

Encefalopatia Espongiforme Bovina: Transmissão da doença, os materiais de risco específico e envio de material ao laboratório em caso de suspeita de EEB

LUCAS JOSÉ BERETTA¹
LARYSSA FREITAS RIBEIRO²

RESUMO

A Encefalopatia Espongiforme Bovina (EEP) também conhecida do Inglês como *Bovine Spongiform Encephalopathy* (BSE) é uma doença degenerativa fatal e transmissível do sistema nervoso central (SNC) de bovinos com longo período de incubação. Diagnosticada pela primeira vez em 1986, na Europa, se enquadra nas encefalopatias espongiformes transmissíveis que inclui também enfermidades como *Scrapie* em ovelhas e cabras e a doença crônica do cervo e do alce, além disso causa a doença de *Creutzfeldt-Jakob* (DCJ) em humanos, relatados em jovens com idade inferior a 30 anos. Em bovinos, é provocada pela proteína denominada de príon, ao qual existem duas formas, a clássica e a atípica, sendo importante as diferenciar devido as diferentes características epidemiológicas entre elas. O agente da EEB possui três tipificações, conforme seu peso molecular, a qual pode ser visualizada pela técnica de *Western Blotting*, sendo: na clássica, príon de peso molecular considerado padrão, na atípica, príon de peso molecular alto, causador da EEB atípica tipo H (*high*) e príon de peso molecular baixo, causador da EEB atípica tipo L (*low*). A EEB clássica tem como sua principal via de transmissão a oral, ou seja, por meio de alimentos contendo príons contaminantes que costuma acometer animais de dois a sete anos de idade. Um exemplo da infecção ocorre pela ingestão da farinha de carne e ossos e em alguns subprodutos que contenha resíduos de ruminantes. Na EEB atípica, o animal contrai a doença espontaneamente, da proteína normal com o passar da idade, sem estar relacionado à ingestão de alimentos contaminados pelo príon, sendo que, nessa forma, o período de incubação é maior e ocorre em bovinos com sete anos ou mais.

Palavras-chave: ruminantes, EEB clássica, príons, frigorífico, abate de animais

ABSTRACT

Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE) also known in English as Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE) is a fatal and transmissible degenerative disease of the central nervous system (CNS) of cattle with a long incubation period. Diagnosed for the first time in 1986, in Europe, it fits into the transmissible spongiform encephalopathies that also includes diseases such as Scrapie in sheep and goats and the chronic disease of deer and elk, in addition to causing Creutzfeldt-Jakob disease (CJD) in humans. , reported in young people under 30 years of age. In cattle, it is caused by the protein called prion, to which there are two forms, the classic and the atypical, and it is important to differentiate them due to the different

¹ Medicina Veterinária Universidade de Marília (UNIMAR). Pós-Graduação em Gestão da Qualidade, Higiene e Tecnologia de Produtos de Origem Animal / Realizada pelo IFOPE

² Professora orientadora, graduada em Medicina Veterinária, mestre e doutora em Medicina Veterinária (Universidade Estadual Paulista - UNESP/Jaboticabal-SP). Professora de Medicina Veterinária (Centro Universitário Mário Palmério - UNIFUCAMP/Monte Carmelo-MG) (laryssaribeiro84@gmail.com)

epidemiological characteristics between them. The BSE agent has three typifications, according to its molecular weight, which can be visualized by the Western Blotting technique, being: in the classical, a standard molecular weight prion, in the atypical, a high molecular weight prion, causing atypical BSE type H (high) and low molecular weight prion, causing atypical L-type BSE (low). The classic BSE has as its main route of transmission the oral one, that is, through food containing contaminating prions that usually affect animals from two to seven years of age. An example of infection occurs through the ingestion of meat and bone meal and some by-products that contain ruminant residues. In atypical BSE, the animal contracts the disease spontaneously, from the normal protein with age, without being related to the ingestion of food contaminated by the prion, and, in this form, the incubation period is longer and occurs in cattle with seven years of age. or more.

Keywords: ruminants, classical BSE, prions, slaughterhouse, animal slaughter

1 INTRODUÇÃO

A Encefalopatia Espongiforme Bovina (EEP) também conhecida do Inglês como *Bovine Spongiform Encephalopathy* (BSE) é uma doença degenerativa fatal e transmissível do sistema nervoso central (SNC) de bovinos com longo período de incubação (em média cinco anos). Diagnosticada pela primeira vez em 1986 na Europa.

A doença é provocada por um tipo de agente infeccioso, chamado de príon, esse príon é o único agente infeccioso conhecido que não contém genes e, por isso, não pode se reproduzir como um vírus ou uma bactéria no qual é uma partícula de proteína em versão modificada. A versão normal do príon aparece em abundância na superfície dos neurônios, desde répteis aos bovinos, e algumas pesquisas realizadas em camundongos indicam que esse tem por função um bom funcionamento de cérebro, enquanto que em sua versão modificada é causadora da “doença da vaca louca”, devido ao acúmulo que provoca uma gradual deterioração no tecido do cérebro dos bovinos. Sendo que visualizado ao microscópio, o cérebro do animal doente apresenta lesões características que lhe dão o aspecto de esponja, onde se explica o nome.

Tal doença é transmitida por meio de consumo de subprodutos de animais como farinha de carne de ossos de bovinos ou ovinos infectados. Por este motivo, é proibido alimentar ruminante (ovinos, caprinos e bovinos) com produtos de origem animal, destacando-se a importância de não utilizar a cama de frango e dejetos de suínos como alimento para ruminantes, pois na ração destes animais se utiliza proteína de origem animal, e o resto dessas rações, juntamente com as partículas não digeridas que saem nas fezes, podem veicular o agente EEP, caso subprodutos utilizados para produção destes alimentos entejam

contaminados como seria o caso das carcaças para produção de alimento tanto para animais como para humanos.

Essa proibição na alimentação de ruminantes, conhecida mundialmente como “*feed ban*”, é calcada em recomendação da Organização Mundial de Saúde Animal (*World Organisation for Animal Health, WOAHA*, fundada como OIE) e representa um dos principais fatores avaliados para a certificação sanitária de produtos bovinos a serem exportados, considerando o risco de EEB.

A EEP enquadra – se dentro das encefalopatias espongiformes transmissíveis (EET), que incluem também enfermidades como *Scrapie* (que afeta ovelhas e cabras) e a doença crônica do cervo e do alce. Além disso, existe um grupo de EET que afeta o homem chamada de *Creutzfeldt-Jakob* (CJD).

