 2 milímetros de espessura e colocados em cassetes para inclusão.

1.3. Os tecidos são descontaminados em uma solução de ácido fórmico a 95-98% por 1 hora, em uma cabine de fluxo contínuo. Os cassetes devem estar totalmente imersos na solução.

1.4. Enxaguar rapidamente os tecidos por 3 vezes em 10 volumes de água e, em seguida, submetê-los a lavagem contínua em água corrente até a total eliminação do odor do ácido.

1.5. Enxaguar em água bidestilada ou deionizada por 10 minutos.

1.6. Colocar os cassetes em solução de formalina fresca tamponada a 10%, por 24 horas.

### 2. Processamento e inclusão dos tecidos em parafina.

2.1. O material, depois de clivado, deverá ser processado rotineiramente para exame histológico. Este poderá ser feito em processador automático de tecidos (histotécnico) ou manualmente, regulado conforme as conveniências do laboratório, mas obedecendo, em geral, os tempos abaixo discriminados.

CUBAS	REAGENTES	TEMPO DE IMERSÃO
Copo becker 1 (formol)	Álcool 95%	1:00 hora
Copo becker 2	Álcool 95%	1:00 hora
Copo becker 3	Álcool 95%	1:00 hora
Copo becker 4	Álcool absoluto	1:00 hora
Copo becker 5	Álcool absoluto	1:00 hora
Copo becker 6	Xilol	1:00 hora
Copo becker 7	Xilol	1:00 hora
Copo becker 8	Xilol	1:00 hora
Estufa 1	Parafina	1:30 horas
Estufa 2	Parafina	1:30 horas

2.2. Após o processamento descrito acima é feita a inclusão do material em parafina a 58-65°C.

### 3. Preparação dos cortes histológicos e lâminas

3.1. A amostra a ser testada e os controles da prova, nos blocos de parafina, são cortados em 4 a 6 micrômetros de espessura e colocados em lâminas especiais com carga elétrica (tipo Probe On Plus), seguindo as orientações de uso do fabricante. Devem ser utilizadas 2 lâminas controle positivo e 2 lâminas controle negativo.

3.1.1. Como controle positivo devem ser usados tecidos de animais comprovadamente positivos para *Scrapie*, inativados com Ácido Fórmico a 95-98% por 1 hora.

3.1.2. No caso de utilizar o sistema do tipo MicroProbe as lâminas devem ser pareadas de maneira que forme um espaço capilar, com as partes pintadas fazendo contato, e colocadas no suporte próprio para lâminas (tipo Slide Holder.).

3.2. Para remoção da parafina as lâminas podem ser colocadas na estufa a 65°C por 20 minutos.

3.2.1. No caso de utilizar o sistema do tipo MicroProbe, após este período, as lâminas são imersas em xilol, por 10 minutos a 65°C, trocar o xilol e imergi-las por mais 3 minutos a 65°C, realizar 3 enxágües rápidos.

### 4. Reidratação dos tecidos

4.1. Lavar em xilol por 5 minutos

4.2. Lavar em xilol por 5 minutos

4.3. Lavar em álcool absoluto por 2 minutos

4.4. Lavar em álcool 95% por 2 minutos

4.5. Lavar em álcool 80% por 2 minutos

4.6. Lavar em álcool 70% por 1 minuto

### 5. Bloqueio da Peroxidase endógena

5.1. Enxaguar as lâminas com uma solução de água oxigenada (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e metanol a 3% (1ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a 30% em 30ml de metanol) preparada antes do uso.

5.2. Incubar por 10 minutos a 22-25°C com a mesma solução.

5.3. Enxaguar as lâminas submergindo-as 4 vezes em água deionizada ou bidestilada. Se necessário, as lâminas podem ficar algumas horas submersas em água.

### 6. Ativação do antígeno

6.1. Incubar os tecidos em uma solução de ácido fórmico 95% por 5 minutos a 22-25°C, em um recipiente resistente ao ácido.

6.2. Lavar cuidadosamente e neutralizar em tampão Tris-HCl, usando 3 enxágües rápidos, seguido de incubação por 1 minuto em tampão fresco. O pH do lavado final deve ficar entre 7 e 8.

6.2.1. Para o controle do pH, colocar as lâminas sobre um papel medidor de pH e continuar as lavagens até atingir o pH adequado.

6.3. Transferir o suporte com as lâminas para um recipiente resistente ao calor, contendo solução tampão adequada.

6.4. Tampar o recipiente, envolvê-lo em papel alumínio e autoclavar a 121°C por 20 minutos. A contagem do tempo é iniciada quando a temperatura atinge 121°C.

6.5. Transferir as lâminas para o tampão Tris com tween20 (TBST) por 10 minutos. Se necessário, as lâminas podem ser mantidas em tampão por algumas horas.

### 7. Coloração Imunoistoquímica

7.1. Nesta etapa a temperatura ambiente (22-25°C) deve ser mantida.

7.2. Agregar a solução de proteinase K sobre o corte do tecido na lâmina e incubar por 1 minuto. Enxaguar por 3 vezes, 20 segundos, em TBST.

7.2.1. No caso de utilizar o sistema do tipo MicroProbe agregar 150 microlitros de solução de proteinase K em um pocinho dosificador tipo Isolon e incubar por 1 minuto.

7.3. Enxaguar por 3 vezes, 20 segundos, em TBST.

7.4. Agregar o anticorpo monoclonal F99/97.6.1 diluído conforme recomendações do fabricante, em diluente de anticorpo e preparado no dia do uso, incubando por 10 minutos.

7.5. Enxaguar com TBST, 3 vezes por 20 segundos.

7.6. Agregar o complexo Biotina-IgG anti-camundongo e incubar por 10 minutos, a 22-25°C.

7.7. Enxaguar com TBST, 3 vezes por 20 segundos.

7.8. Agregar a Peroxidase-Estreptavidina ou Peroxidase-Avidina e incubar por 10 minutos a 22-25°C.

7.9. Enxaguar com TBST, 3 vezes por 20 segundos.

7.10. Agregar substrato DAB cromógeno e incubar por 4 a 5 minutos.

7.11. Enxaguar com água destilada, 2 vezes por 20 segundos.

7.12. Contracorar com hematoxilina

7.13. Enxaguar com água corrente, 3 vezes por 20 segundos.

7.14. Deixar em água corrente por 2-5 minutos até atingir a coloração azulada.

7.14.1. Este processo pode ser substituído submergindo as lâminas 5 vezes em banho contendo uma solução de hidróxido de amônio ou Scotts Water Substitute.

7.15. Enxaguar com água corrente, 2 vezes por 20 segundos.

7.16. Deixar as lâminas na água até começar a montagem com lamínula.

## 8. Desidratação dos tecidos

8.1. Lavar em álcool 70% por 2 minutos

8.2. Lavar em álcool 80% por 2 minutos

8.3. Lavar em álcool 95% por 2 minutos

8.4. Lavar em álcool absoluto por 2 minutos

8.5. Lavar em xilol por 5 minutos

8.6. Lavar em xilol por 5 minutos

9. Montar as lâminas utilizando bálsamo do Canadá natural ou sintético para fixar a lamínula.

10. Ler em microscópio óptico.

11. Registrar o resultado.

## **ANEXO II**

### **MANEJO DOS REATIVOS**

#### **ANTICORPOS:**

- A solução Estoque de anticorpos, em uso, deve ser armazenada entre 2 e 7°C.
- Não são recomendados o congelamento e o descongelamento repetidos.
- Os anticorpos são diluídos no dia do uso e mantidos sob refrigeração.
- O congelamento de anticorpos pré-diluídos, especialmente quando estão combinados, não é recomendado.

#### **SUBSTRATO CROMÓGENO DAB:**

- Utilizar conforme recomendações do fabricante.
- Deve ser mantido sob refrigeração até o seu uso.
- Se apresentar um precipitado deve ser bem agitado antes do uso.

#### **TAMPÃO TRIS-HCl A 0.1 M**

- Dissolver 12,1 gramas de Tris base em 800ml de água bidestilada.
- Ajustar o pH para 7,6 com HCl concentrado e completar para 1 litro.
- Pode ser mantido em temperatura de 22-25°C.

#### **TAMPÃO TRIS COM TWEEN20 (TBST)**

- Adicionar 6,06 gramas de Tris base e 17,5 gramas de Cloreto de Sódio (NaCl) em 800ml de água bidestilada.
- Ajustar o pH para 7,6 com Ácido Clorídrico (HCl) concentrado e completar para 1 litro de água, homogeneizando bem.
- Adicionar 1ml de Tween20 e homogeneizar evitando formar espuma.
- Conservar em temperatura de 22-25°C.

#### **SOLUÇÃO DE HIDRÓXIDO DE AMÔNIA**

- Adicionar 2,5ml de Hidróxido de amônia 14,8 N em 1 litro de água bidestilada.
- Conservar em temperatura de 22-25°C num frasco com tampa para evitar a evaporação.

#### **SCOTT'S WATER SUBSTITUTE**

- Diluir 10 gramas de Sulfato de Magnésio em 1 litro de água bidestilada.
- Conservar em temperatura de 22-25°C.

**ANEXO III****Modelo para Formulário de requisição de exames**

Material n°: Laboratório / n° do protocolo / ano Município: _____	UF: _____
Veterinário Remetente: _____	CRMV-UF n°: _____
Endereço: _____	Telefone: ( ) _____
Email: _____	Fax: ( ) _____

**Para preenchimento exclusivo quando for bovino importado ( IN n° 08, de 13/02/2001)**

Nome do animal: \_\_\_\_\_ Número do animal: \_\_\_\_\_

Com sintomatologia nervosa? Sim  Não Para indenização? Sim  Não 

Proprietário: _____	Propriedade: _____
Endereço: _____	Município: _____ UF: _____
Email: _____	Telefone: ( ) _____ Fax: ( ) _____
Espécie: Bovina ( ) Ovina ( ) Caprina ( ) Raça: _____	Idade: ____ meses
Havia outras espécies afetadas? Sim ( ) Não ( ) Categoria afetada: Macho ( ) Fêmea ( )	
Número de animais: no rebanho (____) doentes (____) mortos (____)	
O animal morto já foi vacinado para: Raiva ( ) Clostridiose ( ) Outras _____	
O animal consumia concentrado? Sim ( ) Não ( )	

Data do início do surto/doença: \_\_/\_\_/\_\_ Duração do surto/doença: \_\_\_\_\_

Tipos de sinais clínicos apresentados:

Morte súbita ( )	Agressividade ( )	Paralisia flácida dos posteriores ( )
Depressão ( )	Opistótono ( )	Paralisia flácida dos anteriores ( )
Ataxia ( )	Torneio ( )	Paralisia facial ( )
Com paralisia, mas alerta ( )	Convulsões ( )	Paralisia da língua ( )
Cegueira ( )	Dismetria ( )	Ranger de dentes ( )
Incoordenação ( )	Tremores ( )	
Tetania ( )	Nistagmo ( )	

Duração dos sinais clínicos (desde o início até a morte): \_\_\_\_\_ horas

Havia animais que se recuperaram dos sinais clínicos? Sim ( ) Não ( ) Que percentual? \_\_\_\_ %

Dia e hora da morte: ____/____/____ às _____:
Tempo decorrido entre a morte e a coleta do material: _____ horas
Tempo decorrido entre a morte e a fixação do material: _____ horas minuto
Material conservado em: _____

Veterinário responsável pela coleta: _____	CRMV-UF n°: _____
Endereço: _____	Telefone: ( ) _____
Email: _____	Fax: ( ) _____

Observações: _____
--------------------

Local / Data: \_\_\_\_\_, \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_





## ANEXO V

## MODELO PARA LAUDO DE RESULTADO DE EXAME EM IMUNOISTOQUÍMICA

<b>Credenciamento junto ao MAPA:</b>	<b>Identificação do laboratório:</b>
--------------------------------------	--------------------------------------

<b>Protocolo remetente:</b>	<b>Categoria de exame:</b>
-----------------------------	----------------------------

<b>Espécie:</b>	<b>Raça:</b>	<b>Sexo:</b>	<b>Idade:</b>
-----------------	--------------	--------------	---------------

<b>Proprietário:</b>	<b>Procedência:</b>
----------------------	---------------------

<b>Data de entrada:</b>	<b>Data enc.:</b>	<b>Número de blocos:</b>	<b>Data de Saída:</b>
-------------------------	-------------------	--------------------------	-----------------------

<b>Remetente e endereço do órgão requisitante:</b>
--

<b>Histórico:</b>
-------------------

<b>Diagnóstico:</b>
---------------------

<b>Assinatura:</b>	<b>Data:</b>
<b>Responsável Técnico:</b>	

**Anexo 6 – Portaria Nº 69, de 17 de agosto de 2004**

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO  
SECRETARIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA  
DEPARTAMENTO DE DEFESA ANIMAL

PORTARIA Nº 69, DE 17 DE AGOSTO DE 2004

O DIRETOR DO DEPARTAMENTO DE DEFESA ANIMAL, DA SECRETARIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA, DO MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, no uso da atribuição que lhe confere o art. 84, inciso VIII do Regimento Interno da Secretaria, aprovado pela Portaria Ministerial nº 574, de 8 de dezembro de 1998, tendo em vista o disposto no Regulamento de Defesa Sanitária Animal, aprovado pelo Decreto nº 24.548, de 3 de julho de 1934, e a Portaria SDA nº 14, de 15 de março de 2002, resolve:

Art. 1º Estabelecer a composição do Comitê Científico Consultivo sobre Encefalopatias Espongiformes Transmissíveis - CEET, especificando a área de atuação de cada um dos membros constituintes:

I - Claudio Severo Lombardo Barros, profissional especializado do laboratório de referência nacional para o diagnóstico de EET, lotado no departamento de patologia veterinária da Universidade Federal de Santa Maria, em Santa Maria - RS;

II - Amauri Alcindo Alfieri, profissional especializado em virologia e medicina veterinária preventiva, lotado no departamento de medicina veterinária preventiva da Universidade Estadual de Londrina, em Londrina - PR;

III - Antônio Carlos Alessi, profissional especializado em diagnóstico de EET, lotado no departamento de patologia veterinária da Universidade Estadual Paulista, em Jaboticabal - SP;

IV - Cleber Oliveira Soares, profissional especializado em medicina veterinária preventiva, lotado no centro nacional de pesquisa de gado de corte da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, em Campo Grande - MS;

V - Vicente Mateo Astudillo Caldés, profissional especializado em epidemiologia, lotado no Centro Panamericano de Febre Aftosa, no Rio de Janeiro - RJ;

VI - Edwiges Maristela Pituco, profissional especializada em virologia, lotada no laboratório de viroses de bovídeos do Instituto Biológico de São Paulo, em São Paulo - SP;

VII - Vitor Salvador Picão Gonçalves, profissional especializado em epidemiologia, lotado no departamento de medicina veterinária preventiva da Universidade de Brasília, em Brasília - DF;

Art. 2º Este Comitê Científico Consultivo será coordenado pelo Departamento de Defesa Animal.

Art. 3º O Coordenador do CEET poderá, se necessário, solicitar pessoal técnico dos setores público ou privado para prestar-lhe assessoramento.

Art. 4º Esta Portaria entra em vigor na data de sua publicação, ficando revogada a Instrução de Serviço DDA nº 07, de 06 de março de 2003.

JORGE CAETANO JUNIOR

**Anexo 7 – Laboratórios de diagnóstico de raiva (versão de 27 de outubro de 2006)****1) REGIÃO NORTE****AMAZONAS**

**INSTITUIÇÃO:** Laboratório Central de Saúde Pública (LACEN/AM)

**DIRETOR:** Tirza Peixoto Mattos

**ENDEREÇO:** Rua Emílio Moreira, 510 – Centro - CEP: 69.020-040 - Manaus /AM

**TELEFONE:** (92) 3233-0595 **FAX:** (92) 2129-4000

**TÉCNICO RESPONSÁVEL:** Luiz Mario Fernandes

**E-mail:** [lagenam@bol.com.br](mailto:lagenam@bol.com.br)

**ACRE**

**INSTITUIÇÃO:** Laboratório de Diagnóstico da Raiva - Superintendência Federal de Agricultura no Acre – SFA /AC - Convênio SFA / Secretaria de Estado da Saúde / Secretaria Municipal de Saúde / UFAC/ IDAF-AC

**ENDEREÇO:** Rodovia AC 40, nº 793 - CEP: 69.910-490 - Rio Branco/AC

**TELEFONE:** (68) 3212-1333/1335 **FAX:** (68) 3212- 1313/1318

**TÉCNICO RESPONSÁVEL:** Dra Selêucia Wanderley da Nóbrega

**E-mail:** [mlira@mdnet.com.br](mailto:mlira@mdnet.com.br)

**AMAPÁ**

Encaminham as amostras para os laboratórios do estado do Pará.

**PARÁ**

**INSTITUIÇÃO:** Lanagro/PA

**DIRETOR:** Dr. Francisco Airton Nogueira

**ENDEREÇO:** Av. Almirante Barroso, 1234 - Bairro do Marco Belém - CEP:66095-000 – Belém/PA

**TELEFONE:** (91) 3226.4233 /4310 /8814 **FAX:** (91) 3236-2682

**TÉCNICO RESPONSÁVEL:** Dr. Ofir de Sales Ramos

**INSTITUIÇÃO:** Instituto Evandro Chagas – IEC/FUNASA

**DIRETOR:** Jorge Fernando Soares Travassos da Rosa

**ENDEREÇO:** Av Almirante Barroso 492 - CEP: 66090-000 - Belém/PA

**TELEFONE:** (91) 3226-7732/ 3211-4407 **FAX:** (91) 3226-1284

**TÉCNICO RESPONSÁVEL:** Dra. Elizabeth Salbé Travassos da Rosa

**RONDÔNIA**

Encaminham as amostras para os laboratórios do estado do Pará.

**RORAIMA**

Encaminham as amostras para os laboratórios do estado do Pará.

**TOCANTINS**

Encaminham as amostras para os laboratórios do estado do Pará.

## 2) REGIÃO NORDESTE

### ALAGOAS

Encaminham as amostras para os laboratórios do estado de Pernambuco.

### BAHIA

**INSTITUIÇÃO:** Laboratório Central de Saúde Pública - LACEN

**DIRETORA:** Ayda Maria da Silva Costa

**ENDEREÇO:** Rua Waldemar Falcão, 123 – Brotas - CEP: 40.295-001 – Salvador/BA

**TELEFONE:** (71) 3356-1414 / 3356-2299 **FAX:** (71) 3356-0139

**TÉCNICO RESPONSÁVEL:** Dra. Conceição Aparecida Nagata

**E-mail:** [lacen.diretoria@bahia.ba.gov.br](mailto:lacen.diretoria@bahia.ba.gov.br)

### CEARÁ

**INSTITUIÇÃO:** Unidade de Laboratório Animal – UNILAN Secretaria de Agricultura do Ceará.

**DIRETOR:** Dra. Amália Augusto

**ENDEREÇO:** Av. Jorge Dummar 1.703 – Montese - Fortaleza /CE - CEP: 60410-300

**TELEFONE:** (85) 3494-7700 **FAX:** (85) 3494-8108

**TÉCNICO RESPONSÁVEL:** Dr. Humberto Hugo Matos Chaves

**INSTITUIÇÃO:** Secretaria de Saúde do Estado - Centro de Controle de Zoonose

**DIRETOR:** José Eldon Menezes Linhares

**ENDEREÇO:** Av Tomás Osterne de Alencar s/nº Bairro São Miguel - Crato/CE CEP: 63.122-020

**TELEFONE:** (88) 3521-2698

**TÉCNICO RESPONSÁVEL:** José Eldon Menezes Linhares

### MARANHÃO

**INSTITUIÇÃO:** Universidade Estadual do Maranhão – UEMA

**DIRETOR:** José Gomes Pereira

**ENDEREÇO:** Cidade Universitária Paulo VI, Tirirical São Luís/MA CEP: 65.057.630

**TELEFONE:** (98) 3245 2688, 3257 3676 **FAX:** 3276 9451

**TÉCNICO RESPONSÁVEL:** Dr. Hamilton Pereira Santos

### PERNAMBUCO

**INSTITUIÇÃO:** Laboratório de Apoio Animal - LAPA/RECIFE

**DIRETORIA:** Dra. Diana Sione Barbosa Pinheiro

**ENDEREÇO:** Rua Dom Manuel de Medeiros s/n - Bairro Dois Irmãos – Recife/PE -CEP: 52.171-030

**TELEFONE:** (81) 3441- 6024/6311 RAMAL: 224 Fax (81) 3441-6477

**TÉCNICO RESPONSÁVEL:** Dr. José Lindembergue M. Machado

**E-mail:** [rai-lanagro-pe@agricultura.gov.br](mailto:rai-lanagro-pe@agricultura.gov.br)

### PIAUI

**INSTITUIÇÃO:** Laboratório de Patologia Animal – LAPAN - Secretaria de Desenvolvimento Rural

**DIRETOR:** José Antonio Filho

**ENDEREÇO:** Av. João Cabral, s/n - Granja do Pirajá - CEP: 64000-000 - Teresina?PI

**TELEFONE:**(86) 3226-2150, ramal 244

**TÉCNICO RESPONSÁVEL:** Dra. Rosângela Cavalcante de Carvalho

**INSTITUIÇÃO:** Laboratório de Controle de Zoonose - SMS  
**DIRETORIA:** Lina Vera de Oliveira Aragão  
**ENDEREÇO:** Rua Minas Gerais 909 – Matadouro - CEP: 64003-850 - Teresina/PI  
**TELEFONE:** (86) 3213-2006 441- 6024/6311 RAMAL: 224 Fax (81) 3441-6477  
**TÉCNICO RESPONSÁVEL:** Dr. José Lindemberg M. Machado

### **SERGIPE**

**INSTITUIÇÃO:** HEMOLACEN  
**DIRETOR:** Edvar Freire Caetano  
**ENDEREÇO:** Rua Campo de Brito, 551 – Bairro São José – Aracaju/SE  
**TELEFONE:** (79) 3234 6016/12 **FAX:** (79) 3214 1863  
**TÉCNICO RESPONSÁVEL:** Dr. Lauro Abud – Médico

### **RIO GRANDE DO NORTE**

Encaminham as amostras para os laboratórios do estado do Ceará ou Pernambuco.

### **PARAÍBA**

Encaminham as amostras para os laboratórios do estado do Ceará ou Pernambuco.

## **3) REGIÃO CENTRO-OESTE**

### **DISTRITO FEDERAL**

**INSTITUIÇÃO:** Gerência de Controle de Reservatórios e Zoonoses  
**ENDEREÇO:** SAIN, Área Especial, LOTE 4 – Brasília/DF  
**TELEFONE:** (61) 3326-4023/ 3344-0784/ 3341-2084  
**TÉCNICO RESPONSÁVEL:** Péricles Nonimitisu Teixeira Massunaga

### **GOIÁS**

**INSTITUIÇÃO:** Laboratório de Análise e Diagnóstico Veterinário – LABVET - Agência Goiana de Defesa Agropecuária Pecuária - AGRODEFESA  
**DIRETOR:** Marli Francisca Cândida Santos  
**ENDEREÇO:** Rodovia R2 s/nº Saida para Nova Veneza Campus II - Goiânia/GO  
 CEP: 74001-970 Caixa Postal: 963  
**TELEFONE:** (62) 3205.1254 **FAX:** (62) 3205.1254  
**TÉCNICO(S):** Dra. Rosely Mendes de Resende  
 Dra. Marília da Silva Aguiar

### **MATO GROSSO**

**INSTITUIÇÃO:** Laboratório de Apoio à Saúde Animal - LASA/INDEA/MT  
**DIRETOR:** Dra. Rosane Marini Melo  
**ENDEREÇO:** Avenida Jurumirim s/nº Bairro Carumbé - CEP: 78.005-970 - Cuiabá/MT  
**TELEFONE/FAX:** (65) 3653-1711  
**TÉCNICO RESPONSÁVEL:** Dra. Giovana Campos de Almeida - CRMV-MT 2195

### **MATO GROSSO DO SUL**

**INSTITUIÇÃO:** Agência Estadual de Defesa Sanitária Animal e Vegetal de MS - IAGRO  
**DIRETOR:** Dr. João Crisostomo Mauad Cavallero

**ENDEREÇO:** Avenida Senador Filinto Müller, 1146 - Bairro Universitário - CEP: 79.074-902  
Campo Grande/MS

**TELEFONE:** (67) 3346.2788 **FAX:** 3346.2898

**TÉCNICO RESPONSÁVEL:** Dra. Veronique Micheline Claude Louvet Cortada

#### **4) REGIÃO SUDESTE**

##### **ESPÍRITO SANTO**

**INSTITUIÇÃO:** Instituto de Defesa Agropecuária e Florestal do Espírito Santo – IDAF - Instituto Biológico do Estado do Espírito Santo - IBEEES

**DIRETOR:** Paulo Sérgio de Azevedo

**ENDEREÇO:** Fazenda Santana - Vila Oásis, Santana – Cariacica/ES - CEP: 29153-520

**TELEFONE / FAX:** (27) 3336.4538 -3286.2649

**TÉCNICO RESPONSÁVEL:** Dr. Luz Carlos Barbosa

##### **MINAS GERAIS**

**INSTITUIÇÃO:** Laboratório de Saúde Animal - IMA/SEAPA/MG - Instituto Mineiro de Agropecuária – IMA – Sec. de Agricultura, Pecuária e Abastecimento

**DIRETOR:** Dr. Altino Rodrigues Neto

**ENDEREÇO:** Av. Raja Gabaglia, 245 - Cidade Jardim CEP: 30430-090 - Belo Horizonte/MG

**TELEFONE:** (31) 3213.8209 **FAX:** (31) 3213.4263

**TÉCNICO RESPONSÁVEL:** Dra. Marilda Ferreira Martins

**E-mail:** [laboratorioanimalima@bhsol.com.br](mailto:laboratorioanimalima@bhsol.com.br)

**INSTITUIÇÃO:** Laboratório de Zoonose - SMS

**DIRETOR:** Eliane Golçalves Paiva Lopes

**ENDEREÇO:** Rua Edna Quintel 173 – Bairro São Bernardo - CEP: 31750-030

**TELEFONE:** (31) 3277-7410 / 3277-7411 (canil) **FAX:** (31) 3277-7368

**TÉCNICO RESPONSÁVEL:** Francisco Elias Nogueira da Gama

**E-MAIL:** [paiva@pbh.gov.br](mailto:paiva@pbh.gov.br) - [lazops@pbh.gov.br](mailto:lazops@pbh.gov.br)

##### **RIO DE JANEIRO**

**INSTITUIÇÃO:** PESAGRO

**DIRETOR:** Helena Magalhães

**ENDEREÇO:** Alameda São Boa Ventura,770 - Fonseca - Niterói/RJ - CEP: 24120-19

**TELEFONE:** (21) 3603-9651 **FAX:**2627-143

**TÉCNICO RESPONSÁVEL:** Cláudio de Moraes Andrade

**E-MAIL:** [lba@pesagro.gov.br](mailto:lba@pesagro.gov.br)

**INSTITUIÇÃO:** Laboratório do Instituto Municipal de Medicina Veterinária "JORGE VAITSMAN"

**DIRETOR:** Tatiana Vieira Rezende

**ENDEREÇO:** Av. Bartolomeu de Gusmão, 1120- CEP: 20941-160

**TELEFONE:** (21) 2568-0189

**TÉCNICO RESPONSÁVEL:** Marlon Vicente da Silva

**E-MAIL:** [marlonsilva@perj.rj.gov.br](mailto:marlonsilva@perj.rj.gov.br)

##### **SÃO PAULO**

**INSTITUIÇÃO:** Instituto Biológico de São Paulo - Secretaria de Agricultura e Abastecimento

**DIRETOR:** Dr. Silivio Marci Santos

**ENDEREÇO:** Av. Conselheiro Rodrigues Alves, 1252 - Vila Mariana CEP: 04014-002 São Paulo/SP

**TELEFONE:** (11) 5087-1779

**TÉCNICO RESPONSÁVEL:** Dra. Elenice Maria Sequetin Cunha

**E-mail:** [cunha@biologico.sp.gov.br](mailto:cunha@biologico.sp.gov.br)

**INSTITUIÇÃO:** Laboratório Regional de Presidente Prudente - APA

**ENDEREÇO:** Rodovia Raposo Tavares, Km 563 CEP: 19100-000 Presidente Prudente/SP

**TELEFONE:** (18) 3222-8688

**TÉCNICO RESPONSÁVEL:** Avelino Albas

**E-mail:** [aalbas@bol.com.br](mailto:aalbas@bol.com.br)

**INSTITUIÇÃO:** Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Universidade de São Paulo - USP

**DIRETOR:** Cássio Xavier de Mendonça Júnior

**ENDEREÇO:** Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, 87, Cid. Universitária No. 87 - CEP: 05508-900, São Paulo/SP.

**TELEFONE:** (11) 3031-3074 (Secretaria direto, FMVZ-USP), (11) 3091-7653 Depto. VPS

**TÉCNICO RESPONSÁVEL:** Dr. Fumio Honma Ito, Dr. Paulo Eduardo Brandão, Rosana Paick Utiana (Técnica laboratório), Antonio da Costa Neto (Encarregado biotério)

**INSTITUIÇÃO:** Universidade de Medicina Veterinária - UNESP/Campus Araçatuba

**DIRETOR:** Dr. Paulo Roberto Botacin

**ENDEREÇO:** Rua Clóvis Pestana 793 J. Amélia - CEP: 16050-680 Araçatuba/SP

**TELEFONE:** (18) 3636-3200 (R231)

**TÉCNICO RESPONSÁVEL:** Dra. Luzia Helena de Queiróz Silva

**E-mail:** [lhqsilva@fmva.unesp.br](mailto:lhqsilva@fmva.unesp.br)

**INSTITUIÇÃO:** Universidade de Medicina Veterinária e Zootecnia - UNESP/Campus Botucatu

**DIRETOR:** Dr. Edson Ramos de Siqueira

**ENDEREÇO:** Distrito Rubião Júnior, s/n - CEP: 18618-000 - Botucatu/SP

**TELEFONE:** (14) 3811-6115

**TÉCNICO RESPONSÁVEL:** Dr. Hélio Langoni

**INSTITUIÇÃO:** Instituto Pasteur de São Paulo

**DIRETOR:** Neide Yume Takaoka

**ENDEREÇO:** Av. Paulista 393 – Paraíso - CEP: 01311-000 - São Paulo/SP

**TELEFONE:** (11) 3288-0088 RAMAL: 126 FAX: (11) 3289-0831

## 5) REGIÃO SUL

### PARANÁ

**INSTITUIÇÃO:** Centro de Diagnóstico Marcos Enrietti - Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento

**DIRETOR:** Dra. Ana Beatriz de Oliveira

**ENDEREÇO:** Rua Jaime Balão, 575 – Juvevê CEP: 80040-340 – Curitiba/PR

**TELEFONE:** (41) 3352-2499 **FAX:** (41) 3352-2499

**TÉCNICO RESPONSÁVEL:** Dra. Maria Aparecida de Carvalho

**E-mail:** [seabcdme@pr.gov.br](mailto:seabcdme@pr.gov.br)

**INSTITUIÇÃO:** Centro Laboratório Central de Saúde Pública

**DIRETOR:** Ana Luiza Conter Borges

**ENDEREÇO:** Rua Ubaldino do Amaral, 545 – Centro - CEP: 80060-190 – Curitiba/PR

**TELEFONE:** (41) 3264-4111 **FAX:** (41) 3264-4448

**TÉCNICO RESPONSÁVEL:** Anacleto Fellini

**E-mail:** [lacen@lepus.celepar.br](mailto:lacen@lepus.celepar.br)

### **RIO GRANDE DO SUL**

**INSTITUIÇÃO:** Universidade Federal de Pelotas - UFPEL

**DIRETOR:** Reitor Prof<sup>o</sup> Antonio César Borges

**ENDEREÇO:** Campus Universitário, Prédio 42, Município Capão Leão Centro de Zoonose

**TELEFONE / FAX:** (53) 3275-7424

**TÉCNICO RESPONSÁVEL:** Prof<sup>o</sup> Alexandre da Rocha Gonçalves

**INSTITUIÇÃO:** Universidade Federal de Santa Maria - UFSM

**DIRETOR:** Reitor Prof<sup>o</sup> Clovis da Silva Lima

**ENDEREÇO:** Campus Universitário - Bairro Camobi - CEP: 97105-900 - Setor de Virologia - Prédio 20, sala 4200 - Santa Maria/RS

**TELEFONE / FAX:** (55) 3220-8034

**TÉCNICO RESPONSÁVEL:** Prof<sup>o</sup> Rudi Weiblen

**INSTITUIÇÃO:** Centro de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamour - IPVDF

**DIRETOR:** Augusto César da Cunha

**ENDEREÇO:** Estrada Municipal do Conde, nº 6000 Eldorado do Sul - CEP: 92990-000

**TELEFONE:** (51) 3481.3711

**TÉCNICO RESPONSÁVEL:** Prof<sup>o</sup> Júlio César de Almeida Rosa

### **SANTA CATARINA**

**INSTITUIÇÃO:** Laboratório de Diagnostico Animal / Divisão Técnica Avançada em Santa Catarina LANAGRO/RS

**DIRETOR:** Dr. Eduardo Mazoni Gonzáles

**ENDEREÇO:** Rua João Grumiche s/nº - CEP: 88102-650 - São José/SC

**TELEFONE:** (48) 3247-0177 / 3247-0977 **FAX:** 3234-4332

**TÉCNICO RESPONSÁVEL:** Dr. Jaime Salvatierra Oporto

**E-mail:** [labsaojose@cidasc.sc.gov.br](mailto:labsaojose@cidasc.sc.gov.br)



**Anexo 8 – Instrução Normativa Nº 18, de 15 de dezembro de 2003**MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO  
GABINETE DO MINISTRO

## INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 18, DE 15 DE DEZEMBRO DE 2003

O MINISTRO DE ESTADO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, no uso da atribuição que lhe confere o art. 87, Parágrafo único, inciso II, da Constituição, tendo em vista o disposto no Regulamento de Defesa Sanitária Animal, aprovado pelo Decreto n.º 24.548, de 3 de julho de 1934, e Considerando a não ocorrência da Encefalopatia Espongiforme Bovina - EEB no Brasil, condição que deve ser mantida e preservada, em benefício do patrimônio pecuário nacional, e o que consta do Processo n.º 21000.010302/2003-17, resolve:

Art. 1º Proibir o abate de bovino e bubalino importados de país onde houve ocorrência de caso autóctone da EEB ou de país considerado de risco para esta doença.

Art. 2º Proibir o comércio e a transferência para outro estabelecimento de criação, de bovino e bubalino citados no artigo anterior, sem prévia autorização do serviço oficial de defesa sanitária animal.

Art. 3º Ocorrendo a morte dos animais mencionados no art.1º, somente poderão ser enterrados ou destruídos após comunicação ao serviço oficial de defesa sanitária animal e com prévia autorização deste, que realizará os procedimentos técnicos recomendados nos anexos desta Instrução Normativa.

Art. 4º Todo bovino e bubalino importados, cujo país de origem tenha registrado a ocorrência de caso autóctone da EEB ou seja considerado de risco, quando perder os atributos que justificam a sua destinação, deverá ser sacrificado e destruído com acompanhamento do serviço oficial de defesa sanitária animal.

Art. 5º Caberá indenização, pelo Governo Federal, ao proprietário de bovino ou bubalino importados anteriormente à publicação desta Instrução Normativa, sacrificado nos termos do art. 4º.

Parágrafo único. Após a publicação desta Instrução Normativa, não caberá indenização, quando o país de origem do bovino ou bubalino importados venha apresentar caso autóctone da EEB ou seja considerado de risco para essa doença.

Art. 6º Aprovar os Procedimentos Técnicos a serem adotados, quando da instrução do processo de sacrifício ou sacrifício e indenização, de bovino ou bubalino importados de país considerado de risco para EEB, constantes do Anexo I desta Instrução Normativa.

Art. 7º Caberá ao Departamento de Defesa Animal - DDA, da Secretaria de Defesa Agropecuária - SDA, a implementação dos procedimentos aprovados por este Ato.

Art.8º O descumprimento total ou parcial desta Instrução Normativa sujeitará o infrator às sanções previstas no Código Penal Brasileiro.

Art. 9º Esta Instrução Normativa entra em vigor na data de sua publicação.

Art. 10 Ficam revogadas a Instrução Normativa nº 08, de 13 de fevereiro de 2001, e a Instrução de Serviço DDA nº 01, de 7 de janeiro de 2002.

ROBERTO RODRIGUES

## ANEXO I

### **PROCEDIMENTOS TÉCNICOS PARA A INSTRUÇÃO DO PROCESSO DE SACRIFÍCIO E INDENIZAÇÃO OU SACRIFÍCIO DE BOVINO OU BUBALINO IMPORTADOS DE PAÍIS DE RISCO PARA ENCEFALOPATIA ESPONGIFORME BOVINA – EEB**

O processo de sacrifício ou indenização de bovino ou bubalino importados de país considerado de risco para EEB, obedecerá aos seguintes procedimentos técnicos:

I - o proprietário de bovino ou bubalino importados de país onde foi registrada a ocorrência da EEB ou considerado de risco para essa enfermidade deverá comunicar, por escrito, ao serviço veterinário oficial do Estado onde o animal se encontra, o desejo de descartá-lo (anexo II) para dar início ao processo de descarte e, quando pertinente, posterior indenização, juntando cópia do documento comprobatório da propriedade do respectivo animal;

II - o bovino ou bubalino a ser sacrificado, passível de pagamento indenizatório, deverá ser previamente avaliado por uma comissão estadual constituída para esse fim.

a) Essa comissão será instituída por meio de Portaria do Delegado Federal de Agricultura no Estado e constituída por Médicos Veterinários ou Zootecnistas da Delegacia Federal da Agricultura, por Médicos Veterinários ou Zootecnistas do órgão executor das atividades de defesa sanitária animal do Estado e de representantes designados pela associação de criadores ou da federação da agricultura do Estado.

b) A comissão terá como finalidade inspecionar, avaliar e sacrificar o(s) animal(is) e, de acordo com o preço médio da arroba na região, definir o valor a ser pago pelo(s) animal(is) sacrificado(s).

c) A comissão deverá anexar ao processo o documento que comprove o meio pelo qual foi obtida a cotação da arroba.

d) A comissão emitirá um Auto de Avaliação e Sacrifício (anexo III), cabendo ainda a concordância do proprietário com o valor a ser pago (anexo IV);

III - quando não couber indenização, somente deverá ser emitido o Auto de Sacrifício (anexo V), que será assinado por dois funcionários do serviço oficial de Defesa Sanitária Animal no Estado, sendo que um deverá ser Médico Veterinário;

IV - cabendo ou não indenização, o serviço oficial do Estado coordenará os trabalhos de sacrifício, incineração e enterrio do animal, bem como o acondicionamento e o envio do tronco encefálico coletado para o laboratório indicado pelo DDA para diagnóstico da EEB;

V - o Chefe do Serviço ou da Seção de Sanidade Animal - SSA atestará a regularidade de todos os atos processuais constante dos autos, por meio de nota técnica circunstanciada.

VI - cabendo indenização, o Delegado Federal da Agricultura no Estado, após analisar o processo e receber o parecer da Assessoria Jurídica local ou do Núcleo de Assessoramento Jurídico no Estado, encaminhará o processo ao Departamento de Defesa Animal, em Brasília, para solicitar os recursos financeiros necessários.

VII - A SDA deverá, após análise e parecer conclusivo do processo pelo DDA, encaminhá-lo à Consultoria Jurídica do MAPA para manifestação.

VIII - Finalizado o processo, passível ou não de indenização, e tendo sido esgotado todo o rito processual, deverá ser arquivado na DFA, após a inclusão das informações no Banco Nacional de Dados do Sistema Brasileiro de Identificação e Certificação de Bovinos e Bubalinos - SISBOV, inclusive para efeitos de auditoria.

## ANEXO II

AO ILMO SR. ....  
 Eu,....., de nacionalidade .....,  
 estado civil ....., profissão. ....,  
 residente.....,  
 Município ....., UF....., portador do CPF nº.....  
 e do RG nº....., venho respeitosamente solicitar a V. S<sup>a</sup>. o  
 descarte de.....(nº) bovino(s) ou bubalino(s) importado(s) de países considerados de risco  
 para a Encefalopatia Espongiforme Bovina (EEB) pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e  
 Abastecimento, discriminado(s) abaixo, de que sou proprietário e que se o(s) mesmo(s)  
 encontra(m)-se na propriedade.....,  
 município....., UF.....,  
 com base no art. 4º da Instrução Normativa nº \_\_\_\_, de \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2003.

Código de identificação individual (SISBOV)	Espécie	Sexo	Raça	País de Origem
---	---------	------	------	----------------

\_\_\_\_\_, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
 Assinatura do proprietário ou do seu representante legal

**ANEXO III**  
**AUTO DE AVALIAÇÃO E SACRIFÍCIO Nº \_\_\_\_ / UF**  
 (quando couber indenização)

Aos \_\_\_\_ dias do mês de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_, a Comissão de Avaliação e Sacrifício, designada pela Portaria nº \_\_\_\_\_, de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_, do Delegado Federal da Agricultura no Estado de \_\_\_\_\_, procedeu à avaliação e ao sacrifício de \_\_\_\_\_ (nº) bovídeo(s) importado(s) de países considerados de risco para a Encefalopatia Espongiforme Bovina (EEB) pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, na forma do item II do anexo I da Instrução Normativa nº \_\_\_\_\_, de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2003, existente(s) na propriedade a seguir caracterizada:

**LOCALIZAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DA PROPRIEDADE / PROPRIETÁRIO:**

Nome da Propriedade: Localização: Município: CEP: Unidade da Federação: Código da Propriedade no SISBOV:
Nome do Proprietário: CPF: Nacionalidade: Profissão: Endereço do Proprietário: Município: UF: CEP:

**ANIMAL(IS) A SER(EM) INDENIZADO(S):**

Código de identificação individual (SISBOV)	Espécie	Sexo	Raça	País de Origem	Total de Arrobas	Valor Arroba (R\$)	Valor Total (R\$)
TOTAL GERAL							

**MEMBROS DA COMISSÃO**

Nome / Órgão	Assinatura:
Nome / Órgão	Assinatura:
Nome / Órgão	Assinatura:

**ANEXO IV**  
**DECLARAÇÃO DO PROPRIETÁRIO**

\_\_\_\_\_ (proprietário), \_\_\_\_\_ (nacionalidade),  
\_\_\_\_\_ (estado civil), \_\_\_\_\_ (profissão),  
\_\_\_\_\_ (nº do RG), \_\_\_\_\_ (nº do CPF) e  
\_\_\_\_\_ (endereço), declara que está de pleno acordo com o Auto  
de Avaliação nº / \_\_\_\_\_ (UF), de \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_ referente a \_\_\_\_\_ (nº) animal(is) importado(s)  
de países considerados de risco para a Encefalopatia Espongiforme Bovina (EEB) pelo  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, de sua propriedade, efetuado pela  
Comissão de Avaliação, designada pela Portaria nº \_\_\_\_\_ do Delegado Federal da  
Agricultura no Estado de \_\_\_\_\_, cujo montante foi calculado em R\$  
\_\_\_\_\_ (\_\_\_\_\_).  
\_\_\_\_\_, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Assinatura do proprietário ou representante legal

**ANEXO V**  
**AUTO DE SACRIFÍCIO**  
 (quando não couber indenização)

Aos \_\_\_\_\_ dias do mês de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_, os abaixo firmados, em cumprimento ao item III do Anexo I da Instrução Normativa nº \_\_\_\_\_, de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2003, procederam ao sacrifício e à destruição do(s) animal (is) abaixo especificado(s).

**LOCALIZAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DA PROPRIEDADE / PROPRIETÁRIO:**

Nome da Propriedade: Localização: Município: CEP: Unidade da Federação: Código da Propriedade no SISBOV:
Nome do Proprietário: CPF: Nacionalidade: Profissão: Endereço do Proprietário: Município: UF: CEP:

**ESPÉCIE A SER SACRIFICADA: BOVINA / BUBALINA**

Sexo	Código de identificação individual do animal (SISBOV)	Número de cabeças
Macho		
Fêmea		
Total de animais sacrificados	( ) _____	

**RESPONSÁVEIS PELO SACRIFÍCIO E DESTRUÇÃO**

Nome/ RG/ Órgão	Assinatura:
Nome/ RG/ Órgão	Assinatura:

**TESTEMUNHAS:**

Nome/ RG	Assinatura:
Nome/ RG	Assinatura:

**Anexo 9 – Instrução Normativa Nº 8, de 25 de março de 2004****MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO.  
GABINETE DO MINISTRO****INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 8, DE 25 DE MARÇO DE 2004 (\*)**

O MINISTRO DE ESTADO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, no uso da atribuição que lhe confere o art. 87, Parágrafo único, inciso II, da Constituição, tendo em vista o disposto no art. 71 do Regulamento do Serviço de Defesa Animal, aprovado pelo Decreto nº 24.548, de 3 de julho de 1934, nos artigos 1º e 2º da Lei nº 6.198, de 26 de dezembro de 1974, e o que consta do processo nº 21000.008269/2003-65, e considerando a epidemiologia da Encefalopatia Espongiforme Bovina - EEB e a necessidade de manutenção da situação sanitária do Brasil em relação a essa doença, resolve:

Art. 1º Proibir em todo o território nacional a produção, a comercialização e a utilização de produtos destinados à alimentação de ruminantes que contenham em sua composição proteínas e gorduras de origem animal.

Parágrafo único. Incluem-se nesta proibição a cama de aviário, os resíduos da criação de suínos, como também qualquer produto que contenha proteínas e gorduras de origem animal.

Art. 2º Fica também proibida a produção, a comercialização e a utilização de produtos para uso veterinário, destinados a ruminantes, que contenham em sua formulação insumos oriundos de ruminantes.

Art. 3º Excluem-se da proibição de que tratam os artigos anteriores, o leite e os produtos lácteos, a farinha de ossos calcinados (sem proteína e gorduras), e a gelatina e o colágeno preparados exclusivamente a partir de couros e peles.

