

Taismara Simas de Oliveira

**DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DAS ENFERMIDADES DO
SISTEMA NERVOSO DE BOVINOS NO SERVIÇO DE DEFESA
SANITÁRIA DE MINAS GERAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre.

Área de Concentração: Patologia Animal.

Orientador: Prof. Renato de Lima Santos

Belo Horizonte
Escola de Veterinária – UFMG
2012

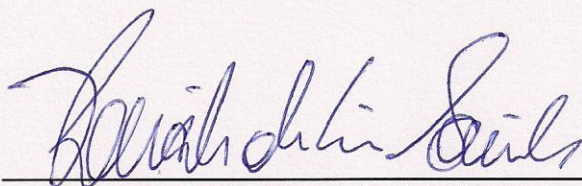
Oliveira, Taismara Simas de, 1980-
O48d Diagnóstico diferencial das enfermidades do sistema nervoso de bovinos no serviço de
defesa sanitária de Minas Gerais / Taismara Simas de Oliveira. – 2012.
57 p.: il.

Orientador: Renato de Lima Santos
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária.
Inclui Bibliografia

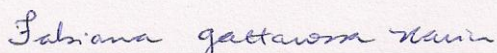
1. Bovino – Doenças – Diagnóstico – Teses. 2. Sistema nervoso – Doenças – Teses.
3. Vigilância sanitária – Teses. I. Santos, Renato de Lima. II. Universidade Federal de
Minas Gerais. Escola de Veterinária. III. Título.

CDD – 636.208 96

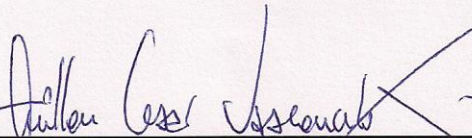
Dissertação defendida e aprovada em 26 de janeiro de 2012, pela Comissão Examinadora constituída por:



Prof. Renato de Lima Santos
Presidente



Prof^a. Fabiana Galtarossa Xavier



Prof. Anilton César Vasconcelos

AGRADECIMENTOS

Este trabalho é dedicado à minha família, em especial à minha mãe e ao João Paulo, que sempre me apóiam, confiam em meu potencial e nunca medem esforços para verem meus sonhos realizados. Obrigada por tudo. Ao Augusto, tão pequenininho, mas que me deu muita força nessa fase final e se tornou o meu maior objetivo. Amo vocês.

Ao meu orientador, Prof. Renato de Lima Santos, pelos direcionamentos e ensinamentos constantes, mas principalmente, pela aceitação e confiança, que foram essenciais para a conclusão de mais essa etapa.

Aos Professores Anilton Cesar Vasconcelos, Antônio Carlos Alessi, Milene Alvarenga Rachid e Pedro Soares Bezerra Júnior e à colega Fabiana Galtarossa Xavier pela disponibilidade e contribuições, que estão sendo fundamentais para a minha formação profissional e crescimento pessoal.

Às minhas co-orientadoras, Tatiane Alves da Paixão e Érica Azevedo Costa, que com ensinamentos de professoras e carinho de amigas, souberam me guiar para a obtenção dos melhores resultados. Vocês foram essenciais para a execução e conclusão desse trabalho.

Aos meus colegas e amigos do Laboratório de Saúde Animal do IMA, companheiros de todos os dias, pelo apoio, conselhos, auxílio na execução de etapas experimentais, mas principalmente por estarem sempre ao meu lado para o que eu precisasse. Ao Ronaldo Furtini e à Safira Rachel Drumond Lima, parceiros do LDDN, que foram meus colaboradores mais assíduos, sempre me auxiliando para que os resultados fossem possíveis. Em especial à Marilda Ferreira Martins, minha chefe e segunda “mãe”, por acreditar em mim, me impulsionar a dar novos passos, contribuindo de maneira determinante para o meu crescimento e afirmação profissional.

Ao Instituto Mineiro de Agropecuária – IMA, representado pelo Dr. Altino Rodrigues Neto, pela oportunidade concedida de cursar mais essa etapa e pela disponibilização de toda estrutura física e de pessoal.

À Valquiria Bull, aluna de iniciação científica, por se tornar “meus braços e pernas” nessa caminhada, mostrando toda a sua competência, responsabilidade e dedicação na execução dos trabalhos, mas acima de tudo, por me ensinar o valor da humildade.

Ao Lanagro-MG e ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA, com ênfase ao Fiscal Federal Agropecuário Antônio Augusto Fonseca Júnior, pela execução de parte dos experimentos, cedendo insumos, conhecimentos, protocolos e resultados que compuseram esse trabalho.

Ao laboratório de Toxicologia da EV-UFGM, em especial à Profa. Marília Martins Melo, pela execução dos ensaios toxicológicos, orientações, revisões e carinho especial dispendido a mim.

Aos colegas e amigos do Setor de Patologia Veterinária da EV-UFGM, pelo agradável e prazeroso convívio, pelo auxílio na execução de técnicas e pelos diversos momentos de alegria e descontração que tornaram esse curso ainda mais agradável. Um agradecimento especial às técnicas e às alunas Carolina Andrade de Rezende e Roberta Rosa, que estiveram sempre disponíveis quando eu mais precisei.

Ao CNPq e FAPEMIG pelo auxílio financeiro essencial para a execução do trabalho.

E a todos aqueles não citados, que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desta importante etapa de minha vida, meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

	RESUMO	8
	ABSTRACT	9
1.	INTRODUÇÃO	10
2.	REVISÃO DE LITERATURA	10
2.1.	Alterações inflamatórias	10
2.1.1.	Raiva	11
2.1.2.	Encefalites herpéticas	12
2.1.2.1.	Herpesvírus Bovino tipo-1 (BoHV-1) e Herpesvírus Bovino tipo-5 (BoHV-5)	12
2.1.2.2.	Herpesvírus Ovino tipo-2 (OvHV-2)	13
2.1.2.3.	Herpesvírus Suíno tipo-1 (SuHV-1)	13
2.1.3.	Listeriose	14
2.1.4.	Meningoencefalite tromboembólica por <i>Histophilus somni</i>	14
2.1.5.	Tuberculose encefálica.....	15
2.1.6.	Encefalite protozoal	15
2.2.	Alterações degenerativas	15
2.2.1.	Polioencefalomalácia	15
2.2.2.	Encefalopatia Espongiforme Bovina	16
2.3.	Alterações circulatórias	17
2.3.1.	Babesiose cerebral	17
2.4.	Alterações tóxicas	17
2.4.1.	Botulismo	18
2.5.	Alterações congênitas	18
2.6.	Alterações neoplásicas	19
3.	MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1.	Amostras	19
3.2.	Imunofluorescência direta e prova biológica para o diagnóstico da raiva	19
3.3.	Histopatologia	19
3.4.	Histoquímica	20
3.5.	Reação em cadeia pela polimerase	20
3.6.	Exame toxicológico	21
3.7.	Pesquisa de toxina botulínica por soroneutralização em camundongos	21
3.8.	Análise estatística	21
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
4.1.	Perfil das amostras encaminhadas para análise laboratorial	21
4.2.	Diagnóstico da raiva bovina	22
4.3.	Diagnóstico histopatológico do SNC	27
4.3.1.	Diagnósticos histopatológicos	31
4.3.1.1.	Meningoencefalite por BoHV-5	31
4.3.1.2.	Meningoencefalite tromboembólica	32
4.3.1.3.	Vasculite fibrinóide da <i>rete mirabile</i> epidural rostral e outros vasos do SNC compatível com infecção por OvHV-2	33
4.3.1.4.	Meningoencefalite não supurada com microabscessos compatível com infecção por <i>Listeria monocytogenes</i>	34
4.3.1.5.	Tuberculose encefálica	35
4.3.1.6.	Polioencefalomalácia	35
4.3.1.7.	Babesiose cerebral	37
4.3.1.8.	Abiotrofia cerebelar	38
4.3.1.9.	Astrocitoma	41
4.4.	Diagnóstico de agentes infecciosos do SNC através da reação em cadeia pela polimerase	42

4.4.1.	Herpesvírus Bovino tipo-5	42
4.4.2.	Herpesvírus Bovino tipo-1	42
4.4.3.	Herpesvírus Ovino tipo-2	42
4.4.4.	Herpesvírus Suíno tipo-1	43
4.4.5.	<i>Listeria monocytogenes</i>	43
4.4.6.	<i>Histophilus somni</i>	43
4.5.	Diagnóstico toxicológico	43
4.6.	Diagnóstico de botulismo através da pesquisa da toxina botulínica	44
5.	CONCLUSÕES	45
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45
7.	ANEXOS	56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Primers utilizados nas PCR para detecção dos agentes bacterianos.....	21
Tabela 2 -	Frequência de amostras positivas para raiva bovina na defesa sanitária de Minas Gerais de 2003 a 2010 de acordo com idade e raça.....	24
Tabela 3 -	Frequência de regiões do SNC na composição das amostras de bovinos enviadas ao serviço de defesa sanitária de Minas Gerais de 2003 a 2010, conservadas sob refrigeração e em formol a 10%	25
Tabela 4 -	Frequência das alterações histopatológicas sugestivas de raiva nas diferentes regiões do SNC.....	26
Tabela 5 -	Frequência de diagnósticos conclusivos para raiva bovina pela histopatologia de acordo com a composição da amostra em formol a 10%	27
Tabela 6 -	Frequência das regiões do SNC na composição das amostras de bovinos enviadas ao serviço de defesa sanitária de Minas Gerais de 2004 a 2010, para análise histopatológica.....	29
Tabela 7 -	Frequência das alterações histopatológicas segundo os fragmentos analisados de SNC de bovinos no serviço de defesa sanitária de Minas Gerais de 2004 a 2010.....	31

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Distribuição temporal das 3.880 amostras de bovinos com síndrome neurológica enviadas ao LSA/IMA de 2003 a 2010 de acordo com o método de conservação.....	23
Figura 2 -	Frequência anual das amostras de bovinos com sinais neurológicos enviadas ao LSA/IMA de 2003 a 2010 segundo o responsável pela coleta.....	23
Figura 3 -	Frequência de positividade para raiva bovina pela IFD e PB segundo a composição da amostra refrigerada. Colunas seguidas de letras diferentes apresentam diferença significativa ($p < 0,05$).....	26
Figura 4 -	Bovino, cerebelo e tronco encefálico, alterações histopatológicas compatíveis com infecção pelo vírus da raiva. a – Corpúsculo de Negri (seta) em célula de Purkinje do cerebelo. b – Infiltrado inflamatório não supurado, perivascular, intenso (manguito perivascular) em fragmento de ponte. HE, 40X.....	27
Figura 5 -	Frequência de diagnósticos nas amostras de SNC de bovinos com síndrome neurológica enviadas ao LSA/IMA de 2004 a 2010 e analisadas pela técnica de histopatologia.....	29
Figura 6 -	Frequência dos tipos de diagnósticos morfológicos nas amostras de SNC de bovinos com alterações histopatológicas de 2004 a 2010.....	30
Figura 7 -	Frequência de alterações histopatológicas nos fragmentos de SNC que compunham	

	as amostras de bovinos analisadas pelo serviço de defesa sanitária de Minas Gerais de 2004 a 2010.....	30
Figura 8 -	Bovino, SNC, cérebro, alterações histopatológicas compatíveis com infecção por BoHV-5. a – Manguito perivascular linfo-histiocitário, moderado. b – Malácia da substância cinzenta, caracterizada por inúmeras células Gitter associadas a hipertrofia do endotélio vascular. HE, 40X. c – Corpúsculo de inclusão eosinofílico, intranuclear em neurônio. HE, 100X.....	32
Figura 9 -	Bovino, SNC, tálamo, alterações macro e microscópicas compatíveis com meningoencefalite tromboembólica. a – Fragmento de tálamo apresentando área focal, extensa, de coloração escura e consistência friável. b – Manguitos perivascular linfo-histiocitários, difusos e moderados associados a vasculite fibrinóide e neutrofílica, trombose vascular e necrose do neurópilo adjacente. HE, 20X. c – Vasculite fibrinóide e neutrofílica associada a trombose vascular. HE, 40X.....	33
Figura 10 -	Bovino, <i>rete mirabile</i> epidural rostral alterações histopatológicas compatíveis com infecção por OvHV-2. Vasculite fibrinóide da <i>rete mirabile</i> epidural rostral, difusa e intensa. HE, 40X.....	34
Figura 11 -	Bovino, SNC, mesencéfalo, alterações histopatológicas compatíveis com infecção por <i>Listeria monocytogenes</i> . Área focal de microabscesso no neurópilo do tronco encefálico. HE, 40X.....	36
Figura 12 -	Bovino, SNC, cérebro, alterações macro e microscópicas compatíveis com tuberculose encefálica. a – fragmento de cérebro apresentando espessamento intenso e difuso das meninges. b – Meningoencefalite granulomatosa, difusa e intensa. HE, 20X c – Célula gigante tipo Langerhans contendo alguns BAAR intralasionais. HE, 100X d – reação granulomatosa caracterizada por inúmeras células gigantes tipo Langerhans associadas a infiltrado linfo-histiocitário e proliferação de tecido conjuntivo fibroso. HE, 40X.....	36
Figura 13 -	Bovino, gânglio trigeminal e <i>rete mirabile</i> epidural rostral, alterações macro e microscópicas compatíveis com tuberculose encefálica. a – fragmento de gânglio trigeminal intensamente aumentado de volume, de superfície irregular, coloração amarelada e aspecto caseoso. b – Seios cavernosos da <i>rete mirabile</i> epidural rostral apresentando reação granulomatosa, difusa e intensa. HE, 04X.....	37
Figura 14 -	Bovino, SNC, cérebro. Alterações histopatológicas compatíveis com polioencefalomalácia, caracterizadas por malácia da substância cinzenta com inúmeras células Gitter e necrose neuronal. HE, 40X.....	38
Figura 15 -	Bovino, SNC, cerebelo. Córtex cerebelar apresentando atrofia das camadas molecular, granular e de células de Purkinje, com perda acentuada e difusa das células de Purkinje. Camada molecular com atenuação moderada e astrogliose. HE, 20X.....	39
Figura 16 -	Bovino, SNC, cerebelo. Depleção de células granulares, com marcado adelgaçamento da camada granular, por vezes com células de Purkinje deslocadas para o interior da mesma (seta). HE, 40X.....	39
Figura 17 -	Bovino, SNC, cerebelo. Células de Purkinje restantes retraídas e hiperromáticas, com moderada atenuação e astrogliose da camada molecular. HE, 20X.....	40
Figura 18 -	Bovino, SNC, cérebro. Astrocitoma de baixo grau. Proliferação de células neoplásicas, alongadas, ora pequenas, ora grandes, com citoplasma escasso e núcleo grande, com cromatina frouxa e nucléolo evidente, havendo poucas células redondas a ovais, com citoplasma abundante e acidófilo, multinucleadas. HE, 40X.	41

RESUMO

Este trabalho se baseia na análise retrospectiva e prospectiva de amostras biológicas de bovinos que apresentaram óbito após sintomatologia neurológica, coletadas em Minas Gerais de 2003 a 2010 e enviadas ao Instituto Mineiro de Agropecuária. As amostras foram analisadas pelas técnicas de imunofluorescência direta e prova biológica para raiva; histopatologia, histoquímica, PCR para herpesvírus bovino tipo-1, herpesvírus bovino tipo-5, herpesvírus ovino tipo -2, herpesvírus suíno tipo-1, *Listeria monocytogenes* e *Histophilus somni*; exame toxicológico para pesticidas e outros agentes tóxicos e soroneutralização em camundongos para pesquisa de toxina botulínica, sendo catalogadas características relacionadas aos animais e às amostras. Frequência de positividade para as técnicas empregadas e distribuição de frequência quanto às características avaliadas foram determinadas e analisadas pelo Teste Exato de Fisher. Conclui-se que, amostras de bovinos enviadas ao serviço de defesa sanitária do Estado atendem parcialmente os requisitos de vigilância da raiva e encefalopatias espongiformes transmissíveis. A raiva bovina diagnosticada é influenciada pela raça, idade e tipo de morte do animal e pela composição da amostra. Outras enfermidades neurológicas estão presentes no Estado e a aplicação de várias técnicas, permite a realização do diagnóstico diferencial e de mais diagnósticos conclusivos.

Palavras-chave: Bovino, doenças neurológicas, vigilância sanitária, Minas Gerais.

ABSTRACT

This work is based on retrospective and prospective analysis of biological samples from cattle that had died after neurological symptoms, which were collected in Minas Gerais from 2003 to 2010 and sent to *Instituto Mineiro de Agropecuária*. The samples were analyzed by direct immunofluorescence and biological test for rabies, histopathology, immunohistochemistry, PCR for bovine herpesvirus-1, bovine herpesvirus type-5, herpesvirus sheep type 2, porcine herpesvirus type-1, *Listeria monocytogenes* and *Histophilus somni*; toxicologic tests for pesticides and other toxic agents; and mice soroneutralization for detection of botulinum toxin. Parameters related to cattle and samples were assessed. Frequency of positivity for the techniques used and distribution were determined, and the results were analyzed by Fisher's exact test. In conclusion, cattle samples submitted to *Instituto Mineiro de Agropecuária* partially meet the requirements for surveillance of rabies and transmissible spongiform encephalopathies. The frequency of bovine rabies diagnosed in Minas Gerais was influenced by breed, age and type of death of the affected animal as well as composition of the sample. Other neurological diseases are present in Minas Gerais and the use of multiple diagnostic techniques allowed a more accurate differential diagnosis and a higher rate of conclusive diagnoses.

Key-words: Cattle, neurological diseases, health surveillance, Minas Gerais.

1. INTRODUÇÃO

As enfermidades do sistema nervoso central (SNC) são frequentemente relatadas em bovinos no Brasil, sendo causa importante de prejuízos e mortalidade (Riet-Correa et al., 1998; Salvador et al., 1998; Sanches et al., 2000; Garmatz et al., 2004; Karam et al., 2004; Lima et al., 2005; Riet-Correa et al., 2006; Galiza et al., 2010). Desde a descrição da encefalopatia espongiiforme bovina no Reino Unido (Wells et al., 1987), relacionada posteriormente com uma variante da doença de *Creutzfeldt-Jacob* (Trevitt e Singh, 2003), o diagnóstico das enfermidades que acometem o SNC de bovinos, tornou-se ainda mais importante, para cumprir exigências sanitárias internacionais (Barros e Marques, 2003).

Apesar de Minas Gerais apresentar o segundo maior rebanho bovino do país, contando com 22.369.639 cabeças, segundo as informações disponibilizadas pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE (Produção, 2008), há escassez de informações referentes às doenças neurológicas que acometem esses animais no Estado (Ferreira et al., 1986; Moro et al., 1994; Silva et al., 2001; Gomes et al., 2002; Ferreira, 2006; Costa, 2007; Dallora, 2007; Menezes, 2008; Aquino Neto et al., 2009).

O Laboratório de Saúde Animal do Instituto Mineiro de Agropecuária (LSA/IMA), credenciado e auditado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), é o responsável pela realização dos diagnósticos de raiva e encefalopatias espongiiformes transmissíveis (EETs) dos animais de produção em Minas Gerais. Atualmente, o LSA/IMA recebe aproximadamente 200 amostras de SNC de bovinos com sinais neurológicos por ano. Cerca de 40% dessas amostras são positivas para raiva e 100% são negativas para as EETs (dados não publicados), necessitando de um diagnóstico conclusivo para as demais enfermidades neurológicas que podem acometer os bovinos.

Portanto, o diagnóstico diferencial das enfermidades que afetam o sistema nervoso, resultando em sintomatologia clínica

semelhante à raiva e EETs, é de fundamental importância para o conhecimento da ocorrência e distribuição das mesmas no Estado.

Assim, a realização de um diagnóstico laboratorial diversificado, com a associação de diversas técnicas, se justifica ao permitir a identificação de enfermidades subdiagnosticadas ou ainda não relatadas em Minas Gerais, o que poderá gerar dados inéditos e conseqüentemente auxiliar na definição de medidas efetivas de prevenção, controle ou erradicação, contribuindo significativamente para a ampliação e melhoria das ações de defesa sanitária no Estado, além de culminar com a adoção de medidas de mitigação de risco à saúde humana e animal, bem como redução de possíveis perdas econômicas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Diversas enfermidades acometem o sistema nervoso de bovinos. O diagnóstico das doenças neurológicas de bovinos é realizado, muitas vezes, pela avaliação dos sinais clínicos (Riet-Correa et al., 2002). Porém, a confirmação laboratorial é de extrema importância, uma vez que a sintomatologia nervosa apresentada nesses casos é comum a diferentes enfermidades (Baldassi et al., 1991; Hamir et al., 2001; Ducrot et al., 2008).

As doenças do sistema nervoso frequentemente não apresentam lesões macroscópicas. 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 neurológica (Riet-Correa et al., 2002; Barros e Marques, 2003).

Alterações inflamatórias, degenerativas, circulatórias, traumáticas, tóxicas, congênitas e neoplásicas já foram descritas como causadoras de alterações neurológicas em bovinos.

2.1. Alterações inflamatórias

As alterações inflamatórias são as mais frequentemente relatadas no SNC (Summers et al., 1995). Elas são desencadeadas por inúmeros

patógenos, sendo a raiva bovina a de maior relevância.

As alterações inflamatórias são classificadas segundo o tipo de infiltrado inflamatório, em supuradas e não supuradas. As encefalites supuradas apresentam infiltrado predominantemente neutrofílico, sendo mais frequentemente desencadeadas por agentes bacterianos. As não supuradas, caracterizadas pelo infiltrado de leucócitos mononucleares, são comuns em infecções virais, além de outros agentes infecciosos, como protozoários (Summers et al., 1995).

2.1.1. Raiva

A raiva é uma doença neurológica fatal, causada por um vírus RNA, do gênero *Lyssavirus*, família *Rhabdoviridae*, que acomete diversas espécies de mamíferos (Summers et al., 1995a; Fernandes e Riet-Correa, 2007).

Segundo King e Turner (1993), a raiva bovina é responsável, em todo o mundo, por perda anual de cerca de 50 milhões de dólares, sendo uma das enfermidades mais importantes para a pecuária e para a saúde pública no Brasil (Schneider et al., 1996; Favoretto et al., 2002; Miranda et al., 2003; Lima et al., 2005). Estima-se que, por ano, a raiva seja responsável pela morte de 30.000 (Rodrigues da Silva et al., 2000) a 40.000 bovinos no país, causando perdas anuais diretas estimadas em 15 milhões de dólares (Heinemann et al., 2002). Além disso, há gastos indiretos com vacinações de animais e tratamentos pré e pós-exposição de humanos (Azevedo et al., 1981; Chamelet et al., 1982; Rodrigues da Silva et al., 2000).

O principal transmissor da raiva dos herbívoros na América Latina é o morcego hematófago *Desmodus rotundus* (Torres e Queiroz Lima, 1935; Almeida et al., 2002; Gomes et al., 2007; Scheffer et al., 2007). Logo, a captura e o combate seletivo das populações de quirópteros constituem parte importante no controle desta enfermidade (Almeida et al., 2002), uma vez que a vacinação de animais não impede a ocorrência de espoliações, nem a propagação do vírus entre as populações silvestres (Scheffer et al., 2007).

A sintomatologia e o curso clínico da doença variam de acordo com o local da mordedura, espécie afetada e quantidade de vírus inoculado. Comumente são descritos dois tipos de sintomatologia, a raiva furiosa (frequente em cães e gatos) e a raiva paralítica (comum em herbívoros) (Lima et al., 2005; Silva et al., 2004).

Objetivando o controle efetivo da raiva dos herbívoros, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) instituiu o Programa Nacional de Controle da Raiva dos Herbívoros (PNCRH). As ações previstas no programa são o controle populacional do morcego *Desmodus rotundus*, a vacinação estratégica de espécies susceptíveis e outras medidas profiláticas e de vigilância adotadas na defesa sanitária animal (Brasil, 2005).

Segundo o PNCRH, cabe ao proprietário a notificação imediata ao serviço veterinário oficial, da ocorrência ou suspeita de casos de raiva na propriedade, assim como da presença de animais espoliados por morcegos hematófagos ou da existência de abrigos de tal espécie (Brasil, 2002b). Vale salientar que, a não notificação coloca em risco a saúde de rebanhos da região, podendo expor o próprio homem à enfermidade (Brasil, 2005). Em contrapartida, o serviço veterinário oficial, deverá prontamente tomar as medidas necessárias para o atendimento à notificação (Brasil, 2005). Porém, apesar do atendimento do serviço veterinário oficial ser prioritário nesses casos, o veterinário autônomo ao tomar conhecimento ou realizar atendimento em animais com sintomatologia neurológica deverá, prontamente, notificar o serviço oficial e, caso possível, realizar a coleta de material encefálico e encaminhá-lo para diagnóstico laboratorial, auxiliando no controle da enfermidade (Brasil, 2002b; Brasil, 2005).

Oficialmente, o diagnóstico da raiva é realizado através da técnica de imunofluorescência direta (IFD) e da prova biológica (PB), que consiste na inoculação em camundongos ou células, a partir de amostras refrigeradas de SNC dos animais suspeitos (Brasil, 2002b).

À histopatologia, verifica-se encefalite não supurada associada, por vezes, à presença de corpúsculos de inclusão intracitoplasmáticos em

neurônios, denominados corpúsculos de Negri (Summers et al., 1995).

Em Minas Gerais, o LSA/IMA realiza o diagnóstico da raiva, com ênfase em animais de produção, desde 1987. Durante esse período, estudos epidemiológicos foram realizados avaliando a distribuição espacial da doença no Estado ou sua ocorrência em determinados municípios (Silva et al., 2001; Ferreira, 2006; Dallora, 2007; Menezes et al., 2008). Porém, uma caracterização mais específica da doença nos bovinos, considerando categorias animais acometidas (raça, sexo ou idade) e sintomatologia clínica relatada, ainda não foi realizada. Além disso, há escassez de estudos no Brasil relacionados ao diagnóstico laboratorial, como, por exemplo, a avaliação dos fragmentos do SNC de bovinos que apresentam maior frequência de positividade pela técnica de IFD.

2.1.2. Encefalites herpéticas

As encefalites herpéticas são causadas por vírus pertencentes à família *Herpesviridae* (Roizman et al., 1992).

Sua descrição, com ênfase ao herpesvírus bovino tipo-5 (BoHV-5), tem ocorrido em Minas Gerais de forma crescente, tornando-se um dos principais diagnósticos diferenciais da raiva (Gomes et al., 2002; Costa, 2007; Aquino Neto et al., 2009). Inclusive, a infecção concomitante de BoHV-5 e raiva no SNC já foi relatada no Brasil (Spilki et al., 2003). Contudo, há poucas informações no Estado referentes aos demais herpesvírus como, herpesvírus bovino tipo-1 (BoHV-1), herpesvírus ovino tipo-2 (OvHV-2) e herpesvírus suíno tipo-1 (SuHV-1), também capazes de infectar bovinos, causando doença neurológica.

O diagnóstico dos herpesvírus tem sido realizado pela histopatologia, reação em cadeia pela polimerase (PCR) e isolamento em amostras de bovinos provenientes de Minas Gerais (Gomes et al., 2002; Costa, 2007; Aquino Neto et al., 2009) e em outros estados (Salvador et al., 1998; Elias et al., 2004; Rissi et al., 2007).

2.1.2.1. Herpesvírus Bovino tipo-1 (BoHV-1) e Herpesvírus Bovino tipo-5 (BoHV-5)

O herpesvírus bovino tipo-5, um alfa herpesvírus, é o agente mais comum das encefalites herpéticas, possuindo a capacidade de infectar células epiteliais e nervosas, estabelecendo infecção latente em neurônios de gânglios (Roizman et al., 1992).

Amostras identificadas como BoHV-1 estão primariamente associadas com doença respiratória, genital e reprodutiva em bovinos de várias idades, e doença sistêmica em bezerras recém-nascidos (Kahrs, 2001). Porém, casos naturais de infecção por BoHV-1 com manifestação neurológica têm sido esporadicamente relatados (Furuoka et al., 1995; Roels et al., 2000; Penny et al., 2002).

