



**Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento**

**SDA - Secretaria de Defesa Agropecuária
DDA - Departamento de Defesa Animal**



Procedimentos para o Diagnóstico das Doenças do Sistema Nervoso Central de Bovinos



Encefalopatia Espongiforme Bovina

"Prevenção é o nosso trabalho"

www.agricultura.gov.br



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



Procedimentos para o Diagnóstico das Doenças do Sistema Nervoso Central de Bovinos



Encefalopatia Espongiforme Bovina

"Prevenção é o nosso trabalho"

Brasília - DF

2003

Presidente da República

Luis Inácio Lula da Silva

Ministro da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Roberto Rodrigues

Secretário Executivo

José Amauri Dimarzio

Secretário de Defesa Agropecuária

Maçao Tadano

Diretor do Departamento de Defesa Animal

João Crisostomo Mauad Cavalléro

Coordenador de Vigilância e Programas Sanitários

Jamil Gomes de Souza

Programa Nacional de Controle da Raiva dos Herbívoros e outras Encefalopatias

Guilherme Henrique Figueiredo Marques

Assessoria

Maria das Graças Queiroz Turíbio - PNESA

Catálogo na Fonte

Coordenação Geral de Informação Documental Agrícola - CENAGRI

Coordenação e Planejamento de Produção e Marketing

PeterPublisher & Associados

Direção de Arte

Américo de Brito

Impressão

Lid Gráfica Editora Ltda.

Barros, Claudio Severo Lombardo.

Procedimentos para o diagnóstico das doenças do sistema nervoso central de bovinos /

Claudio Severo Lombardo Barros e Guilherme Henrique Figueiredo Marques. -- Brasília : MAPA/SDA/DDA, 2003.

50 p. : il. color.

1. Doença da Vaca Louca. 2. Doença animal - EEB. 3. Doença animal - BSE. 4. Diagnóstico. 5. Prevenção. 6. Controle. 7. Doença da Vaca Louca - Manual. I. Marques, Guilherme Henrique Figueiredo. II. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Defesa Animal. III. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. IV. Título.

AGRI 5212; L73; L70

CDU 619 : 636.2

Apresentação

Com a crescente globalização dos mercados a manutenção da saúde dos rebanhos tornou-se fundamental para a preservação do patrimônio pecuário de países como o Brasil. Atualmente o comércio internacional estabelece exigências sanitárias rígidas, que constituem obstáculos maiores do que as barreiras tarifárias. Dentro desse quadro a iniciativa privada não terá condições de competir no mercado globalizado de oferta de produtos de qualidade sem que haja o concurso de um eficiente serviço de defesa sanitária atestando a qualidade da matéria-prima e dos produtos, atuando como parceiro essencial dos segmentos de exportação.

Durante a última década a epidemia de Encefalopatia Espongiforme Bovina - EEB, registrada no Reino Unido e, subseqüentemente, em outros países europeus, causou enormes prejuízos ao setor pecuário, em conseqüência, principalmente, da elevada percepção de risco em relação à doença, que resultou em acentuada redução do consumo de carne bovina naquele continente.

Embora o risco associado à EEB no Brasil seja extremamente reduzido, a adoção de medidas sanitárias para prevenir a sua introdução no País é imprescindível, pois a sua ocorrência causará prejuízos imensuráveis à pecuária nacional, além do risco para a saúde humana, atingindo repercussões sociais e econômicas elevadíssimas.

Assim, desde o aparecimento da EEB no Reino Unido, as autoridades sanitárias brasileiras preocuparam-se em evitar a sua introdução no País, mediante a adoção de medidas sanitárias que envolveram, entre outras, restrições à importação de animais susceptíveis e de seus produtos originários de países considerados de risco para a enfermidade, o rastreamento de animais anteriormente importados desses países e a proibição da utilização de proteína de origem animal na formulação de alimentos destinados aos ruminantes.

A valorização e a qualificação dos serviços de defesa sanitária animal, como elementos fundamentais no processo de avaliação e certificação da condição sanitária dos rebanhos, são os pilares para a credibilidade internacional. Por sua vez, o processo de tomada de decisão, relacionado à manutenção de eficiente gestão de toda a estrutura sanitária, envolve a presença de profissionais permanentemente informados, motivados e avaliados, participando de uma organização voltada às atividades fundamentais que devem no mínimo considerar:

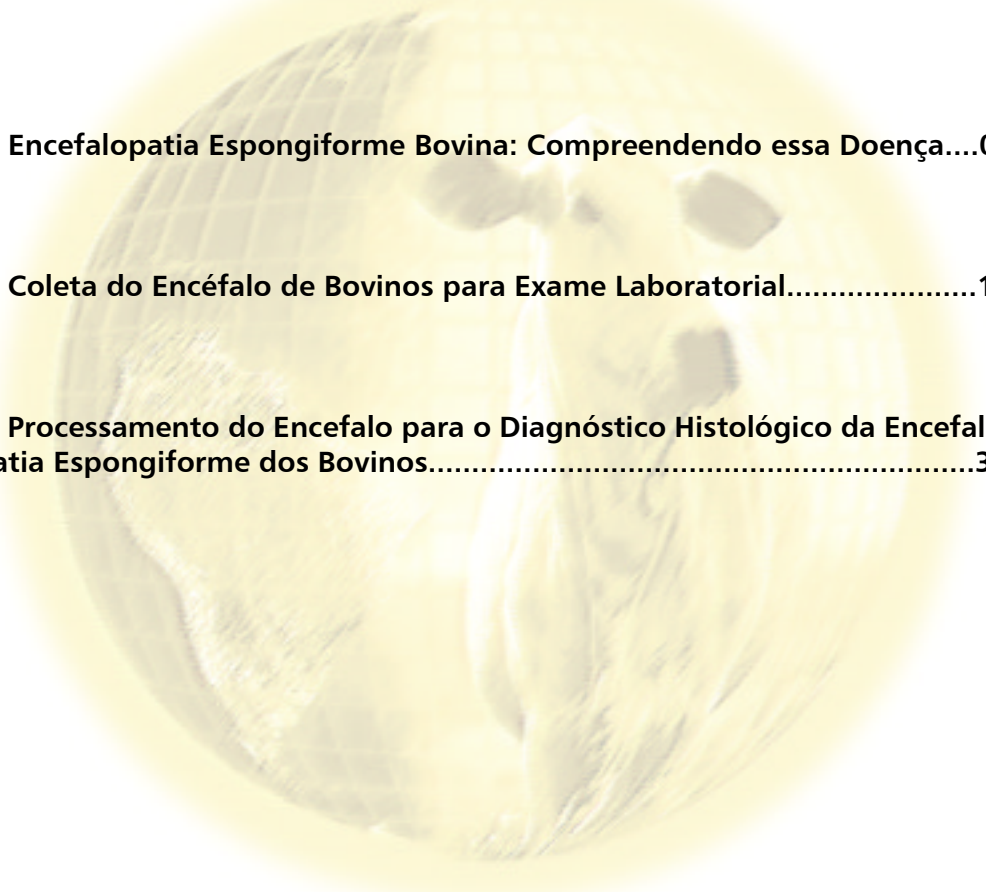
- a obtenção constante e permanente da informação referente ao espaço sob atenção, e o seu processamento de forma sistemática e oportuna;
- a análise e elaboração de documentos informativos e de apoio ao sistema;
- o armazenamento dos dados nos níveis locais e centrais determinados;
- a retroalimentação do sistema de vigilância e prevenção, considerando todos os atores sociais envolvidos.

Nesse contexto, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, alicerçado em legislações específicas, implantou o sistema nacional de vigilância para as Encefalopatias Espongiformes Transmissíveis - EET, que recebe agora o suporte deste manual, que, além da padronização de ações, tem por objetivo oferecer subsídios técnicos para a vigilância das síndromes neurológicas a todos os Médicos Veterinários Oficiais e aos profissionais autônomos envolvidos nos programas de sanidade animal, fornecendo garantias do estado sanitário de nosso rebanho e disponibilizando às autoridades sanitárias brasileiras um valioso instrumento para a manutenção do Brasil como país livre da EEB.


João Crisostomo Mauad Cavalléro

Diretor do Departamento de Defesa Animal

Sumário

- 
1. Encefalopatia Espongiforme Bovina: Compreendendo essa Doença....05
 2. Coleta do Encéfalo de Bovinos para Exame Laboratorial.....15
 3. Processamento do Encefalo para o Diagnóstico Histológico da Encefalopatia Espongiforme dos Bovinos.....35



ENCEFALOPATIA ESPONGIFORME BOVINA

COMPREENDENDO ESSA DOENÇA

Claudio S.L. de Barros, Med. Vet., PhD.

Professor Titular
Chefe do Setor de Patologia Veterinária
Departamento de Patologia
Universidade Federal de Santa Maria
Santa Maria, Rio Grande do Sul

Guilherme H. Figueiredo Marques, Med. Vet.

Fiscal Federal Agropecuário
Gerente Nacional do PNCRH
Departamento de Defesa Animal
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abatecimento
Brasília, Distrito Federal

ENCEFALOPATIA ESPONGIFORME BOVINA: COMPREENDENDO ESSA DOENÇA

I - Definição

A encefalopatia espongiforme bovina - EEB - (em inglês, **BSE**, sigla para *bovine spongiform encephalopathy*), conhecida como “doença da vaca louca” - é uma condição degenerativa crônica e transmissível do sistema nervoso central (SNC) de bovinos caracterizada clinicamente por nervosismo, reação exagerada a estímulos externos e dificuldade de locomoção, principalmente nos membros pélvicos⁶.

As alterações espongiformes encontradas no exame microscópico deram o nome à doença. O agente da EEB é extremamente resistente ao calor, aos processos convencionais de esterilização e não induz resposta imune ou inflamatória. A doença já foi relatada em bovinos de cerca de 20 países, embora acima de 90% dos casos tenha ocorrido na Grã-Bretanha. A EEB faz parte de um grupo complexo de doenças neurodegenerativas que afetam pessoas e animais, conhecidas como encefalopatias espongiformes transmissíveis (EETs). As principais características das EETs encontram-se na Tabela 1. As principais EETs de pessoas e animais são relacionadas, respectivamente, nas Tabelas 2 e 3.

2 - A causa da EEB e das outras EETs

Durante pesquisas para elucidar a etiologia das EETs os cérebros homogeneizados de hamsters infectados por scrapie (uma EET de ovinos) eram fracionados em vários componentes. Desses, a fração mais infecciosa demonstrou possuir grandes quantidades de uma determinada proteína que não era destruída pelas proteases (enzimas que dissolvem as proteínas). Essa proteína, batizada como príon (do inglês *proteinaceous infectious particle*, com o “i” e o “o” trocados por conveniência lingüística) ou PrP (*prion protein*)⁷, não era encontrada em cérebros de hamsters normais. A sequência de aminoácidos da PrP era a mesma que a de uma proteína encontrada em quantidades iguais em cérebros infectados e não infectados, mas que, ao contrário da PrP, podia ser degradada por enzimas proteolíticas. Havia, portanto, duas formas (apresentações estruturais) da mesma proteína. A forma encontrada apenas nos cérebros dos animais infectados foi subsequentemente denominada PrP^{sc} (onde sc significa scrapie, a doença protótipo das EETs). A forma encontrada tanto nos cérebros infectados como nos não infectados foi chamada de PrP^c (onde c significa celular, i.é, própria das células normais)¹. Várias evidências acumuladas até os dias de hoje indicam que a proteína PrP^{sc} seja o agente etiológico das EETs, embora outras teorias como a do vírus e a do virino ainda persistam.

A PrP^c é glicoproteína normal da membrana plasmática da célula e ocorre na maioria das células, mas predominantemente nas células do SNC. A PrP^c é transformada na isoforma anormal PrP^{Sc} que se acumula no SNC e produz a doença.

O agente das EETs é extremamente resistente à inativação por calor (1 hora a 360° C de calor seco), radiação ultravioleta e substâncias químicas.

Estudos da patogenia das EETs, baseados em experimentos com scrapie indicam que, quando se usam as rotas periféricas da infecção, o agente replica inicialmente no baço e linfonodos e chega ao cérebro provavelmente por via das fibras simpáticas dos nervos das vísceras que são conectados à porção média da medula espinhal torácica¹⁴. Da medula o agente progride para o cérebro numa velocidade de um milímetro por dia. Uma vez no SNC, a infectividade pode passar centrifugamente para os tecidos periféricos.