Parágrafo único. A critério da Secretaria de Defesa Agropecuária, mediante análise de risco, poderão ser excluídos outros produtos e insumos.

Art. 4º Os rótulos e as etiquetas dos produtos destinados à alimentação de não ruminantes, que contenham qualquer fonte de proteínas e gorduras de origem animal, exceto os produtos mencionados no art. 3º desta Instrução, deverão conter no painel principal e em destaque, a seguinte expressão: “USO PROIBIDO NA ALIMENTAÇÃO DE RUMINANTES”.

Art. 5º Os produtos destinados à alimentação de ruminantes estão sujeitos a análises de fiscalização para a identificação dos ingredientes utilizados como fonte de proteína.

Art. 6º As Secretarias de Defesa Agropecuária e de Apoio Rural e Cooperativismo, em suas respectivas áreas de competência, expedirão instruções complementares para os casos que requeiram posterior regulamentação ou para os casos omissos.

Art. 7º Esta Instrução Normativa entra em vigor na data de sua publicação.  
ROBERTO RODRIGUES

(\*) Republicada por haver saído com incorreção, do original, no DOU de 26 de março de 2004, Seção 1, p 5.

**Anexo 10 – Instrução de serviço Nº 002/2003/DOI/DIPOA**

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO  
SECRETARIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA  
DEPARTAMENTO DE INSPEÇÃO DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL – DIPOA  
DIVISÃO DE OPERAÇÕES INDUSTRIAIS - DOI

**INSTRUÇÃO DE SERVIÇO Nº 002/2003/DOI/DIPOA**

**ASSUNTO:** procedimentos e normas necessários para operacionalização do sistema de vigilância epidemiológica para detecção de Encefalopatias Espongiformes Transmissíveis – EET – em ruminantes.

**REFERÊNCIAS:** Instrução Normativa SDA nº 18, de 15 de fevereiro de 2002, Instrução de Serviço Conjunta DDA/DIPOA, julho de 2003, Inspeção de Carnes-Padronização de Técnicas, Instalações e Equipamentos e Manual de procedimentos para Diagnóstico Histológico Diferencial da Encefalopatia Espongiforme dos Bovinos (BSE).

**HARMONIZAÇÃO DE PROCEDIMENTOS:** a ser observada pela Inspeção Federal junto aos estabelecimentos que abatem animais das espécies bovinas, ovinas e caprinas, na coleta do tronco encefálico.

**1. POPULAÇÃO ALVO**

Todos os animais, destinados a MATANÇA DE EMERGÊNCIA (MEDIATA e IMEDIATA), das espécies bovina, bubalina, ovina e caprina.

**2. NA INSPEÇÃO ANTE-MORTEM**

2.1. Na chegada dos animais, identificá-los a partir dos dados contidos no documento de identificação animal – DIA (animais a serem abatidos em estabelecimentos habilitados ao mercado internacional) e na GTA (procedência, propriedade, sexo, número de animais, idade);

2.2. Todos os animais, que foram retidos no Curral de Observação, (após o exame geral e destinados a MATANÇA DE EMERGÊNCIA junto com os animais que chegam ao estabelecimento em precárias condições físicas ou de saúde, impossibilitados de atingir a Sala de Matança por seus próprios meios), deverão ser objeto de coleta do tronco encefálico.

**3. NA INSPEÇÃO POST-MORTEM**

3.1. Transportar, para o Departamento de Inspeção Final D.I.F. (Art.152 RIISPOA), todas as carcaças-cabeças, previamente identificadas, dos animais citados acima, independente das peças marcadas nas linhas de inspeção de cabeças e de vísceras.

**4. NO DEPARTAMENTO DE INSPEÇÃO FINAL – D.I.F. (ART. 152 RIISPOA)**

4.1. Identificar o conjunto carcaça-cabeça;

4.2. Fixar na cabeça um lacre numerado, independentemente das peças terem sido marcadas nas linhas de inspeção de cabeças e de vísceras, anotando no mapa de condenação o número da carcaça, do lacre e a identificação do animal.

4.3 Encaminhar para a Seção respectiva, as cabeças que não apresentarem lesões, para a retirada em local à parte das carnes (desossa) e desarticulação da mandíbula.

4.4 Encaminhar para a Seção de Cabeça, as cabeças da população alvo, que tenham sido identificadas pelo DIF, para retirada do tronco encefálico.



## 5. SEÇÃO DE CABEÇAS

5.1. Separar as cabeças que estejam com identificação (lacre) em continentes apropriados.

5.2. Efetuar a abertura da cabeça para retirada do tronco encefálico conforme Manual de procedimentos para diagnóstico histológico diferencial da encefalopatia espongiforme dos bovinos (BSE).

5.3. Após a separação do tronco encefálico do cérebro, deverá este ser conservado em formol a 10%.

## 6. ENVIO E COLETA DOS MATERIAIS

6.1. Conforme Instrução Normativa SDA nº 18, de 15 de fevereiro de 2002 Art. 2º os Serviços de Sanidade Animal das Delegacias Federais da Agricultura, deverão providenciar o envio dos materiais coletados nos frigoríficos aos laboratórios credenciados pelo DDA.

6.2. As orientações sobre a forma de coletar, conservação e acondicionamento das amostras, como também os respectivos materiais necessários (formol e frasco) serão fornecidos pelos Médicos Veterinários lotados no SSA/DFA em cada estado.

Esta Instrução de Serviço estará sujeita aos procedimentos habituais de Supervisão e Auditoria.

Brasília/DF, 12 de agosto de 2003.

Paulo Ricardo Campani  
Chefe da DOI/DIPOA

De acordo  
Rui Saldanha Vargas

**Anexo 11 – Formulário de colheita e envio de materiais para o programa de vigilância das Encefalopatias Espongiformes Transmissíveis em frigoríficos**

**EXCLUSIVO PARA VIGILÂNCIA EM FRIGORÍFICOS**

Frigorífico: _____	SIF: _____	Município: _____
Veterinário Remetente: _____	CRMV-UF nº: _____	
Endereço: _____	Telefone: (    ) _____	
Email: _____	Fax: (    ) _____	

**AMOSTRA nº: controle/SIF/UF/ano**

Proprietário: _____	UF: _____
Propriedade: _____	Município: _____

<input type="checkbox"/> Animal na linha de matança	<input type="checkbox"/> Animal encaminhado para abate de emergência
Lote: _____ N° de animais: _____	N° da(s) GTA(s): _____
N° de Identificação: _____	N° da carcaça: _____
Motivo(s) para o abate de emergência: _____	

Espécie: <input type="checkbox"/> Bovina <input type="checkbox"/> Ovina <input type="checkbox"/> Caprina	Raça: _____	Idade: _____ meses
Sexo: Macho <input type="checkbox"/> Fêmea <input type="checkbox"/>		
Categoria: <input type="checkbox"/> Aptidão leiteira	<input type="checkbox"/> Corte (confinado)	<input type="checkbox"/> Corte (semi-confinado)

**AMOSTRA nº: controle/SIF/UF/ano**

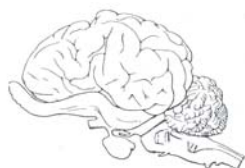
Proprietário: _____	UF: _____
Propriedade: _____	Município: _____

<input type="checkbox"/> Animal na linha de matança	<input type="checkbox"/> Animal encaminhado para abate de emergência
Lote: _____ N° de animais: _____	N° da(s) GTA(s): _____
N° de Identificação: _____	N° da carcaça: _____
Motivo(s) para o abate de emergência: _____	

Espécie: <input type="checkbox"/> Bovina <input type="checkbox"/> Ovina <input type="checkbox"/> Caprina	Raça: _____	Idade: _____ meses
Sexo: Macho <input type="checkbox"/> Fêmea <input type="checkbox"/>		
Categoria: <input type="checkbox"/> Aptidão leiteira	<input type="checkbox"/> Corte (confinado)	<input type="checkbox"/> Corte (semi-confinado)

Assinatura e carimbo do Médico Veterinário Responsável _____	Data: ____/____/____
--	----------------------

## Anexo 12 – Ficha de encaminhamento de encéfalos no LPV-UFSM

**Ficha de encaminhamento DXSNC**

Programa de Vigilância das Encefalopatias Espongiformes Transmissíveis  
Laboratório de Patologia Veterinária – UFSM

**DX** \_\_\_\_/\_\_\_\_ - **V** \_\_\_\_ - \_\_\_\_ - \_\_\_\_      **Data:** \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**Professor/Pós-Graduando** \_\_\_\_\_

**Bulbo** \_\_\_\_\_

**Ponte** \_\_\_\_\_

**Mesencéfalo** \_\_\_\_\_

**Cerebelo** \_\_\_\_\_

**Tálamo** \_\_\_\_\_

**Córtex frontal (1)** \_\_\_\_\_

**Córtex parietal (2)** \_\_\_\_\_

**Córtex occipital (3)** \_\_\_\_\_

**Hipocampo** \_\_\_\_\_

**Núcleos da base** \_\_\_\_\_

**Gânglio de Gasser + *rete mirabile*** \_\_\_\_\_

**Fragmento adicional (\_\_\_\_\_)** \_\_\_\_\_

**Número de fragmentos encaminhados (\_\_\_\_\_)**

Preenchimento pelo técnico do laboratório:

Número de blocos: \_\_\_\_\_

Número de lâminas: \_\_\_\_\_

Obs.:

**Diagnóstico:** \_\_\_\_\_

**Categoria:** \_\_\_\_\_

## Anexo 13 – Modelo de laudo histopatológico de material do programa DXSNC

<b>DXSNC</b> <b>0047/04</b>
--------------------------------

## LAUDO HISTOPATOLÓGICO DE MATERIAL DO PROGRAMA DXSNC

<b>Protocolo remetente</b> CAD -0034/04	<b>Categoria de exame:</b> 4 (animal importado)
--	--

<b>Espécie</b> bovina	<b>Raça:</b> Limousin	<b>Sexo:</b> fêmea	<b>Idade:</b> 11 anos
--------------------------	--------------------------	-----------------------	--------------------------

<b>Proprietário:</b> Júlio Lourenço Golin	<b>Procedência:</b> Itapetininga, SP
--	---

<b>Data de entrada:</b> 15.01.04	<b>Data Enc.:</b> 22.01.04	<b>Número de blocos:</b> 3	<b>Data de Saída:</b> 16.02.04
-------------------------------------	-------------------------------	-------------------------------	-----------------------------------

**Remetente e endereço para remessa do resultado:**

Dra. Vera Lúcia Nascimento Gonçalves  
Secretaria de Agricultura e Abastecimento  
Coordenadoria da Defesa Agropecuária  
Centro de Análise e Diagnóstico  
Av. Brasil 2340, Caixa Postal 960, Jardim Chapadão  
13073-001, Campinas, SP

**Histórico:** bovino importado da França identificado pelo nome de **HERODE**, fêmea, Limousin, 11 anos. Sem sintomatologia nervosa. Material colhido segundo a instrução normativa 18 de 15.12.2003.

**Histopatologia: bulbo na altura do óbex:** pigmento marrom-amarelado no interior do citoplasma dos neurônios (lipofuscina). **Ponte na altura dos pedúnculos cerebelares:** manguito perivascular. **Mesencéfalo na altura dos colículos rostrais:** vacúolos no citoplasma de neurônios do núcleo vermelho. Pigmento marrom-amarelado no citoplasma de neurônios (lipofuscina) e manguito perivascular.

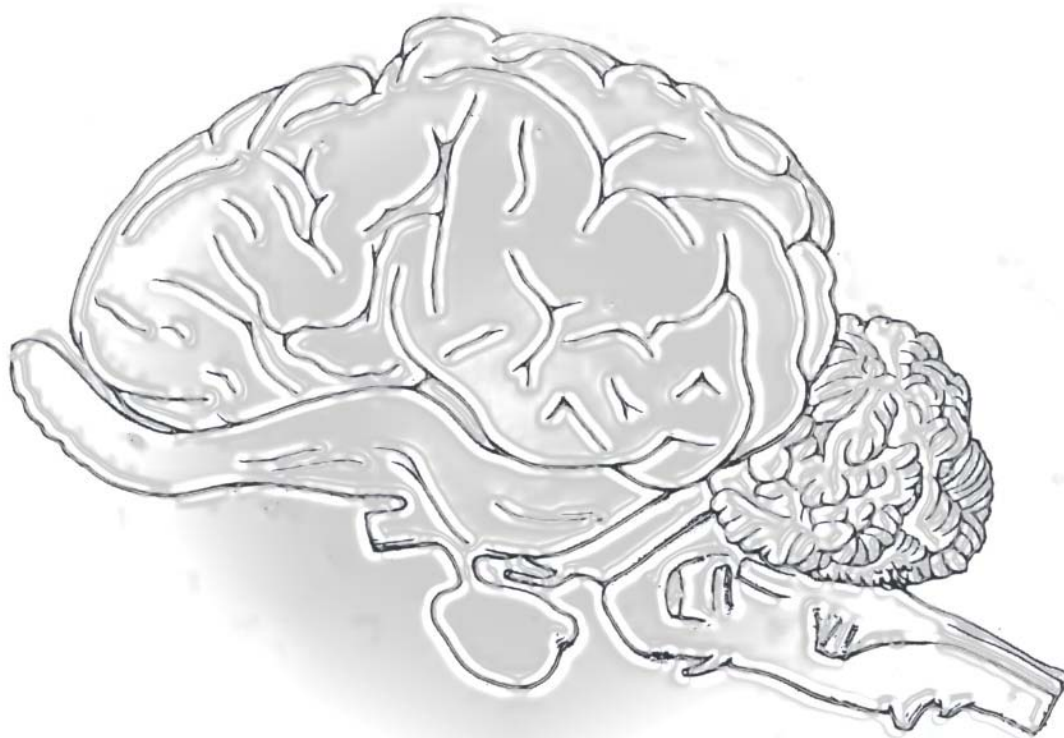
A vacuolização do citoplasma dos neurônios do núcleo vermelho do mesencéfalo é encontrada em 64% dos encéfalos de bovinos normais (ver Gavier-Widen *et al.*: Histological observations on the brains symptomless 7-year-old cattle. *J Comp Path* 124:52-59, 2001). A lipofuscina é uma alteração ligada ao envelhecimento e não tem maior significado clínico. O manguito perivascular é discreto e inespecífico. Inflamações desse tipo são encontradas em cerca de 30% dos bovinos adultos normais (ver Gavier-Widen *et al.*: Histological observations on the brains of symptomless 7-years-old cattle. *J Comp Path* 124:52-59, 2001).

**Diagnóstico: sem alterações histopatológicas**

Claudio S. L. Barros CRMV/RS 588	Santa Maria, 16 de fevereiro de 2004
-------------------------------------	--------------------------------------

# **Alterações Macroscópicas e Microscópicas do Sistema Nervoso Central de Bovinos**

**- Seção 3 -**



**Programa DXSNC 2001-2005**

## 1. Introdução

A identificação de artefatos, de estruturas normais que se assemelham a lesões, de lesões não associadas a sinais clínicos e de achados *postmortem* é um aspecto importante no diagnóstico de doenças do sistema nervoso central (SNC) e permite a identificação correta dos achados *antemortem* significativos. Essas alterações são divididas em quatro grupos: não-lesões, lesões de pouco significado clínico, alterações *postmortem* e artefatos. Em **não-lesões** são incluídos aspectos morfológicos macro e microscópicos normais do SNC que podem ser interpretados como lesões quando não são conhecidos do patologista. **Lesões de pouco significado clínico** incluem aquelas que não contribuem para o quadro clínico do animal e são apenas achados de necropsia ou histológicos incidentais. **Alterações *postmortem*** não são verdadeiras lesões, pois ocorrem após a morte em virtude de autólise ou putrefação. **Artefatos** podem ser produzidos pela colheita e método de conservação do SNC ou associados à causa da morte do animal.

Esta seção demonstra, através de figuras e texto resumido, as alterações macro e microscópicas descritas acima, bem como alterações ligadas a doenças, observadas em encéfalos de bovinos encaminhados ao Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria (LPV/UFSM) durante o período de 2001 a 2005, como parte do Programa Nacional de Vigilância da Raiva dos Herbívoros e outras Encefalopatias (PNCRH) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

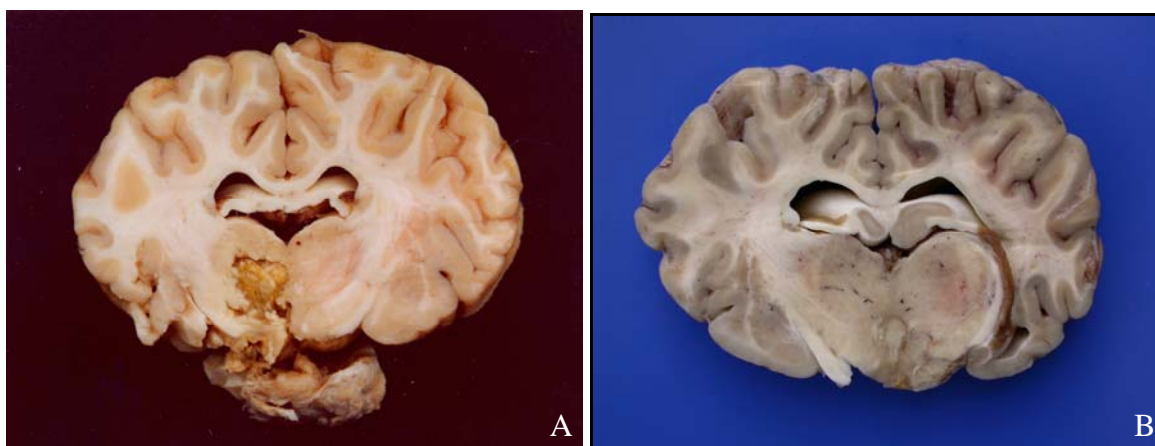
## 2. Exame macroscópico

### 2.1 Alterações ligadas a doenças

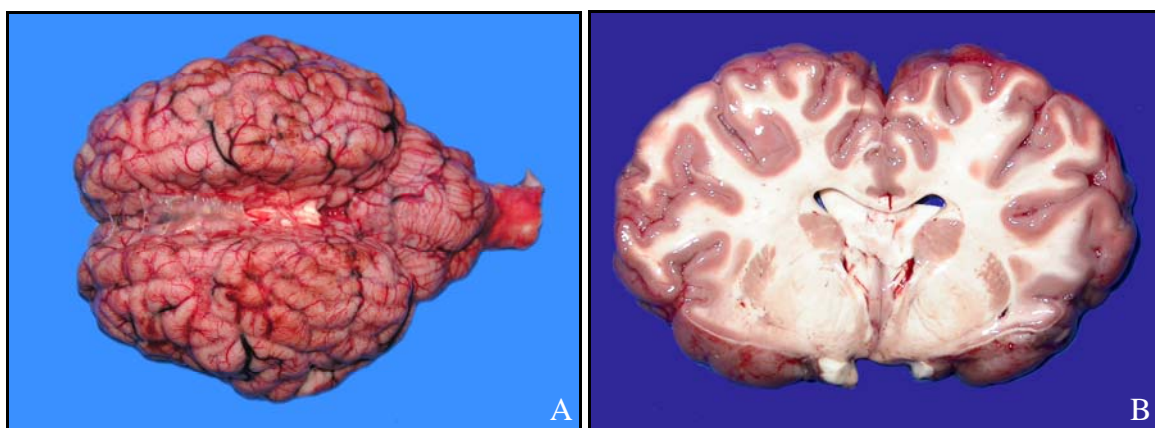
Em qualquer órgão examinado macroscopicamente, devem ser analisados os seguintes parâmetros: distribuição, cor, forma, tamanho, consistência e aspectos especiais, como peso, presença de líquido e odor. Alguns desses aspectos são muito importantes no exame macroscópico do SNC, porque muitas vezes definem o diagnóstico.

Distribuição é o arranjo espacial das lesões. É um parâmetro usado macro e microscopicamente. As lesões podem ser focais, multifocais (e suas subdivisões), difusas,

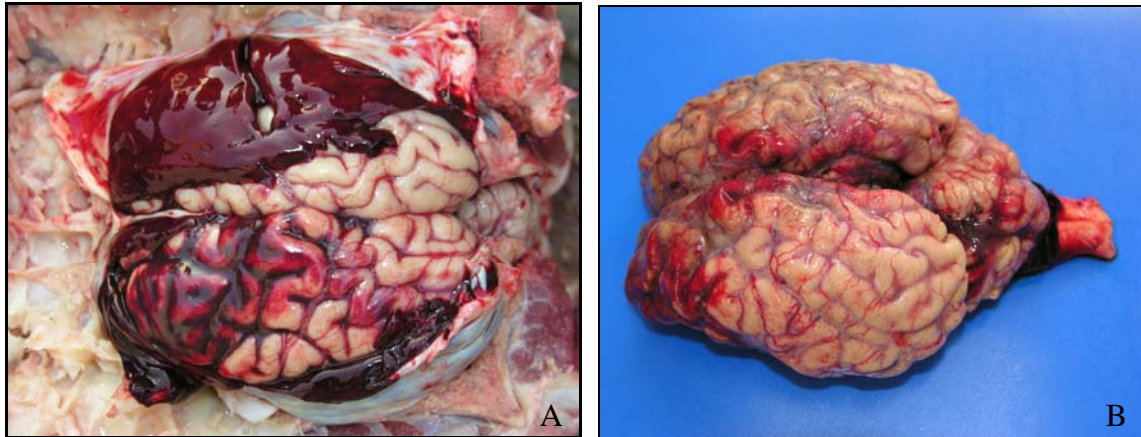
segmentares, simétricas e aleatórias. A cor e consistência definem aspectos que enquadram as lesões em processos circulatórios, degenerativos, inflamatórios ou neoplásicos. A forma e o tamanho são importantes em casos de defeitos congênitos e neoplasmas. Esses aspectos são ilustrados nas Figuras 1 a 6.



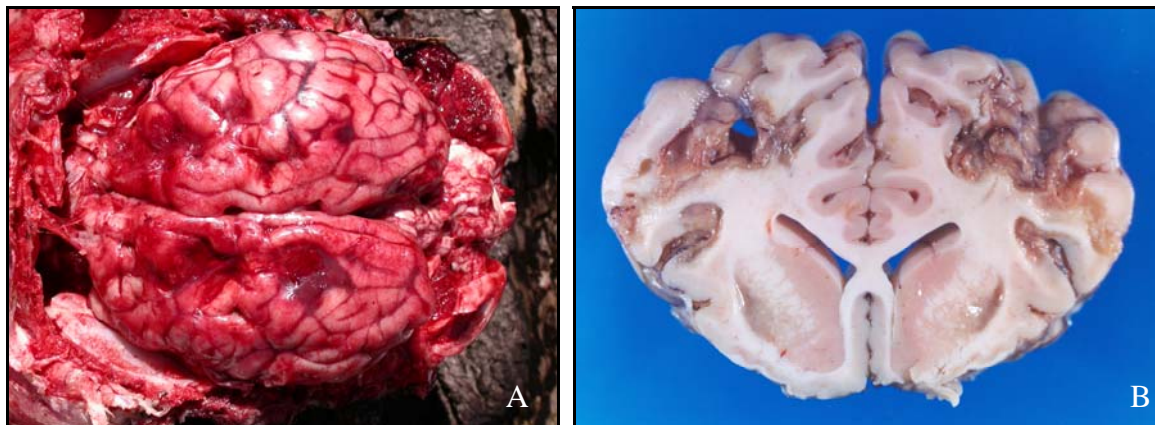
**Figura 1.** Encéfalo, superfície de corte na altura do tálamo. Nestas figuras podem ser descritos três aspectos: distribuição (focal e multifocal a coalescente), cor (amarela) e consistência (amolecida). **Descrição:** A. Há um abscesso no lado esquerdo do tálamo com aproximadamente 3 cm de diâmetro. O complexo gânglio de Gasser + *rete mirabile* carotídea + hipófise está aderido na base do encéfalo. B. Há três abscessos multifocais a coalescentes na região ventral direita do tálamo. **Comentário:** nos casos observados durante o programa de vigilância da BSE, esses abscessos foram comumente associados ao uso da tableta para desmame em bezerros; ocorrem secundariamente à lesão da narina pela tableta e geralmente a hipófise e o osso basisfenóide estão afetados (Loretti et al. 2003). Em B a lesão da cavidade nasal foi causada por miíase secundária a traumatismo em uma das narinas.



**Figura 2.** Encéfalo. A. Vista dorsal. B. Superfície de corte na altura dos núcleos basais. Nestas figuras podem ser descritos dois aspectos: distribuição (difusa) e cor (vermelha). **Descrição:** A. Hiperemia difusa das leptomeninges. B. Cor vermelho-cereja do córtex cerebral e dos núcleos basais. **Comentário:** a hiperemia dos vasos leptomeníngeos ocorre em casos de leptomeningite, incluindo raiva (Rech et al. 2006a). A cor vermelho-cereja em toda a substância cinzenta do encéfalo é um achado patognomônico de babesiose cerebral por *Babesia bovis* em bovinos (Rodrigues et al. 2005). As lesões microscópicas dessas alterações estão ilustradas na **Figura 58**.

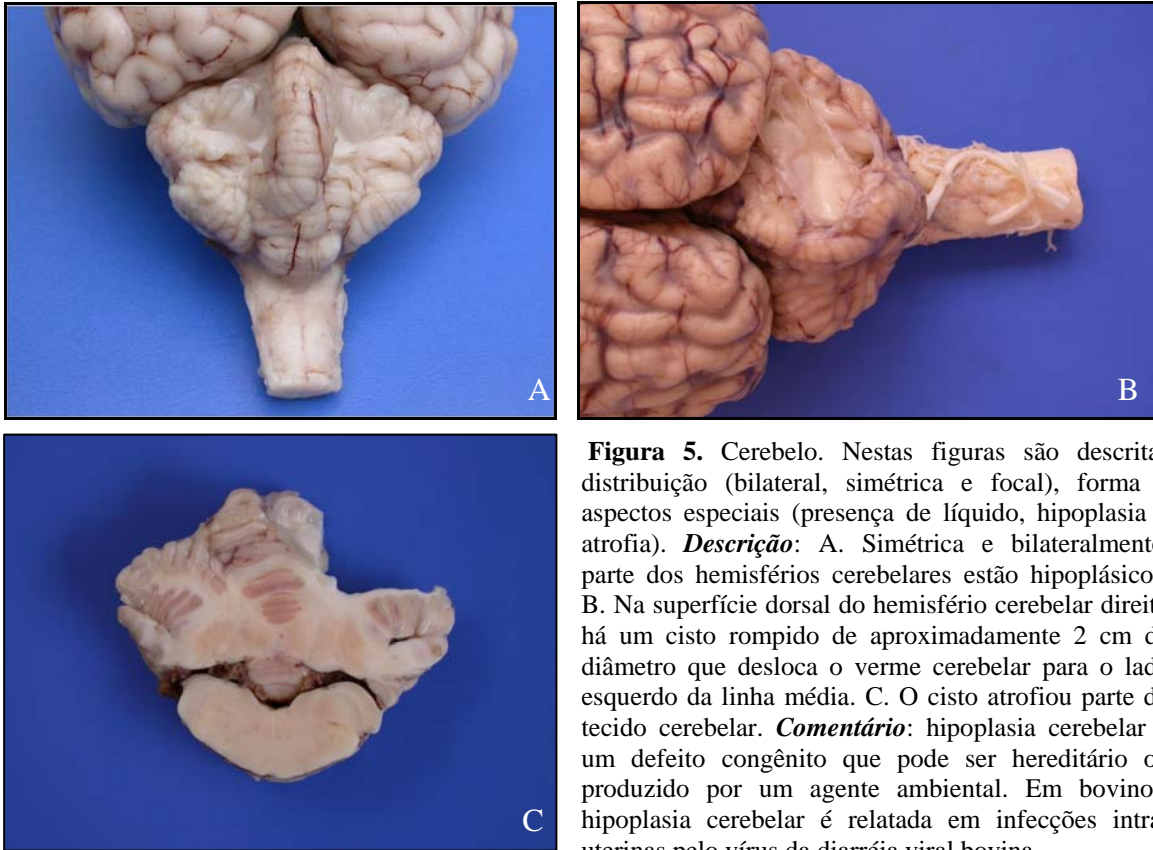


**Figura 3.** Encéfalo. Vista dorsal. Nestas figuras são descritos os seguintes aspectos: cor (vermelha), distribuição (multifocal) e aspectos especiais como presença de líquido (hemorragia). **Descrição:** A. Abaixo da dura-máter, a superfície dorsal do telencéfalo está parcialmente recoberta por coágulos de sangue. B. Hemorragias multifocais são observados na superfície dorsal do telencéfalo e cerebelo e um coágulo de sangue é visto na superfície dorsal da medula oblonga. **Comentário:** hemorragias subdurais são geralmente decorrentes de traumatismo. No primeiro caso a lesão foi provocada porque o animal se debateu contra a cerca. A hemorragia na cavidade craniana é uma lesão que ocupa espaço. No segundo caso, a hemorragia foi decorrente de sucessivas quedas devido à intoxicação por *Solanum fastigiatum*, que causa lesão nas células de Purkinje e, conseqüentemente, desequilíbrio e quedas (Rech et al. 2006b). As lesões microscópicas de hemorragia traumática estão ilustradas nas **Figuras 38A e B**. As lesões microscópicas de intoxicação por *S. fastigiatum* podem ser observadas nas **Figuras 48 e 51**.

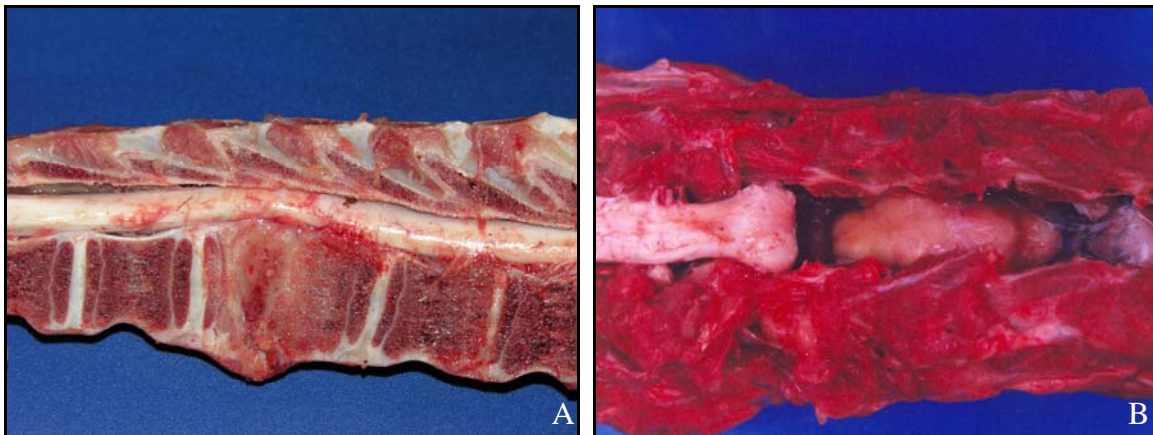


**Figura 4.** Encéfalo. Nestas figuras são descritas cor (vermelha) e consistência (amolecida). **Descrição:** A. Vista dorsal do córtex telencefálico. Áreas multifocais de malacia hemorrágica. B. Depressão do córtex telencefálico e áreas gelatinosas (malacia recente) no putâmen. **Comentário:** malacia é o termo usado para designar uma alteração macroscópica caracterizada por amolecimento do tecido nervoso. Essa lesão é freqüentemente observada em casos de meningoencefalite por herpesvírus bovino-5 (Rissi et al. 2006). A lesão microscópica de malacia pode ser observada na **Figura 62**.





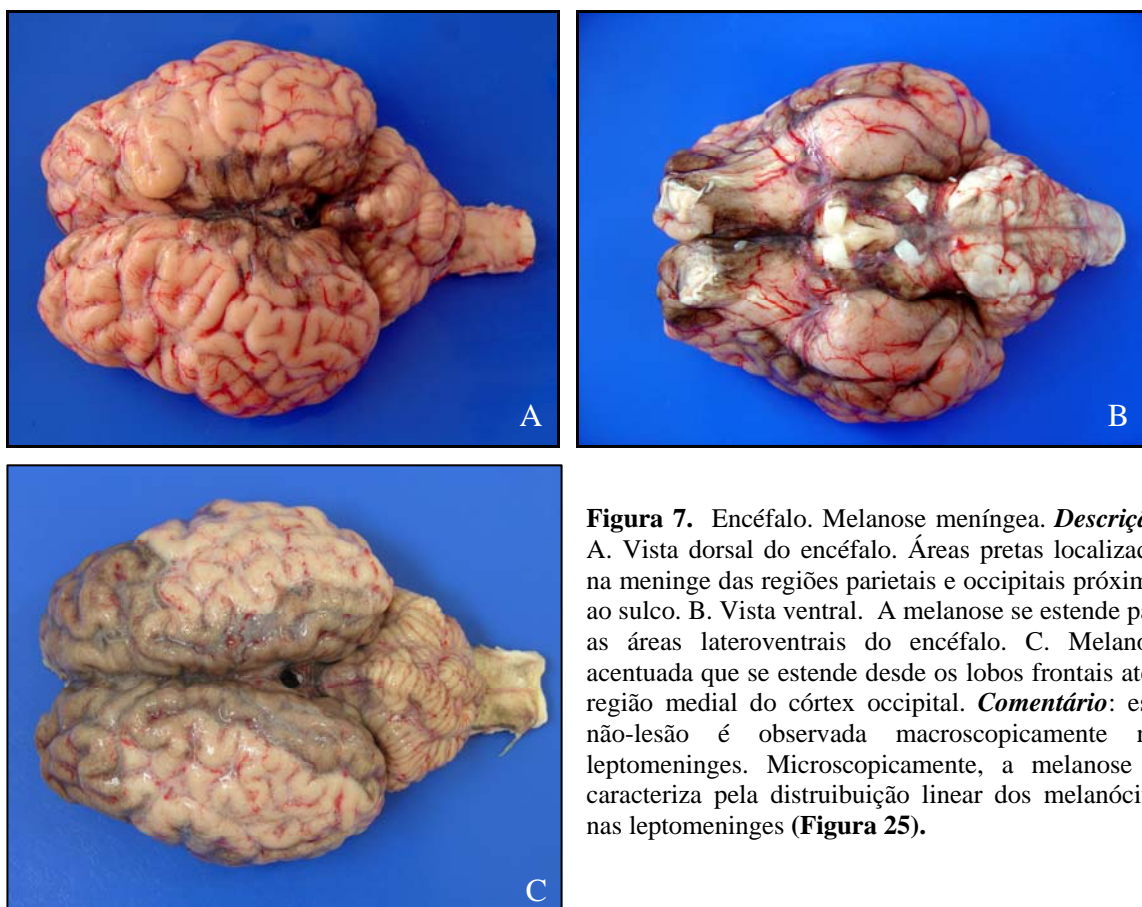
**Figura 5.** Cerebelo. Nestas figuras são descritas distribuição (bilateral, simétrica e focal), forma e aspectos especiais (presença de líquido, hipoplasia e atrofia). **Descrição:** A. Simétrica e bilateralmente, parte dos hemisférios cerebelares estão hipoplásicos. B. Na superfície dorsal do hemisfério cerebelar direito há um cisto rompido de aproximadamente 2 cm de diâmetro que desloca o verme cerebelar para o lado esquerdo da linha média. C. O cisto atrofiou parte do tecido cerebelar. **Comentário:** hipoplasia cerebelar é um defeito congênito que pode ser hereditário ou produzido por um agente ambiental. Em bovinos, hipoplasia cerebelar é relatada em infecções intra-uterinas pelo vírus da diarreia viral bovina.



**Figura 6.** Medula espinhal. Nestas figuras são descritos aspectos especiais (compressão). **Descrição:** A. Vista lateral. Osteomielite das 9ª e 10ª vértebras torácicas com compressão da medula espinhal adjacente. B. Vista dorsal. Abscesso no assoalho do canal medular com compressão da medula espinhal adjacente. **Comentário:** abscessos vertebrais com conseqüente compressão da medula espinhal são freqüentemente observados em bovinos jovens e são geralmente hematogênicos e relacionados com onfaloflebite. A lesão microscópica decorrente da compressão pode ser observada na **Figura 52**.

## 2.2 Não-lesões, lesões de pouca importância clínica e alterações *postmortem*

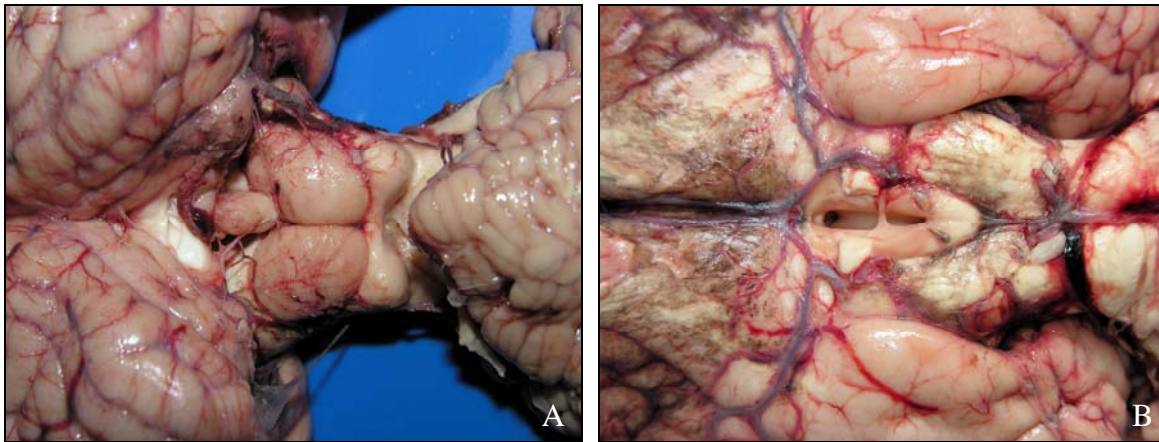
Melanose é uma não-lesão comum em bovinos e se caracteriza por áreas pretas ou marrom-escuras nas leptomeninges (pigmentação de melanina). Embora essa alteração seja denominada “melanose”, é um achado normal, freqüente em encéfalos de ovinos Suffolk e Hampshire Down e em bovinos fortemente pigmentados. Ocorre principalmente nas leptomeninges dos lobos frontais (Figura 7). Freqüentemente, a melanose é erroneamente interpretada como necrose.



**Figura 7.** Encéfalo. Melanose meníngea. **Descrição:** A. Vista dorsal do encéfalo. Áreas pretas localizadas na meninge das regiões parietais e occipitais próximas ao sulco. B. Vista ventral. A melanose se estende para as áreas lateroventrais do encéfalo. C. Melanose acentuada que se estende desde os lobos frontais até a região medial do córtex occipital. **Comentário:** essa não-lesão é observada macroscopicamente nas leptomeninges. Microscopicamente, a melanose se caracteriza pela distribuição linear dos melanócitos nas leptomeninges (**Figura 25**).

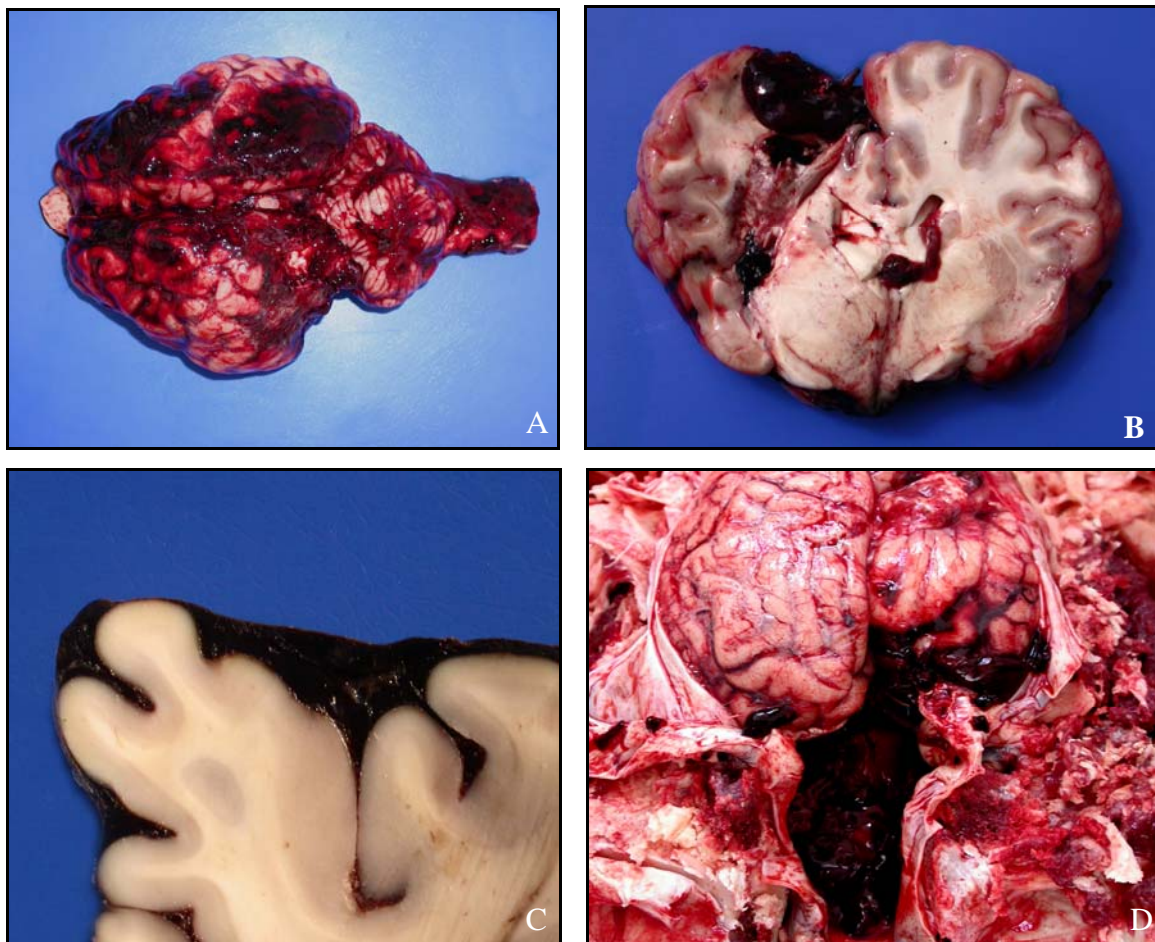
Estruturas normais do encéfalo podem ser confundidas com neoplasmas ou malformações (Figura 8). Uma delas é o corpo pineal, epífise ou *conarium* que se situa dorsalmente ao tronco encefálico entre os colículos rostrais do mesencéfalo e o tálamo. O corpo pineal é uma estrutura glandular especializada na secreção de melatonina. Existe variação no tamanho da pineal entre alguns bovinos. Outra formação anatômica que às

vezes pode ficar presente na superfície ventral do encéfalo e o túber cinério, estrutura que prende a hipófise ao encéfalo.



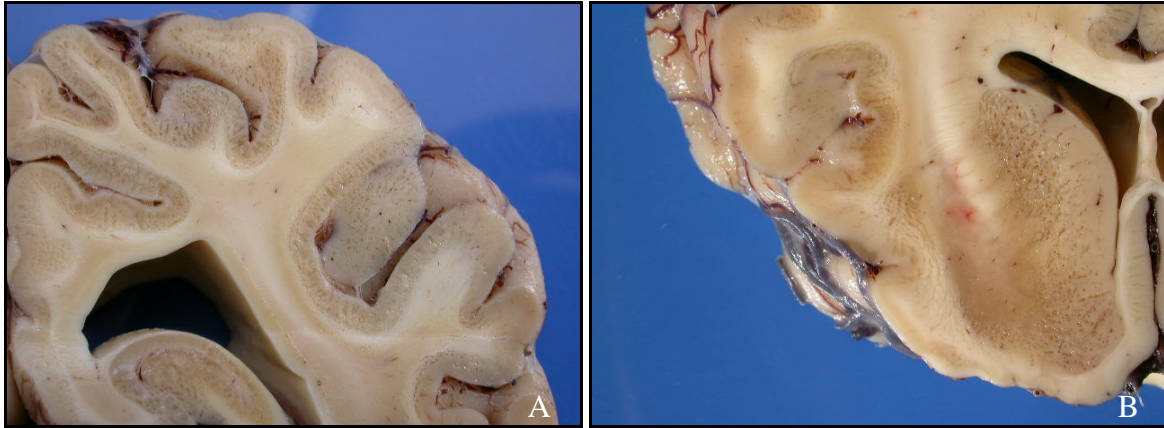
**Figura 8.** Corpo pineal e túber cinério. **Descrição:** A. Vista dorsal do encéfalo para visualização da epífise, dorsal e cranial aos colículos rostrais do mesencéfalo (os hemisférios cerebrais foram parcialmente separados). B. Vista ventral do encéfalo para visualização do túber cinério (estrutura no centro da ilustração). **Comentário:** o túber cinério é o nome dado à estrutura que fixa a hipófise ao encéfalo. O aspecto microscópico da epífise pode ser observada na **Figura 24**.

O método de eutanásia ou a remoção do encéfalo do crânio provocam diversas alterações no encéfalo de bovinos. Hemorragia subdural é uma lesão que pode resultar do método de eutanásia e observada em encéfalos de bovinos que foram mortos com dardo cativo ou quando são dessensibilizados com a introdução da faca na medula cervical. O histórico é importante nesses casos porque fica difícil de diferenciar essas lesões de outras hemorragias de origem traumática, como mostrado na Figura 3A. Muitas vezes, quando se usa pistola pneumática, podem ser observados fragmentos de ossos no tecido encefálico. Outro achado comum em encéfalos de bovinos provenientes de abatedouro, foi a ausência do cerebelo e/ou tronco encefálico. Isso pode ser atribuído à forte pressão exercida pelo dardo cativo na hora da dessensibilização do bovino (Figura 9). A forte pressão pode levar à formação e disseminação de êmbolos de tecido nervoso para os pulmões (Garland et al. 1996). Isso é particularmente importante quando se pensa na disseminação da encefalopatia espongiforme bovina (BSE) no frigorífico. Devido à ausência de testes pra detectar a doença no bovino vivo, há grande preocupação em eliminar materiais de risco específico da cadeia alimentar humana. Nesse sentido, estão sendo desenvolvidos alguns testes para detectar tecido nervoso embólico no sangue através da detecção de duas proteínas do SNC: syntaxina 1B e proteína glial fibrilar ácida (GFAP) (Love et al. 2000, Prendergast et al. 2003).



