

Diagnóstico da Encefalopatia Espongiforme Bovina (Mal da Vaca Louca)

Claudia Del Fava

delfava@biologico.sp.gov.br

Edviges Maristela Pituco

pituco@biologico.sp.gov.br

Centro de P&D de Sanidade Animal

Número 153 - 17/01/2011

As encefalites e encefalopatias em ruminantes constituem um grupo de enfermidades geralmente fatais, causando impactos na saúde pública, perdas econômicas no mundo todo e atuam como barreira sanitária ao comércio internacional de animais e subprodutos ^{1,2}.

O diagnóstico diferencial de enfermidades neurológicas que acometem ruminantes auxilia os órgãos de defesa sanitária na tomada de medidas específicas de combate a essas doenças ³. Sua importância cresceu desde o aparecimento da Encefalopatia Espongiforme Bovina (EEB) ou Mal da Vaca Louca, diagnosticada pela primeira vez no Reino Unido em 1986 ⁴. A EEB é uma enfermidade neurodegenerativa, progressiva e fatal de bovinos, causada por um príon (PrPC) caracterizado como uma proteína autorreplicativa, cuja fisiologia está bem documentada ⁵. O impacto econômico, social e de segurança alimentar tomou maior importância quando o príon bovino foi diagnosticado como agente causal de encefalopatia em humanos, também de caráter neurodegenerativo e fatal, denominado variante da doença de *Creutzfeldt-Jakob* (CJD). Por este motivo, a Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) exige dos países membros exportadores de carne bovina um permanente sistema de vigilância para encefalites e encefalopatias espongiformes, para tanto é necessário o diagnóstico sistemático das doenças neurológicas para evidenciar que o país esteja livre do Mal da Vaca Louca e, ao mesmo tempo, estudar as outras doenças neurológicas endêmicas no Brasil.

Desde 1976, o diagnóstico da EEB (Mal da Vaca Louca) e da Paraplexia Enzoótica dos Ovinos (Scrapie) passou a ser realizado conjuntamente ao sistema de vigilância sanitária da raiva animal, fazendo parte do Plano Nacional de Combate da Raiva dos Herbívoros (PNCRH), coordenado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA ⁶. Desta forma, bovinos, ovinos e caprinos com sintomatologia nervosa de caráter progressivo deverão ser submetidos ao diagnóstico diferencial para raiva, outras encefalites, EEB e Scrapie. Estas normas visam incrementar medidas de vigilância epidemiológica específicas para manter e preservar a condição de país livre da EEB ⁷. Os agentes que causam encefalites são multicausais e uma boa revisão sobre as doenças de SNC que acometem bovinos no Brasil pode ser consultada ⁸.

A partir de 2002, com o desenvolvimento do Projeto Políticas Públicas FAPESP intitulado "Encefalites e Encefalopatias dos bovinos: sistematização do diagnóstico diferencial", coordenado pela Pesquisadora Científica Dra. Edviges Maristela Pituco, do Centro de P&D de Sanidade Animal do Instituto Biológico (IB), foi estabelecido um trabalho conjunto entre o IB e instituições parceiras no âmbito federal e estadual, como o MAPA e a Coordenadoria de Defesa Agropecuária do Estado de São Paulo (CDA) para realização de análise histopatológica, virológica, bacteriológica e parasitológica em bovinos com síndrome neurológica. No período de abril 2002 a julho de 2004, a equipe multidisciplinar do Centro de P&D de Sanidade Animal analisou 652 amostras de SNC de bovinos ¹. Foi confirmado o agente causal em 27,8% amostras, sendo que 11,85% (78/658) foram positivas para raiva (imunofluorescência direta e prova biológica), 1,22% (08/658) para BoHV-5 (PCR), 1,37% (09/658) para BVDV (isolamento, identificação por imunoperoxidase e RT-PCR), 0,30% (02/658) para *Neospora caninum* (PCR). Obteve-se, em 12,0% (79/658) dos casos, o isolamento e identificação de agentes bacterianos (*Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Clostridium perfringens*, *Arcanobacterium pyogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp. e *Listeria monocytogenes*). Diagnosticou-se polioencefalomalácia 0,9% (05/658) e neoplasias 0,2% (01/658) pela histopatologia. Ressalta-se que em 72,2% das amostras não foi possível elucidar a causa com os diagnósticos disponíveis (isolamento e molecular), sendo que a incorreta forma de coleta, conservação e envio das amostras foi apontada como principal ponto crítico no sucesso do diagnóstico ¹.

O Laboratório de Anatomia Patológica do IB foi credenciado pelo MAPA, por meio da Portaria SDA nº. 05 de 08 de janeiro de 2004, para realizar o diagnóstico diferencial histopatológico por hematoxilina/eosina (HE) das Encefalopatias Espongiformes atendendo ao PNCRH, visando participar das atividades de Vigilância Epidemiológica em animais e em alimentos para uso animal. No período de janeiro de 2004 até dezembro de 2009, foram processadas por esta Unidade 2.706 amostras de SNC de bovinos fixadas em formalina 10% para diagnóstico da EEB, onde todas foram negativas pela histopatologia (HE) e imunohistoquímica ⁹.