Devido a um grande impacto econômico e por ser uma zoonose, as autoridades sanitárias implantaram medidas para proteger a saúde humana e animal, sendo elas a proibição do consumo de carnes e subprodutos de animais doentes a remoção dos materiais de risco específico (MER) das carcaças de bovinos, vigilância epidemiológica e controle de subprodutos e importação de animais vivos.

Segundo GOTEIPE (2006) e MAPA (2008), fica improvável a transmissão do agente através de sêmen, óvulos e de leite, da mesma forma em que não se tem a transmissão na forma horizontal (de um animal e outro).

Devido a algumas características da doença, como por exemplo longo período de incubação, levaram – se mais de duas décadas para que ela fosse finalmente controlada, através do controle de movimentação e proibição no abate de bovinos importados de países de risco para EEB, fazendo inspeções e retirada de materiais de risco específicos para EEB. Somando–se a estas medidas e visando monitorar a obediência à proibição do uso de proteínas de origem animal na alimentação de ruminantes.

Apesar da EEB estar controlada, novas formas, chamadas de EEB atípicas estão sendo diagnosticadas no mundo. Atualmente, o desafio é caracterizar essas formas atípicas, determinar se as medidas de controle da EEB clássica são efetivas para ambas as formas e mensurar seus possíveis impactos na saúde pública.

Sabendo da importância da doença em termos de saúde pública e também econômicas, o objetivo do presente trabalho foi de fazer uma revisão bibliográfica sobre Encefalopatia Espongiforme Bovina, sua transmissão da doença, os materiais de risco específico e envio de material ao laboratório em caso de suspeita da doença.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Encefalopatia Espongiforme Bovina (EEB)

Comumente chamada de “doença da vaca louca”, a EEB é uma enfermidade degenerativa fatal e transmissível do sistema nervoso central dos bovinos, com longo período de incubação (em média de cinco anos). Caracterizada pela presença de lesões degenerativas no encéfalo e pela quase total ausência de reações inflamatórias e imunológicas. Não há predisposição por raças ou sexo, porém, acomete principalmente bovinos criados sob sistema de fornecimento de rações ou concentrados, como suplementação nutricional, devido ao risco de contaminação desses alimentos com subprodutos eventualmente contaminados pelo agente da EEB (GOTELIPE, 2006).

Experimentalmente, a doença foi transmitida, por exposição parenteral ou oral em diversos mamíferos, como: camundongos, ovinos, caprinos, primatas não humanos e mustelídeos. Há relatos de EEB em felinos doméstico e em felinos e em ruminantes de zoológico, devido ao fornecimento de alimentos contaminados pelo príon infeccioso. Entretanto, não há relatos da EEB em cães, equinos e aves. Já em suínos, a exposição oral não replicou a doença, diferentemente a exposição intracerebral (SENA, 2014).

A partir de 2003, então, a Encefalopatia Espongiforme dos bovinos passou a ser subdividida em dois grupos, a EEB clássica e atípica (SANCHES, 2014). Sendo diferenciadas de acordo com as características epidemiológicas entre elas, conforme seu peso molecular, a qual pode ser visualizada pela técnica de *Western Blotting*:

Na clássica, príon de peso molecular superior, em relação à proteína alterada encontrada na EEB atípica. Na proteína encontrada na forma atípica pode apresentar-se com pesos moleculares distintos como na EEB do tipo H (*high*) tem um peso molecular maior, enquanto que na EEB do tipo L (*low*), tem seu peso molecular baixo (POLAK; ZDMUD, 2012).

Ainda, uma terceira forma atípica foi identificada em 2016, e recebeu a denominação de SW em referência às características clínicas observadas nos animais infectados experimentalmente, com curto período de incubação e perda de peso. Neste caso, S refere-se *short incubation period* (curto período de incubação) e W refere-se à *weight loss* (perda de peso), porém nunca observada em casos à campo (LAURINDO; FILHO 2017).

Diferenças no padrão de deposição no Sistema Nervoso Central (SNC) e resistência à digestão pela proteína K podem ser observadas entre a EEB clássica e atípica. Na forma clássica existe maior deposição de proteína alterada podendo ser detectada na região do óbex,

enquanto que nas formas H e L são encontradas em maior quantidade no tronco encefálico (TE) e cerebelo, sendo que nas formas H e L são mais sensíveis à degradação pela proteinase K quanto comparadas às proteínas da EEB clássica (POLAK *et al.*, 2008).

A EEB clássica tem como sua principal via de transmissão a oral, por meio de alimentos contendo príons contaminantes que costuma acometer animais de dois a sete anos de idade. Um exemplo dessa contaminação é a farinha de carne e ossos e em alguns subprodutos que contenha resíduos de ruminantes (BITENCOURT; RIBEIRO, 2022).

Após a ingestão do alimento contaminado, o agente se dissemina por rota neural até o SNC. Experimentos indicam difusão simultânea via nervo vago e nervos esplênicos à medula espinhal, em direção ao cérebro (SENA, 2014).

Vale ressaltar que o principal perigo segundo DIEHL (2010) é que não existe um tratamento específico para a doença, sendo mortal tanto para os bovinos quanto para os seres humanos. Além do mais, não existe qualquer exame que possa diagnosticá-la com o animal vivo, sendo que os tecidos de maior risco, denominados “materiais específicos de risco” (MER), são o cérebro, a medula espinhal, os olhos, as amídalas, o baço e o intestino, sendo um problema, pois os sintomas da doença podem demorar em até dez anos para manifestar-se em sua plenitude e o período de incubação médio é de cinco anos. As aves e os suínos não correm risco de desenvolver EEB, por isso, é permitido alimentá-los com produtos contendo proteínas de origem animal.