**Figura 9.** Alterações observadas em abatedouros. **Descrição:** A. Vista dorsal do encéfalo. Hemorragia traumática multifocal a coalescente B. Superfície de corte do encéfalo na altura do tálamo. No lado esquerdo do telencefalo observa-se um grande fragmento ósseo no interior do parênquima cerebral recoberto por coágulo de sangue. C. Encéfalo fixado em formol. Na superfície dorsal e lateral do córtex telencefálico observa-se hemorragia subdural difusa. D. Neste encéfalo, o cerebelo e o tronco encefálico estão substituídos por grande coágulo de sangue. Parte do encéfalo foi expelido devido à forte pressão do dardo cativo. **Comentário:** muitas vezes, a excessiva quantidade de sangue na forma de coágulos ao redor do encéfalo pode prejudicar a adequada fixação do encéfalo em formol.

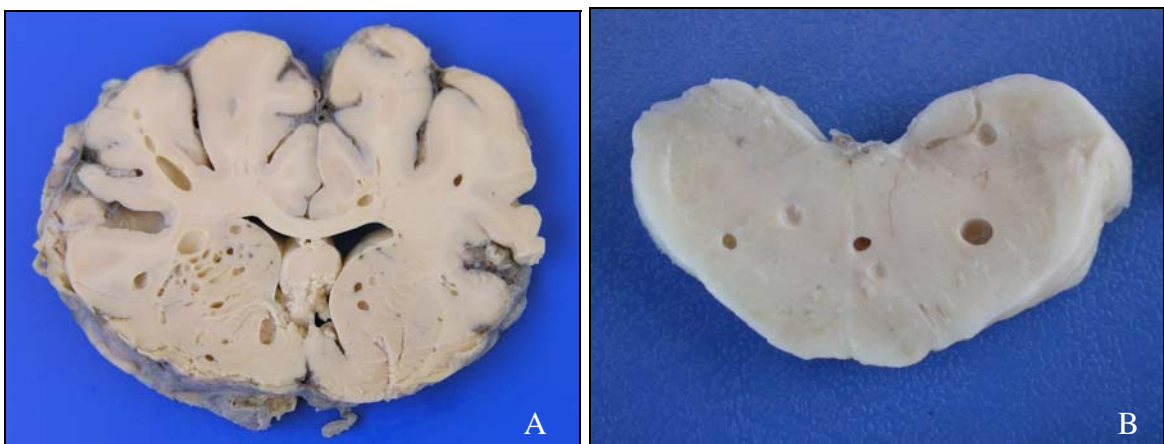
Em casos de morte por sangria, em que ocorre secção da traquéia e dos vasos do pescoço, o esforço da inspiração pode introduzir ar sob pressão pelas carótidas (ou via retrógrada pela jugular); o ar então atinge os vasos do encéfalo, distende os espaços perivasculares e confere um aspecto de esponja, principalmente à substância cinzenta (Figura 10). Quando se retira o encéfalo da caixa craniana com o auxílio de um machado, um artefato comumente observado é a presença de bolhas de ar que são introduzidas nos vasos das leptomeninges durante os golpes do machado e que pode ser interpretado erroneamente como embolia gasosa (Figura 11). Alterações *postmortem* incluem o amolecimento do encéfalo como um todo ou o desenvolvimento de orifícios causados pela distensão do tecido nervoso pelos gases produzidos pelas bactérias da putrefação, o que dá o chamado aspecto de queijo suíço ao encéfalo (Figura 12).



**Figura 10.** Encéfalo fixado em formol. Superfície de corte na altura do córtex parietal (A) e na altura dos núcleos basais (B). **Descrição:** A e B. A substância cinzenta tem aspecto finamente esponjiforme. **Comentário:** essa lesão é formada por embolia gasosa. O aspecto microscópico desta alteração encontra-se na **Figura 39**.



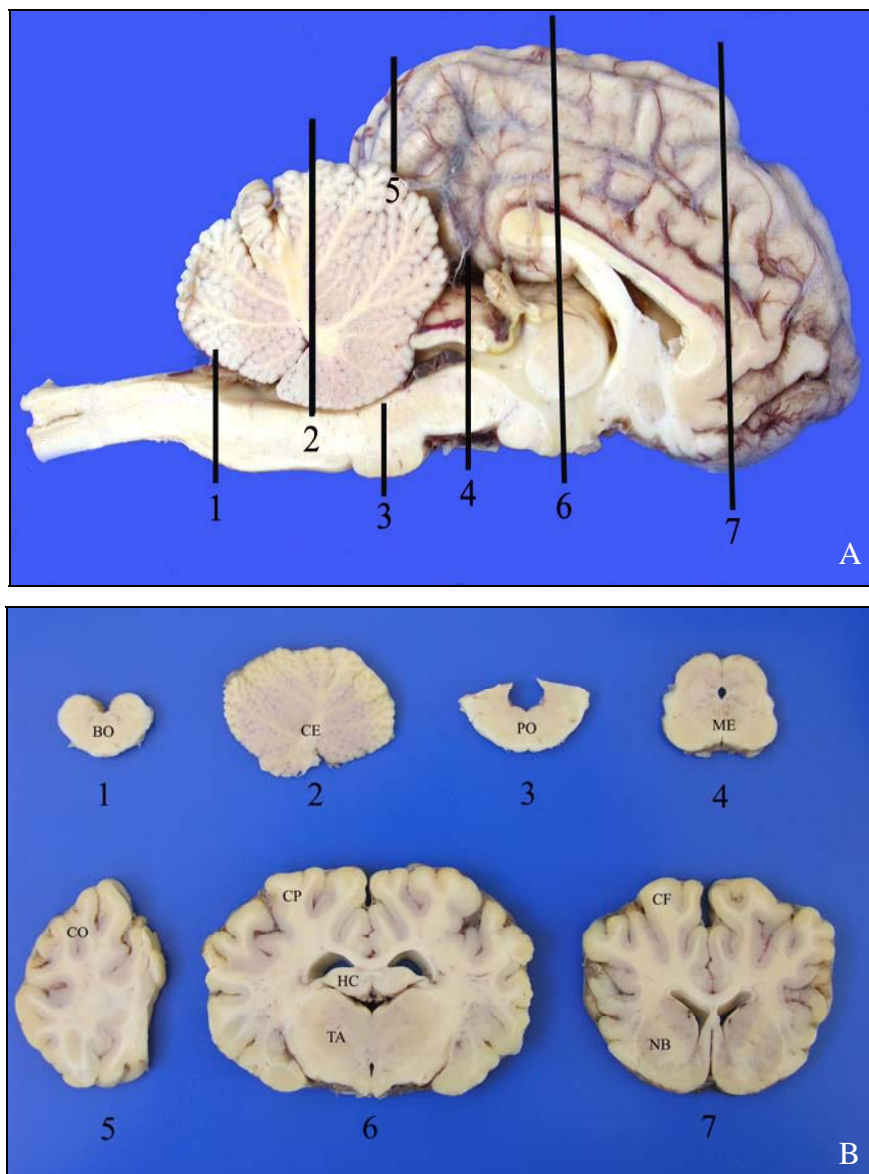
**Figura 11.** Encéfalo na caixa craniana. **Descrição:** as leptomeninges apresentam múltiplas bolhas de ar. **Comentário:** as batidas do machado na cavidade craniana podem incorporar ar nos vasos das leptomeninges. Esse artefato desaparece após a fixação e não é observado em seções histológicas.



**Figura 12.** Encéfalo fixado em formol. **Descrição:** A. Superfície de corte na altura dos núcleos basais. B. Superfície de corte na altura do bulbo ao nível do óbex. Bolhas de putrefação multifocais aleatórias. **Comentário:** bolhas de putrefação são achados infreqüentes nos encéfalos autolisados de bovinos e na maioria das vezes encontradas na região ventral do encéfalo, principalmente nos núcleos basais. O aspecto microscópico desse achado *postmortem* é visto na **Figura 44C**.

### 3. Exame Microscópico

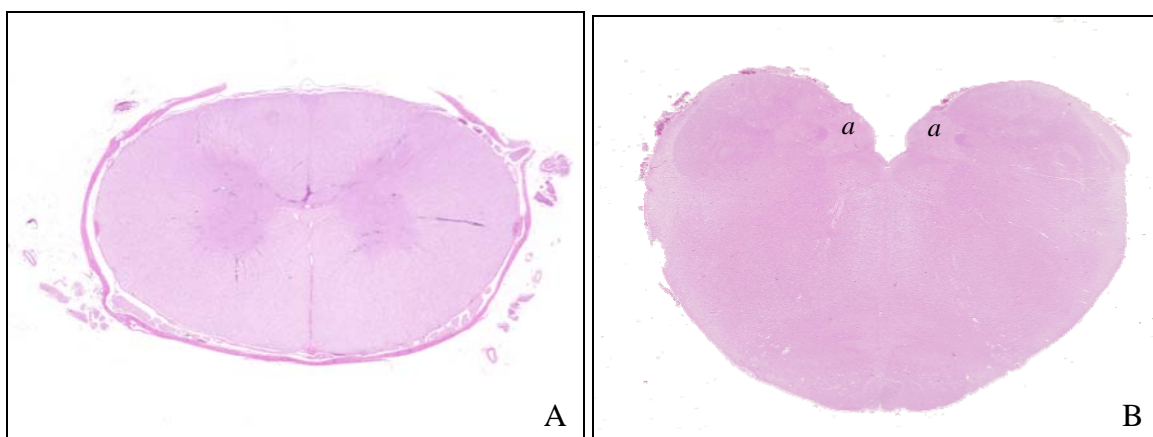
O exame microscópico do SNC deve ser realizado de forma padronizada e sistemática e com conhecimento básico da neuroanatomia. Para análise representativa das diversas áreas do encéfalo, recomenda-se a realização de cortes transversais seriados em intervalos de 0,5-1 cm que são assim examinados em ambas as faces. Para o exame histológico, os cortes foram sistematicamente processados conforme descrito na Figura 13.

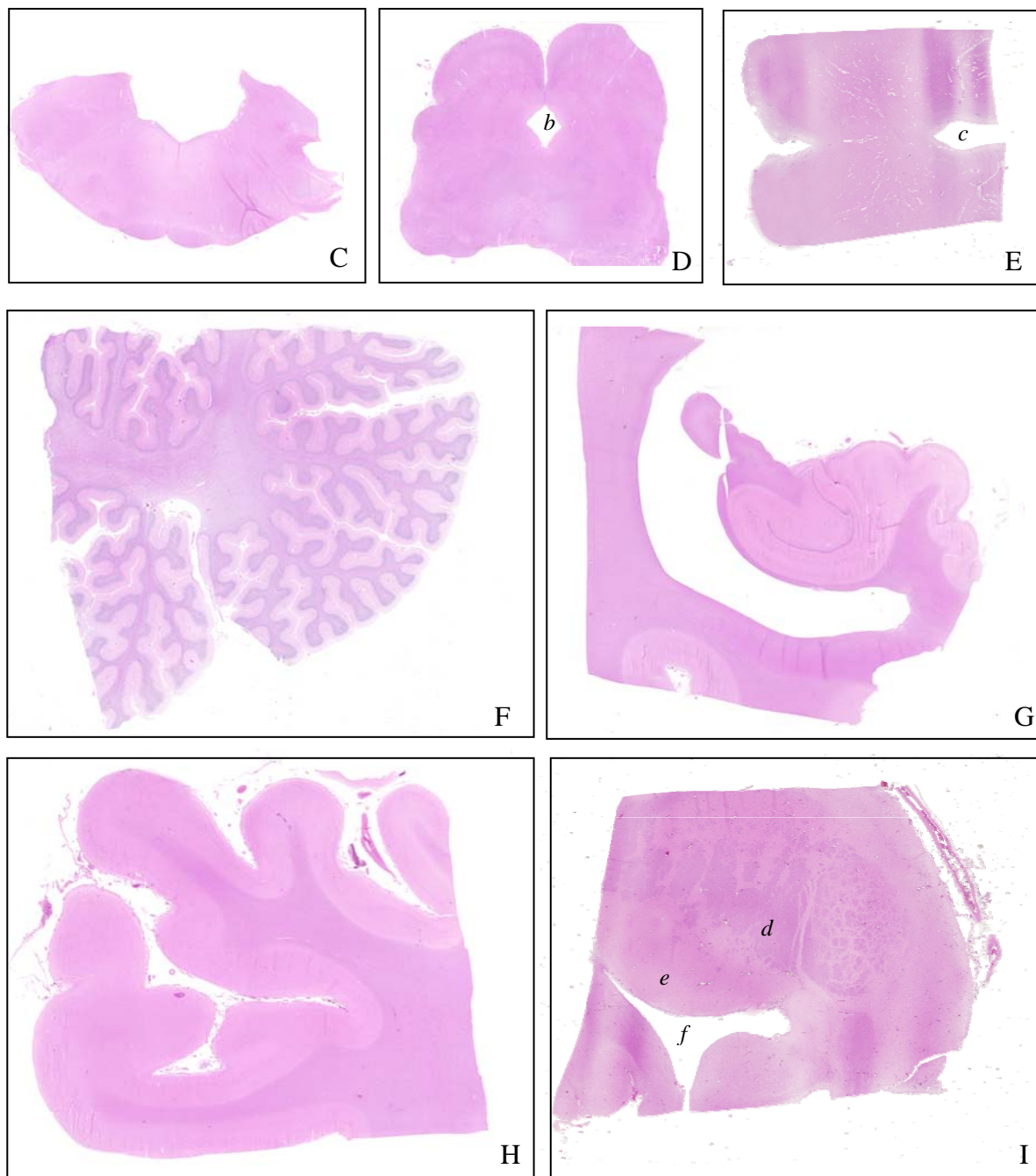


**Figura 13.** Regiões do encéfalo a serem colhidas para o diagnóstico das doenças do sistema nervoso central. A. Hemisfério cerebral mostrando o local dos cortes; 1, bulbo na altura do óbex (BO); 2, cerebelo (CE); 3, ponte com pedúnculos cerebelares (PO); 4, mesencéfalo na altura dos colículos rostrais (ME); 5, córtex occipital (CO); 6, diencéfalo através da aderência intertalâmica - córtex parietal (CP), hipocampo (HC) e tálamo (TA) e 7, lobo frontal na altura do joelho do corpo caloso e dos núcleos da base (NB) - córtex frontal (CF). B. Seções obtidas dos 7 locais mostrados em A.

Essas seções histológicas seguem o padrão adotado pelos laboratórios credenciados pelo MAPA para o exame do encéfalo de bovinos para vigilância da BSE no Brasil. Esse método tem as seguintes vantagens: permite o estudo detalhado de áreas específicas do encéfalo, oferece maior facilidade para comparação com encéfalos controles, facilita a descrição da distribuição de lesões e permite localizar facilmente os blocos no arquivo para realização de colorações especiais ou imunoistoquímica.

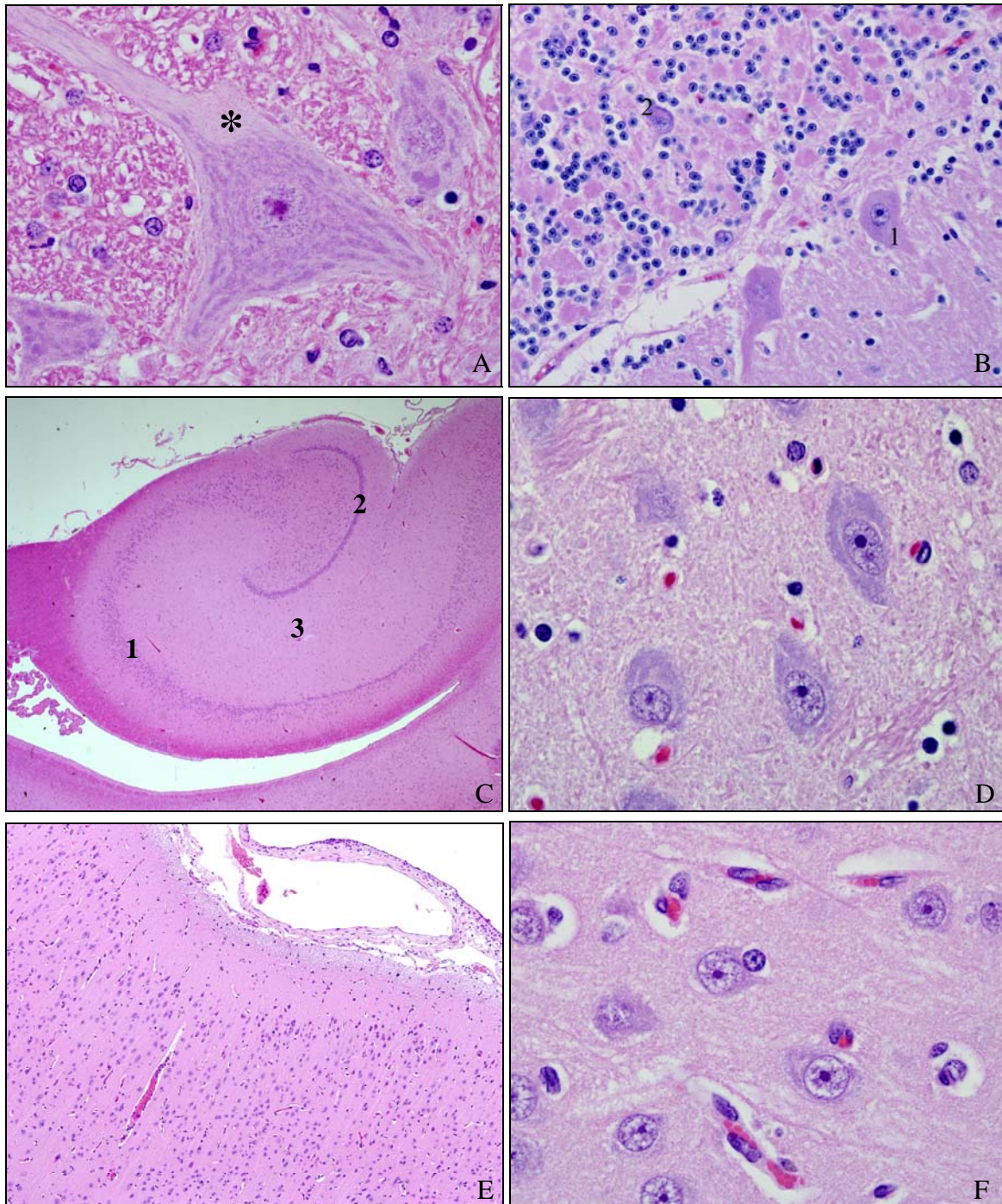
Para a rotina da patologia diagnóstica, o reconhecimento das maiores subdivisões anatômicas das seções transversais do SNC (medula espinhal, tronco encefálico, cerebelo, diencéfalo, hipocampo, córtex telencefálico e núcleos basais), macro e microscopicamente (Figura 14), é suficiente para determinar a localização e extensão das lesões. Após a identificação do local do encéfalo a ser examinado, é necessário identificar os seguintes constituintes celulares: neurônios (Figura 15), oligodendrócitos, astrócitos, micróglia (Figura 16), vasos sanguíneos, epêndima, plexo coróide, (Figura 17), neurópila e parênquima neural (Figura 18), e meninges (Figura 19). A detecção e a interpretação de alterações nesses constituintes celulares e em áreas específicas do SNC frequentemente permite o diagnóstico de diversas doenças e artefatos, bem como a diferenciação de estruturas normais do encéfalo e estruturas associadas. Algumas doenças com sinais clínicos de distúrbios nervosos não produzem lesões no SNC e o diagnóstico é feito através da epidemiologia, sinais clínicos e realização de outros exames complementares (por ex., botulismo, tétano).



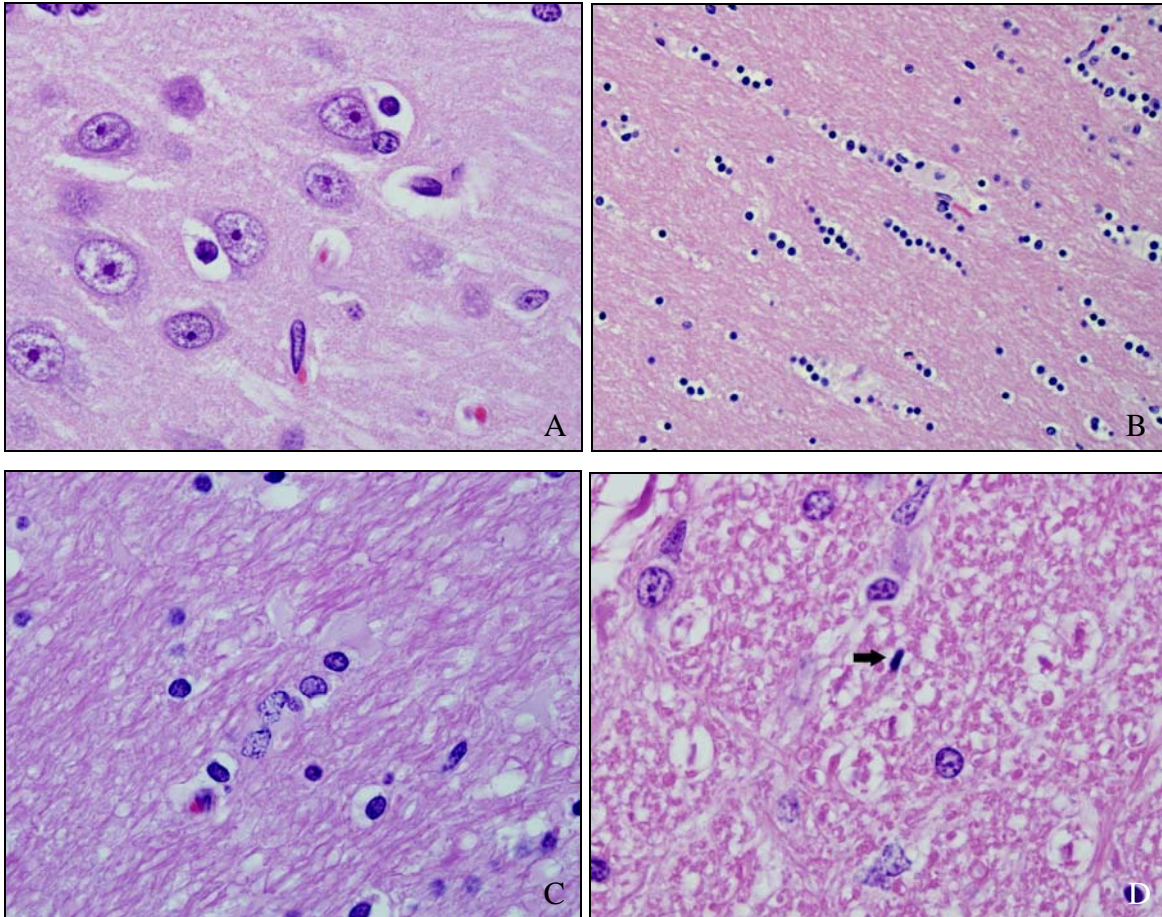


**Figura 14.** Identificação submacroscópica dos principais segmentos do sistema nervoso central (SNC). HE. **Descrição:** A. Medula espinhal. Observe o H medular (substância cinzenta) e a fissura ventral média. B. Bulbo na altura do óbex. Observe a área postrema (a) simétrica e bilateral. C. Ponte na altura dos pedúnculos cerebelares. HE. D. Mesencéfalo na altura dos colículos rostrais. A estrutura marcada com a letra b é o aqueduto mesencefálico. E. Tálamo. A estrutura marcada com a letra c é o terceiro ventrículo. F. Cerebelo. A camada rosa-clara externa é a camada molecular. A camada basofílica interna das folhas é a camada de células granulares. Entre essas duas camadas situa-se a camada de células de Purkinje (não observada neste aumento). Essas três camadas formam a substância cinzenta do cerebelo. A camada mais interna (rosa-escura) é a substância branca. G. Hipocampo. As diferentes partes do hipocampo podem ser visualizadas na **Figura 15C**. H. Córtex telencefálico. A substância rosa-escura interna é uma porção da substância branca subcortical denominada coroa radiada. I. Núcleos da base. Observe a cápsula interna (d), o núcleo caudado (e) e o ventrículo lateral (f). **Comentário:** especialmente em fragmentos do SNC é sempre importante observar macroscopicamente a lâmina com o fragmento de encéfalo ou medula espinhal antes de analisá-lo microscopicamente. Essa observação é útil na identificação de áreas específicas do SNC e também na localização das lesões. Geralmente as lesões do SNC são identificadas através de alterações nas propriedades tintoriais.

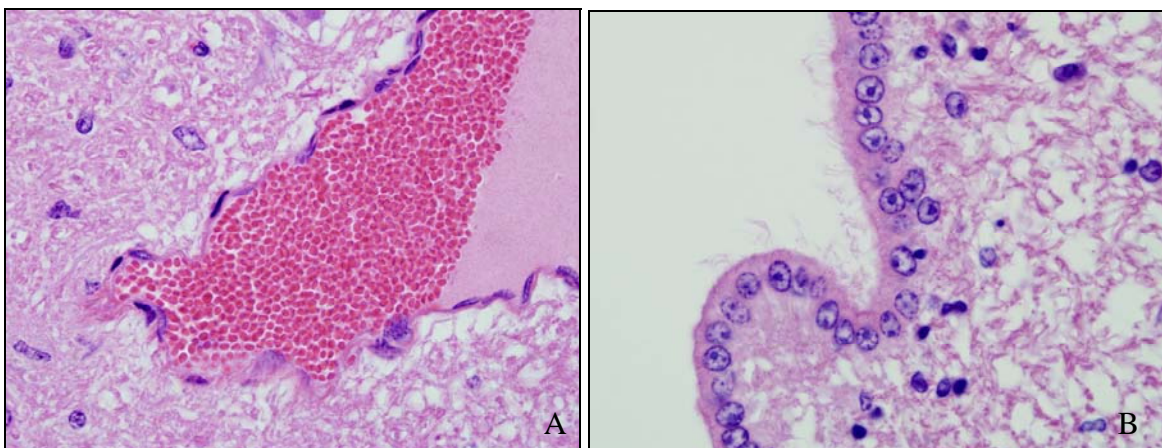


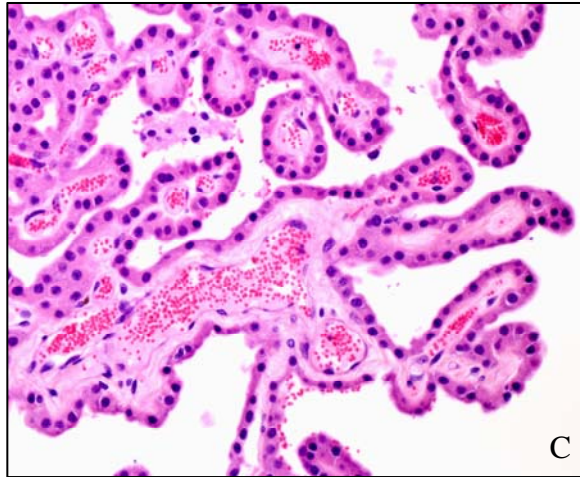


**Figura 15.** Tamanho e disposição dos neurônios em diversos segmentos do sistema nervoso central (SNC).  
**Descrição:** A. Neurônio do tronco encefálico. A estrutura marcada com o asterisco é o cone de implantação do axônio. HE. 100x. B. Neurônios do cerebelo. Os neurônios marcados em 1 e 2 são respectivamente denominados neurônio de Purkinje e neurônio de Golgi. Neurônios da camada de células granulares são células pequenas (cerca de 7  $\mu\text{m}$  de diâmetro) e estão rodeando o neurônio de Golgi. HE. 40x. C. Aspecto microscópico das camadas do hipocampo. O hipocampo é uma estrutura laminar dividida em três partes: subiculum, cornu de Ammon e giro dentado. Na figura estão representados: *stratum pyramidale* (1), camada de células moleculares (2) e *stratum radiatum* (3). HE. 2x. D. Neurônios do tálamo (diencéfalo). E. Disposição laminar dos neurônios do córtex telencefálico. HE. 10x. F. Neurônios do córtex telencefálico. HE. 100x. **Comentário:** A. Neurônios da medula espinhal e tronco encefálico contêm abundante pericário e grande núcleo com proeminente nucléolo. Observe a substância de Nissl no citoplasma. Neurônios do tronco encefálico são geralmente dispostos em núcleos (agrupamentos de neurônios em meio à substância branca do SNC) (Figura 18C). Neurônios do tálamo e córtex telencefálico são menores e possuem o citoplasma reduzido.

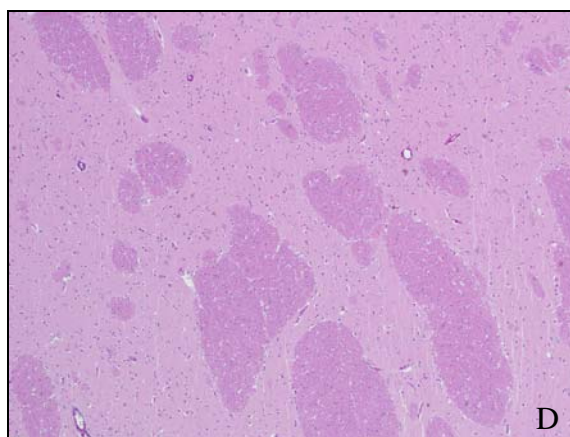
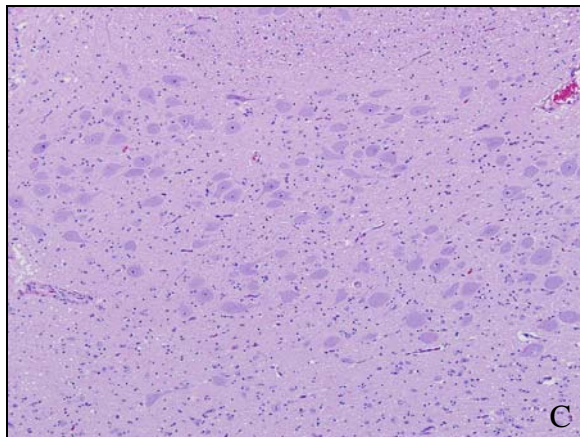
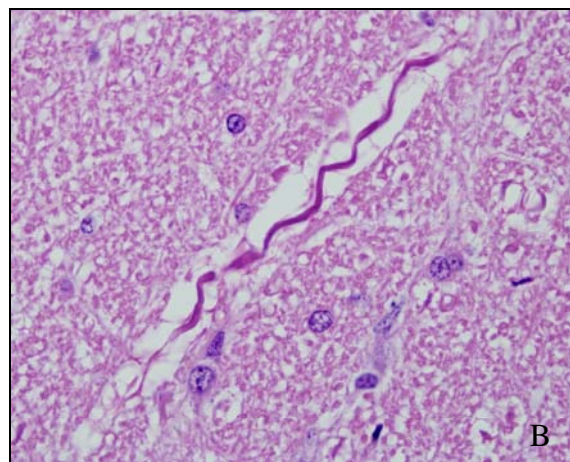
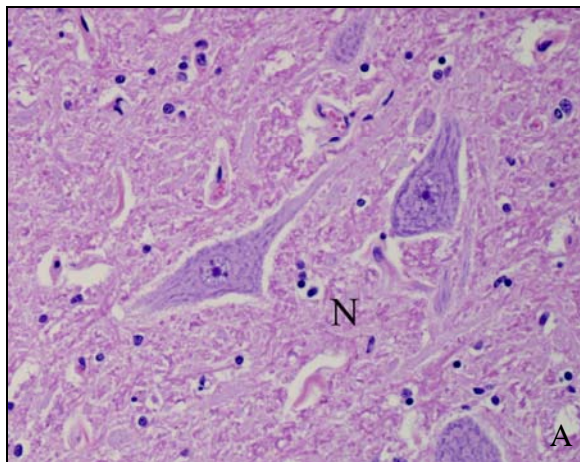


**Figura 16.** Células da glia. HE. **Descrição:** A. Oligodendrócitos satélites. Essas células ficam justapostas aos neurônios. HE. 100x. Como têm o citoplasma claro contra o citoplasma do neurônio, muitas vezes dão a impressão errônea qu fagocitam um pedaço do pericário neuronal. B. Oligodendrócito interfascicular. Oligodendrócitos são células pequenas, arredondadas, com citoplasma hiper cromático semelhantes a linfócitos. HE. 40x. C. Astrócitos. Observe o núcleo grande vesicular, com indistinto nucléolo e inaparente citoplasma de dois astrócitos localizados entre os oligodendrócitos interfasciculares. HE. 100x. D. Micróglia. Observe o núcleo pequeno, hiper cromático e em forma de vírgula ou bastonete (seta). Em encéfalos normais, essas células são praticamente imperceptíveis. HE. 100x. **Comentário:** Oligodendrócitos e astrócitos formam a macróglia. Oligodendrócitos satélites regulam o microambiente perineuronal, por outro lado, oligodendrócitos interfasciculares são responsáveis por mielinizar os axônios no sistema nervoso central (SNC). Astrócitos participam em processos de regulação, reparação, suporte e formação de barreiras no SNC. Micróglia é o termo dado aos macrófagos residentes do SNC. Essas células derivam dos monócitos e migram para o SNC logo depois de ocorrer a sua vascularização.

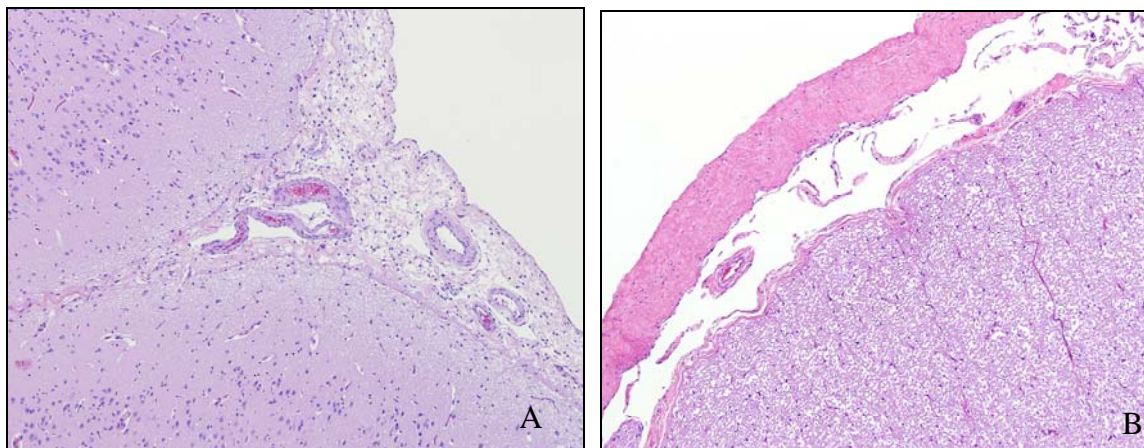




**Figura 17.** Vasos sanguíneos, epêndima e plexo coróide. **Descrição:** A. Vaso sanguíneo. Observe as células endoteliais. HE. 40x. B. Células ependimais. Observe a camada simples de células epiteliais cuboidais ciliadas. HE. 100x. C. Plexo coróide. Células epiteliais do plexo coróide são células endoteliais modificadas que circundam uma área rica em tecido conectivo altamente vascular. HE. 40x. **Comentário:** o sistema nervoso central (SNC) não possui linfáticos. Há drenagem para os espaços perivascularares, capilares, vênulas e para os seios das leptomeninges. Células ependimais revestem o sistema ventricular com a função de movimentar o líquido cefalorraquidiano (LCR) através dos seus cílios e regular o fluxo de substâncias entre o LCR e o SNC. O plexo coróide tem a função de produzir o LCR.



**Figura 18.** Organização do sistema nervoso central. **Descrição:** A. A substância cinzenta consiste de corpos neuronais e uma rede composta de axônios finamente mielinizados, dendritos, oligodendrócitos satélites, astrócitos protoplasmáticos e micróglia e seus processos. HE. 100x. B. A substância branca consiste de axônios bem mielinizados, oligodendrócitos interfasciculares e astrócitos fibrosos. HE. 100x. C. Núcleo do tronco encefálico. HE. 10x. D. Núcleos basais. A substância rósea proeminente é a substância branca. HE. 10x. **Comentário:** neurópila é definida como a rede de processos neuronais (dendritos e axônios) e de células gliais que se localiza na substância cinzenta. Em HE é a substância rosa finamente fibrilar que se observa entre neurônios e células gliais (N). Parênquima neural é o nome usado para definir a substância rósea-escura formada por axônios e processos das células gliais da substância branca. No tronco encefálico e diencefalo muitas vezes é difícil discernir entre a substância cinzenta e substância branca. Certas regiões do encéfalo como núcleos basais, telencéfalo e cerebelo possuem distinta divisão entre substância cinzenta e branca. A substância branca do telencéfalo é denominada coroa radiada.



**Figura 19.** Meninges. *Descrição:* A. Leptomeninge, também denominada de pia-arachnóide, é formada por vasos sanguíneos e tecido fibrovascular e reveste o SNC. Nesta figura, abaixo das leptomeninges, observa-se o córtex telencefálico. HE. 10x. B. Dura-máter, também denominada paquimeninge, é composta por duas camadas anelares densas de tecido conjuntivo fibroso. Nesta figura, abaixo da dura-máter, observam-se as leptomeninges e a substância branca da medula espinhal. HE. 10x. *Comentário:* No encéfalo, a dura-máter permanece aderida ao crânio quando se retira o encéfalo do crânio. Em seções histológicas, é possível visualizar a dura-máter somente em seções da medula espinhal.

Após breve revisão dos principais constituintes do SNC, serão apresentados e discutidos os principais achados microscópicos não ligados a doenças e os principais achados histológicos ligados a doenças e que podem definir o diagnóstico das principais enfermidades do SNC de bovinos no Brasil.

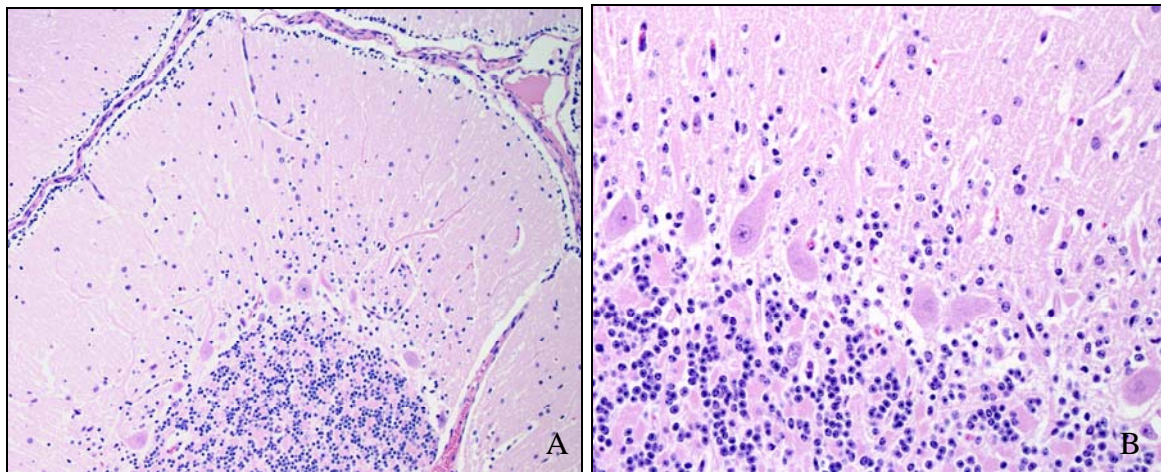
### **3.1 Não-lesões, lesões de pouca importância clínica, alterações *postmortem***

#### **3.1.1 Não-lesões**

Estruturas microscópicas normais do encéfalo podem estar relacionadas com resquícios de estruturas embrionárias (camada externa de células granulares do cerebelo, placa subependimária e acúmulo de neuroblastos nos núcleos basais), ou podem representar órgãos circumventriculares (área postrema no bulbo na altura do óbex, órgão subcomissural na altura do tálamo, órgão pineal) ou são pigmentos normais presentes em vasos ou nas leptomeninges (melanina produzida por melanócitos leptomeningiais).

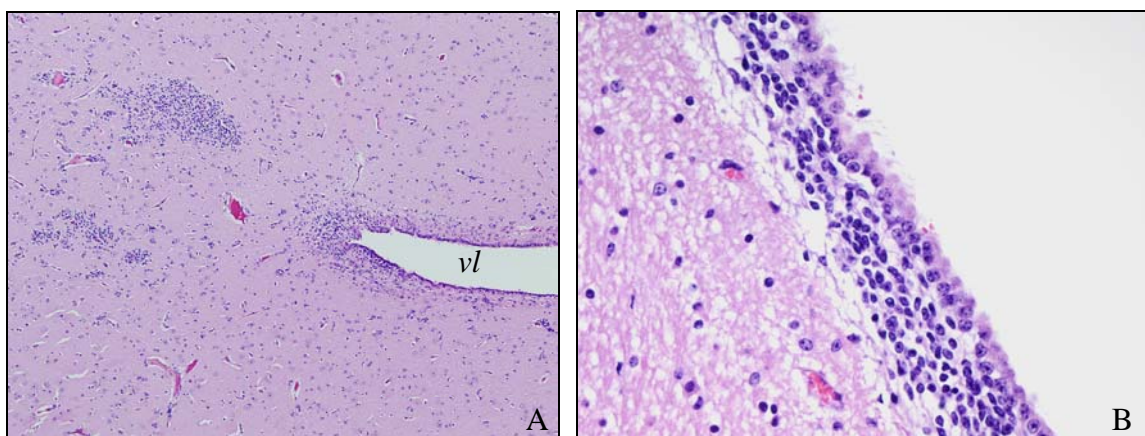
Células da camada de células granulares externa do córtex cerebelar são encontradas em fetos, animais recém-nascidos ou com poucos meses de vida (Figura 20).

À medida que o animal cresce, essas células migram para a camada interna de células granulares (Fuller & Burger 1997).



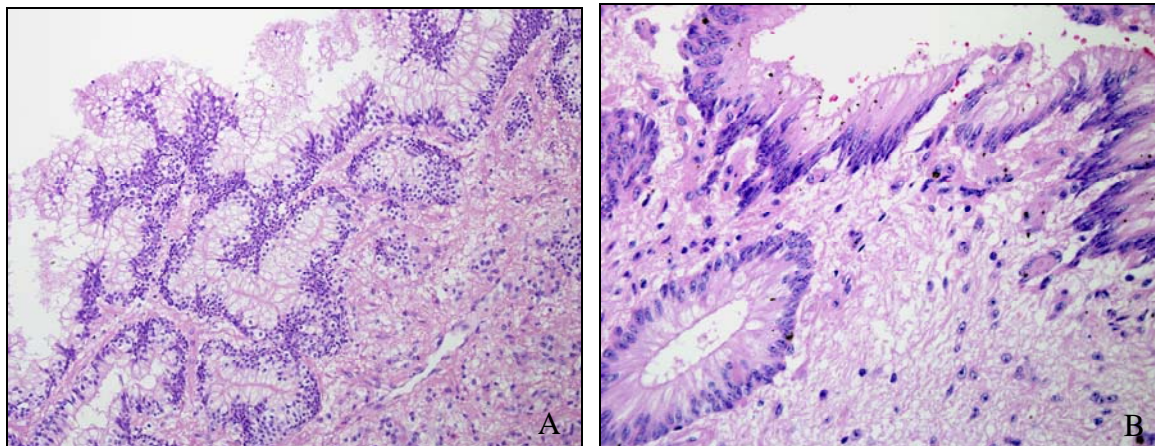
**Figura 20.** Cerebelo. Bovino jovem. **Descrição:** A. Camada externa de células granulares que se localiza entre a pia-máter e a camada molecular. Numerosas células migram para a camada de células granulares. B. Maior aumento de A. **Comentário:** a camada externa de células germinativas pode ser confundida com meningite. A migração dessas células pode ser confundida com arbustos gliais, lesão que ocorre quando há encefalite e células inflamatórias na camada molecular (**Figura 55**).

A placa subependimária se localiza nas porções laterais e ventrais dos ventrículos laterais. Adjacente à placa subependimária e no bulbo olfatório podem se observados acúmulos de neuroblastos denominados glia residual (Figura 21) (Summers et al. 1995).

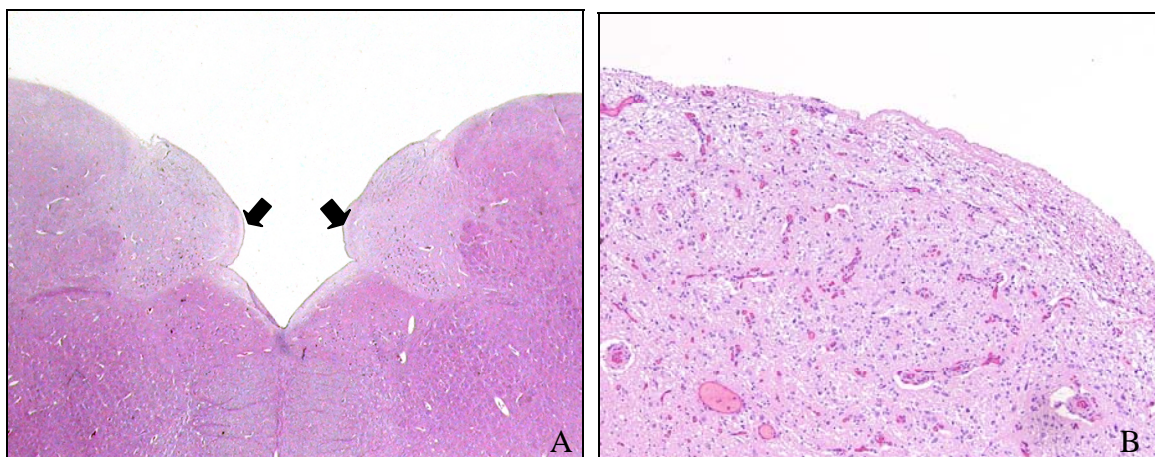


**Figura 21.** Placa subependimária e acúmulos focais de neuroblastos. **Descrição:** A. A placa subependimária consiste em acúmulo de células germinativas entre o epêndima e o parênquima neural na altura dos ventrículos laterais (vl). Em áreas próximas aos ventrículos laterais, dentro do parênquima neural são observados acúmulos de neuroblastos. HE. 10x. B. As células germinativas estão dispostas em camadas de três a cinco células. HE. 40x. **Comentário:** a placa subependimária persiste em bovinos adultos e pode ser erroneamente interpretada como infiltrado inflamatório linfocítico. Os acúmulos focais de neuroblastos podem ser confundidos com microgliose.