O diagnóstico diferencial de síndrome neurológica depende da viabilidade do material biológico, sendo a condição da amostra dependente do tempo de coleta e envio e forma de conservação. Amostras enviadas para avaliação microbiológica, que se encontram autolisadas ou contaminadas, dificultam ou impedem o isolamento e identificação do agente, sendo necessário coletar material clínico com luvas e instrumental cirúrgico estéril e depositar o SNC em recipientes estéreis, enviando refrigerado o mais rápido possível ao laboratório. As porções anatômicas coletadas também são importantes para determinar o agente causal e, no caso do Mal da Vaca Louca e Scrapie, o tronco encefálico onde está localizado o óbex (estrutura mais importante do SNC para diagnóstico de enfermidade priônica) deve ser fixado imediatamente após sua coleta em formol 10% (volume cerca de dez vezes o volume do SNC) em frasco de boca larga, devidamente identificado. É fundamental encaminhar o material clínico ao laboratório de diagnóstico, com o formulário único para requisição de exame de síndrome neurológica (última versão 2009) disponível em http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Aniamal/programa%20nacional%20dos%20herbivoros/formulario%20unico%20de%20requisicao.doc

Tendo em vista que a colheita e envio de amostras clínicas para o diagnóstico de síndrome neurológica é fundamental para o sucesso do diagnóstico diferencial, o IB tem colaborado intensivamente em cursos teórico-práticos com o objetivo de treinar médicos veterinários oficiais e

autônomos a realizar este trabalho com sucesso. Recentemente foi publicado o “Manual Veterinário de Colheita e Envio de Amostras”¹⁰, que contou com a colaboração do corpo técnico da área de sanidade animal do IB e foi desenvolvido no âmbito do Termo de Cooperação Técnica com o MAPA e o Centro Pan-Americano de Febre Aftosa (PANAFTOSA) da Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS)/Organização Mundial da Saúde (OMS). Esta publicação foi organizada e ilustrada com o propósito de orientar os técnicos em nível de campo, passo a passo, nos procedimentos de colheita e envio de amostras de SNC e outros órgãos que podem estar envolvidos na síndrome neurológica, bem como para outras enfermidades animais, e pode ser acessada *on line* no endereço eletrônico link ([http://bvs1.panaftosa.org.br/local/File/textoc/SerManTec13-cap2-rum-equ-sui\(3\).pdf](http://bvs1.panaftosa.org.br/local/File/textoc/SerManTec13-cap2-rum-equ-sui(3).pdf)).

Referências

1. Pituco, E.M.; Cunha, E.M.S.; Lara, M.C.S.H.; Okuda, L.H.; De Stefano, E.; Del Fava, C.; Macruz, R.; Martins, A.M.C.F. Baldassi, L.; Pinheiro, E.S.; Castro, A.F.; Shimozono, O.S.; Trotter, C.M.; Gregory, L.; Pompei, J.C.A.; Martini, M. *Encefalites e encefalopatias dos bovinos: Sistematização do diagnóstico diferencial*. In: CONGRESSO LATINOAMERICANO DE BUIATRIA, 11.; CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA, 5., Salvador, 2003. Resumos. Salvador: Associação Brasileira de Buiatria, 2003. p.46.
2. OIE – World Organization For Animal Health. *Terrestrial Animal Health Code 2010*. Disponível em Link (http://www.oie.int/eng/normes/mcode/en_sommaire.htm). Acesso em 01 jul. 2010.
3. Del Fava, C.; Macruz, R.; Lara, M.C.C.S.H.; Cunha, E.M.S.; Villalobos, E.M.C.; Okuda, L.H.; De Stefano, E.; Scarcelli, E.; Nascimento, V.L.G.; Nogueira, V.; Pozzetti, P.S.; Pituco, E.M. Diagnóstico de encefalites e encefalopatias espongiiformes transmissíveis em ruminantes no período de 2004 a 2007 no Estado de São Paulo, Brasil. *Archive of Veterinary Science*, Curitiba, v.12, (Supl.), p.83-84, 2007.
4. Wells, G.A.H.; Scott, A.C.; Johnson, C.T. A novel progressive spongiform encephalopathy in cattle. *Veterinary Record*, London, v.121, p.419-420, 1987.
5. Linden, R.; Martins, V.R.; Prado, M.A.M.; Cammarota, M.; Izquierdo, I.; Brentani, R.R. Physiology of the Prion Protein. *Physiological Reviews*, v.88, p.673–728, 2008.
6. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Programa Nacional de Controle da Raiva e outras Encefalopatias*. Disponível em Link (<http://www.agricultura.gov.br>). Acesso em: 30 jun. 2010.
7. Barros, C.S.L.; Marques, G.H.F. *Procedimentos para o diagnóstico das doenças do sistema nervoso central de bovinos*. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento / Secretaria de Defesa Agropecuária / Departamento de Defesa Animal, 2003. 50p.
8. Barros, C.S.L.; Driemeier, D.; Dutra, I.S.; Lemos, R.A.A. *Doenças do sistema nervoso de bovinos no Brasil*. Montes Claros: Vallée, 2006. 207p.
9. Del Fava, C.; Macruz, R.; Carretero, M.E.; Pituco, E.M.; Miya, P.S.; Vieira, A.C.S.; Callado, A.K.C.; Moreira, J.A.; Pozzetti, P.S.; Serqueira, M.A.C.M. Surveillance of Bovine Spongiform Encephalopathy in cattle: contribution of São Paulo State, Brazil. *Histopathology*, Oxford, v.57, (Supl. 1), p. 265, 2010.
10. Panaftosa-OPAS/OMS (Org.). *Manual veterinário de colheita e envio de amostras. Manual técnico*. Cooperação Técnica MAPA/OPAS/PANAFTOSA para o Fortalecimento dos Programas de Saúde Animal do Brasil. Rio de Janeiro: PANAFTOSA -OPAS/OMS, 2010. 218p. (Série de Manuais Técnicos, 13). Disponível em Link ([http://bvs1.panaftosa.org.br/local/File/textoc/SerManTec13-cap2-rum-equ-sui\(3\).pdf](http://bvs1.panaftosa.org.br/local/File/textoc/SerManTec13-cap2-rum-equ-sui(3).pdf)). Acesso em 01 jul. 2010.