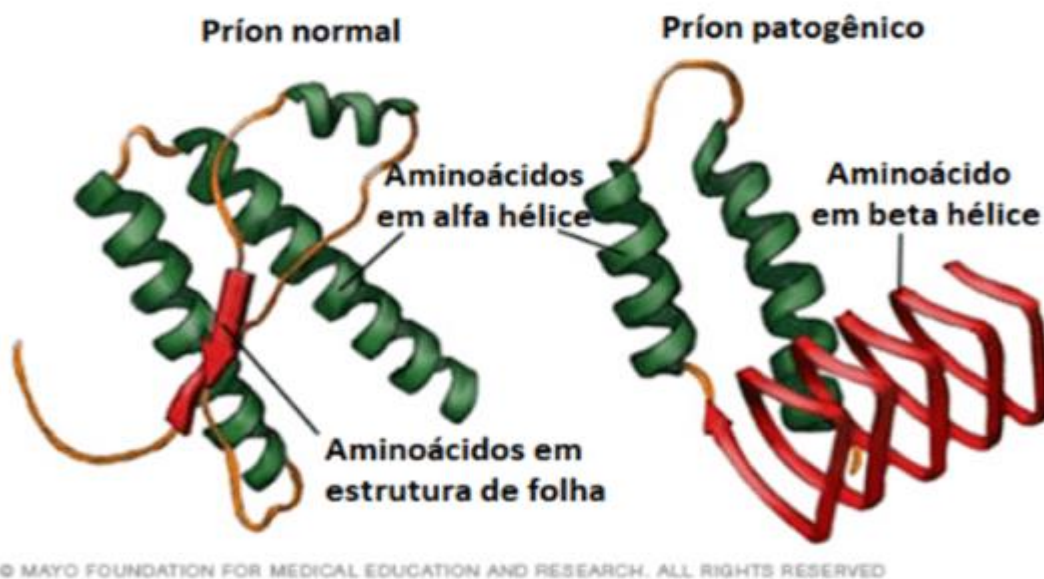
Além disso, é importante lembrar que seu período de incubação varia muito. E, de acordo com o Departamento de Saúde e Insumos Agropecuários (2020) é de dois anos podendo chegar até dez anos, porém com média de cinco anos.

Na EEB atípica, por exemplo, o animal contrai a doença espontaneamente, ou seja, adquire a proteína normal com o passar da idade, sem estar relacionado à ingestão de alimentos contaminados pelo príon. Nessa forma, o período de incubação é maior e ocorre em bovinos com sete anos ou mais (HAGA, 2021).

Outro fator relevante, é que a doença trata-se de um agente transmissível não convencional, denominado príon (PrP^{sc}) que é uma proteína infecciosa decorrente da modificação pós-translacional de uma proteína normal. As células possuem um gene denominado PRNP, que, ao ser ativado, leva a expressão da proteína príon celular PrP^C, uma glicoproteína da superfície celular composta por 253 aminoácidos. A sua expressão ocorre geralmente em células neuronais em sua forma comum e este produto gênico possui essencial participação na diferenciação neural e neuroproteção. Entretanto, o envelhecimento

incorreto desta proteína leva a geração da proteína patogênica PrP^{Sc} (*pathogenic scrapie prion protein*) (Figura 1). Esta alteração leva a uma diminuição de estruturas alfa hélice e um aumento de folhas beta na estrutura terciária. Este agente infeccioso então se replica através da interação proteína-proteína com outras PrP^C, também induzindo estas proteínas a se enovelarem de maneira incorreta (MACIEL, 2017).

Figura 1: Conversão da proteína PrP^C em PrP^{Sc} - A esquerda, a proteína PrP^C em sua conformação normal e, à direita sua conformação patogênica com mais folhas beta em sua estrutura terciária.



Fonte: Biotecnologia, Biotecnologia da Saúde (vermelha), Ciência.

O acúmulo de príons no sistema nervoso central causa doenças neurodegenerativas por formação de agregados extracelulares, as placas amilóides, que rompem as estruturas do tecido normal. Além disso, a perda da função da PrP^C ajuda no processo neurodegenerativo. As doenças priônicas, também conhecidas como encefalopatias espongiformes transmissíveis (TSEs), não possuem cura e são fatais (MACIEL, 2017).

Ainda, o agente da EEB caracterizado por ter resistência à inativação por processos físicos e químicos, incluindo congelamento, irradiação ultravioleta, enterramento, métodos comuns de desinfecção química ou por calor e degradação por enzimas proteolíticas. Esse agente pode manter seu poder de infecção, mesmo depois da exposição ao calor seco, a 160°C, por vinte e quatro horas. Os desinfetantes comuns (etanol, formaldeído, iodóforos e fenólicos) também não são efetivos. Os produtos obtidos de animais infectados são a principal

fonte de material infectante, especialmente no SNC. Por ser uma proteína, é necessário alterar a estabilidade do príon para a redução de infectividade (SENA, 2014).

E, segundo GOTEIPE (2006) os resíduos de animais que serão incorporados a rações devem ser oriundos de estabelecimentos devidamente autorizados por órgão oficial competente. O tratamento térmico, visando a esterilização, que deve obedecer às seguintes condições: processamento em atmosfera saturada de vapor, em temperatura mínima de 133°C, por um período de no mínimo de vinte minutos e a uma pressão absoluta de três BAR, na massa do produto em processamento. Este processamento é recomendado pela OIE e conhecido como esterilização, sendo capaz de reduzir a infectividade na farinha de carne e ossos em até mil vezes, se o agente da EEB estiver presente nesse subproduto.

Outro aspecto fundamental é que suas características em bovinos ainda são incompreendidas, as quais são encontradas em animais assintomáticos durante a vigilância rotineira, em animais mortos ou em abates de emergência. Quando inoculados, experimentalmente com o príon tipo H e tipo L, não se observam diferenças significativas para distinção clínica da forma clássica (SENA, 2014).

Na forma tipo L, exames de imunohistoquímica (IHQ) revelaram a presença de placas amiloidóticas, semelhantes a observadas em outras EET em seres humanos, como na doença de *Creutzfeldt-Jacob* que seria chamada de uma nova variante que até então nunca havia sido reportada em animais (LAURINDO; FILHO, 2017).

Segundo DALL' ALBA *et al.* (2004), e NITRINI (2001), uma característica marcante dessa doença em humanos é o início de manifestações psiquiátricas em que predominam depressão, ansiedade e isolamento, sendo o tempo de sobrevivência é de somente cinco meses, e 80% dos pacientes com essa nova variante de *Creutzfeldt-Jacob* morrem em um ano.

A descoberta da transmissão da doença para humanos, entretanto, foi resultado de uma controvérsia entre pesquisas que estavam sendo feitas para compreender o resultado dessa transmissão de bovinos para humanos. De qualquer maneira, os debates sobre a doença ganharam proporção mundial, afetando o mercado inglês de exportação de carne, e também em diversos outros países, como o Brasil, que nesse processo, começaria a ganhar espaço na exportação de carne para a Europa, passando a ocupar esse espaço econômico, junto de outros países expoentes em exportação agropecuária, como a Argentina (CAPOZZI ; LARA, 2020).

2.1.2 Sinais Clínicos

A Encefalopatia Espongiforme Bovina pode ser subaguda a crônica. Sendo assim, os bovinos infectados na forma clássica e que possuem sintomas, tem sinais neurológicos progressivos, como quadros nervosos, com alterações comportamentais, descoordenação agressividade e irritabilidade, tremores, dificuldade de levantar e decúbito (SANTOS; FUKUDA, 2014).