Órgãos circumventriculares são centros especializados do SNC que compartilham dois aspectos morfológicos: localização periventricular e vasculatura em que falta a típica propriedade da barreira hematoencefálica. Essas estruturas incluem órgão subcomissural (modificação local de células ependimárias abaixo da comissura caudal que se projeta para o aqueduto mesencefálico) (Figura 22), a área postrema (aglomerado de células gliais e pequenos capilares) (Figura 23), que se localiza dorsalmente ao núcleo do vago no bulbo na altura do óbex, e o corpo pineal (Figura 24).

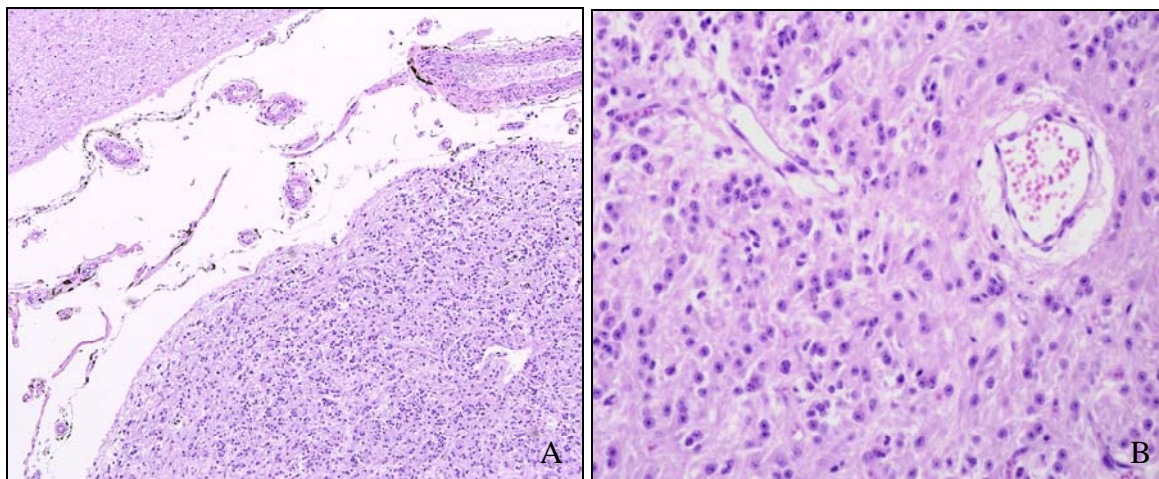


**Figura 22.** Órgão subcomissural. **Descrição:** A. Observe as células colunares altas com citoplasma levemente eosinofílico e núcleo basal, distribuídas em estruturas acinares. HE. 20x. B. Estrutura semelhante em maior aumento. HE. 40x. **Comentário:** o órgão subcomissural é uma estrutura especializada em secretar aldosterona. Devido à estrutura glandular observada microscopicamente, o órgão subcomissural pode ser interpretado erroneamente como neoplasma de origem epitelial, principalmente quando se realiza seção oblíqua do tálamo.



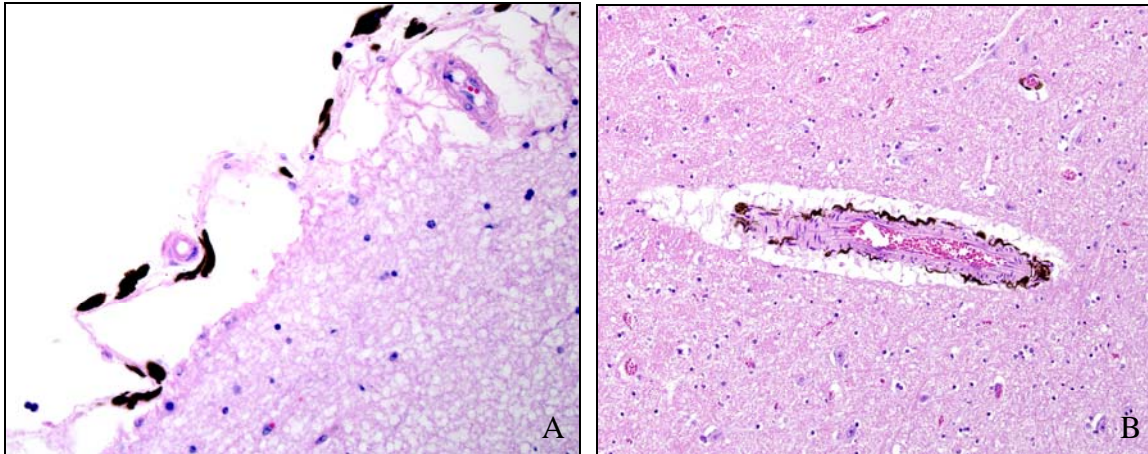
**Figura 23.** Área postrema. **Descrição:** A. Observe a localização da área postrema – bilateral, simétrica e caudodorsalmente ao núcleo dorsal do vago. Vista submacroscópica. B. O achado típico dos órgãos circumventriculares inclui a neuropila frouxamente arranjada com proeminente vasculatura. HE. 20x. **Comentário:** a área postrema situa-se na porção caudal do assoalho do quarto ventrículo. Essa estrutura pode ser observada microscopicamente, quando se realiza o corte do encéfalo no bulbo na altura do óbex. Em humanos sua função fisiológica tem sido apontada como região quimiorreceptora do encéfalo para instigar a resposta emética, e regulação do controle cardiovascular devido a resposta sistêmica à angiotensina II (Leslie & Osborne 1984). Em seções histológicas, a área postrema pode ser erroneamente confundida com gliose, ou quando os capilares estão proeminentes pode ser confundida com neoplasma.

Como observado anteriormente na Figura 8, a epífise é uma evaginação do aspecto dorsocaudal do epitálamo do diencéfalo, que se adere através de um prolongamento que contém um pequeno recesso do terceiro ventrículo. Histologicamente, a epífise, o órgão ou a glândula pineal, estrutura derivada do epitélio neural, é constituída por pinealócitos, células gliais, neurópila e vasos sanguíneos. Nos lóbulos pineais, os pinealócitos são arranjados ao redor de pequenos lúmens. Especialistas preferem denominá-lo de corpo pineal em vez de glândula pineal, porque pinealócitos são células neurosensoriais. A cápsula e septos do órgão pineal são formados por pia-máter e aracnóide, ou seja, a continuação das leptomeninges do diencéfalo, e por onde os vasos sanguíneos penetram na pineal (Vigh et al. 1998) (Figura 24).



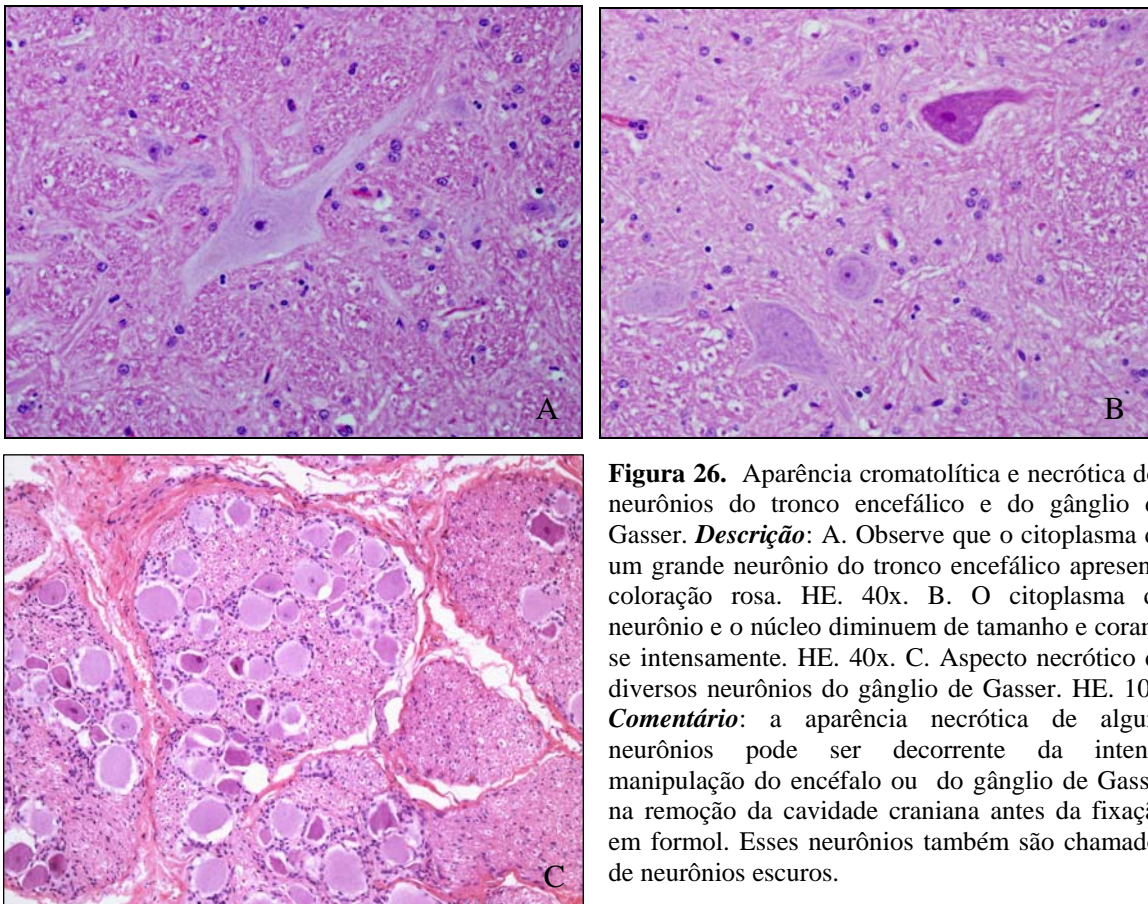
**Figura 24.** Corpo pineal. **Descrição:** A. O tecido nervoso (canto superior direito) está separado do corpo pineal pelas leptomeninges. Nesta figura, as leptomeninges estão pigmentadas. Observe a hiper celularidade da epífise. HE. 10x. B. Maior aumento de A. **Comentário:** devido à estrutura histológica hiper celular o corpo pineal pode ser facilmente confundido com neoplasma.

Deposição de melanina meníngea é uma não-lesão que pode ser observada macroscopicamente (Figura 7). Histologicamente, os melanócitos são células achatadas com o citoplasma dendrítico e preenchido com pigmento granular marrom-escuro observados nas leptomeninges ou nos vasos dentro da neurópila, adjacentes às leptomeninges (Figura 25). Em seções transversais podem ser confundidos com macrófagos carregados com hemossiderina (Figura 28). Devem ser diferenciados de células positivas na técnica de imunistoquímica quando se usa diaminobenzidina (DAB) como cromógeno (Summers et al 1995).



**Figura 25.** Melanócitos leptomenigeais. *Descrição:* A. Observe os melanócitos nas leptomeninges distribuídos de forma linear. HE. 40x. B. Melanócitos na adventícia de uma arteríola cerebral. HE. 20x. *Comentário:* melanócitos são distinguíveis de macrófagos carregados com hemossiderina pela coloração do pigmento presente no citoplasma. Melanócitos são alongados e dendríticos e possuem pigmento intracitoplasmático marrom-escuro ou preto, enquanto que os macrófagos carregados com hemossiderina são preenchidos com pigmento amarelo-ouro ou marrom-claro. Na técnica de imunistoquímica, quando se usa DAB como cromógeno, melanina aparece nas preparações positivas e negativas.

Neurônios normais do tronco encefálico, principalmente dos núcleos do nervo trigêmeo e olivar podem ter aparência cromatolítica ou necrótica (Figura 26) (Jubb & Huxtable 1993).

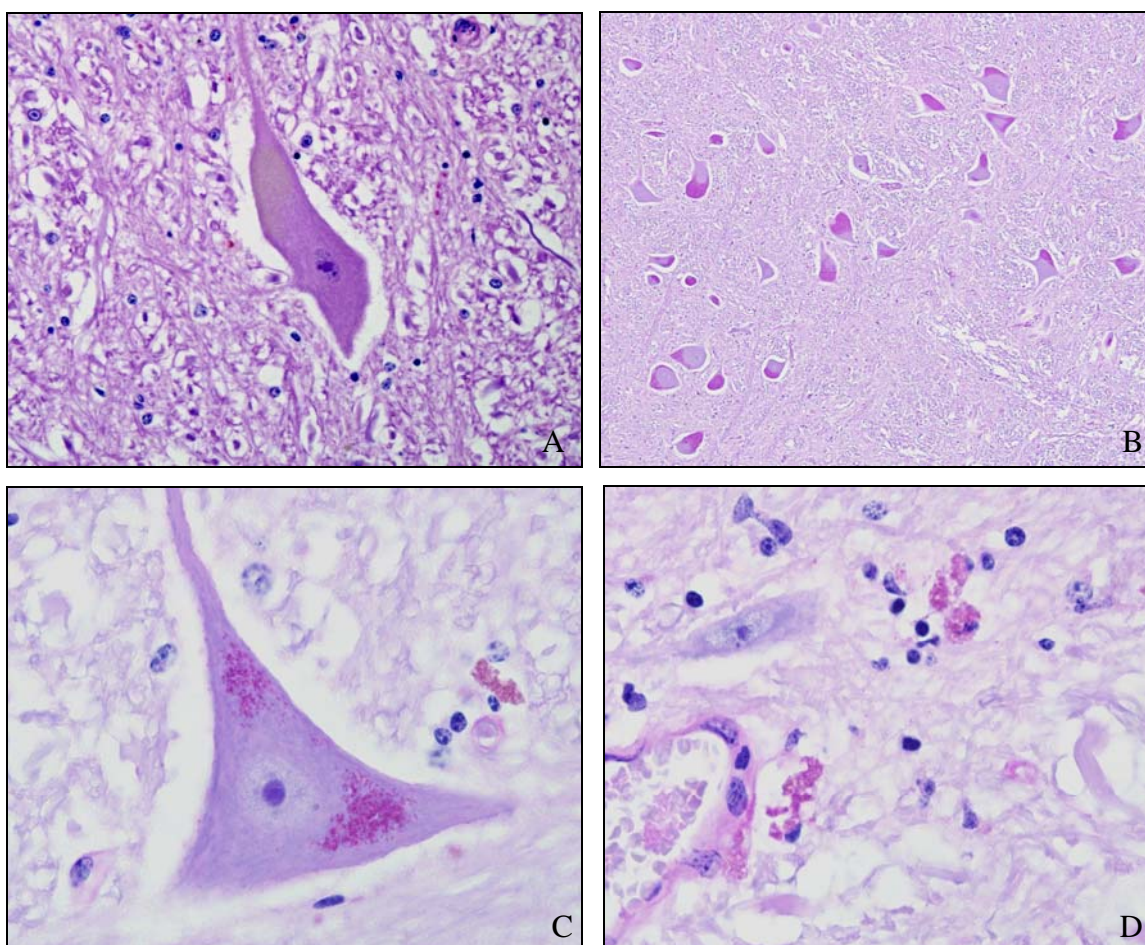


**Figura 26.** Aparência cromatolítica e necrótica dos neurônios do tronco encefálico e do gânglio de Gasser. *Descrição:* A. Observe que o citoplasma de um grande neurônio do tronco encefálico apresenta coloração rosa. HE. 40x. B. O citoplasma do neurônio e o núcleo diminuem de tamanho e coram-se intensamente. HE. 40x. C. Aspecto necrótico de diversos neurônios do gânglio de Gasser. HE. 10x. *Comentário:* a aparência necrótica de alguns neurônios pode ser decorrente da intensa manipulação do encéfalo ou do gânglio de Gasser na remoção da cavidade craniana antes da fixação em formol. Esses neurônios também são chamados de neurônios escuros.



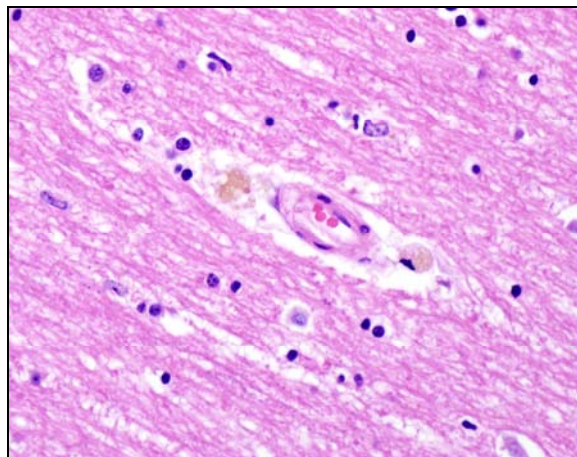
### 3.1.2 Lesões de pouca importância clínica

Além da melanina meníngea, há outros pigmentos no SNC que são marrons na coloração de H&E. Sua identificação depende muitas vezes da localização. Lipofuscina é um pigmento marrom-amarelado que se acumula no citoplasma de neurônios de animais velhos e que não é deletéria para a função neuronal (Hirano 1985, Jubb & Huxtable 1993). Observações deste estudo indicam que há grande quantidade de lipofuscina nos neurônios de núcleos do mesencéfalo na altura dos colículos rostrais (Figura 27), à semelhança da localização em suínos, onde foi observada em 75% dos neurônios do núcleo trigeminal do mesencéfalo (Jahns et al. 2006b).



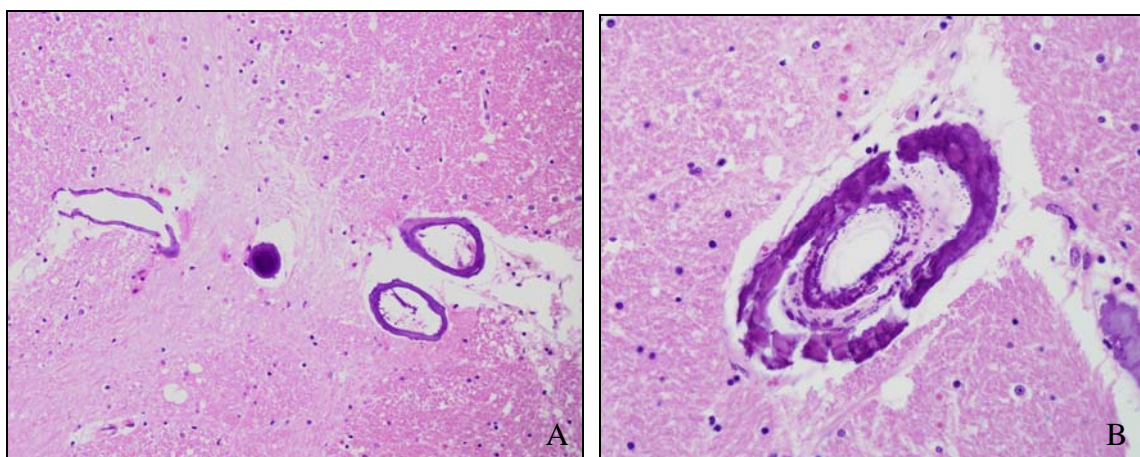
**Figura 27.** Lipofuscina. **Descrição:** é um pigmento granular amarelo-ouro que se acumula no pericário dos neurônios e em seus prolongamentos, bem como no citoplasma de macrófagos. A. Pigmento amarelo-ouro que preenche parcialmente o pericário do neurônio. HE. 40x. B. Núcleo vermelho do mesencéfalo. Na coloração de ácido periódico de Schiff (PAS), lipofuscina aparece como pigmento granular magenta. C. Agregados granulares no pericário do neurônio. PAS. 100x. D. Lipofuscina na neuropila, provavelmente dentro do citoplasma da micróglia. PAS. 100x **Comentário:** lipofuscina caracteriza-se pela fusão de um lisossomo primário e uma vesícula fagocítica e é observada na microscopia de luz como pigmento granular que se deposita no citoplasma das células à medida que o animal vai envelhecendo. Geralmente se deposita em um dos pólos do pericário dos neurônios, mas pode ser observado na neuropila ou no citoplasma de células gliais. A presença desse pigmento na neuropila pode ocorrer pelo processo de exocitose; ou outra teoria plausível é a morte das células gliais que contêm esse pigmento, e após certo tempo, lipofuscina pode ser observada apenas extracelularmente (Jahns et al. 2006a).

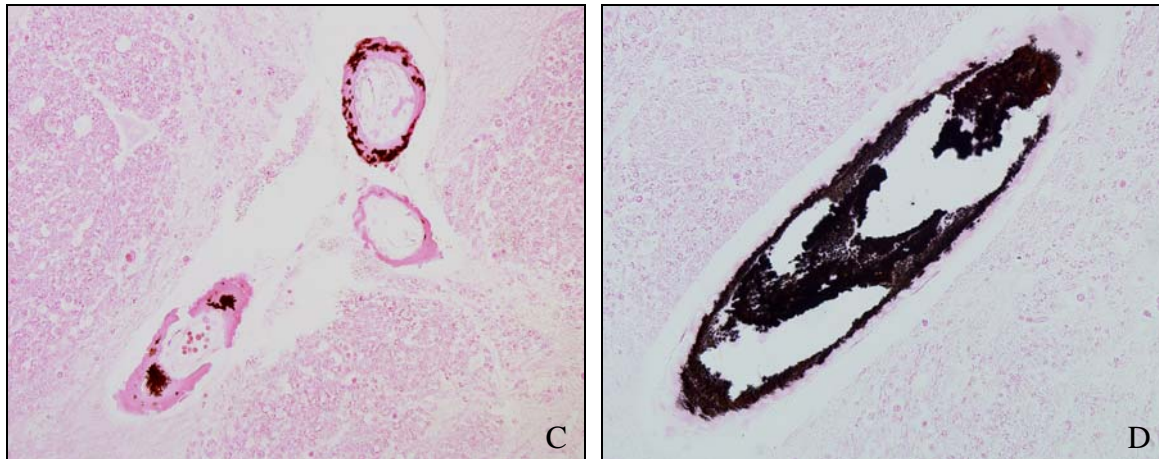
Lipofuscina deve ser diferenciada de hemossiderina (Figura 28), que geralmente se deposita no citoplasma dos macrófagos no espaço perivascular da substância branca. Acredita-se que esse pigmento é decorrente de micro-hemorragias.



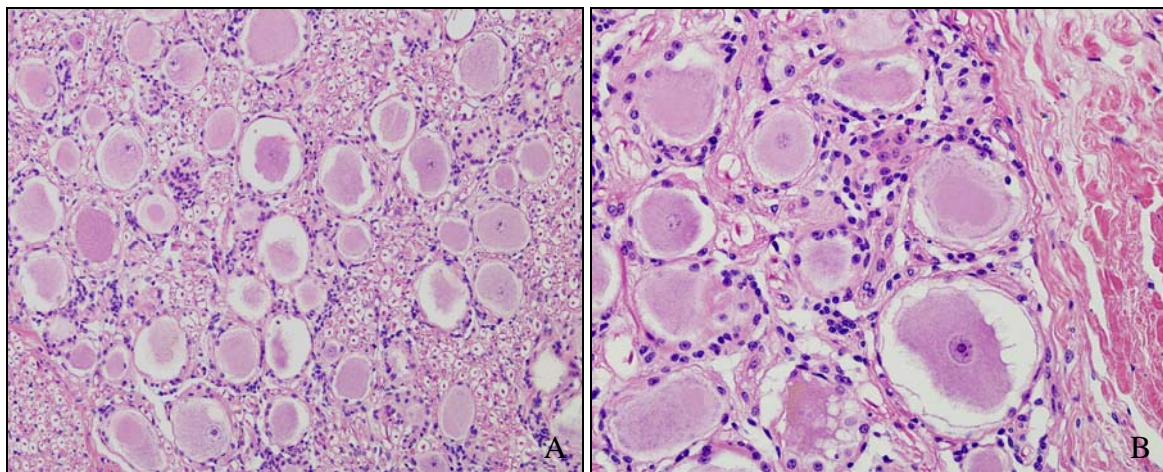
**Figura 28.** Hemossiderina. *Descrição:* hemossiderina é um pigmento intracitoplasmático que se acumula em macrófagos no espaço perivascular. Observe o pigmento marrom-amarelado que preenche o citoplasma de dois macrófagos no espaço perivascular. HE. 40x. *Comentário:* hemossiderina é um pigmento que se origina da degradação de hemoglobina dos eritrócitos e provavelmente seja decorrente de micro-hemorragias, apesar de não se observarem lesões nos vasos (Jahns et al. 2006a). Hemossiderina foi frequentemente encontrada na substância branca do telencéfalo ao redor de pequenos vasos sanguíneos.

Além de lipofuscina, outras alterações podem estar relacionadas à idade, como mineralização (Figura 29) e hialinização dos vasos do encéfalo e das meninges, inclusões neuronais hialinas em grandes neurônios motores (Figura 30), e *corpora amylacea* em processos astrocitários (Figura 31) (Fuller & Burger 1997). A mineralização dos vasos das meninges de gatos e do encéfalo ocorre em bovinos, eqüinos velhos e afeta os vasos do núcleo denteado, globo pálido, cápsula interna e núcleo caudado sem associação com doença vascular generalizada (Hurst 1934, Mandara 2003).

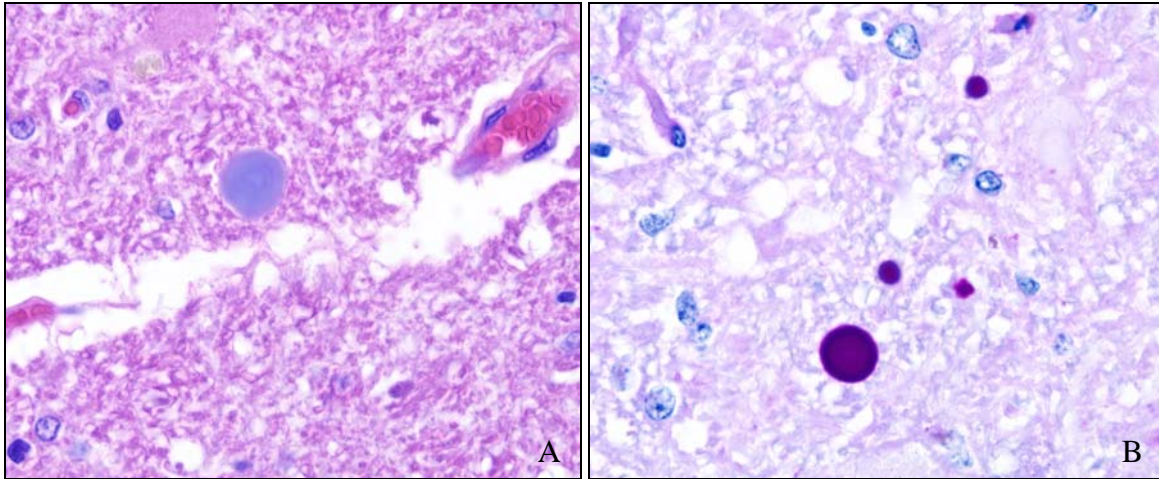




**Figura 29.** Calcificação dos vasos do encéfalo. **Descrição:** mineralização ou calcificação dos vasos do encéfalo aparece como depósitos basofílicos que substituem a parede normal dos vasos. A. Observe os depósitos basofílicos na parede de vasos. Ocasionalmente, a mineralização obstrui parcial ou totalmente a luz do vaso e assume padrão de *corpora amylacea*. HE. 20x. B. Maior aumento de lesão semelhante. HE. 40x. C. Na coloração de Von Kossa, a mineralização aparece como depósitos pretos ou marrons. Observe a fase inicial de depósito de mineral, com depósitos multifocais na média dos vasos. Von Kossa. 20x. D. Maior aumento de lesão semelhante com obstrução parcial do lúmen do vaso. **Comentário:** na maioria das vezes, a mineralização dos vasos não provoca conseqüências clínicas, embora trombose ou isquemia podem ocorrer associadas à lesão. Neste estudo, mineralização dos vasos foi mais freqüente na cápsula interna de bovinos velhos e foi considerado um achado incidental relacionado à idade.

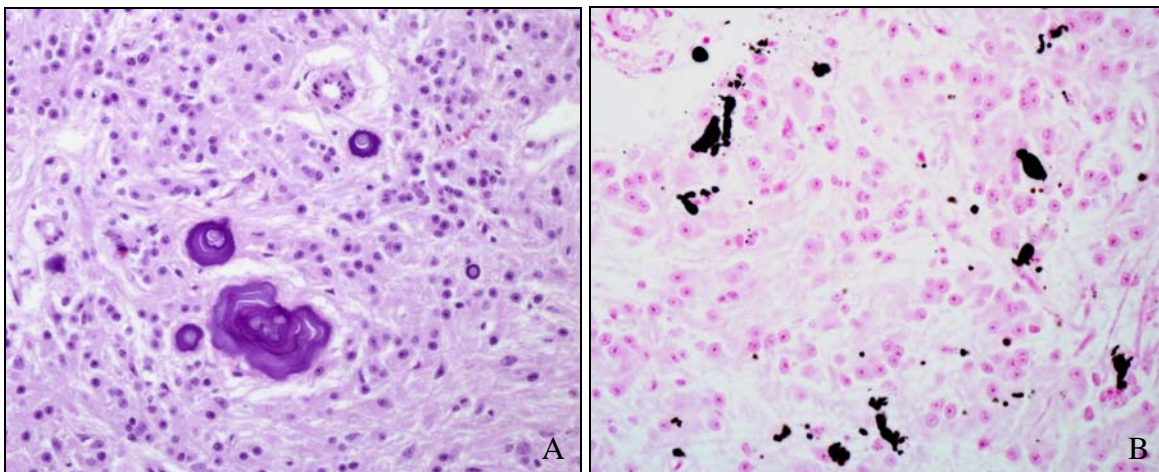


**Figura 30.** Inclusões hialinas em neurônios do gânglio de Gasser. **Descrição:** A. Inclusões hialinas ou colóides circulares no citoplasma de neurônios. HE. 20x. B. Maior aumento de lesão semelhante. HE. 40x. **Comentário:** essas inclusões foram encontradas em um bovino de 16 anos de idade no gânglio de Gasser. Em humanos, inclusões hialinas eosinofílicas semelhantes são observadas no núcleo hipoglossal da medula. Essas inclusões consistem de cisternas dilatadas do retículo endoplasmático e aumentam em número com a idade. Podem ser confundidas com inclusões virais (Fuller & Burger 1997) ou degeneração neuronal.



**Figura 31.** *Corpora amylacea*. **Descrição:** A. Estrutura circular lamelar basofílica de tamanho variável (10 a 30 µm de diâmetro). HE. 100x. B. Estrutura lamelar circular magenta. PAS. 100x. **Comentário:** *corpora amylacea* são corpúsculos poliglucosanos que estão nos processos astrocitários. Devem ser diferenciados de corpúsculos de Lafora que também estão relacionados à idade, mas se localizam no interior dos neurônios, tanto no pericário quanto nos axônios (Summers et al. 1995). Os que se localizam no axônio são difíceis de diferenciar de *corpora amylacea*, porque ambos parecem estar livres na neurópila. Algumas vezes podem ser erroneamente interpretados como fungos, já que tem afinidade pelas mesmas colorações especiais usadas para detectar esses patógenos (Fuller & Burger 1997).

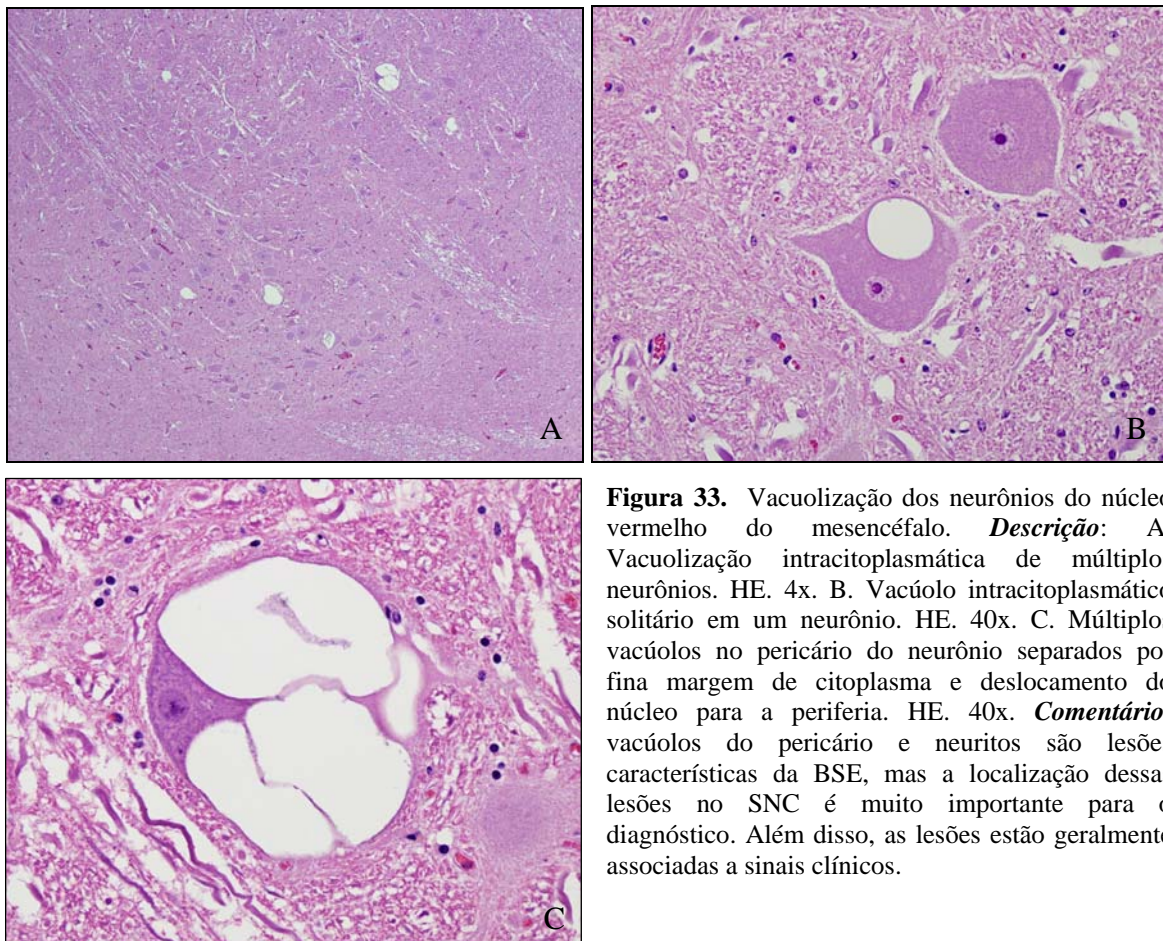
Concreções do corpo pineal podem estar presentes em humanos, bovinos, eqüinos, ovinos, asininos e podem variar de alguns micrômetros até alguns milímetros de diâmetro. Essas concreções são chamadas de areia cerebral ou *corpora arenacea*. São formados por laminações concêntricas e escuras ricas em proteína intercaladas com camadas claras ricas em cálcio (Figura 32) (Vigh et al. 1998).



**Figura 32.** Concreções do órgão pineal. **Descrição:** A. Concreções laminares redondas a ovais, fortemente basofílicas de tamanhos variáveis. HE. 40x. B. Concreções multifocais coradas em preto. Von Kossa. 40x. **Comentário:** as laminações podem corresponder a atividade flutuante da pineal influenciada pela mudança circadiana da intensidade solar. A estrutura mineral é constituída morfológicamente por hidroxapatita e carbonato de apatita, sendo cálcio e fósforo os principais constituintes. As concreções geralmente localizam-se entre as fibras nervosas (axônios), e ocasionalmente dentro de células gliais (Vigh et al. 1998).

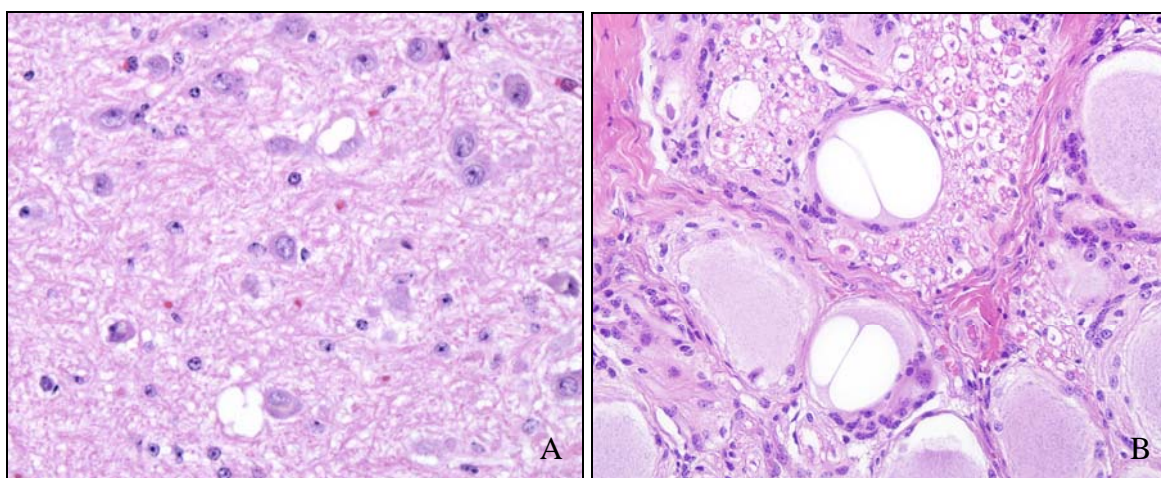
Lesões de pouco significado clínico podem criar confusão com lesões específicas de certas doenças importantes do SNC. Uma delas é a vacuolização do citoplasma dos neurônios do núcleo vermelho do mesencéfalo (Figura 33) que pode ser confundida com lesão de BSE. Deve ser lembrado que apenas a vacuolização neuronal não é diagnóstica para BSE (Wells et al. 1991). As alterações espongiiformes da BSE ocorrem na neurópila e no pericário de neurônios em lugares específicos do tronco encefálico (Wells et al. 1991). No entanto, alterações espongiiformes afetando a neurópila e os corpos neuronais são descritas em casos naturais e experimentais de raiva em gambás, raposas (Charlton et al. 1987), e em um bovino (Foley & Zachary 1995), em filhotes atáxicos de Rottweiler (Jardim et al. 1999), e em cabras com paresia progressiva (Lancaster et al. 1987). Vacuolização neuronal rica em lipídios é observada em guaxinin (*Procyon lotor*) (Hamir & Fischer 1999).

A vacuolização incidental dos neurônios do núcleo vermelho do mesencéfalo é encontrada em 64% dos encéfalos de bovinos adultos normais, mas já foi encontrada em bovinos com 12 meses de idade (Gavier-Widen et al. 2001). Em nosso estudo, a vacuolização desses neurônios foi encontrada em bovinos de oito meses de idade.



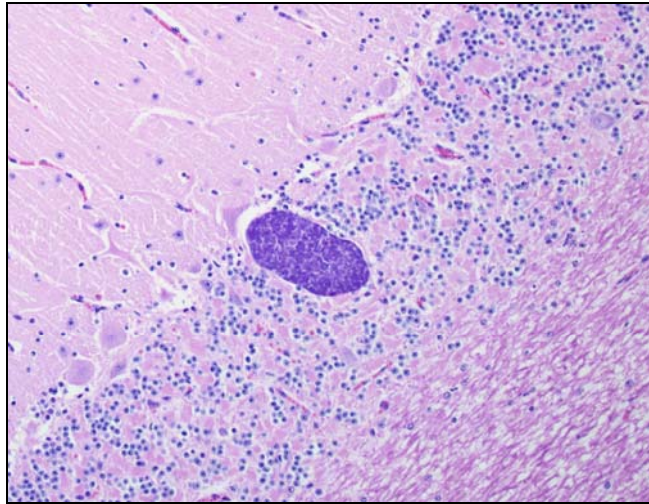
**Figura 33.** Vacuolização dos neurônios do núcleo vermelho do mesencéfalo. **Descrição:** A. Vacuolização intracitoplasmática de múltiplos neurônios. HE. 4x. B. Vacúolo intracitoplasmático solitário em um neurônio. HE. 40x. C. Múltiplos vacúolos no pericário do neurônio separados por fina margem de citoplasma e deslocamento do núcleo para a periferia. HE. 40x. **Comentário:** vacúolos do pericário e neuritos são lesões características da BSE, mas a localização dessas lesões no SNC é muito importante para o diagnóstico. Além disso, as lesões estão geralmente associadas a sinais clínicos.

Vacuolização do pericário de neurônios do núcleo habenular pode ser encontrada em 50% dos encéfalos de bovinos normais (Gavier-Widen et al. 2001). Vacuolização nos neurônios do gânglio de Gasser foi um achado freqüente, tanto em bovinos clinicamente normais (Figura 34) quanto em animais com raiva, no entanto, em maior número (Figura 46). Vacuolização neuronal esporádica é observada em ovinos e caprinos (Hooper 1999), eqüinos (Jahns et al. 2006a) e suínos (Jahns et al. 2006b), geralmente em neurônios do tronco encefálico. Vacuolização neuronal intracitoplasmática idiopática disseminada foi observada em um bovino recém-nascido nos EUA. Numerosos vacúolos foram observados nos núcleos do cerebelo, tronco encefálico e medula espinhal cervical (Hamir et al. 2001).



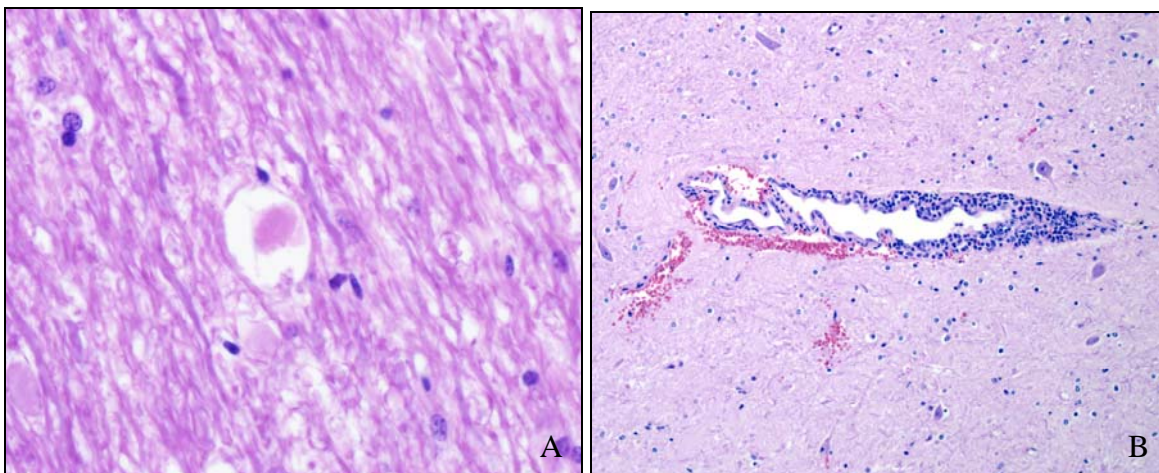
**Figura 34.** Vacúolos intracitoplasmáticos. **Descrição:** A. Núcleo habenular. Múltiplos vacúolos coalescentes no pericário de neurônios que deslocam o núcleo para a periferia. HE. 40x. B. Gânglio de Gasser. Neurônios com vacuolizações intracitoplasmáticas separadas por fina margem de citoplasma. HE. 20x. **Comentário:** neurônios do núcleo habenular são pequenos e a percepção dos vacúolos pode se tornar difícil.

*Sarcocystis* spp. são geralmente encontrados distorcendo miofibras do coração e músculo esquelético e fibras de Purkinje, mas geralmente não incitam qualquer resposta inflamatória. Neste estudo, exemplares de *Sarcocystis* sp. foram encontrados em poucos encéfalos de bovinos analisados (Figura 35). Bovinos se tornam infectados pela ingestão de esporocistos excretados nas fezes dos hospedeiros definitivos (carnívoros, ornívoros) que são infectados pela ingestão de cistos maduros (sarcocistos), geralmente encontrados nos músculos dos hospedeiros intermediários. A infecção por *Sarcocystis* spp. é comum em bovinos e geralmente não produz lesões. Bovinos são hospedeiros intermediários para três espécies: *S. cruzi*, *S. hirsuta* e *S. hominis* (Dubey et al. 1988). *S. cruzi* é altamente patogênico e pode induzir meningoencefalite necrosante com vasculite; *S. hirsuta* e *S. hominis* são levemente patogênicos (Van der Lugt et al. 1994).