A presença do agente das EETs nos tecidos é determinada pela inoculação de camundongos com o material a ser testado, o que pode levar 700 dias. A EEB tem sido transmitida experimentalmente a várias espécies. Em bovinos naturalmente afetados, o agente foi encontrado no encéfalo, medula espinhal e retina. Em bovinos afetados experimentalmente, a porção distal do íleo, a medula óssea, os gânglios do nervo trigêmeo e os gânglios das raízes dorsais dos nervos espinhais também mostraram infectividade. Não foram encontradas evidências de infectividade no leite e na carne (tecido muscular) de bovinos afetados tanto experimental como naturalmente.

3 - Epidemiologia

A EEB foi identificada pela primeira vez na Grã-Bretanha, em 1986¹⁰, mas dados epidemiológicos e revisões de arquivos de preparações histológicas deram conta da ocorrência de casos já em 1985¹³ e alguns estudos sugerem que casos possam ter ocorrido já na década de 70. A grande maioria dos bovinos afetados por EEB pertence a rebanhos da Grã-Bretanha. São oficialmente cerca de 180.000, desde 1986, distribuídos por 35.000 rebanhos, numa média 1 a 2 casos por rebanho afetado¹³. Fora da Grã-Bretanha, a doença foi confirmada num número relativamente pequeno (cerca de 2.800) de bovinos nativos da Alemanha, Áustria, Bélgica, Canadá, Dinamarca, Eslováquia, Eslovênia, Espanha, Finlândia, França, Grécia, Irlanda, Israel, Itália, Japão, Liechtenstein, Luxemburgo, Países Baixos, Polônia, Portugal, República Tcheca e Suíça. Com exceção de algumas poucas dezenas de casos, todos os 2.800 bovinos afetados fora da Grã-Bretanha são nativos. Em alguns países ocorreram casos somente em bovinos importados, como foi o caso de Ilhas Malvinas e Oman. Informações atualizadas podem ser obtidas no endereço eletrônico da Organização Mundial de Sanidade Animal - OIE (www.oie.int).

Embora não exista predileção por raça ou sexo ou por questões de manejo, a doença na Grã-Bretanha ocorre principalmente em vacas de leite, entre 3 e 6 anos de idade.

A EEB foi adquirida pelos bovinos através da alimentação com rações de farinha de carne ou de osso contaminadas pelo agente etiológico. A fonte da infecção poderia ser ovinos contaminados por scrapie ou bovinos afetados por uma forma esporádica da doença, até então não detectada. A entrada dos primeiros bovinos contaminados na cadeia alimentar por certo aumentou a epidemia. Alterações nos processos de fabricação dessas rações de farinha de carne ou de osso, ocorridas no fim da década de 1970 e início da década de 80, podem ter contribuído para o aparecimento da doença¹³. A ingestão de menos que um grama de cérebro de um animal contaminado é suficiente para produzir a doença. Não há evidência de que a EEB se dissemine horizontalmente, mas sugere-se que a transmissão materna ou vertical possa acontecer. No entanto, acredita-se que isso ocorreria em níveis muito baixos, insuficientes para perpetuar a epidemia¹³.

4 - Sinais clínicos

O período de incubação da EEB (tempo decorrido desde que o animal foi infectado até o aparecimento dos primeiros sinais clínicos) é de 2 a 8 anos (média 5 anos), embora períodos de incubação mais longos tenham sido relatados. Após o aparecimento dos sinais clínicos, a doença evolui invariavelmente para morte num curso de 3 semanas a 6 meses. Bovinos afetados por EEB sofrem de degeneração progressiva do sistema nervoso central e podem apresentar alterações do temperamento, da sensibilidade e da locomoção^{2,8,9,12}. Sinais clínicos gerais incluem decréscimo na produção de leite e perda de peso, apesar da manutenção do apetite.

a. *Distúrbios no comportamento.*

Incluem nervosismo, medo ou agressividade, postura anormal, incoordenação e dificuldade em levantar. Bovinos com EEB são freqüentemente muito nervosos, alerta e excitáveis, alterações que podem se manifestar por um tipo de movimento espasmódico de todo o corpo. Esses distúrbios do comportamento são mais evidentes quando o animal é excitado. Sinais clínicos possíveis de ocorrer também são salivação e um olhar assustado com olhos esbugalhados. Por vezes o animal apresenta ranger de dentes. Outros sintomas incluem lamber freqüente do focinho e franzir do nariz. Alguns bovinos também exibem movimentos nervosos das orelhas. Nos estágios terminais da EEB, o animal tem dificuldade em levantar-se ou pode permanecer em decúbito permanente.

b. *Distúrbios na sensibilidade.*

Bovinos com EEB comumente apresentam distúrbios na sensibilidade, reagindo exageradamente ao toque (alteração mais comum), ao som e à luz.

c. *Distúrbios na locomoção.*

Andar rígido, incoordenação, hipermetria e ataxia generalizada são sinais freqüentes em bovinos afetados por EEB. A hipermetria é mais pronunciada 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 posterior e decúbito.

5 - Achados de necropsia e histopatologia

Não há lesões macroscópicas diretamente relacionadas à doença, mas as lesões microscópicas da EEB são altamente específicas. São lesões degenerativas, simétricas e bilaterais e localizam-se em certas regiões da substância cinzenta do tronco encefálico^{11,12}. Essas alterações caracterizam-se basicamente por vacúolos que dão o aspecto esponjiforme à substância encefálica.

Existem achados incidentais que devem ser considerados com cuidado no exame histológico de bovinos. Vacúolos no citoplasma dos neurônios do núcleo vermelho do mesencéfalo são um achado incidental comum em cérebros de bovinos e encontrados em 64% de encéfalos de bovinos normais⁵. Quando encontrados somente nesse local, não devem ser levados em conta no diagnóstico da BSE^{11,12}. Inflamações não-purulentas inespecíficas (manguitos perivascularares) são encontradas em cerca de 30% de bovinos adultos normais⁴ e podem resultar de infecções subclínicas ou latentes. Da mesma forma, aparecem grânulos intracitoplasmáticos de ceróide-lipofuscina nos neurônios. Esses achados parecem não ser significativos¹² e devem ser considerados achados incidentais.

6 - Diagnóstico

Atualmente não há teste para detectar a doença no animal vivo. A doença pode ser confirmada pelo exame microscópico do tecido encefálico ou pela detecção da forma anormal do príon (PrP^{Sc}). Isso pode ser feito por microscopia eletrônica ou por métodos imunológicos. Quando extratos de cérebros de animais afetados com EETs são examinados ao microscópio eletrônico, as PrP^{Sc} (príons) aparecem como estruturas em forma de bastonete denominadas SAFs (*scrapie associated fibrils*). Métodos imunológicos incluem a detecção da proteína (PrP^{Sc}) por imunoistoquímica ou por western immunoblotting³ e os chamados testes rápidos em ELISA ou immunoblotting⁵.

Atualmente, no Brasil, o diagnóstico é realizado pelo exame histológico de cortes selecionados do tronco encefálico e por imunoistoquímica. Para ambos os testes é suficiente o envio do cérebro, fixado conforme especificado no informativo *Procedimentos para o Diagnóstico das Doenças do Sistema Nervoso Central de Bovinos*.

7 - Controle, profilaxia e tratamento

Não há tratamento ou vacina para impedir o aparecimento da doença. Medidas para prevenir a introdução de casos incluem não importar ruminantes e seus produtos de países considerados de risco para a EEB, não alimentar ruminantes com proteína de origem animal, com cama de frango, com resíduos da exploração de suínos e impedir a permanência de carcaças no campo.

8 - Dados sobre o sistema de vigilância brasileiro

A produção de leite e de carne bovina no Brasil é feita quase que exclusivamente pela criação e engorda de animais a pasto. A suplementação alimentar, quando ocorre, é feita com proteína vegetal, tornando remota a difusão da EEB no país.

No entanto, desde o aparecimento da doença no Reino Unido (RU), as autoridades sanitárias brasileiras preocuparam-se em proteger o país da entrada da EEB, visando preservar o patrimônio pecuário e a saúde pública. Foram tomadas medidas sanitárias como a restrição à importação de animais susceptíveis e seus produtos, quando originários de países de risco, o rastreamento dos animais importados desses países e a imposição de restrições à formulação de alimentos destinados aos ruminantes.

É grande o número de produtos para uso humano que são obtidos de tecidos de várias espécies de ruminantes. Essas substâncias de origem animal são utilizadas como componentes na produção de medicamentos, cosméticos, produtos biológicos e outros insumos para saúde humana. Diversas medidas sanitárias foram adotadas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA (www.anvisa.gov.br/vacalouca/index.htm) com objetivo de proteger a saúde da população, garantindo a segurança sanitária de produtos e serviços.

O Governo Brasileiro não importou farinha de carne e ossos dos países considerados de risco para a EEB, tendo como única e eventual fonte de risco os bovinos importados desses países, nos quais não foram detectados sinais de EEB. Considerando que as importações ocorreram entre 10 e 23 anos atrás (tempo consideravelmente mais longo do que o período médio de incubação da doença), a possibilidade que esses bovinos venham a desenvolver EEB é remota. Não obstante, todos os bovinos importados, assim como seus descendentes, vêm sendo acompanhados, inclusive com análises laboratoriais.

Na Tabela 4, estão relacionados os tipos de populações bovinas avaliadas no sistema de vigilância da EEB no Brasil. Em 2001 e 2002 foram examinados histologicamente 5.894 encéfalos de bovinos, sendo que 1.361 desses apresentavam sinais clínicos de doença neurológica. Essa cifra é de longe superior aos 433 encéfalos de bovinos com sinais clínicos nervosos que a OIE recomenda examinar.

Os países que mantêm comércio de produtos de origem animal com o Brasil, consideraram satisfatórias as garantias fornecidas pelo governo brasileiro sobre os bovinos importados e quanto a estabilidade de nosso sistema de vigilância, classificando o risco da importação desses produtos e bovinos como desprezível.

9 - Referências

1. Baker HF, Ridley RM: Fatal Protein. The story of CJD, BSE and Other Prion Diseases, p. 3. Oxford University Press, Oxford, England, 1998.
2. Davis AJ, Jenny AL, Miller LD: Diagnostic characteristics of bovine spongiform encephalopathy. *J Vet Diagn Invest*, 3:266-271, 1991.
3. Farquar J, Sommerville RA, Ritchie LA: Postmortem immunodiagnosis of scrapie and bovine spongiform encephalopathy. *J Virol Methods* 24:215-222, 1989.
4. Gavier-Widen D, Wells GAH, Simmons MM, Wilesmith JW, Ryan J: Histological observations on the brains of symptomless 7-year-old cattle. *J Comp Path* 124: 52-59, 2001.
5. Moynagh J, Schimmel H: Tests for BSE evaluated. *Nature* 400:105, 1999.
6. Pattison JR: Bovine spongiform encephalopathy. *Infect Dis Review* 1: 119-121, 1999.
7. Prusiner SB: Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. *Science*, 216: 136-144, 1982
8. World Health Organization: Understanding the BSE Threat, WHO, Geneva 23 p, 2002.
9. Weber P, Möstl K, Weissenböck E, Möstl E, Baumgartner W: Bovine Spongiforme Enzephalopathie (BSE)- Verlauf und Bekämpfung 1987 - 1997. *Wien Tierärztl Mschr*, 85: 175-186, 1998.
10. Wells GAH, Scott AC, Johnson CT, Gunning RF, Hancock, RD, Jeffrey M, Dawson M, Bradley R: A novel progressive spongiform encephalopathy in cattle. *Vet Rec*, 121: 419-420, 1987.
11. Wells GAH. Bovine spongiform encephalopathy: diagnostic significance of vacuolar changes in selected nuclei of the medulla oblongata. *Vet Rec*, 125: 521-524, 1989.
12. Wells GAH: Bovine spongiform encephalopathy: A neuropathological perspective. *Brain Pathol*, 1:69-78, 1991.
13. Wilesmith JW: Manual on Bovine Spongiform Encephalopathy, p. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 1998.
14. Zeidler M, Gibbs CJ, Meslin F: WHO Manual for Strengthening Diagnosis and Surveillance of Creutzfeldt-Jakob Disease p. 39-40, World Health Organization, Geneva, 1998.

ANEXO I

Tabela 1. Características das encefalopatias espongiformes transmissíveis (EETs)

Período de incubação longo (meses ou anos)
Doença neurológica progressiva e sempre fatal
Alterações patológicas confinadas ao sistema nervoso central (SNC)
Alterações espongiformes no SNC
Transmissíveis (natural ou experimentalmente)
Ausência de respostas inflamatória e imune
Ocorre em pessoas em animais (ver Tabelas 2 e 3)

Tabela 2. Encefalopatias espongiformes transmissíveis (EETs) em seres humanos.

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 iatrógeno (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 EETs.