No Brasil, as encefalites bovinas desencadeadas pelos BoHV-1 e 5 tem sido relatadas em vários estados, com ocorrência crescente. Considerando as infecções por BoHV-5, são comumente visualizadas alterações histopatológicas significativas no SNC, mais evidentes no córtex frontal, com confirmação da infecção por PCR. A maioria dos casos envolve animais de idades diversas, sem influência da sazonalidade e com baixa morbidade e elevada letalidade (Riet-Correa et al., 1996; Riet-Correa et al., 1998; Salvador et al., 1998; Sanches et al., 2000; Colodel et al., 2002; Gomes et al., 2002; Oliveira et al., 2003; Elias et al., 2004; Riet-Correa et al., 2006; Rissi et al., 2006a; Costa, 2007; Rissi et al., 2007; Rissi et al., 2008; Aquino Neto et al., 2009; Galiza et al., 2010).

Os BoHV-1 e BoHV-5 compartilham propriedades biológicas, antigênicas e moleculares, e os seus genomas apresentam homologia de aproximadamente 85% de nucleotídeos (Delhon et al., 2003).

Durante o diagnóstico, a diferenciação entre os BoHV-1 e BoHV-5 pode ser realizada através da PCR, pois algumas regiões do genoma, com ênfase nas porções codificadoras de gC e da timidina Kinase (TK), apresentam diferenças entre BoHV-1 e BoHV-5, que permitem a diferenciação pela variação de extensão dos

amplicons obtidos (Ashbaugh et al., 1997; Moore et al., 2000; Claus et al., 2005).

O exame macroscópico do SNC de bovinos acometidos por BoHV-5 pode revelar áreas multifocais amarelo-acinzentadas, por vezes deprimidas, mais evidentes no córtex frontal. À histopatologia, verifica-se meningoencefalite não supurada e necrotizante (polioencefalomalácia – malácia da substância cinzenta), por vezes com corpúsculos de inclusão eosinofílicos intranucleares em neurônios e astrócitos (Barros et al., 2006). Essas alterações têm distribuição difusa, desde o telencéfalo até a medula, com intensidade variável (Elias et al., 2004), porém claramente mais intensas nas porções rostrais do encéfalo (Rissi et al., 2006a). O envolvimento mais evidente do córtex frontal está diretamente relacionado a via de infecção, pois a principal forma de invasão do SNC pelo BoHV-5 é a olfatória (Diel et al., 2005).

As alterações encefálicas de BoHV-1 são semelhantes às desencadeadas pelo BoHV-5, porém tendem a ser mais brandas e menos necrotizantes, predominando a encefalite não supurada (Furuoka et al., 1995; Roels et al., 2000; Penny et al., 2002).

Atualmente, não há vacina específica contra o BoHV-5, porém devido a extensa reatividade cruzada observada entre o BoHV-1 e o BoHV-5, animais vacinados com vacina BoHV-1 de vírus vivo modificado tem demonstrado proteção contra o BoHV-5 (Cascio et al., 1999).

Não há programas oficiais brasileiros de defesa sanitária para o controle das infecções por BoHV-1 e BoHV-5. A realização de estudos envolvendo esses patógenos, que identifiquem e descrevam os mesmos como importantes causadores de doença neurológica em bovinos, pode estimular a inserção desses vírus na rotina dos serviços de defesa oficiais.

2.1.2.2. Herpesvírus Ovino tipo-2 (OvHV-2)

O herpesvírus ovino tipo-2, um gamaherpesvírus, é um dos agentes da Febre Catarral Maligna (FCM), uma doença infecciosa linfoproliferativa que acomete várias espécies

de ruminantes e ungulados (Smith, 2002; Russell et al., 2009). A FCM é causada por um grupo de gamaherpesvírus sendo classificada em duas formas distintas. A forma africana, induzida por sete gamaherpesvírus, é transmitida por ruminantes selvagens e não ocorre no Brasil (Li et al., 2003). A forma denominada FCM ovino-associada (FCM-OA) é transmitida por ovinos e, provavelmente, caprinos, sendo causada pelos herpesvírus ovino-2 (OvHV-2) e herpesvírus caprino-2 (CpHV-2).

A FCM apresenta manifestação nervosa, porém também há alterações sistêmicas que tornam a sintomatologia e os achados de necropsia muitas vezes fortemente indicativos de infecção pelo OvHV-2 (Rech et al., 2005). A principal alteração associada à FCM é a vasculite, podendo acometer diversos tecidos, sendo a *rete mirabile* epidural rostral o local de eleição para o diagnóstico histopatológico dessa enfermidade (Rech et al., 2005; Rech et al., 2006). A técnica de PCR para detecção do vírus no SNC tem sido utilizada com resultados satisfatórios (Costa, 2007; Mendonça et al., 2008).

No Brasil, a FCM em bovinos já foi descrita e relacionada à infecção pelo OvHV-2, apresentando alterações sistêmicas características, como corrimento nasal e ocular, e lesões vasculares em órgãos e tecidos, associadas por vezes à sintomatologia neurológica. Os casos relatados apresentaram baixa morbidade e alta mortalidade. O diagnóstico, em sua maioria foi realizado pela observação microscópica de vasculite multifocal, com ênfase à *rete mirabile* epidural rostral (Barros et al., 1983; Marques et al., 1986; Sanches et al., 2000; Garmatz et al., 2004; Lemos et al., 2005; Rech et al., 2005; Costa, 2007; Macêdo et al., 2007; Mendonça et al., 2008; Carmo et al., 2011).

2.1.2.3. Herpesvírus Suíno tipo-1 (SuHV-1)

O herpesvírus suíno tipo-1 é um alfa herpesvírus mais comumente conhecido como vírus da doença de Aujeszky ou pseudorraiva. Os suínos são seu reservatório natural podendo infectar inúmeras espécies, como bovinos, ovinos, caprinos, caninos e felinos (Gustafson, 1986).

O SuHV-1 tem distribuição mundial, sendo sua presença detectada no Brasil em criatórios suínos, durante surtos (através de isolamento ou métodos moleculares) ou em levantamentos sorológicos, e isoladamente em outras espécies (Piatti et al., 2001; Souza et al., 2002; Silva et al., 2005; Schaefer et al., 2006; Tomporoski et al., 2010).

Bovinos são mais resistentes ao contágio que os suínos, sendo infectados através da inalação de aerossóis, mordidas e lambidas, e alimentação à base de carcaça de suínos (Beran, 1993). Nos bovinos, a infecção pelo SuHV-1 é invariavelmente fatal, podendo ocorrer mortes súbitas, sem nenhum sinal da infecção (Flatschart e Resende, 2001). O prurido é uma manifestação comum e característica dessa enfermidade, podendo ocasionar lesões em diversas partes do corpo do animal, sendo muitas vezes considerado no diagnóstico diferencial da raiva (Kotait et al., 1986; Braga et al., 2005).

O diagnóstico do SuHV-1 em bovinos pode ser realizado através da inoculação de uma suspensão de SNC do animal acometido (com ênfase ao cérebro e cerebelo) em coelhos ou camundongos, que são altamente sensíveis ao vírus, aparecendo sinais neurológicos e de prurido, com óbito até 72 horas após a inoculação (Flatschart e Resende, 2001). O uso da PCR também tem permitido resultados satisfatórios (Scherba et al., 1992; Cândido et al., 1999; Costa, 2007). O diagnóstico sorológico não é realizado, pois os animais morrem antes da soroconversão (Flatschart e Resende, 2001). À histopatologia, verifica-se meningoencefalite não supurada, comum às infecções virais (Summers et al., 1995).

Em Minas Gerais, a infecção por SuHV-1 no SNC de bovinos, com sintomatologia neurológica, já foi diagnosticada (Costa, 2007).

2.1.3. Listeriose

A Listeriose é uma enfermidade infecciosa causada pela bactéria gram-positiva *Listeria monocytogenes*. Afeta várias espécies animais, podendo induzir infecção sistêmica, aborto e doença neurológica (meningoencefalite) (Summers et al., 1995). A forma nervosa é mais

comum em regiões de clima temperado, onde os casos ocorrem principalmente no inverno e início da primavera, correlacionados à silagem de má qualidade (pH acima de 5,5) que favorece o crescimento bacteriano (Summers et al., 1995).

Lesões macroscópicas não são comuns, mas podem ser observados hiperemia das leptomeninges, turvamento do líquido cefalorraquidiano e focos de malácia castanho-amarelados (Summers et al., 1995). As alterações microscópicas consistem de microabscessos, meningoencefalite não supurada e, em casos mais crônicos, presença de células Gitter. Essas lesões distribuem-se de modo assimétrico, geralmente no tronco encefálico, principalmente na ponte e bulbo (Asahi et al., 1957; Koestner e Jones, 2000; Barros et al., 2006). O diagnóstico definitivo de listeriose no SNC tem sido realizado através de isolamento, PCR ou imunistoquímica (IHQ) (Johnson et al., 1995; Campero et al., 2002; Schwab et al., 2004; Hofer e Reis, 2005; Rissi et al., 2006; Rissi et al., 2010; Chen e Knabel, 2007).

Casos de listeriose em bovinos tem sido esporadicamente descritos no Brasil, com sinais neurológicos secundários à lesão do tronco encefálico. A ingestão de silagem contaminada foi, por vezes, relacionada à infecção dos animais. O diagnóstico, em sua maioria, foi baseado somente na visualização microscópica das alterações encefálicas associado aos sintomas, sendo por vezes utilizada a técnica de IHQ (Sanches et al., 2000; Schwab et al., 2004; Galiza et al., 2010).

2.1.4. Meningoencefalite tromboembólica por *Histophilus somni*

A meningoencefalite tromboembólica é uma enfermidade neurológica, de ocorrência esporádica, causada pela bactéria *Histophilus somni* (*Haemophilus somnus*). *H. somni* é uma bactéria gram-negativa, cuja via de transmissão por aerossol torna-se importante devido a dificuldade de manutenção no ambiente (Harris e Janzen, 1989).

Macroscopicamente, podem ocorrer áreas vermelho-amareladas no SNC, mais evidentes no cérebro (Harris e Janzen, 1989). Achados histopatológicos compatíveis com meningoencefalite tromboembólica, incluem manguitos linfo-histiocitários, vasculite, trombose e necrose circunjacente, por vezes com infiltrado neutrofílico associado. Essas alterações já foram observadas em amostras de bovinos com sintomatologia neurológica no Brasil, sendo consideradas para o diagnóstico presuntivo da doença (Lemos, 2005; Galiza et al., 2010).

O diagnóstico da meningoencefalite tromboembólica por *H. somni* pode ser realizado por cultura, porém a bactéria não sobrevive por períodos prolongados (Harris e Janzen, 1989). Sua identificação através de PCR tem apresentado resultados satisfatórios em sêmen, porém não há informações para o SNC (Saunders et al., 2007).

2.1.5. Tuberculose encefálica

A tuberculose bovina é uma zoonose de evolução crônica, causada por *Mycobacterium* spp. Em bovinos, o *M. bovis* é o principal agente, acometendo mais frequentemente o sistema respiratório, porém podendo infectar qualquer órgão ou tecido.

A prevalência da tuberculose bovina no Brasil é pouco definida, estimando-se uma média nacional de 1,3% (Brasil, 2006). Em Minas Gerais, um levantamento realizado pelo Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA) em 1999 no triângulo mineiro e centro-sul estimou a prevalência aparente de animais infectados em 0,85% (Brasil, 2006), sendo a região sudoeste a mais afetada (1,7%) (Baptista et al., 2004).

O envolvimento do SNC em animais com tuberculose tem sido esporadicamente descrito no Brasil, sendo a sintomatologia de desenvolvimento lento e dependente da localização das lesões (Correa et al., 1980; Guedes et al., 1997).

O diagnóstico da tuberculose encefálica é relativamente fácil de ser executado, através do achado de meningoencefalite granulomatosa associada a inúmeros bacilos álcool-ácido

resistentes marcados por Ziehl-Nielsen (Oliveira et al., 2009).

2.1.6. Encefalite protozoal

As encefalites protozoais em bovinos podem ser causadas por *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii*.

As alterações histopatológicas no SNC de bovinos são caracterizadas por meningoencefalite não supurada associada a cistos contendo bradizoítos, e focos de malácia, que por vezes podem conter taquizoítos livres (Dubey e Lindsay, 1996; Patricio, 2008).

A infecção por *N. caninum* é mais frequentemente relacionada a abortos em bovinos, sendo as alterações encefálicas mais comuns nos fetos (Corbellini et al., 2000).

O diagnóstico das encefalites protozoais pode ser realizado por análise histopatológica associada a técnicas mais específicas, como a PCR (Ortega-Mora, 2006; Patricio, 2008).

A presença desses protozoários em Minas Gerais já foi identificada, tanto em inquéritos sorológicos, quanto em tecidos fetais através da PCR (Costa et al., 2001; Ragozo et al., 2003; Guedes et al., 2008; Santos et al., 2009; Silva et al., 2009).

2.2. Alterações degenerativas

As alterações degenerativas do SNC são caracterizadas por degeneração e necrose neuronal associadas ou não a alterações de vacuolização, espongiose e presença de células Gitter no neurópilo, o que caracteriza a lesão denominada malácia (Summers et al., 2005).

Duas alterações degenerativas do SNC são mais comumente descritas, a polioencefalomalácia - necrose da substância cinzenta, e a leucoencefalomalácia - necrose da substância branca. Essas alterações são de fácil diagnóstico com base nas lesões histopatológicas características. A polioencefalomalácia é descrita em bovinos (Summers et al., 2005).

2.2.1. Polioencefalomalácia

A polioencefalomalácia (PEM), também denominada necrose cerebrocortical, é uma alteração degenerativa comum em bovinos, que pode ser desencadeada por inúmeros fatores (Barros et al., 2006).

Dentre as causas de PEM pode-se considerar a intoxicação por enxofre, por chumbo ou por sal, meningoencefalite por BoHV-5, intoxicação superaguda por *Phalaris* spp., ingestão de melão, mudanças bruscas na alimentação (como por exemplo de pasto ruim para excelente), administração de levamisole, tiabendazole ou amprólio, ingestão de plantas ricas em tiaminases e ingestão de cadáveres. Em alguns casos, a dificuldade em determinar a causa da alteração associada à resposta satisfatória do animal ao tratamento com tiamina, faz com que o processo seja denominado polioencefalomalácia responsiva à tiamina (Sant'Ana et al., 2009; Cunha et al., 2011).

Macroscopicamente, o SNC de animais afetados por PEM pode apresentar tumefação, achatamento das circunvoluções cerebrais, áreas amarelo-amolecidas até cavitações. Histologicamente, há necrose laminar e segmentar de neurônios corticais, aumento do espaço perivascular e perineuronal, esponjoso do neurópilo, hipertrofia do endotélio vascular e infiltração de células Gitter (Nakazato et al., 2000; Sant'Ana et al., 2009).

O diagnóstico da PEM é realizado pela visualização das alterações histopatológicas características, porém a determinação da causa da lesão torna-se mais importante devido a possibilidade de ser desencadeada por vários fatores, sendo necessária a associação das informações epidemiológicas e dos achados de necropsia para a definição da etiologia do processo (Nakazato et al., 2000; Mendes et al., 2007; Sant'Ana et al., 2009).

A polioencefalomalácia já foi relatada em Minas Gerais, sendo fatores nutricionais, como mudanças bruscas na alimentação, prováveis desencadeadores do processo (Ferreira et al., 1986; Moro et al., 1994).

2.2.2. Encefalopatia Espongiforme Bovina

A Encefalopatia Espongiforme Bovina (EEB), doença que afeta o SNC de bovinos, conhecida popularmente como “doença da vaca louca”, foi diagnosticada em 1985 no Reino Unido (Wells et al., 1987), sendo posteriormente descrita em outros países (Cachin et al., 1991; Denny et al., 1992; Agerholm et al., 1993; Kaaden et al., 1994; Coulthart et al., 2003; Heres et al., 2007; Richt et al., 2007).

O agente causal da EEB é uma proteína denominada príon (PrP^{Sc}), que quando introduzida no organismo interage com sua isoforma celular normal (PrP^C), promovendo uma alteração conformacional que a torna resistente a proteases, com conseqüente acúmulo e lesão celular, sem indução de resposta inflamatória (Stahl & Prusiner, 1991; Prusiner, 1998). Logo, as lesões desencadeadas são específicas e caracterizam-se por alterações degenerativas espongiformes, simétricas e bilaterais na substância cinzenta do SNC, devido à vacuolização neuronal e do neurópilo adjacente (Davis et al., 1991; Hamir et al., 2001; Gavier-Widen et al., 2005).

A EEB tem período de incubação prolongado, podendo variar de dois a oito anos (van Keulen et al., 2008). A doença cursa com alterações comportamentais, da sensibilidade e locomoção, como agressividade, hiperestesia, reação exagerada a estímulos externos, desequilíbrio e alteração postural (Davis et al., 1991).

A partir de 1996, a descrição de uma variante da Doença de *Creutzfeldt-Jacob* (vCJD) no Reino Unido, acometendo humanos jovens, foi relacionada à EEB. Entre os fatores que contribuíram para tal relação, estavam o período de incubação e o fato da vCJD só ser diagnosticada em países com descrição anterior de EEB (Trevitt e Singh, 2003). Logo, a possibilidade de transmissão entre espécies, sendo uma zoonose, levou as autoridades sanitárias internacionais a solicitarem dos países exportadores de carne bovina, que apresentassem evidências de que seus rebanhos eram livres de tal enfermidade (Barros e Marques, 2003).

Diante disso, apesar de não haver relatos de EEB no Brasil, o MAPA instituiu um sistema de vigilância epidemiológica, com o intuito de preservar o rebanho e a saúde pública nacional,

atendendo às exigências internacionais (Brasil, 1997; Barros e Marques, 2003). Dentre as medidas previstas nesse sistema estão: a restrição à importação de animais susceptíveis e seus produtos quando originários de países de risco; o rastreamento de animais importados desses países em território nacional; a restrição do uso de produtos de origem animal na formulação de alimentos destinados aos ruminantes; e a análise do SNC de ruminantes com sinais neurológicos (coleta a campo), importados e provenientes de matança de emergência em frigoríficos com inspeção oficial (Brasil, 2002a; Brasil, 2002c; Barros e Marques, 2003; Brasil, 2004a; Brasil, 2004b; Brasil, 2008a; Brasil, 2008b).

Até o momento, não existem provas disponíveis, validadas internacionalmente, para o diagnóstico da EEB *in vivo*. O diagnóstico *post mortem* é realizado utilizando-se as técnicas de histopatologia e IHQ, oficialmente preconizadas. À microscopia, visualiza-se as lesões degenerativas espongiiformes, caracterizadas pela vacuolização de neurônios e neurópilo, mais evidentes em fragmentos de bulbo, na região do óbex (Davis et al., 1991; Brasil, 2002c; Barros e Marques, 2003; Brasil, 2004a; Gavier-Widén et al., 2005; van Keulen et al., 2008).

2.3. Alterações circulatórias

As alterações circulatórias no SNC de bovinos são comuns, podendo ser desencadeadas por traumas, processos inflamatórios, agentes tóxicos e agentes infecciosos, como a *Babesia bovis* (Summers et al., 1995).

Macroscopicamente, o exame do SNC pode evidenciar hiperemia e hemorragias de leptomeninge, que também podem ser observadas histopatologicamente (Summers et al., 1995).

2.3.1. Babesiose cerebral

A babesiose bovina é causada, no Brasil, por *Babesia bovis* e *B. bigemina*, sendo transmitida pelo carrapato *Ripicephalus (Boophilus) microplus*. Porém, especificamente na infecção por *B. bovis*, pode ocorrer sequestro de eritrócitos parasitados nos capilares da

substância cinzenta do encéfalo, provocando manifestação clínica neurológica conhecida como babesiose cerebral (Patarroyo et al., 1982).

Macroscopicamente, o córtex telencefálico de bovinos acometidos apresenta uma coloração róseo-cereja, que por muitos é considerada patognomônica, decorrente da congestão das leptomeninges (Rodrigues et al., 2005).

O diagnóstico da babesiose cerebral, baseia-se, além da macroscopia, na análise de esfregaços ou de cortes histológicos de SNC, evidenciando os capilares repletos de eritrócitos parasitados por organismos basofílicos, solitários ou pareados, de 2 µm de diâmetro (Rodrigues et al., 2005).

Casos de babesiose cerebral tem sido descritos em diversos estados brasileiros. Os animais afetados normalmente são adultos jovens, de raças puras (principalmente taurinas), estando os casos mais concentrados no verão e após a introdução de bovinos em uma propriedade (Kessler et al., 1983; Bracarense et al., 1999; Sanches et al., 2000; Lemos, 2005; Rodrigues et al., 2005; Almeida et al., 2006; Schild et al., 2008; Antoniassi et al., 2009; Câmara et al., 2009; Galiza et al., 2010).

2.4. Alterações tóxicas

Alterações de origem tóxica também podem acarretar sinais neurológicos e o óbito de bovinos, podendo ser desencadeadas pela ingestão de plantas ou contato com substâncias contendo princípios tóxicos, assim como por microorganismos produtores de toxinas neurotóxicas.

O uso indiscriminado de pesticidas em bovinos, de leite e corte, para o controle de parasitas externos pode culminar com a intoxicação dos animais (Radostitis et al., 2002; Guitart et al., 2010). Várias são as classes de pesticidas, entre elas: organoclorados (proibido no Brasil), organofosforados, carbamatos, piretróides e triazóis. A sintomatologia apresentada nesses casos varia segundo o tóxico utilizado, sendo os sintomas neurológicos frequentes para a maioria deles (Castro et al., 2007). Desta forma, a pesquisa destes componentes tóxicos nas

vísceras e sangue dos animais que apresentarem alterações neurológicas, faz-se necessária.

A intoxicação pela ingestão de plantas tóxicas é, por vezes, aventada como causa *mortis* de bovinos com sintomatologia neurológica. As plantas tóxicas causadoras de morte súbita (característica considerada importante no diagnóstico diferencial de doenças neurológicas), como *Palicourea marcgravii* e *Mascagnia rígida*, estão presentes em Minas Gerais. Dentre as plantas causadoras de alterações neurológicas, a *Equisetum spp* é descrita no Estado, porém com raros relatos em bovinos, sendo mais comum a intoxicação de equinos. O diagnóstico desse tipo de intoxicação é difícil de ser realizado, considerando a sintomatologia inespecífica e a necessidade de visualização da planta no ambiente e no organismo do animal (Riet-Correa e Medeiros, 2001; Melo, 2006).

A intoxicação por amônia, absorvida após a fermentação rumenal da uréia ingerida em elevadas concentrações, tem sido relatada em bovinos, relacionada ao uso indiscriminado desse suplemento alimentar. Apesar de esporádica, esse tipo de intoxicação normalmente apresenta elevada morbidade e mortalidade, com um curso clínico superagudo, desencadeando sintomatologia neurológica. Seu diagnóstico pode ser realizado pela observação dos animais associada ao histórico, e quando possível, avaliação dos níveis séricos dessa substância (Antonelli et al., 2004; Santos, 2005; Antonelli et al., 2009).

Dentre as alterações tóxicas que acometem o sistema nervoso de bovinos, o botulismo é frequentemente relatado Lobato et al., 1995; Riet-Correa et al., 1998; Sanches et al., 2000; Dutra et al., 2005; Lemos, 2005; Costa et al., 2008; Lobato et al., 2008; Galiza et al., 2010).

2.4.1. Botulismo

O botulismo é uma doença neuroparalítica, causada por uma potente toxina produzida pela bactéria *Clostridium botulinum*. Esse agente apresenta sete sorotipos (A a G), sendo as neurotoxinas C1 e D, responsáveis pelo botulismo em bovinos e outros animais domésticos (Souza, 1985).

É uma enfermidade amplamente disseminada no Brasil, com relatos em São Paulo, Minas Gerais, Rio Grande do Sul, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Paraíba. Está comumente relacionada à ingestão de alimentos (principalmente osteofagia) ou água contaminados, ocasionando alta morbidade e mortalidade, com grandes perdas para a pecuária (Lobato et al., 1995; Riet-Correa et al., 1998; Sanches et al., 2000; Dutra et al., 2005; Lemos, 2005; Costa et al., 2008; Lobato et al., 2008; Galiza et al., 2010).

Não há alterações macro e microscópicas evidentes no sistema nervoso, sendo seu diagnóstico baseado no histórico (osteofagia e/ou deficiência na mineralização dos animais), associado a sintomatologia (paralisia flácida dos membros com manutenção da consciência) e na pesquisa da toxina botulínica em amostras refrigeradas de vísceras dos animais acometidos (Baldassi et al., 1991; Dutra et al., 2001; Dutra et al., 2005; Costa et al., 2008). O diagnóstico laboratorial comumente é realizado pela técnica de soroneutralização em camundongos, apresentando baixa frequência de positividade, o que torna o diagnóstico clínico-epidemiológico ainda mais importante (Baldassi et al., 1991).

2.5. Alterações congênicas

As alterações congênicas do sistema nervoso de bovinos têm ocorrência esporádica no Brasil, com descrições na Paraíba e Rio Grande do Sul, afetando principalmente fetos e animais jovens, gerando perdas reprodutivas importantes (Riet-Correa et al., 1998; Sanches et al., 2005; Guedes et al., 2006; Dantas et al., 2010; Galiza et al., 2010; Macêdo et al., 2011; Oliveira et al., 2011).

Dentre as alterações congênicas que afetam o SNC de bovinos, podemos citar: abiotrofia cerebelar, porencefalia, hipomielinogênese, desmielinização, hidrocefalia e hipoplasia cerebelar (Summers et al., 2005).

As alterações congênicas podem estar relacionadas a causas infecciosas ou não. A hipoplasia cerebelar, por exemplo, é associada a infecção pelo vírus da diarreia viral bovina (BVD). Causas não-infecciosas incluem genes autossômicos recessivos e ingestão de plantas

tóxicas (Summers et al., 2005; Guedes et al., 2006; Pavarini et al., 2008).

As alterações congênitas, devido à idade de ocorrência e sinais clínicos/macrocópicos apresentados, podem ser passíveis de diagnóstico clínico e/ou à necropsia, e, por vezes, não são submetidas ao diagnóstico laboratorial (Summers et al., 1995; Koestner e Jones, 2000; Barros et al., 2006).

2.6. Alterações neoplásicas

As alterações neoplásicas ocorrem em diversas espécies, sendo mais comumente relatadas em animais jovens ou idosos. Em bovinos, a descrição de neoplasias do sistema nervoso é rara, não só devido à ocorrência, mas também à baixa frequência diagnóstica (Sanchez et al., 2000; Lemos, 2005; Viott et al., 2007; Ramos et al., 2008).

Dentre as neoplasias do sistema nervoso podemos citar: astrocitoma, oligodendroglioma, ependimoma, papiloma e carcinoma do plexo coróide, gangliocitoma, ganglioglioma, neuroblastoma, meduloblastoma, meningioma, schwannoma, paraganglioma e ganglioneuroma (Summers et al., 2005).

O diagnóstico dos tumores no SNC, assim como em outros tecidos, pode ser realizado pela avaliação macro e microscópica da área afetada.

Diante do exposto, o diagnóstico diferencial das enfermidades do sistema nervoso de bovinos em Minas Gerais torna-se necessário pelos sinais clínicos semelhantes, escassez de informações e devido à importância crescente dessas enfermidades na pecuária brasileira.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Amostras

Todas as amostras consideradas no trabalho foram provenientes de bovinos que morreram ou foram sacrificados após sintomatologia neurológica. As amostras foram coletadas em Minas Gerais por médicos veterinários autônomos ou oficiais e encaminhadas ao LSA/IMA, acompanhadas de um formulário (Anexo I) contendo as informações referentes a

cada amostra, conforme preconizado por Barros e Marques (2003). A execução das técnicas laboratoriais foi dependente do tipo de amostra encaminhada e do método de conservação da mesma, ou seja, nem sempre a mesma amostra foi avaliada por todas as técnicas previstas.