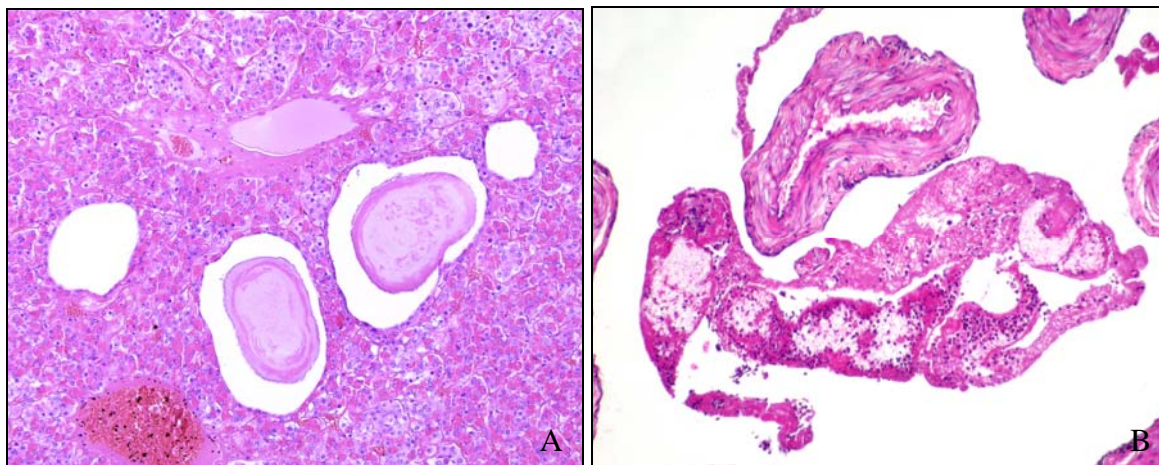
**Figura 35.** Exemplar de *Sarcocystis* sp. **Descrição:** Cisto de *Sarcocystis* sp. na camada de células granulares do cerebelo medindo 100 x 60  $\mu$ m com numerosos zoítos. **Comentário:** *Sarcocystis* sp. não incitam resposta inflamatória porque se localizam dentro de células endoteliais. A ruptura desses cistos pode provocar a formação de pequenos granulomas.

Esferóides axonais podem ser achados incidentais e em bovinos são encontrados nos núcleos vestibular, cuneato e cuneato acessório (Gavier-Widen et al. 2001). Em cães, os esferóides axonais estão relacionados à idade e são encontrados em 50% dos cães com mais de 12 anos (Borras et al. 1999). Manguitos perivascularares podem ser discretos e inespecíficos. Inflamações desse tipo são encontradas em cerca de 30% dos bovinos adultos normais (Gavier-Widen et al. 2001). A causa dessas inflamações é controversa, mas seu significado clínico é nulo (Figura 36).



**Figura 36.** Esferóides axonais e manguitos perivascularares. **Descrição:** A. Esferóide axonal no parênquima neural. HE. 40x. B. Manguito perivascular linfoplasmocitário composto por uma a três camadas de células inflamatórias HE. 10x. **Comentário:** a detecção de poucos esferóides axonais no encéfalo também é um achado incidental comum em cães (Borras et al. 1999), ovinos e caprinos (Hooper 1999), eqüinos (Jahns et al. 2006a) e suínos (Jahns et al. 2006b).

Achados incidentais em estruturas associadas (complexo gânglio de Gasser + *rete mirabile* carotídea + hipófise) também foram observados neste estudo (Rech et al. 2006c). Além de vacúolos esporádicos em neurônios do gânglio de Gasser (Figura 34B), cistos na hipófise e sangue no seio cavernoso da *rete mirabile* carotídea com fibrina e neutrófilos foram outras alterações observadas (Figura 37).

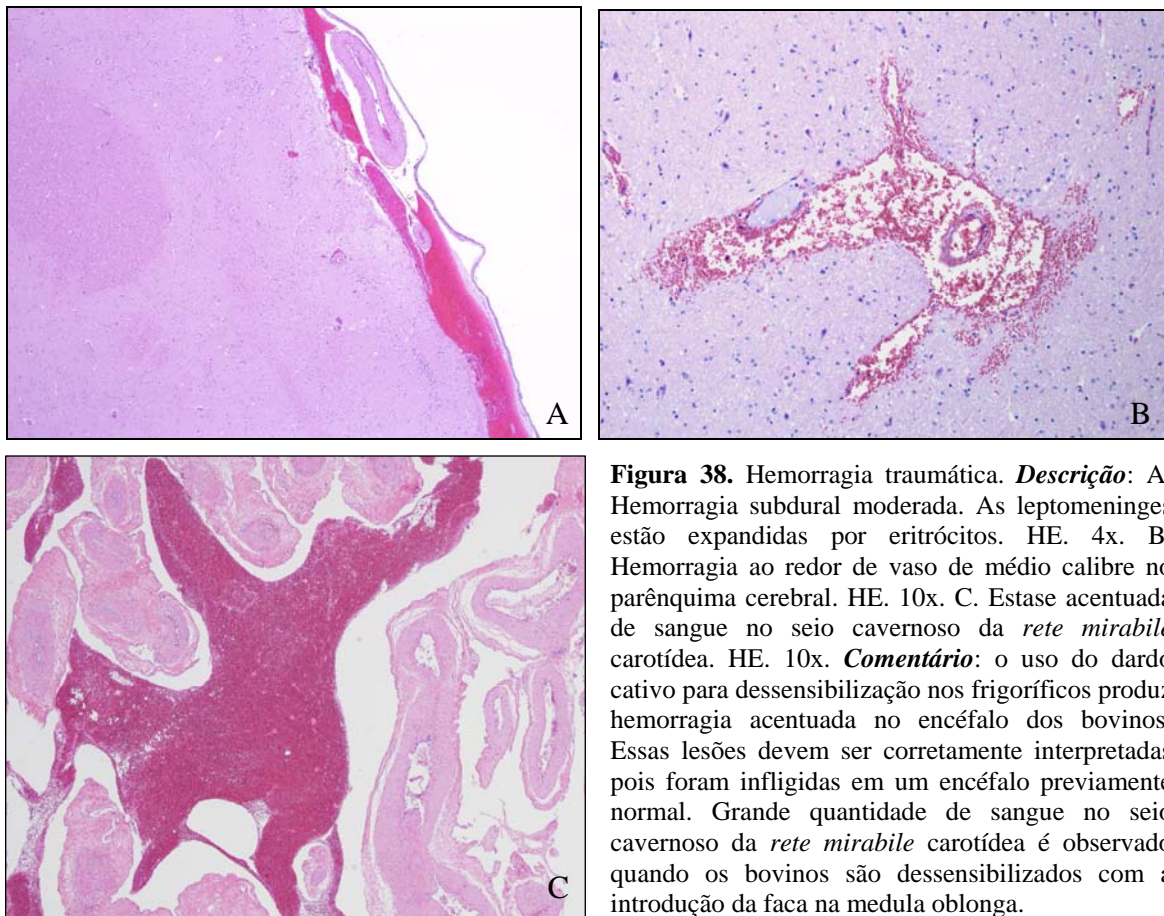


**Figura 37.** Alterações incidentais na hipófise e *rete mirabile* carotídea. **Descrição:** A. Cistos multifocais preenchidos por material eosinofílico homogêneo (colóide) na adenoipófise. HE. 20x. B. Sangue no seio cavernoso com fibrina e neutrófilos. HE. 20x. **Comentário:** cistos na hipófise são achados incidentais em bovinos e eqüinos velhos (Innes & Saunders 1962) e se ocorre acentuada dilatação da cavidade hipofisária ou coalescência dos cistos, eles podem ser observados macroscopicamente. Os agregados de eritrócitos, neutrófilos e fibrina no seio cavernoso ao redor da *rete mirabile* carotídea de bovinos sem lesões no sistema nervoso podem ser explicados pelo fato da lenta dinâmica vascular desse local. Essa alteração deve ser diferenciada de abscessos de pituitária, onde as lesões são mais extensas, rompem a arquitetura normal e atingem o sistema nervoso central.

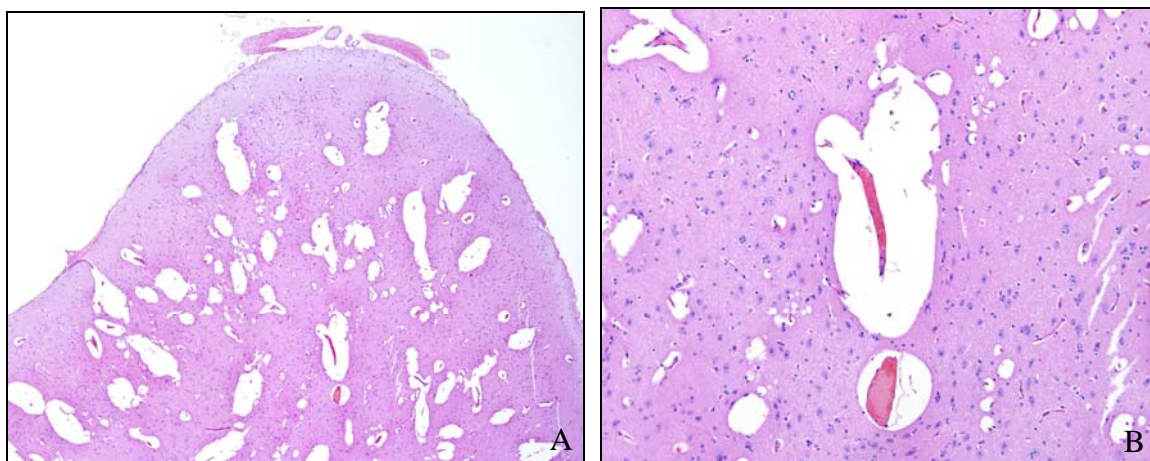
### 3.1.3 Artefatos decorrentes do método de eutanásia, da colheita e fixação do encéfalo

Artefatos decorrentes do método de eutanásia, da colheita e do manuseio do tecido nervoso fresco e do armazenamento inadequado também podem ocorrer e ser interpretados erroneamente como alterações *antemortem* significativas. Na maioria das vezes, essas alterações não são observadas macroscopicamente. Artefatos decorrentes do método de eutanásia incluem hemorragia subdural e no parênquima e estase sangüínea no seio cavernoso da *rete mirabile* carotídea (Figura 38) e acentuada distensão perivascular causada por aspiração de ar (Figura 39). Essas duas alterações já foram mencionadas no exame macroscópico desta seção (Figuras 9 e 10 respectivamente).



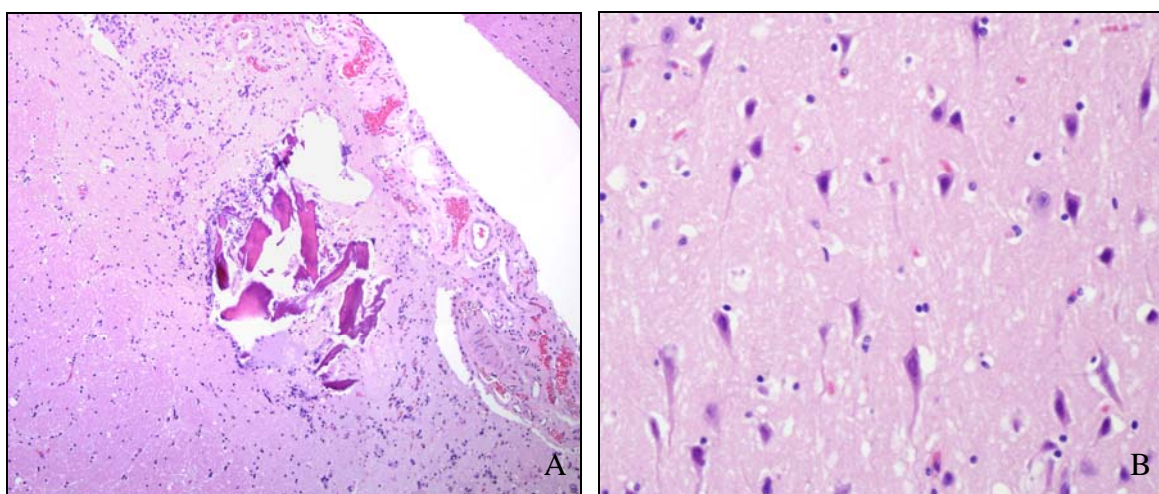


**Figura 38.** Hemorragia traumática. **Descrição:** A. Hemorragia subdural moderada. As leptomeninges estão expandidas por eritrócitos. HE. 4x. B. Hemorragia ao redor de vaso de médio calibre no parênquima cerebral. HE. 10x. C. Estase acentuada de sangue no seio cavernoso da *rete mirabile* carotídea. HE. 10x. **Comentário:** o uso do dardo cativo para dessensibilização nos frigoríficos produz hemorragia acentuada no encéfalo dos bovinos. Essas lesões devem ser corretamente interpretadas pois foram infligidas em um encéfalo previamente normal. Grande quantidade de sangue no seio cavernoso da *rete mirabile* carotídea é observado quando os bovinos são dessensibilizados com a introdução da faca na medula oblonga.

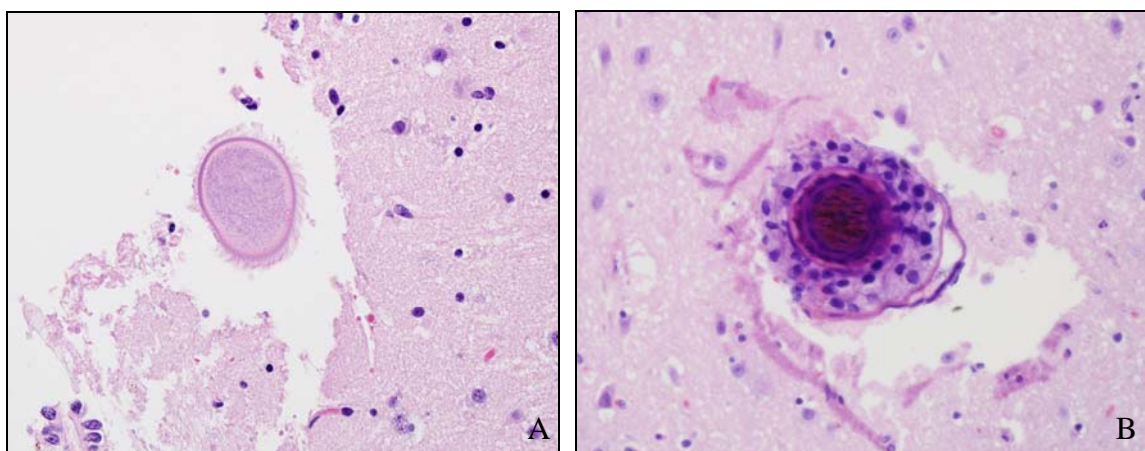


**Figura 39.** Distensão dos espaços perivasculares causada por aspiração de ar. **Descrição:** A. Córtex telencefálico. Acentuada distensão dos espaços perivasculares. HE. 4x. B. Maior aumento de A. HE. 20x. **Comentário:** apesar de em menor aumento essa lesão ser caracterizada por alteração espongiiforme, a vacuolização é localizada ao redor dos espaços de Virchow-Robin. O aspecto macroscópico desta alteração pode ser observado na **Figura 10**.

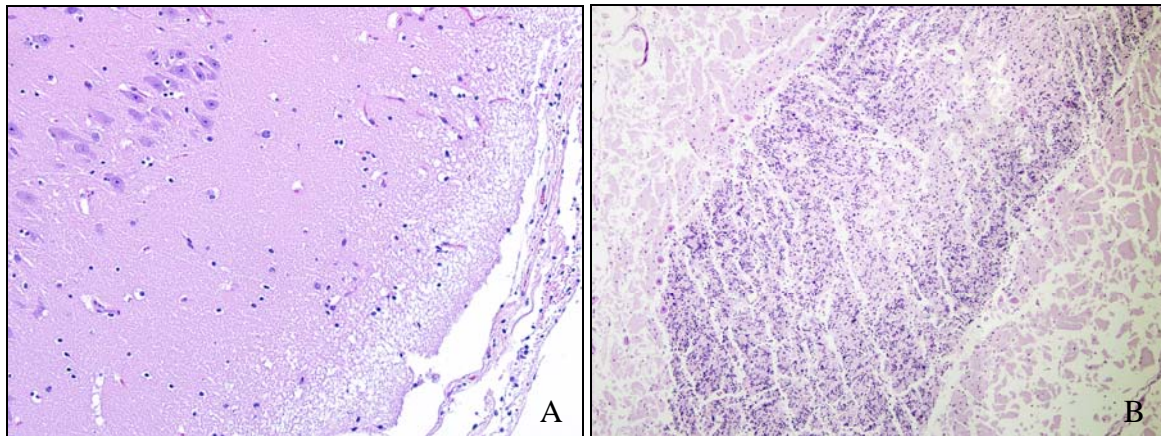
Artefatos relacionados à colheita e manuseio do encéfalo antes da fixação e durante a fixação incluem partículas ósseas que contaminam o tecido nervoso quando se retira a calota craniana com serra e que podem mimetizar mineralização patológica, neurônios escuros (neurônios de Cammermeyer) que se formam pelo excessivo manuseio do encéfalo antes da fixação (Figura 40), e aglomerados de microrganismos contaminantes por ocasião da fixação do material ou confecção de lâminas que podem causar complicação quando são sobrepostos ao tecido nervoso (Figura 41), principalmente em reações inflamatórias. Fendas lineares no tecido nervoso são produzidas por cristais que se formam pelo congelamento do tecido nervoso (Figura 42) (Summers et al. 1995).



**Figura 40.** Artefatos relacionados à colheita e manuseio do encéfalo. **Descrição:** A. Acúmulo focal de fragmentos ósseos no tecido nervoso. HE. 10x. B. Córtex telencefálico. Múltiplos neurônios estão encolhidos com o citoplasma basofílico e núcleo levemente picnótico. HE. 40x. **Comentário:** neurônios de Cammermeyer devem ser diferenciados de neurônios vermelhos (Figura 47) que apresentam o citoplasma eosinofílico.



**Figura 41.** Microrganismos ectópicos no tecido nervoso. **Descrição:** A. Protozoário do rúmen na superfície do telencefalo. HE. 20x. B. Córtex telencefálico. Corte transversal de fragmento de pêlo. HE. 40x. **Comentário:** microrganismos ectópicos são adquiridos no momento da fixação do encéfalo ou na hora da confecção da lâmina. Não há reação inflamatória associada a essas estruturas.



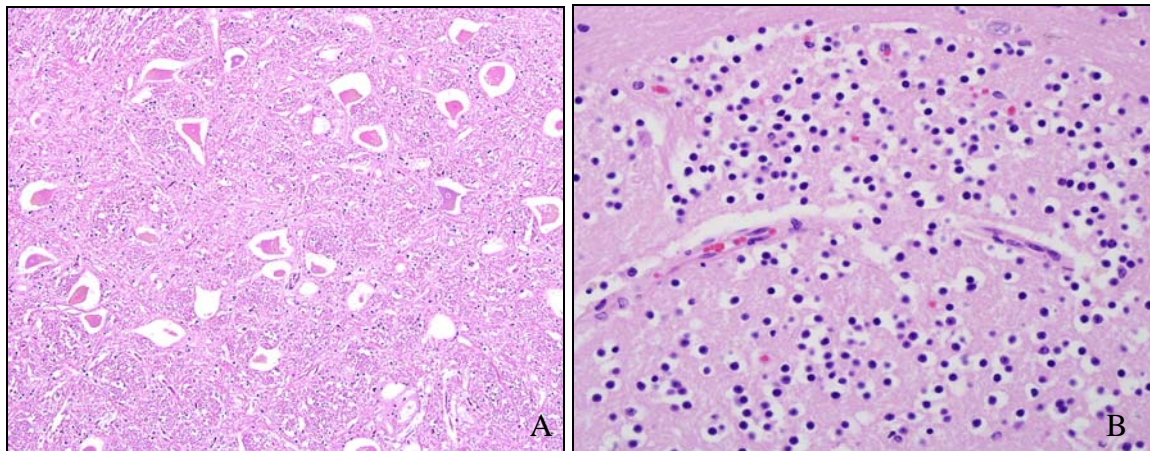
**Figura 42.** Artefatos relacionados à fixação do encéfalo. **Descrição:** A. Aspecto linear finamente vacuolar da superfície do telencéfalo logo abaixo das leptomeninges. HE. 20x. B. Cerebelo. O tecido nervoso apresenta aspecto quebradiço com fendas lineares entrecruzadas. HE. 10x. **Comentário:** o aspecto linear nas margens do encéfalo é um artefato normalmente encontrado em encéfalos corretamente fixados e é decorrente de diferenças de pressão osmótica entre o formol e o tecido nervoso. Fendas lineares são provocadas pela congelação do encéfalo antes de fixá-lo em formol.

### 3.1.4 Autólise

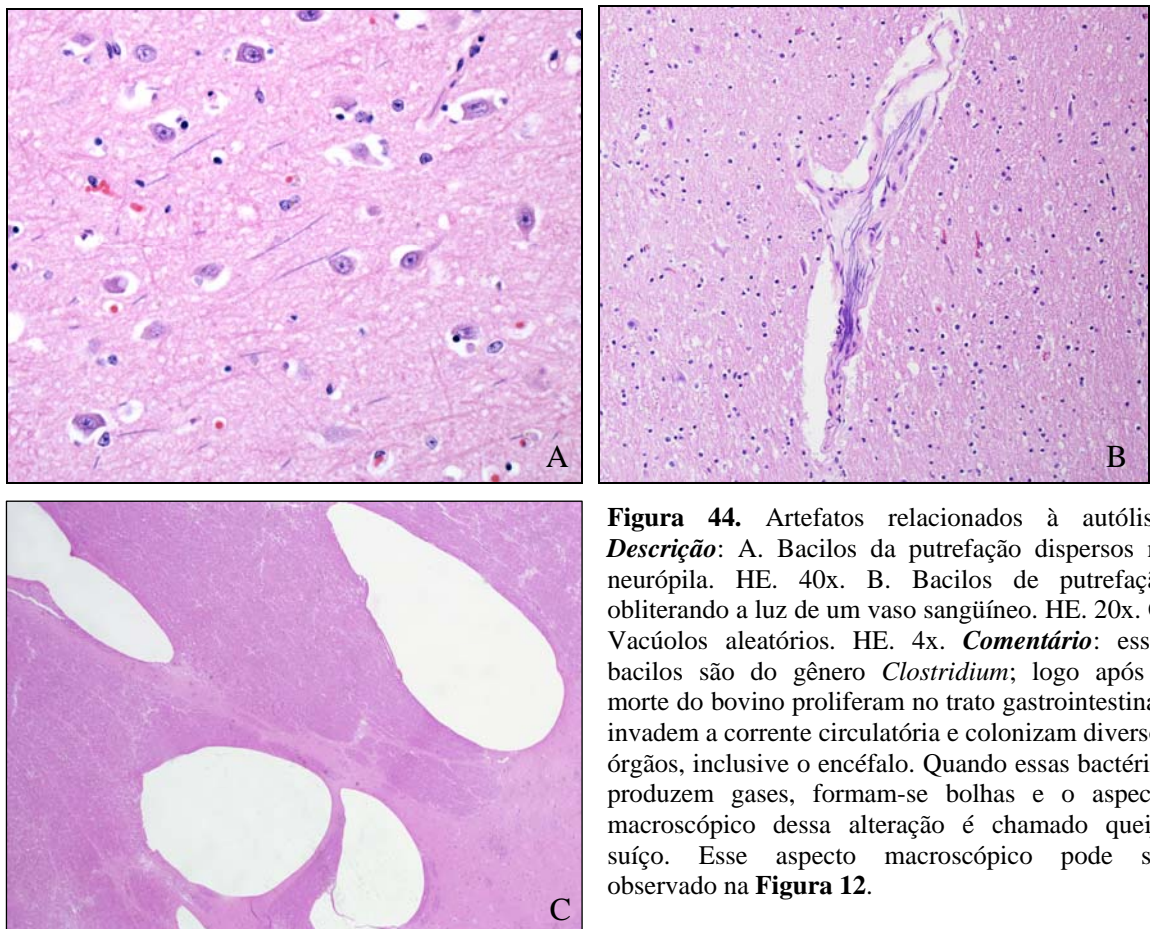
Quando o patologista recebe o encéfalo para ser examinado no laboratório, na maioria das vezes não há dados sobre o tempo decorrido entre a morte do bovino e a realização da necropsia e fixação do material. O encéfalo é um órgão relativamente resistente ao processo autolítico, quando comparado com órgãos da cavidade abdominal. A autólise no SNC pode simular lesões associadas a doenças e confundir o patologista. No entanto, alguns artefatos observados quando o encéfalo não foi imediatamente fixado em formol após a morte, devem ser diferenciados de lesões *antemortem*. A seguir serão apresentados os artefatos relacionados à autólise comumente observados no encéfalo de bovinos.

A autólise da substância cinzenta pode simular lesões de trauma, e alterações vacuolares na mielina podem mimetizar edema intramielínico ou degeneração walleriana (Summers et al. 1995). Halos ao redor do pericário de neurônios, oligodendrócitos e pequenos vasos são achados comuns em encéfalos autolisados (Figura 43). Em associação com esses artefatos, as células gliais tornam-se pequenas e hiper cromáticas, e podem ser observados bacilos da putrefação no interior dos vasos e dispersos no tecido nervoso. Algumas vezes, essas bactérias produzem gases que distendem o tecido nervoso e formam grandes vacúolos multifocais aleatórios (Figura 44). Outro artefato relacionado com o

processo autolítico é a clivagem das camadas do cerebelo, entre as camadas de células de Purkinje e de células granulares (Summers et al. 1995).

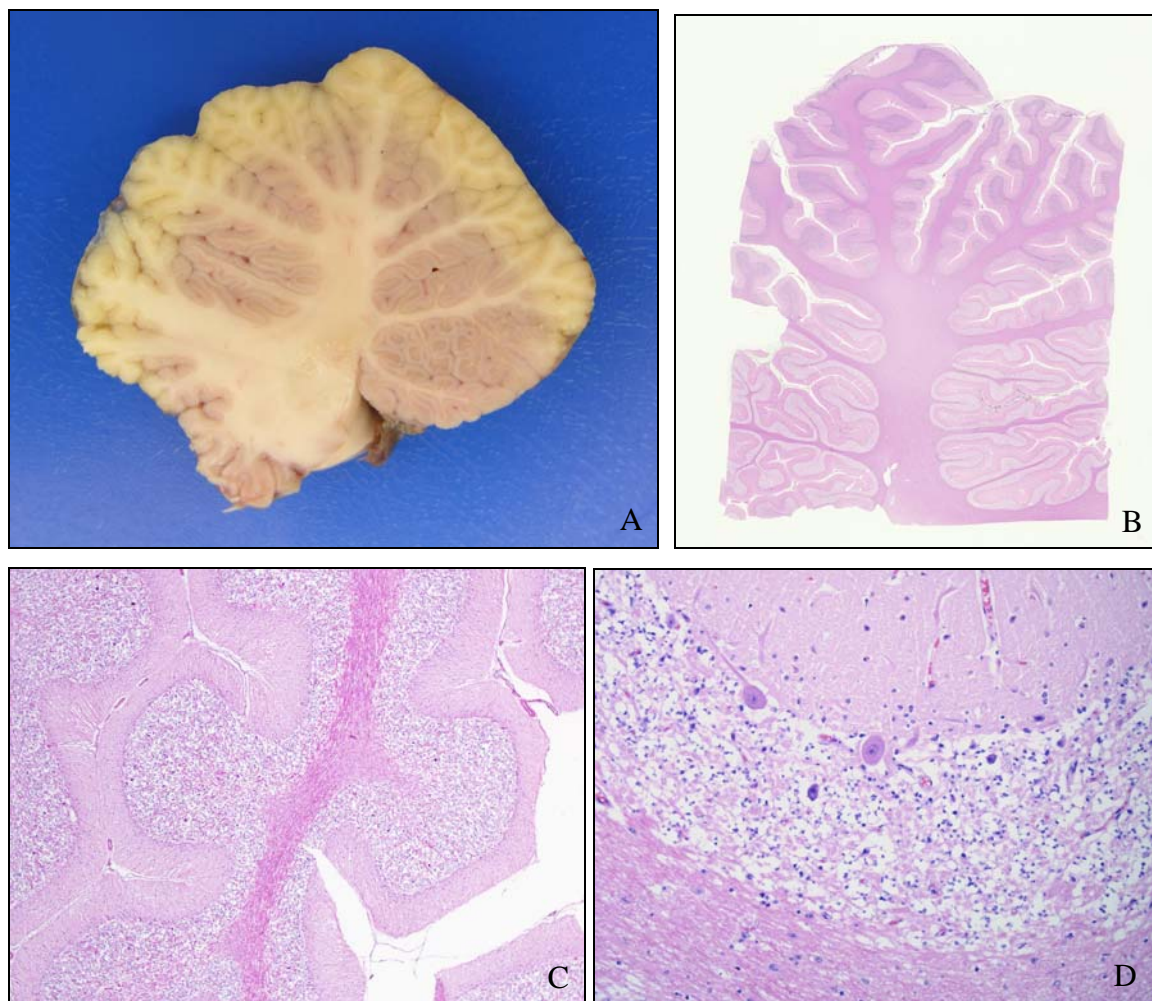


**Figura 43.** Artefatos relacionados à autólise. **Descrição:** A. Halos perineuronais. HE. 10x. B. Halos ao redor de oligodendrócitos. HE. 40x. **Comentário:** halos perineuronais, perivascularares e perigliais provocados por autólise não devem ser confundidos com edema.



**Figura 44.** Artefatos relacionados à autólise. **Descrição:** A. Bacilos da putrefação dispersos na neurópila. HE. 40x. B. Bacilos de putrefação obliterando a luz de um vaso sanguíneo. HE. 20x. C. Vacúolos aleatórios. HE. 4x. **Comentário:** esses bacilos são do gênero *Clostridium*; logo após a morte do bovino proliferam no trato gastrointestinal, invadem a corrente circulatória e colonizam diversos órgãos, inclusive o encéfalo. Quando essas bactérias produzem gases, formam-se bolhas e o aspecto macroscópico dessa alteração é chamado queijo suíço. Esse aspecto macroscópico pode ser observado na **Figura 12**.

A autólise da camada de células granulares do cerebello é um artefato observado somente em bovídeos e humanos (Summers et al. 1995, Fuller & Burger 1997). Também é chamada de conglutinação cerebelar ou *état glacé* e aparece como uma área pálida na camada de células granulares; em maior aumento, percebe-se a dissolução dos neurônios granulares, com preservação das células de Purkinje (Figura 45). É considerado um fenômeno *postmortem* que está relacionado com pH baixo no tecido nervoso em autólise. A acidez tecidual está diretamente relacionada à duração do processo de morte (Albrechtsen 1977).



**Figura 45.** Artefatos relacionados à autólise. Cerebello. **Descrição:** A. Aspecto macroscópico. A região periférica das folhas cerebelares está fixada (amarela), ao contrário da porção interna que está parcialmente fixada (rósea-clara). B. Aspecto submacroscópico. Palidez das porções profundas das folhas cerebelares. HE. C. Rarefação da camada de células granulares. HE. 10x. D. Dissolução das células da camada de células granulares com preservação das células de Purkinje. HE. 40x. **Comentário:** conglutinação cerebelar já foi descrita como lesão *antemortem* significativa.

## 4. Neurocitopatologia

A correta descrição das lesões observadas no SNC de bovinos exige o conhecimento de termos específicos usados em neuropatologia. Alterações a serem reconhecidas incluem: cromatólise neuronal, neurônios vermelhos, vacuolização do pericário associada com doenças de depósito lisossomal, inclusões intracitoplasmáticas ou intranucleares, vacúolos intracitoplasmáticos, esferóides axonais, degeneração walleriana, gliose, astrocitose, astrogliose, astrócitos Alzheimer tipo 2, gemistócitos, microgliose, nódulos gliais, satelitose, neuronofagia, células *gitter*, manguitos perivasculares, congestão, vasculite, tumefação endotelial, edema, degeneração esponjosa ou *status spongiosus*. Esses termos serão discutidos à medida que fotos das lesões específicas são apresentadas.

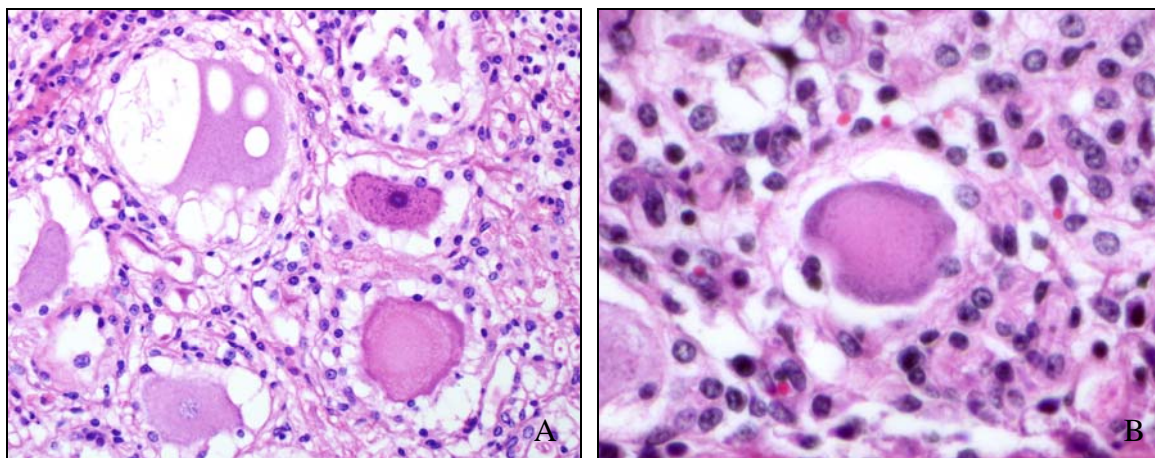
A seguir serão ilustradas as lesões microscópicas ligadas a doenças observadas durante os 5 anos de vigilância epidemiológica para BSE em bovinos no LPV/UFSM. As lesões serão correlacionadas com as doenças do SNC diagnosticadas no Brasil. É importante salientar que o correto diagnóstico de uma doença em um rebanho, depende algumas vezes do conjunto de dados epidemiológicos, dos sinais clínicos, dos achados de necropsia e da histopatologia, algumas vezes associados com exames complementares (toxicológicos, virológicos, bacteriológicos). A descrição das doenças que afetam o SNC de bovinos no Brasil pode ser encontrada em uma revisão recente sobre o assunto (Barros et al. 2006a).

### 4.1 Reação dos neurônios à lesão

As células do SNC variam em susceptibilidade à lesão (neurônios > oligodendrócitos > astrócitos > micróglia > vasos sanguíneos). Os neurônios são mais sensíveis à lesão porque têm pequena quantidade de energia e alta taxa metabólica; dependem de um fluxo sanguíneo intacto para supri-los com oxigênio e nutrientes (Zachary 2007). As reações dos neurônios à lesão incluem degeneração e morte celular e reações associadas com a reparação depois da lesão. As principais lesões incluem: cromatólise, alteração isquêmica (neurônios vermelhos), aumento de volume e vacuolização do pericário associada com doenças de depósito lisossomal, inclusões

intracitoplasmáticas ou intranucleares e vacúolos intracitoplasmáticos. Lesões neuronais geralmente são acompanhadas de outras alterações no parênquima.

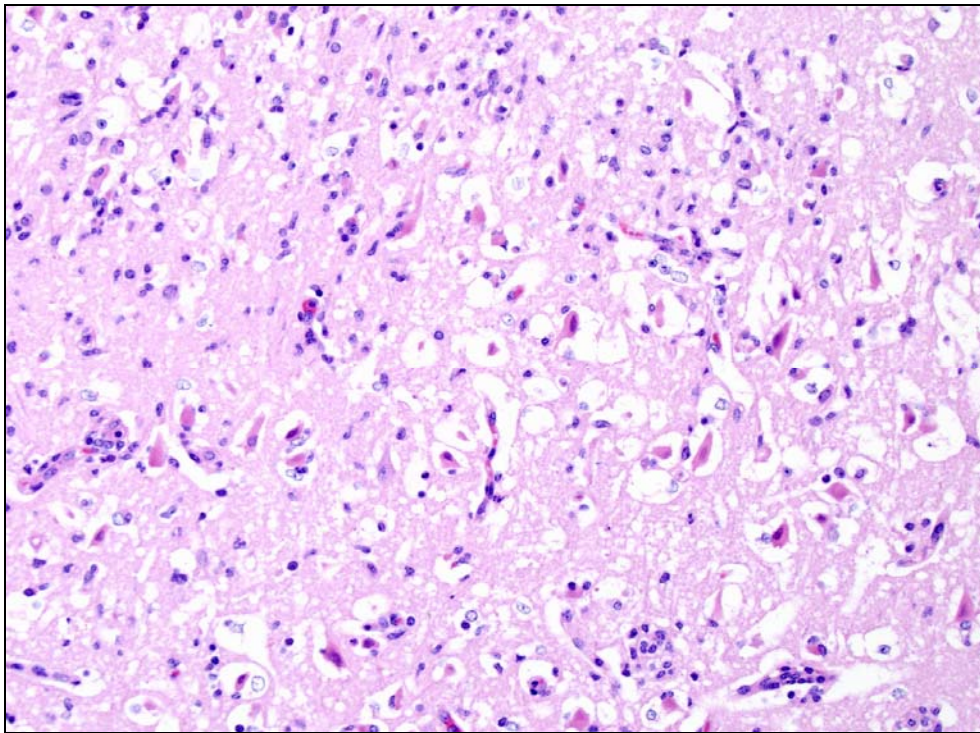
Cromatólise é uma reação vista em neurônios caracterizada por aumento de volume e arredondamento do citoplasma, deslocamento do núcleo para a periferia e dispersão da substância de Nissl. A cromatólise pode ser central ou periférica. Cromatólise central é a forma mais comum e caracteriza-se por dispersão da substância de Nissl do centro para a periferia (Figura 46). Essa reação é observada em neurônios secundária à lesão axonal (reação retrógrada) ou por lesão direta ao neurônio (como ocorre na raiva e outras doenças).



**Figura 46.** Cromatólise central de neurônio do gânglio de Gasser. Raiva. **Descrição:** A. Observe o aumento de volume e arredondamento do citoplasma do neurônio e a localização da substância de Nissl na periferia do pericário. HE. 20x. B. Lesão semelhante em maior aumento. HE. 40x. **Comentário:** cromatólise central foi observada no gânglio de Gasser em casos de raiva. Foi considerada uma lesão degenerativa que precede a morte neuronal. Intoxicação por *Aspergillus clavatus* produz cromatólise dos neurônios do tronco encefálico, geralmente associada com vacuolização.

Neurônios vermelhos são considerados lesão neuronal aguda e secundária à hipóxia aguda do SNC de diversas causas. São evidentes em preparações histológicas coradas por H&E, cerca de 12-24 horas após um insulto hipóxico irreversível. Histologicamente neurônios vermelhos são menores, angulares, hipereosinofílicos, e com cariopcnose (Figura 47). Geralmente neurônios vermelhos localizam-se no córtex telencefálico, pois são os neurônios mais suscetíveis à anóxia. Como os neurônios no córtex telencefálico dispõem-se em lâminas e como muitas vezes lâminas de neurônios são afetadas, enquanto outras são poupadas, esse padrão é denominado necrose laminar. O padrão de necrose laminar algumas vezes pode ajudar na determinação da etiologia. Por exemplo, em casos de polioencefalomalacia, a lesão ocorre em porções profundas do

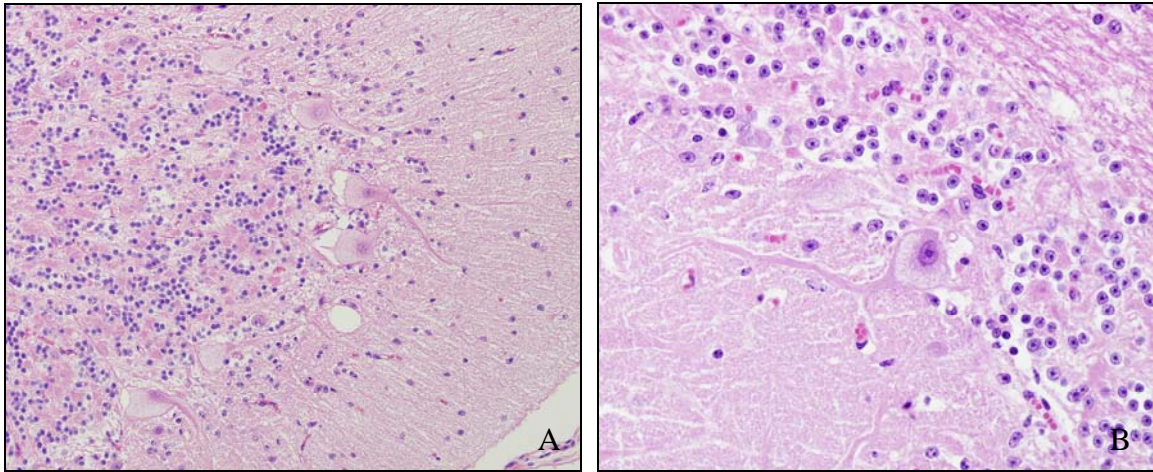
córtex telencefálico. Mesmo assim, a epidemiologia e outros achados microscópicos são essenciais para a realização do diagnóstico. Neurônios vermelhos estão associados a outras alterações na neurópila e incluem hipertrofia do endotélio e edema perivascular e perineuronal (espongiose).



**Figura 47.** Neurônios vermelhos no córtex telencefálico. Meningoencefalite por herpesvírus bovino-5 (BoHV-5). **Descrição:** os neurônios desta área apresentam o citoplasma angular, hipereosinofílico, desaparecimento da substância de Nissl e núcleo picnótico. Observa-se também edema perivascular e perineuronal (espongiose) e tumefação do endotélio vascular. HE. 10x. **Comentário:** Doenças de bovinos no Brasil em que neurônios vermelhos ocorrem caracteristicamente incluem casos agudos de polioencefalomalacia por diversas causas como deficiência de tiamina, intoxicação por enxofre, intoxicação por sal, mudanças bruscas na alimentação de pasto ruim para excelente e intoxicação por chumbo. Sem dúvida, a causa mais freqüente dessa alteração é meningoencefalite por BoHV-5. As causas de polioencefalomalacia ainda estão sendo investigadas no Brasil, pois acredita-se que, na maioria das vezes, difiram das causas dessa doença em outros países.

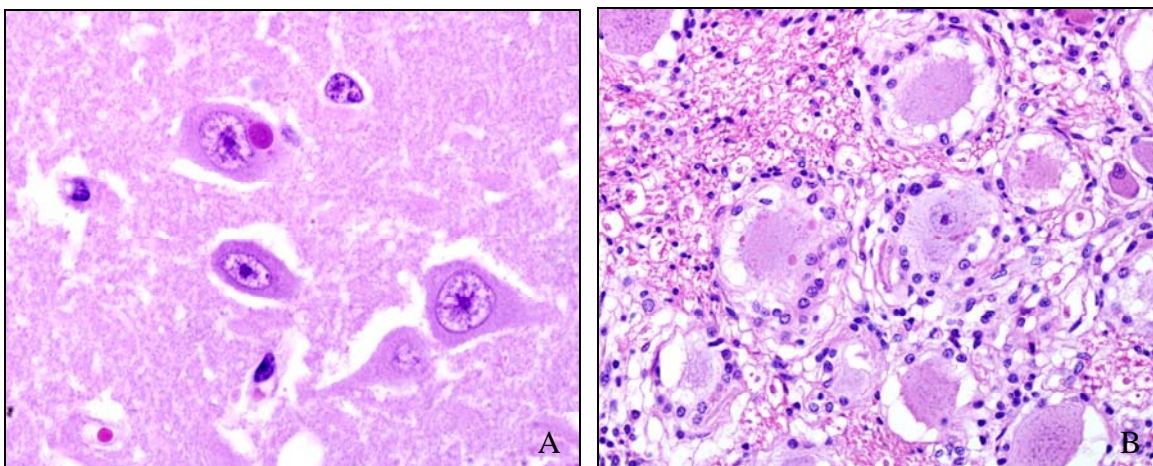
Vacuolização neuronal associada a depósitos citoplasmáticos anormais ocorre devido a alterações subcelulares nas organelas neuronais. Em bovinos, as mais comuns estão relacionadas ao acúmulo de substratos não-metabolizados nos lisossomos, as chamadas doenças de depósito lisossomal que podem ser hereditárias ou adquiridas (Jolly & Wakley 1997). No Brasil, a forma mais comum em bovinos é a adquirida e ocorre devido à ingestão de plantas tóxicas (Figura 48).

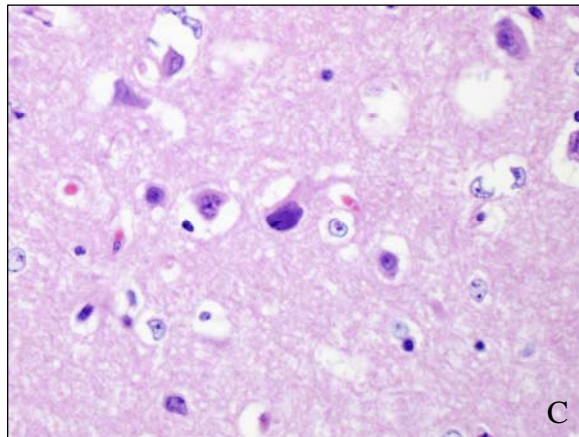




**Figura 48.** Vacuolização neuronal. Intoxicação por *Solanum fastigiatum*. **Descrição:** A. Todos os neurônios de Purkinje estão tumefeitos e com fina vacuolização do pericário e deslocamento do núcleo para a periferia. HE. 20x. B. Lesão semelhante em maior aumento. HE. 40x. **Comentário:** *Solanum fastigiatum* é uma planta tóxica encontrada no sul do Brasil e induz neurolipidose em bovinos. A vacuolização é confinada às células de Purkinje. Esferóides axonais podem ser observados na camada de células granulares e na substância branca do cerebelo (Figura 51). No Brasil, doença de depósito lisossomal induzida pela ingestão de outras plantas tóxicas em bovinos incluem as manosidoses causadas por *Ipomoea carnea* subsp. *fistulosa* (região Nordeste) e *Sida carpinifolia* (região Sul) e lipofuscinoses causadas por *Phalaris angusta* (região Sul). Com exceção de *Solanum fastigiatum*, em todas as outras intoxicações, vacuolização ocorre em outras partes do encéfalo e em outros órgãos. *Prosopis juliflora* (região Nordeste) também provoca vacuolização neuronal em núcleos do tronco encefálico, mas essa planta não é causa de doença de depósito lisossomal.