Além disso, ainda ocorre salivação, bruxismo, tremores musculares, ataxia, franzir dos lábios e hiperestesia, depressão, hipersensibilidade ao som e ao toque, espasmos, dificuldades posturais, de manter-se em pé ou levantar-se, perda de peso e redução na produção de leite (BITENCOURT; RIBEIRO, 2022).

Ainda, o animal pode ficar andando em círculos, movimentos oculares assimétricos e bradicardia (DEPARTAMENTO DE SAÚDE ANIMAL E INSUMOS AGRICOLAS; 2020). Desse modo como não há tratamento. Os animais afetados vêm a óbito com a progressão da doença (OIE, 2018). Portanto, sabendo-se que o período da doença é longo, o quadro clínico da doença, quando ocorre, é constatado nos bovinos a partir da fase adulta (BITENCOURT; RIBEIRO, 2022).

Segundo o DEPARTAMENTO DE SAÚDE ANIMAL E INSUMOS AGRICOLAS (2020), e BITENCOURT e RIBEIRO (2022), na forma atípica em bovinos, normalmente é assintomática, associada a bovinos caídos e/ou submetidos ao abate de emergência. Maioria dos casos descritos em animais maiores de 8 anos.

Lesões *post-mortem* não há lesões macroscópicas da doença exceto sinais de perda de musculatura em fases mais avançadas, lesões histopatológicas são restritas ao SNC e lesões simétricas, em geral, bilaterais com alterações espongiformes não inflamatórias (DEPARTAMENTO DE SAÚDE ANIMAL E INSUMOS PECUARIOS, 2020).

E em virtude da resistência as proteases, o príon infeccioso se acumula no SNC, levando a morte do tecido gerando os sinais clínico. Assim, a doença progride, matando o animal em um período de três semanas a seis meses. Segundo BUELER (1992) em BITENCOURT e RIBEIRO, (2022); a doença leva a degenerações progressivas, visto que o príon vai se agregando em placas amiloides, gerando a vacuolização do tecido nervoso e causando o aspecto esponjoso observados nos métodos de diagnóstico por histologia.

Em estudo posterior realizado por FONSECA (2015), notou-se que os animais desenvolviam dois fenótipos clínicos diferentes: uma na forma nervosa, e outra forma oposta caracterizada por ser mais apática. Concluiu -se, que inicialmente os animais apresentavam a forma nervosa da doença, caracterizada pela reação exagerada a estímulos externos, que trazia

certa similaridade com sintomas da EEB clássica. Estes sinais clínicos progrediam para uma forma mais apática, sendo a dificuldade para se levantar a principal característica nas duas formas atípicas. O período de incubação da doença foi entre oito e onze meses após a inoculação e a forma apática surgiu somente aos vinte e um meses de inoculação.

Já em humanos, é considerada uma doença rara sendo denominada de CJD, relatados em maior escala em jovens com idade inferior a 30 anos. Nestes, são apresentados quadros de alterações comportamentais, sinais comportamentais comprometidos, cansaço, perda de peso e de visão, além de ter comprometimento cognitivo e motor, com sinais de ataxia, e tremores, além de demência progressiva e problemas de memória, evoluindo a óbito (BITENCOURT; RIBEIRO, 2022).

2.1.3 Diagnóstico

Conforme a OIE (2018) e SENA *et al.*, (2014), é destacado que ainda não tem método de diagnóstico para identificar a EEB em animais vivos. As provas morfológicas são feitas em tecidos do SNC de bovino por imunologia, que buscam a forma e o acúmulo de príons normais (PrPc).

Para esses métodos, é empregada à parte anatômica identificada como óbex. Este se destaca na região da medula oblonga, apenas na necropsia dos animais. Já os métodos imunohistoquímicos, como as técnicas de Imuno-Histoquímica (IHQ) e *Western Blot (WB)*, são usados como testes de confirmação da doença, além do uso do ELISA, usado como teste rápido para triagem, mas que precisa de exame confirmatório (BITENCOURT; RIBEIRO, 2022).

Exame de Imuno-Histoquímica permite identificar o PrPsc, devido a ligação de anti proteína priônica que se ligam apenas a um sítio proteico. O tecido é previamente tratado com proteases, que destroem a proteína priônica normal. Como os príons infecciosos são resistentes às proteases, os anticorpos que vierem a ser marcados indicam a presença de proteína infecciosa.

Por esse método pode-se detectar pequenas quantidades de príons, e assim é indicado para animais em fase pré-clínica, além de ser possível examinar tecidos autolisados ou fixados em formol (BITENCOURT; RIBEIRO, 2022).

A técnica de *Western Blot (WB)*, segundo SENA *et al.* (2014), e BITENCOURT e RIBEIRO (2022), assim como na Imuno-Histoquímica, são métodos de eleição para diagnóstico definitivo, o qual realiza a precipitação do príon infeccioso com a utilização de

proteases, ácido fosfotúngstico (ATP) ou outros produtos químicos. A PrPc será digerida, enquanto a PrPsc será digerido parcialmente, podendo ser visualizada na eletroforese, que é método sensível e rápido. Esse método ainda permite a tipificação do príon, conforme o seu peso molecular.

Existe, ainda, a diferenciação de formas da EEB atípicas, que ganharam a designação de L e H baseando-se em características moleculares observadas no teste de *Western Blot* (BITENCOUT; RIBEIRO, 2022).

No teste de Elisa são apresentadas as macromoléculas do complexo antígeno-anticorpo, e, para a EEB, é utilizado um anticorpo anti-príon (SENA *et al.*, 2014).

No resultado em que se verifica a presença da doença, podem-se observar no teste histológico alterações neurodegenerativas determinada por vacúolos de aproximadamente 30 a 40 µm de diâmetro que é o que caracteriza a doença com aspecto espongiforme (BITERCOURT e RIBEIRO, 2022).

O exame Histopatológico possibilita visualizar alterações neurodegenerativas com caracterização de uma vacuolização espongiforme. É esse aspecto de “esponja” conferido pelas vacuolizações, que deram nome a doença EEB. As lesões degenerativas na substância cinzenta do tronco encefálico são simétricas e bilaterais. Em casos pré-clínicos normalmente não ocorrem alterações histológicas. Não é indicado para amostras autolizadas, devido à perda de estruturas morfológicas do tecido nervoso (SENA *et al.*, 2014).