Fonte: Baker HF, Ridley RM: Fatal protein. The story of CJD, BSE and other prion diseases, p. 3. Oxford University Press, Oxford, England, 1998.

Tabela 3. Encefalopatias espongiformes transmissíveis (EETs) em animais.

Scrapie	Doença endêmica raro de ovinos e caprinos. Considerada o protótipo das EETs.
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 scrapie.
Doença dos depauperantes crônica (CWD)	Doença de origem obscura que afeta alces selvagens e em cativeiro nos Estados Unidos e Canadá.
Encefalopatia espongiforme dos bovinos (EEB)	Doença epidêmica em bovinos de leite, principalmente no Reino Unido. Causada provavelmente pela alimentação de bovinos com rações contendo restos de ovinos infectados por scrapie ou de bovinos infectados por EEB, ou de ambos.
Encefalopatia espongiforme felina (FSE)	Doença observada em gatos domésticos e em alguns outros felídeos selvagens em cativeiro (guana, guepardo e ocelotes). Causada provavelmente pela alimentação desses animais com ração contendo material contaminado por EEB.
Encefalopatia espongiforme em outras espécies	Identificada em vários mamíferos de zoológico; por exemplo, lúdo, óris árabe e cimitari. Causada provavelmente pela alimentação desses animais com ração contendo material contaminado por EEB.

Fonte: Baker HF, Ridley RM: Fatal protein. The story of CJD, BSE and other prion diseases, p. 3. Oxford University Press, Oxford, England, 1998.

Tabela 4. Categorias de bovinos cujos encéfalos são examinados no sistema de vigilância para EEB no Brasil.

Bovinos que testaram negativos para saliva na rede oficial de diagnóstico
Bovinos com sinais clínicos neurológicos
Bovinos importados de países com casos nativos de BSE
Bovinos acima de 30 meses de alta produção leiteira abatidos em matadouro frigorífico
Bovinos de abate de emergência
Bovinos acima de 30 meses com doença crônica caquelizante
Bovinos acima de 30 meses em decúbito



COLETA DO ENCÉFALO DE BOVINOS

PARA EXAME LABORATORIAL

Claudio S.L. de Barros, Med. Vet., PhD.

Professor Titular

Chefe do Setor de Patologia Veterinária

Departamento de Patologia

Universidade Federal de Santa Maria

Santa Maria, Rio Grande do Sul

COLETA DO ENCÉFALO DE BOVINOS PARA EXAME LABORATORIAL

1 - Introdução

A encefalopatia espongiforme bovina (BSE), conhecida em todo o mundo como “doença da vaca louca”, é uma doença degenerativa crônica que afeta o sistema nervoso central de bovinos. A doença foi diagnosticada pela primeira vez na Grã-Bretanha em 1986^{1,2} e causou grande impacto econômico na pecuária do Reino Unido. Foi também confirmada em bovinos nativos da Áustria, Bélgica, Canadá, República Tcheca, Dinamarca, Eslováquia, Eslovênia, Espanha, Finlândia, França, Alemanha, Holanda, Itália, Irlanda, Israel, Japão, Liechtenstein, Luxemburgo, Portugal e Suíça. A preocupação de que a BSE apresentasse risco para os consumidores de carne bovina esteve presente desde o início da epidemia na Inglaterra. Essa preocupação atingiu níveis extremamente altos quando, na terceira semana de março de 1996, num comunicado ao parlamento inglês, o Secretário do Estado da Saúde da Inglaterra anunciou que a ocorrência de uma nova variante da doença neurológica de humanos, Creutzfeldt Jakob (CJD), era provavelmente relacionada à BSE^{1,2}. Um dos resultados dessa crescente preocupação é que as autoridades sanitárias internacionais estão solicitando dos países exportadores de carne que apresentem evidências de que seus rebanhos são livres da doença. Isso equivale a dizer que esses países devem ter um controle capaz de atestar que seu rebanho bovino é livre de BSE, identificar as doenças que afetam o sistema nervoso central e reconhecer casos de BSE, se eles ocorrerem.

O objetivo deste manual é fornecer uma orientação para coleta de material para o diagnóstico histológico de BSE e de outras doenças do sistema nervoso de bovinos. Embora a BSE não ocorra no Brasil, é necessário

manter-se um esquema de vigilância para essa doença. Constan aqui instruções para o exame preliminar do tecido nervoso, seleção e remessa ao laboratório de diagnóstico. As enfermidades que afetam direta ou indiretamente o sistema nervoso de bovinos no Rio Grande do Sul foram revisadas recentemente¹⁰ e presume-se que a distribuição no restante do Brasil seja, pelo menos, semelhante, com variações quanto à prevalência das doenças em certas regiões. Essas doenças serão levadas em consideração na coleta do material.

Para que o exame do sistema nervoso de bovinos atinja um número significativo de casos, espera-se poder contar com o material recebido pela rede de diagnóstico para raiva, já existente no país. Por essa razão, procurou-se incluir instruções que contemplem a coleta de material, possibilitando o exame para o diagnóstico de raiva, da BSE e de outras enfermidades do sistema nervoso de bovinos¹⁰.

2 - Recomendações gerais

2.1 As doenças do sistema nervoso central (SNC) frequentemente não apresentam lesões óbvias à necropsia. Por isso, o patologista que examina o material no laboratório depende de um histórico e de observações clínicas confiáveis para orientação sobre a natureza da doença neurológica⁹. Um formulário com os principais dados referentes ao(s) animal(ais) afetado(s), aos achados epidemiológicos e clínicos e aos principais achados de necropsia deve ser preenchido (Anexo 1). A remoção e coleta de amostras do sistema nervoso requerem tempo e esforço. É, portanto, necessário estabelecer critérios para realização dessas tarefas. Se não houver sinais clínicos e histórico sugestivos de doença neurológica, é pouco provável que o exame do sistema nervoso revele lesões significativas. Nos casos em que não há histórico clínico ou ele é pouco preciso ou quando a morte do animal ocorreu sem sinais premonitórios, recomenda-se o exame neuropatológico.

2.2 Informe sobre a data e hora da morte, o tempo decorrido entre a morte e a necropsia e sobre qualquer demora entre coleta e fixação do material. Esses dados são importantes para a realização do exame neuropatológico. Doenças que oferecem risco para a saúde humana (por ex., raiva, listeriose) devem ser consideradas antes da realização dos exames e os cuidados necessários devem ser tomados. O uso de luvas de borracha e de um visor (óculos) durante a abertura do crânio é recomendado.

2.3 Se o material for destinado ao exame histológico, é extremamente importante que o manuseio do tecido nervoso ainda não-fixado seja o mínimo possível. O exame macroscópico detalhado deve, por isso, ser feito após a fixação. O manuseio do tecido nervoso não-fixado causa artefatos que prejudicam a avaliação histológica das lesões.

2.4 Tanto quanto possível, o exame macroscópico sistemático do encéfalo deve ser feito no órgão fixado (a fixação endurece os tecidos). Isso facilita a seleção de áreas apropriadas para o diagnóstico de doenças específicas e permite que se determine a distribuição das lesões. A distribuição das lesões no sistema nervoso (i.e., bilaterais, simétricas, focais, multifocais, na substância branca, na substância cinzenta) é característica para várias doenças e deve ser anotada. Muitas vezes o encéfalo não pode ser fixado inteiro, como seria o ideal, pois há necessidade de conservar partes do órgão não fixadas para exames virológicos e bacteriológicos.

2.5 Não misture tecidos de animais diferentes, mesmo que representem casos de uma mesma doença. Tecidos de cada animal devem ser identificados claramente.

3 - Retirada do encéfalo

A coleta não criteriosa e aleatória de numerosas amostras de encéfalo não-fixado pode dificultar o exame neuropatológico no laboratório. Quando houver vários animais para necropsia, num surto de uma doença neurológica, o tempo para a retirada do encéfalo pode ser um fator limitante. Nesse caso, selecione alguns animais para o exame neuropatológico. Colha o material tentando eliminar, ou diminuir ao máximo, danos ao tecido nervoso, causados durante a sua retirada.

3.1 Através de um acesso ventral, remova a cabeça, desfazendo a articulação atlanto-occipital. Nesse ponto, examine a superfície e a cápsula das articulações e o aspecto físico do líquido cefalorraquidiano (LCR) que flui quando a dura-máter é seccionada. Em casos com pouco tempo decorrido desde a morte, pode-se retirar uma amostra asséptica de LCR antes de seccionar-se a dura-máter.

3.2 Disseque a pele e os músculos da cabeça. Abra a cavidade craniana seguindo as linhas mostradas na Figura 1. Isso pode ser feito com serra comum ou cutelo do tipo usado por açougueiros. O encéfalo é, então, exposto com a dura-máter intacta.

3.3 Usando tesouras, retire a dura-máter, seccionando a foice do cérebro e o tentório (tenda) do cerebelo (Figura 2). Com a cabeça do bovino inclinada, remova o encéfalo seccionando os nervos cranianos. Sem o corte prévio dessas estruturas, é impossível remover o cérebro intacto. Evite ao máximo manusear, pressionar e apertar o tecido nervoso durante o processo de remoção, para evitar artefatos histológicos que prejudiquem o exame no laboratório.

3.4 O gânglio do nervo trigêmeo (gânglio de Gasser) e a *rete mirabile* carotídea devem ser colhidos junto com a hipófise (Figura 3). O exame desse par de gânglios nervosos do 5º par de nervos cranianos é importante para o diagnóstico de doenças como raiva e meningoencefalite por herpesvírus bovino (BHV-5). Nessas duas doenças, freqüentemente se observa inflamação (ganglioneurite) do gânglio do nervo trigêmeo. Em casos de febre catarral maligna¹¹, os vasos da *rete mirabile* mostram lesão característica (vasculite).

3.5 Examine o encéfalo para possíveis lesões macroscópicas, pesquisando possíveis assimetrias (i. é, algumas estruturas mais volumosas que outras) e alterações da cor (por ex., hiperemia das meninges, congestão do córtex em casos de babesiose por *Babesia bovis*, córtex amarelo-castanho em casos de polioencefalomalacia).

4 - Seleção das amostras a serem colhidas

O material para exames virológicos e bacteriológicos deve ser colhido antes da fixação do encéfalo. Por outro lado, o congelamento torna o encéfalo inadequado para o exame histológico. Como muitos casos necessitam da realização dos três tipos de exame, um meio-termo deve ser alcançado.

4.1 Coleta de amostras para a bacteriologia e virologia

4.1.1 Inicialmente remova o cerebelo, cortando no nível dos pedúnculos cerebelares. Introduza a ponta de uma lâmina no 4º ventrículo pela parte caudal do cerebelo (Figura 4). Corte rostral e horizontalmente os pedúnculos cerebelares separando o cerebelo do bulbo num dos lados e, depois, no outro. Ao findar essa operação, o cerebelo estará completamente separado do encéfalo (Figura 5).

4.1.2 Corte na altura do tálamo, separando o tronco encefálico do resto do encéfalo (Figura 6). Ao findar essa operação, você obterá três partes: a) o tronco encefálico, b) o cerebelo, c) o restante do encéfalo (Figura 7).

4.1.3 Para obter a amostra 1, retire uma fatia sagital (cerca de 0,5 cm) do verme do cerebelo (Figura 8).

4.1.4 Para obter a amostra 2, corte um segmento transversal de cerca de 2,5 cm da medula espinhal cervical (Figura 9).

4.1.4 A amostra 3 é obtida cortando-se uma fatia do tálamo cerca de 1 cm de espessura (Figura 10).

4.1.5 A amostra 4 é obtida dividindo um dos hemisférios cerebrais na altura do quiasma óptico, separando a parte caudal do restante (Figura 11).

4.1.6 Nesse ponto, as quatro amostras a serem enviadas para o exame virológico ou bacteriológico foram obtidas (Figura 12). Os fragmentos selecionados são adequados para o exame de raiva^{3,8} e para exame de outras doenças causadas no sistema nervoso de bovinos por outros vírus e bactérias^{9,11}. Essas três amostras devem ser conservadas em um refrigerador e remetidas refrigeradas. No entanto, se o tempo entre a coleta e a remessa for maior que 24 horas é aconselhável congelar as amostras para a remessa, mas nunca fixá-las.

4.1.7 O restante do encéfalo (Figura 13) deve ser fixado conforme instruções a seguir (item 4.2), pois destina-se ao exame histológico. Deve-se também fixar em formol a 10% e remeter, junto com o material mostrado na Figura 3, o bloco de tecidos constituído pela rede admirável carotídea, o gânglio do nervo trigêmeo e a hipófise.