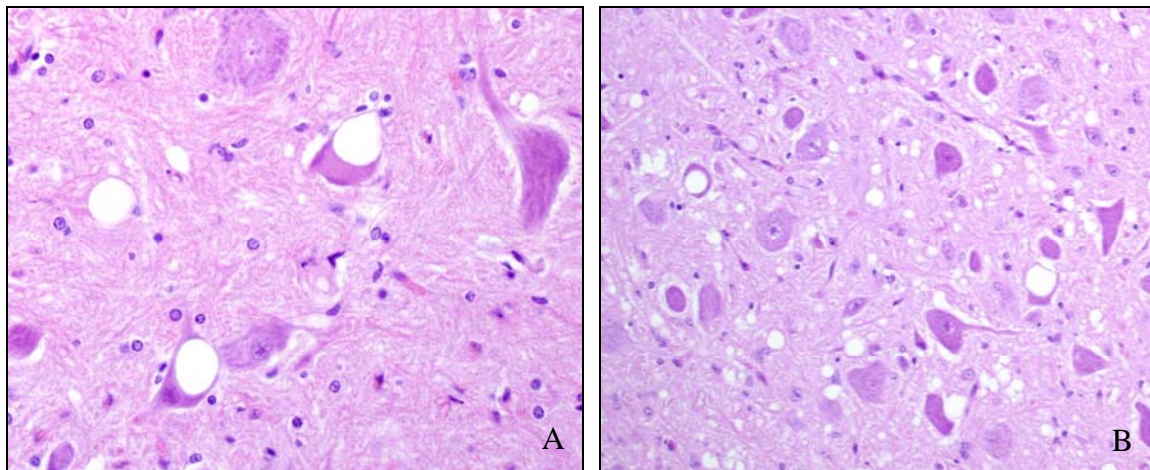
Inclusões neuronais na maioria das vezes são características de infecções virais, e podem definir o diagnóstico de certas doenças. A mais conhecida das inclusões virais é o corpúsculo de Negri, característico de casos de raiva; é redondo ou oval, eosinofílico e intracitoplasmático com dimensões variáveis. Inclusões causadas por herpesvírus são intranucleares basofílicas (Figura 49). Inclusões intracitoplasmáticas eosinofílicas não-virais ocorrem como achado incidental (Figura 30) em encéfalos normais e são bem descritos em neurônios em humanos.





**Figura 49.** Inclusões neuronais. **Descrição:** A. Corpúsculo de inclusão (CI) intracitoplasmático eosinofílico com 10  $\mu\text{m}$  de diâmetro no neurônio do córtex telencefálico (corpúsculo de Negri) em um bovino com raiva. HE. 40x. Há mais três pequenos CI com 1  $\mu\text{m}$  de diâmetro ao lado dele. B. Corpúsculos de Negri nos neurônios do gânglio de Gasser. Observe múltiplos CI intracitoplasmáticos eosinofílicos em contraste com a substância de Nissl que é basofílica. C. CI intranuclear basofílico em um caso de meningoencefalite por herpesvírus bovino-5 (BoHV-5). **Comentário:** CI eosinofílico intracitoplasmático e basofílico intranuclear definem o diagnóstico, respectivamente de raiva e meningoencefalite por BoHV-5.

Vacúolos intracitoplasmáticos associados a doença são característicos das encefalopatias espongiformes transmissíveis (BSE, *scrapie*). Esses vacúolos são simétricos e bilaterais e localizam-se em certas regiões da substância cinzenta do tronco encefálico e podem ser encontrados no pericário ou neurópila. No último caso, são decorrentes da alteração espongiforme nos processos neuronais (Figura 50). No Brasil, não há casos registrados de BSE, mas há 18 casos diagnosticados de *scrapie* e as fotografias apresentadas a seguir são de casos de *scrapie*, devido à similaridade das lesões.



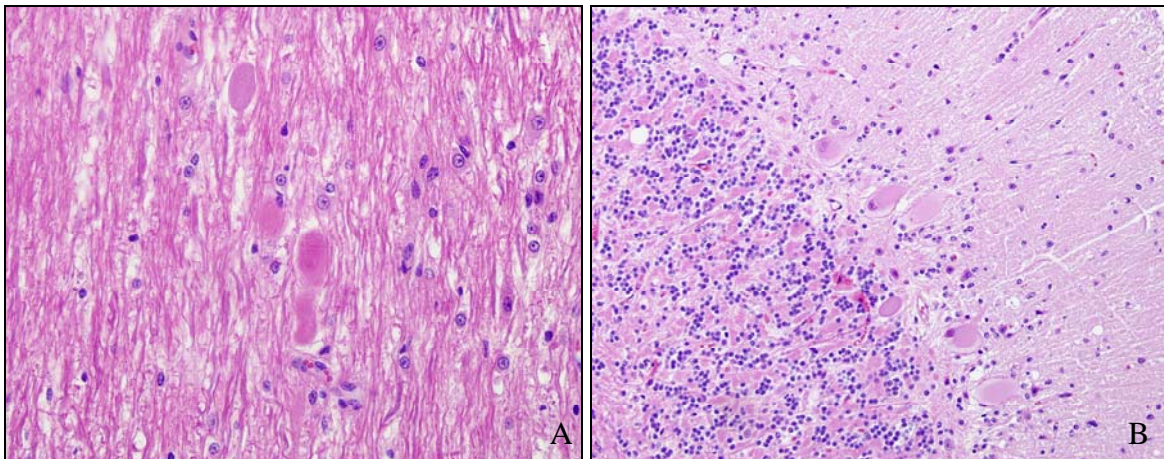
**Figura 50.** Vacuolização neuronal em um caso de *scrapie*. **Descrição:** A. Vacuolização no pericário de dois neurônios, que se tornaram balonosos e conservam apenas uma fina margem de citoplasma. HE. 40x. B. Vacuolização no pericário de neurônios e na neurópila (alteração espongiforme). HE. 20x. **Comentário:** a distribuição das vacuolizações na BSE é bastante regular e ocorre principalmente no núcleo do trato solitário, no trato espinhal do nervo trigêmeo, no núcleo vestibular, na formação reticular do bulbo, na substância cinzenta periaquedutal do mesencéfalo, na área paraventricular do tálamo e no septo talâmico. No Brasil, o diagnóstico histológico é confirmado por imunistoquímica.

Neste estudo, vacuolização de neurônios do gânglio de Gasser foi um achado frequente em casos de raiva (Rech et al. 2006c).

## 4.2 Alterações nos axônios

O axônio é a extensão eferente do neurônio; não possui ribossomos e depende do pericário para o transporte de materiais, que é feito ativamente. Esse transporte ocorre tanto do pericário para a porção terminal do axônio, quanto no sentido contrário. Há dois tipos principais de reações à injúria observadas nos axônios: esferóides e degeneração walleriana.

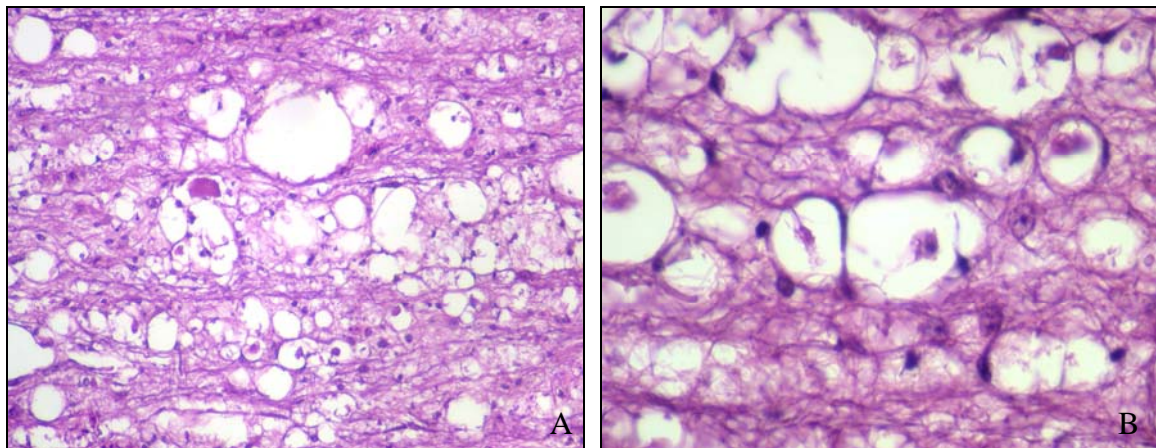
Esferóides são distensões axonais focais contendo organelas degeneradas, caracterizadas microscopicamente por estruturas eosinofílicas, ovais ou circulares que podem ser observados na periferia de infartos, em doenças com lesão neuronal como doenças de depósito lisossomal (Figura 51), na deficiência de vitamina E, em áreas de injúria produzidos por parasitas, em locais de compressão da medula espinhal e com a idade. Torpedo é uma denominação específica usada para esferóides axonais localizados na porção proximal dos axônios das células de Purkinje, na camada de células granulares.



**Figura 51.** Esferóides axonais. Intoxicação por *Solanum fastigiatum* (doença de depósito lisossomal). **Descrição:** A. Observam-se duas estruturas eosinofílicas ovais (esferóides) no parênquima neural. HE. 40x. B. Observe a presença de estrutura eosinofílica fusiforme na camada de células granulares, próximo aos neurônios de Purkinje. Essa estrutura é denominada torpedo. HE. 20x. **Comentário:** em casos de intoxicação por *Solanum fastigiatum*, esferóides axonais ocorrem devido à degeneração do pericário que prejudica o transporte de substâncias entre o pericário e o axônio. Esferóides axonais podem ser observados tanto na camada de células granulares quanto na substância branca medular do cerebelo.

Quando um axônio é interrompido, sua parte distal necrosa e o termo utilizado para essa alteração chama-se degeneração walleriana. Em 1850, Augustus Volney Waller descreveu esse processo em nervos periféricos; o termo degeneração walleriana também é usado para descrever necrose de fibras nervosas no SNC secundária à lesão axonal. Quanto maior o diâmetro do axônio, mais rapidamente ocorre degeneração walleriana.

Primeiramente, ocorre degeneração e fragmentação do axônio e da mielina. A mielina condensa-se e forma elipsóides. Após, há remoção dos detritos axonais e da mielina por macrófagos que formam câmaras de digestão caracterizadas por vacúolos contendo pequenos macrófagos em seu interior (Figura 52). Ao contrário do sistema nervoso periférico, no SNC não ocorre regeneração do axônio.



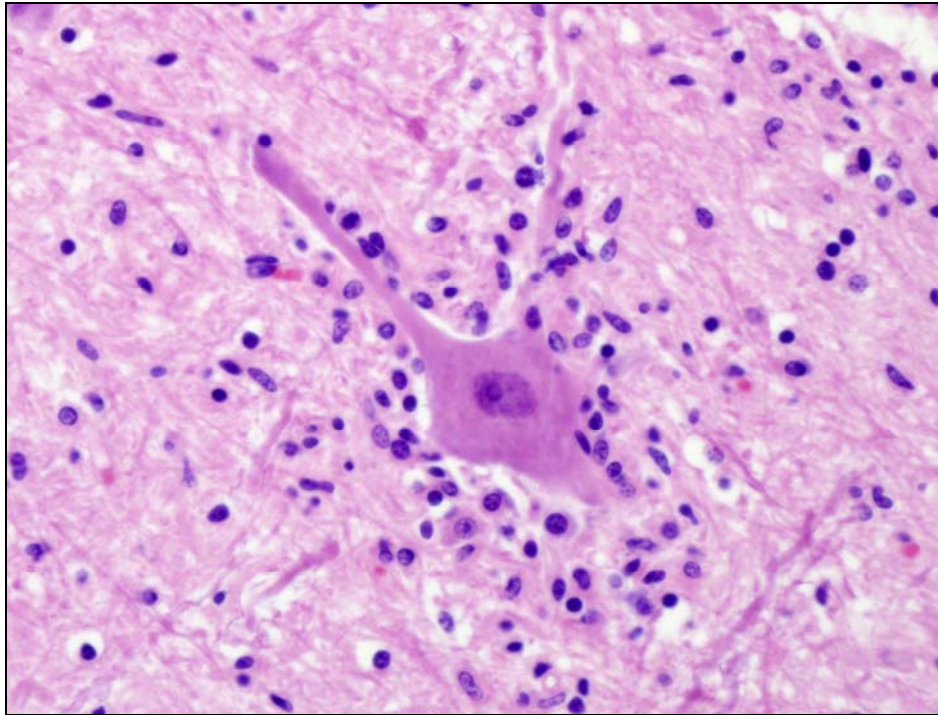
**Figura 52.** Degeneração walleriana. Compressão medular por abscesso na vértebra. **Descrição:** A. Secção longitudinal da medula espinhal. A bainha de mielina periaxonal está distendida e, em alguns casos, contém axônios tumefeitos. HE. 20x. B. Macrófago em espaço periaxonal. HE. 40x. **Comentário:** quando macrófagos invadem a área, formam as chamadas câmaras de digestão.

### 4.3 Reação das células gliais à lesão

Conforme mencionado anteriormente, células gliais são compostas por macróglia e micróglia. Macróglia são os astrócitos e oligodendrócitos. A micróglia são os macrófagos residentes no SNC. No passado essas células eram referidas como histiócitos. Ao contrário de outras células da glia, que são embriologicamente derivadas do tubo neural, a micróglia é derivada de células precursoras da medula óssea. Algumas reações dentro do SNC envolvem mais de um tipo celular. Por exemplo, gliose é uma resposta inespecífica das células gliais a diversas formas de injúria e geralmente envolve astrócitos e micróglia.

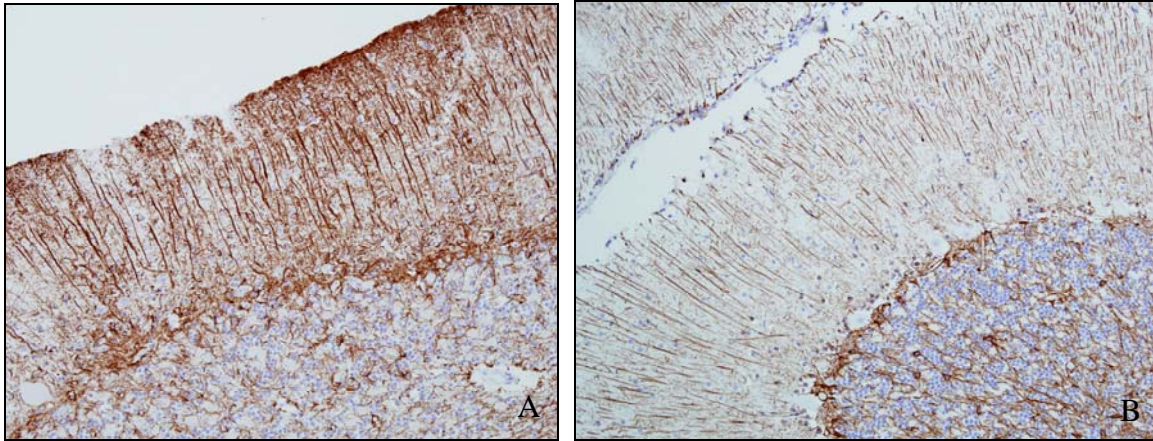
Oligodendrócitos podem sofrer tumefação, hipertrofia e degeneração. Apenas oligodendrócitos precursores (localizados nas regiões periventriculares) sofrem proliferação. Quando neurônios são submetidos à injúria, oligodendrócitos satélites proliferam ao redor do pericário e esse processo é denominado satelitose (Figura 53). A degeneração de oligodendrócitos interfasciculares causa degeneração da bainha de mielina

e este processo é referido como desmielinização primária. Em bovinos, essa lesão geralmente é associada com deficiência de cobre.



**Figura 53.** Reação dos oligodendrócitos à lesão. **Descrição:** Satelitose em um caso de raiva. Ao redor do neurônio, há proliferação adjacente de oligodendrócitos satélites. HE. 40x. **Comentário:** satelitose é uma das lesões que caracterizam a inflamação no SNC e geralmente observada em infecções virais.

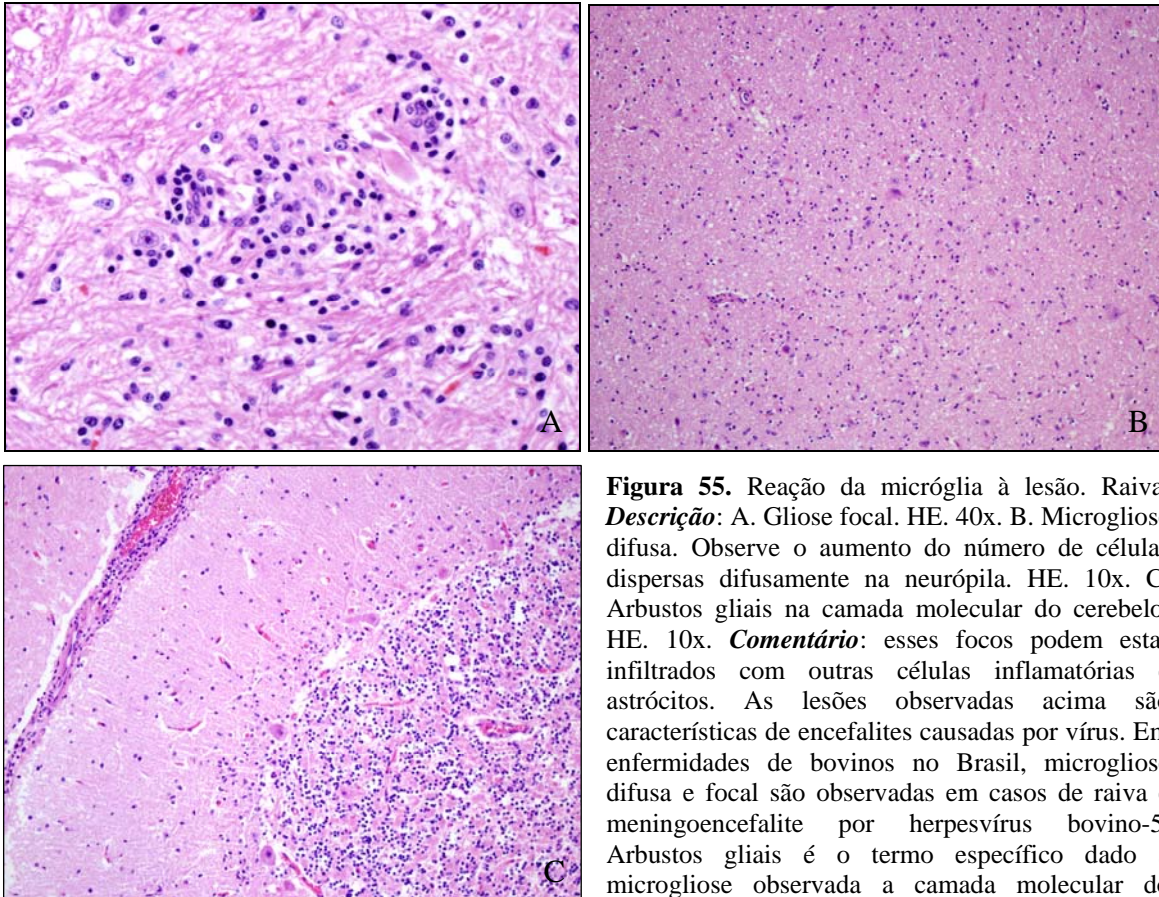
A reação dos astrócitos à lesão geralmente é observada como uma resposta de reparação no SNC. Os astrócitos respondem à lesão por hipertrofia (astrogliose) e hiperplasia (astrocitose) (Figura 54). Quando astrócitos se tornam reativos, com citoplasma visível; são chamados gemistócitos ou astrócitos gemistocíticos. Gemistócitos são observados em doenças em que há alteração do fluido intra ou extracelular ou injúria ao parênquima, onde a reparação ocorrerá por cicatriz glial (por exemplo, abscesso intracerebral). Um tipo específico de reação astrocitária tem sido observada em doenças hepáticas que produzem hiperamonemia. Essas células são denominadas astrócitos Alzheimer tipo 2 e consistem de alterações nucleares caracterizadas por tumefação do núcleo, dispersão da cromatina e presença de um ou dois nucléolos proeminentes, esses astrócitos são dispostos em pares ou trios. Astrócitos Alzheimer tipo 2 não têm sido descritos em bovinos, mas são freqüentes na encefalopatia hepática de eqüinos (Pilati & Barros 2007). Morfologicamente a lesão de encefalopatia hepática encontrada no encéfalo em bovinos consiste de *status spongiosus* (Figura 63B).



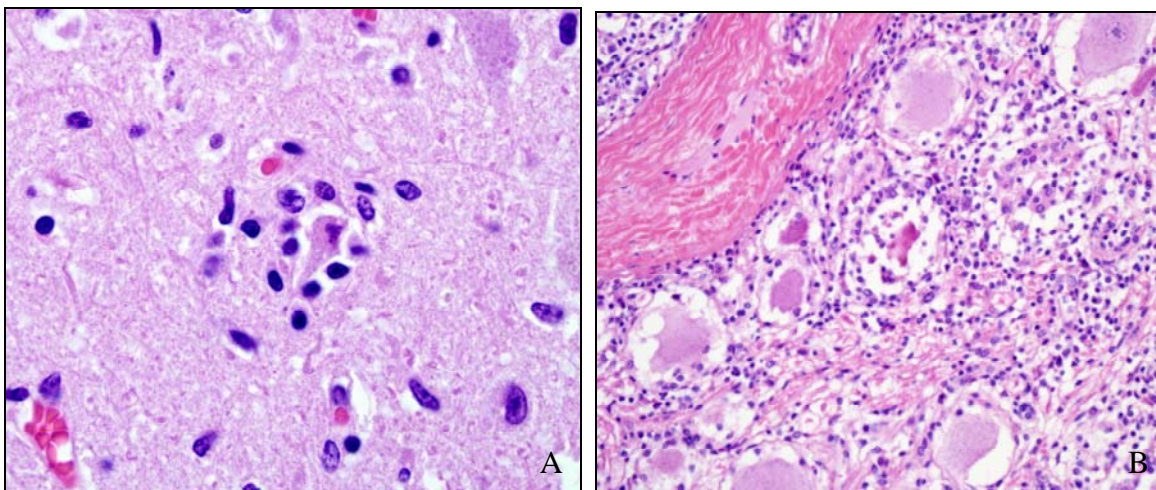
**Figura 54.** Astrocitose e astrogliose. *Descrição:* A. Camada molecular do cerebelo. Intoxicação por *Solanum fastigiatum*. Aumento do número e tamanho dos astrócitos na camada molecular e conseqüente maior densidade de fibras astrocíticas (astrocitose e astrogliose). Imunoistoquímica para proteína fibrilar glial ácida (GFAP). 20x. B. Cerebelo controle para comparação. Imunoistoquímica para GFAP. 20x. *Comentário:* intoxicação por *Solanum fastigiatum* induz degeneração e necrose das células de Purkinje de cerebelo. O espaço deixado pelas células de Purkinje é substituído por hipertrofia e hiperplasia dos astrócitos de Bergmann. Essa lesão pode ser visualizado na coloração de HE como astrocitose na camada molecular do cerebelo. Nesse exemplo particular, a fibrose astrocítica é denominada isomórfica pois segue a mesma disposição das fibras do cerebelo normal (Innes & Saunders 1962).

As respostas da micróglia à injúria incluem hipertrofia, hiperplasia, fagocitose de detritos celulares e mielínicos e neuronofagia. Quando a micróglia se torna reativa, ocorre focalmente formando nódulos gliais ou microgliose focal, ou difusamente (Figura 55). Neuronofagia é o termo utilizado para denominar o processo de fagocitose de neurônios mortos (Figura 56). Neuronofagia juntamente com satelitose, gliose e manguitos perivasculars mononucleares são marcas registradas da inflamação não-supurativa no SNC, principalmente de infecções virais neurotrópicas.

Uma das funções da micróglia é a fagocitose, ainda que essa função seja reduzida em alguns tipos de micróglia. O tipo de células que exerce a fagocitose no SNC depende da natureza e extensão da lesão. Quando o grau de lesão é restrito ao nível celular, a micróglia é o principal fagócito. Quando ocorre a ruptura da barreira hematoencefálica, ocorre o influxo de monócitos do sangue. Esses monócitos são as únicas células capazes de, após a fagocitose acentuada, assumir o aspecto de macrófagos espumosos (Dickson et al. 1991), também conhecidos como células *gitter* (Figura 62). Micróglia não assume essa característica por ter menor poder de fagocitose.



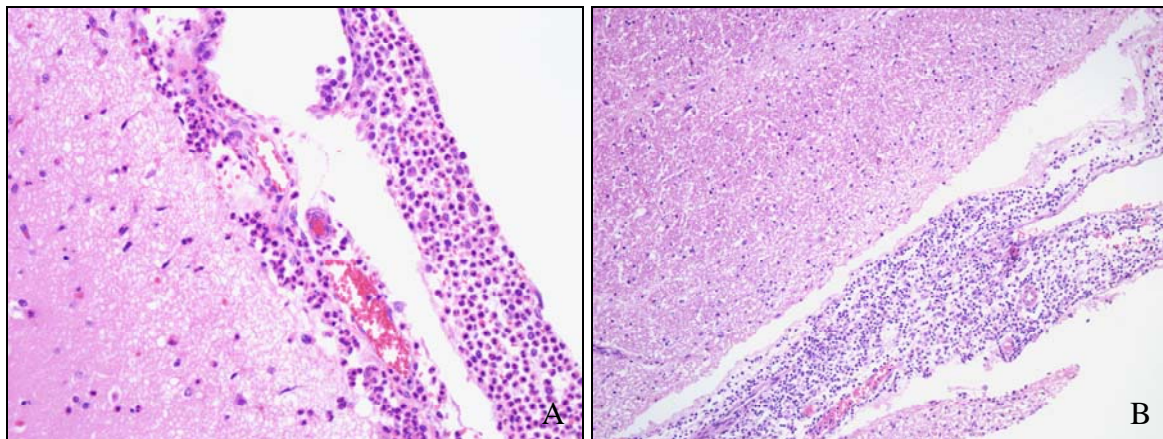
**Figura 55.** Reação da micróglia à lesão. Raiva. **Descrição:** A. Gliose focal. HE. 40x. B. Microgliose difusa. Observe o aumento do número de células dispersas difusamente na neurópila. HE. 10x. C. Arbustos gliais na camada molecular do cerebelo. HE. 10x. **Comentário:** esses focos podem estar infiltrados com outras células inflamatórias e astrócitos. As lesões observadas acima são características de encefalites causadas por vírus. Em enfermidades de bovinos no Brasil, microgliose difusa e focal são observadas em casos de raiva e meningoencefalite por herpesvírus bovino-5. Arbustos gliais é o termo específico dado à microgliose observada a camada molecular do cerebelo.



**Figura 56.** Neuronofagia. Raiva. **Descrição:** A. Córtex telencefálico. Observe as células da glia ao redor de um neurônio necrótico. HE. 40x. B. Gânglio de Gasser. Partes de um neurônio necrótico são fagocitados por células da glia. HE. 20x. Após a fagocitose total, esse espaço é preenchido por células gliais ou células satélites que formam os chamados nódulos de Babes. **Comentário:** essas figuras ilustram a fase inicial (A) e final (B) de neuronofagia. Neuronofagia também é uma lesão característica de outros tipos de inflamação no SNC. É frequentemente vista em casos de meningoencefalite por herpesvírus bovino-5.

#### 4.4 Reação das meninges à lesão

As meninges estão em íntimo contato com o SNC e alguma lesão que ocorra nas meninges, principalmente leptomeninges invade o SNC e vice-versa. A mais comum das lesões é a leptomeningite (Figura 57) e as células inflamatórias localizam-se primariamente no espaço subaracnóide. Frequentemente em casos de meningite, os agentes infecciosos (principalmente as bactérias) invadem as meninges por via hematogena. Quando o infiltrado inflamatório invade tanto as meninges quanto o SNC, a lesão é referida como meningoencefalite. Alguns tumores podem invadir diretamente o SNC através da bainha dos nervos cranianos, e atingir os espaços subpiais e perivascularares de Virchow-Robin, pois esses são extensões dos espaços perineurais (Figura 60).



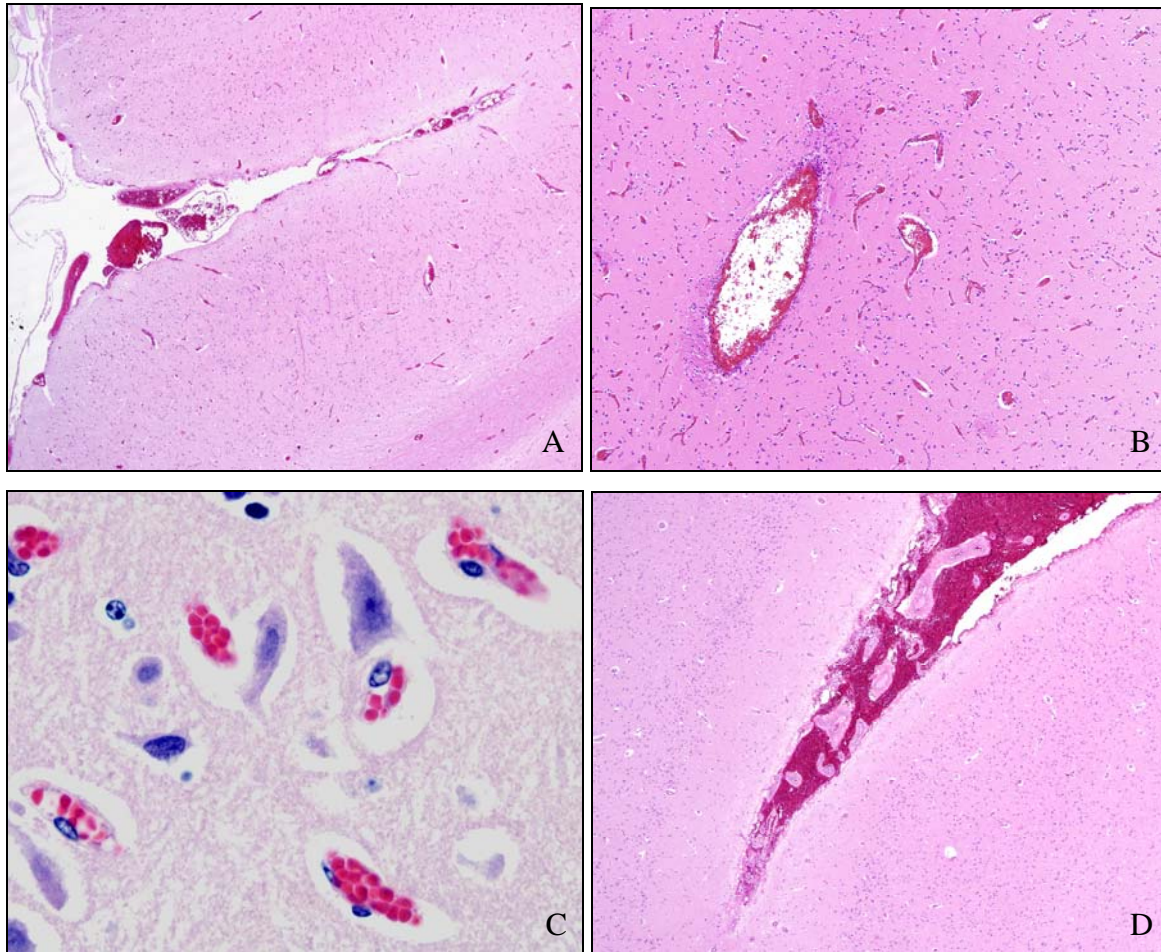
**Figura 57.** Leptomeningite. **Descrição:** A. Córtex telencefálico. Exsudato purulento nas leptomeninges. HE. 20x. B. Tronco encefálico. Exsudato histiolinfoplasmocitário expandindo as leptomeninges. HE. 10x. **Comentário:** em enfermidades de bovinos do Brasil, leptomeningites ocorrem frequentemente em bezerros jovens, secundárias a onfaloflebitas, são predominantemente causadas por bactérias (*Escherichia coli*, *Arcanobacterium pyogenes* e *Streptococcus* spp.) e cursam com exsudato purulento. A exceção é tuberculose e intoxicação por *Vicia* spp. que produz exsudato granulomatoso e listeriose que produz infiltrado mononuclear. Meningoencefalite não-supurativa é um achado característico das infecções virais como raiva, meningoencefalite por herpesvírus bovino-5 e febre catarral maligna.

#### 4.5 Reação dos vasos à lesão

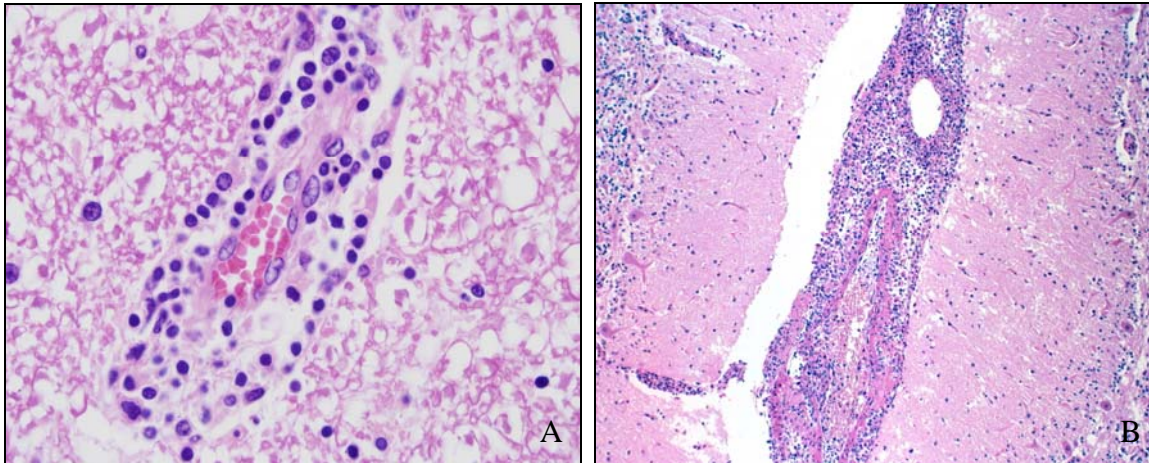
Os vasos do SNC realizam a manutenção da barreira hematoencefálica. Lesão nos vasos e espaços perivascularares, também denominada espaço de Virchow-Robin é uma das alterações mais frequentes em resposta à injúria no SNC. Várias etiologias, independentemente da porta de entrada (hematógena, neurógena) induzem lesão nos vasos, seja por infiltração de células ao redor dos vasos (manguitos perivascularares),



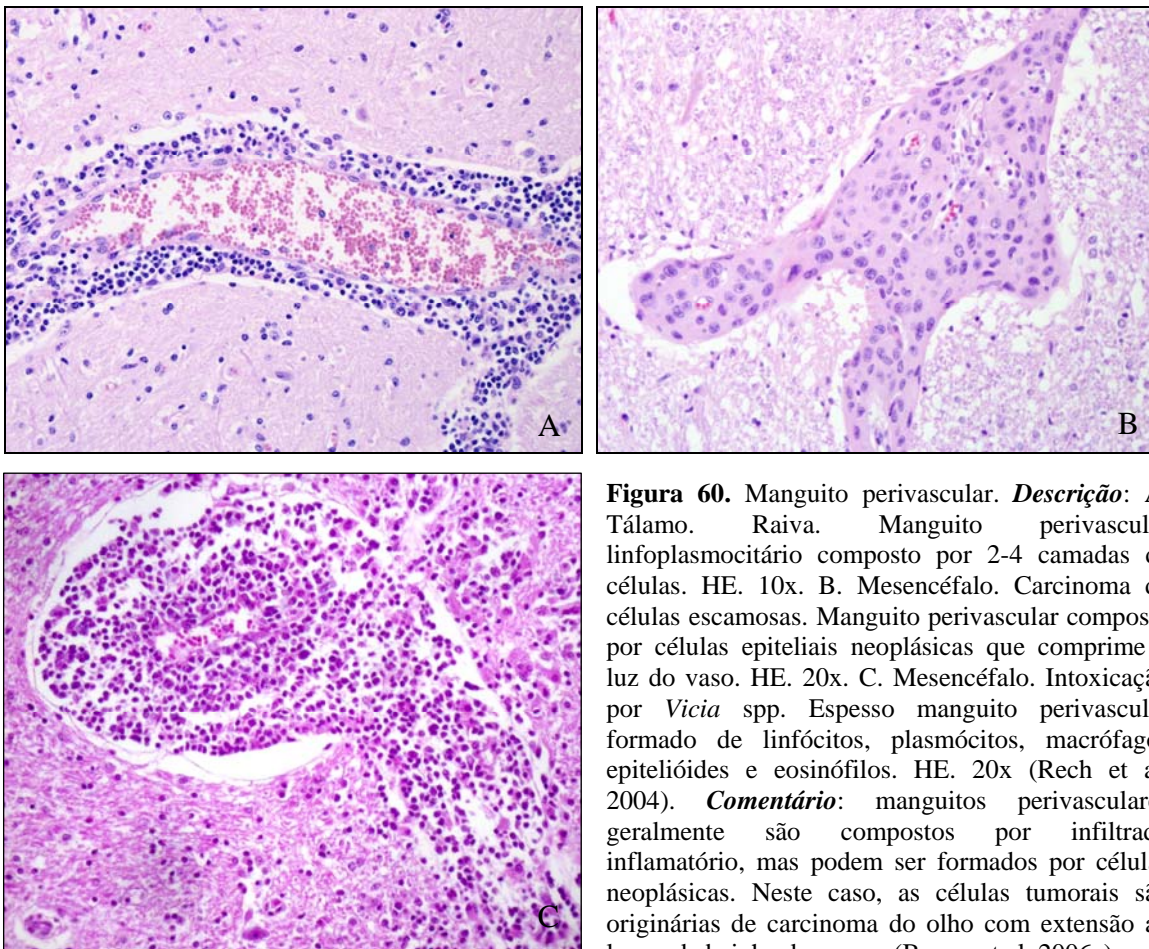
inflamação da parede (vasculite), obstrução, invasão direta, ou infecção das células endoteliais. Lesões recentes ou focais são frequentemente perceptíveis microscopicamente, pois os vasos são mais proeminentes que as áreas não afetadas. As principais reações associadas aos vasos incluem: congestão, hemorragia (Figura 58), tumefação endotelial, vasculite (Figura 59), manguitos perivascularares (Figura 60) e trombose.



**Figura 58.** Congestão vascular e hemorragia. **Descrição:** A. Córtex telencefálico. Raiva. Congestão vascular dos vasos das leptomeninges e do tecido nervoso. HE. 4x. B. Maior aumento de A. Observe que os capilares estão mais proeminentes. HE. 20x. C. Córtex telencefálico. Babesiose. Congestão difusa dos capilares e edema perivascular e perineuronal. Em alguns eritrócitos é possível observar microrganismos basofílicos que correspondem às formas de *B. bovis*. HE. 100x. D. Córtex telencefálico. Intoxicação por *Solanum fastigiatum*. Hemorragia nas leptomeninges. **Comentário:** congestão vascular é uma alteração inespecífica que ocorre no SNC geralmente em resposta a agentes infecciosos, mas pode ser útil em casos de babesiose cerebral, quando não é possível a observação macroscópica do encéfalo (Figura 2B). A análise criteriosa dos eritrócitos numa proporção histológica adequadamente delgada (5 µm) e corada pode revelar a presença do microrganismo em secções coradas por HE. Apesar da cor vermelho-cereja na substância cinzenta do encéfalo ser lesão característica de babesiose cerebral, o esfregaço do córtex telencefálico corado com panótico rápido evidencia numerosos capilares parasitados por *Babesia bovis*. Hemorragias no SNC geralmente são de origem traumática, mas podem ser decorrentes de acentuada lesão vascular, como em casos de meningoencefalite por herpesvírus bovino-5.



**Figura 59.** Tumefação endotelial e vasculite. **Descrição:** A. Tálamo. Raiva. Tumefação das células endoteliais e manguito perivascular constituído de linfócitos, plasmócitos e macrófagos. HE. 100x. B. Cerebelo. Febre catarral maligna (FCM). O infiltrado inflamatório mononuclear infiltra a parede dos vasos da meninge. Há necrose fibrinóide da parede do vaso. HE. 20x. **Comentário:** vasculite no SNC em casos de FCM é melhor visualizada em artérias de pequeno e médio calibre. O melhor lugar para se observar vasculite em casos de FCM é na *rete mirabile* carotídea.

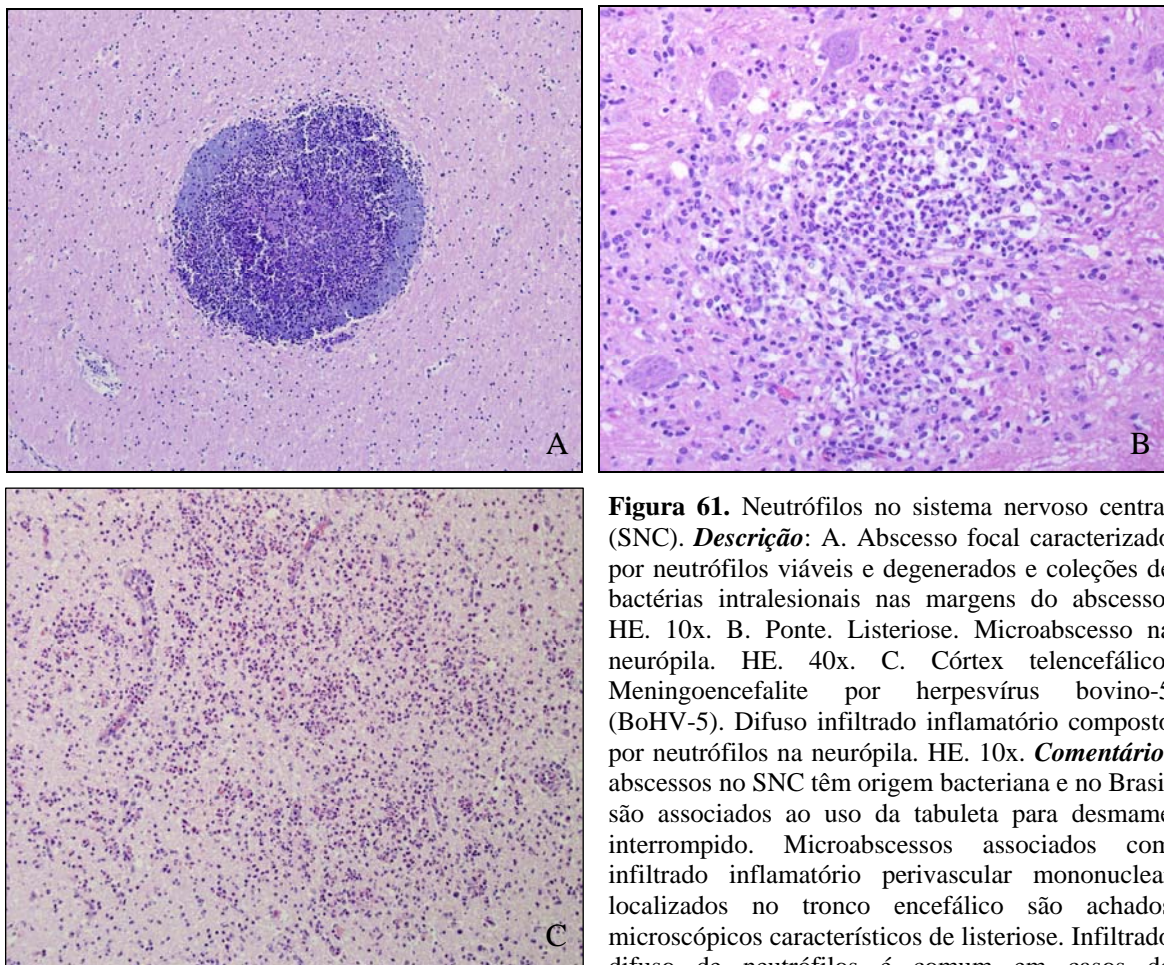


**Figura 60.** Manguito perivascular. **Descrição:** A. Tálamo. Raiva. Manguito perivascular linfoplasmocitário composto por 2-4 camadas de células. HE. 10x. B. Mesencéfalo. Carcinoma de células escamosas. Manguito perivascular composto por células epiteliais neoplásicas que comprime a luz do vaso. HE. 20x. C. Mesencéfalo. Intoxicação por *Vicia* spp. Espesso manguito perivascular formado de linfócitos, plasmócitos, macrófagos epitelióides e eosinófilos. HE. 20x (Rech et al. 2004). **Comentário:** manguitos perivasculares geralmente são compostos por infiltrado inflamatório, mas podem ser formados por células neoplásicas. Neste caso, as células tumorais são originárias de carcinoma do olho com extensão ao longo da bainha de nervos (Barros et al. 2006c).