3.2. Imunofluorescência direta e prova biológica para o diagnóstico da raiva

Um estudo retrospectivo e prospectivo das amostras refrigeradas de SNC, submetidas aos exames de IFD segundo preconizado por Dean et al. (1996) e PB conforme Koprowski (1996), no LSA/IMA, durante o período de 2003 a 2010, foi realizado, sendo avaliadas a:

- frequência de positividade;
- distribuição da frequência de positividade segundo sexo, idade, raça e tipo de morte (sacrifício ou morte natural);
- distribuição da frequência de positividade segundo os fragmentos do SNC analisados (cérebro, hipocampo, cerebelo, tálamo, tronco encefálico e medula cervical).

3.3. Histopatologia

Um estudo retrospectivo e prospectivo das amostras de SNC fixadas em formol a 10%, recebidas durante o período de 2004 a 2010, processadas pela técnica rotineira de inclusão em parafina, submetidas a microtomia seriada e coloração pela técnica da hematoxilina-eosina – HE, no LSA/IMA, (Prophet et al., 1992), para avaliação microscópica e determinação do diagnóstico morfológico das alterações encefálicas, foi realizado, sendo avaliadas a:

- frequência de diagnósticos morfológicos segundo a seguinte classificação: alterações inflamatórias (supuradas e não supuradas), circulatórias, degenerativas, neoplásicas, congênitas ou do desenvolvimento, e sem alterações histopatológicas significativas;
- frequência de diagnósticos etiológicos e/ou conclusivos, confirmados ou não pelos métodos de histoquímica ou PCR;

- distribuição de frequência das alterações morfológicas e/ou diagnósticos etiológicos segundo as características do animal (sexo, idade, raça e tipo de morte);

- distribuição de frequência das alterações morfológicas e/ou diagnósticos etiológicos segundo os fragmentos encefálicos avaliados (cérebro, cerebelo, gânglio de Gasser, *rete mirabile* epidural rostral, hipófise, tálamo, tronco encefálico e medula cervical).

3.4. Histoquímica

Cortes histológicos de amostras submetidas à análise histopatológica e que apresentaram alterações morfológicas sugestivas de tuberculose (meningoencefalite granulomatosa) foram submetidas à coloração de Ziehl-Nielsen, no setor de Patologia da EV-UFGM, (Prophet et al., 1992) para evidenciar bacilos álcool-ácido resistentes. Um estudo retrospectivo e prospectivo desses achados de histoquímica foi realizado, correlacionando-os aos achados de histopatologia.

3.5. Reação em cadeia pela polimerase

Todas as amostras refrigeradas de SNC do período de 2009 e 2010, negativas para raiva (previamente submetidas à IFD e PB), foram submetidas à reação em cadeia pela polimerase (PCR) para detecção dos seguintes agentes: BoHV-1, BoHV-5, SuHV-1, OvHV-2, *L. monocytogenes* e *H. somni*.

As amostras de SNC foram maceradas, sendo uma alíquota de 7 mL do homogeneizado suspensa em 2 mL de PBS 1X, clarificada a 3.100 x g à 4°C, por 10 minutos e submetida a extração de DNA pela sílica conforme Boom et al. (1990) para posterior detecção dos agentes virais. Outra alíquota (100 µL) do homogeneizado foi submetida a extração de DNA pelo método do tiocianato de guanidina conforme Pitcher et al. (1989) para posterior detecção de ácido nucléico dos agentes bacterianos. O DNA total extraído foi analisado e quantificado em espectrofotômetro (Bio-Rad, modelo SmartSpecTMPlus, USA) após diluição 1:50 em água ultrapura estéril livre de RNase-

DNase, sendo a concentração de DNA padronizada entre 100 e 500 µg/mL para a reação. Todas as amostras de DNA foram então submetidas a PCR para β-actina (primers - 5'-TCAAGGAGAAGCTCTGCTACGTG-3' e 5'-TTGCCGATGGTGATGACCT-3' – 121pb) com o objetivo de avaliação da viabilidade.

Após todo o processo, o DNA total extraído pela sílica foi encaminhado ao Laboratório de Biologia Molecular do Laboratório Nacional Agropecuário de Minas Gerais (Lanagro-MG) para execução do PCR multiplex para detecção de BoHV-1, BoHV-5, SuHV-1, OvHV-2, conforme descrito por Fonseca Jr. et al. (2011).

O DNA extraído pelo método do tiocianato de guanidina foi submetido a PCR para detecção de *L. monocytogenes* e *H. somni* no laboratório de Patologia Molecular da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (EV-UFGM), utilizando as sequências de primers descritas na Tabela 1. A PCR foi executada em termociclador (NyxTechnik®) com parâmetros específicos para cada agente e a análise dos produtos foi realizada por eletroforese em gel de agarose 2,0%, corado com brometo de etídeo (1,0 mg/mL) à temperatura ambiente sob voltagem constante (100 V) e observados em transluminador ultravioleta. A identificação e quantificação do tamanho do produto amplificado foi realizada através da comparação visual entre o amplicon e o padrão molecular Ladder 100 pb (Invitrogen) (Sambrook et al., 1989).

Os seguintes controles positivos foram utilizados: DNA extraído de cepa ATCC 191/5 de *L. monocytogenes* (cedida pelo Prof. Andrey Pereira Lage do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da EV-UFGM) e DNA extraído de cultura de *H. somni* isolada de epididimite ovina (3384Y – cedida pelo Dr. R. L. Walker, *University of California at Davis*).

Os resultados foram avaliados quanto à frequência de positividade para cada agente segundo as características do animal (sexo, idade, raça e tipo de morte) e origem da amostra, sendo, quando possível, correlacionados aos resultados de histopatologia.

Tabela 1. Primers utilizados nas PCR para detecção dos agentes bacterianos.

Agente	Gene	Sequência (5'→3')	Produto (pb)	Referências
<i>Listeria monocytogenes</i>	Lmo-s	TGTAAACTTCGGCGCAATCAGTGAA	119 pb	Boving et al., 2009
		GCTTTGCCGAAAAATCTGGAAGGTC		
<i>Histophilus somni</i>	16S	GAAGGCGATTAGTTTAAGAG	313 pb	Saunders et al., 2007
		ACTCGAGCGTCAGTATCTTC		

3.6. Exame toxicológico

Amostras refrigeradas de SNC, que foram enviadas acompanhadas de fígado e rins (mínimo de 100 gramas de cada víscera), além de alimentos, coletadas no período de 2009-2010, negativas para raiva, foram submetidas à análise toxicológica no laboratório de Toxicologia da EV-UFMG. Os tóxicos investigados foram: organoclorados (aldrin, dieldrin, endrin, BHC, DDT, HCB, endossulfano, heptacloro, heptacloro epóxido, lindano, metoxicloro, mirex, dicofol), organofosforados (malation, paration etílico, paration metílico), carbamatos (carbendazin e seus produtos de metabolismo, benomil, thiofanato metil), cloroalquil tiofungicidas (captan, folpet), triazóis (ciproconazol, clorotalonil, difenoconazol, propiconazol, tebuconazol), piretróides (betaciflurina, bifentrina, cipermetrina, deltametrina, fenpropatrina, fenvalerato, lambdacialotrina, permetrina), o composto misto (propargita) e os compostos amoniacais (uréia). Os métodos de análise utilizados foram a cromatografia gasosa, associada à espectrometria de massa com monitoramento iônico e a cromatografia líquida de alta eficiência conforme descrito por Toledo et al. (1998). As amostras foram avaliadas quanto à frequência de positividade para cada tóxico segundo as características do animal (sexo, idade, raça e tipo de morte) e origem.

3.7. Pesquisa de toxina botulínica por soroneutralização em camundongos

Amostras refrigeradas de fígado, rins e conteúdo intestinal, coletadas no período de 2009-2010, e

encaminhadas juntamente com SNC que testou negativo para raiva, foram submetidas à pesquisa de toxina botulínica no Setor de Clostridioses do Lanagro-MG. A técnica utilizada foi a soroneutralização em camundongos conforme metodologia descrita por Sebald e Petit (1997). As amostras foram avaliadas quanto à frequência de positividade segundo características do animal (sexo, idade, raça e tipo de morte) e origem.

3.8. Análise estatística

Os dados obtidos após análise pelas várias técnicas apresentadas foram avaliados utilizando-se estatística descritiva e teste exato de Fisher para comparação da frequência de positividade das amostras.

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa computacional InStat (Graphpad InStat®).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Perfil das amostras encaminhadas para análise laboratorial

Durante o período de 2003 a 2010 foram encaminhadas 3.880 amostras de bovinos com sinais neurológicos ao LSA/IMA para análise.

Avaliando as características relacionadas aos animais, houve predomínio de fêmeas (2.614/3.880 – 67,37%) e de bovinos mestiços (1.849/3.880 – 47,7%). Animais acima de 24

meses, idade mínima necessária para inclusão no sistema oficial de vigilância epidemiológica das EETs (Brasil, 2002a), corresponderam a 55,5% (2.152/3.880), sendo 860 animais com idade entre 4 e 7 anos (categoria de maior incidência da EEB). Bovinos apresentando morte natural foram mais frequentes (80,59% - 3.127/3880) do que sacrificados, o que é desejável para o sucesso no diagnóstico de algumas enfermidades que acometem o SNC de bovinos.

Quanto à origem, os bovinos eram provenientes de 565 cidades do Estado. O número de amostras enviadas por município foi variável, sendo que apenas um município, Carmo do Rio Claro, enviou 105 amostras, enquanto 26,01% (147/565) dos municípios enviaram apenas uma amostra para análise durante todo o período avaliado. Além disso, considerando que Minas Gerais têm 853 municípios, conclui-se que 33,76% dos municípios não enviaram amostras ao serviço de defesa sanitária animal de 2003 a 2010. Estudos adicionais relacionados a esses índices são necessários, como a avaliação de possíveis fatores relacionados à escassez de amostras de determinados municípios.

Ao avaliar o método de conservação do SNC (Figura 1), apenas 33,87% (1.314/3.880) do total de amostras foram encaminhadas em gelo e formol a 10%, permitindo a realização de todas as análises previstas pelo sistema de vigilância da raiva e das EETs (Barros e Marques, 2003). A maioria das amostras enviadas, 65,44% (2.539/3.880), estava sob refrigeração. Considerando-se que o sistema de vigilância da raiva foi regulamentado no Brasil em 1976 (Brasil, 1976) e que a determinação do envio de amostras encefálicas em formol a 10% só ocorreu em 2002 (Brasil, 2002b), o predomínio de amostras refrigeradas pode ser parcialmente justificado pela prática rotineira adquirida ao longo dos anos pelos veterinários de campo de enviar apenas material sob refrigeração. Tais fatos requerem estudos adicionais no intuito de definir estratégias para incrementar o envio de amostras com ambos os métodos de conservação.

Outro achado relevante é a diminuição gradativa no número de amostras enviadas ao LSA/IMA para análise (Figura 1). Tal tendência poderia

ser decorrente de diminuição gradativa das doenças neurológicas de bovinos no Estado, possivelmente em consequência do aumento da cobertura vacinal contra raiva, clostridioses e outras enfermidades. Porém, visto que Minas Gerais detém um rebanho bovino com mais de 22 milhões de cabeças (Produção, 2008), mesmo uma redução drástica na incidência das referidas enfermidades, não culminaria com uma diminuição tão acentuada no número de amostras de bovinos com óbito devido à síndrome neurológica. Sugere-se então, que estudos sejam realizados para identificar os fatores desencadeantes de tal tendência e que medidas sejam tomadas no intuito de estimular o envio de material para diagnóstico laboratorial.

Os veterinários do serviço de defesa oficial foram responsáveis por 55,44% do total de coletas realizadas. No primeiro ano analisado, 66,14% (461/697) das amostras foram enviadas por veterinários do serviço de defesa oficial. Porém, o envio de amostras por veterinários autônomos apresentou um aumento relativo, culminando com a supremacia desse tipo de coleta a partir de 2009 (Figura 2). Desde 2004, veterinários autônomos de Minas Gerais têm sido treinados, através do “Curso de treinamento em métodos de diagnóstico e controle da brucelose, tuberculose e de noções sobre Encefalite Espongiforme Bovina” promovido pelo MAPA, na coleta e remessa de amostras de SNC para diagnóstico de enfermidades neurológicas, o que pode ter contribuído para esse aumento relativo na remessa de amostras por essa categoria.

4.2. Diagnóstico da raiva bovina

Durante o período estudado, 3.852 amostras foram avaliadas pelas técnicas de IFD e PB, sendo 40,88% positivas para raiva (1.575/3.852 amostras). Dentre as positivas, 302 foram avaliadas também pela histopatologia.

Ao avaliar as características relacionadas aos animais, esse resultado não sofreu influência do sexo (42,38% machos positivos x 40,09% fêmeas positivas). *Bos taurus taurus* apresentaram maior frequência de positividade que *Bos taurus indicus* (33,13% taurinos x 19,46% zebuínos).

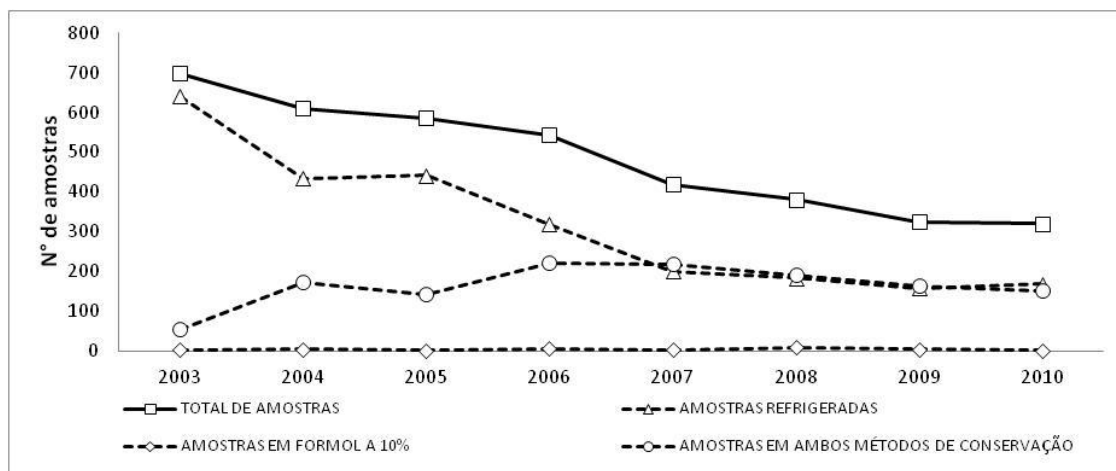


Figura 1 – Distribuição temporal das 3.880 amostras de bovinos com síndrome neurológica enviadas ao LSA/IMA de 2003 a 2010 de acordo com o método de conservação.

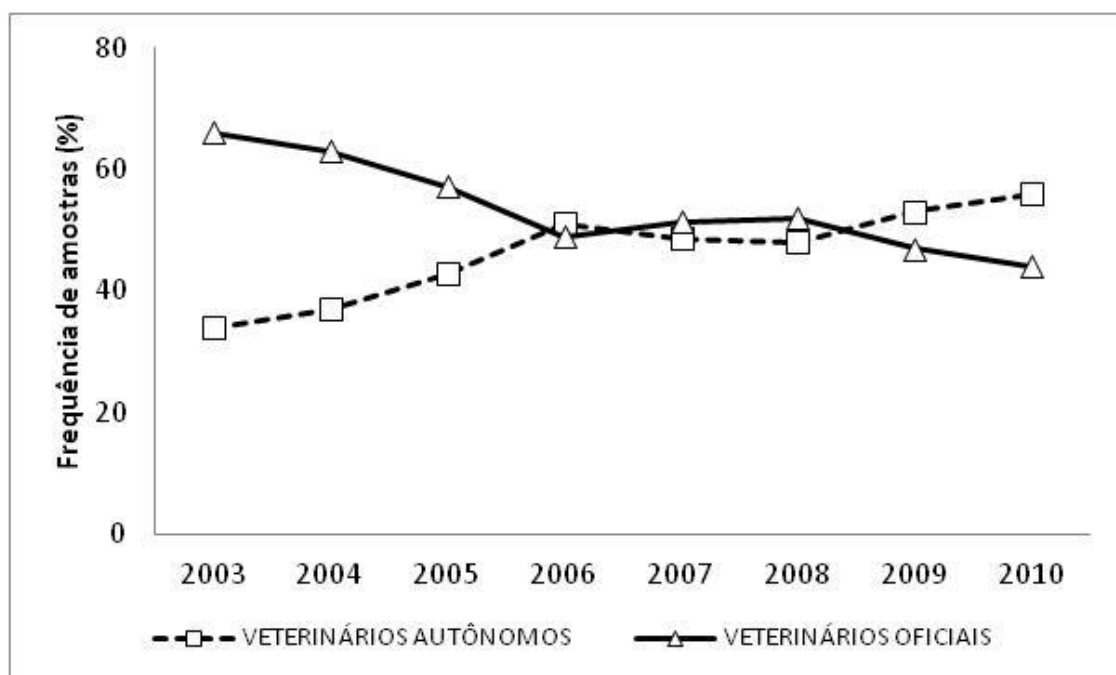


Figura 2 – Frequência anual das amostras de bovinos com sinais neurológicos enviadas ao LSA/IMA de 2003 a 2010 segundo o responsável pela coleta.

Considerando-se as raças mais frequentes no estudo (Anexo II), a nelore apresentou menor frequência de animais positivos que a holandesa e os animais girolando (5/8 holandês + 3/8 gir) foram os de maior positividade, igualando-se aos mestiços (Tabela 2). Essa variação de positividade encontrada entre as raças pode

estar relacionada aos diferentes tipos de criação e manejo, principalmente, considerando-se a maior positividade dos animais mestiços e girolando sobre as raças puras.

Avaliando-se a faixa etária, animais até um mês e acima de 49 meses apresentaram menor

frequência de positividade (Tabela 2). Considerando-se que, a vacinação para raiva tem periodicidade anual (Brasil, 2002b) e a natureza protéica complexa do vírus torna-o bom indutor de resposta imune (Kotait et al., 1998), a menor positividade de bovinos acima de 49 meses poderia ser justificada pela maior frequência de vacinação com o avançar da idade. Além disso, a capacidade de transferência de imunidade da vaca ao bezerro através do colostro (Brambell, 1958) pode justificar o resultado apresentado pelos animais até um mês de idade. Os bezerros de 2 a 12 meses foram os de maior frequência de positividade, o que pode ser reflexo da não vacinação desses animais, devido ao nascimento entre as campanhas de vacinação anuais. Outro achado relevante foi que essa distribuição da faixa etária alterou-se quando avaliada em cada raça citada anteriormente (Tabela 2), o que sugere um efeito conjunto entre raça e idade sobre a frequência de positividade para raiva na população estudada.

O tipo de morte influenciou o resultado da IFD, com os animais sacrificados apresentando menor positividade (33,41% - 141/422) que os bovinos com morte natural (41,15% - 1.286/3.125), o que se torna equivalente na PB. Esses resultados corroboram achados anteriores (Germano et al., 1977).

Segundo recomendação do MAPA (Barros e Marques, 2003), o tronco encefálico, composto por mesencéfalo, ponte e bulbo, deve ser encaminhado íntegro e conservado em formol a 10%, para análise histopatológica. Porém, a avaliação da composição da amostra (Tabela 3) revelou que a porcentagem de amostras formolizadas que continham tais fragmentos foi variável, com ausência ou falta de integridade do tronco encefálico em parte das amostras avaliadas. O bulbo, fragmento de eleição para o diagnóstico da EEB (Barros e Marques, 2003), foi enviado em 57,61% das amostras refrigeradas para diagnóstico da raiva e não estava presente em 35,43% das conservadas em formol. Tal achado requer especial atenção, exigindo maior divulgação aos veterinários para a necessidade da remessa do bulbo em formol a 10%. A execução das técnicas de histopatologia e IHQ, exames de eleição para o diagnóstico da EEB são feitas somente em fragmentos enviados formolizados (Barros e Marques, 2003). Além disso, a presença do cérebro ou do cérebro e cerebelo na maioria das amostras refrigeradas ou formolizadas, respectivamente, reflete coleta ainda direcionada para fragmentos destas regiões sem priorizar coleta sistemática de diversas regiões do encéfalo, fundamental para o diagnóstico definitivo das diversas afecções do SNC de bovinos.

Tabela 2. Frequência de amostras positivas para raiva bovina na defesa sanitária de Minas Gerais de 2003 a 2010 de acordo com idade e raça.

RAÇA	IDADE (%)*				TOTAL **
	ATÉ 01 MÊS	02-12 MESES	13-48 MESES	> 49 MESES	
HOLANDÊS	0,00 (0) ^b	49,38 (40) ^a	50,00 (78) ^a	15,38 (20) ^b	36,08 (140)^b
NELORE	33,33 (1) ^a	30,00 (36) ^a	15,05 (45) ^b	10,00 (8) ^b	17,49 (92)^c
GIROLANDA	66,67 (2) ^a	58,77 (67) ^a	53,18 (117) ^a	31,65 (50) ^b	47,67 (245)^a
MESTIÇOS	26,32 (5) ^c	61,35 (300) ^a	48,60 (435) ^b	34,73 (132) ^c	48,62 (898)^a
TOTAL **	23,53 (8)^c	53,86 (932)^a	42,81 (1.794)^b	26,00 (896)^c	-

^{a,b,c} Valores seguidos de letras diferentes nas mesmas linhas ou coluna (total para raça) apresentam diferença significativa ($p < 0,01$)

* Valores entre parênteses representam o número absoluto de amostras positivas para raiva.

** Os valores totais de cada raça ou idade são maiores que os valores por idade ou raça somados, pois há amostras sem informações referentes à idade ou raça.

Tabela 3. Frequência de regiões do SNC na composição das amostras de bovinos enviadas ao serviço de defesa sanitária de Minas Gerais de 2003 a 2010, conservadas sob refrigeração e em formol a 10%.

REGIÕES DO SNC	MÉTODO DE CONSERVAÇÃO (%)*	
	AMOSTRAS REFRIGERADAS	AMOSTRAS EM FORMOL A 10%
Cérebro	98,31 (2150)	77,15 (233)
Cerebelo	67,26 (1471)	78,48 (237)
Hipocampo	72,47 (1585)	0,99 (3)
Gânglio trigeminal	0,0004 (1)	18,21 (55)
Tálamo	0,69 (15)	30,13 (91)
Mesencéfalo	0,00 (0)	52,65 (159)
Ponte	0,00 (0)	65,23 (197)
Bulbo	57,61 (1260)	64,57 (195)
Medula cervical	4,80 (105)	10,26 (31)

* Valores entre parênteses representam o número absoluto de amostras contendo cada fragmento especificado.

O número de fragmentos de diferentes regiões do SNC enviados em cada amostra influenciou significativamente o diagnóstico da raiva. Não houve diferença significativa na frequência de positividade entre os diferentes fragmentos avaliados pela IFD e PB, contudo, amostras compostas por cérebro associado a três ou mais fragmentos apresentaram maior frequência de positividade do que as amostras contendo cérebro associado a dois ou menos fragmentos de outras regiões do SNC nestes testes (Figura 3). Segundo preconizado por Barros e Marques (2003), a calota craniana deve ser aberta em sua totalidade, seccionando os ossos frontal, temporal e occipital, o que permite a exposição de todo o encéfalo para coleta adequada dos fragmentos. Tal procedimento exige tempo, esforço e equipamentos específicos (serra comum, cutelo e tesoura). Durante a coleta a campo, os veterinários nem sempre tem a disposição equipamentos para tal feito, executando a abertura somente do osso frontal (mais delgado). Porém, esta abertura permite somente a coleta do cérebro, prejudicando a composição da amostra e podendo comprometer o diagnóstico final.

Na histopatologia, cerebelo, tálamo, tronco encefálico e medula cervical apresentaram maior frequência de corpúsculos de Negri (Figura 4a) que cérebro, hipocampo e gânglio

trigeminal (Tabela 4). Esse achado corrobora parcialmente trabalhos anteriores, que descreveram maior frequência de corpúsculos de Negri no cerebelo (Langohr et al., 2003; Pedroso et al., 2009) e gânglio trigeminal (Rech et al. 2006; Pedroso et al., 2009). Esta diferença nos resultados pode ser justificada pela maior número de animais avaliados neste trabalho. O infiltrado inflamatório não supurado (Figura 4b), comum em infecções virais no SNC (Langohr et al., 2003), foi menos frequente no cérebro, que nos demais fragmentos avaliados (Tabela 4).

Semelhante ao observado nos testes IFD e PB, o número de amostras com diagnóstico conclusivo para raiva foi maior quando o cérebro foi analisado associado a mais fragmentos de SNC no exame histopatológico (Tabela 5). Além disso, a sensibilidade da histopatologia em amostras contendo apenas cérebro (27,27% - 3 diagnósticos conclusivos em 11 amostras avaliadas) foi extremamente menor do que nas amostras compostas por cérebro associado a quatro ou mais fragmentos de diferentes regiões do SNC (81,65% - 89 diagnósticos conclusivos em 109 amostras avaliadas). Estes dados reforçam a importância da coleta de várias regiões do SNC de bovinos tanto em gelo quanto em formol a 10% para obter sucesso no diagnóstico laboratorial.

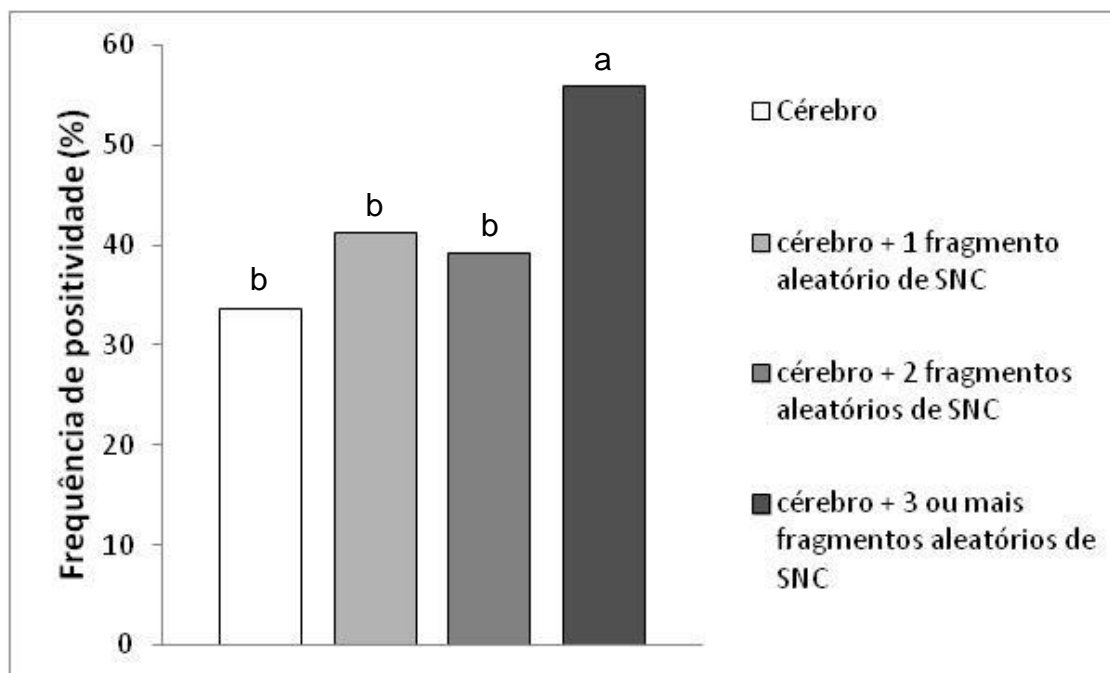


Figura 3. Frequência de positividade para raiva bovina pela IFD e PB segundo a composição da amostra refrigerada. Colunas seguidas de letras diferentes apresentam diferença significativa ($p < 0,05$).