4.2 Coleta e fixação de material para exame histológico

4.2.1 Para fixar o encéfalo, formol a 10% é o fixador indicado. Para preparar um litro dessa solução, use 100 ml de formaldeído (35-40%) e 900 ml de água de torneira. Existe uma confusão freqüente entre aldeído fórmico (ou **formaldeído**) e formalina comercial (ou **formol**). Formaldeído é um gás com o qual se prepara uma solução aquosa de 35-40%. Essa solução constitui a formalina comum.

O termo formalina refere-se, portanto, à apresentação comercial da solução de formaldeído. Assim, formol (ou formalina) a 10% representa uma solução preparada misturando-se 10 ml de formalina comercial (formaldeído a 35-40%) com 90 ml de água⁴. O formol tamponado fornece uma fixação com melhores resultados, mas não é essencial, pois a fórmula dada acima permite um exame histológico aceitável do encéfalo. A fórmula para preparação de um litro de formol tamponado é dada a seguir⁷.

Reagentes

Solução de 35-40% de formaldeído (formalina)	100ml
Água destilada	900ml
Fosfato monobásico de sódio	4g
Fosfato dibásico (anidro) de sódio	6,5g

Procedimento

Misture previamente os tampões fosfato em água quente para que se dissolvam, antes de adicionar o restante da água com solução de formaldeído. Adicione o formaldeído após esfriar a solução para diminuir os vapores. Inverta o recipiente várias vezes para permitir uma boa mistura. Faça a mistura e use a solução apenas em áreas bem ventiladas.

Observações

Mesmo que essa solução de formol seja tamponada, com o tempo o pH vai baixar, provocando o aparecimento de pigmentos de hematina ácida em tecidos congestos (que têm muito sangue).

4.2.2 Coloque o encéfalo num volume de fixador que seja, pelo menos, 10 vezes maior que o volume de tecido a ser fixado. Assim, são necessários 6 litros do fixador para fixar o encéfalo inteiro de um bovino adulto (600 cm³). O tempo mínimo de fixação varia com o tamanho do encéfalo. Um encéfalo de camundongo necessita 24 horas para ser fixado; um encéfalo de ovelha, aproximadamente 4 dias; um encéfalo de bovino adulto, uma semana. Após a fixação, o tecido necessitará uma quantidade muito menor de fixador, facilitando o transporte ao laboratório.

Ao fixar o encéfalo, evite misturá-lo com outros materiais que possam comprimir o tecido nervoso, danificando-o para o exame histológico.

5 - Remessa do material ao laboratório

5.1 Cada material de encéfalo deve ser enviado em vasilhame não deformável (por ex., um vasilhame plástico duro), ao invés de ser enrolado em algodão ou gaze. O vasilhame deve ser completamente preenchido pelo fixador, de modo a excluir o ar, amortecendo, assim, os efeitos do movimento. Em casos urgentes, mesmo cérebros não completamente fixados podem ser transportados, mas, nesse caso, devem ser fornecidas informações sobre o tempo de fixação.

5.2 É importante que a embalagem que contém o encéfalo (tanto as partes não fixadas como as fixadas) a ser remetido ao laboratório seja hermeticamente fechada para evitar vazamentos e exposição de pessoas que manuseiem o pacote. Qualquer remessa deve ser acompanhada do formulário do Anexo 1, preenchido.

6 - Referências

1. Baker HF, Ridley RM: Fatal protein. The story of CJD, BSE and other prion diseases. Oxford University Press, Oxford, 249 p., 1998.
2. Baker HF, Ridley RM: What went wrong in BSE? From prion disease to public disaster. Brain Research Bull. 40:237-244,1996.
3. Bingham J, van der Merwe M: Distribution of rabies in infected brain material: determining the reliability of different regions of the brain for rabies fluorescent antibody test. J Virol Methods 101:85-95, 2002.
4. Escourelle R, Poirer J: Manual of basic neuropathology. WB Saunders, Philadelphia, 1978. Brief survey of neuropathological techniques: p. 213-226.
5. Getty R: Sistema nervoso. Cap. 13, p.205. In Getty R: Sisson/Grossman Anatomia dos animais domésticos. 5 ed. Interamericana, Rio de Janeiro, 1981.
6. Jenkins TW: Functional mammalian neuroanatomy. Lea & Febiger, Philadelphia, p. 17, 1972.
7. Luna LG: Manual of histologic staining methods of Armed Forces Institute of Pathology. 3 ed. McGraw-Hill, New York: p.3,1968.
8. Office International des Epizooties (World Organization For Animal Health). Manual of standards for diagnostic tests and vaccines. Chapter 3.1.5 (rabies), p. 209-210, Paris, 1996.
9. Riet-Correa F, Riet-Correa G, Schild AL: Importância do exame clínico para o diagnóstico das enfermidades do sistema nervoso em ruminantes e eqüídeos. Pesq Vet Bras 22:161-168, 2002.
10. Sanches AWD, Langohr IM, Stigger AL, Barros CSL: Doenças do sistema nervoso central em bovinos no Sul do Brasil. Pesq Vet Bras 20: 113-118, 2000.
11. Summers BA, Cummings JF, De Lahunta A: Veterinary Neuropathology. Mosby, St. Louis. 527p., 1995.

12. Wells GAH, Scott AC, Johnson CT, Gunning RF, Hancock, RD, Jeffrey M, Dawson M, Bradley R: A novel progressive spongiform encephalopathy in cattle. Vet Rec, 121:419-420,1987.

7 - Glossário

Aracnóide: membrana delgada que recobre o encéfalo e a medula espinhal.

BSE: encefalopatia espongiforme dos bovinos (do inglês, Bovine Spongiform Encephalopathy).

CJD: doença de Creutzfeldt Jakob. Doença neurológica de humanos causada por príon, com lesões semelhantes às da BSE.

Dura-máter: membrana mais espessa que recobre o encéfalo e a medula espinhal.

Foice do cérebro: prega da dura-máter em forma de foice, localizada entre os hemisférios cerebrais. Sua parte rostral fixa-se na crista *galli* e a parte caudal se junta ao tentório do cerebelo⁴.

Gânglio: acúmulo de neurônios fora do sistema nervoso central.

Leptomeninges: conjunto formado pela pia-máter e aracnóide.

Paquimeninge: dura-máter.

Pia-máter: membrana delgada que recobre o cérebro e a medula espinhal.

Príons: um nome dado a moléculas protéicas consideradas os agentes etiológicos das encefalopatias espongiformes, como a BSE. Essa proteína é central para o desenvolvimento dessas doenças. Em indivíduos sadios ela pode ser digerida por uma protease (enzima que digere proteínas). Nos indivíduos com doenças causadas por príons (por ex., BSE), essa proteína sofre uma modificação pós-translacional, de maneira a se tornar resistente à digestão de proteases.

O nome príon é derivado da expressão inglesa *proteinaceous infectious*. Deveria, por lógica, ser denominada "proin", mas a expressão príon era mais facilmente pronunciável¹.

Rete mirabile (rede admirável): uma rede intercalada no trajeto de uma artéria⁴. A rede admirável carotídea fica de cada lado da hipófise, entre essa glândula e o gânglio do nervo trigêmeo.

Tentório do cerebelo: extensão da dura-máter que separa transversalmente o cerebelo e os pólos occipitais dos hemisférios cerebrais⁴.

Tronco encefálico: é composto do mielencéfalo, a ponte (que pertence ao metencéfalo) e o diencefalo. Assim, quando retiramos, do sistema nervoso central, a medula espinhal na altura do forâmen magno, o telencéfalo (hemisférios cerebrais) e o cerebelo, o que resta é o tronco encefálico⁶.

ANEXO I

Formulário de requisição de exames

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

Para preenchimento exclusivo quando for bovino importado
 Nome do animal: _____ Número do animal: _____ País de Origem: _____
 Com sintomatologia nervosa? Sim ☐ Não ☐ Para indenização? Sim ☐ Não ☐

Proprietário: _____ Propriedade: _____
 Endereço: _____ Município: _____ UF: _____
 Email: _____ Telefone: () _____ Fax: () _____

Espécie: Bovina ☐ Ovina ☐ Caprina ☐ Raça: _____ Idade: _____ meses
 Haviam outras espécies afetadas? Sim ☐ Não ☐ Categoria afetada: ♂ ☐ ♀ ☐
 Número de animais: no rebanho () doentes () mortos ()
 O animal morto já foi vacinado para: Raiva ☐ Clostridiose ☐ Outras _____

Data do início do surto/doença: ____/____/____ Duração do surto/doença: _____
 Tipos de sinais clínicos apresentados:

Morte súbita ☐	Cegueira ☐	Torção ☐	Paralisia flácida dos membros posteriores ☐
Depressão ☐	Incoordenação ☐	Convulsões ☐	Paralisia flácida dos membros anteriores ☐
Ataxia ☐	Tetania ☐	Dismetria ☐	Com paralisia, mais ainda alerta ☐
Opistótomos ☐	Agressividade ☐	Tremores ☐	Nistagmo ☐

 Duração dos sinais clínicos (desde o início até a morte): _____ horas
 Haviam 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 2

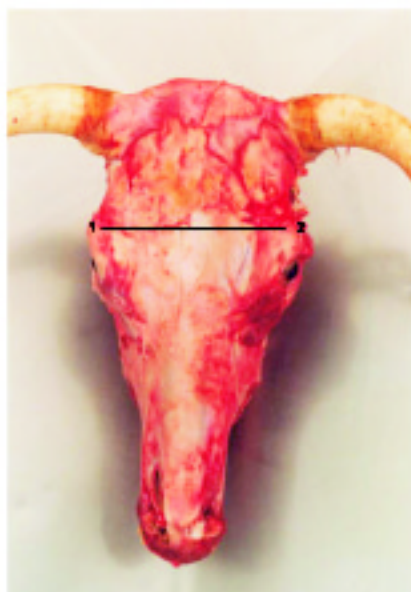


Figura 1 A



Figura 1 B



Figura 1 C

Figura 1. Remoção do encéfalo. As linhas marcam os locais onde o crânio deve ser cortado para a retirada do encéfalo. **A.** A primeira linha liga dois pontos (1 e 2) imediatamente anteriores às órbitas. **B.** A segunda linha une os pontos 1 e 2 ao forâmen magno do occipital. **C.** A mesma linha mostrada em **B** é visualizada na porção posterior da cabeça.

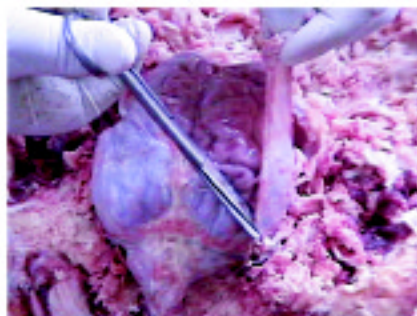


Figura 2 A

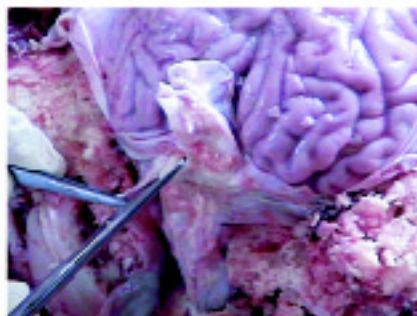


Figura 2 B

Figura 2. Usando tesouras, retire a dura-máter, seccionando a foixe do cérebro (A) e o tentório (tenda) do cerebelo (B).