2.1.4 Diagnóstico Diferencial

De acordo com LAURINDO e FILHO (2017), o diagnóstico diferencial das formas atípicas baseia-se nas características moleculares do PrPres identificadas através da técnica de WE. Após a digestão da proteína K, o PrPres pode apresentar três glicofomas, que são a não glicolisada, a monoglicolisada e a diglicolisada. Dependendo da quantidade de cada uma dessas glicofomas e da sua posição na banda do WB, faz-se separação dos agentes da EEB nos tipos clássicos H e L e SW.

As EEB tipos H e L apresentam maior e menor massa molecular, respectivamente, nas porções não glicolisadas do PrPres pelas técnicas de WB em relação a forma clássica. Além disso, a EEB tipo L tem uma menor proporção de PrPres diglicolisado, sendo a característica molecular mais marcante desse agente (LAURINDO; FILHO, 2017).

De acordo com estudos feitos por DEL FAVA e PITUCO (2011), o exame diagnóstico de enfermidades neurológicas que acometem ruminantes auxilia os órgãos de defesa sanitária

na tomadas de medidas específicas de combate a essas doenças sendo que sua importância cresceu desde o aparecimento da EEB ou Mal da vaca Louca. Desta forma, desde 1976 o diagnóstico da EEB e da Paraplexia Enzoótica dos Ovinos (*Scrapie*) passou a ser realizado juntamente ao sistema de vigilância sanitária da raiva animal, fazendo parte do Plano Nacional de Combate da Raiva dos Herbívoros (PNCRH) coordenado pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA).

Assim sendo, bovinos, ovinos e caprinos com sintomatologia nervosa de caráter progressivo deverão ser submetidos para o diagnóstico diferencial para raiva, e outras encefalites, como EEB e *Scrapie*. Estas normas visam incrementar medidas de vigilância epidemiológica específicas para manter e preservar as condições do país livre da EEB.

A partir de 2002, um projeto coordenado pela pesquisadora Científica Dra. Edviges Maristela Pítuco, do centro de P&D de sanidade animal do Instituto Biológico, em parceria com instituições parceiras no âmbito federal e estadual, como o MAPA e a Coordenadoria de Defesa Agropecuária do Estado de São Paulo (CDA) para realização de análises histopatológica, virológica, bacteriológica e parasitológica em bovinos com síndrome neurológica. Realizado no período de abril de 2002 a julho de 2004, a equipe multidisciplinar do centro de P&D de sanidade animal analisou 652 amostras de SNC de bovinos, e obtiveram confirmações dos agentes causais em 27,8% das amostras.

Um total de 11,85% foram positivas para a raiva (imunofluorescência direta e prova biológica), 1,22% para meningoencefalite causada por herpesvírus bovino 5 (BoHV-5) (PCR), 1,37% para Diarreia Viral Bovina (BVDV) (isolamento identificação por imunoperoxidase e RT-PCR), 0,30% para *Neospora caninum* (PCR) e, obteve-se, em 12% dos casos, o isolamento e identificação de agentes bacterianos (*Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Clostridium perfringens*, *Arcanobacterium pyogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinebacter spp.* e *Listeria monocytogenes*).

Ainda obteve 0,9 % de Poliencefalomalácia e 0,2% de Neoplasias verificadas através da histopatologia. Descata-se, então, que em 72,2% das amostras não foram possíveis expor a causa com os diagnósticos disponíveis (isolamento e molecular), pois a forma incorreta de coleta, conservação e o envio das amostras foi direcionada como o principal ponto crítico de falhas no diagnóstico.

O laboratório de Anatomia Patológica do Instituto Biológico foi credenciado pelo MAPA, por meio da Portaria SDA nº 5 de 08 de janeiro de 2004, para realizar o diagnóstico diferencial histopatológico por hematoxilina/eosina (HE) das encefalopatias espongiformes

atendendo ao PNCRH, visando participar das atividades de Vigilância Epidemiológica em animais e em alimentos para uso animal. No período de janeiro de 2004 a dezembro de 2009, foram processadas por esta unidade 2.706 amostras de SNC de bovinos fixados em formalina 10% para diagnóstico da EEB, onde todas amostras foram negativas para EEB pela histopatológica (HE) e imunohistoquímica (DEL FAVA; PITUCO, 2011).

O diagnóstico diferencial de síndrome neurológica depende da viabilidade do material biológico, sendo a condição da amostra dependente do tempo de coleta e envio e forma de conservação. Amostras enviadas para avaliação microbiológica, que se encontram autolisadas ou contaminadas, dificultam ou impedem o isolamento e identificação do agente, sendo necessário coletar material clínico com luvas e instrumental cirúrgico estéril e depositar o SNC em recipientes estéreis, enviando refrigerado ao laboratório o mais rápido possível. As porções anatómicas coletadas também são importantes para determinar o agente causal e, na EEB e *Scrapie*, o tronco encefálico onde está localizado o óbex (estrutura mais importante do SNC para identificar a enfermidade priônica) (DEL FAVA; PITUCO, 2011).

2.2 Medidas de Prevenção

Não há relatos de vacina ou tratamento eficaz para EEB. Sendo assim, foi de grande valor o uso de métodos de controle para evitar a propagação da doença (BITENCOURT; RIBEIRO, 2022).

Na prevenção da EEB no Brasil, o MAPA vem colocando restrições do começo ao final da cadeia de produção, partindo do controle de produtos importados até os produtos terminados. Executando inspeções e monitoramentos nos abatedouros, unidade de beneficiamento de produtos não comestíveis fabrica de rações e propriedades rurais, com o intuito de manter o status do Brasil referente à OIE com risco insignificante e garantir a saúde pública como destacado na (Figura 2) (BITENCOURT; RIBEIRO, 2022).

Ainda, as medidas sanitárias que estão sendo preconizadas pelo MAPA e pela Secretaria da Agricultura, Pecuária, Pesca e Agronegócio (SEAPPA) são baseadas em conhecimentos científico internacional, além de recomendações da Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) e do Comitê Científico do Mapa para encefalopatias (CEET) (DIEHL, 2010).