Tabela 4. Frequência das alterações histopatológicas sugestivas de raiva nas diferentes regiões do SNC.

REGIÕES DO SNC	ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS (%)		
	SEM ALTERAÇÕES SIGNIFICATIVAS	INFLAMAÇÃO NÃO SUPURADA	CORPÚSCULOS DE NEGRI
Cérebro	35,62 ^a	55,36 ^d	35,19 ^b
Cerebelo	21,10 ^b	67,51 ^c	53,58 ^a
Hipocampo	66,67 ^a	-	33,33 ^b
Gânglio trigeminal	14,55 ^{bc}	85,45 ^{ab}	16,36 ^c
Tálamo	13,19 ^{bc}	79,12 ^b	45,05 ^{ab}
Mesencéfalo	9,43 ^{cd}	88,05 ^{ab}	47,80 ^a
Ponte	5,58 ^d	89,84 ^a	52,79 ^a
Bulbo	6,67 ^{cd}	88,72 ^a	49,24 ^a
Medula cervical	9,68 ^{bcd}	67,74 ^c	45,16 ^{ab}

* Valores seguidos de letras diferentes nas colunas apresentam diferença significativa ($p < 0,05$)

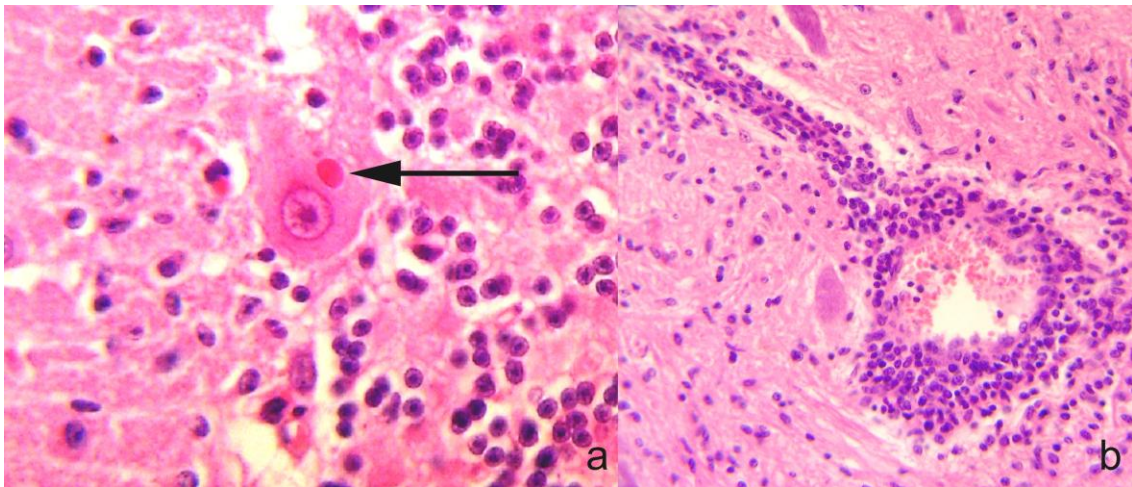


Figura 4. Bovino, cerebelo e tronco encefálico, alterações histopatológicas compatíveis com infecção pelo vírus da raiva. a – Corpúsculo de Negri (seta) em célula de Purkinje do cerebelo. b – Infiltrado inflamatório não supurado, perivascular, intenso (manguito perivascular) em fragmento de ponte. HE, 40X.

Tabela 5. Frequência de diagnósticos conclusivos para raiva bovina pela histopatologia de acordo com a composição da amostra em formol a 10%.

COMPOSIÇÃO DA AMOSTRA	HISTOPATOLOGIA SENSIBILIDADE (%)**
Cérebro	27,27 (3) ^c
Cérebro + 1 fragmento aleatório de SNC	60,71 (17) ^{bc}
Cérebro + 2 fragmentos aleatórios de SNC	69,69 (23) ^{ab}
Cérebro + 3 fragmentos aleatórios de SNC	69,23 (36) ^{ab}
Cérebro + 4 ou mais fragmentos aleatórios de SNC	81,65 (89) ^a

* Valores seguidos de letras diferentes apresentam diferença significativa ($p < 0,01$)

** Valores entre parênteses representam o número absoluto de amostras com diagnóstico conclusivo para raiva (presença do corpúsculo de Negri) segundo a composição da amostra.

4.3. Diagnóstico histopatológico do SNC

Durante o período de 2004 a 2010, 1.284 amostras de SNC de bovinos com sinais neurológicos foram avaliadas pela histopatologia. Dessas, 302 apresentaram resultado positivo para raiva pela IFD e/ou PB, sendo os achados histopatológicos já descritos e analisados nesse estudo (Tópico 4.2).

Avaliando-se as demais amostras (982), quanto à composição (Tabela 6) verificou-se que

cérebro, cerebelo e tronco encefálico foram os fragmentos mais frequentes. Conforme já discutido, o tronco encefálico, com ênfase ao bulbo (na altura do óbex), é o fragmento de eleição para o diagnóstico das EETs, sendo recomendado seu envio, íntegro, em todas as amostras de bovinos para análise histopatológica (Barros e Marques, 2003). Porém, os fragmentos de mesencéfalo, ponte e bulbo, que compõem o tronco, foram encaminhados para histopatologia em frequências distintas (55,80%, 63,03% e 63,65%, respectivamente) o que indica fracionamento do tronco encefálico, e com

valores bem abaixo dos 100% esperados, o que consequentemente prejudicou o diagnóstico dessas enfermidades. A medula cervical só estava presente em 32 amostras, sendo o fragmento menos enviado. Tal achado pode estar relacionado à desarticulação inadequada da cabeça, com secção anterior ao fragmento da medula cervical, ficando o mesmo juntamente com o restante da carcaça, e, devido à dificuldade de acesso à mesma, por encontrar-se no interior da coluna vertebral, formação óssea rígida e extensa, de difícil abertura, não foi realizada a coleta.

Considerando-se as alterações microscópicas, verificou-se que 29,53% das amostras apresentavam alterações histopatológicas significativas (290/982), sendo possível a obtenção de um diagnóstico conclusivo em 50 delas (17,25% - 50/290) (Figura 5). O diagnóstico etiológico foi determinado, apenas pela avaliação microscópica, em 40 amostras, envolvendo vírus, bactérias e protozoários.

Corroborando trabalhos anteriores (Sanches et al., 2000; Rech, 2007; Galiza et al., 2010), a ausência de alterações histopatológicas significativas foi observada na maior parte das amostras avaliadas (60,18% - 591/982). Esse resultado pode ser reflexo da coleta de amostras em animais acometidos por enfermidades que não afetam o SNC, mas que cursam com sintomatologia neurológica; ou coleta e remessa para análise de regiões do SNC não afetadas. Considerando as características relacionadas aos animais, a maior parte das amostras sem alterações histopatológicas significativas eram provenientes de fêmeas (415/591 - 70,22%) e de bovinos acima de 24 meses (439/591 - 74,28%), não havendo predomínio de raça. Tal achado corrobora resultados anteriores desse estudo (Tópico 4.1), sendo essas as características das amostras mais frequentemente encaminhadas para análise. Quanto às características relacionadas à amostra, verificou-se que o número e tipo de fragmentos de SNC que a compunham não alteraram esse resultado.

Inúmeros artefatos de autólise foram visualizados em 10,29% (101/982) das amostras analisadas, sendo considerado um achado relevante e que prejudicou a avaliação acurada

dos fragmentos de SNC. Considerando que a autólise é uma alteração *post mortem*, com diferentes intensidades (dependentes do tempo e condições entre a coleta e fixação da amostra), podendo mascarar alterações *ante mortem* ou até mesmo simular lesões associadas a enfermidades no SNC (principalmente alterações degenerativas) (Rech, 2007), o diagnóstico nessas amostras pode ter sido prejudicado, contribuindo para a não identificação de determinadas enfermidades.

Avaliando-se os diagnósticos morfológicos das amostras com alterações histopatológicas (Figura 6), verificou-se que as alterações inflamatórias, classificadas como encefalites, meningites ou meningoencefalites, foram as mais frequentes (87,59% - 253/290). Os processos não supurados, envolvendo infiltrado inflamatório mononuclear, foram os mais comuns (91,70% - 232/253). Lesões degenerativas, classificadas como polioencefalomalácia, foram a conclusão em oito amostras analisadas (2,76% - 8/290). As alterações circulatórias foram relevantes em 26 bovinos (8,97%), sendo possível a identificação da causa das mesmas em 34,62%. Alterações congênitas e neoplásicas foram raramente diagnosticadas, sendo identificado apenas um caso de cada uma destas alterações durante o período avaliado.

Considerando-se as alterações histopatológicas em cada fragmento de SNC analisado por amostra (Figura 7), verificou-se que a ausência de alterações foi, mais uma vez, o achado mais frequente (45,67%), seguida das alterações circulatórias, caracterizadas principalmente por hiperemia associada ou não a hemorragias (23,12%). O segmento formado por hipófise, *rete mirabile* epidural rostral e gânglio trigeminal foi o que apresentou a menor quantidade de alterações microscópicas significativas. O cerebelo foi o fragmento com maior frequência de artefatos de autólise (34,35%), caracterizada comumente pela congutinação cerebelar – autólise da camada de células granulares (Summers et al., 1995). As alterações degenerativas foram observadas em sua maioria no cérebro, caracterizadas por polioencefalomalácia (82,89%) (Tabela 7).

Tabela 6. Frequência das regiões do SNC na composição das amostras de bovinos enviadas ao serviço de defesa sanitária de Minas Gerais de 2004 a 2010, para análise histopatológica.

REGIÕES DO SNC	% (valor absoluto)
Cérebro	77,09 (757)
Cerebelo	73,32 (720)
Hipófise	12,02 (118)
<i>Rete mirabile</i> epidural rostral	12,93 (127)
Gânglio trigeminal	14,46 (142)
Tálamo	19,96 (196)
Mesencéfalo	55,80 (548)
Ponte	63,03 (619)
Bulbo	63,65 (625)
Medula cervical	3,26 (32)

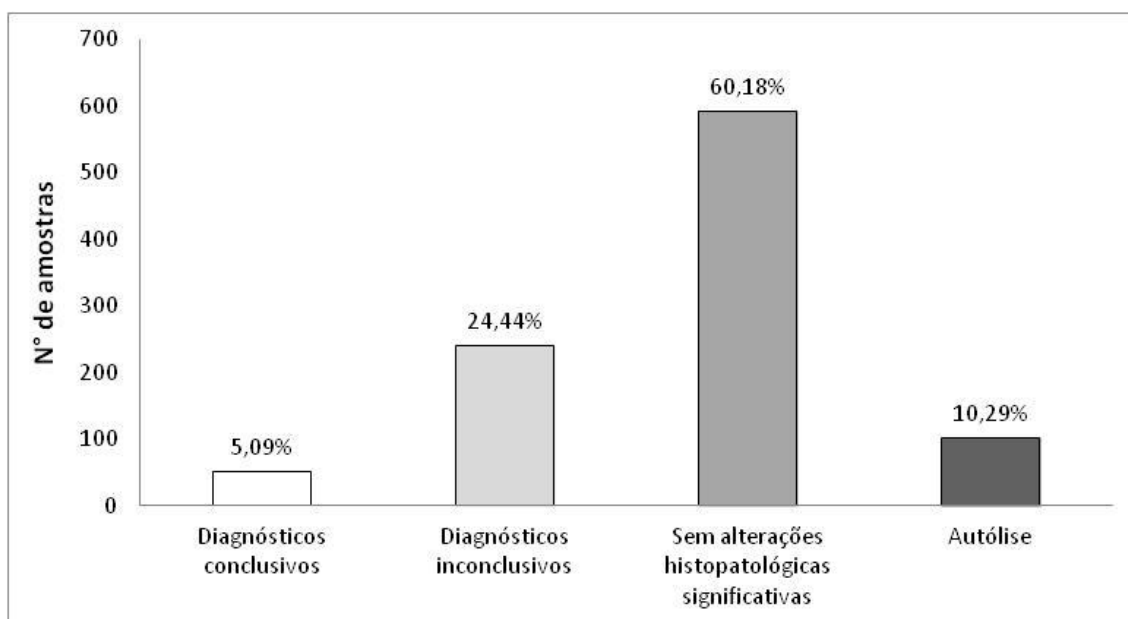


Figura 5. Frequência de diagnósticos nas amostras de SNC de bovinos com síndrome neurológica enviadas ao LSA/IMA de 2004 a 2010 e analisadas pela técnica de histopatologia.

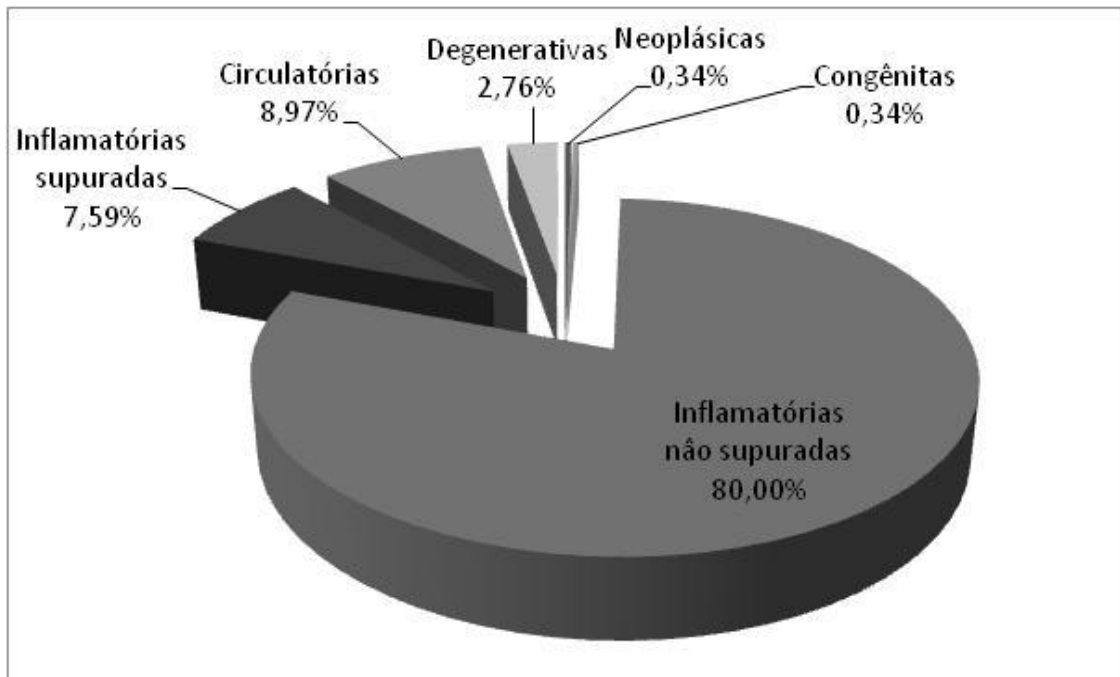


Figura 6. Frequência dos tipos de diagnósticos morfológicos nas amostras de SNC de bovinos com alterações histopatológicas de 2004 a 2010.

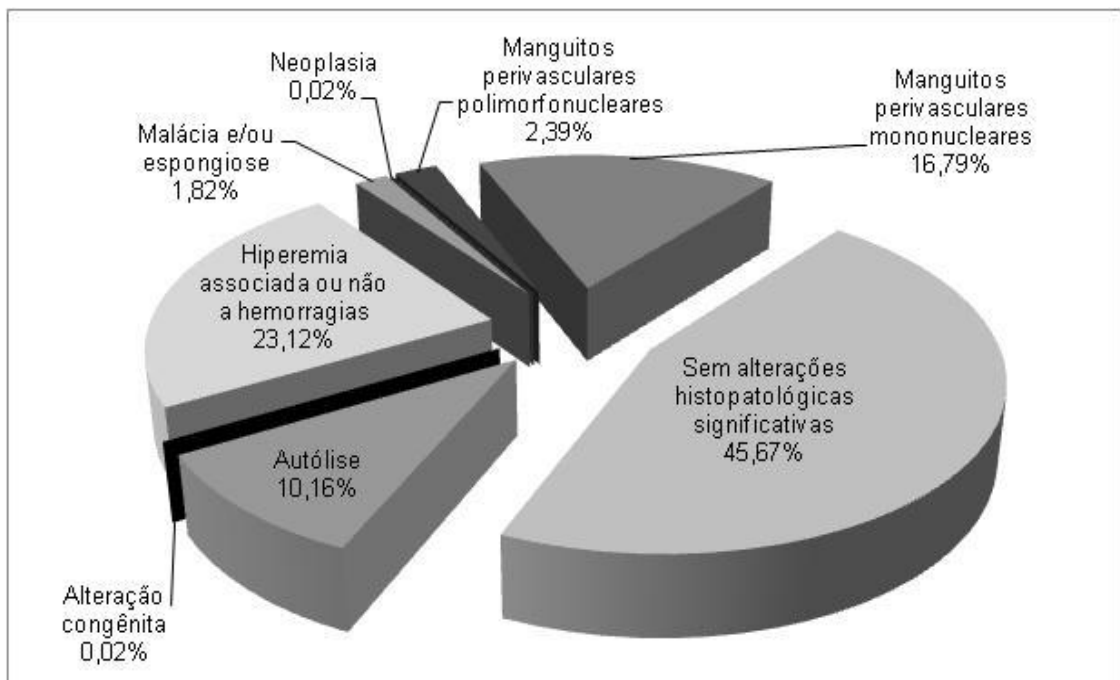


Figura 7. Frequência de alterações histopatológicas nos fragmentos de SNC que compunham as amostras de bovinos analisadas pelo serviço de defesa sanitária de Minas Gerais de 2004 a 2010.

Tabela 7. Frequência das alterações histopatológicas segundo os fragmentos analisados de SNC de bovinos no serviço de defesa sanitária de Minas Gerais de 2004 a 2010.

ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS	REGIÕES DO SNC % (valor absoluto)										
	Cérebro	Cerebelo	Hipófise	<i>Rete mirabile</i> epidural rostral	Gânglio trigeminal	Tálamo	Mesencéfalo	Ponte	Bulbo	Medula cervical	TOTAL
Alteração congênita	0,00 (0)	100,00 (1)	0,00 (0)	0,00 (0)	0,00 (0)	0,00 (0)	0,00 (0)	0,00 (0)	0,00 (0)	0,00 (0)	1
Autólise	20,00 (85)	34,35 (146)	2,59 (11)	2,82 (12)	3,53 (15)	2,35 (10)	10,82 (46)	12,47 (53)	9,65 (41)	1,41 (6)	425
Hiperemia associada ou não a hemorragias	28,34 (274)	15,51 (150)	0,72 (7)	0,41 (4)	0,00 (0)	4,76 (46)	16,75 (162)	17,06 (165)	16,03 (155)	0,41 (4)	967
Malácia e/ou espongirose	82,89 (63)	3,95 (3)	0,00 (0)	0,00 (0)	0,00 (0)	2,63 (2)	2,63 (2)	3,95 (3)	3,95 (3)	0,00 (0)	76
Manguitos perivascularares mononucleares	23,79 (167)	17,81 (125)	0,43 (3)	0,71 (5)	2,85 (20)	3,85 (27)	14,67 (103)	16,95 (119)	18,66 (131)	0,28 (2)	702
Manguitos perivascularares polimorfo nucleares	12,00 (12)	13,00 (13)	2,00 (2)	2,00 (2)	2,00 (2)	6,00 (6)	21,00 (21)	21,00 (21)	21,00 (21)	0,00 (0)	100
Neoplasia	100,00 (1)	0,00 (0)	0,00 (0)	0,00 (0)	0,00 (0)	0,00 (0)	0,00 (0)	0,00 (0)	0,00 (0)	0,00 (0)	1
Sem alterações histopatológicas significativas	14,14 (270)	17,02 (325)	4,97 (95)	5,55 (106)	5,55 (106)	5,97 (114)	13,19 (252)	15,81 (302)	16,70 (319)	1,10 (21)	1.910

4.3.1. Diagnósticos histopatológicos

4.3.1.1. Meningoencefalite por BoHV-5

Seis amostras analisadas apresentaram diagnóstico conclusivo de infecção por herpesvírus bovino tipo-5 apenas pela avaliação microscópica. Os animais afetados eram em sua maioria machos (4/6 - 66,67%), com idade entre 07 e 36 meses (adultos jovens), mestiços

(100%) e com origem em cidades do Triângulo Mineiro (Itapagipe – dois animais), Sul de Minas (Machado – um bovino e Divisa Nova – dois bovinos) e região central (Santa Luzia – um animal). Todas as amostras apresentavam alteração inflamatória no cérebro (mais evidente no córtex frontal), que se estendia ao cerebelo, tálamo e tronco encefálico, de forma multifocal e discreta, havendo alteração necrotizante cortical (polioencefalomalácia) em duas delas. Corpúsculos de inclusão eosinofílicos

intranucleares em neurônios e astrócitos foram observados em fragmentos de cérebro, mais evidentes na substância cinzenta periférica às áreas de malácia, sendo considerados para o diagnóstico conclusivo (Figura 8). Três dessas amostras foram analisadas por PCR, porém somente duas apresentaram resultado positivo para BoHV-5 (ambas provenientes de Divisa Nova), sendo que em uma delas houve reação positiva também para BoHV-1 (o que sugere co-infecção). Vale ressaltar que entre os fragmentos submetidos a PCR, o cérebro estava presente em todas as amostras, o que pode ter contribuído para essa frequência de positividade (66,67%), devido a patogenia da infecção (Diel et al., 2005) e às alterações histopatológicas visualizadas.

4.3.1.2. Meningoencefalite tromboembólica

Quatro amostras apresentaram alterações histopatológicas compatíveis com meningoencefalite tromboembólica. Três bovinos afetados eram fêmeas, todos com idade entre 20 e 84 meses, três mestiços, originários de regiões distintas do Estado (Lima Duarte,

Cachoeira Dourada, Brumadinho e João Pinheiro). A avaliação macroscópica dessas amostras revelou áreas multifocais escuras e friáveis no SNC, mais evidentes no cérebro e tálamo (Figura 9). As alterações histopatológicas caracterizadas por meningoencefalite linfo-histiocitária associada a vasculite fibrinóide, trombose, necrose adjacente e/ou abscessos multifocais, foram visualizadas em diversos fragmentos do SNC, sendo mais evidentes no cérebro, tálamo e tronco encefálico (Figura 9). Apenas uma amostra, entre as três analisadas, apresentou resultado positivo para *H. somni* pela PCR, porém as alterações histopatológicas visualizadas em todas foram consideradas fortemente sugestivas de infecção por este agente.

Considerando que as informações relativas a infecção por *H. somni* no SNC de bovinos são escassas, sendo os relatos no Brasil baseados apenas em alterações histopatológicas, com a obtenção de um diagnóstico presuntivo (Lemos, 2005; Galiza et al., 2010), tais achados, com ênfase à amostra que apresentou alterações microscópicas associadas a positividade na PCR, são inéditos no país.

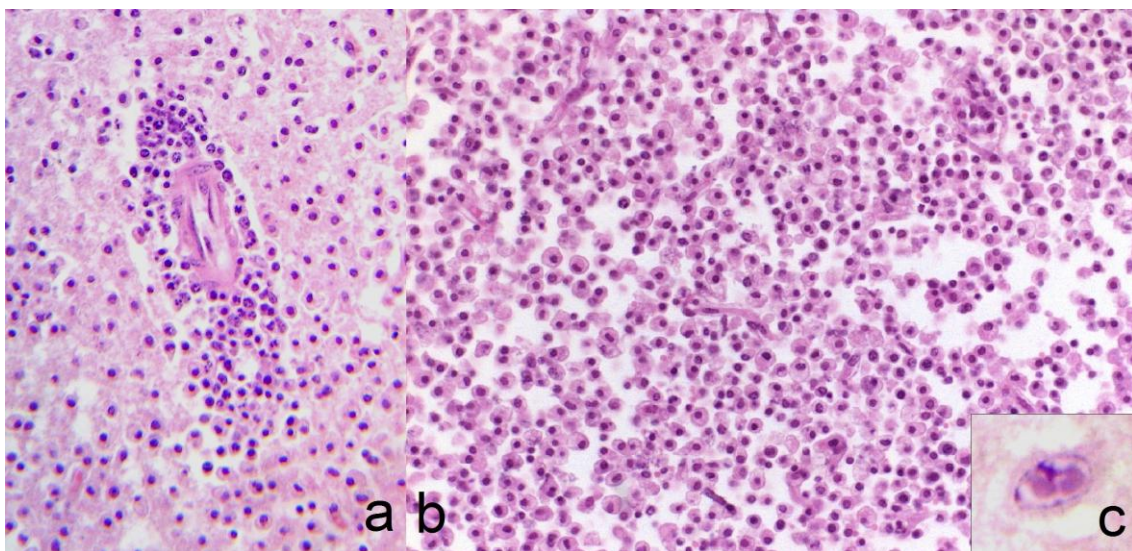


Figura 8. Bovino, SNC, cérebro, alterações histopatológicas compatíveis com infecção por BoHV-5. a – Manguito perivascular linfo-histiocitário, moderado. b – Malácia da substância cinzenta, caracterizada por inúmeras células Gitter associadas a hipertrofia do endotélio vascular. HE, 40X. c – Corpúsculo de inclusão eosinofílico, intranuclear em neurônio. HE, 100X.

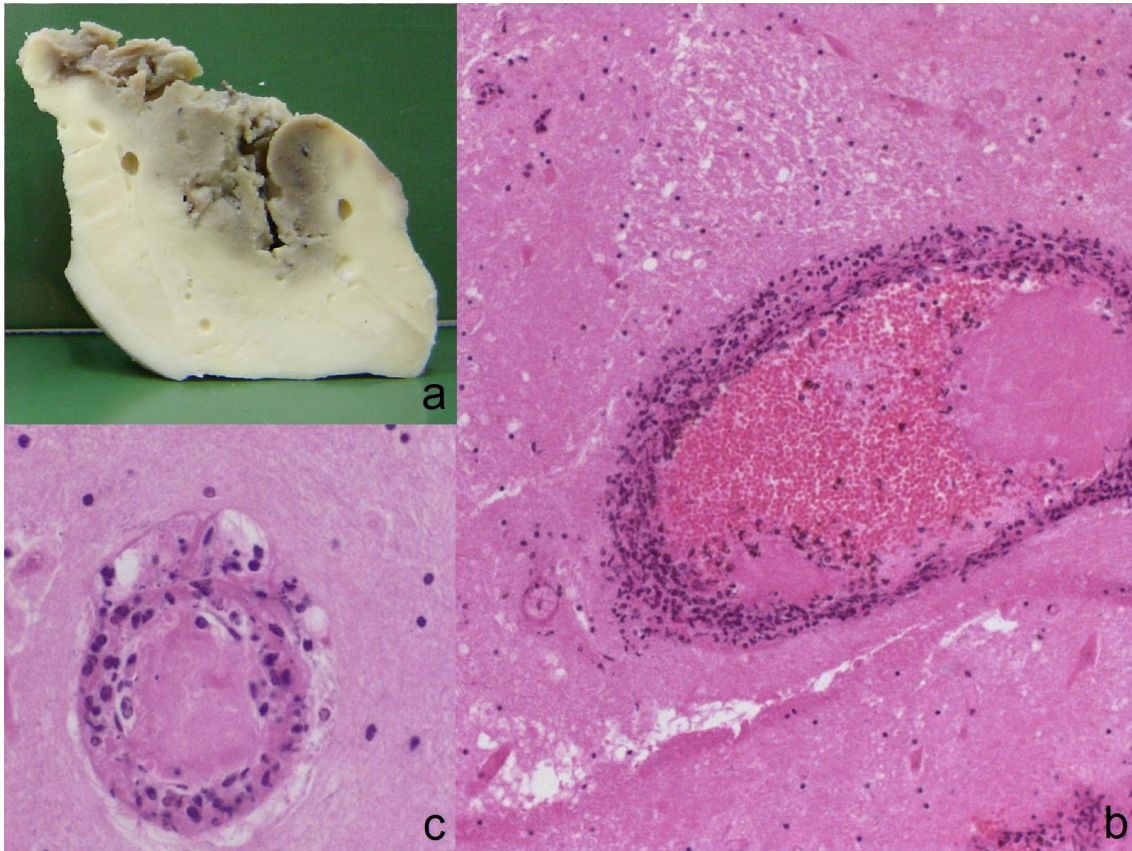


Figura 9. Bovino, SNC, tálamo, alterações macro e microscópicas compatíveis com meningoencefalite tromboembólica. a – Fragmento de tálamo apresentando área focal, extensa, de coloração escura e consistência friável. b – Manguitos perivascularares linfo-histiocitários, difusos e moderados associados a vasculite fibrinóide e neutrofílica, trombose vascular e necrose do neurópilo adjacente. HE, 20X. c – Vasculite fibrinóide e neutrofílica associada a trombose vascular. HE, 40X.