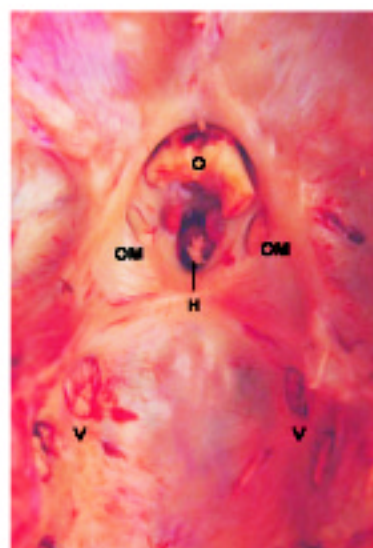


Figura 3 A

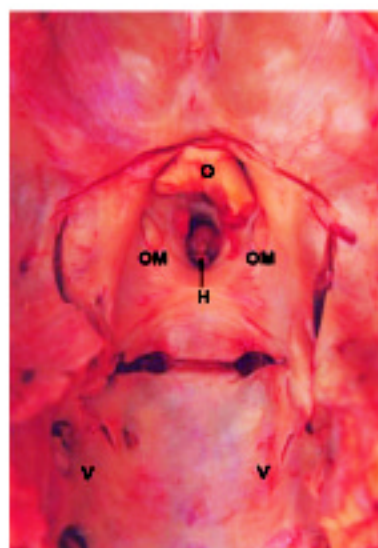


Figura 3 B

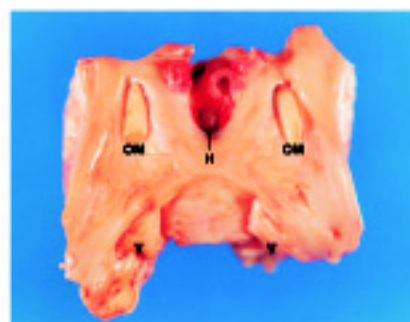


Figura 3 C

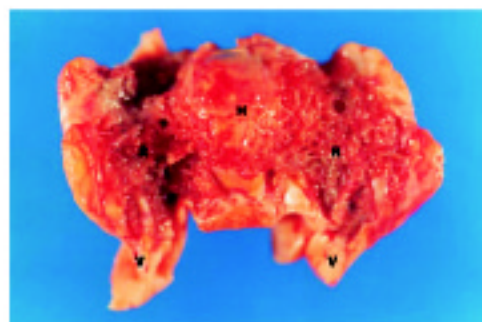


Figura 3 D

Figura 3. O gânglio do nervo trigêmeo (5º par craniano, gânglio de Gasser), a *rete mirabile* carotídea e a hipófise devem ser colhidas em uma peça só (monobloco 1). **A.** Assoalho da cavidade craniana mostrando as referências anatômicas para retirada do monobloco 1. Nervo trigêmeo (V), nervo oculomotor (OM), nervo óptico (O), localização da hipófise (H). **B.** A figura mostra que deve ser feito pelo bisturi para a retirada do monobloco 1. São identificadas as seguintes estruturas. Nervo trigêmeo (V), nervo oculomotor (OM), nervo óptico (O), localização da hipófise (H). **C.** Vista dorsal do monobloco 1. São identificadas as seguintes estruturas. Nervo trigêmeo (V), nervo oculomotor (OM), localização da hipófise (H). **D.** Vista ventral do monobloco 1. São identificadas as seguintes estruturas. Nervo trigêmeo (V), gânglio do nervo trigêmeo (G), nervo oculomotor (OM), *rete mirabile* (R) e hipófise (H). Esse monobloco deve ser fixado em formol a 10% para exame histopatológico.



Figura 4. Introduza a ponta de uma lâmina no 4º ventrículo, pela parte caudal do cerebelo. Corte rostral e horizontalmente os pedúnculos cerebelares, separando o cerebelo do bulbo num dos lados e, depois, no outro.



Figura 5. Ao findar a operação descrita na Figura 4, o cerebelo estará completamente separado do encéfalo. Os hemisférios telencefálicos (T), o 4º ventrículo (IV) e o cerebelo (C) estão identificados na figura.



Figura 6. Separe o tronco encefálico do resto do encéfalo, cortando em ambos os lados, na altura do tálamo, como mostra a figura.



Figura 7. Ao findar a operação descrita na Figura 6, o encéfalo estará dividido em três partes: o tronco encefálico (acima, à direita), o cerebelo (abaixo, à direita) e os hemisférios telencefálicos.

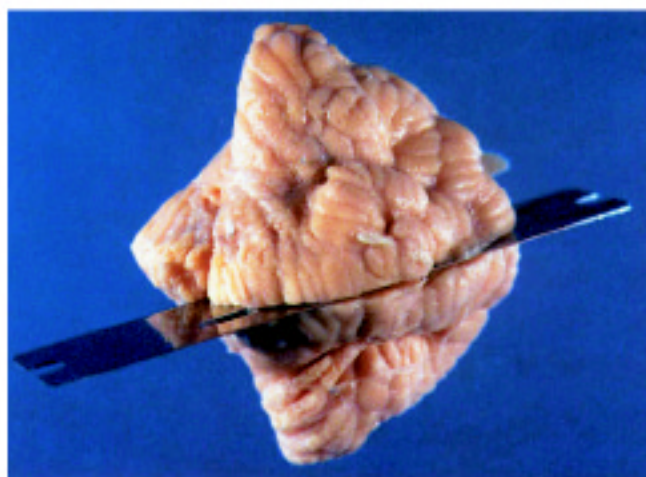


Figura 8 A

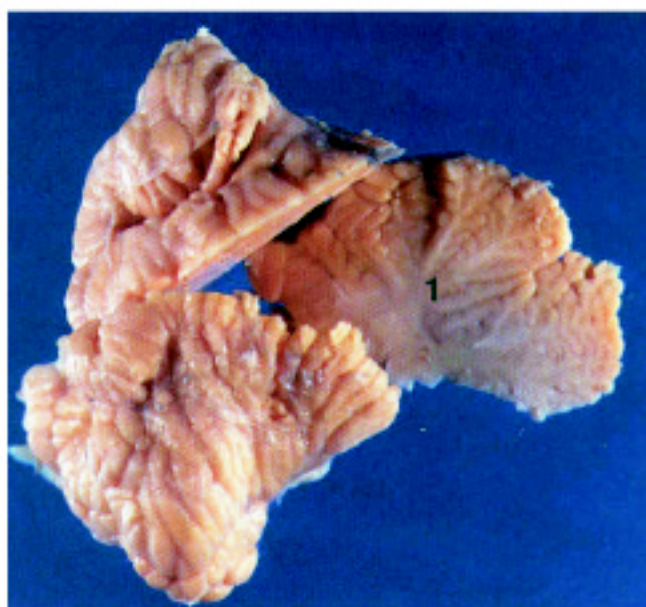


Figura 8 B

Figura 8 A. Para a obtenção da amostra 1, a ser enviada para exames virológicos e/ou bacteriológicos, uma fatia de cerca de 0,5 cm é retirada ao longo do verme do cerebelo. **B.** Esta fatia (1) deve ser refrigerada ou congelada.

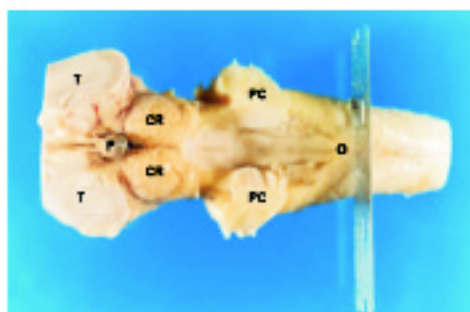


Figura 9 A

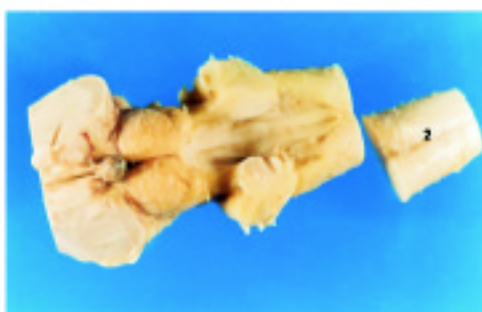


Figura 9 B

Figura 9 A. Para obter a amostra 2, corte um segmento transversal de aproximadamente 2,5 cm da medula cervical, no ponto onde o tronco encefálico foi separado da medula cervical. Óbex (O), pedúnculos cerebelares (PC) colículos rostrais (CR), pineal (P) e tálamo (T). B. Este segmento (2) deve ser refrigerado ou congelado.



Figura 10. Para obter a amostra 3, corte uma segmento transversal do tálamo (T) de cerca de 1 cm de espessura.



Figura 11. A amostra 4 é obtida dividindo um dos hemisférios cerebrais na altura do quiasma óptico, separando a parte caudal (4) do restante.

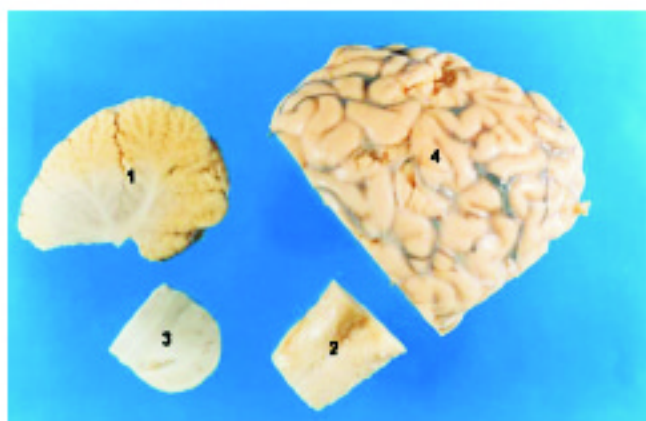


Figura 12. Essas são as quatro amostras para o exame virológico ou bacteriológico. 1, fatia do cerebelo seccionada o longo do verme; 2, segmento de medula cervical; 3, fatia do tálamo e 4, metade caudal de um dos hemisférios telencefálicos. Esses fragmentos devem ser remetidos refrigerados ou congelados.



Figura 13. O material mostrado nesta figura é o que resta após a retirada das amostras 1-4 para os exames virológicos/bacteriológicos. Esse material é formado pelo tronco encefálico completo (acima à direita), duas partes do cerebelo (abaixo à direita) e $\frac{1}{4}$ dos hemisférios telencefálicos. Destina-se ao exame histológico e deve ser fixado em formol a 10%.



PROCESSAMENTO DO ENCÉFALO PARA O DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO DA ENCEFALOPATIA ESPONGIFORME DOS BOVINOS

Claudio S.L. de Barros, Med. Vet., PhD.
Professor Titular
Chefe do Setor de Patologia Veterinária
Departamento de Patologia
Universidade Federal de Santa Maria
Santa Maria, Rio Grande do Sul

PROCESSAMENTO DO ENCÉFALO PARA O DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO DA ENCEFALOPATIA ESPONGIFORME DOS BOVINOS

1 - Introdução

Esta é a segunda parte do manual iniciado com a coleta do encéfalo de bovinos para o exame laboratorial. O objetivo da primeira parte foi fornecer uma orientação para a coleta, a campo, do encéfalo de bovinos e sua preparação para a remessa ao laboratório. Esta segunda parte tratará do processamento do material, no laboratório, para o exame histológico. O objetivo principal dos manuais é fornecer bases para o diagnóstico da encefalopatia espongiforme dos bovinos (EEB), a fim de possibilitar a manutenção de um sistema de vigilância para a doença no Brasil. No entanto, é nossa intenção que as indicações fornecidas permitam também o diagnóstico de outras doenças do sistema nervoso em bovinos. Para tanto, a primeira parte inclui instruções para a remessa de material para exames virológicos (principalmente raiva), bacteriológicos e histológicos.

As principais enfermidades que afetam direta ou indiretamente o sistema nervoso de bovinos no Brasil são brevemente revisadas para orientar o diagnóstico diferencial. Essas doenças serão tratadas resumidamente, mas o leitor poderá encontrar maiores detalhes sobre cada uma delas nas publicações listadas nas referências^{1,4-6}. As instruções para o processamento e exame histológico levam em conta o material recebido em formol pelo laboratório, conforme consta no manual para coleta do encéfalo.

2 - Encefalopatia espongiforme dos bovinos (EEB)

2.1 Localização dos cortes a serem obtidos para o diagnóstico histológico da EEB

O exame macroscópico deve ser feito no encéfalo fixado. O encéfalo é rotineiramente fatiado a intervalos de 5 mm, e as duas superfícies de corte são examinadas. Os cortes usados para o diagnóstico da BSE são obtidos do tronco encefálico (Figura 1). São recomendados cortes em quatro locais:

1. Bulbo no nível do óbex (Figura 2)
2. Ponte no nível dos pedúnculos cerebelares caudais (posteriores) (Figura 3)
3. Mesencéfalo incluindo o colículo caudal (tubérculos quadrigêmeos inferiores) (Figura 4)
4. Mesencéfalo incluindo o colículo rostral (tubérculos quadrigêmeos superiores) e núcleo vermelho (Figura 5)

2.2 Lesões histológicas na EEB

As lesões microscópicas na EEB são altamente específicas e consideradas patognomônicas^{2,7-10}. São lesões degenerativas, simétricas e bilaterais e localizam-se em certas regiões da substância cinzenta do tronco encefálico⁸⁻¹⁰. Duas apresentações de vacuolização neuronal são observadas. Na neurópila há vacúolos nos neuritos de até 20 micrômetros de diâmetro - alteração espongiforme (Figura 6). No pericário ocorrem vacúolos maiores, solitários ou múltiplos, que chegam a 30-40 micrômetros de diâmetro (Figura 7). Esses vacúolos distendem o pericário produzindo neurônios balonosos que conservam apenas uma fina margem de citoplasma (Figura 8). A presença de vacúolos na neurópila da substância cinzenta e no pericário dos neurônios são os critérios para o diagnóstico positivo de EEB, no exame histológico¹⁰.