Como por exemplo disso, há um rigoroso controle de movimentação e proibição do abate de bovinos importados de países de risco para EEB, e vigilância no abate de emergência e remoção do material de risco específico para EEB (atualmente essas normas são aplicáveis

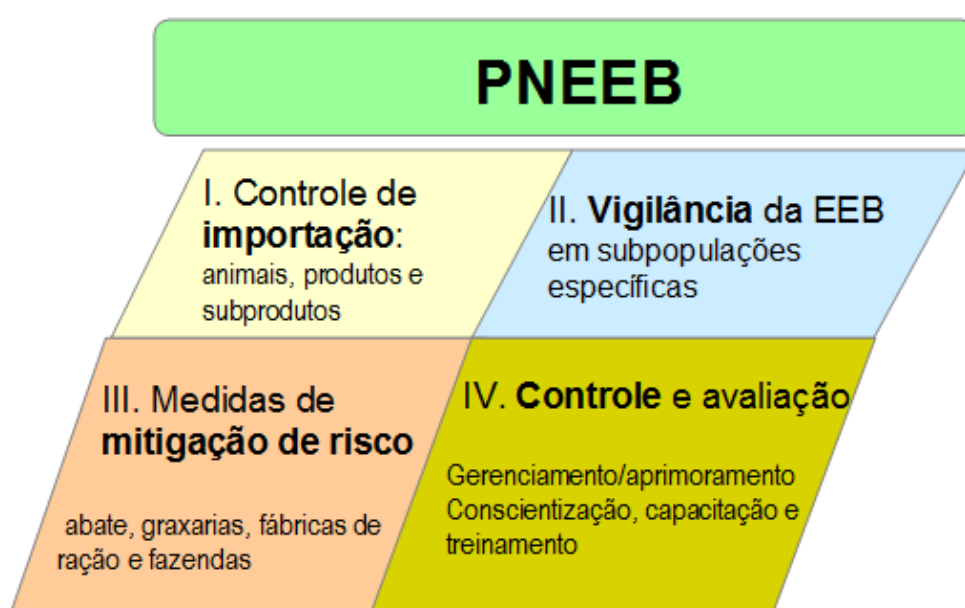
em matadouro frigoríficos sob Serviço de Inspeção Federal (SIF) em matadouros sob Inspeção Estadual e Municipal) (DIHEL, 2010).

Além disso, deve-se monitorar a obediência à proibição do uso das proteínas de origem animal na alimentação de ruminantes, sob fiscalização:

em estabelecimentos produtores de alimentos para animais;

em estabelecimentos processadores de subprodutos animais como graxarias e, a fiscalização de alimentos em propriedades de criação de ruminantes (DIHEL, 2010).

Figura 2: Pilares do Programa Nacional de Prevenção e Vigilância da EEB (PNEEB).

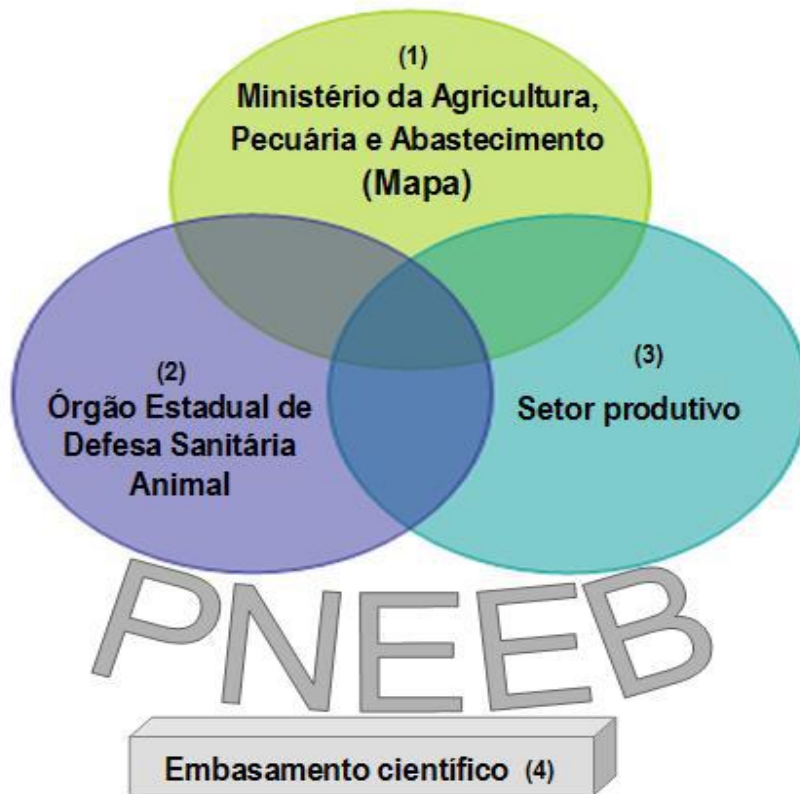


Fonte: MAPA 2015.

Considerando a necessidade de preservar a saúde dos consumidores de produtos bovinos brasileiros e a importância da pecuária na economia de nosso país, é fundamental concordância entre os setores envolvidos (oficiais e privados) no compartilhamento de responsabilidades do PNEEB, no sentido de manter reduzido o risco de ocorrência da doença no Brasil (SENA *et al.*, 2015).

Os envolvidos na prevenção e vigilância da EEB são: MAPA, Órgão de Defesa Sanitária do estado e o setor produtivo (Figura 3).

Figura 3: Esquema dos Seguintes envolvidos no PNEEB.



Fonte: MAPA 2015.

O MAPA - define, coordena, supervisiona e fiscaliza as atividades de prevenção a vigilância da EEB. Algumas ações também podem ser executadas diretamente, conforme a competência regimental.

Os Órgãos Estaduais de defesa sanitária animal - executam medidas de vigilância e de fiscalização, conforme competência. O MAPA e os órgãos estaduais compõem o Serviço Veterinário Oficial (SVO). E, o setor produtivo: aplica as medidas sanitárias estabelecidas pelo SVO. Nesse segmento, cabe ressaltar a importância de engajamento de pecuaristas, de estabelecimentos industriais da cadeia produtiva de bovinos e de médicos veterinários privados, dentre outros profissionais.