4.3.1.3. Vasculite fibrinóide da *rete mirabile* epidural rostral e outros vasos do SNC compatível com infecção por OvHV-2

Três amostras apresentaram alterações histopatológicas caracterizadas por vasculite fibrinóide da *rete mirabile* epidural rostral (Figura 10) quadro compatível com infecção por OvHV-2. Tal alteração estava associada a meningoencefalite não supurada, por vezes necrotizante. Os animais afetados eram duas fêmeas e um macho, com idade entre 14 e 48 meses, dois mestiços e um nelore, originários do Sul de Minas (Caxambu e Varginha) e Triângulo Mineiro (Ibiá). Duas dessas amostras tiveram fragmentos de cérebro submetidos a

PCR, apresentando resultado negativo. A não análise de fragmentos da *rete mirabile* epidural rostral por PCR pode ter comprometido o resultado final. Além disso, considerando a patogenia da infecção, onde as lesões teciduais são desencadeadas pela infiltração de leucócitos, secundária ao distúrbio imunológico induzido pelo vírus, e não pela ação citolítica direta do mesmo, a detecção do agente nos sítios de lesão nem sempre é possível (Liggitt e DeMartini, 1980)

Outros cinco bovinos apresentaram vasculite fibrinóide de vasos com distribuição aleatória no SNC associada a meningoencefalite. Considerando a ausência de alterações sugestivas de infecção por outros patógenos, foi determinado diagnóstico presuntivo de infecção

por OvHV-2. Desses, um apresentou resultado positivo na PCR. Um achado relevante foi que, apesar desse resultado positivo, a amostra continha fragmentos de *rete mirabile* epidural rostral sem alterações histopatológicas e a vasculite do SNC estava associada a meningoencefalite supurada com abscessos. Trata-se de uma manifestação atípica, porém passível de ser desencadeada pelo OvHV-2.

Esses achados, associados a outros relatos na literatura (Costa, 2007; Costa et al., 2009), indicam a circulação do OvHV-2 em Minas Gerais, com infecção esporádica de bovinos, sendo a manifestação neurológica um fator relevante para o encaminhamento de amostras para diagnóstico.

4.3.1.4. Meningoencefalite não supurada com microabscessos compatível com infecção por *Listeria monocytogenes*

Cinco amostras apresentaram alterações histopatológicas caracterizadas por meningoencefalite não supurada associada a microabscessos multifocais no neurópilo sendo considerado o diagnóstico presuntivo de infecção por *L. monocytogenes*. A meningoencefalite apresentava distribuição multifocal em diversos fragmentos do SNC, com microabscessos concentrados no tronco encefálico.

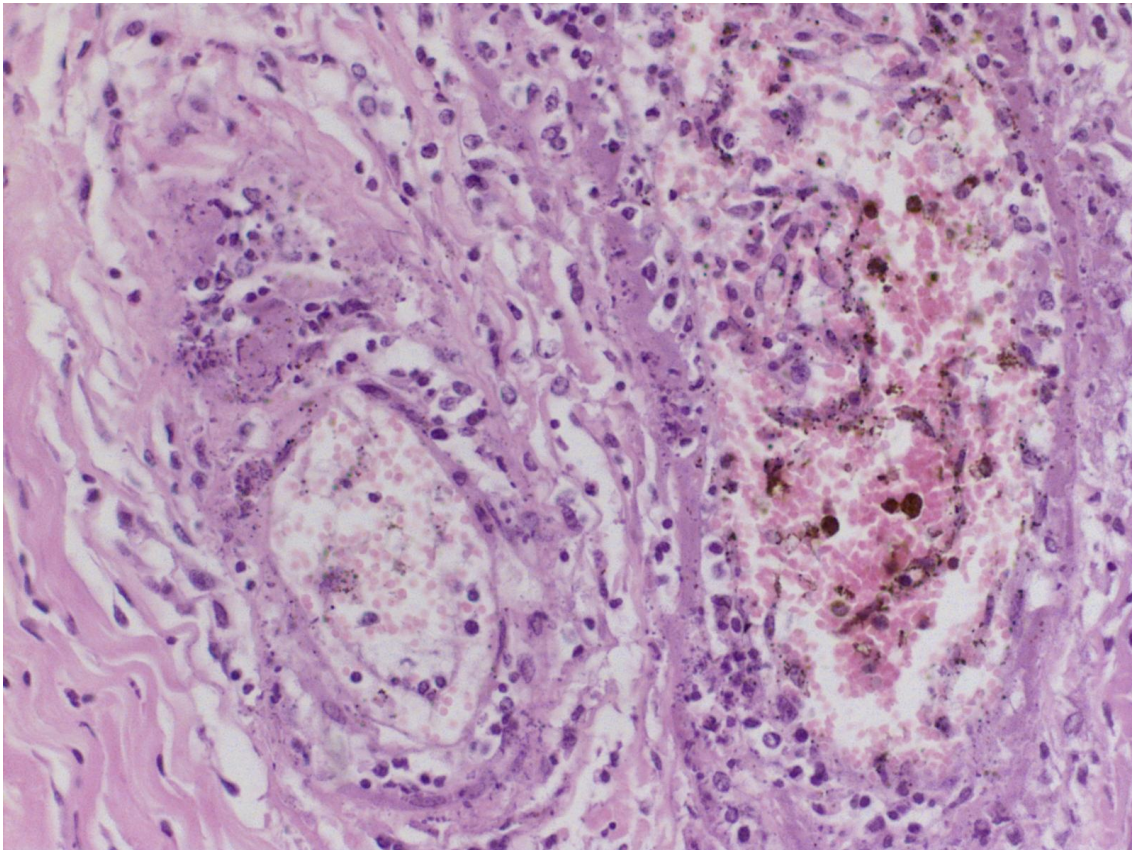


Figura 10. Bovino, *rete mirabile* epidural rostral, alterações histopatológicas compatíveis com infecção por OvHV-2. Vasculite fibrinóide da *rete mirabile* epidural rostral, difusa e intensa. HE, 40X.

Considerando as características dos animais, três deles eram fêmeas, com idade entre 48 e 84 meses (5/5 – 100% animais adultos), de raças definidas (um holandês, um nelore e dois girolandos), provenientes do Sul de Minas (Oliveira, Itanhandu e Carmo do Rio Claro), Centro (Pompéu) e Noroeste (Unaf). Dessas, apenas uma foi avaliada por PCR, fragmentos de cérebro e cerebelo, apresentando resultado negativo. A ausência de fragmentos de tronco encefálico na amostra refrigerada submetida a PCR pode ter contribuído para tal resultado. Porém, vale ressaltar que o veterinário responsável pela amostra provavelmente enviou o tronco encefálico somente em formol a 10% para atender às recomendações do serviço de defesa oficial (Barros e Marques, 2003).

O histórico desses animais não apresentava informações relacionadas ao consumo de silagem, que é um fator frequentemente relacionado à listeriose em bovinos. Porém, tal possibilidade não pode ser descartada, principalmente considerando que os animais afetados eram de raças com aptidão leiteira, provenientes de regiões tradicionalmente produtoras de leite no Estado e que o uso de suplementação alimentar, a base de silagem entre outros alimentos, nessas criações é comum.

4.3.1.5. Tuberculose encefálica

Seis amostras de SNC apresentaram, à avaliação macroscópica, espessamento intenso das meninges, de multifocal a coalescente (Figura 12). Microscopicamente, verificou-se meningoencefalite granulomatosa, multifocal a coalescente, intensa, mais evidente no cérebro (Figura 12), porém com envolvimento de cerebelo, tronco encefálico e até mesmo gânglio trigeminal e seios cavernosos da *rete mirabile* epidural rostral (uma amostra) (Figuras 12 e 13). Essas amostras foram submetidas à coloração de Ziehl-Nielsen evidenciando bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR), em quantidade variável, intralésionais (Figura 12). Os achados histopatológicos e histoquímicos foram compatíveis com infecção por *Mycobacterium* spp; permitindo o diagnóstico conclusivo de tuberculose encefálica. Entre os bovinos acometidos, quatro eram fêmeas

(66,67%), todos adultos (24 a 72 meses), mestiços (4/6 - 66,67%) ou holandeses (2/6 - 33,33%), provenientes de regiões diversas no Estado (municípios de Luz, João Pinheiro, Machado, Andrelândia, Itabirito e Ouro Preto).

Segundo o MAPA, o diagnóstico preconizado para essa enfermidade é a tuberculinização, simples ou comparada, sendo utilizados como triagem e teste confirmatório para definição do *status* sanitário do animal e/ou rebanho (Brasil, 2006). Logo, diante do diagnóstico de tuberculose pela técnica da histopatologia, as propriedades envolvidas foram oficialmente notificadas pelo IMA, sendo recomendada a tuberculinização de todo o rebanho. Considerando-se que todas as amostras foram coletadas em atendimento a foco de doenças neurológicas, a ausência de outras lesões no SNC que justificassem a sintomatologia apresentada pelos animais e a prevalência pouco conhecida da doença no Estado (Baptista et al., 2004; Brasil, 2006), a tuberculose pode ser considerada um importante diagnóstico diferencial entre as causas de doenças neurológicas em Minas Gerais.

4.3.1.6. Polioencefalomalácia

Oito bovinos apresentaram alterações histopatológicas degenerativas no cérebro, caracterizadas por malácia da substância cinzenta com necrose neuronal, células Gitter e hipertrofia do endotélio vascular (Figura 14), sendo essa a única lesão relevante, não associada a alterações inflamatórias, o que permitiu o diagnóstico morfológico de polioencefalomalácia. Entre os bovinos afetados, havia cinco fêmeas, (62,5%), seis jovens e adultos jovens (75% - 8 a 36 meses), cinco mestiços (62,5%) e seis provenientes das regiões Sul e Triângulo Mineiro (75%).

Três dessas amostras foram submetidas a PCR sendo uma positiva para BoHV-5 e outra para OvHV-2. O BoHV-5 tem sido relacionado como desencadeador de polioencefalomalácia em bovinos, porém comumente associada a meningoencefalite. Nesse estudo, os fragmentos avaliados (cérebro, cerebelo, tálamo, mesencéfalo e ponte) não apresentaram alterações sugestivas de processo inflamatório.

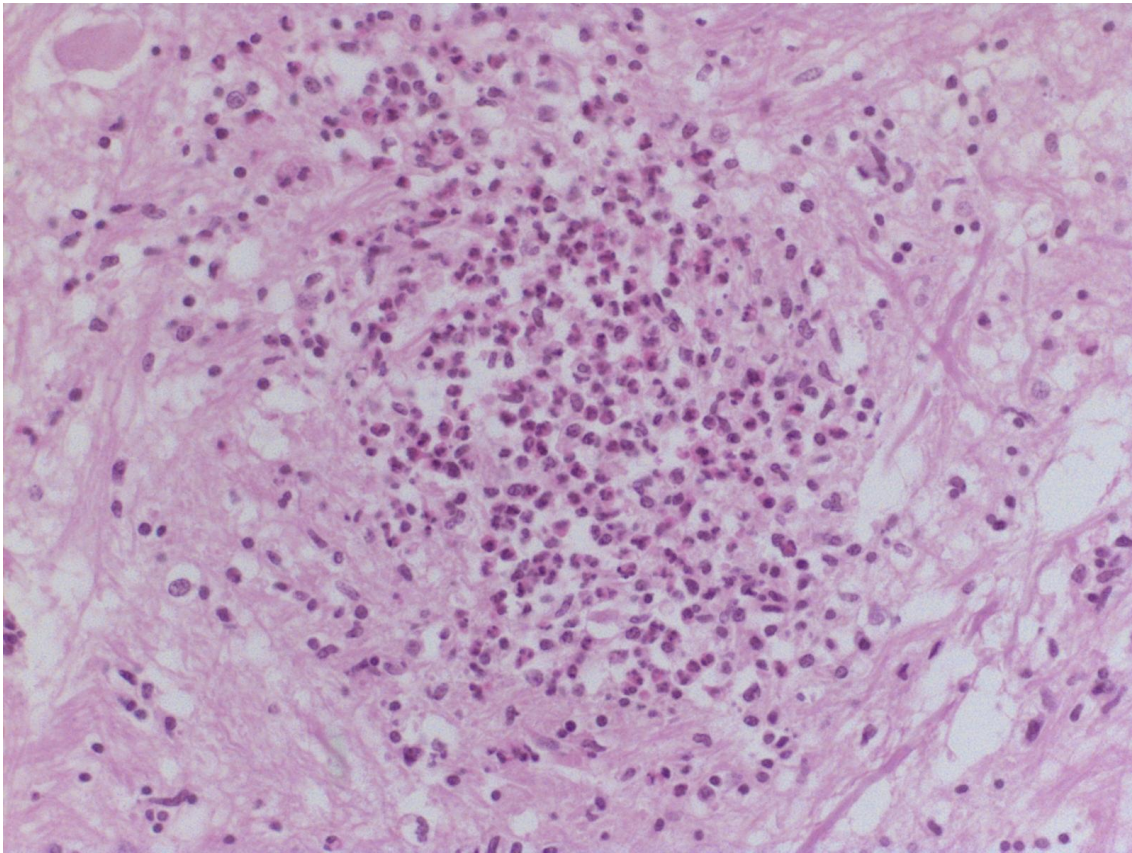


Figura 11. Bovino, SNC, mesencéfalo, alterações histopatológicas compatíveis com infecção por *Listeria monocytogenes*. Área focal de microabscesso no neurópilo do tronco encefálico. HE, 40X.

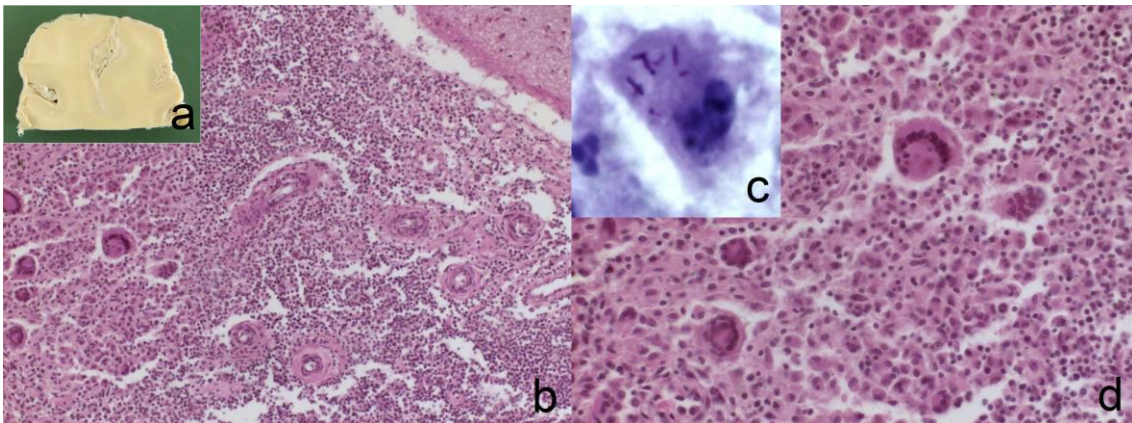


Figura 12. Bovino, SNC, cérebro, alterações macro e microscópicas compatíveis com tuberculose encefálica. a – fragmento de cérebro apresentando espessamento intenso e difuso das meninges. b – Meningoencefalite granulomatosa, difusa e intensa. HE, 20X c – Célula gigante tipo Langerhans contendo alguns BAAR intralasionais. HE, 100X d – reação granulomatosa caracterizada por inúmeras células gigantes tipo Langerhans associadas a infiltrado linfo-histiocitário e proliferação de tecido conjuntivo fibroso. HE, 40X.

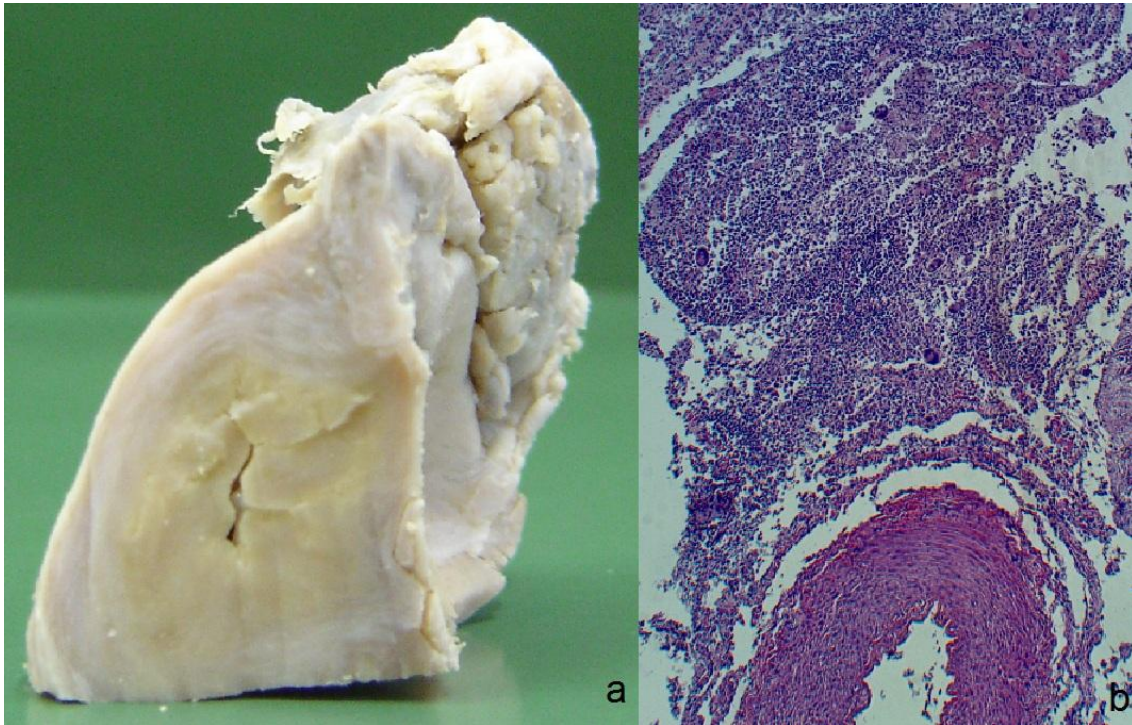


Figura 13. Bovino, gânglio trigeminal e *rete mirabile* epidural rostral, alterações macro e microscópicas compatíveis com tuberculose encefálica. a – fragmento de gânglio trigeminal intensamente aumentado de volume, de superfície irregular, coloração amarelada e aspecto caseoso. b – Seios cavernosos da *rete mirabile* epidural rostral apresentando reação granulomatosa, difusa e intensa. HE, 04X.

Diante disso, pode-se considerar a possibilidade da polioencefalomalácia ter se desenvolvido primariamente, desencadeada por algum outro fator, ocasionando a reagudização da infecção por BoHV-5 que poderia estar latente no gânglio trigeminal, sendo então detectado por PCR, sem necessariamente causar lesão no SNC. Porém, não se pode descartar a possibilidade de envolvimento do vírus na etiologia do processo degenerativo. Com relação à amostra positiva para OvHV-2, não há na literatura relatos que associem a polioencefalomalácia a esse vírus. Conforme já descrito no tópico 2.1.2.2, a infecção por OvHV-2 causa alterações vasculares, que podem ser visualizadas em inúmeros órgãos e tecidos. Nesse estudo, o que se pode afirmar é que a única alteração visualizada foi a malácia, não sendo verificada vasculite associada. Porém, como apenas o cérebro e o cerebelo foram analisados pela histopatologia nessa amostra, o envolvimento da *rete mirabile* epidural rostral não pode ser determinado, e a

possibilidade de envolvimento desse agente na etiologia do processo não pode ser descartada.

4.3.1.7. Babesiose cerebral

Nove amostras de SNC apresentaram alterações circulatórias significativas, mais evidentes no córtex cerebral, caracterizadas por hiperemia intensa e difusa associada ou não a hemorragias multifocais. No interior dos vasos sanguíneos corticais foram visualizadas inúmeras estruturas de, aproximadamente, 2 μ m de diâmetro, intra-eritrocitárias, com morfologia compatível com *Babesia bovis*. A avaliação macroscópica desses fragmentos foi prejudicada, pois os mesmos já estavam conservados em formol a 10% quando encaminhados para análise, porém no histórico de dois bovinos havia a informação de congestão intensa do cérebro observada durante a coleta. A realização de esfregaços, que permitem a avaliação mais acurada do agente também não pode ser realizada.

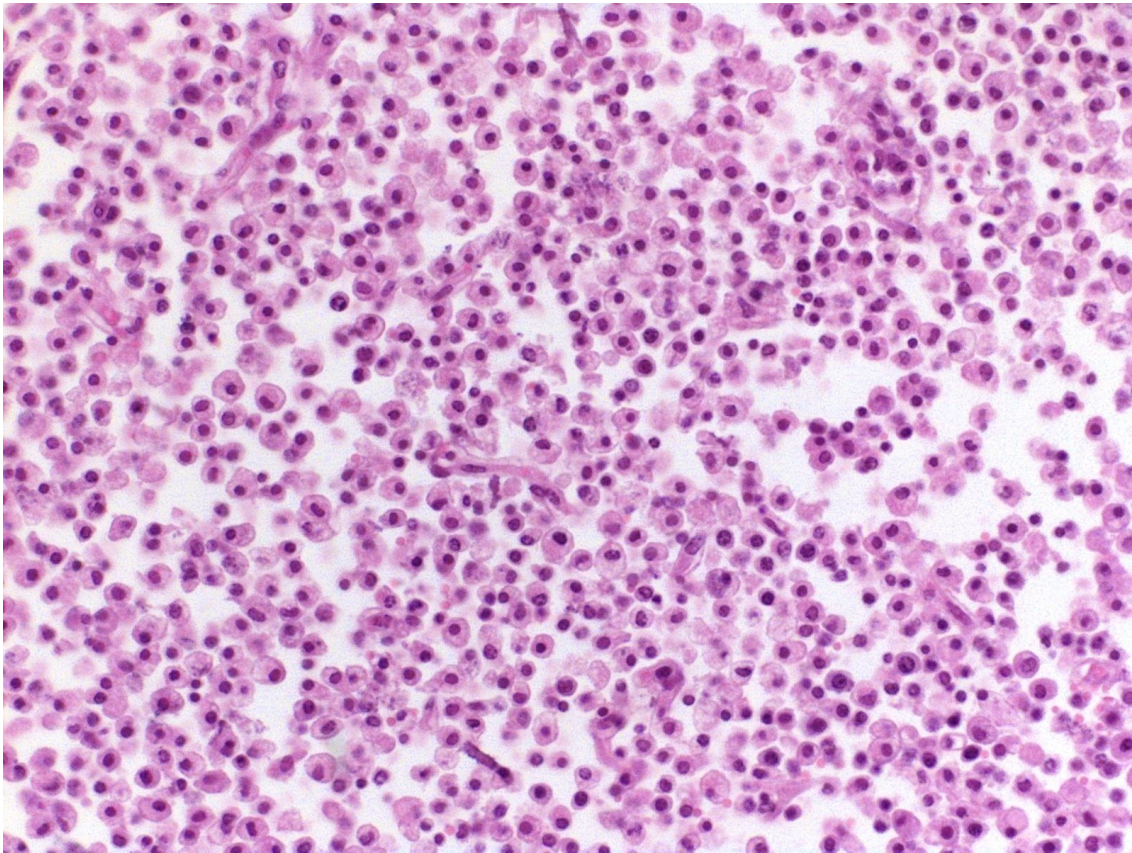


Figura 14. Bovino, SNC, cérebro. Alterações histopatológicas compatíveis com polioencefalomalácia, caracterizadas por malácia da substância cinzenta com inúmeras células Gitter e necrose neuronal. HE, 40X.

Considerando que a alteração circulatória foi a única lesão relevante observada nos fragmentos analisados desses bovinos e que os mesmos apresentavam sinais neurológicos, não sendo evidenciado nenhum outro fator desencadeador de tal quadro, o diagnóstico presuntivo de babesiose cerebral foi firmado. Considerando as características dos animais, seis eram fêmeas, cinco de raças puras (três holandeses e dois nelores), apresentavam diversas idades (bezerros a animais velhos – 04 a 120 meses) e eram provenientes de diferentes regiões do Estado.

4.3.1.8. Abiotrofia cerebelar

A avaliação microscópica de fragmentos de cerebelo de um boi nelore de 15 meses de idade

(*Bos taurus indicus*) (Figuras 15, 16 e 17) revelou atrofia das camadas molecular, granular e de Purkinje do córtex cerebelar, com perda acentuada e difusa das células de Purkinje. A camada molecular apresentava atenuação moderada e astrogliose. Havia adelgaçamento da camada granular, secundária a degeneração e perda celular, por vezes com células de Purkinje deslocadas para o interior da mesma. As células de Purkinje restantes encontravam-se retraídas e hiper Cromáticas ou distendidas e pálidas, com vacuolização citoplasmática, muitas vezes exibindo cromatólise central e deslocamento periférico da substância de Nissl. Não foram observadas outras lesões nos demais fragmentos de SNC avaliados (cérebro, tálamo e tronco encefálico). Esses achados microscópicos foram consistentes com abiotrofia cerebelar.

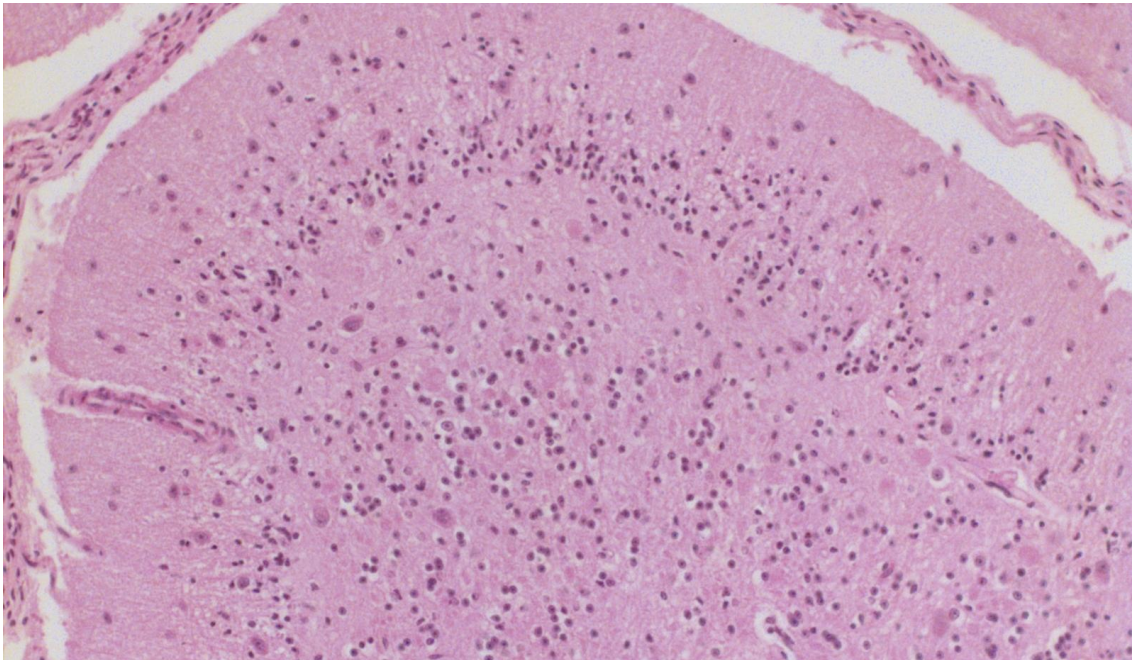


Figura 15. Bovino, SNC, cerebelo. Córtex cerebelar apresentando atrofia das camadas molecular, granular e de células de Purkinje, com perda acentuada e difusa das células de Purkinje. Camada molecular com atenuação moderada e astrogliose. HE, 20X.