Atenção: vacúolos no citoplasma dos neurônios do núcleo vermelho do mesencéfalo são um achado incidental comum em encéfalo de bovinos e encontrados em 64% de encéfalos de bovinos normais³. Quando encontrados somente nesse local, não devem ser levados em conta no diagnóstico da EEB^{9,10}.

A distribuição das lesões é bastante regular¹⁰. Ocorrem principalmente no núcleo do trato solitário, no trato espinhal do nervo trigêmeo, no núcleo vestibular, na formação reticular do bulbo, na substância cinzenta periaqueducal do mesencéfalo, na área paraventricular do tálamo e no septo talâmico. A densidade de vacúolos é maior no bulbo, mesencéfalo e tálamo. Alterações no cerebelo, hipocampo, núcleos basais e córtex cerebral são mínimas.

O mapeamento das lesões em 684 cérebros afetados por EEB revelou que, em 99,6% dos casos, o corte do bulbo no nível do óbex (ver Figura 2) apresentou as alterações características da doença, principalmente as alterações espongiiformes no núcleo do trato solitário e no trato espinhal do nervo trigêmeo (ver Figura 6), indicando que este é o corte do encéfalo mais importante para o diagnóstico. Esferóides e necrose individual de neurônios ocorrem ocasionalmente, mas há evidência de neuroniofagia. Não há reação inflamatória, e pode ocorrer gliose discreta com formação de gemistócitos. Numa pequena proporção dos casos ocorre amiloidose.

Inflamações não-purulentas inespecíficas (manguitos perivasculares) são encontradas em cerca de 30% de bovinos adultos normais³ e podem resultar de infecções subclínicas ou latentes. Da mesma forma, aparecem grânulos intracitoplasmáticos de ceróide-lipofuscina nos neurônios. Esses achados parecem não ser significativos¹⁰ e devem ser considerados achados incidentais.

3 - Diagnósticos diferenciais

Os distúrbios neurológicos de bovinos podem resultar de várias causas^{1,4-6}. No Brasil, a doença mais comumente diagnosticada em bovinos com sinais clínicos de distúrbios nervosos é a raiva.

Os sinais clínicos da raiva podem ser confundidos com EEB, mas a observação clínica por um período prolongado ajuda a diferenciar as duas doenças. Na raiva, o curso clínico é, em geral, mais curto (2-7 dias). O exame de imunofluorescência realizado no material não-fixado resolve a questão. Além disso, as lesões histológicas de EEB são bastante características e diferentes das da raiva. Nesta última, há meningoencefalite não-purulenta e, muitas vezes, inclusões acidofílicas em neurônios - os corpúsculos de Negri.

Um estudo cuidadoso do histórico clínico, da epidemiologia e dos achados de necropsia ajuda a distinguir várias doenças neurológicas de bovinos. Por exemplo, as doenças genéticas ou congênitas ocorrem em animais recém-nascidos ou muito jovens, enquanto a EEB ocorre somente em animais adultos (4 a 5 anos). Por outro lado, certas intoxicações como a causada pela toxina do fungo *Claviceps paspali* ocorrem apenas no início de outono, quando a gramínea parasitada (*Paspalum* spp.) está sementando. Os principais distúrbios neurológicos observados em bovinos no Brasil estão relacionados nas Tabelas 1-4. Ali constam a idade e a categoria dos animais afetados, os principais sinais clínicos e lesões encontradas em cada doença. As informações constantes nessas tabelas servem apenas como uma orientação para o diagnóstico diferencial. Mais informações sobre cada uma dessas doenças deverão ser obtidas dos trabalhos relacionados na lista de referências ou em livros texto especializados.

4 - Cortes adicionais

Devem-se realizar regularmente cortes adicionais que facilitam o diagnóstico diferencial de outras doenças do sistema nervoso. Esses cortes incluem:

1. Corte sagital medial pelo verme do cerebelo (Figura 9)
2. Córtex frontal rostralmente ao quiasma óptico (Figura 10)
3. Córtex parietal no nível dos corpos mamilares (Figura 11)

Em todos os casos em que o exame dos blocos inicialmente selecionados for inconclusivo, cortes adicionais do cérebro devem ser feitos, conforme a decisão do patologista.

5 - Referências

1. Barlow R: Differential diagnosis of bovine neurological disorders. In Practice, 10:64-73, 1989.
2. Davis AJ, Jenny AL, Miller LD: Diagnostic characteristics of bovine spongiform encephalopathy. J Vet Diagn Invest, 3:266-271, 1991.
3. Gavier-Widen D, Wells GAH, Simmons MM, Wilesmith JWW, Ryan J: Histological observations on the brains of symptomless 7-year-old cattle. J Comp Path 124: 52-59, 2001.
4. Lemos RA, Brum KB, Bernardo KC, Katayama KA, Mori AE, Bonilha MM, Carvalho JCM: Aspectos epidemiológicos das principais enfermidades caracterizadas por sintomatologia nervosa em bovinos, diagnosticados no Mato Grosso do Sul, Campo Grande. Relatório de Bolsa de Iniciação Científica do CNPq 16 p. 1998.
5. Riet-Correa F, Schild AL, Fernandes CG: enfermidades do sistema nervoso dos ruminantes no sul do Rio Grande do Sul. Ciência Rural, 28: 341-348, 1998.
6. Sanches AWD, Langohr IM, Stigger AL, Barros CSL: Doenças do Sistema nervoso central em bovinos no sul do Brasil. Pesq Vet Bras, 20(3): 113-118, 2000.
7. Weber P, Möstl K, Weissenböck E, Möstl E, Baumgartner W: Bovine Spongiforme Enzephalopathie (BSE)- Verlauf und Bekämpfung 1987 - 1997. Wien Tierärztl Mschr, 85: 175-186, 1998.
8. Wells GAH, Scott AC, Johnson CT, Gunning RF, Hancock, RD, Jeffrey M, Dawson M, Bradley R: A novel progressive spongiform encephalopathy in cattle. Vet Rec, 121: 419-420, 1987.
9. Wells GAH. Bovine spongiform encephalopathy: diagnostic significance of vacuolar changes in selected nuclei of the medulla oblongata. Vet Rec, 125: 521-524, 1989.
10. Wells GAH: Bovine spongiform encephalopathy: A neuropathological perspective. Brain Pathol, 1:69-78, 1991.

ANEXO I

Tabela 1. Alguns distúrbios neurológicos de causas genéticas/congênitas em bovinos

Doença	Idade/categoria	Sinais clínicos	Lesões
Hidrocéfalia	RN	Músculos contínuos, incapacidade de permanecer em estação.	Cérebro abaulado, ventrículos cerebrais dilatados.
Hipoplasia cerebelar	RN	Incapacidade de manter-se em equilíbrio, incoordenação, visão comprometida.	Cerebelo pequeno ou ausente.
Hipomielinopatia congênita	RN	Coordenação esporádica. Ataxia progressiva, decúbito.	Histologia: ausência de mielina na substância branca.
Atrofia cerebelar	Até 6 meses	Coordenação esporádica. Ataxia, distúrbio, movimentos típicos com a cabeça.	Histologia: degeneração de neurônios cerebelares.

RN = recém-nascidos

Tabela 2. Alguns distúrbios neurológicos de causas metabólicas/nutricionais em bovinos

Doença	Idade/categoria	Sinais clínicos	Lesões
Poliencéfalomielose	Animais jovens/contínuos	Diarréia, mobilidade diminuída, nistagno, decúbito, coxígia, movimentação das orelhas, opistótono, convulsões tônicas, coma.	Necrose da substância cinzenta do encéfalo.
Cetose	Vacas leiteiras de alta produção com déficit energético/ ração pobre de alimento em vacas de corte presas	Emagrecimento, lambe-se incessantemente, sangue de dentes, salivação, incoordenação, andar em círculos, pressão da cabeça contra objetos, tremores e tétanos.	Degeneração gordurosa do fígado.
Febre atutal	Não período perinatal/vacas de leite	Excitação inicial, espasmos tetânicos localizados que progredem para decúbito esternal, depressão de reflexos, miastenia, decúbito lateral, perda da consciência, coma e morte.	Não há lesões.

Tabela 3. Alguns distúrbios neurológicos de causas infecciosas em bovinos

Doença	Idade/categoria	Sinais clínicos	Lesões
Baba	Todas as idades	Forma parálitica mais comum. Pode apresentar muçidos contínuos, miastia, tremores, salivação, contorção e parálise.	Meningoencefalite não-purulenta, corpúsculos de inclusão acidófilos no citoplasma de neurônios (corpúsculos de Negri).
Meningoencefalite por herpesvírus bovino 5	Principalmente animais jovens	Febre, dor abdominal, pressão da cabeça contra objetos, andar em círculos, parálise flácida da língua, depressão.	Meningoencefalite não-purulenta, vasculite, necrose neuronal, corpúsculos acidófilos intranucleares nos astrócitos e neurônios.
Febre catarral maligna	Geralmente em adultos	Coordenação esporádica, menos frequente em adultos. Associado à presença de coúmos, principalmente na época da parição. Desanjo nasal mucopurulento, febre, edema de pálpebras, opacidade da córnea, congestão dos vasos da esclera. Diarréia ou constipação. Hipersensibilidade a ultravioleta nas mucosas, dermatite. Depressão profunda, incoordenação. Pressão da cabeça contra objetos, convulsões e parálise.	Histologia: meningoencefalite não-purulenta, arterite e esclerose fibrinosa nas meninges. Lesões generalizadas de proliferação de células linfóides, vasculite com necrose e necrose de epitélios.
Listeriose	Em todas as idades, mas principalmente em adultos	Mandíbula "caída", salivação, hipotensão facial, ptose, "queda" da orelha (geralmente unilateral), perda do reflexo palpebral de defesa, andar em círculos, ataxia, hemiparesia.	Pode não haver lesões macroscópicas ou podem-se observar pequenos focos (microabscessos) necróticos avermelhados no tronco encefálico. Histologia: microabscessos no tronco encefálico, margositos perivasculares necrotizantes. Litewia meningoencefalite pode ser isolada em cultura do material não fixado, mas a cultura é difícil. Os microorganismos podem ser observados pela coloração de Gram em tecido.
Substância branca (doença do cérebro)	Em todas as idades, mas principalmente em adultos	Febre, depressão, paratensão e ataques convulsivos.	Córtex cerebral de cor avermelhada (patognomônico). Histologia: edema e congestão do córtex. Em esfregaços do córtex, E. brucei é facilmente identificável nos astrócitos que estão infiltrados nos capilares.
Botulismo (doença do cérebro)	Animais adultos, fêmeas, principalmente em confinamento ou estabilizados	Parálise flácida	Há somente lesões relacionadas ao paratensão intestinal por toxinas. Não há lesões encefálicas. A forma necrótica é aparentemente produzida por uma toxina elaborada pelo cóccido intestinal.

Tabela 4. Alguns distúrbios neurológicos de causas tróficas e neoplásicas em leishmanioses.

Doença	Idade/categoria	Síndrom clínicas	Lesões
Encefalopatia hepática secundária a intoxicação por <i>Semecoz</i> spp.	Adultos	Apatia, ataxia, ataxia em círculos, depressão, tremores, diarreia.	Edema subcutâneo, edemas cardíacos, edema das pregas do estômago. Histologia: fibrose hepática com megacilostose de hepatócitos e hipoplasia de ductos biliares. No sistema nervoso central (SNC) ocorre degeneração espongiosa (edema) da substância branca.
Intoxicação por <i>Aethia galapagensis</i>	Várias idades	Apatia, cegueira, andar cambaleante, fezes secas, orella "cardes". A doença está associada também a abortos em vacas, mortes súbitas e sinais de insuficiência cardíaca.	Na necropsia: áreas pálidas e firmes no miocárdio. Fígado de moagemizada. No SNC, ocorre degeneração espongiosa (edema) da substância branca.
Intoxicação por <i>Solanum festigatum</i>	Principalmente adultos	Ataques epilépticos periódicos com intensão do pescoço e membros, hipermetria, miopias, epistatone, tremores musculares e quedas.	Vacuolização, degeneração e desaparecimento dos neurônios do bulbo do cérebro.
Intoxicação por <i>Dyplodia maydis</i> (micotóxicos)	Diversas idades e categorias	Lactosejamento, salivação, tremores musculares, ataxia e diptetia com flexão esquelada dos membros, dificuldade para caminhar, paralisia, decubito, epistatone. Quando estratos do acoso ao milho infectado os animais se recuperam em 7 a 10 dias.	Mão há lesões específicas.
Intoxicação por <i>Claviceps paspali</i> (micotóxicos)	Diversas idades e categorias	Tremores musculares, ataxia (ocorre no outono).	Mão há lesões específicas.
Intoxicação por <i>Rhaleto</i> spp.	Principalmente adultos	Hiperexcitabilidade, tremores musculares, movimentos horizontais da cabeça, incoerência e andar trípode.	Macroscopia: coloração esverdeada, azulada ou cinza do SNC. Histologia: pigmento marrom no citoplasma dos neurônios.
Intoxicação por <i>Cynodon dactylon</i>	Diversas idades e categorias	Tremores musculares que se agrava, com a movimentação. Ataxia ataxia, ataxia, hipermetria, quedas.	Mão há lesões.
Intoxicação por <i>Oryza latifoliosa</i> /Carbamatos	Em todas as idades	Síndrom epiléptica. Salivação, diptetia, miopias, bradicardia, tremores musculares, letargia, sudorese, ataxia, desorientação, convulsões e coma.	Degeneração de nervos periféricos e tratos da medula espinhal.
Neoplasias			
Leucose mieloide	Adultos, mais comum em vacas de leite	Incoerência dos membros pélvicos e paralisia.	Massa tumoral (difusa e nódula) branca e macia comprometendo a medula espinhal. Há também tumores semelhantes em outros locais (linfonodos, miocárdio, alveolos, etc.).