#### 4.6 Células mesodérmicas no SNC

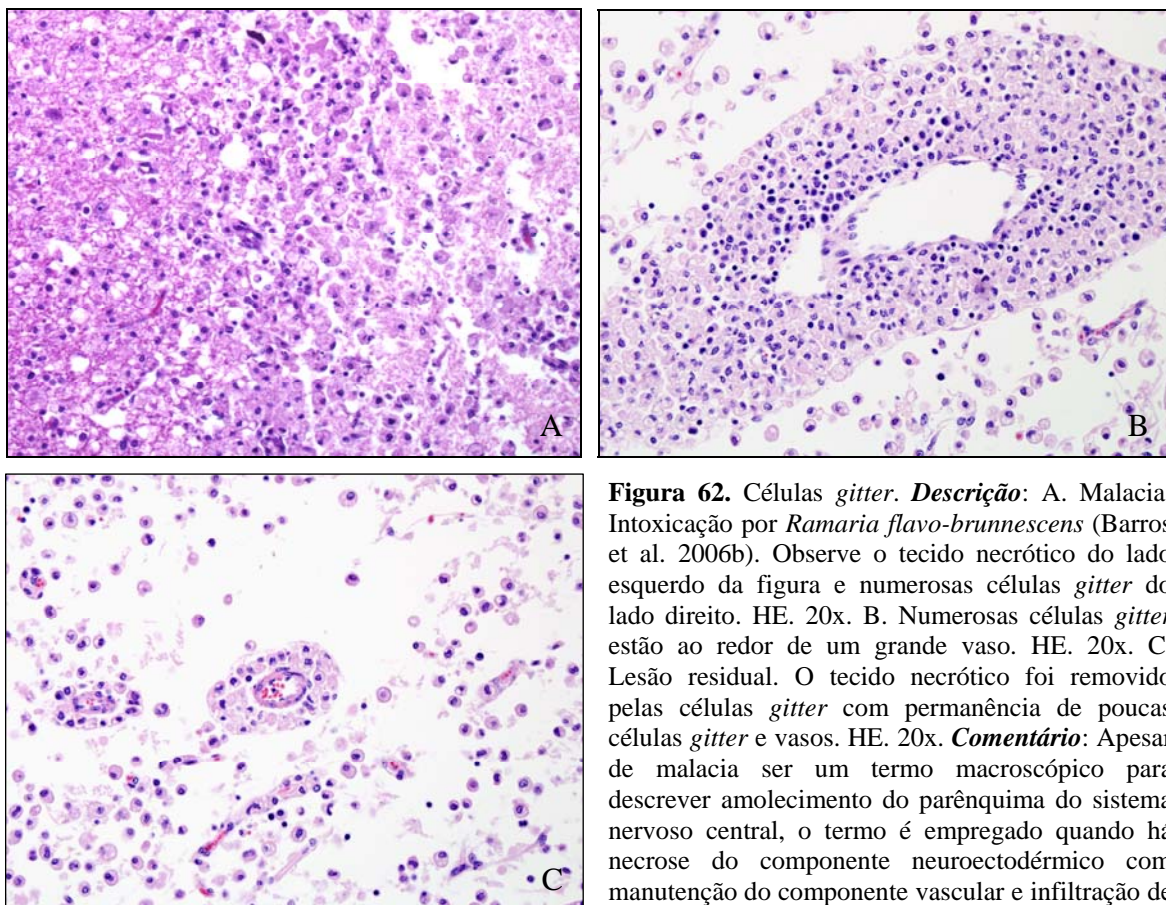
Além das lesões causadas por alterações nas estruturas que pertencem ao SNC, células de origem mesodérmica (por ex., manguitos perivasculares mononucleares, granulomas, microabscessos, neutrófilos na neurópila e parênquima neural, células *gitter*), e células tumorais em neoplasmas metastáticos podem invadir o SNC. Algumas dessas lesões são características de doenças distintas quando apresentam distribuição específica (por ex., microabscessos em casos de listeriose); outras ocorrem em diversas doenças e resultam da formação de extensas lesões no SNC com ruptura da barreira hematoencefálica (por ex., células *gitter*).

Microabscessos caracterizam-se por acúmulo focal de neutrófilos viáveis e degenerados na neurópila ou parênquima neural, algumas vezes com bactérias intralesionais. Infiltração difusa de neutrófilos no parênquima neural e neurópila também pode ser observada (Figura 61).



**Figura 61.** Neutrófilos no sistema nervoso central (SNC). **Descrição:** A. Abscesso focal caracterizado por neutrófilos viáveis e degenerados e coleções de bactérias intralesionais nas margens do abscesso. HE. 10x. B. Ponte. Listeriose. Microabscesso na neurópila. HE. 40x. C. Córtex telencefálico. Meningoencefalite por herpesvírus bovino-5 (BoHV-5). Difuso infiltrado inflamatório composto por neutrófilos na neurópila. HE. 10x. **Comentário:** abscessos no SNC têm origem bacteriana e no Brasil são associados ao uso da tabuleta para desmame interrompido. Microabscessos associados com infiltrado inflamatório perivascular mononuclear localizados no tronco encefálico são achados microscópicos característicos de listeriose. Infiltrado difuso de neutrófilos é comum em casos de meningoencefalite por BoHV-5 e frequentemente essa lesão precede a malacia.

Quando há necrose do tecido nervoso, monócitos provenientes da corrente circulatória, migram para o SNC e fagocitam os detritos celulares e transformam-se em macrófagos carregados de lipídios; devido à aparência do citoplasma, são denominados macrófagos espumosos ou células *gitter* (do alemão, aspecto reticulado). Após realizar a fagocitose dos detritos celulares, os macrófagos espumosos são drenados do tecido nervoso através dos vasos sanguíneos e a área afetada, na maioria das vezes, torna-se cística e caracterizada microscopicamente pela ausência do tecido nervoso normal e a presença de vasos sanguíneos remanescentes e células *gitter* frouxamente arranjados (Figura 62). Fibrose só ocorre se a lesão for localizada próxima às meninges.



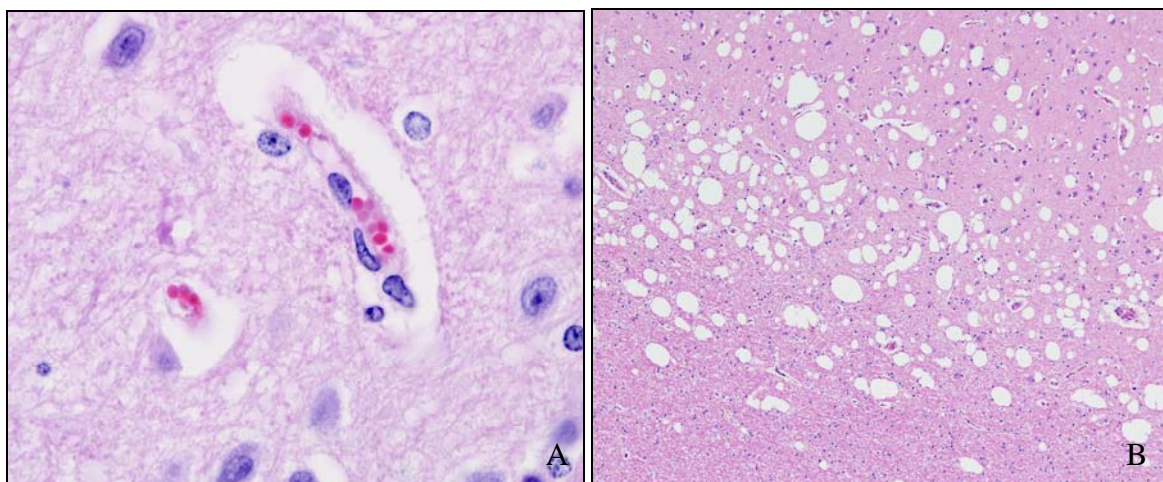
**Figura 62.** Células *gitter*. **Descrição:** A. Malacia. Intoxicação por *Ramaria flavo-brunnescens* (Barros et al. 2006b). Observe o tecido necrótico do lado esquerdo da figura e numerosas células *gitter* do lado direito. HE. 20x. B. Numerosas células *gitter* estão ao redor de um grande vaso. HE. 20x. C. Lesão residual. O tecido necrótico foi removido pelas células *gitter* com permanência de poucas células *gitter* e vasos. HE. 20x. **Comentário:** Apesar de malacia ser um termo macroscópico para descrever amolecimento do parênquima do sistema nervoso central, o termo é empregado quando há necrose do componente neuroectodérmico com manutenção do componente vascular e infiltração de monócitos que se transformam em células *gitter*. Em qualquer outro tecido, esse mesmo tipo de célula é referido como macrófago espumoso.

#### 4.7 Edema no SNC

O parênquima do SNC não possui vasos linfáticos e o espaço intersticial entre as células é muito menor que em tecidos extraneurais. Quando ocorre a formação de edema,

há acúmulo de líquidos dentro das células primeiramente, e após, para o espaço intersticial. Edema cerebral ocorre de certa forma em todas as situações patológicas (lesões degenerativas, inflamatórias, traumáticas ou neoplasmas). Há 4 tipos de edema no SNC. Edema vasogênico é o tipo mais comum e ocorre em consequência de lesão vascular e se caracteriza por acúmulo extracelular de fluido (Figura 63A). Edema citotóxico é caracterizado por acúmulo de fluido intracelular em neurônios, astrócitos e células endoteliais. Edema intersticial ou hidrostático é causado por elevada pressão ventricular (hidrocefalia) com acúmulo extracelular de fluido na substância branca perivascular. Edema hiposmótico ocorre por desequilíbrio osmótico e o fluido se acumula no espaço intra e extracelular.

*Status spongiosus* ou degeneração esponjosa é um termo usado para descrever alteração microvacuolar geralmente na substância branca semelhante a uma peneira no tecido neural que pode ser detectável através da microscopia óptica. As bases anatômicas podem ser tumefação das bainhas de mielina, do citoplasma dos astrócitos ou oligodendrócitos (Figura 63B) e a diferenciação só pode ser realizada através de microscopia eletrônica. A degeneração esponjosa pode ser primária ou secundária. Quando é primária o agente atua diretamente no SNC; quando é secundária o agente atua sobre um outro órgão.



**Figura 63.** Edema. **Descrição:** A. Córtex telencefálico. Babesiose cerebral. Edema perivascular. HE. 100x. B. Degeneração esponjosa na interface da coroa radiada com o córtex telencefálico. Intoxicação por *Senecio brasiliensis*. Vacúolos ovais ou alongados de 5-40 µm em diâmetro, com ocasional coalescência, na interface do parênquima neural da coroa radiada e neurópila do córtex telencefálico. HE. 10x. **Comentário:** Em enfermidades de bovinos no Brasil, degeneração esponjosa primária ocorre em casos de intoxicação por *Ateleia glazioviana* (região Sul) e intoxicação por *Tetrapteryx* spp. (região Centro-Oeste). Degeneração esponjosa secundária ocorre em decorrência de lesões hepáticas crônicas como intoxicação por *Senecio* spp. (região Sul).

## 5. Literatura consultada

### a) Livros-texto

- Barros C.S.L., Driemeier D., Dutra I.S. & Lemos R.A.A. 2006a. Doenças do Sistema Nervoso de Bovinos no Brasil: Coleção Vallée. AGNS, São Paulo. 207p.
- Fuller G.N. & Burger P.C. 1997. Central nervous system, p. 243-282. In: Sternberg S.S. (ed.) Histology for Pathologists. Chap. 11. Lippincott-Raven, Philadelphia. 1200p.
- Hirano A. 1985. Neurons, astrocytes, and ependyma, p. 1-91. In: Davis R.L. & Robertson D.M. (ed.) Textbook of Neuropathology. Chap. 1. Williams & Wilkins, Baltimore. 900p.
- Innes J.R.M. & Saunders L.Z. 1962. Comparative Neuropathology. Academic Press, New York. 839p.
- Jubb K.V.F. & Huxtable C.R. 1993. The nervous system, p.403-406. In: Jubb K.V.F., Kennedy P.C. & Palmer N. (ed.) Pathology of Domestic Animals. Vol.1. 4<sup>th</sup> ed. Academic Press, New York. 780p.
- Summers B.A., Cummings J.F., De Lahunta A. 1995. Veterinary Neuropathology. St. Louis, Mosby. 527p.
- Zachary J.F. 2007. Nervous system, p. 833-971. In: McGavin M.D. & Zachary J.F. (ed.) Pathologic Basis of Veterinary Disease. Chap. 14. 4<sup>th</sup> ed. Mosby Elsevier, St Louis. 1476p.

### b) Trabalhos

- Albrechtsen R. 1977. The pathogenesis of acute selective necrosis of the granular layer of the human cerebellar cortex. Acta Neuropathol. 37:31-34.
- Barros R.R., Irigoyen L.F., Kommers G.D., Rech R.R., Figuera R.A. & Barros C.S.L. 2006b. Intoxicação por *Ramaria flavo-brunnescens* (Clavariaceae) em bovinos. Pesq. Vet. Bras. 26:87-96.
- Barros R.R., Rech R.R., Viott A.M. & Barros C.S.L. 2006c. Carcinoma de células escamosas no olho de bovino com invasão cerebral através dos nervos cranianos. Ciência Rural 36:1651-1654.
- Borras D., Ferrer I. & Pumarola M. 1999. Age-related changes in the brain of the dog. Vet. Pathol. 36:201-211.
- Charlton K.M., Casey G.A., Webster W.A. & Bundza A. 1987. Experimental rabies in skunks and foxes. Pathogenesis of the spongiform lesions. Lab. Invest. 57:634-645.
- Dickson D.W., Mattiace L.A., Kure K., Hutchins K., Lyman W.D. & Brosnan C.F. 1991. Microglia in human disease, with an emphasis on acquired immune deficiency syndrome. Lab. Invest. 64: 135-156.
- Dubey J.P., Fayer R. & Speer C.A. 1988. Experimental *Sarcocystis hominis* infection in cattle: lesions and ultrastructure of *Sarcocystis*. J. Parasit. 74:875-879.
- Foley G.L. & Zachary J.F. 1995. Rabies-induced spongiform change and encephalitis in a heifer. Vet. Pathol. 32:309-311.
- Garland T., Bauer N. & Bailey M. 1996. Brain emboli in the lungs of cattle after stunning. Lancet 348:610.
- Gavier-Widen D., Wells G.A.H., Simmons M.M., Wilesmith J.W. & Ryan J. 2001. Histological observations on the brains of symptomless 7-year-old cattle. J. Comp. Path. 124:52-59.

- Hamir A.N. & Fischer K.A. 1999. Neuronal vacuolation in raccoons from Oregon. *J. Vet. Diagn. Invest.* 11:303-307.
- Hamir A.N., Habecker P., Jenny A., Hutto D., Stack M.J., Chaplin M.J. & Stasko J. 2001. Idiopathic disseminated intracytoplasmic neuronal vacuolation in a neonatal Holstein calf born in the USA. *J. Vet. Diagn. Invest.* 13:349-351.
- Hooper P.T. 1999. Incidental lesions in the brains of sheep and goats. *Aust. Vet. J.* 77:398-399.
- Hurst E.W. 1934. Calcification in the brains of Equidae and Bovidae. *Am. J. Pathol.* 10:795-802.
- Jahns H., Callanan M.C., McElroy M.C., Sammin D.J. & Basset H.F. 2006a. Age-related and non age-related changes in 100 surveyed horse brains. *Vet Pathol.* 43:740-750.
- Jahns H., Callanan M.C., Sammin D.J., McElroy M.C. & Basset H.F. 2006b. Survey for transmissible spongiform encephalopathies in Irish pigs fed meat and bone meal. *Vet Rec.* 159:137-142.
- Jardim L.S., Andrade-Neto J.P. & Alessi A.C. 1999. Neuronal vacuolation and spongiform lesions in young Rottweiler dogs. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 51:449-452.
- Jolly R.D. & Walkley S.U. 1997. Lysosomal storage diseases of animals: an essay in comparative pathology. *Vet. Pathol.* 34:527-548.
- Lancaster M.J., Gill I.J. & Hooper P.T. 1987. Progressive paresis in Angora goats. *Aust. Vet. J.* 64:123-124.
- Leslie R.A. & Osborne N.N. 1984. Amines and other transmitter-like compounds in the bovine area postrema. *Brain Research Bulletin.* 13:357-362.
- Loretti A.P., Ilha M.R.S., Riet-Correa G., Driemeier D., Colodel E.M. & Barros C.S.L. 2003. Síndrome do abscesso pituitário em bezerros associada ao uso de tabuleta nasal para desmame interrompido. *Pesq. Vet. Bras.* 23:39-46.
- Love S., Helps C.R., Williams S., Shand A., McKinstry J.L., Brown S.N., Harbour D.A. & Anil M.H. 2000. Methods for detection of haematogenous dissemination of brain tissue after stunning of cattle with captive bolt guns. *J. Neuroscience Methods* 99:53-58.
- Mandara M.T. 2003. Meningeal blood vessel calcification in the brain of the cat. *Acta Neuropathol.* 105:240-244.
- Pilati C. & Barros C.S.L. 2007. Intoxicação experimental por *Senecio brasiliensis* (Asteraceae) em equinos. *Pesq. Vet. Bras.* 27: (no prelo)
- Prendergast D.M., Sheridan J.J., Daly D.J., McDowell D.A. & Blair I.S. 2003. Dissemination of central nervous system tissue from the brain and spinal cord of cattle after captive bolt stunning and carcass splitting. *Meat Science* 65:1201-1209.
- Rech R.R., Figuera R.A., Oliveira F.N. & Barros C.S.L. 2004. Meningoencefalite granulomatosa em bovinos em pastoreio de ervilhaca (*Vicia* spp). *Pesq. Vet. Bras.* 24:169-172.
- Rech R.R., Rissi D.R., Pierezan F., Inkelmann M.A. & Barros C.S.L. 2006a. Raiva em herbívoros: 27 casos. Encontro Nacional de Laboratórios de Diagnóstico Veterinário, Campo Grande, p. 43-44.
- Rech R.R., Rissi D.R., Rodrigues A., Pierezan F., Piazer J.V.M., Kommers G.D. & Barros C.S.L. 2006b. Intoxicação por *Solanum fastigiatum* (Solanaceae) em bovinos: epidemiologia, sinais clínicos e morfometria das lesões cerebelares. *Pesq. Vet. Bras.* 26:183-189.

- Rech R.R., Rissi D.R., Silva M.C., Inkelmann M.A. & Barros C.S.L. 2006c. Histomorfologia do gânglio de Gasser, da *rete mirabile* carotídea e da hipófise de bovinos: estudo de 199 casos. *Pesq. Vet. Bras.* 26:105-111.
- Rissi D.R., Oliveira F.N., Rech R.R., Pierezan F., Lemos R.A.A. & Barros C.S.L. 2006. Epidemiologia, sinais clínicos e distribuição das lesões encefálicas em bovinos afetados por meningoencefalite por herpesvírus bovino-5. *Pesq. Vet. Bras.* 26:123-132.
- Rodrigues A., Rech R.R., Barros R.R., Figuera R.A. & Barros C.S.L. 2005. Babesiose cerebral em bovinos: 20 casos. *Ciência Rural* 35:121-125.
- Van der Lugt J.J., Markus M.B., Kitching J.P. & Daly T.J.M. 1994. Necrotic encephalitis as a manifestation of acute sarcocystosis in cattle. *J. S. Afr. Vet.* 65:119-121.
- Vígh B., Széi A., Debreceni K., Fejér Z., Manzano e Silva M.J. & Vígh-Teichmann I. 1998. Comparative histology of pineal calcification. 13:851-870.
- Wells G.A.H., Wilesmith J.W. & McGill I.S. 1991. Bovine spongiform encephalopathy: A neuropathological perspective. *Brain Pathol.* 1:69-78.



## 4 TRABALHOS E RESUMO PUBLICADOS

Esta seção apresenta os trabalhos publicados com material analisado no programa DXSNC entre 2001-2005. Alguns deles são assuntos revisitados com ênfase em aspectos antes não descritos em determinada enfermidade, ou são descrições de lesões que ainda não tinham sido observadas em certas enfermidades já conhecidas de bovinos no Brasil. A primeira parte refere-se a trabalhos publicados como primeiro autor e incluem:

- 1) Rech R.R., Figuera R.A., Oliveira F.N. & Barros C.S.L. 2004. Meningoencefalite granulomatosa em bovinos em pastoreio de ervilhaca (*Vicia spp*). *Pesq. Vet. Bras.* 24:169-172.
- 2) Rech R.R., Schild A.L., Driemeier D., Garmatz S.L., Oliveira F.N., Riet-Correa F. & Barros C.S.L. 2005. Febre catarral maligna em bovinos no Rio Grande do Sul: epidemiologia, sinais clínicos e patologia. *Pesq. Vet. Bras.* 25:97-105.
- 3) Rech R.R., Rissi D.R., Silva M.C., Inkelmann M.A. & Barros C.S.L. 2006. Histomorfologia do gânglio de Gasser, da *rete mirabile* carotídea e da hipófise de bovinos: estudo de 199 casos. *Pesq. Vet. Bras.* 26:105-111.
- 4) Rech R.R., Rissi D.R., Rodrigues A., Pierezan F., Piazer J.V.M., Kommers G.D. & Barros C.S.L. 2006. Intoxicação por *Solanum fastigiatum* (Solanaceae) em bovinos: epidemiologia, sinais clínicos e morfometria das lesões cerebelares. *Pesq. Vet. Bras.* 26:183-189.
- 5) Rech R.R., Rodrigues A., Rissi D.R., Riet-Correa F. & Barros C.S.L. 2007. Poisonous plants affecting the central nervous system (CNS) of cattle in Brazil. p. 238-243. In: Panter K.E.; Wierenga T.L. & Pfister J.A. (ed.). *Poisonous Plants: Global Research and Solutions*. Wallingford: CAB International.

Além dos trabalhos acima mencionados, foi publicado um resumo (Rech R.R., Rissi D.R., Pierezan F., Inkelmann M.A. & Barros C.S.L. 2006. Raiva em herbívoros: 27 casos. Encontro Nacional de Laboratórios de Diagnóstico Veterinário, Campo Grande, p. 43-44) que relatam os dados preliminares de um estudo de raiva ainda em andamento. Após o resumo foram inseridos a impressão do pôster deste resumo, a descrição da técnica de imunistoquímica para raiva com anticorpo policlonal, padronizada na *The University of Georgia*, sob a orientação da professora Corrie Brown, no período de março a dezembro de 2006. Fotografias ilustram os resultados deste experimento.

A segunda parte dos trabalhos publicados inclui co-autoria em trabalhos de outros autores principais, mas que também foram elaborados com material do programa DXSNC durante o período de realização da tese e incluem:

- 1) Rodrigues A., Rech R.R., Barros R.R., Figuera R.A. & Barros C.S.L. 2005. Babesiose cerebral em bovinos: 20 casos. *Ciência Rural* 35:121-125.
- 2) Barros R.R., Irigoyen L.F., Kommers G.D., Rech R.R., Figuera R.A. & Barros C.S.L. 2006. Intoxicação por *Ramaria flavo-brunnescens* (Clavariaceae) em bovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 26:87-96.

- 3) Rissi D.R., Oliveira F.N., Rech R.R., Pierezan F., Lemos R.A.A. & Barros C.S.L. 2006. Epidemiologia, sinais clínicos e distribuição das lesões encefálicas em bovinos afetados por meningoencefalite por herpesvírus bovino-5. *Pesq. Vet. Bras.* 26:123-132.
- 4) Barros R.R., Rech R.R., Viott A.M. & Barros C.S.L. 2006. Carcinoma de células escamosas no olho de bovino com invasão cerebral através dos nervos cranianos. *Ciência Rural* 36:1651-1654.

## Chapter

# Poisonous Plants Affecting the Central Nervous System (CNS) of Cattle in Brazil

R.R. Rech<sup>1</sup>, A. Rodrigues<sup>1</sup>, D.R. Rissi<sup>1</sup>, F. Riet-Correa<sup>2</sup>, and C.S.L. Barros<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Patologia Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 97105-900, Brazil; <sup>2</sup>Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, PB, 58700-000, Brazil

### Introduction

With the growing importance of surveillance for BSE (bovine spongiform encephalopathy), pursuing and accurately diagnosing CNS (central nervous system) disease in cattle has increased substantially. In Brazil, there are many plants that will induce CNS disease in cattle, including those plants causing lysosomal storage disease (*Ipomoea carnea* sub. *fistulosa*, *Phalaris angusta*, *Sida carpinifolia* and *Solanum fastigiatum* var. *fastigiatum*), primary neuronal degeneration (*Ipomoea asarifolia*, *Prosopis juliflora*) and plants causing spongy degeneration of the CNS white matter (*Ateleia glazioviana*, *Tetrapteryx* spp. and *Senecio* spp.). In addition, recently *Marsdenia* sp. was described causing CNS disease in cattle but no morphological changes could be associated with the disease.

### *Ipomoea carnea* sub. *fistulosa*

Poisoning by *Ipomoea fistulosa* (Convolvulaceae) causes lysosomal storage of glycoprotein-derived oligosaccharides (mannosidosis) due to swainsonine inhibition of  $\alpha$ -mannosidase in neurons and visceral cells of cattle, sheep and goats from the Amazon, Pantanal and Northeast regions of the country. Cattle

need to consume large amounts of the plant for several weeks to develop the disease which runs a protracted course. Clinical signs are nonspecific and include lethargy, slow movements and rough hair coat (Tokarnia *et al.* 1960). No gross lesions are found; microscopically there is cytoplasmic vacuolation of neurons (mainly Purkinje cells) and several other cells, (e.g. tubular epithelium, hepatocytes and thyroid cells). Toxic substances in *Ipomoea fistulosa* include the indolizidine alkaloid swainsonine, 2-epi-lentiginosine, calystegines and N-methyl-trans-4-hydroxi-1-proline (Haraguchi *et al.* 2003).

### ***Phalaris angusta***

*Phalaris* spp. (Gramineae) poisoning in ruminants occurs in three forms: a “sudden death” syndrome; acute Phalaris poisoning associated with transient nervous signs; and a chronic form referred to as Phalaris staggers, characterized by gradual development of neurological signs and characteristic lesions in the CNS. Outbreaks of Phalaris staggers, a neuronal lipofuscinosis, have been described in cattle in Southern Brazil associated with the consumption of *P. angusta* (Gava *et al.* 1999). Morbidity and mortality rates are 5% and 50% respectively. Cattle poisoned by *P. angusta* present constant movement of the ears, apprehension, hypersensitivity to external stimuli such as touch and noise, spasticity, convulsive seizures and lateral recumbency with paddling (Gava *et al.* 1999). In the chronic form there are diffuse brown-green bilateral symmetrical areas of discoloration of the thalamus, brain stem and cerebellar gray matter. Microscopically pigmented neurons, usually involving specific nuclei, are evident. The pigment is loosely dispersed in the perykarion as golden or dark brown pigment granules of lipofuscin (Sousa and Irigoyen 1999) which are strongly positive using the PAS stain but negative for hemosiderin (Prussian blue stain). Tryptamine and  $\beta$ -carboline are active principles extracted from *Phalaris* spp. but the toxic principle and pathogenesis remain to be fully clarified. While the observation of the pigment in neurons is diagnostically useful in suspected cases of toxicity, especially in young animals, the accumulation of lipofuscin seems insufficient to explain the clinical signs and mortality. Some have proposed that central nervous system signs result from serotonergic effects of toxins on upper motor neurons. The principal differential diagnoses for neuronal pigmentation include old age lipofuscinosis and poisoning by other plants such as *Trachyandra laxa* and *T. divaricata*, which is not reported in Brazil.

### ***Sida carpinifolia***

The consumption of *S. carpinifolia* (Malvaceae) induces a chronic degenerative disease in goats (Driemeier *et al.* 2000), horses (Loretti *et al.*

2003), sheep (Seitz *et al.* 2005) and cattle (Gava 2003, personal communication) in Southern Brazil. The plant is palatable to livestock but morbidity and mortality rates are low; the toxic principle of *S. carpinifolia* (swainsonine) inhibits the degradation of oligosaccharides. Cattle seem less susceptible than goats, but there was one as yet unpublished outbreak where five out of twenty cattle were affected. Clinical signs include tremors and ataxia which deteriorate if the animal is disturbed. There are no gross changes. Microscopically there is fine vacuolation of the cytoplasm of neurons of the CNS and peripheral ganglia and of several other cells of other organs. These lesions are reversible if the ingestion of the plant is discontinued. Neuronal lesions caused by the ingestion of *S. carpinifolia* were observed as incidental lesions in two cows that died of rabies (Driemeier 2003, personal communication).

### ***Solanum fastigiatum* var. *fastigiatum***

The ingestion of large amounts of *Solanum fastigiatum* (Solanaceae) for long periods causes a neurological disease in cattle of Southern Brazil characterized by transient convulsive seizures with low to moderate morbidity (1%-20%) and very low mortality (Riet-Correa *et al.* 1983). The consumption of the plant occurs mostly due to dearth of forage and cattle of all breeds and both sexes over one year of age can be affected. Clinical signs are those of cerebellar ataxia and include transient seizures with loss of balance, hypermetria, nystagmus, opisthonous and falling. The frequency of crises is variable but they usually occur when cattle are disturbed. The disease is chronic and the clinical signs may persist for several years after cattle are withdraw from infested pastures. Death is rare but may result from acquired trauma or drowning during the seizures. There are no specific lesions at necropsy but those related to trauma can be found. Histologically there is fine vacuolation of the cytoplasm of the Purkinje cells with progressive loss of these cells and depopulation of Purkinje layer and reactive Bergman glia proliferation; spheroids are found within the granule cell layer and in the white matter of the cerebellum (Riet-Correa *et al.* 1983; Barros *et al.* 1987). In severely affected cows there is thinning of the molecular layer of the cerebellum (unpublished observations). The vacuolation of the cytoplasm of the Purkinje cell neurons decreases if the ingestion of plant is discontinued (Zambrano *et al.* 1985). The active principle is unknown but ultrastructural (Barros *et al.* 1987) and lectin histochemical studies (Paulovich *et al.* 2002) indicate that *S. fastigiatum* induces glycolipid lysosomal deposits in the cytoplasm of Purkinje cells. The reason that the lesions are restricted to Purkinje neurons is unclear.

### ***Ipomoea asarifolia***

*Ipomoea asarifolia* (Convolvulaceae) is a tremorgenic plant with an unknown active principle. The intoxication occurs in the Northeast (Döbereiner *et al.* 1960) and affects mainly young sheep, but goats and cattle are also affected (Medeiros *et al.* 2003). Ingestion occurs during the dry season due to lack of more suitable forage. Clinical signs include muscle tremors, hypermetria and hypersensitivity to noise. When the bovine is left alone the clinical signs subside but a wide base stance is maintained. If the ingestion of the plant is discontinued, clinical signs gradually abate. Histologically there are degeneration and loss of Purkinje cells, axonal spheroids in the granular layer and foci of demyelination in the white matter of the cerebellum.

### ***Prosopis juliflora***

The intoxication by the pods of *Prosopis juliflora* is a chronic neurological disease frequent in cattle in the semi-arid region of Northeastern Brazil and is characterized by atrophy of the masseter muscle, protusion and involuntary movements of the tongue, decreased tonus of mandibular muscles, head tilt during rumination, abundant drooling, yawning, dysphagia and continuing masticatory movements (Tabosa *et al.* 2000a). The pods are used as feed for cattle in the dry season and when ingested for long periods cause degeneration of neurons of motor (trigeminal) nuclei in the brainstem which result in atrophy and paralysis of masticatory muscles leading to starvation due to difficulty in apprehension and maintenance of food in the mouth. Piperidinic alkaloids were isolated from the plant (Tabosa *et al.* 2000b) but their role in the intoxication is uncertain. Necropsy findings include changes related to starvation and atrophy of masticatory muscles. Microscopically there is chromatolysis and fine perikaryal vacuolation in neurons of the trigeminal motor nuclei with eventual loss of these cells. Ultrastructurally the neuronal lesion consists of mitochondrial swelling with disorientation and fragmentation of mitochondrial cristae.

### ***Ateleia glazioviana*, *Tetrapteryx* spp. and *Senecio* spp.**

These plants induce a condition in cattle which was referred to as spongiform myelinopathies (Van der Lugt 2002) “in which the dominant pathological feature is vacuolation of myelin in the absence of a significant degree of myelin breakdown or phagocytosis.” All of the plants listed are causes of prominent vacuolation in the white matter of the CNS by splitting of myelin lamellae (Raffi *et al.* 2005), a condition known as spongy degeneration. Spongy degeneration associated with *Ateleia glazioviana* and *Tetrapteryx* spp. is caused

by the primary action of an unknown toxic principle(s) in the CNS (Tokarnia *et al.* 2000; Gava and Barros 2001) whereas the same lesion found in *Senecio* spp. affected cattle is secondary to liver failure due to cirrhosis (hepatic encephalopathy). *Senecio* spp. and *Ateleia glazioviana* are important causes of death in cattle in Southern Brazil, and *Tetrapteryx* spp. affects cattle in the Southeastern region.

The ingestion of the roots of *Marsdenia* sp. was recently described as causing neurological disease in cattle from Northeastern Brazil (Riet-Correa *et al.* 2004). Within a few hours after ingestion, cattle were recumbent. Clinical signs included muscular tremors, muscle fasciculations, hyperesthesia, marked salivation, continuous masticatory movements, opisthotonus, clonic convulsions, and dyspnea. No gross or microscopic lesions were found and the toxic active principle in the plant is unknown.

## References

- Barros SS, Riet-Correa F, Andujar MB, Barros CSL, Méndez MC, and Schild AL (1987). *Solanum fastigiatum* and *Solanum* spp. poisoning in cattle ultrastructural changes in the cerebellum. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 7:1-5.
- Döbereiner J, Tokarnia CH, and Canella CFC I (1960). Intoxicação experimental pela “salsa” (*Ipomoea asarifolia*) em ruminantes. *Arquivos do Instituto Biológico* 3:39-57.
- Driemeier D, Colodel EM, Gimeno EJ, and Barros SS (2000). Lysosomal storage disease caused by *Sida carpinifolia* poisoning in goats. *Veterinary Pathology* 37:153-159.
- Gava A and Barros CSL (2001). Field observations of *Ateleia glazioviana* poisoning in cattle in Southern Brazil. *Veterinary and Human Toxicology* 43:37-41.
- Gava A, Sousa RS, de Deus MS, Pilati C, Cristani J, Mori AM, and Neves DS (1999). *Phalaris angusta* (Gramineae) como causa de enfermidade neurológica em bovinos no Estado de Santa Catarina. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 19:35-38.
- Haraguchi M, Gorniak SL, Ikeda K, Minami Y, Kato A, Watson AA, Nash RJ, Molyneux RJ, and Asano N (2003). Alkaloidal components in the poisonous plant *Ipomoea carnea* (Convolvulaceae). *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 51:4995-5000.
- Loretti AP, Colodel EM, Gimeno EJ, and Driemeier D (2003). Lysosomal storage disease in *Sida carpinifolia* toxicosis: An induced mannosidosis in horses. *Equine Veterinary Journal* 35:434-438.
- Medeiros RMT, Barbosa RC, Riet-Correa F, Lima EF, Tabosa IM, Barros SS, Gardner DR, and Molyneux RJ (2003). Tremorogenic syndrome in goats caused by *Ipomoea asarifolia*. *Toxicon* 41:933-935.

- Paulovich FB, Portiansky EL, Gimeno EJ, Schild AL, Méndez MC, and Riet-Correa F (2002). Lectin histochemical study of lipopigments present in the cerebellum of *Solanum fastigiatum* var. *fastigiatum* intoxicated cattle. *American Journal of Veterinary Medicine* 49:473-477.
- Raffi MB, Rech RR, Sallis ESV, Oliveira FN, Barros SS, and Barros CSL (2005). Chronic cardiomyopathy and cerebral spongy changes in sheep experimentally fed with *Ateleia glazioviana*. *Journal of Comparative Pathology* (submitted)
- Riet-Correa F, Méndez MC, Schild AL, Summers BA, and Oliveira JA (1983). Intoxication by *Solanum fastigiatum* var. *fastigiatum* as a cause of cerebellar degeneration of cattle. *The Cornell Veterinarian*. 73:240-256.
- Riet-Correa F, Silva DM, Oliveira OF, Simões SVD, Medeiros RMT, and Nóbrega RS (2004). Intoxicação por *Marsdenia* spp. (mata-calado) em ruminantes. *Pesquisa Veterinária Brasileira* (Supl.): 50-51.
- Seitz AL, Colodel EM, Schmitz M, Gimeno EJ, and Driemeier D (2005). Use of lectin histochemistry to diagnose *Sida carpinifolia* (Malvaceae) poisoning in sheep. *The Veterinary Record* 156:386-388.
- Sousa RS and Irigoyen LF (1999). Intoxicação experimental por *Phalaris angusta*. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 19:116-122.
- Tabosa IM, Pamplona FV, and Quintans Júnior A (2000a). Isolamento e identificação de juliprosopina, um dos constituintes tóxicos da *Prosopis juliflora*. *Revista Brasileira de Farmácia* 9:11-22.
- Tabosa IM, Souza JCA, Barbosa-Filho JM, Almeida RN, Graça DL, and Riet-Correa F. (2000b). Neuronal vacuolation of the trigeminal nuclei in goats caused by the ingestion of *Prosopis juliflora* pods (mesquite beans). *Veterinary and Human Toxicology* 42:155-158.
- Tokarnia CH, Döbereiner J, and Peixoto PV (2000). *Plantas Tóxicas do Brasil*. Helianthus, Rio de Janeiro.
- Tokarnia CH, Döbereiner J, and Canella CFC (1960). Estudo experimental sobre a toxidez do “canudo” (*Ipomoea fistulosa*) em ruminantes. *Arquivos do Instituto de Biologia Animal*, 3:57-71.
- Van der Lugt JJ (2002). Myelinopathies. In *The Clinicopathology and Pathology of Selective Toxicoses and Storage Diseases of the Nervous System of Ruminants in Southern Africa*. (Van der Lugt JJ, ed), p. 67. Doctoral Thesis, University of Utrecht.
- Zambrano MS, Riet-Correa F, Schild AL, and Méndez MC (1985). Intoxicação por *Solanum fastigiatum* var. *fastigiatum*: evolução e reversibilidade das lesões em bovinos e suscetibilidade de ovinos, coelhos, cobaios e ratos. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 5: 133-141.



## Protocolo de imunistoquímica para raiva

A imunistoquímica para raiva foi realizada usando o kit universal de fosfatase alcalina DAKO\* LSAB2 (DAKO cat# K0674). Os resultados estão ilustrados na Figura 1. Os seguintes passos foram usados no procedimento:

1. Rotular as lâminas com lápis
2. Colocar as lâminas na estufa a 60°C por 30 minutos (ou na estufa a 80°C por 10 minutos).
3. Desparafinar as seções por meio de 2 mudanças no xilol por 5 minutos cada e reidratá-las passando por álcoois em graduações decrescentes (i.é, absoluto, 95% e 70%) por três minutos cada um e depois em água destilada.
4. Recuperação antigênica (RA)
  - a. Pré-aquecer a panela de vapor (*steamer*)
  - b. Ferver no microondas a solução de recuperação antigênica [Biogenex AR Citra Concentrated (10X), Cat # HK086-9K] sem as lâminas
  - c. Colocar o recipiente com a solução de RA na panela de vapor, colocar as lâminas dentro da solução de RA, fechar a panela de vapor e deixar por 15 minutos.
  - d. Lavar as lâminas algumas vezes em água destilada em temperatura ambiente.
5. Lavar em solução salina Tris-salina-tween 20 (TST) 2 vezes por 3 minutos cada e circular os cortes com caneta hidrofóbica.
6. Bloqueio
  - a. Preparar uma solução de caseína 1X (Power block - BioGenex universal blocking reagent 10X cat#HK085-5K) com água destilada.
  - b. Colocar as lâminas em câmara úmida com a solução de bloqueio por 10 minutos em temperatura ambiente.
  - c. Lavar em PBS duas vezes por 5 minutos cada.
7. Aplicar o anticorpo primário (policlonal de raiva produzido em cabras marcado com FITC – anticorpo conjugado de isotiocianato de fluoresceína - [Chemicon #5199] na diluição 1:500 em TST e incubar por 60 minutos em temperatura ambiente.

---

\* DAKO, [www.dako.com](http://www.dako.com)

8. Lavar em TST duas vezes por 3 minutos cada (agitar bem a cada vez).
9. Aplicar o anticorpo secundário (monoclonal anti-FITC SIGMA F5636) na diluição de 1:5000 em PBS e incubar por 60 minutos em temperatura ambiente.
10. Lavar em TST duas vezes por 3 minutos cada vez.
11. Aplicar o anticorpo biotilado de ligação (anti-camundongo e anti-coelho do *kit* LSAB2) e incubar por 15 minutos.
12. Lavar em TST duas vezes por 3 minutos cada vez.
13. Aplicar o conjugado fosfatase alcalina estreptavidina do *kit* LSAB2 e incubar por 15 minutos em temperatura ambiente.
14. Lavar em TST duas vezes por 3 minutos cada vez.
15. Aplicar o reagente cromógeno *fast red* (diluir 1 tablete em 2 ml de solução tamponada – 0,1M Tris pH 8,3) e incubar por 20 minutos em temperatura ambiente.
16. Lavar em água destilada duas vezes por três minutos.
17. Contracorar com hematoxilina de Meyer (Biomedica cat#M10) por 6 minutos.
18. Lavar em água corrente por 1 minuto.
19. Colocar as lâminas em solução tampão (2ml Tris tamponado 2,0M, pH 7,5 em 198ml de água destilada) por 10 segundos.
20. Enxágüar em água destilada por 1 minuto.
21. Montar a lâmina usando meio de montagem aquoso (Faramount: DAKO cat# S3025).

#### **Fórmula para 4 litros de Tris-salina-tween 20 (TST)**

- 200 ml 2M Tris, pH 7,5
- 80 ml 5M NaCl
- 8 ml MgCl<sub>2</sub> 51%
- 2 ml Tween 20

#### **Fórmula para o reagente cromógeno *fast red* (Dako # K0699)**

Dissolver um tablete do substrato *fast red* (estocado a -20°C ) levado à temperatura ambiente antes de abrir (30 minutos) em 2 ml de solução tamponada (utilizar a solução fornecida pelo fabricante ou 2 ml de solução tamponada – 0,1M Tris pH 8,2). Filtrar a solução com o tablete dissolvido através de um filtro (seringa *Millipore*).

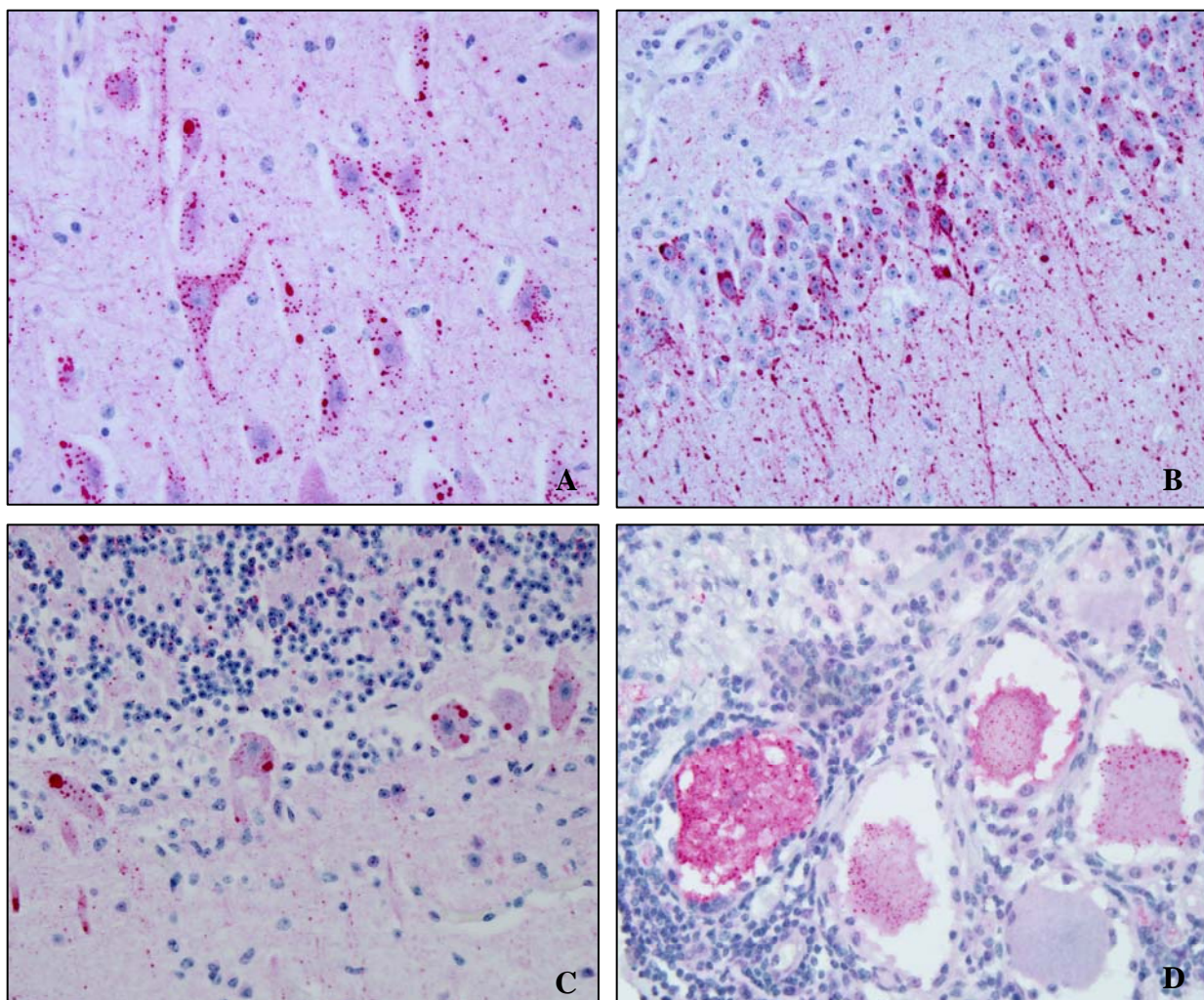


Figura 01 - Imunomarcção para raiva bovina. A. Córtex telencefálico. B. Hipocampo. C. Cerebelo. D. Gânglio de Gasser. Pericário dos neurônios e seus processos fortemente positivos para o antígeno da raiva. IHQ, LSAB2 – fosfatase alcalina, contracoloração pela hematoxilina de Meyer.

# Raiva em herbívoros: 27 casos



Raquel R. Rech, Daniel R. Rissi, Felipe Pierezan, Maria A. Inkelmann, Claudio S.L. Barros\*

Laboratório de Patologia Veterinária (LPV), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), 97105-900, Santa Maria, RS. \*E-mail: [claudioslbarros@uol.com.br](mailto:claudioslbarros@uol.com.br)

## Introdução

A raiva é uma encefalite viral aguda, progressiva, causada por um vírus RNA neurotrópico da família *Rhabdoviridae*, gênero *Lyssavirus*. Os principais reservatórios mamíferos incluem carnívoros e quirópteros. Descrevem-se 5 surtos e 2 casos isolados de raiva em bovinos, dois em ovinos e um em equino diagnosticados entre 2002 e 2005 no LPV-UFSM.