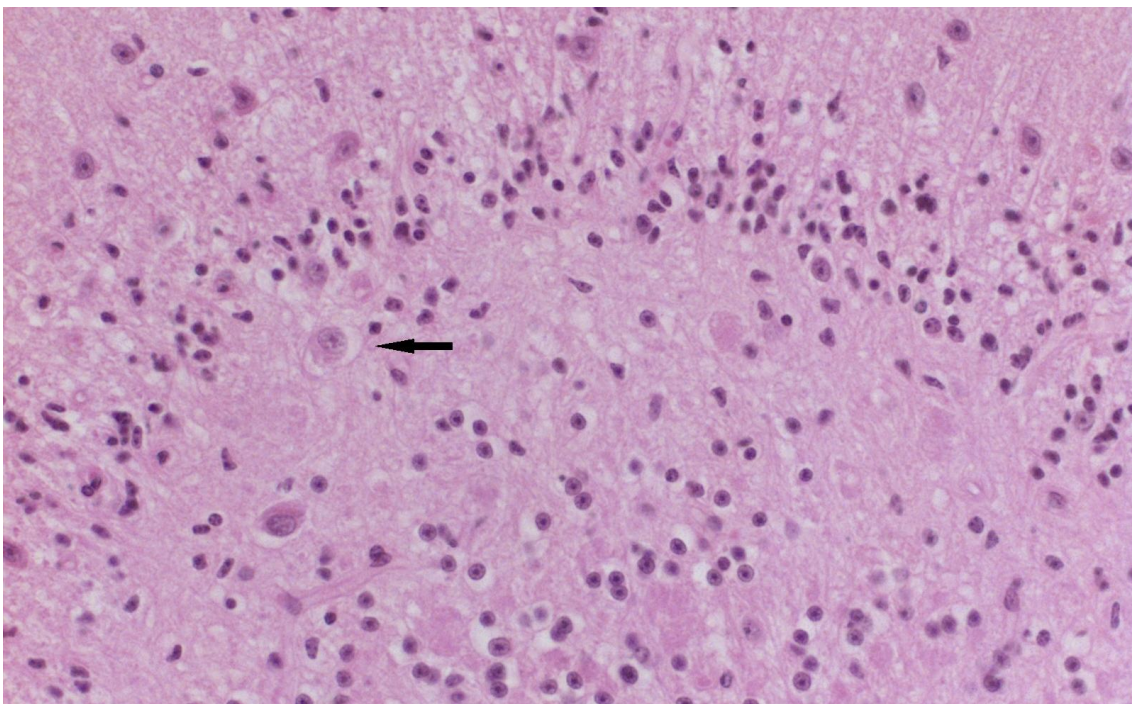


Figura 16. Bovino, SNC, cerebelo. Depleção de células granulares, com marcado adelgaçamento da camada granular, por vezes com células de Purkinje deslocadas para o interior da mesma (seta). HE, 40X.

O animal havia sido encaminhado para abate em um matadouro no município de Presidente Olegário, onde apresentou ataxia cerebelar com tremores de cabeça, hipermetria simétrica, espasticidade, salivação e incoordenação, sintomas comuns em animais acometidos por essa enfermidade (De Lahunta, 1990). O animal foi abatido e não foram observadas alterações macroscópicas, com ênfase ao SNC.

A abiotrofia cerebelar é uma desordem do desenvolvimento do cerebelo relatada em humanos e animais, sendo também referida como abiotrofia cerebelar cortical (De Lahunta, 1980). Seu diagnóstico é realizado pela avaliação histopatológica do SNC, com ênfase no cerebelo, devendo ser consideradas as possibilidades de abiotrofia neuronal multissistêmica e hipoplasia cerebelar dentre os diagnósticos diferenciais. Esta é a manifestação mais comum de abiotrofia em animais domésticos, com relatos em bovinos, equinos, cães, gatos, ovinos e suínos (De Lahunta, 1990),

além de primatas não humanos, animais de laboratório e exóticos (Mouser et al., 2009). Em bovinos, tem sido relatada em diversas raças de *Bos taurus taurus* - holstein, angus, ayrshire, shorthorn, hereford, charolês, aquitanica e cruzadas (White et al., 1975; Whittington et al., 1989; De Lahunta, 1990; Mitchell et al., 1993; Kemp et al., 1995; Riet-Correa et al., 1998; Macedo et al., 2011). Sua causa é desconhecida, mas presume-se que esteja relacionada a uma alteração metabólica intrínseca associada a um defeito genético recessivo hereditário (De Lahunta, 1990). Neste caso, o bovino pertencia a um comerciante de animais, e não havia informações disponíveis sobre a sua origem genética. Por isso, foi impossível verificar qualquer padrão de herança genética envolvido na etiologia do processo. No entanto, considerando os relatos na literatura, não há nenhum caso de abiotrofia cerebelar afetando *Bos taurus indicus*. Portanto, o presente caso em nelore é o primeiro relato da doença no gado zebu (Oliveira et al., 2011).

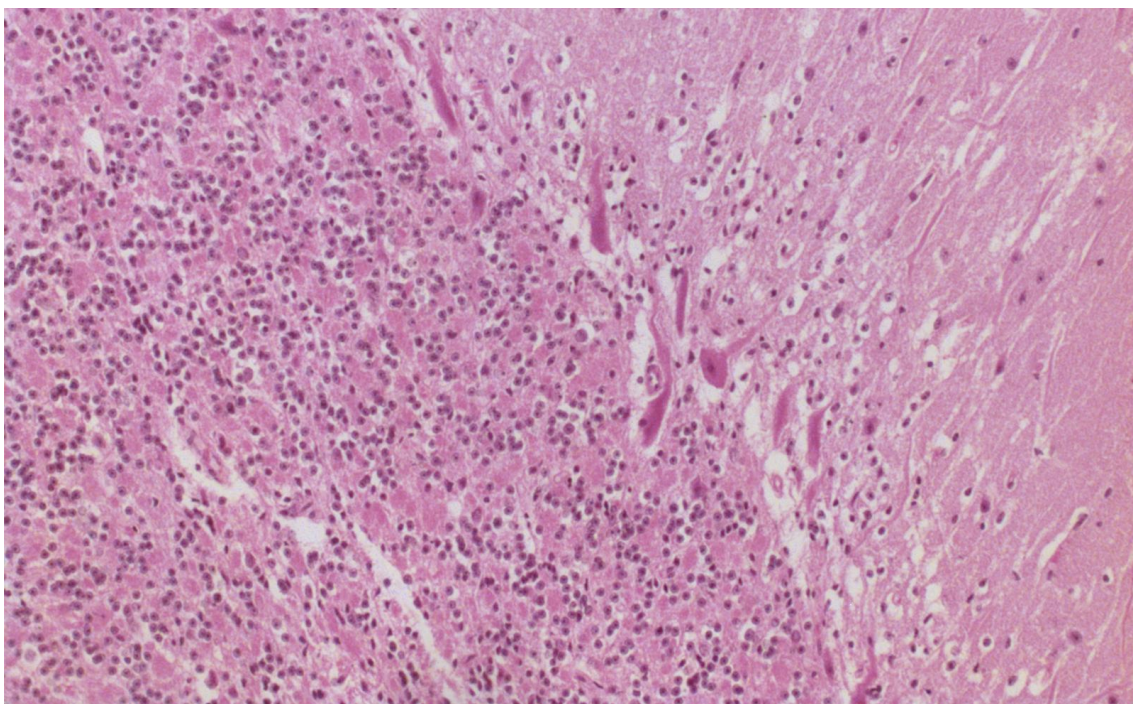


Figura 17. Bovino, SNC, cerebelo. Células de Purkinje restantes retraídas e hiper Cromáticas, com moderada atenuação e astrogliose da camada molecular. HE, 20X.

4.3.1.9. Astrocitoma

A avaliação histopatológica do cérebro de um bovino, mestiço, de dois meses de idade, proveniente do município de Matias Barbosa revelou área focal, discreta, na substância cinzenta, de formação neoplásica densa, pobremente delimitada, infiltrativa e não encapsulada. As células neoplásicas eram tipo alongadas, ora pequenas, ora grandes, com citoplasma escasso e núcleo grande, com cromatina frouxa e nucléolo evidente, por vezes sendo visualizados processos ramificantes, havendo poucas células redondas a ovais, com citoplasma abundante e acidófilo, multinucleadas. As células apresentavam pleomorfismo moderado e índice mitótico baixo. Os achados histopatológicos foram considerados compatíveis com astrocitoma de baixo grau (Figura 18).

O astrocitoma é o tumor intracraniano primário mais comum nos animais domésticos, sendo relatado em cães, gatos e bovinos. Sua localização mais frequente é o cérebro, porém

tálamo, hipotálamo e menos comumente tronco encefálico e medula também podem ser afetados. A visualização macroscópica nem sempre é possível, principalmente quando envolve a substância branca (Luginbuhl et al., 1968; Fankhauser et al., 1974; Summers et al., 1995; Yamada et al., 1998; Kube et al., 2003).

Essa foi a única neoplasia diagnosticada no SNC de bovinos nesse estudo. Esse diagnóstico foi considerado um achado acidental, visto que o animal acometido era um bezerro, não apresentando idade mínima para inclusão no sistema de vigilância das EETs (Brasil, 2002a), sendo o envio de amostras em formol a 10% nem sempre realizado para essa faixa etária. Além disso, não foram visualizadas alterações macroscópicas no SNC, com ênfase no cérebro, sendo a clivagem da amostra realizada aleatoriamente. Logo, esse resultado serve de alerta para que independente da idade do animal e visualização de alterações macroscópicas, as amostras de SNC sejam encaminhadas em formol a 10% e a possibilidade de neoplasias seja considerada no diagnóstico diferencial.

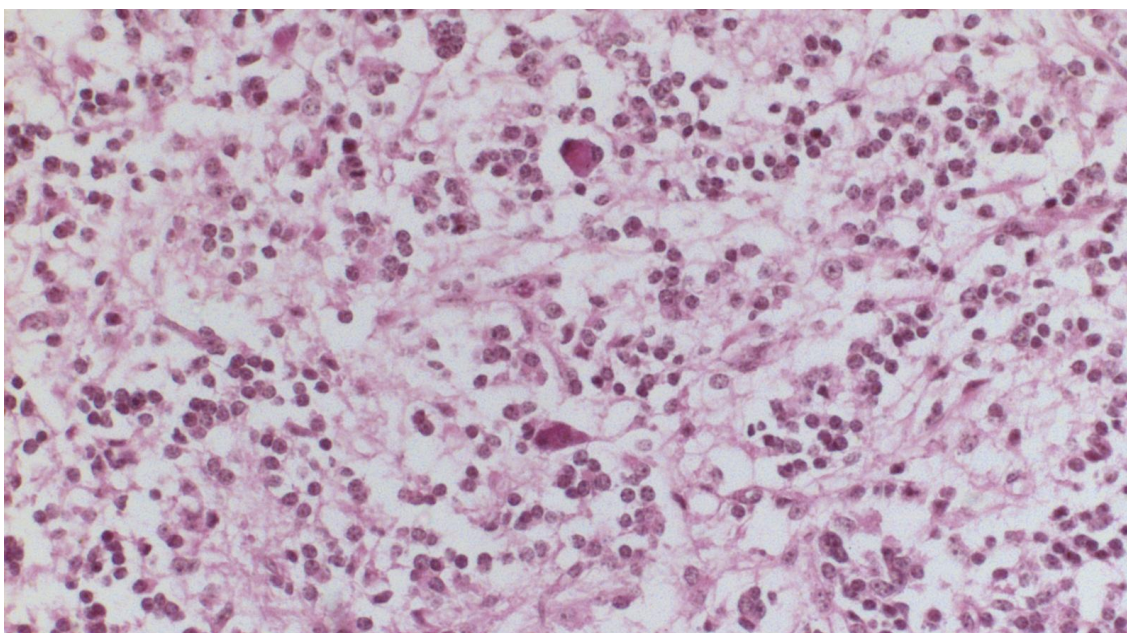


Figura 18. Bovino, SNC, cérebro. Astrocitoma de baixo grau. Proliferação de células neoplásicas, alongadas, ora pequenas, ora grandes, com citoplasma escasso e núcleo grande, com cromatina frouxa e nucléolo evidente, havendo poucas células redondas a ovais, com citoplasma abundante e acidófilo, multinucleadas. HE, 40X.

4.4. Diagnóstico de agentes infecciosos do SNC através da reação em cadeia pela polimerase

Durante o período de 2009-2010, 401 amostras de SNC de bovinos foram submetidas a PCR para detecção dos seguintes patógenos: BoHV-1, BoHV-5, OvHV-2, SuHV-1, *L. monocytogenes* e *H. somni*. Dentre estas amostras, 67 (16,7%) apresentaram resultado positivo para um ou mais agentes. Todos os agentes foram identificados em pelo menos uma amostra de SNC dos animais afetados. Os resultados segundo os agentes pesquisados por PCR estão detalhados a seguir.

4.4.1. Herpesvírus Bovino tipo-5

Vinte e cinco amostras apresentaram resultado positivo pela PCR para BoHV-5 (25/401 - 6,23%). Considerando as características relacionadas aos animais, 15 eram fêmeas (60%), 12 jovens (48% - entre 2 e 24 meses), dez de raças puras (40% - quatro nelores, quatro holandeses, um gir e um brahman) e 16 provenientes de municípios das regiões centro e sul do Estado (64%).

Dessas amostras, sete foram analisadas pela histopatologia, tendo sido observadas alterações compatíveis com meningoencefalite ou polioencefalomalácia em três delas (resultados discutidos no tópico 4.3.1.1). As outras quatro amostras não apresentaram alterações histopatológicas significativas, mesmo nos fragmentos de cérebro. Considerando que o BoHV-5 faz latência no gânglio trigeminal e que os animais considerados nesse estudo apresentavam sinais neurológicos, a detecção desse vírus através da PCR pode ter ocorrido devido a reagudização da infecção secundária a alteração do SNC provocada por outra enfermidade não identificada.

Seis amostras apresentaram resultado positivo concomitante para OvHV-2, sugerindo co-infecção, sendo apenas uma delas avaliada pela histopatologia sem alterações significativas. Não foram encontrados relatos de infecção concomitante por BoHV-5 e OvHV-2 na literatura, porém somente com os resultados de PCR, tal afirmação é difícil de ser realizada. Logo, esses resultados merecem ser melhor

avaliados, talvez com a utilização de outras técnicas, como isolamento, no intuito de melhor definição do quadro.

4.4.2. Herpesvírus Bovino tipo-1

Apenas duas amostras (2/401 - 0,50%) tiveram reação positiva para BoHV-1 durante o período avaliado. Os bovinos infectados eram machos, com idade de 24 e 36 meses, mestiços, provenientes de Borda da Mata e Divisa Nova.

Houve resultado positivo concomitante para BoHV-5 em uma amostra e a avaliação histopatológica revelou meningoencefalite não supurada associada a corpúsculos de inclusão intranucleares. A co-infecção por BoHV-1 e 5 já foi relatada, inclusive no Brasil, com alta frequência (75,9%) no gânglio trigeminal de 174 bovinos (detectados por PCR) provenientes de 40 municípios do sul do Rio Grande do Sul (Campos et al., 2009).

A outra amostra apresentou resultado positivo concomitante para *L. monocytogenes* e a histopatologia evidenciou encefalite necrotizante. Não foram encontrados relatos de tal co-infecção. Considerando os achados histopatológicos, a encefalite necrotizante não é comum a nenhum dos dois patógenos. Logo, tal achado requer maiores estudos, talvez com o uso de outras técnicas no intuito de confirmar a co-infecção e avaliar sua relação com as alterações microscópicas visualizadas.

4.4.3. Herpesvírus Ovino tipo-2

Quinze amostras (15/401 - 3,74%) apresentaram resultado positivo para OvHV-2. Entre os animais afetados, nove eram fêmeas (60%), nove jovens (60% - entre 1 e 30 meses), sete de raças puras (53,33% - cinco nelores, um holandês e um brahman), provenientes de regiões diversas do Estado. Não havia informações no histórico referentes a criação conjunta com ovinos, porém tal possibilidade deve ser fortemente considerada. Cinco dessas amostras foram avaliadas microscopicamente sendo visualizadas alterações significativas em duas delas (tópicos 4.3.1.3 e 4.3.1.6). A ausência de alterações histopatológicas nas outras três amostras pode estar relacionada a

não remessa e avaliação da *rete mirabile* epidural rostral.

4.4.4. Herpesvírus Suíno tipo-1

Seis bovinos (6/401 - 1,50%) apresentaram reação positiva para SuHV-1, sendo quatro fêmeas (66,67%), com idade entre 5 e 48 meses (100%), dois holandeses e quatro mestiços.

A detecção do SuHV-1 no SNC de bovinos em Minas Gerais, através da PCR, tem sido realizada, porém com poucos resultados positivos (Costa, 2007; Fonseca Jr. et al., 2011). Considerando que não têm sido registrados casos de pseudoraiwa na suinocultura comercial do Estado, a possibilidade de envolvimento de suínos selvagens na infecção desses bovinos deve ser considerada. Logo, devido a abrangência desse estudo no serviço de defesa sanitária animal e a importância da doença de Aujeszky para a suinocultura, esses achados tornam-se relevantes, devendo essas amostras serem submetidas a outras técnicas, como isolamento viral, no intuito de fortalecer os resultados, que podem ser utilizados como base para outros levantamentos e adoção de medidas sanitárias específicas para SuHV-1 em bovinos.

4.4.5. *Listeria monocytogenes*

Vinte e duas amostras (5,49%) foram positivas para *L. monocytogenes*, envolvendo quinze fêmeas (68,18%), de diversas idades (de 4 a 144 meses), raças (dois girolandos, sete mestiços, quatro holandeses e oito nelores) e municípios (uma animal proveniente de cada município compreendendo as diversas regiões do Estado).

Quinze delas foram submetidas à avaliação histopatológica, com achados compatíveis com infecção por *L. monocytogenes* em cinco (tópico 4.3.1.4). As demais não apresentaram alterações significativas, exceto três delas, nas quais havia encefalite necrotizante (co-infecção com OvHV-2) e meningoencefalite não supurada inespecífica. Conforme revisado, casos de listeriose em bovinos têm sido descritos no Brasil, sendo em sua maioria relacionados a ingestão de silagem contaminada. Os dados disponíveis no histórico desses animais não relatavam consumo de silagem. Porém, considerando a identificação por PCR associada

às alterações histopatológicas, pelo menos em seis amostras o agente causal dos sinais neurológicos apresentados pode ser determinado com segurança.

Quatro amostras apresentaram reação concomitante com outros agentes, sendo três delas já relatadas nesse tópico. A quarta amostra revelou resultado positivo para *L. monocytogenes* e *H. somni*. As informações sobre infecção por *H. somni* no SNC de bovinos são escassas, não sendo encontradas referências para a co-infecção entre esses patógenos. Essa amostra não foi encaminhada em formol a 10%, o que inviabilizou sua análise histopatológica, não permitindo a obtenção de resultados mais consistentes.

4.4.6. *Histophilus somni*

Oito bovinos (8/401 - 2,0%) reagiram positivamente para *H. somni*. As amostras eram provenientes de oito municípios distintos, de diferentes regiões do Estado. Entre os animais havia seis fêmeas (75%), cinco tinham entre 60 e 84 meses, sendo dois nelores, dois mestiços, dois holandeses, um girolando e um jersey. Dessas, duas foram analisadas pela histopatologia, havendo alterações em apenas uma (Tópico 4.3.1.2). Apesar da pequena quantidade de amostras positivas, e principalmente da ausência de outras informações relevantes, como achados histopatológicos, considerando a escassez de informações referentes a infecção do SNC de bovinos por *H. somni*, esses resultados tornam-se importantes, podendo servir de base para estudos mais específicos envolvendo esse agente em Minas Gerais.

4.5. Diagnóstico toxicológico

Durante os anos de 2009 e 2010, vinte e uma amostras de SNC e outras vísceras de bovinos foram submetidas ao exame toxicológico, sendo identificados agentes tóxicos em seis delas (28,57%).

Duas amostras apresentaram resultado positivo para organofosforados, identificados no fígado, sendo detectado piretróides em uma delas, no rim. Os animais intoxicados eram fêmeas, de 36 e 60 meses, holandês e mestiço

respectivamente. Eram criados em propriedades leiteiras nos municípios de Paraopeba e Bambuí. As duas amostras foram analisadas pela histopatologia não sendo observadas alterações histológicas significativas no SNC.

Outros dois bovinos tiveram detectados tiofosforados nas vísceras (fígado e rins), sendo os mesmos fêmeas, de 30 e 40 meses, mestiços, provenientes de Matias Cardoso e Cascalho Rico.

Um quinto animal – fêmea, holandesa, de Bom Despacho - apresentou resultado positivo para clorofosforado em amostras de fígado analisadas.

Os organofosforados, tiofosforados, clorofosforados e piretróides são compostos tóxicos utilizados com frequência na pecuária como antiparasitários e inseticidas (Boermans et al., 1984; Grecco et al., 2009). Existem relatos de intoxicação pela utilização indiscriminada dos mesmos no tratamento de bovinos (principalmente em banhos carrapaticidas) (Castro et al., 2007; Dalto et al., 2011).

Considerando-se que os animais apresentaram sinais neurológicos, não sendo detectadas alterações no SNC pela histopatologia ou patógenos através das outras técnicas aplicadas nesse estudo, a detecção dos tóxicos foi considerada conclusiva na definição da causa para o quadro apresentado.

O envio de amostras para exame toxicológico nesse estudo foi passivo, sendo dependente do interesse do proprietário ou veterinário, que muitas vezes era movido por uma suspeita fundamentada em ocorrências na propriedade, como tratamento de animais com agentes tóxicos associado a sintomatologia neurológica posterior. Logo, esses resultados são significativos, porém devem ser avaliados com cautela, pois tratavam de amostras com elevada possibilidade de testarem positivo, visto que provavelmente já apresentavam um histórico predisponente.

Além dos tóxicos detectados acima, a uréia, um composto amoniacal, foi identificada em amostras de conteúdo ruminal de uma vaca, girolanda, de 60 meses, proveniente de São João

da Lapa. Essa amostra foi encaminhada para análise, pois o veterinário verificou que após os animais serem tratados na propriedade com alimentos enriquecidos com uréia, durante um dia chuvoso, alguns apresentaram sintomatologia neurológica e óbito.

A intoxicação por uréia em bovinos está relacionada a utilização da mesma na alimentação, como fonte alternativa de nitrogênio (não protéico), sendo administrada em quantidades ou condições que predispõem a ingestão de elevados níveis desse componente químico. No rúmen, a uréia é convertida rapidamente em amônia, sendo a mesma absorvida em altas concentrações, causando sintomatologia neurológica. Não há alterações macro e microscópicas nos animais afetados, sendo o diagnóstico estabelecido pela observação dos sinais clínicos associada ao histórico de ingestão da uréia. A dosagem de amônia no sangue permite um diagnóstico definitivo, porém é raramente executada em bovinos (Antonelli et al., 2004; Antonelli et al., 2009; Kitamura et al., 2010).

Diante do exposto, a associação das informações fornecidas pelo veterinário, da sintomatologia apresentada pelo animal e da detecção de uréia no conteúdo ruminal permitem a definição de um diagnóstico conclusivo.

4.6. Diagnóstico de botulismo através da pesquisa da toxina botulínica

Durante o período analisado, vinte e três amostras de vísceras de bovinos foram submetidas à pesquisa da toxina botulínica, porém em apenas uma (4,35%) a mesma foi detectada.

A amostra pertencia a um bovino, macho, nelore, de 24 meses, proveniente do município de Alfenas, que apresentou sinais neurológicos compatíveis com botulismo (paralisia flácida dos membros, com manutenção do estado de alerta). Não foram visualizadas alterações histopatológicas ou detectados agentes nas outras técnicas empregadas. Logo, esses achados foram considerados suficientes para a o diagnóstico presuntivo de botulismo.

Considerando as demais amostras analisadas por essa técnica, não foi possível a definição de um diagnóstico conclusivo ou a determinação da causa dos sinais neurológicos apresentados pelos animais. Todas elas apresentaram resultado negativo para a detecção dos demais agentes e oito delas foram submetidas à histopatologia sem alterações significativas. Conforme revisado, a técnica de soroneutralização em camundongos para pesquisa da toxina botulínica não apresenta elevada sensibilidade. Considerando que essas amostras foram passivamente enviadas ao laboratório para análise, a partir da suspeita clínica do veterinário, a possibilidade de botulismo, mesmo sem a detecção da toxina, não pode ser descartada.

Além disso, esses achados devem ser analisados com cautela, pois não são suficientes para determinar uma baixa frequência de botulismo na população estudada. O botulismo é uma enfermidade amplamente disseminada no país, porém de difícil diagnóstico, considerando sua etiopatogenia, o que pode ter contribuído para a obtenção desses resultados (Lobato et al., 1995; Riet-Correa et al., 1998; Sanches et al., 2000; Dutra et al., 2005; Lemos, 2005; Costa et al., 2008; Lobato et al., 2008; Galiza et al., 2010)..

5. CONCLUSÕES

As amostras de bovinos enviadas ao serviço de defesa sanitária de Minas Gerais atendem parcialmente os requisitos de vigilância da raiva e EETs.

O método de conservação das amostras de SNC enviadas para análise foi o principal problema encontrado, sendo apenas 33,87% encaminhadas em gelo e formol a 10%.

Outro achado relevante foi a diminuição gradativa no número de amostras enviadas ao LSA/IMA entre 2003 e 2010, mais evidente nas amostras provenientes de veterinários do serviço de defesa oficial. Analisando-se a origem da amostra, tais dados tornam-se mais alarmantes, principalmente considerando que 33,76% dos municípios mineiros não enviaram amostras ao

serviço de defesa sanitária durante o período estudado.

A raiva bovina diagnosticada na população estudada é influenciada pelas características do animal - raça, idade e tipo de morte - e pela composição da amostra.

Vale ressaltar que, amostras compostas por cérebro associado a três ou mais fragmentos apresentaram maior frequência de positividade para raiva, tanto na IFD e PB, quanto na histopatologia, o que reforça a importância da coleta e envio de amostras contendo diversos fragmentos para ambos exames.

Além disso, o bulbo, fragmento de eleição para o diagnóstico da EEB, foi enviado frequentemente nas amostras refrigeradas para diagnóstico da raiva e não estava presente em aproximadamente um terço das conservadas em formol. Esses resultados sugerem que o diagnóstico da EEB, pelas técnicas de histopatologia e IHQ, foi prejudicado, e que os profissionais envolvidos na coleta não estão seguindo as recomendações oficiais.

Outras enfermidades neurológicas além da raiva estão presentes no Estado e a aplicação de várias técnicas permite a realização do diagnóstico diferencial e a obtenção de mais diagnósticos conclusivos.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGERHOLM, J.S.; KROGH, H.V.; NIELSEN, T.K. et al. A case of bovine spongiform encephalopathy in Denmark. *Acta Vet. Scand.*, v.34, n.1, p.99-100, 1993.

ALMEIDA, E.O.; MOREIRA, E.C.; NAVEDA, L.A.B. et al. Combate ao *Desmodus rotundus rotundus* (E. Geoffroy, 1810) na região cárstica de Cordisburgo e Curvelo, Minas Gerais. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.54, n.2, p.117-126, 2002.