ANEXO 2

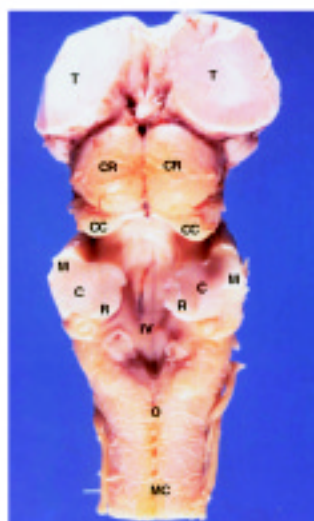


Figura 1. Vista dorsal do tronco encefálico de bovino. Foi retirado o cerebelo. Estão identificados os colículos rostral (CR) e caudal (CC), pedúnculos cerebelares medial (M), caudal (C) e rostral (R), assoalho do quarto ventrículo (IV), óbex (O) e medula cervical (MC).

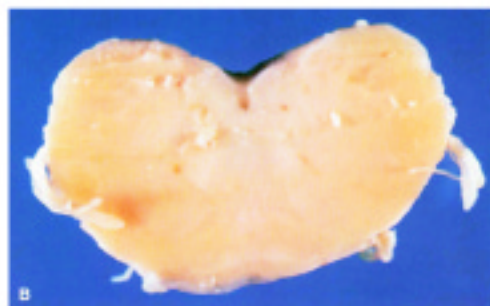
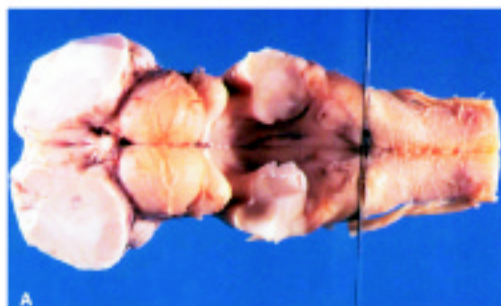


Figura 2. Locais dos quatro cortes a serem efetuados no tronco encefálico para o diagnóstico da EEB. A. Corte 1, bulbo no nível do óbex. B. Secção obtida pelo corte 1 que deverá ser processada para exame histológico.

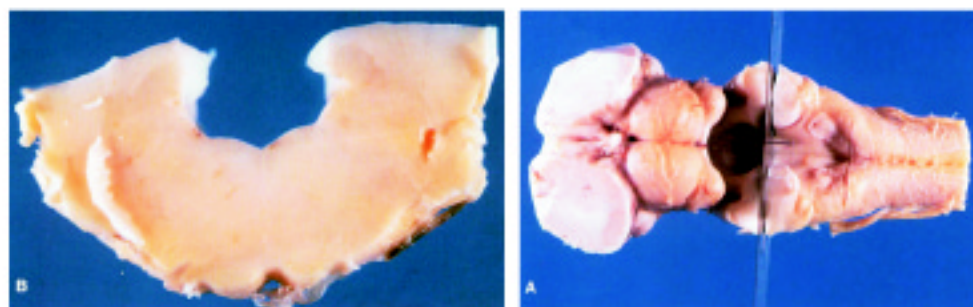


Figura 3. Locais dos quatro cortes a serem efetuados no tronco encefálico para o diagnóstico da EEB. A. Corte 2, ponte no nível dos pedúnculos cerebelares caudais (posteriores). B. Secção obtida pelo corte 2 que deverá ser processada para exame histológico.

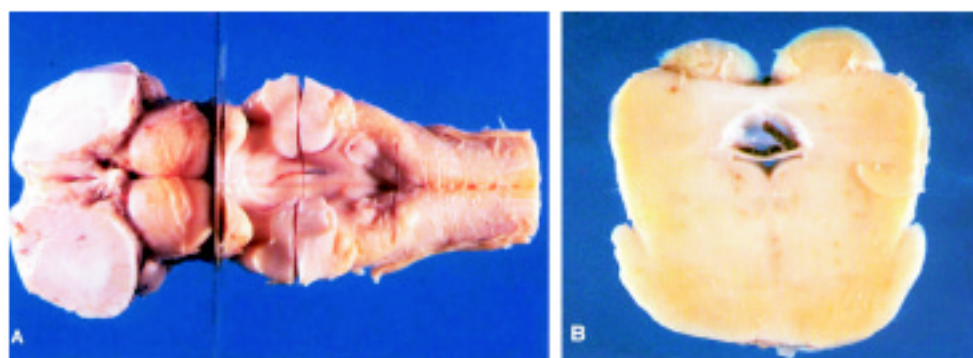


Figura 4. Locais dos quatro cortes a serem efetuados no tronco encefálico para o diagnóstico da EEB. A. Corte 3, mesencéfalo incluindo o colículo caudal (tubérculos quadrigêmeos inferiores). B. Secção obtida pelo corte 3 que deverá ser processada para exame histológico.

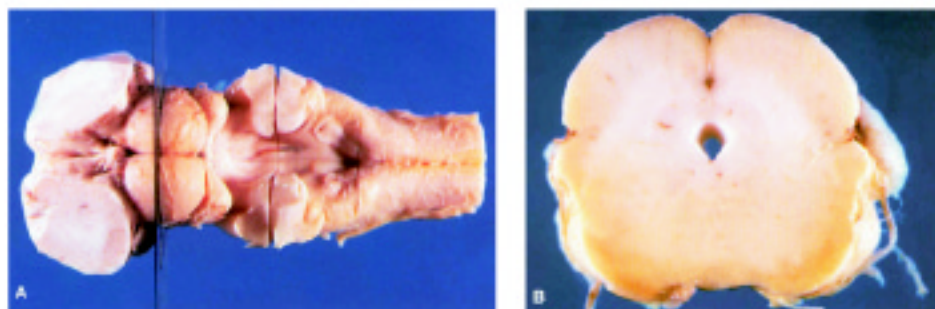


Figura 5. Locais dos quatro cortes a serem efetuados no tronco encefálico para o diagnóstico da EEB. **A.** Corte 4, mesencéfalo incluindo o colículo rostral (tubérculos quadrigêmeos superiores) e núcleo vermelho. **B.** Secção obtida pelo corte que deverá ser processada para exame histológico.

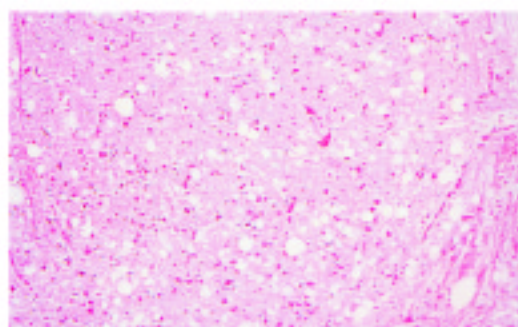


Figura 6. Encefalopatia espongiforme dos bovinos. Microcavitação (alteração espongiforme) na substância cinzenta dorsal do bulbo. Coloração de hematoxilina e eosina (Fotografado de lâmina cedida pelo Dr. G.A.H. Wells).

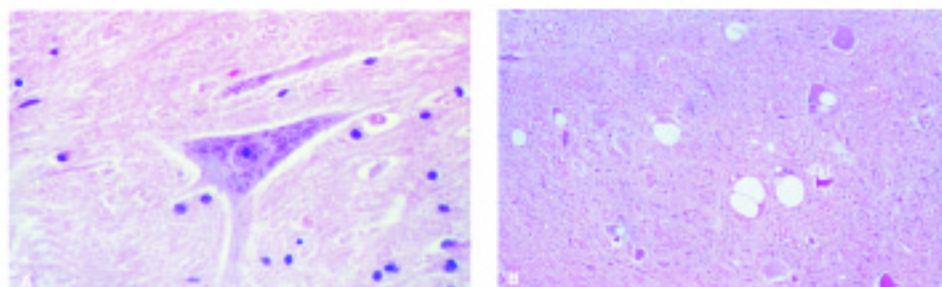


Figura 7. **A.** Neurônio normal. O citoplasma mostra a substância de Nissl característica, formada por grânulos azulados. Coloração de hematoxilina e eosina. **B.** Vários neurônios do bulbo com vacúolos solitários ou múltiplos no pericário. Coloração de hematoxilina e eosina (a lesão mostrada em B foi fotografada de lâmina cedida pelo Dr. G.A.H. Wells).

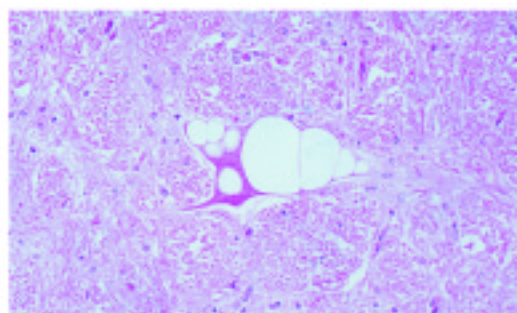


Figura 8. Múltiplos vacúolos em um neurônio do bulbo. Esses vacúolos distendem o pericário, produzindo um neurônio de aspecto balonoso que conserva apenas uma fina margem de citoplasma. Coloração de hematoxilina e eosina (Fotografado de lâmina cedida pelo Dr. G.A.H. Wells).

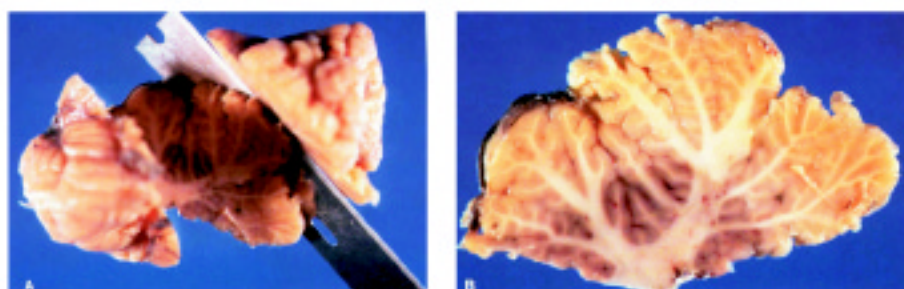


Figura 9. Cortes adicionais. A. Corte pelo verme do cerebelo. B. Secção obtida que deverá ser processada para exame histológico.