## Relato dos casos

Quatro surtos ocorreram no Rio Grande do Sul (RS) e um no Paraná. Os dois casos isolados ocorreram nos municípios de São Pedro do Sul e São Pedro do Butiá, RS. Os dados constam no Quadro 1. A maioria das propriedades localizava-se próxima a encostas de morros (Fig.1). A taxa de mortalidade em bovinos e em ovinos foi, respectivamente, de 4% (0,7 a 12,8%) e 14,8%. A maioria dos casos (68%) ocorreu na primavera e verão. Os bovinos afetados tinham idade média de 5 anos (3 meses a 15 anos) e a evolução clínica foi de 2-8 dias. Os ovinos tinham, respectivamente, 2,5 e 3 meses de idade. Os sinais clínicos foram: decúbito (14/23) (Fig.2a), incoordenação motora (11/23), febre que variou de 41° a 43°C (7/23), sialorréia (6/23) (Fig.2b), agressividade (5/23), opistótono (4/23), hiperexcitabilidade (4/23), anorexia (3/23), taquicardia (3/23), andar em círculos (2/23), fraqueza (2/23) (Fig.2c), quedas constantes (2/23), tremores musculares (2/23), olhar alerta (2/23), dificuldade de apreensão dos alimentos (1/23), cegueira (1/23), convulsões, respiração ofegante (1/23), movimentos de pedalagem (1/23), paralisia flácida da cauda (1/23) e conjuntiva hiperêmica (1/23). Em 3 animais, o histórico clínico não foi informado. Macroscopicamente, em 15 bovinos (62,5%), foi observada hiperemia da leptomeninge do encéfalo (Fig.3a). Em todos os encéfalos de bovinos foi observada meningoencefalite não supurativa (MENS) multifocal leve a acentuada (Fig.3b). Em 20/24 bovinos (83,3% dos casos) e nos dois ovinos examinados foram observados corpúsculos de Negri (CN) (Fig.3c). Ganglionite não supurativa (Fig.4a) com graus variáveis de necrose neuronal e neuronofagia (Fig.4b) associada a CN (Fig.4c) foi observada em 19/21 gânglios de Gasser de bovinos (90,5% dos casos) e dos 2 ovinos (100%). Fragmentos de encéfalo de 19 bovinos foram remetidos ao teste de imunofluorescência direta (IFD) e 16 deles foram positivos (61,5%); os que tiveram resultado negativo na IFD (26,6%) e aqueles que não foram remetidos à IFD foram confirmados histologicamente pela MENS associada a CN no encéfalo e gânglio de Gasser.

## Discussão

Apesar de não terem sido observadas mordidas de morcegos nos animais afetados, é provável que em todos os casos a transmissão tenha ocorrido por morcegos hematófagos (*Desmodus rotundus*), devido ao relato de proprietários da presença de fúrnas com morcegos nos terrenos acidentados próximos às propriedades acometidas. Achados pouco relatados por outros autores e observados consistentemente neste estudo foram a hiperemia das leptomeninges e a ganglionite não supurativa associada a CN, que pode otimizar o diagnóstico histopatológico, principalmente quando há MENS sem a presença de CN e quando a IFD é negativa. A idade e os sinais clínicos de bovinos afetados por raiva são muito variáveis, por isso a raiva deve ser sempre considerada no diagnóstico diferencial das doenças do sistema nervoso central de bovinos no Brasil.

Quadro 1. Dados epidemiológicos dos casos de raiva em bovinos.

Surto	Município/Estado	Total de bovinos	Bovinos afetados	Bovinos examinados
Surto 1	Garruchos (RS)	750	28	2
Surto 2	Itaara (RS)	179	27	6
Surto 3	Júlio de Castilhos e Val de Serra (RS)	1150	8	3
Surto 4	São João do Polênise, Silveira Martins e Faxinal do Soturno (RS)	258	33	7
Surto 5	Coronel Vívica (PR)	426	20	4
Caso isolado 1	São Pedro do Sul (RS)	8	1	1
Caso isolado 2	São Pedro do Butiá (RS)	16	1	1
<b>Total</b>		<b>2787</b>	<b>118</b>	<b>24</b>



Fig. 1. Propriedades onde ocorreram os surtos de raiva no Rio Grande do Sul. Observe os terrenos acidentados e a proximidade com as encostas de morros.



Fig. 2. Sinais clínicos. A. Bovino em decúbito na fase final da doença. As marcas no chão foram causadas por movimentos de pedalagem. B. Sialorréia acentuada. C. Bovino com a cabeça e o pescoço apoiados no chão demonstrando fraqueza.

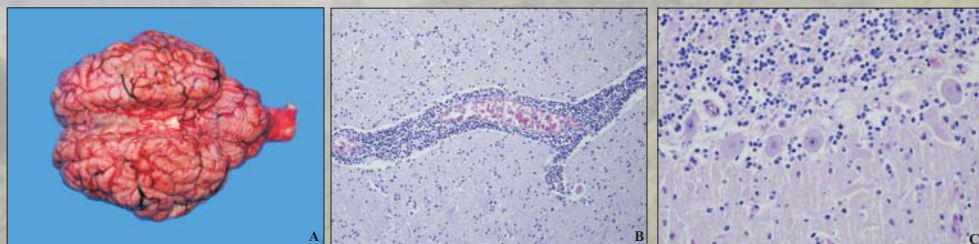


Fig. 3. Lesões no encéfalo. A. Achado macroscópico. Hiperemia acentuada das leptomeninges. B. Achado histológico. Encefalite não supurativa caracterizada por manguito perivascular constituído por linfócitos e plasmócitos. Hematoxilina-eosina. C. Achado histológico. Corpúsculos de inclusão intracitoplasmáticos eosinofílicos em neurônios de Purkinje. Os corpúsculos de Negri foram mais frequentes nos neurônios de Purkinje e nos grandes neurônios do tronco encefálico. Hematoxilina-eosina.

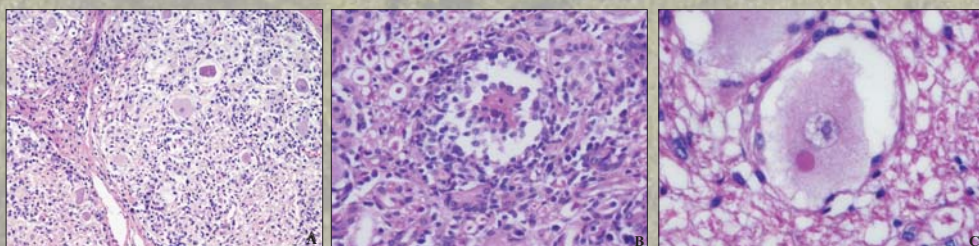


Fig. 4. Achados histológicos no gânglio de Gasser. A. Ganglionite difusa acentuada (lesão de van Gehuchten e Nelis). Hematoxilina-eosina. B. Neuronofagia. Observam-se células da microglia fagocitando restos neuronais. Hematoxilina-eosina. C. Corpúsculo de Negri com 15 µm de diâmetro. Hematoxilina-eosina.

## 5 RESULTADOS DO PROGRAMA DXSNC

Durante 5 anos (2001-2005) foram examinados 3.338 encéfalos de bovinos. A distribuição por ano, a porcentagem de encéfalos sem alterações e com lesões, e o número de bovinos examinados em cada categoria da amostra são apresentadas nas Figuras 11, 12 e 13, respectivamente.

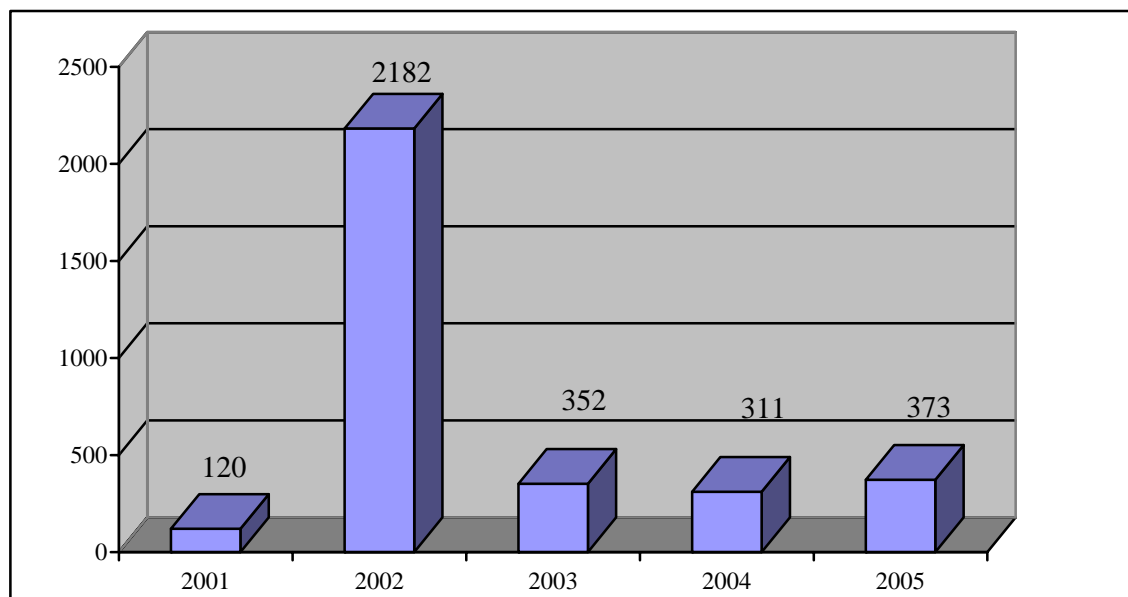


Figura 11. Número de encéfalos de bovinos examinados de 2001-2005 durante o programa de vigilância das encefalopatias espongiformes transmissíveis, no Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria.

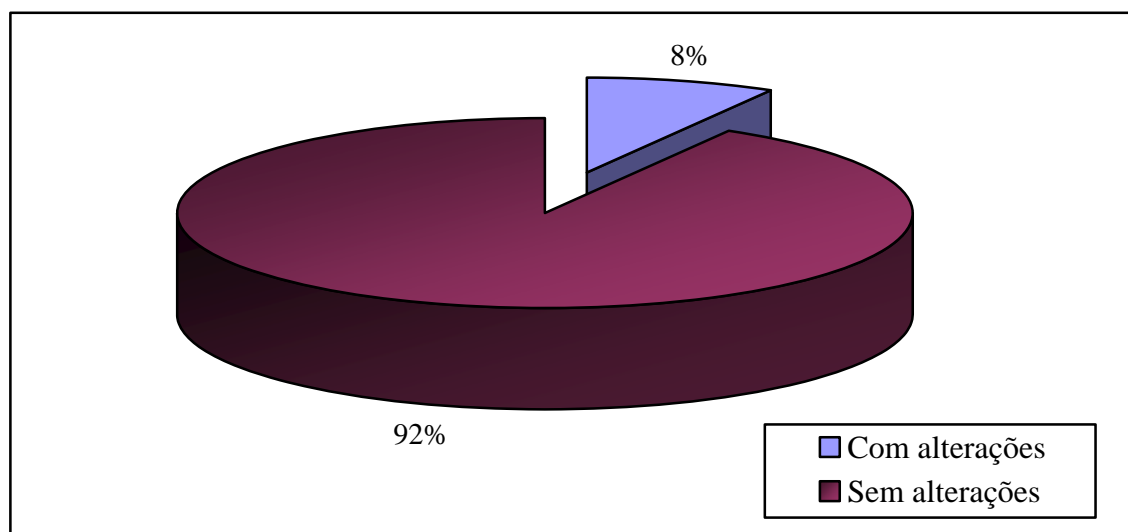


Figura 12. Porcentagem de encéfalos com e sem alterações histológicas examinados entre 2001-2005, durante o programa de vigilância das encefalopatias espongiformes transmissíveis, no Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria.

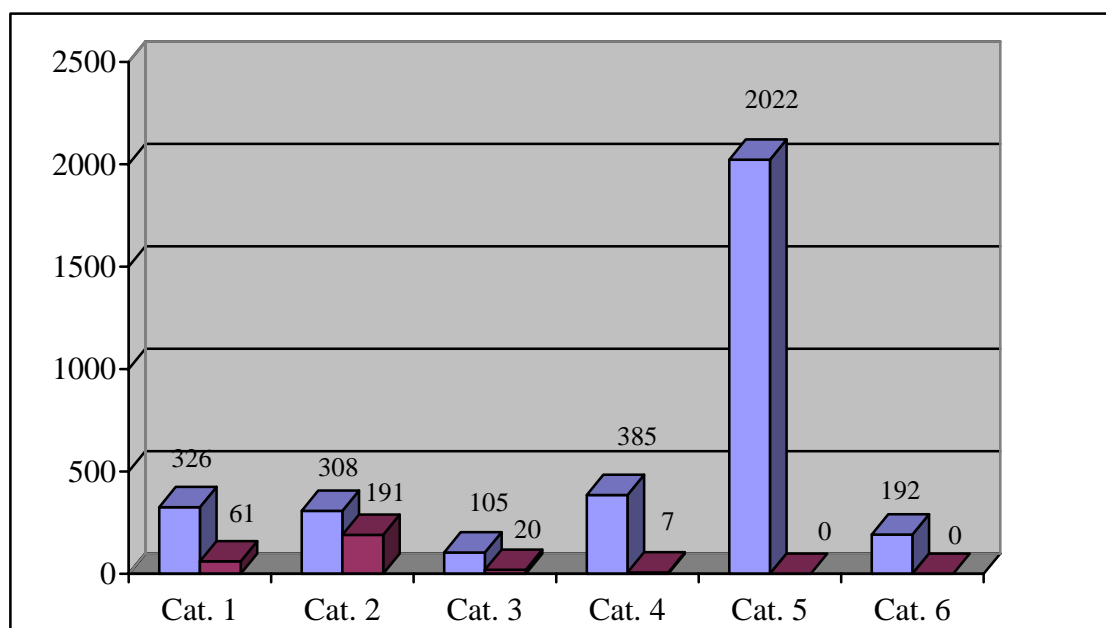


Figura 13. Número de encéfalos de bovinos examinados em cada categoria da amostra (em azul) e de encéfalos com lesões (em cor vinho), entre 2001-2005 durante o programa de vigilância das encefalopatias espongiformes transmissíveis no Laboratório de Patologia da Universidade Federal de Santa Maria.

As alterações associadas a doenças deste período foram divididas em 5 categorias, como pode ser observado na Figura 14. As doenças diagnosticadas e as respectivas frequências estão descritas nas Tabelas 1 e 2.

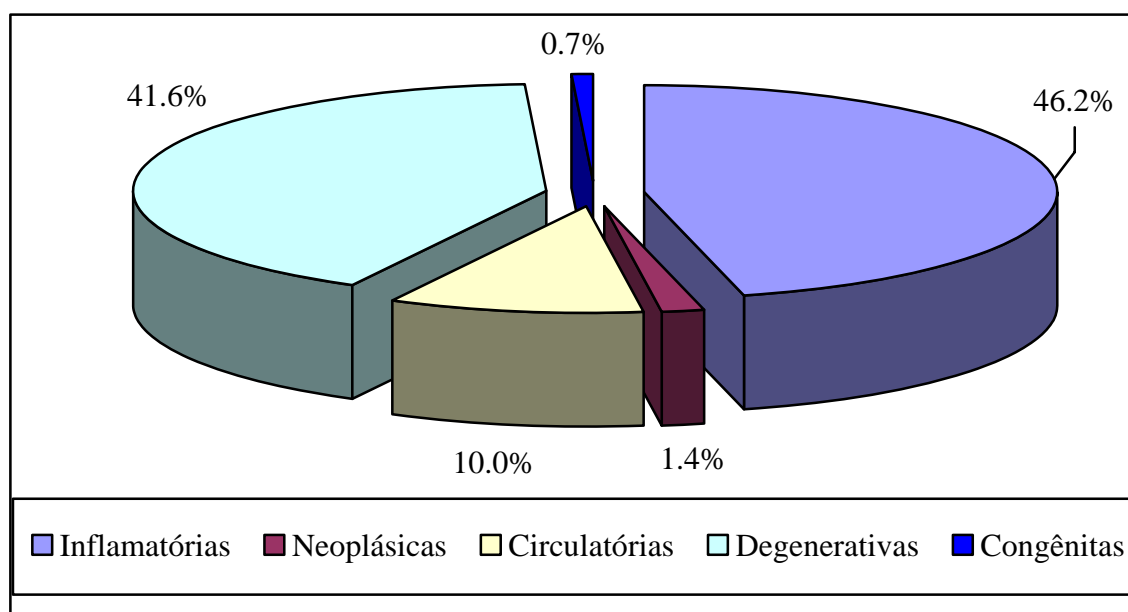


Figura 14. Categoria de lesões encontradas em 279 encéfalos de bovinos com alterações histológicas examinados entre 2001-2005, durante o programa de vigilância das encefalopatias espongiformes transmissíveis no Laboratório de Patologia da Universidade Federal de Santa Maria.

Tabela 1. Diagnósticos realizados em 279 encéfalos de bovinos examinados entre 2001-2005, durante o programa de vigilância das encefalopatias espongiformes transmissíveis, no Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria.

<b>Diagnóstico</b>	<b>Número de bovinos</b>	<b>%</b>
Abscessos cerebrais	10	3,6
Babesiose cerebral	19	6,8
Cetose (por outros métodos)	1	0,3
Compressão medular	1	0,3
Encefalomalacia focal simétrica	6	2,1
Encefalopatia hepática	70	26,0
Febre catarral maligna	13	4,6
Hemorragias traumáticas	9	3,2
Hidranencefalia	1	0,3
Hipoplasia cerebelar	1	0,3
Intoxicação por <i>Ateleia glazioviana</i>	3	1,0
Intoxicação por <i>Claviceps paspali</i>	1	0,3
Intoxicação por <i>Solanum fastigiatum</i>	22	7,8
Intoxicação por <i>Vicia</i> spp.	7	2,5
Listeriose	3	1,0
Meningite bacteriana	1	0,3
Meningoencefalite não-purulenta inespecífica	38	13,6
Meningoencefalite por herpesvírus bovino	26	9,3
Meningoencefalite purulenta inespecífica	4	1,4
Neoplasias	4	1,4
Polioencefalomalacia	11	3,9
Raiva	27	9,7
Tétano (por outros métodos)	1	0,3
<b>Total</b>	<b>279</b>	<b>100%</b>

Tabela 2. Diagnósticos por categoria da amostra realizados em 3.338 encéfalos de bovinos examinados entre 2001-2005, durante o programa de vigilância das encefalopatias espongiformes transmissíveis, no Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria.

<b>Diagnóstico</b>	<b>Número de bovinos</b>
<b>Categoria 1</b>	<b>326</b>
Abscessos cerebrais	3
Babesiose cerebral	1
Encefalopatia hepática	4
Hemorragias traumáticas	3
Intoxicação por <i>Solanum fastigiatum</i>	1
Listeriose	2
Meningoencefalite não-purulenta inespecífica	32
Meningoencefalite por herpesvírus	5
Meningoencefalite purulenta inespecífica	3
Polioencefalomalacia	4
Raiva	3
Sem alterações histopatológicas	265

Tabela 2. Continuação

<b>Diagnóstico</b>	<b>Número de bovinos</b>
<b>Categoria 2</b>	<b>308</b>
Abscessos cerebrais	7
Babesiose cerebral	18
Cetose (por outros métodos)	1
Compressão medular	1
Encefalite não-purulenta inespecífica	1
Encefalomalacia focal simétrica	6
Encefalopatia hepática	57
Febre catarral maligna	13
Hemorragia traumática	2
Hidranencefalia	1
Hipoplasia cerebelar	1
Intoxicação por <i>Ateleia glazioviana</i>	3
Intoxicação por <i>Claviceps paspali</i>	1
Intoxicação por <i>Solanum fastigiatum</i>	20
Meningite bacteriana	1
Meningoencefalite não-purulenta inespecífica	3
Meningoencefalite por herpesvírus	21
Meningoencefalite purulenta inespecífica	1
Neoplasia	1
Polioencefalomalacia	7
Raiva	24
Sem alterações histopatológicas	117
Tétano (por outros métodos)	1
<b>Categoria 3</b>	<b>105</b>
Encefalopatia hepática	9
Intoxicação por <i>Solanum fastigiatum</i>	1
Intoxicação por <i>Vicia</i> spp.	7
Neoplasia	3
Sem alterações histopatológicas	85
<b>Categoria 4</b>	<b>385</b>
Hemorragias traumáticas	4
Listeriose	1
Meningoencefalite não-purulenta inespecífica	2
Sem alterações histopatológicas	378
<b>Categoria 5</b>	<b>2022</b>
Sem alterações histopatológicas	2022
<b>Categoria 6</b>	<b>192</b>
Sem alterações histopatológicas	192

As Figuras 15-17 mostram a condição das amostras de encéfalos de bovinos examinados entre 2001-2005. Na Figura 15 pode ser observada a condição da amostra levando em conta o número total de encéfalos examinados. Na Figura 16 a condição da amostra é distribuída em cada ano do período e na Figura 17, observa-se a condição da amostra em cada categoria de bovino examinada.



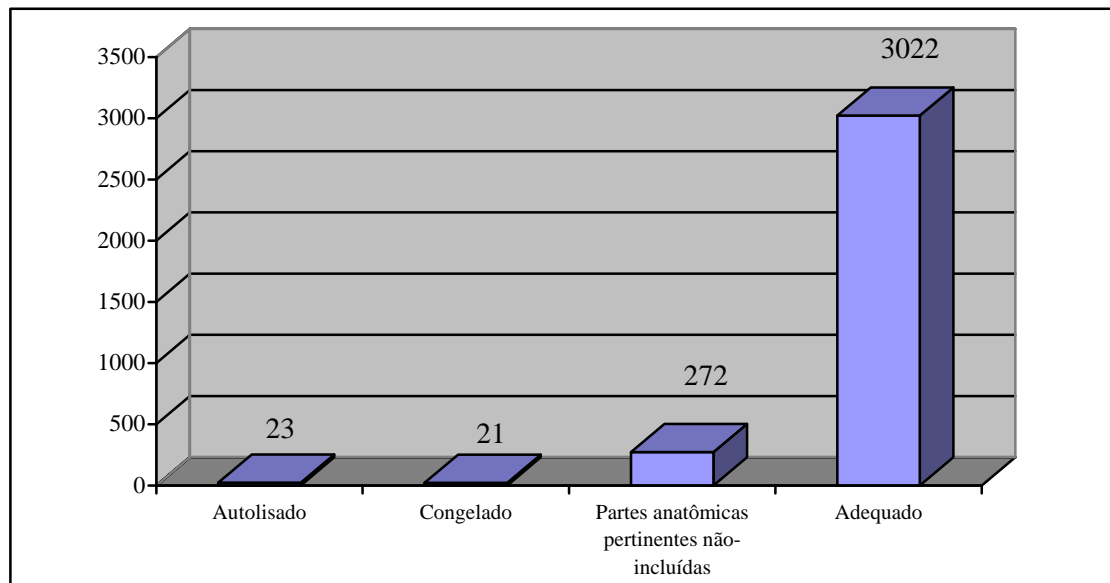


Figura 15. Número de encéfalos de bovinos examinados entre 2001-2005, em cada categoria da condição da amostra, durante o programa de vigilância das encefalopatias espongiformes transmissíveis, no Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria.

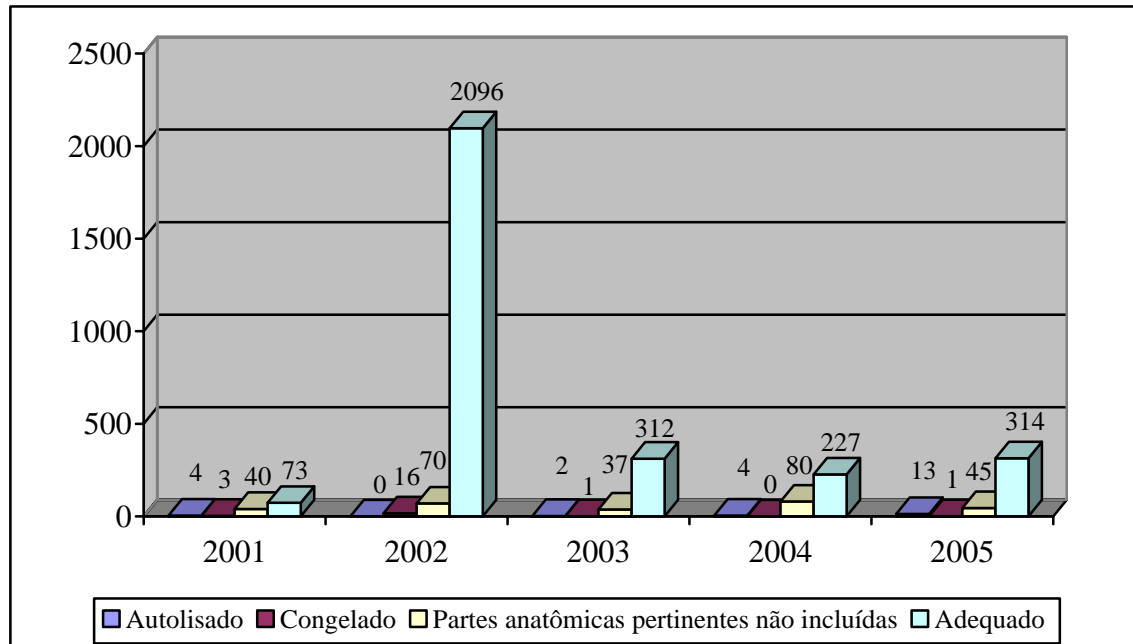


Figura 16. Número de encéfalos de bovinos examinados a cada ano (2001-2005), em cada categoria da condição da amostra, durante o programa de vigilância das encefalopatias espongiformes transmissíveis, no Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria.

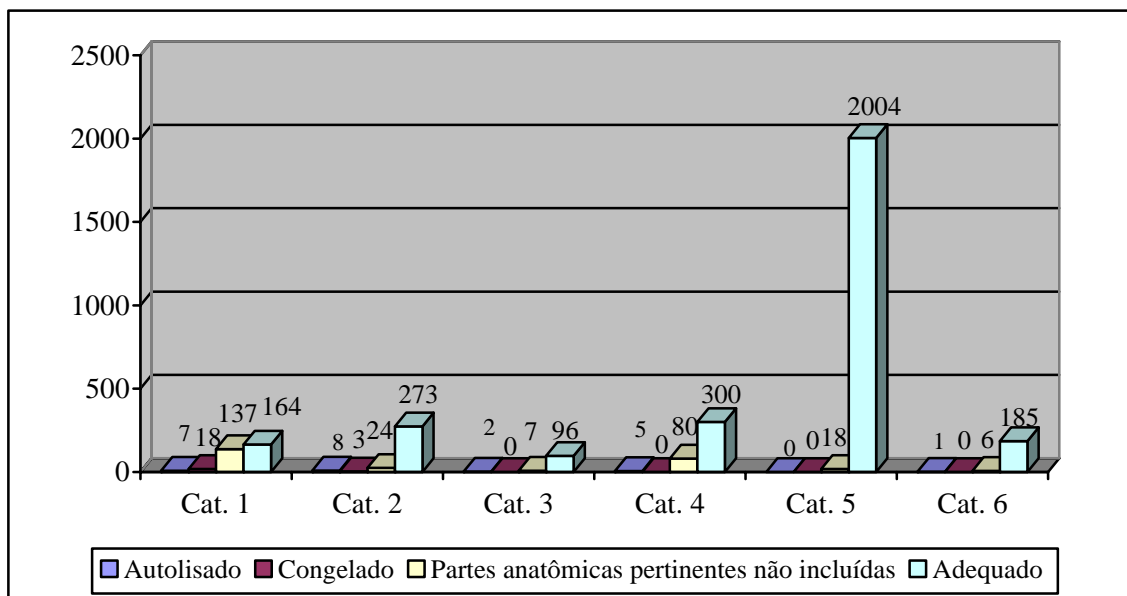


Figura 17. Número de encéfalos de bovinos examinados entre 2001-2005, por categoria da amostra, durante o programa de vigilância das encefalopatias espongiformes transmissíveis, no Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria.

## 6 DISCUSSÃO

Até 2001, o Brasil possuía apenas a vigilância passiva para BSE, i.é, baseada na detecção e notificação compulsória de casos de bovinos com sinais clínicos de distúrbios nervosos observados em ruminantes. A partir de 2002, quando laboratórios de patologia veterinária foram credenciados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (Quadro 5, Figura 8 e Anexo 3 da seção 2), o Brasil passou a realizar a vigilância ativa para BSE, que define e testa as populações de risco (Quadro 6) para a doença. A partir daí, gradativamente, maior número de encéfalos de bovinos e outros ruminantes foram examinados. Em 5 anos (2001-2005) foram examinados 3.338 encéfalos de bovinos no Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria (LPV/UFSM). Um estudo retrospectivo realizado no LPV/UFSM mostrou que de 1964-1999 foram examinados 473 encéfalos em 6.021 necropsias de bovinos (Sanches et al. 2000). Esses números indicam que até a implantação do programa DXSNC, eram examinados cerca de 13 encéfalos de bovinos/ano. Nos cinco anos após a implantação do programa, 667 encéfalos de bovinos foram analisados a cada ano, i.é o número de encéfalos examinados anualmente foi 51 vezes maior.

De 3.338 encéfalos de bovinos examinados durante os 5 anos, 92% não apresentaram alterações histopatológicas (Figura 12). Alguns desses bovinos apresentavam sinais clínicos de distúrbios nervosos ou tinham doença crônica ou depauperante (Categorias 1, 2 e 3). Como observado na Figura 12, 81% dos encéfalos de bovinos das Categorias 1 e 3 e 38% dos encéfalos do bovino da Categoria 2 não apresentaram alterações histopatológicas. A baixa frequência de lesões histológicas no encéfalo de bovinos da Categoria 3 é compreensível. Nessa categoria estavam incluídos bovinos com doença crônica depauperante ou caquetizante que na grande maioria das vezes não eram relacionadas com lesões no encéfalo. Exemplo disso são bovinos afetados por neoplasmas do trato alimentar superior associados ao consumo de samambaia, que apresentavam perda de peso progressiva (Moreira Souto et al. 2006). Na Categoria 2, a ausência de lesões histológicas em cerca de um terço dos encéfalos examinados, pode ser explicada de três maneiras: 1) essa categoria incluía bovinos com doenças que, apesar de produzir sinais clínicos de distúrbios nervosos, não produzem alterações morfológicas observáveis no encéfalo (por ex., tétano, cetose, botulismo); 2) incluía doenças cujos sinais clínicos mimetizam distúrbios nervosos como doenças musculares (por ex., intoxicação por *Senna occidentalis*, intoxicação por ionóforos) e 3)

incluía doenças que apesar de não apresentarem sinais clínicos de distúrbios nervosos, mesmo assim eram relatadas pelo clínico (por várias razões) como casos neurológicos. Esses últimos casos incluem aqueles em que o clínico sente a necessidade de eliminar do diferencial doenças como raiva, e desse modo, mesmo que não existisse sinais clínicos de distúrbios nervosos eles seriam mencionados, para justificar o pedido de exame para raiva. Embora por definição todos os bovinos da Categoria 1 apresentassem sinais clínicos nervosos, a ausência de lesões histológicas na maioria dos casos se deve ao fato de que a inadequada colheita ou fixação do encéfalo (Figura 10 da seção 2) torna difícil a percepção e interpretação dos achados histológicos. Quarenta e nove por cento dos encéfalos na Categoria 1 apresentavam mau acondicionamento da amostra (autolisado, congelado ou partes anatômicas pertinentes não-incluídas). Isso pode prejudicar o diagnóstico de algumas enfermidades que possuem distribuição específica de lesões no SNC.

Em todos os encéfalos de todas as categorias de bovinos analisadas, achados de pouco significado clínico, associados à colheita ou fixação do material foram anotados nos laudos histopatológicos. Esses achados foram descritos na seção 3 deste estudo e devem ser diferenciados de achados associados a doenças para evitar interpretação errônea. Por exemplo, a conglutinação cerebelar mostrada na Figura 45 da seção 3 já foi interpretada como lesão cerebelar *antemortem* significativa. Nesse sentido, é também importante que os laboratórios adotem critérios de padronização do diagnóstico e preenchimento dos laudos histopatológicos.

As doenças diagnosticadas em cada laboratório credenciado refletem a prevalência dessas doenças na região. Essa afirmação é verdadeira, mesmo que o laboratório credenciado receba material para exame histopatológico oriundo de outros estados do país. Atualmente, o LPV/UFSM recebe material para análise histológica dos seguintes Estados: Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná e Goiás. A maioria dos materiais de outros Estados são provenientes de frigoríficos (Categorias 5 e 6) e não apresentam alterações histopatológicas (Figura 13).

Dos 2% (279 casos) de encéfalos que apresentaram alterações histopatológicas, as lesões mais freqüentemente observadas foram inflamatórias (46,2%) e degenerativas (41,6%) (Figura 14). O diagnóstico mais prevalente foi encefalopatia hepática (26%), seguido por meningoencefalite não-purulenta inespecífica (13,6%) e raiva (9,7%) (Tabela 1). A maior freqüência da encefalopatia hepática está relacionada com sua causa primária. No Rio Grande do Sul, a causa mais freqüente de morte em bovinos adultos é

a intoxicação por *Senecio* spp. (Rissi et al. 2007) e a encefalopatia hepática em bovinos é secundária à insuficiência hepática que ocorre na seneciose. Trinta e dois dos 38 casos (84%) de meningoencefalite não-purulenta inespecífica (Tabela 2) são de encéfalos provenientes da Categoria 1, i.é, de laboratórios da rede oficial que testaram negativo para raiva. Como foi mencionado anteriormente, 49,6% desses materiais não são coletados ou fixados adequadamente. Três principais enfermidades virais cursam com meningoencefalite não-purulenta no Brasil: raiva, meningoencefalite por herpesvírus e febre catarral maligna (FCM) (Langohr et al. 2003, Rech et al. 2005, Rech et al. 2006a, Rissi et al. 2006). Lesões histológicas características são observadas em cada uma dessas enfermidades (Barros et al. 2006a), no entanto, na maioria das vezes, essas lesões são observadas analisando diversos fragmentos de diferentes regiões anatômicas do SNC ou de estruturas associadas como o complexo gânglio de Gasser, *rete mirabile* carotídea e hipófise (GRH) (Rech et al. 2006c).

A terceira enfermidade mais prevalente foi a raiva (9,7%) seguida por meningoencefalite por herpesvírus (9,3%). Essa ordem de frequência já havia sido observada em levantamento anterior feito no LPV/UFSM (Sanchez et al. 2000). No entanto, no caso da raiva a prevalência encontrada neste estudo foi 5 vezes menor (9,7%) do que a observada no estudo anterior (49,5%). O número de casos das alterações degenerativas quase dobrou em relação ao estudo anterior (24,2% para 42%), especificamente os de encefalopatia hepática (10,4% para 26%). A diferença na prevalência de casos de encefalopatia hepática nos dois estudos se deve ao aumento de casos de intoxicação por *Senecio* spp. em bovinos no RS. Provavelmente fatores ligados ao clima e à diminuição do rebanho ovino podem ter contribuído para o aumento da incidência de casos de seneciose bovina. Em um estudo realizado entre 2003 e 2004, envolvendo casos de seneciose bovina no Rio Grande do Sul foi observada alta frequência de encefalopatia hepática nessa intoxicação (Masuda et al. 2005).

A predominância das alterações degenerativas sobre as alterações inflamatórias reflete, em grande parte, a crescente importância da intoxicação por plantas em bovinos na região de influência do LPV/UFSM (Rech et al. 2007, Rissi et al. 2007). Dos 279 diagnósticos com lesões no encéfalo de bovinos, 109 (39%) foram atribuídos à intoxicação por plantas (Tabela 1). Dessas, a intoxicação por *Vicia* spp. (7 casos) foi incluída na categoria de alterações inflamatórias (Rech et al. 2004). O segundo diagnóstico mais prevalente de intoxicação por plantas, foi a intoxicação por *Solanum fastigiatum* (7,8% dos casos). Apesar de a intoxicação por *Solanum fastigiatum*

raramente causar a morte dos bovinos, é uma enfermidade que causa acentuados sinais clínicos de distúrbios nervosos (Rech et al. 2006b). As doenças menos prevalentes foram as alterações neoplásicas e congênicas (1,4% e 0,7% dos diagnósticos respectivamente). Nos neoplasmas foram considerados os multicêntricos, como o linfoma (Figuera & Barros 2004), metastáticos como o carcinoma de células escamosas, e a extensão direta de carcinoma de células escamosas do olho (Barros et al. 2006c) e de osteossarcoma das fossas nasais. Não foi observado neoplasma primário do SNC. Das alterações congênicas (hidranencefalia e hipoplasia cerebelar) foram descritos os aspectos morfológicos, mas a causa não foi determinada.

Devido à análise sistemática do SNC de bovinos, novos diagnósticos foram adicionados ao programa, por exemplo, encefalomalacia focal simétrica em bovinos intoxicados por *Ramaria flavo-brunnescens* (Barros et al. 2006b). Novas lesões foram descritas, por exemplo, diminuição da espessura da camada molecular do cerebelo em bovinos intoxicados por *Solanum fastigiatum* (Rech et al. 2006b) e meningoencefalite granulomatosa em bovinos intoxicados por *Vicia* spp. (Rech et al. 2004).

Em relação à condição da amostra, existe sensível diferença nos valores quando se observam as diferentes categorias de bovinos (Figura 17). Como foi mencionado anteriormente, o índice de materiais não-adequados na Categoria 1 foi de 49,6% seguido da Categoria 4 (22%), Categoria 2 (11,3%), Categoria 3 (8,5%), Categoria 6 (3,6%) e Categoria 5 (0,9%). Esses índices mostram que o material proveniente dos frigoríficos (Categoria 5 e 6) é, em sua grande maioria, adequado para o diagnóstico, apesar de consistir apenas do tronco encefálico. Nos poucos casos em que o material não é adequado, ocorre pela perda de partes importantes do tronco encefálico devido à pressão intracraniana provocada pela pistola pneumática na hora da dessensibilização. Os baixos índices de materiais não-adequados das Categorias 2 e 3 são explicados pelo fato de que na maioria das vezes esses encéfalos são coletados pela equipe do LPV/UFSM em necropsias a campo. Muitas vezes, médicos veterinários da região enviam a cabeça do bovino e a equipe do LPV/UFSM faz a retirada do encéfalo e do complexo GRH. A Categoria 4 apresenta índice alto de materiais inadequados. Isso é particularmente preocupante por se tratar de uma das categorias mais visadas para a vigilância da BSE, pois esses bovinos são provenientes de países de risco. Além disso, o número total de bovinos importados recebidos no período de 5 anos do estudo (n=385) é muito pequeno. Pelos dados oficiais do Brasil foram importados, a partir de 1992, 10.626 bovinos, e pelos dados dos países exportadores 12.545 bovinos foram exportados para o Brasil

(EFSA, Scientific Report 2005).

Quando se compara a condição da amostra em relação aos anos compreendidos no estudo (Figura 16), observa-se que não houve melhora significativa na colheita correta do encéfalo. De 2003-2005, a percentagem de material não-adequado oscila entre 11,4%, 37% e 15%, respectivamente. Esses dados indicam que o MAPA deve continuar com os cursos de padronização da colheita e remessa do material para exame histopatológico, visando a redução desses números.

## 7 CONCLUSÕES

Este estudo demonstra que o Brasil desenvolveu um programa de vigilância adequado para a BSE. A localização geográfica dos laboratórios credenciados, o treinamento do pessoal desses laboratórios e os métodos de diagnóstico empregados permitem afirmar, com razoável margem de segurança, que casos clínicos de BSE seriam detectados caso aparecessem no país. O estudo, no entanto apontou algumas falhas nesse sistema de vigilância. Uma delas é a pouca afluência de material para teste originário de bovinos que testaram negativo para raiva, de bovinos importados e de bovinos de abate de emergência em frigoríficos com inspeção federal; outra são as más condições das amostras enviadas para diagnóstico.

A partir do estudo sistemático dos encéfalos de bovinos submetidos ao laboratório no programa de vigilância foi possível estabelecer várias conclusões sobre doenças comuns do sistema nervoso central (SNC) de bovinos, como raiva, intoxicação por *Solanum fastigiatum*, intoxicação por *Vicia* spp., intoxicação por *Ramaria flavo-brunnescens*, meningoencefalite por herpesvírus bovino, babesiose cerebral e febre catarral maligna. Essas conclusões estão mencionadas nos trabalhos específicos publicados sobre cada um desses assuntos e incluídos nesta tese.

O sistema de vigilância da BSE aumentou significativamente o número de encéfalos de bovinos examinados no Laboratório de Patologia Veterinária (LPV) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Isso resultou em aumento de material didático, favorecendo o ensino de neuropatologia veterinária no LPV/UFSM ao mesmo tempo em que apontou linhas de pesquisa para outros pós-graduandos do laboratório com interesse nessa área.

Durante o exame de rotina do SNC de bovinos neste estudo foram observados, anotados e ilustrados vários artefatos, alterações de pouco significado clínico e alterações *postmortem* que distraem o patologista das lesões realmente importantes durante o exame de rotina. Concluímos que a catalogação ilustrada desses achados contribui para que se evitem essas distrações.

Em nosso meio, as enfermidades inflamatórias que produzem lesões no encéfalo de bovinos com maior frequência são raiva, meningoencefalite por herpesvírus bovino e febre catarral maligna. As enfermidades degenerativas que produzem lesões no encéfalo de bovinos com maior frequência são encefalopatia hepática e intoxicação por *Solanum fastigiatum*. Neoplasmas são alterações de ocorrência rara no SNC de bovinos.



## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Barros C.S.L., Driemeier D., Dutra I.S. & Lemos R.A.A. 2006a. Doenças do Sistema Nervoso de Bovinos no Brasil: Coleção Vallée. AGNS, São Paulo. 207p.

Barros R.R., Irigoyen L.F., Kommers G.D., Rech R.R., Figuera R.A. & Barros C.S.L. 2006b. Intoxicação por *Ramaria flavo-brunnescens* (Clavariaceae) em bovinos. Pesq. Vet. Bras. 26:87-96.

Barros R.R., Rech R.R., Viott A.M. & Barros C.S.L. 2006c. Carcinoma de células escamosas no olho de bovino com invasão cerebral através dos nervos cranianos. Ciência Rural 36:1651-1654.

EFSA Scientific report. 2005. 38, 1-5 on the Assessment of the Geographical BSE risk of Brazil. Disponível em: [www.efsa.eu.int](http://www.efsa.eu.int)

Figuera R.A. & Barros C.S.L. 2004. Linfossarcoma intracerebral em bovino. Ciência Rural 34:943-945.

Langohr I.M., Irigoyen L.F., Lemos R.A.A. & Barros C.S.L. 2003. Aspectos epidemiológicos, clínicos e distribuição das lesões histológicas no encéfalo de bovinos com raiva. Ciência Rural, Santa Maria, 33:125-131.

Masuda, E.K., Rissi D.R., Barros R.R. & Barros C.S.L. 2005. Epidemiologia, sinais clínicos e patologia da intoxicação por *Senecio* spp em bovinos no Rio Grande do Sul. Arq. Bras. Med. Vet. Zoot. 57:65-65.

Moreira Souto M.A., Kommers G.D., Barros C.S.L., Piazer J.V.M., Rech R.R., Riet-Correa F. & Schild A.L. 2006. Neoplasias do trato alimentar superior de bovinos associadas ao consumo espontâneo de samambaia (*Pteridium aquilinum*). Pesq. Vet. Bras. 26:112-122.

Rech R.R., Figuera R.A., Oliveira F.N. & Barros C.S.L. 2004. Meningoencefalite granulomatosa em bovinos em pastoreio de ervilhaca (*Vicia* spp). Pesq. Vet. Bras. 24:169-172.

Rech R.R., Rissi D.R., Pierezan F., Inkelmann M.A. & Barros C.S.L. 2006a. Raiva em herbívoros: 27 casos. Encontro Nacional de Laboratórios de Diagnóstico Veterinário, Campo Grande, p. 43-44.

Rech R.R., Rissi D.R., Rodrigues A., Pierezan F., Piazer J.V.M., Kommers G.D. & Barros C.S.L. 2006b. Intoxicação por *Solanum fastigiatum* (Solanaceae) em bovinos: epidemiologia, sinais clínicos e morfometria das lesões cerebelares. Pesq. Vet. Bras. 26:183-189.

Rech R.R., Rissi D.R., Silva M.C., Inkelmann M.A. & Barros C.S.L. 2006c. Histomorfologia do gânglio de Gasser, da *rete mirabile* carotídea e da hipófise de bovinos: estudo de 199 casos. Pesq. Vet. Bras. 26:105-111.

Rech R.R., Rodrigues A., Rissi D.R., Riet-Correa F. & Barros C.S.L. 2007. Poisonous plants affecting the central nervous system (CNS) of cattle in Brazil. p. 238-243. In: Panter K.E.; Wierenga T.L. & Pfister J.A.(ed.). Poisonous Plants: Global Research and Solutions. Wallingford: CAB International.

Rech R.R., Schild A.L., Driemeier D., Garmatz S.L., Oliveira F.N., Riet-Correa F. & Barros C.S.L. 2005. Febre catarral maligna em bovinos no Rio Grande do Sul: epidemiologia, sinais clínicos e patologia. *Pesq. Vet. Bras.* 25:97-105.

Rissi D.R., Oliveira F.N., Rech R.R., Pierezan F., Lemos R.A.A. & Barros C.S.L. 2006. Epidemiologia, sinais clínicos e distribuição das lesões encefálicas em bovinos afetados por meningoencefalite por herpesvírus bovino-5. *Pesq. Vet. Bras.* 26:123-132.

Rissi D.R., Rech R.R., Pierezan F., Gabriel A.L., Trost M.A. Brum J.S. Kommers G.D. & Barros C.S.L. 2007. Intoxicações por plantas e micotoxinas associadas a plantas em bovinos no Rio Grande do Sul: 461 casos. *Pesq. Vet. Bras.* 27(4): (no prelo)

Sanches A.W.D., Langohr I.M., Stigger A.L. & Barros C.S.L. 2000. Doenças do sistema nervoso central em bovinos no Sul do Brasil. *Pesq. Vet. Bras.* 20:113-118.