ALMEIDA, M.B.; TORTELLI, F.P.; RIET-CORREA, B. et al. Tristeza parasitária bovina na região sul do Rio Grande do Sul: estudo

- retrospectivo de 1978-2005. *Pesq. Vet. Bras.*, v.26, n.4, p.237-242, 2006.
- ANTONELLI, A.C.; MORI, C.S.; SOARES, C.S. et al. Experimental ammonia poisoning in cattle fed extruded or pilled urea: clinical findings. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, v.41, p.67-74, 2004.
- ANTONELLI, A.C.; TORRES, G.A.S.; MORI, C.S. et al. Intoxicação por amônia em bovinos que receberam uréia extrusada ou granulada: alterações em alguns componentes bioquímicos do sangue. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, v.46, n.1, p.69-76, 2009.
- ANTONIASSI, N.A.B.; CORRÊA, A.M.R.; SANTOS, A.S. et al. Surto de babesiose cerebral em bovinos no estado do Rio Grande do Sul. *Cienc. Rural*, v.39, n.3, p.933-936, 2009.
- AQUINO NETO, H.M.; CARVALHO, A.U.; FACURY FILHO, E.J. et al. Meningoencefalite por Herpesvirus bovino 5 em Minas Gerais: relato de caso clínico. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.61, n.1, p.1-5, 2009.
- ASAHI, O.; HOSODA, T.; AKIYAMA, Y. Studies on the mechanism of infection of the brain with *Listeria monocytogenes*. *Am. J. Vet. Res.*, v.18, p.147-157, 1957.
- ASHBAUGH, S.E.; THOMPSON, K.E.; BELKNAP, E.B. et al. Specific detection of shedding and latency of bovine herpesvirus 1 and 5 using a nested polymerase chain reaction. *J. Vet. Diagn. Invest.*, v.9, p.387-394, 1997.
- AZEVEDO, M.P.; BARBANTE, P.J.; KERBRIE, S.V. et al. Tratamento preventivo da raiva humana. *Rev. Saúde Públ.*, v.15, n.5, p.551-554, 1981.
- BALDASSI, L.; HIPOLITO, M.; PORTUGAL, M.A.S.C. et al. Botulismo Bovino: comprovação laboratorial do diagnóstico clínico, período 1986-1989. *Rev. Saúde Públ.*, v.25, n.5, p.371-374, 1991.
- BAPTISTA, F.; MOREIRA, E.C.; SANTOS, W.L.M. et al. Prevalência da tuberculose em bovinos abatidos em Minas Gerais. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.56, n.5, p.577-580, 2004.
- BARROS, S.S.; SANTOS, M.N.; BARROS, C.S.L. Surto de febre catarral maligna em bovinos no Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.*, v.3, n.2, p.81-86, 1983.
- BARROS, C.S.L. & MARQUES, G.H.F. *Procedimentos para o diagnóstico das doenças do sistema nervoso central de bovinos*. Brasília: MAPA/SDA/DDA, 2003. 50p.
- BARROS, C.S.L.; DRIEMEIER, D.; DUTRA, I.S. et al. *Doenças do sistema nervoso de bovinos no Brasil*. Montes Claros: Vallée, 2006. 207p.
- BAXTER, S.I.; POW, I.; BRIDGEN, A. et al. PCR detection of the sheep-associated agent of malignant catarrhal fever. *Arch. Virol.*, v.132, p.145-159, 1993.
- BOERMANS, H.J.; BLACK, W.D.; CHESNEY, R. et al. Terbufos poisoning in a dairy herd. *Can. Vet. J.*, v.25, n.9, p.335-338, 1984.
- BOOM, R.; SOL, C.J.A.; SALIMANS, M.M.M. et al. Rapid and simple method for purification of nucleic acids. *J. Clin. Microbiol.*, v.28, p.495-503, 1990.
- BOVING, M.K.; PEDERSEN, L.N.; MOLLER, J.K. Eight-Plex PCR and Liquid-Array Detection of Bacterial and Viral Pathogens in Cerebrospinal Fluid from Patients with Suspected Meningitis. *J. Clin. Microbiol.*, v.47, n.4, p.908-913, 2009.
- BRACARENSE, A.P.F.R.L.; VIDOTTO, O.; REIS, A.C.F. Babesiose cerebral em bezerros oriundos de transferência de embrião. *Semin.: Cienc. Agrar.*, v.20, n.1, p.87-89, 1999.
- BRAGA, A.C.; ROSA, J.C.; ROEHE, P.M. et al. Diagnóstico da doença de Aujeszky em suínos no estado do Rio Grande do Sul. *Veterinária em Foco*, v.2, n.2, p.177-182, 2005.
- BRAMBELL, J.W.R. The passive immunity of young mammal. *Biological Rev.*, v.33, p.488-531, 1958.
- BRASIL. Instrução Normativa Nº 126, de 18 de março de 1976. Aprova as Normas anexas à presente Portaria, assinada pelo Diretor-Geral do Departamento Nacional de Produção Animal, a serem observadas na Profilaxia da Raiva. *Diário Oficial da União*, Brasília, 06 de abril de 1976, Seção 1, Página 4.434.
- BRASIL. Portaria Nº 516, de 09 de dezembro de 1997. Declara o Brasil livre de encefalopatia espongiforme bovina, de acordo com o que estabelece o artigo 3.2.13.2 do Código Zoossanitário Internacional. *Diário Oficial da*

União, Brasília, 11 de dezembro de 1997, Seção 1, Página 29.476.

BRASIL. Instrução Normativa Nº 18, de 15 de fevereiro de 2002. Aprova as Normas a serem adotadas, visando incrementar a vigilância epidemiológica para detecção de Encefalopatias Espongiformes Transmissíveis - EET - em ruminantes. *Diário Oficial da União*, Brasília, 18 de fevereiro de 2002a, Seção 1, Página 1.

BRASIL. Instrução Normativa nº 05, de 01 de março de 2002. Aprovar as Normas Técnicas para o controle da raiva dos herbívoros domésticos. *Diário Oficial da União*, Brasília, 04 de março de 2002b, Seção 1, Página 3.

BRASIL. Instrução Normativa SDA n.º 15, de 15 de fevereiro de 2002. Aprova as normas de Credenciamento e Monitoramento de Laboratórios de Diagnóstico para as Encefalopatias Espongiforme Transmissíveis em ruminantes – EET. *Diário Oficial da União*, Brasília, 05 de março de 2002c, Seção 1, Página 5.

BRASIL. Instrução Normativa Nº 18, de 27 de fevereiro de 2004. Estabelece as normas sobre os requisitos de qualidade para efeito de credenciamento e monitoramento de laboratório pelo MAPA com vistas a procederem a diagnósticos das Encefalopatias Espongiformes Transmissíveis (EET) em ruminantes pela técnica de imunohistoquímica (IHQ). *Diário Oficial da União*, Brasília, 23 de março de 2004a, Seção 1, Página 3.

BRASIL. Instrução Normativa Nº 8, de 25 de março de 2004. Proíbe 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. *Diário Oficial da União*, Brasília, 26 de março de 2004b, Seção 1, Página 5.

BRASIL. *Controle da Raiva dos herbívoros*. Brasília: MAPA/SDA/DDA, 2005. 104p.

BRASIL. *Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT)*. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento / organizadores, Vera Cecilia Ferreira de Figueiredo, José Ricardo Lôbo, Vitor Salvador Picão Gonçalves. Brasília: MAPA/SDA/DSA, 2006. p.51-68.

BRASIL. Instrução de Serviço Nº 6, de 22 de abril de 2002. Rastreamento e identificação individual de todos os bovinos importados de países com situação sanitária diferente do Brasil quanto às Encefalopatias Espongiformes Transmissíveis. Disponível em <www.agricultura.gov.br>. Acessado em: 16 de setembro de 2008a.

BRASIL. Instrução Normativa Nº 49, de 15 de setembro de 2008. Estabelece as seguintes categorias de risco para a Encefalopatia Espongiforme Bovina - EEB: categoria I - países com risco insignificante para a EEB; categoria II - países com risco controlado para a EEB; categoria III - países com risco indeterminado ou não classificado para a EEB. *Diário Oficial da União*, Brasília, 16 de setembro de 2008b, Seção 1, Página 8.

CACHIN, M.; VANDELVELDE, M.; ZURBRIGGEN, A. A case of spongiform encephalopathy (“cattle madness”) in a cow in Switzerland. *Schweiz. Arch. Tierheilkd*, v.133, n.2, p.53-57, 1991.

CÂMARA, A.C.L.; GUIMARÃES, J.A.; DANTAS, A.C. et al. Surto de babesiose cerebral em bovinos leiteiros no nordeste brasileiro. *Cienc. Anim. Bras.*, supl.1, p.619-624, 2009.

CAMPERO C.M., ODEÓN A.C., CIPOLLA A.L. et al. Demonstration of *Listeria monocytogenes* by immunohistochemistry in formalin-fixed brain tissues from natural cases of ovine and bovine encephalitis. *J. Vet. Med. B*, 49, p.379-383, 2002.

CAMPOS, F.S.; FRANCO, A.C.; HUBNER, S.O. et al. High prevalence of co-infections with bovine herpesvirus 1 and 5 found in cattle in southern Brazil. *Vet. Microbiol.*, v.139, n.1-2, p.67-73, 2009.

CÂNDIDO, A.L.; RESENDE, M.; BARROS, P.P.; et al. Development of a DNA probe for detection of Aujeszky’s disease virus. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.51, p. 293-299, 1999.

CARMO, P.M.S.; OLIVEIRA, K.D.; BARIONI, G. et al. Malignant Catarrhal Fever in a Calf in Espírito Santo State, Brazil: Report of the First Case. *Braz. J. Vet. Pathol.*, v.4, n.1, p.44-46, 2011.

CASCIO, K.E.; BELKNAP, E.B.; SCHULTHEISS, P.C. et al. Encephalitis

- induced by bovine herpesvirus 5 and protection by prior vaccination or infection with bovine herpesvirus 1. *J. Vet. Diag. Invest.*, v. 11, n. 2, p.134-139, 1999.
- CASTRO, M. B.; MOSCARDINI, A.R.C.; REIS JR., J.L. et al. Intoxicação aguda por diazinon em bovinos. *Cienc. Rural*, v.37, n.5, p.1498-1501, 2007.
- CHAMELET, E.L.B.; AZEVEDO, M.P.; FAVORETTO, S.R. et al. Esquema reduzido de vacinação anti-rábica humana pré-exposição e avaliação de doses anuais de reforço. *Rev. Saúde Pública*, v.16, n.3, p.144-148, 1982.
- CHEN, Y. & KNABEL, S.J. Multiplex PCR for Simultaneous Detection of Bacteria of the Genus *Listeria*, *Listeria monocytogenes*, and Major Serotypes and Epidemic Clones of *L. monocytogenes*. *Appl. Environ. Microbiol.*, v.73, n.19, p.6299-6304, 2007.
- CLAUS, M.P.; ALFIERI, A.F.; FOLGUERAS-FLATSCHART, A.V. et al. Rapid detection and differentiation of bovine herpesvirus 1 and 5 glycoprotein C gene in clinical specimens by multiplex-PCR. *J. Virol. Methods*, v.128, p.183-188, 2005.
- COLODEL, E.M.; NAKAZATO, L.; WEIBLEN, R. et al. Meningoencefalite necrosante em bovinos causada por herpesvírus bovino no estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. *Cienc. Rural*, v.32, p.293-298, 2002.
- CORBELLINI, L.G.; DRIEMEIER, D.; CRUZ, C. et al. Aborto bovino por *Neospora caninum* no Rio Grande do Sul. *Cienc. Rural*, v.30, n.5, p.863-868, 2000.
- CORREA, C.N.M.; CORREA, W.M.; SPAGO, N. et al. Tuberculose nervosa em vaca leiteira. *Arq. Esc. Vet. UFMG.*, v.32, n.2, p.265-269, 1980.
- COSTA, G.H.N.; CABRAL, D.D.; VARANDAS, N.P. et al. Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* e anti-*Toxoplasma gondii* em soros de bovinos pertencentes aos estados de São Paulo e de Minas Gerais. *Semin.: Cienc. Agrar.*, v.22, n.1, p.61-66, 2001.
- COSTA, E.A. *Diagnóstico das Encefalites Herpéticas em Bovinos*. 2007. 58p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária Preventiva e Epidemiologia) - Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- COSTA, E.A.; BASTIANETTO, E.; VASCONCELOS, A.C. et al. An outbreak of malignant catarrhal fever in Murrah buffaloes in Minas Gerais, Brazil. *Pesq. Vet. Bras.*, v.29, n.5, p.395-400, 2009.
- COSTA, G. M.; SALVADOR, S. C.; PEREIRA, M. N. Botulismo em bovinos leiteiros no Sul de Minas Gerais, Brasil. *Cienc. Rural*, v.38, n.7, p.2068-2071, 2008.
- COULTHART, M.B.; MOGK, R.; RANCOURT, J.M. et al. Prion protein gene sequence of Canada's first non-imported case of bovine spongiform encephalopathy (BSE). *Genome*, v.46, n.6, p.1005-1009, 2003.
- CUNHA, P.H.J.; BADIAL, P.R.; CAGNINI, D.Q. et al. Polioencefalomalácia experimental em bovinos induzida por toxicose por enxofre. *Pesq. Vet. Bras.*, v.31, n.1, p.41-52, 2011.
- DALLORA, A.M.B. *Estudo da ocorrência de casos confirmados de raiva bovina no município de Guaxupé – Minas Gerais*. 2007. 91p. Dissertação (Mestrado em Saúde na comunidade) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.
- DALTO, A.G.C.; ALBORNOZ, L.; GONZALEZ, P.C.S. et al. Intoxicação por organofosforados em bezerros no Uruguai. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.39, n.3, p.1-4, 2011.
- DANTAS, A.F.M.; RIET-CORREA, F.; MEDEIROS, R.M.T. et al. Malformações congênitas em ruminantes no semiárido do nordeste brasileiro. *Pesq. Vet. Bras.*, v.30, n.10, p.807-815, 2010.
- DAVIS, A.J.; JENNY, A.L.; MILLER, L.D. Diagnostic characteristics of bovine spongiform encephalopathy. *J. Vet. Diagn. Invest.*, v.3, p.266-271, 1991.
- DEAN, D.J., ABELSETH, M.K., ATANASIU, P. The fluorescent antibody test. In: MESLIN, F.X., KAPLAN, M.M., KOPROWSKI, H., editors. *Laboratory techniques in rabies*. Geneva: World Health Organization, 4.ed., 1996. p.88-95.
- DELHON, G.; MORAES, M.P.; LU, Z. et al. Genome of bovine herpesvirus 5. *J. Virol.*, v.77, p.10339-10347, 2003.

- DENNY, G.O.; WILESMITH, J.W.; CLEMENTS, R.A. et al. Bovine spongiform encephalopathy in northern Ireland: epidemiological observations 1988-1990. *Vet. Rec.*, v.130, n.6, p.113-116, 1992.
- DIEL, D.G.; FONSECA, E.T.; SOUZA, S.F. et al. O herpesvírus bovino tipo 5 (BoHV-5) pode utilizar as rotas olfatória ou trigeminal para invadir o sistema nervoso central de coelhos, dependendo da via de inoculação. *Pesq. Vet. Bras.*, v.25, n.3, p.164-170, 2005.
- DUBEY, J.P. & LINDSAY, D.S. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Vet. Parasitol.*, v.67, p.1-59, 1996.
- DUCROT, C.; ARNOLD, M.; de KOEIJER, A. et al. Review on the epidemiology and dynamics of BSE epidemics. *Vet. Res.*, v.39, n.15, 18p., 2008.
- DUTRA, I. S.; DOBEREINER, J.; ROSA, I.V. et al. Surtos de botulismo em bovinos no Brasil associados à ingestão de água contaminada. *Pesq. Vet. Bras.*, v.21, n.2, p.43-48, 2001.
- DUTRA, I. S.; DÖBEREINER, J.; SOUZA, A. M. Botulismo em bovinos de corte e leite alimentados com cama de frango. *Pesq. Vet. Bras.*, v.25, n.2, p.115-119, 2005.
- ELIAS, F.; SCHILD, A. L.; RIET-CORREA, F. Meningoencefalite e encefalomalacia por Herpesvírus bovino-5: distribuição das lesões no sistema nervoso central de bovinos naturalmente infectados. *Pesq. Vet. Bras.*, v.24, n.3, p.123-131, 2004.
- FANKHAUSER, R.; LUGINBUHL, H.; McGRATH, J.T. Tumor of the nervous system. *Bull. Wld. Hlth. Org.*, v.50, p.53-69, 1974.
- FAVORETTO, S.R.; CARRIERI, M.L.; CUNHA, E.M.S. et al. Tipificação antigênica de amostras brasileiras de vírus rábico isoladas de animais e humanos, no período de 1989 a 2000. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, v.44, n.2, p.91-95, 2002.
- FERREIRA, F.A.; COELHO, H.E.; BASTOS, J.E.D. Polioencefalomalácia em bovinos no estado de Minas Gerais. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.38, p.693-700, 1986.
- FERREIRA, R.S. *Levantamento epidemiológico da Raiva no estado de Minas Gerais, no período de 2002 a 2006*. 2006. 82p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade José do Rosário Vellano, Unifenas, Alfenas.
- FERNANDES, C.G. & RIET-CORREA, F. Raiva. In: RIET-CORREA, F., SCHILD, A.L., LEMOS, R.A.A. et al. *Doenças de Ruminantes e Equídeos*. 3.ed. Santa Maria: Pallotti, 2007. p.184-198.
- FLATSCHART, R.B. & RESENDE, M. Acute and latent infection in mice with a virulent strain of Aujeszky's disease virus. *Braz. J. Microbiol.*, v. 31, p. 308-311, 2001.
- FONSECA JR., A.A.; COSTA, E.A.; OLIVEIRA, T.S. et al. PCR multiplex para detecção dos principais herpesvírus neurológicos de ruminantes. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.63, n.6, p.1405-1413, 2011.
- FURUOKA, H.; IZUMIDA, N.; HORIUCHI, M. et al. Bovine herpesvirus meningoencephalitis association with infectious bovine rhinotracheitis (IBR) vaccine. *Acta Neuropathol.*, v.90, p.565-571, 1995.
- GALIZA, G.J.N.; SILVA, M.L.C.R.; DANTAS, A.F.M. et al. Doenças do sistema nervoso de bovinos no semiárido nordestino. *Pesq. Vet. Bras.*, v.30, n.3, p.267-276, 2010.
- GARMATZ, S.L.; IRIGOYEN, L.F.; RECH, R.R. et al. Febre catarral maligna em bovinos no Rio Grande do Sul: transmissão experimental para bovinos e caracterização do agente etiológico. *Pesq. Vet. Bras.*, v.24, n.2, p.93-103, 2004.
- GAVIER-WIDEN, D.; STACK, M.J.; BARON, T. et al. Diagnosis of transmissible spongiform encephalopathies in animals: a review. *J. Vet. Diagn. Invest.*, v.17, p. 509-527, 2005.
- GERMANO, P.M.L.; MIGUEL, O.; CHAMELET, E.L.B. Estudo comparativo entre as técnicas de coloração de Sellers, imunofluorescência direta e inoculação em camundongos aplicadas ao diagnóstico laboratorial da raiva canina. *Revta. Fac. Med. Vet. Zootec. Univ. S. Paulo*, v.14, n.1, p.133-141, 1977.
- GOMES, L.I.; ROCHA, M.A.; COSTA, E.A. et al. Detecção de herpesvírus bovino 5 (BoHV-5) em bovinos do Sudeste Brasileiro. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.54, n.2, p.217-220, 2002.
- GOMES, M.N.; MONTEIRO, A.M.V.; NOGUEIRA FILHO, V.S. et al. Áreas propícias

- para o ataque de morcegos hematófagos *Desmodus rotundus* em bovinos na região de São João da Boa Vista, Estado de São Paulo. *Pesq. Vet. Bras.*, v.27, n.7, p.307-313, 2007.
- GRECCO, F.B.; SCHILD, A.L.; SOARES, M.P. et al. Intoxicação por organofosforados em búfalos no Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.*, v.29, n.3, p.211-214.
- GUEDES, R.M.C; NOGUEIRA, R.H.G; FACURY FILHO, E.J. et al. Meningite tuberculosa bovina / Meningeal tuberculosis in cattle. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.49, n.1, p.131-5, 1997.
- GUEDES, K.M.R., SCHILD, A.L., RIET-CORREA, F. et al. Degeneração esponjosa no sistema nervoso central de bezerros da raça Sindhi. *Pesq. Vet. Bras.*, v.26, n.3, p. 157-160, 2006.
- GUEDES, M.H.P.; GUIMARÃES, A.M.; ROCHA, C.M.B.M. et al. Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em vacas e fetos provenientes de municípios do sul de Minas Gerais. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v.17, n.4, p.189-194, 2008.
- GUITART, R.; CROUBELS, S.; CALONI, F. et al. Animal poisoning in Europe. Part 1: Farm livestock and poultry. *Vet. J.*, v.183, n.3, p.249-54, 2010.
- GUSTAFSON, D.P. Pseudorabies. In: Leman AD, Straw B, Glock R, et al. *Disease of swine*. 6.ed. Ames, IA: Iowa State University Press, 1986. Cap.14, p.274-289.
- HAMIR, A.N.; MILLER, J.M.; SCHMERR, M.J. et al. Diagnosis of preclinical and subclinical scrapie in a naturally infected sheep flock utilizing currently available postmortem diagnostic techniques. *J. Vet. Diagn. Invest.*, v.13, p.152-154, 2001.
- HARRIS, F.W. & JANZEN, E.D. The *Haemophilus somnus* disease complex (Hemophilosis); A review. *Can. Vet. J.*, v.30, p.816-822, 1989.
- HEINEMANN, F.M.; FERNANDES-MATIOLI, F.M.C.; CORTEZ, A. et al. Genealogical analysis of rabies virus strain from Brazil based on N gene alleles. *Epidemiol. Infect.*, v.128, p.503-511, 2002.
- HERES, L.; ELBERS, A.R.; van ZIJDERVELD, F.G. Identification of the characteristics and risk factors of the BSE epidemic in the Netherlands. *Risk Anal.*, v.27, n.5, p.1119-1129, 2007.
- HOFER, E. & REIS, C.M.F. Espécies e sorovares de *Listeria* isolados de animais doentes e portadores no Brasil. *Pesq. Vet. Bras.*, v.25, n.2, p.79-83, 2005.
- JOHSON, G.C.; FALES, W.H.; MADDOX, C.W. et al. Evaluation of laboratory tests for confirming the diagnosis of encephalitic listeriosis in ruminants. *J. Vet. Diagn. Invest.*, v.7, p.223-228, 1995.
- KAADEN, O.R.; TRUYEN, U.; GROSCHEP, M.H. et al. Bovine spongiform encephalopathy in Germany. *Zentralbl Veterinarmed B.*, v.41, n.4, p.294-304, 1994.
- KAHRS, R.F. Infectious bovine rhinotracheitis pustular vulvovaginitis, In: _____. *Viral Disease of Cattle*. 2.ed. Ames, IA: Iowa State University Press, 2001. p.159-170.
- KARAM, F.S.C.; SOARES, M.P.; HARAGUCHI, M. et al. Aspectos epidemiológicos da seneciose na região sul do Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.*, v.24, n.4, p.191-198, 2004.
- KESSLER, R.H.; MADRUGA, C.R.; SCHENK, M.A.M. et al. Cerebral babesiosis caused by *Babesia bovis* (Babes 1888 Starcovici 1893) in calves in the state of Mato Grosso do Sul. *Pesq. Agropec. Bras.*, v.18, n.8, p.931-935, 1983.
- KING A. A. & TURNER G.S. Rabies: A review. *J. Comp. Pathol.*, v.108, p.1-39, 1993.
- KITAMURA, S.S.; ANTONELLI, A.C.; MARUTA, C.A. et al. Avaliação laboratorial do uso de solução salina hipertônica e isotônica e de furosemida no tratamento da intoxicação por amônia em bovinos. *Cienc. Rural*, v.40, n.8, p.1779-1785, 2010.
- KOESTNER, A. & JONES, T.C. Sistema Nervoso. In: Jones, T. C; Hunt, R. D.; King, N. W. *Patologia Veterinária*. 6.ed. Barueri: Ed. Manole, 2000. p.1281-1320.
- KOPROWSKI, H., editors. *Laboratory Techniques in Rabies*. 4.ed. Genebra: World Health Organization, 1996. p.80-87.
- KOTAIT, I.; PEIXOTO, Z.M.P; CUNHA, E.M.S. et al. Focos da doença de Aujeszky no

- Estado de São Paulo no período de 1982-1986. *Arq. Inst. Biol.*, v.53, p.65-70, 1986.
- KOTAIT, I.; GONÇALVES, C.A.; PERES, N.F. et al. Controle da raiva dos herbívoros. *Manual Técnico do Instituto Pasteur*. São Paulo: Instituto Pasteur, n.1, 1998. 15p.
- KUBE, S.A.; BRUYETTE, D.S.; HANSON, S.M. Astrocytomas in young dogs. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, v.9, p.288-293, 2003.
- LANGOHR, I.M.; IRIGOYEN, L.F.; LEMOS, R.A.A. et al. Aspectos epidemiológicos, clínicos e distribuição das lesões histológicas no encéfalo de bovinos com raiva. *Cienc. Rural*, v.33, n.1, p.125-131, 2003.
- LEMOS, R.A.A. *Enfermidades do sistema nervoso de bovinos de corte das regiões centro-oeste e sudeste do Brasil*. 2005. 149p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária Preventiva) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Campus Jaboticabal, Jaboticabal.
- LEMOS, R.A.; RECH, R. R.; GUIMARÃES, E. B. et al. Febre catarral maligna em bovinos do Mato Grosso do Sul e de São Paulo. *Cienc. Rural*, v.35, n.4, p.932-934, 2005.
- LI, H.; GAILBREATH, K.; BENDER, L.C. et al. Evidence of three new member of malignant catarrhal fever virus group in Muskox (*Ovibos moschatus*), Nubian ibex (*Capra nubiana*) and Gemsbok (*Oryx gazella*). *J. Wildlife Dis.*, v.39, n.4, p. 875-880, 2003.
- LIGGITT, H.D. & DeMARTINI, J.C. The pathomorphology of malignant catarrhal fever. 1. Generalized lymphoid vasculitis. *Vet. Pathol.*, v.17, p.58-72, 1980.
- LIMA, E.F; RIET-CORREA, F; CASTRO, R.S. et al. Sinais clínicos, distribuição das lesões no sistema nervoso e epidemiologia da raiva em herbívoros na região Nordeste do Brasil. *Pesq. Vet. Bras.*, v.25, n.4, p.250-264, 2005.
- LOBATO, F.C.F.; ALMEIDA, A.C.; ABREU, V.L.V. et al. Surto de botulismo em bovinos alimentados com cama de frango no Brasil. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.47, n.6, p.849-850, 1995.
- LOBATO, F.C.F.; SALVARANI, F.M.; SILVA, R.O.S. et al. Botulismo em ruminantes causado pela ingestão de cama-de-frango. *Cienc. Rural*, v.38, n.4, p.1176-1178, 2008.
- LUGINBÜHL, H.; FANKHAUSER, R.; MCGRATH, J.T. Spontaneous neoplasms of the nervous system in animals. *Prog. Neurol. Surg.*, v.2, p.85-164, 1968.
- MACÊDO, J.T.S.A.; RIET-CORREA, F.; SIMÕES, S.V.D. et al. Febre catarral maligna em bovinos na Paraíba. *Pesq. Vet. Bras.*, v.27, p.277-281, 2007.
- MACÊDO, J.T.S.A.; LUCENA, R.B.; GIARETTA, P.R. et al. Defeitos congênitos em bovinos da Região Central do Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.*, v.4, n.31, p.297-306, 2011.
- MARQUES, L.C.; ALESSI, A.C.; BECHARA, G.H. et al. Surto de febre catarral maligna em bovinos no estado de São Paulo. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.38, p.719-729, 1986.
- MELO, M.M. Plantas que causam alterações neurológicas. *Cad. Tec. Vet. Zootec.*, v.49, p.52-56, 2006.
- MENDES, L.C.N.; BORGES, A.S.; PEIRÓ, J.R. et al. Estudo retrospectivo de 19 casos de polioencefalomalácia, em bovinos, responsivos ao tratamento com tiamina. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.59, n.1, p.239-241, 2007.
- MENDONÇA, F.S.; DÓRIA, R.G.S.; SCHEIN, F.B. et al. Febre catarral maligna em bovinos no estado de Mato Grosso. *Pesq. Vet. Bras.*, v.28, n.3, p.155-160, 2008.
- MENEZES, F.L.; SILVA, J.A.; MOREIRA, E.C. et al. Distribuição espaço-temporal da raiva bovina em Minas Gerais, 1998 a 2006. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.60, n.3, p.566-573, 2008.
- MIRANDA, C.F.J.; SILVA, J.A.; MOREIRA, E.C. Raiva humana transmitida por cães: áreas de risco em Minas Gerais, Brasil, 1991-1999. *Cad. Saúde Pública*, v.19, n.1, p.91-99, 2003.
- MOORE, S.; GUNN, M.; WALLS, D. A rapid and sensitive PCR based diagnostic assay to detect bovine herpesvirus 1 in routine diagnostic submissions. *Vet. Microbiol.*, v.75, p.145-153, 2000.
- MORO, L.; NOGUEIRA, R.H.G.; CARVALHO, A.U. et al. Relato de três casos de polioencefalomalacia em bovinos. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.46, n.4, p.409-416, 1994.

- NADIN-DAVIS, S.A.; LUTZE-WALLACE, C.; ZHONG, X. Bovine herpesvirus 1 isolates contain variable copy numbers of GC-rich tandem repeats in the gI non-coding regions of their genomes. *Virus Genes*, v.13, p.263-268, 1996.
- NAKAZATO, L.; LEMOS, R.A.A.; RIET-CORREA, F. Polioencefalomalacia em bovinos nos estados de Mato Grosso do Sul e São Paulo. *Pesq. Vet. Bras.*, v.20, n.3, p.119-125, 2000.
- OLIVEIRA, M.E.; RESENDE, M.; BARROS, P.P. Studies of biological and genomic relationships between two Brazilian isolates of bovine herpesvirus 1 and 5. *Virus Rev. Res.*, v.8, p.16-28, 2003.
- OLIVEIRA, T. S.; LIMA, S.R.D. ; FURTINI, R. et al. Diagnóstico de Tuberculose Encefálica no Serviço de Defesa Sanitária de Minas Gerais. In: ENCONTRO NACIONAL DE PATOLOGIA VETERINÁRIA, 14, 2009, Águas de Lindóia. *Anais do XIV ENAPAVE*. Águas de Lindóia: Universidade de São Paulo, outubro, 2009.
- OLIVEIRA, T.S.; LIMA, S.R.D.; FURTINI, R. et al. Cerebellar abiotrophy in Nelore: First report in Zebu Cattle (*Bos taurus indicus*). *Braz. J. Vet. Pathol.*, v.4, n.3, p. 235-238, 2011.
- ORTEGA-MORA, L.M.; FERNANDEZ-GARCIA, A.; GOMEZ-BAUTISTA, M. Diagnosis of bovine neosporosis: recent advances and perspectives. *Acta Parasitol.*, v.51, n.1, p.1-14, 2006.
- PATARROYO, J.H.; VARGAS, M.I.; BICUDO, P.L. Description of lesions in cattle in a natural outbreak of *Babesia bovis* infection in Brazil. *Vet. Parasitol.*, v.11, p.301-308, 1982.
- PATRÍCIO, M.A.C. *Investigação de Neosporose em encéfalo de bovinos, pela técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR), com quadro de encefalopatia e diagnóstico negativo para raiva, no estado do Paraná, Brasil*. 2008. 105p. Dissertação (Mestrado em Patologia Veterinária) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- PAVARINI, S.P.; SONNE, L.; ANTONIASSI, N.A.B. et al. Anomalias congênitas em fetos bovinos abortados no sul do Brasil. *Pesq. Vet. Bras.*, v.28, n.3, p.149-154, 2008.
- PENNY, C.D.; HOWIE, F.; NETTLETON, P.F. et al. Upper respiratory disease and encephalitis in neonatal beef calves caused by bovine herpesvirus type 1. *Vet. Rec.*, v.151, p.89-91, 2002.
- PEDROSO, P.M.O.; COLODEL, E.M.; PESCADOR, C.A. et al. Aspectos clínicos e patológicos em bovinos afetados por raiva com especial referência ao mapeamento do antígeno rábico por imuno-histoquímica. *Pesq. Vet. Bras.*, v.29, n.11, p.899-904, 2009.
- PIATTI, R.M.; IKUNO, A.A.; CUNHA, E.S. et al. Characterization of Aujeszky's disease virus isolates from south and southeast Brazil by RFLP analysis. *Braz. J. Microbiol.*, v.32, n.2, p.144-146, 2001.
- PITCHER, D.G.; SAUNDERS, N.A.; OWEN, R.J. Rapid extraction of bacterial genomic DNA with guanidium thiocyanate. *Lett. Appl. Microbiol.*, v.8, p.151-156, 1989.
- PRODUÇÃO da Pecuária Municipal. *IBGE*: Rio de Janeiro, v.36, 2008. 55p.
- PROPHET, E.B.; MILLS, B.; ARRINGTON, J.B. et al. *Laboratory methods in histotechnology*. New York: American Registry of Pathology, 1992. 279p.
- PRUSINER, S.B. Prions. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, v.95, p.13.363-13.383, 1998.
- RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C. et al. Compostos organofosforados e carbamatos (organofosfatos). In: _____. *Clínica veterinária*. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p.1456-1459.
- RAGOZO, A.M.A.; PAULA, V.S.O.; SOUZA, S.L.P. et al. Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em soros bovinos procedentes de seis estados brasileiros. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v.12, n.1, p.33-37, 2003.
- RAMOS, A.T.; SOUZA, A.B.; NORTE, D.M. et al. Tumores em animais de produção: aspectos comparativos. *Cienc. Rural*, v.38, n.1, p.148-154, 2008.
- RECH, R.R. *Alterações no encéfalo de bovinos submetidos à vigilância das encefalopatias espongiiformes transmissíveis*. 2007. 228p. Tese (Doutorado em Patologia Veterinária) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

- RECH, R.R.; SCHILD, A.L.; DRIEMEIER, D. et al. Febre catarral maligna em bovinos no Rio Grande do Sul: epidemiologia, sinais clínicos e patologia. *Pesq. Vet. Bras.*, v.25, n.2, p.97-105, 2005.
- RECH, R.R.; RISSI, D.R.; SILVA, M.C. et al. Histomorfologia do gânglio de Gasser, da rete mirabile carotídea e da hipófise de bovinos: estudo de 199 casos. *Pesq. Vet. Bras.*, v.26, n.2, p.105-11, 2006.
- RICH, J.A.; KUNKLE, R.A., ALT, D. et al. Identification and characterization of two bovine spongiform encephalopathy cases diagnosed in the United States. *J. Vet. Diagn. Invest.*, v.19, n.2, p.142-154, 2007.
- RIET-CORREA, F.; MOOJEN, V.; ROEHE P.M. et al. Viroses confundíveis com febre aftosa: revisão bibliográfica. *Cienc. Rural*, v.26, p.323-332, 1996.
- RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.; FERNANDES, C.G. Enfermidades do sistema nervoso dos ruminantes no sul do Rio Grande do Sul. *Cienc. Rural*, v.28, n.2, p.341-348, 1998.
- RIET-CORREA, F. & MEDEIROS, R.M.T. Intoxicações por plantas em ruminantes no Brasil e no Uruguai: importância econômica, controle e riscos para a saúde pública. *Pesq. Vet. Bras.*, v.21, n.1, p. 38-42, 2001.
- RIET-CORREA, F.; RIET-CORREA, G.; SCHILD, A.L. Importância do exame clínico para o diagnóstico das enfermidades do sistema nervoso em ruminantes e eqüídeos. *Pesq. Vet. Bras.*, v.22, n.4, p.161-168, 2002.
- RIET-CORREA, G.; DUARTE, M.D.; BARBOSA, J.D. et al. Meningoencefalite e polioencefalomalacia causadas por Herpesvírus bovino-5 no estado do Pará. *Pesq. Vet. Bras.*, v.26, n.1, p.44-46, 2006.
- RISSI, D.R.; OLIVEIRA, F.N.; RECH, R.R.; et al. Epidemiologia, sinais clínicos e distribuição das lesões encefálicas em bovinos afetados por meningoencefalite por herpesvírus bovino-5. *Pesq. Vet. Bras.*, v.26, p. 123-132, 2006a.
- RISSI, D.R.; RECH, R.R.; BARROS, R.R. et al. Forma nervosa de listeriose em caprinos. *Pesq. Vet. Bras.*, v.26, n.1, p.14-20, 2006b.
- RISSI, D.R.; RECH, R.R.; FLORES, E.F. et al. Meningoencefalite por herpesvírus bovino-5. *Pesq. Vet. Bras.*, v.27, n.7, p.251-260, 2007.
- RISSI, D.R.; PIEREZAN, F.; SÁ E SILVA, M. et al. Neurological disease in cattle in southern Brazil associated with Bovine Herpesvirus infection. *J. Vet. Diagn. Invest.*, v.20, p.346-349, 2008.
- RISSI, D.R.; KOMMERS, G.D.; MARCOLONGO-PEREIRA, C. et al. Meningoencefalite por *Listeria monocytogenes* em ovinos. *Pesq. Vet. Bras.*, v.30, n.1, p.51-56, 2010.
- RODRIGUES da SILVA, A.D.C.; CAPORALE, G.M.M.; GONÇALVES, C.A. et al. Antibody response in cattle after vaccination with inactivated and attenuated rabies vaccines. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, v.42, p.95-98, 2000.
- RODRIGUES, A.; RECH, R.R.; BARROS, R.R. et al. Babesiose cerebral em bovinos: 20 casos. *Cienc. Rural*, v.35, n.1, p.121-125, 2005.
- ROELS, S.; CHARLIER, G.; LETELLIER, C.; MEYER, G. et al. Natural case of bovine herpesvirus 1 meningoencephalitis in an adult cow. *Vet. Rec.*, v.146, p.586-588, 2000.
- ROIZMAN, B.; DESROSIERS, R.C.; FLECKENSTEIN, B. et al. The family Herpesviridae: an update. *Arch. Virol.*, n.123, p.425-449, 1992.
- RÓS, C. & BELÁK, S. Studies of the genetic relationship between bovine, caprine, corvine, and reangiferine alphaherpesvirus and improved molecular methods for virus detection and identification. *J. Clin. Microbiol.*, v.37, p.1247-1253, 1999.
- RUSSELL, G.C.; STEWART, J.P.; HAIG, D.M. Malignant catarrhal fever: a review. *Vet. J.*, v.179, n.3, p.324-335, 2009.
- SALVADOR, S.C.; LEMOS, R.A.A.; RIET-CORREA, F. et al. Meningoencefalite em bovinos causada por herpesvírus bovino-5 no Mato Grosso do Sul e São Paulo. *Pesq. Vet. Bras.*, v.18, n.2, p.76-83, 1998.
- SAMBROOK, J.; FRITSCH, E.F.; MANIATS, T. *Molecular cloning: a laboratory manual*. New York: Cold Spring Harbor, 1989. 545p.

- SANCHES, A.W.D.; LANGOHR, I.M.; STIGGER, A.L. et al. Doenças do sistema nervoso central em bovinos no Sul do Brasil. *Pesq. Vet. Bras.*, v.20, n.3, p.113-118, 2000.
- SANT'ANA, F.J.F.; LEMOS, R.A.A.; NOGUEIRA, A.P.A. et al. Polioencefalomalácia em ruminantes. *Pesq. Vet. Bras.*, v.29, n.9, p.681-694, 2009.
- SANTOS, N.V.M. *Eficiência da desintoxicação de amônia em bovinos adaptados ou não com ureia dietética e submetidos a diferentes períodos de privação*. 2005. 134p. Tese (Doutorado em Clínica Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo.
- SANTOS, R.R.D.; GUIMARAES, A.M.; ROCHA, C.M.B.M. et al. Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bezerras e novilhas de rebanhos leiteiros na microrregião de Lavras, Minas Gerais. *Ciênc. Anim. Bras.*, v.10, n.1, p.271-280, 2009.
- SAUNDERS, V.F.; REDDAKLIFF, L.A.; BERG, T. et al. Multiplex PCR for the detection of *Brucella ovis*, *Actinobacillus seminis* and *Histophilus somni* in ram semen. *Aust. Vet. J.*, v.85, n.1-2, p.72-77, 2007.
- SCHAEFER, R.; ZANELLA, J.C.; MORES, N. et al. Caracterização de amostras do vírus de Aujeszky isoladas na região Sul do Brasil nos últimos vinte anos através de análise de restrição enzimática. *Braz. J. Microbiol.*, v.37, n.3, p. 390-394, 2006
- SCHEFFER, K.C.; CARRIERI, M.L.; ALBAS, A. et al. Vírus da raiva em quirópteros naturalmente infectados no Estado de São Paulo, Brasil. *Rev. Saúde Pública*, v.41, n.3, p.389-395, 2007.
- SCHERBA, G.; JIN, L.; SCHNITZLEIN, W.M. et al. Differential polymerase chain reaction for detection of wild-type and a vaccine strain of Aujeszky's disease (pseudorabies) virus. *J. Virol. Methods*, v.38, p.131-144, 1992.
- SCHILD, A.L.; RUAS, J.L.; FARIAS, N.A. et al. Aspectos epidemiológicos de um surto de babesiose cerebral em bovinos em zona livre de carrapato. *Ciênc. Rural*, v.38, n.9, p.2646-2649, 2008.
- SCHNEIDER, M.C.; ALMEIDA, G.A.; SOUZA, L.M. et al. Controle da raiva no Brasil de 1980 a 1990. *Rev. Saúde Pública*, v.30, n.2, p.196-203, 1996.
- SCHWAB, J.P.; EDELWEISS, M.I.A. & GRAÇA D.L. Identificação de *Listeria monocytogenes* pela técnica de imunohistoquímica em tecido nervoso central de ruminantes. *Rev. Port. Ciênc. Vet.*, v.99, p.65-66, 2004.
- SEBALD, M.; PETIT, J.C. *Méthodes de laboratoire de bactéries anaérobies et leur identification*. Paris: Institut Pasteur. Deuxième édition augmentée, 1997. 307p.
- SILVA, J.A.; MOREIRA, E.C.; HADDAD, J.P.A. et al. Distribuição temporal e espacial da raiva bovina em Minas Gerais, 1976 a 1997. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.53, n.3, p.263-272, 2001.
- SILVA, L.H.Q.; BISSOTO, C.E.; DELBEM, Á.C.B. et al. Epidemiologia da raiva canina na região de Araçatuba, Noroeste do Estado de São Paulo - Brasil. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, v.37, n.2, p.139-142, 2004.
- SILVA, A.D.; SORTICA, V.A.; BRAGA, A.C. et al. Caracterização antigênica e molecular de oito amostras do vírus da doença de Aujeszky isoladas no estado do Rio Grande do Sul em 2003. *Pesq. Vet. Bras.*, v.25, n.1, p.21-24, 2005.
- SILVA, T.M.A.; OLIVEIRA, R.G.; MOL, J.P.S. et al. Etiologic diagnosis of bovine infectious abortion by PCR. *Ciênc. Rural*, v.39, n.9, p.2563-2570, 2009.
- SMITH, B.P. Malignant catarrhal fever. In: *Ibid. Large Animal Internal Medicine*. St. Louis: Mosby, 2002. p. 714-716.
- SOUZA, A.M. *Distribuição de esporos de Clostridium botulinum no solo em torno de cadáveres decompostos de bovinos vítimas de botulismo em pastagens no sul de Goiás*. 1985. 56p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva) – Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- SOUZA, C.M.; SOBESTIANSKY, J.; MATOS, M.P.C. et al. Prevalência da infecção pelo vírus da doença de Aujeszky em matrizes de sistemas de produção que abastecem o mercado

- consumidor de Goiânia. *Ciênc. Anim. Bras.*, v.3, n.2, p.53-56, 2002.
- SPIPKI, F. R.; FRANCO, A.C.; TEIXEIRA, M.B. et al. Bovine herpesvirus type 5 (BHV-5) in a calf with rabies. *Pesq. Vet. Bras.*, v.23, n.1, p.1-4, 2003.
- STAHL, N. & PRUSINER, S.B. Prion and prion proteins. *Faseb J.*, v.5, p.2799-2807, 1991.
- SUMMERS, B.A.; CUMMINGS, J.F.; LAHUNTA, A. *Veterinary Neuropathology*. St. Louis: Mosby, 1995. 527p.
- TOLEDO, H.H.B., INOMATA, O.N.K., KUSSUMI, T. A. *Manual de Resíduos de Pesticidas em Alimentos*. Método multiresíduo para análise de resíduos de pesticidas. São Paulo: GARP, 1998. p.80-114.
- TOMPOROSKI, A.; ALBERTON, G.C.; TOMPOROSKI, A. Prevalência da doença de Aujeszky no estado do Paraná no período de 2000-2009. *Arch. Vet. Sci.*, v.15, n.4, p.183-189, 2010.
- TORRES, S. & QUEIROZ LIMA, E. A raiva e os morcegos hematófagos infectados naturalmente. *Rev. Dep. Nac. Prod. Anim.*, v.3, n.1-6, p.165-174, 1935.
- TREVITT, C.R. & SINGH, P.N. Variant Creutzfeldt-Jacob disease: pathology, epidemiology and public health implications. *Am. J. Clin. Nutr.*, s.78, p.651-656, 2003.
- VAN ENGELENBURG, F.A.C.; MAES, R.K.; VAN OIRSCHOT, J.T. et al. Development of a rapid and sensitive polymerase chain reaction of bovine herpesvirus type 1 in bovine semen. *J. Clin. Microbiol.*, v. 31, p.3129-3135, 1993.
- Van KEULEN, L.J.M.; BOSSERS, A.; van ZIJDERVELD, F. TSE pathogenesis in cattle and sheep. *Vet. Res.*, v.39, 12p., 2008.
- VIOTT, A.M.; RAMOS, A.T.; INKELMANN, M.A. et al. Aspectos histoquímicos e imunoistoquímicos nos neoplasmas do sistema nervoso periférico. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.59, n.5, p.1145-1153, 2007.
- WELLS, G.A.H.; SCOTT, A.C.; JOHNSON, C.T. et al. A novel progressive spongiform encephalopathy in cattle. *Vet. Rec.*, v.121, p.419-420, 1987.
- YAMADA, M.; NAKAGAWA, M.; YAMAMOTO, M. et al. Histopathological and immunohistochemical studies of intracranial nervous-system tumours in four cattle. *J. Comp. Pathol.*, v.119, n.1, p.75-82, 1998.

7. ANEXOS

ANEXO I



INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA – IMA
GERÊNCIA DA REDE LABORATORIAL – GRL
LABORATÓRIO DE SAÚDE ANIMAL – LSA
 Av. Contorno, 1707 A – Floresta – Belo Horizonte – MG CEP 30110-005
 Fone: (31) 3212-1953/3213-8209 – Fax: (31) 3213-4263 – e-mail: lsa@ima.mg.gov.br

Laboratório de Diagnóstico de Doenças Neurológicas	FORMULÁRIO ÚNICO DE REQUISIÇÃO DE EXAMES PARA SÍNDROME NEUROLÓGICA																											
NÚMERO FORM-IN	Nº EXAME RAIVA	UF	RESULTADO RAIVA	Nº EXAME EET/HISTOPATOLOGIA																								
Responsável pela colheita: _____ Registro Profissional: _____ Responsável pelo envio: _____ Registro Profissional: _____ Endereço: _____ Tel. Fixo () _____ Município/UF: _____ CEP: _____ Fax: () _____ E-mail: _____																												
Proprietário: _____ Código: _____ Propriedade: _____ Tipo de exploração: corte <input type="checkbox"/> leite <input type="checkbox"/> mista <input type="checkbox"/> outro <input type="checkbox"/> Localização e Município: _____ UF: _____ Coordenadas/Quadrantes: _____ Telefone: () _____ Fax: () _____ E-mail: _____																												
Espécie: Bovídea <input type="checkbox"/> (para bovino importado citar o país de origem: _____) Equídea <input type="checkbox"/> Ovina <input type="checkbox"/> Caprina <input type="checkbox"/> Canina <input type="checkbox"/> Felina <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> MH <input type="checkbox"/> MNH <input type="checkbox"/> Animais Silvestres <input type="checkbox"/> (citar a espécie: _____) Local de origem da amostra (para ruminantes): Estabelecimento de criação <input type="checkbox"/> Hospital Veterinário <input type="checkbox"/> Feiras/aglomeração de animais <input type="checkbox"/> Outros <input type="checkbox"/> (especificar: _____) Identificação do animal: _____ Idade: _____ meses Raça: _____ Sexo: M <input type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/> Método para estipular idade (ruminantes): Registro genealógico ou na fazenda <input type="checkbox"/> Cronologia dentária <input type="checkbox"/> Outro especificar: _____ O animal ingeriu ração em alguma fase da vida? Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Quando? _____ Havia outras espécies afetadas? Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Quais? _____ Número de animais: no rebanho (_____); doentes (_____); mortos (_____) Provável origem da doença: _____ O animal morto já foi vacinado para: Raiva <input type="checkbox"/> Clostridiose <input type="checkbox"/> Cinomose <input type="checkbox"/> Leptospirose <input type="checkbox"/> Botulismo <input type="checkbox"/> Outras _____ Quando? _____ Existem animais sugados por morcegos? Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Não sabe <input type="checkbox"/> Os animais foram pulverizados com carrapaticidas, vermifugados ou receberam outro tipo de tratamento? (citar o tratamento) Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Não sabe <input type="checkbox"/> Nome comercial e/ou base: _____ Existe alguma indústria, fábrica, mina ou curtume perto da propriedade? Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Não sabe <input type="checkbox"/>																												
Origem da notificação: Proprietário <input type="checkbox"/> Terceiro <input type="checkbox"/> Vigilância <input type="checkbox"/> DATAS da notificação: ____/____/____; 1ª visita: ____/____/____; provável início da doença: ____/____/____; Interdição da propriedade: ____/____/____ e isolamento dos animais: ____/____/____.																												
Tipos de sinais clínicos apresentados: <table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td><input type="checkbox"/> Morte súbita</td> <td><input type="checkbox"/> Movimento de pedalagem</td> <td><input type="checkbox"/> Paralisia flácida dos membros posteriores</td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/> Depressão</td> <td><input type="checkbox"/> Convulsão</td> <td><input type="checkbox"/> Paralisia flácida dos membros anteriores</td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/> Ataxia</td> <td><input type="checkbox"/> Dismetria</td> <td><input type="checkbox"/> Alteração comportamental</td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/> Com paralisia, mas alerta</td> <td><input type="checkbox"/> Tremores</td> <td><input type="checkbox"/> Fotofobia/aerofobia</td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/> Cegueira</td> <td><input type="checkbox"/> Nistagmo</td> <td><input type="checkbox"/> Sialorréia</td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/> Incoordenação</td> <td><input type="checkbox"/> Tenesmo</td> <td><input type="checkbox"/> Midriase</td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/> Tetania</td> <td><input type="checkbox"/> Apetite anômalo</td> <td><input type="checkbox"/> Agressividade</td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/> Priapismo</td> <td><input type="checkbox"/> Espasmos musculares</td> <td><input type="checkbox"/> Opistótomo</td> </tr> </table> Duração dos sinais clínicos (desde o início até a morte): _____ horas Sacrificado: Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Havia animais que se recuperaram dos sinais clínicos? Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Que percentual? _____% Houve contato direto de pessoas com os animais suspeitos? Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/>					<input type="checkbox"/> Morte súbita	<input type="checkbox"/> Movimento de pedalagem	<input type="checkbox"/> Paralisia flácida dos membros posteriores	<input type="checkbox"/> Depressão	<input type="checkbox"/> Convulsão	<input type="checkbox"/> Paralisia flácida dos membros anteriores	<input type="checkbox"/> Ataxia	<input type="checkbox"/> Dismetria	<input type="checkbox"/> Alteração comportamental	<input type="checkbox"/> Com paralisia, mas alerta	<input type="checkbox"/> Tremores	<input type="checkbox"/> Fotofobia/aerofobia	<input type="checkbox"/> Cegueira	<input type="checkbox"/> Nistagmo	<input type="checkbox"/> Sialorréia	<input type="checkbox"/> Incoordenação	<input type="checkbox"/> Tenesmo	<input type="checkbox"/> Midriase	<input type="checkbox"/> Tetania	<input type="checkbox"/> Apetite anômalo	<input type="checkbox"/> Agressividade	<input type="checkbox"/> Priapismo	<input type="checkbox"/> Espasmos musculares	<input type="checkbox"/> Opistótomo
<input type="checkbox"/> Morte súbita	<input type="checkbox"/> Movimento de pedalagem	<input type="checkbox"/> Paralisia flácida dos membros posteriores																										
<input type="checkbox"/> Depressão	<input type="checkbox"/> Convulsão	<input type="checkbox"/> Paralisia flácida dos membros anteriores																										
<input type="checkbox"/> Ataxia	<input type="checkbox"/> Dismetria	<input type="checkbox"/> Alteração comportamental																										
<input type="checkbox"/> Com paralisia, mas alerta	<input type="checkbox"/> Tremores	<input type="checkbox"/> Fotofobia/aerofobia																										
<input type="checkbox"/> Cegueira	<input type="checkbox"/> Nistagmo	<input type="checkbox"/> Sialorréia																										
<input type="checkbox"/> Incoordenação	<input type="checkbox"/> Tenesmo	<input type="checkbox"/> Midriase																										
<input type="checkbox"/> Tetania	<input type="checkbox"/> Apetite anômalo	<input type="checkbox"/> Agressividade																										
<input type="checkbox"/> Priapismo	<input type="checkbox"/> Espasmos musculares	<input type="checkbox"/> Opistótomo																										
Dia e hora da colheita da(s) amostra(s): ____/____/____ às ____h ____min Data do envio para o Laboratório: ____/____/____ Tipo de amostra encaminhada: encéfalo <input type="checkbox"/> medula <input type="checkbox"/> cerebelo <input type="checkbox"/> bulbo <input type="checkbox"/> tronco encefálico <input type="checkbox"/> outras <input type="checkbox"/> : _____ Dia e hora provável da morte: ____/____/____ às ____h ____min Tempo decorrido entre a morte e a colheita do material: _____ horas. Tempo decorrido entre a morte e a fixação do material: _____ horas. Material conservado em: _____																												
Observações (utilizar o verso se necessário): _____ _____																												
Local/Data			Assinatura																									

ANEXO II

Resultado da raiva bovina na defesa sanitária de Minas Gerais de 2003 a 2010, segundo a raça.

RAÇA	NEGATIVOS	POSITIVOS	TOTAL
ABERDEEN ANGUS	4	1	5
BRAHMAN	15	1	16
CANCHIM	4	7	11
CARACU	2	4	6
GIR	43	15	58
GIROLANDA	269	245	514
GUZERÁ	22	3	25
HOLANDES	248	140	388
INDUBRASIL	0	2	2
JERSEY	28	10	38
LIMOUSIN	3	6	9
MESTIÇOS	949	898	1847
NELORE	434	92	526
PARDO-SUIÇO	7	2	9
RED ANGUS	19	0	19
RED NORTE	0	2	2
SANTA GERTRUDES	0	1	1
SANTA ROSÁLIA	1	2	3
SENEPOL	2	1	3
SIMBRASIL	0	1	1
SIMENTAL	23	2	25
SINDI	1	0	1
TABAPUÃ	11	2	13