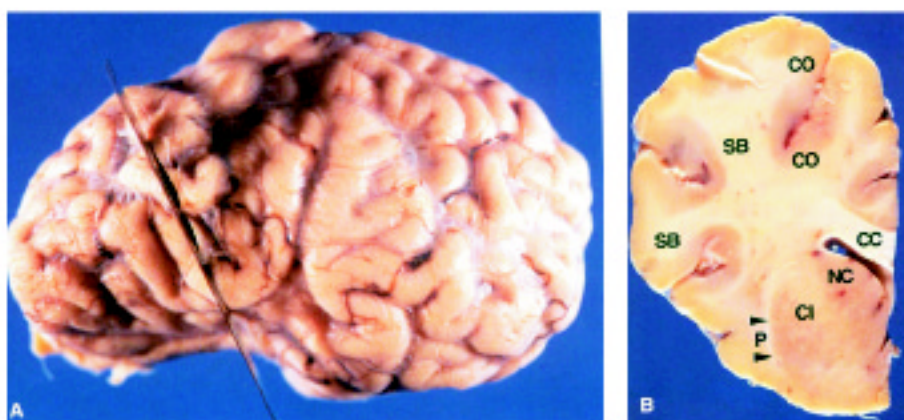


Figura 10. Cortes adicionais. A. Corte transversal do encéfalo, passando pelo córtex frontal rostralmente ao quiasma óptico. B. Secção obtida que deverá ser processada para exame histológico. Se necessário, divida o corte para caber no cassete (forminha) de encaminhamento de material. Corpo caloso (CC), Cápsula interna (CI), núcleo caudato (NC), putâmen (P), cápsula externa (cabeças de setas), substância branca subcortical (SB), córtex (CO), ventrículo lateral (asterisco).

cérebro

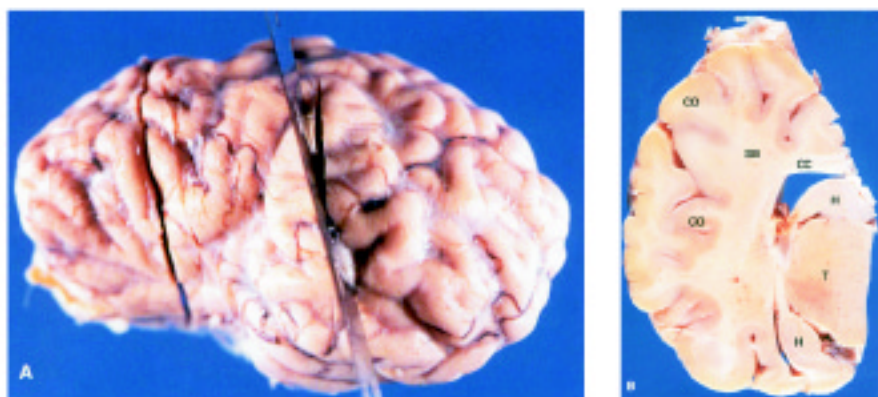


Figura 11. Cortes adicionais. **A.** Corte transversal do encéfalo, passando pelo córtex parietal à altura dos corpos mamilares. **B.** Secção obtida que deverá ser processada para exame histológico. Se necessário, divida o corte para caber no cassete (forminha) de encaminhamento de material. Corpo caloso (cc), Hipocampo (h), tálamo (T), substância branca subcortical (SB), córtex (CO).

LABORATÓRIOS CREDENCIADOS PELO MAPA PARA DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO DAS EETs

DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA - UFSM

Resp.: Dr. Claudio Severo Lombardo Barros - Santa Maria, RS - Cep: 97.105-900

E-mail: claudiosevero@uol.com.br ou barrosca@lincs.hcr.ufsm.br

Telefone: 55-320-8168 Fax: 55-320-8284

LABORATÓRIO DE PATOLOGIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO MATO GROSSO DO SUL - UFMS

Resp.: Dr. Euripedes Batista Guimarães

Rua Polinto Müller, 2443 - Cep: 79.070-900 - Campo Grande - Mato Grosso do Sul

Telefone: 67-345-3615 Fax: 67-345-3600 e-mail: ebg@ufms.br

LABORATÓRIO DE PATOLOGIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL - UFRGS

Resp.: Dr. David Driemiel - Av. Bento Gonçalves, 9500 - Cep: 91.540-000

Telefone: 51-3316-8107 Fax: 51-3316-7305 e-mail: davegati@vortex.ufrgs.br

DELEGACIAS FEDERAIS DA AGRICULTURA NOS ESTADOS

DFA/AC - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO ESTADO DO ACRE
SSA - SETOR DE SANIDADE ANIMAL
RODOVIA AC-40, Nº 793 - SEGUNDO DISTRITO
69001-180 Rio Branco/AC
068-221.4815 / 221.3817 - FAX 221.3812
ssa-ac@agricultura.gov.br

DFA/AM - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO ESTADO DE AMAZONAS
SSA - SETOR DE SANIDADE ANIMAL
RUA MACÊDO, 460 - ADRIANÓPOLIS
69057-010 Manaus/AM
092-234.7814 - FAX 234.3426
ssa-am@agricultura.gov.br

DFA/DF - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO DISTRITO FEDERAL
SSA - SERVIÇO DE SANIDADE ANIMAL
SBN Q.01, BL.D - 5º Andar
ED. PALÁCIO DESENVOLVIMENTO
70057-900 Brasília/DF
061-326.6968 / 326.2035 - FAX 326.2565
ssa-df@agricultura.gov.br

DFA/MA - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO ESTADO DO MARANHÃO
SSA - SETOR DE SANIDADE ANIMAL
PRAÇA DA REPÚBLICA, 147 - BAIRRO DIAMANTE
65020-150 São Luís/MA
098-231.0017 / 231.4393 - FAX 231.4766
ssa-ma@agricultura.gov.br

DFA/MG - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO ESTADO DE MINAS GERAIS
SSA - SERVIÇO DE SANIDADE ANIMAL
RUA GABAGLIA, 245 - CIDADE JARDIM
30180-090 Belo Horizonte/MG
031-3250.0306 / 3250.0300 - FAX 3250.0314
ssa-mg@agricultura.gov.br

DFA/PR - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO ESTADO DO PARANÁ
SSA - SERVIÇO DE SANIDADE ANIMAL
RUA JOSÉ VERISSIMO, 420 - TUPACATI
03020-000 Curitiba/PR
041-361.4040 / 361.4042 / 361.4000 - FAX 367.2411
ssa-pr@agricultura.gov.br

DFA/AL - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO ESTADO DE ALAGOAS
SSA - SETOR DE SANIDADE ANIMAL
AVENIDA FERNANDES LIMA, 72 - BAIRRO FAROL
57050-900 Maceió/AL
062-323.2367 / 221.5020 - FAX 221.7047 / 326.3349
ssa-al@agricultura.gov.br

DFA/BA - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO ESTADO DA BAHIA
SSA - SETOR DE SANIDADE ANIMAL
LARGO DOS AFLITOS, S/N - ED. CERES
40060-030 Salvador/BA
071-320.7436 / 320.7437 - FAX 320.7440
ssa-ba@agricultura.gov.br

DFA/ES - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO ESTADO DO ESPÍRITO SANTO
SSA - SERVIÇO DE SANIDADE ANIMAL
AV. SRA. DOS NAVEGANTES, N.495,
8º AND-PRAIÁ DO SOL
29050-020 Vitória/ES
027-3137.3703 / 3137.2700 - FAX 315.8427
ssa-es@agricultura.gov.br

DFA/MT - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO ESTADO DE MATO GROSSO
SSA - SERVIÇO DE SANIDADE ANIMAL
ALAMEDA DR. ANIBAL MOLINA, S/N - PONTE NOVA
78115-901 Várzea Grande/MT
065-685.2230 / 685.1030 - FAX 685.1887
ssa-mt@agricultura.gov.br

DFA/PA - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO ESTADO DO PARÁ
SSA - SETOR DE SANIDADE ANIMAL
RUA ALFARANTE BARROSO, 5384 - SOUZA
66030-000 Belém/PA
091-243.3355 / 243.4360 - FAX 231.5878
ssa-pa@agricultura.gov.br

DFA/PE - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO ESTADO DE PERNAMBUCO
SSA - SETOR DE SANIDADE ANIMAL
RUA GENERAL SAN MARTIN, 1000 - BONGI
50630-060 Recife/PE
081-3445.4774 / 3227.3911 - FAX 3227.0309
ssa-pe@agricultura.gov.br

DFA/AP - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO ESTADO DE APAPÁ
SSA - SETOR DE SANIDADE ANIMAL
RUA TIRADENTES, 469 - BAIRRO CENTRAL
68906-180 Macapá/AP
096-223.3079 R.312 - FAX 222.4467
ssa-ap@agricultura.gov.br

DFA/CE - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO ESTADO DO CEARÁ
SSA - SETOR DE SANIDADE ANIMAL
AV. DOS EXPEDICIONÁRIOS, 1441 - BENFICA
60110-410 Fortaleza/CE
085-281.3211 / 281.0167 - FAX 281.0004
ssa-ce@agricultura.gov.br

DFA/GO - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO ESTADO DE GOIÁS
SSA - SERVIÇO DE SANIDADE ANIMAL
PRAÇA CÍVICA 100, 3º Andar
CX. POSTAL 149
74803-010 Goiânia/GO
062-324.4549 / 221.7206 - FAX 229.0400
ssa-go@agricultura.gov.br

DFA/MS - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO ESTADO DE MATO GROSSO DO SUL
SSA - SERVIÇO DE SANIDADE ANIMAL
RUA DOM AQUINO, 2696 - CENTRO
79002-970 Campo Grande/MS
067-325.7100 - FAX 325.7666
ssa-ms@agricultura.gov.br

DFA/PB - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO ESTADO DA PARAÍBA
SSA - SETOR DE SANIDADE ANIMAL
BR-230, KM 14, ESTRADA
JOÃO PESSOA/Cabedelo
58310-000 Cabedelo/PB
083-246.2123 / 246.1235 - FAX 246.2535
ssa-pb@agricultura.gov.br

DFA/PI - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO ESTADO DO PIAUÍ
SSA - SETOR DE SANIDADE ANIMAL
RUA TALMATUNGO DE AZEVEDO, 2315
64001-340 Teresina/PI
086-322.4545 R/226 - FAX 322.4324
ssa-pi@agricultura.gov.br

DFA/RN - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO ESTADO DO RIO GRANDE DO NORTE
SSA - SETOR DE SANIDADE ANIMAL
 AV. HIDELEBRANDO DE GÓES, 150 - RIBEIRA
 59010-700 Natal/RN
 084-221.2430 / 221.1741 R/211 - FAX 221.2430
ssa-rn@agricultura.gov.br

DFA/RO - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO ESTADO DE RONDÔNIA
SSA - SETOR DE SANIDADE ANIMAL
 BR-364, KM 5,5 - SENTIDO A CUIABÁ - CP 35
 78900-970 Porto Velho/RO
 069-216.5607 - FAX 222.2460
ssa-ro@agricultura.gov.br

DFA/SE - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO ESTADO DE SERGIPE
SSA - SETOR DE SANIDADE ANIMAL
 AV. JOÃO RIBEIRO, 428 - CENTRO
 49065-000 Aracaju/SE
 079-215.4644 R/353 - FAX 215.4814
ssa-se@agricultura.gov.br

DFA/RS - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL
SSA - SERVIÇO DE SANIDADE ANIMAL
 AV. LOUREIRO DA SILVA, 515, 7º. Andar; 5701
 90010-420 Porto Alegre/RS
 051-3221.8744 / 3221.0812 / 3221.0189 - FAX 3225.2732
ssa-rs@agricultura.gov.br

DFA/RR - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO ESTADO DE RORAIMA
SSA - SETOR DE SANIDADE ANIMAL
 AV. SANTOS DUMONT, 582 - CP 132
 BAIRRO DE S. PEDRO
 69305-340 Boa Vista/RR
 095-623.9605 R/29 - FAX 623.9271
ssa-rr@agricultura.gov.br

DFA/SP - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO ESTADO DE SÃO PAULO
SSA - SERVIÇO DE SANIDADE ANIMAL
 AV. 13 DE MAIO N. 1558, 9º. Andar - BELA VISTA
 01327-002 São Paulo/SP
 011-3284.6044 / 3284.6544 - FAX 285.1492 / 287.7270
ssa-sp@agricultura.gov.br

DFA/RJ - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO
SSA - SERVIÇO DE SANIDADE ANIMAL
 AV. RODRIGUES ALVES, 129, 8º. Andar
 20081-250 Rio de Janeiro/RJ
 021-2291.4141 - FAX 2253.8182
ssa-rj@agricultura.gov.br

DFA/SC - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO ESTADO DE SANTA CATARINA
SSA - SERVIÇO DE SANIDADE ANIMAL
 RUA FELIPE SCHMIDT, Nº 755
 ED. EMBADADOR, 11º ANDAR - CP 1502
 88010-002 Florianópolis/SC
 048-3025.9999 / 3025.9901 / 3025.9902
 FAX 3025.9988
ssa-sc@agricultura.gov.br

DFA/TO - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO ESTADO DE TOCANTINS
SSA - SETOR DE SANIDADE ANIMAL
 183 NORTE, 1 - RUA NO. 01, LOTES 33/35
 77013-020 Palmas/TO
 063-215.2518 R/214
ssa-to@agricultura.gov.br

A RELAÇÃO ATUALIZADA DOS LABORATÓRIOS CREDENCIADOS, E OS ENDEREÇOS DAS DELEGACIAS FEDERAIS DA AGRICULTURA PODERÃO SER OBTIDOS NO SEGUINTE ENDEREÇO ELETRÔNICO:

http://www.agricultura.gov.br/sda/dda/cps_gncrh.htm



Apoio:



Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento