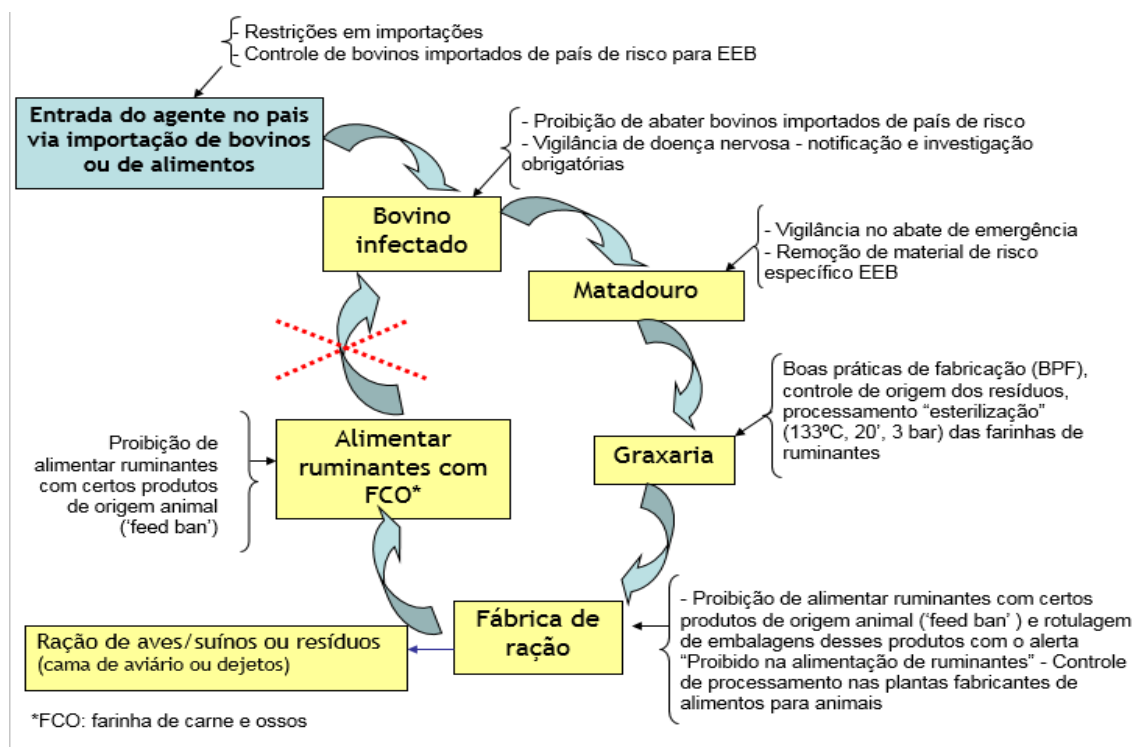
Além disso, o PNEEB é alicerçado nas informações científicas emanadas por instituições de ensino e pesquisas e nas recomendações de fóruns sobre saúde animal, em nível nacional e internacional (SENA *et al.*, 2015).

Ademais, a instrução normativa (IN) nº 41, de oito de outubro de 2009 pelo MAPA, aprova a fiscalização de alimentos de ruminantes em estabelecimento de criação e define que ruminantes que tiveram acesso ao uso de produto proibido (como cama de frango) seja

abatidos em até trinta dias em estabelecimentos sob inspeção oficial ou que sejam sacrificados na propriedade, caso seja feito em frigoríficos ao decorrer do bate. Além disso, todo o MER deverá ser retirado (como cérebro, amígdalas, olhos, medula espinhal e terço final do intestino delgado), e destruído, assegurando a sua não ingestão por animais e humanos. Ainda conforme a OIE (2011) o músculo esquelético desossado, couro, pele, sangue, sêmen, leite, gelatina, colágeno e sebo são os únicos declarados como não veiculadores do príon causador da doença (BITENCOURT; RIBEIRO, 2022).

Abaixo a figura 4 representando as aplicações de medidas de controle de vigilância e mitigação de risco da cadeia epidemiológica da EEB no Brasil, com ação para impedir a transmissão e a reciclagem do príon.

Figura 4: Cadeia produtiva da EEB e medidas de mitigação de risco no Brasil.



Fonte: Cartilha EEB nova.

2.2.1 Material Especificado de Risco (MER)

Em 2013, com a publicação da IN nº 44, de 17 de setembro, foi incluída no PNEEB, a remoção dos materiais de risco, passando, então, a ser então uma exigência nos abatedouros de ruminantes. O Regulamento de Inspeção e Industrial de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), em seu artigo 124, homologando a legislação anteriormente, mencionada Getec, v.12, n.37, p.44-71/2023

instituiu ainda a obrigatoriedade de segregação e inutilização dos MER, no qual independentemente das demais medidas utilizadas na prevenção, controle e mitigação da BSE, apenas o emprego da remoção dos materiais de risco diminui em 95% o risco da entrada da doença na cadeia alimentar humana (SOUSA *et al.*, 2021).

De acordo o Memorando-Circular nº 8/2017/CGI-DIPOA/DIPOA-DAS/DAS/MAPA/MAPA os materiais de risco para bovinos e bubalinos são: os olhos, encéfalo e medula espinhal em animais com igual ou maior de 30 meses, já as amígdalas e a porção distal do fleo (70 cm) de animais com qualquer idade (MEIRELES, 2019).

Vale ressaltar que para a retirada desses materiais, tem que ser colocadas em uso medidas que inviabilizem a contaminação durante o processo. As operações realizadas diretamente sobre cada um deles é desenvolvido com instrumentos como facas ou ganchos específicos, no qual só podem ser utilizados para a operação de contato com o material de risco. Além disso, deve haver esterilizadores de facas próprios e os MER deveram ser acondicionados em recipientes próprios, como sacos e bandejas identificados com as escritas “MER” ou outra marca que distinguem os materiais de forma a serem segregados. Portanto, todos os materiais e utensílios que entrarem em contato com os MER deveram ser identificados com uma cor escolhida pela a indústria, e descritas em seus programas de autocontrole para identificação destes produtos (SOUZA *et al.*, 2021).

Somando-se a isso, a primeira etapa dos materiais mencionados, consiste na separação do conjunto da cabeça e carcaça. Nesta etapa, realiza-se o corte das massas musculares com uma faca e a secção da medula deve ser realizada com outra faca de cor diferente específica para a tal atividade. É importante ressaltar que eventuais resíduos, tanto de encéfalo aderido a cabeça devido a perfuração do dardo na região frontal ou em que possam estar dispersos no ambiente (como no box de atordoamento e praia de vômito), durante a insensibilização, assim como na medula durante a serragem em meias carcaças, devem ser igualmente segregados e dado a mesma destinação (SOUSA *et al.*, 2021).

A remoção das amígdalas, logo após as cabeças serem separadas das carcaças e lavadas, são penduradas na nórea de cabeças ou colocadas na mesa de evisceração e ou inspeção para serem preparadas e submetidas para a inspeção post mortem. A fase preparatória para a linha de inspeção cabeça e língua é fundamental para a retirada completas das amígdalas, pois estas podem eventualmente podem permanecer na cabeça e não na língua, e, desta forma, serem direcionadas para a unidade de beneficiamento de produtos não comestíveis (graxaria) com os resíduos do abate. Tal atividade deve ser realizada por uma pessoa treinada e habilitada para a

função. As amígdalas devem, então, serem colocadas em um recipiente específico, devidamente identificado conforme o plano de remoção e segregação dos MER (IN IDAF N° 2 DE 20/07/2020).

Na remoção dos olhos deve haver uma fase preparatória que é a esfolagem da cabeça, proporcionando a chamada “máscara”, ou seja, uma esfolagem em que até os cílios permanecem na pele e desta maneira, uma exposição ideal do globo ocular. Os olhos podem ser removidos na sala de matança ou ainda na sala de cabeça após a desarticulação. Estes devem ser depositados em recipientes específicos e identificados (Figura 5).

Figura 5: Olhos removidos e armazenados em sacos devidamente identificados.



Fonte: GETEC 2021.

Na remoção do encéfalo, a abertura da cabeça deve ser a última operação da secção da cabeça, utilizando-se um equipamento chamado “abridor de cabeça”. O funcionário deve atentar-se para a completa retirada do encéfalo, principalmente da rede carotídea próxima ao occipital, onde há uma certa resistência, devido as três meninges que envolvem o SNC (Figura 6).

Figura 6: Abertura cabeça com abridor de cabeça.
Getec, v.12, n.37, p.44-71/2023



Fonte: GETEC 2019.

A remoção da medula espinhal, deve ser feita após ser eviscerada a carcaça. Esta é serrada na posição ventral, no sentido caudo/cranial, prosseguindo a linha média, também chamada de linha alba ou sagital-mediana, dividindo-a em meias carcaças, ao qual possibilita a retirada total da medula espinhal. A medula está localizada no interior do canal medular, vindo do orifício magno até o sacro, finalizando com a chamada “cauda equina” (IN IDAF N° 2 DE 20/07/2020).

Vale lembrar que a serragem da carcaça é a fase preparatória da retirada da medula, portanto se a serragem estiver insatisfatória, apresentando sinuosidades causará dificuldade na retirada medular, pois o mesmo permanece fechado em alguns pontos. A retirada pode ser realizada manualmente (Figura 8) ou por instrumentos com formato de espátula que é confeccionado especificamente para tal operação, ou pode ser feito por um extrator pneumático, no qual deve sugar a medula espinhal para o recipiente onde tal material fica retido até serem retirados e acondicionados em recipientes específicos devidamente identificados.

Os fragmentos da medula espinhal misturados com o pó da serragem da coluna vertebral que caem na área adjacente à plataforma devem ser recolhidos e acondicionados em recipientes específicos e identificados. Deve-se verificar, antes de guardar as carcaças, se a medula espinhal foi retirada por completa a medula espinhal por uma pessoa devidamente treinada e habilitada, para não ter risco de ir restos de medula junto à carcaça para a câmara fria e em sua expedição (IN IDAF N° 2 DE 20/07/2020).

Figura 7: Remoção da medula espinhal manualmente.



Fonte: GETEC 2021.

A remoção da porção distal do íleo deverá ocorrer na parte suja da triparia, na medida de 70 centímetros por uma pessoa treinada e habilitada, e armazenado em lugar específico (IN IDAF N° 2 DE 20/07/2020) (Figura 8).

Figura 8: Remoção da parte distal do íleo.



Fonte: GETEC 2021.

Após a retirada dos materiais de risco e o término do abate, o mesmo deverá ser pesado individualmente seguindo a média dos pesos por tecidos (Tabela 1) e registrado em uma planilha de dados diária. Os registros deveram permanecer auditáveis (IN IDAF N° DE

20/07/2020). Além disso, os materiais de risco deveram ser inutilizados por meio de incineração, no próprio estabelecimento (IN IDAF N° 2 DE 20/07/2020) (Figura 9).

Figura 9: Materiais de risco segregados para pesagem e após incineração



Fonte: GETEC 2021.

Tabela 1: Peso Médio de MER por Bovinos e Bubalinos.

<i>Órgãos/Partes</i>	<i>Peso em gramas</i>
<i>Encéfalo</i>	300
<i>Medula Espinhal</i>	230
<i>Olhos</i>	150
<i>Porção Distal do Íleo (70 cm)</i>	150
<i>Amígdalas</i>	100
<i>Peso Total</i>	930

Fonte: Memo Circular N° 001 de 20/01/2007.

2.2.2 Coleta e Envio do Material para Teste da Encefalopatia Espongiforme Bovina

A inspeção ante mortem é um procedimento de muita importância para a vigilância da EEB e para a determinação dos animais a serem coletados. Deve ser realizada pelo Médico Veterinário do Serviço de Inspeção ou pelo Médico Veterinário responsável técnico pelo estabelecimento. Não sendo delegada esta responsabilidade a nenhuma outra categoria de profissional (INSTRUÇÃO DE SERVIÇO CIPOA n° 05/2018).

Os animais recepcionados no local de abate e que se enquadrem nas categorias abaixo deveram ser submetidas à coleta de amostras para diagnóstico das encefalopatias espongiformes transmissíveis (EET):

Getec, v.12, n.37, p.44-71/2023

Animais que apresentem sinais de doença neurológica, isolada ou concomitantemente com outras manifestações clínicas: a) bovinos ou bubalinos com idade igual ou maior de dois anos; b) Animais que se enquadrem em algumas das situações: com doença crônica, caquetizante ou depauperante; c) que não se locomovem sem ajuda, ou; d) encontrado morto no desembarque ou nas instalações do frigorífico: bovinos ou bubalinas com idade igual ou maior a três anos.

Existem, ainda, outras situações que levem ao abate de emergência ou à condenação na inspeção ante mortem: bovinos e bubalinos com idade igual ou maior de três anos.

Em relação à estimativa da idade dos animais devem ser a mais exata possível, sendo fundamental para a conversão de pontos de vigilância junto a OIE e também para a condução de investigação epidemiológica em eventual resultado positivo (INSTRUÇÃO DE SERVIÇO CIPOA nº 05/2018).

O método utilizado para estimar a idade deve ser informado, como por exemplo: Cronologia dentária; Marca a fogo de vacinação contra brucelose; Cadastro na Base Nacional de Dados (BND) do Sistema Brasileiro de Identificação Individual de Bovinos e Bufalos (Sisbov).

No primeiro e segundo caso é ideal que se realize registros com fotos e anexar à cópia do formulário de coleta da amostra que ficará arquivada no frigorífico. No último caso deve-se utilizar o código de identificação individual do Sisbov como o número de identificação do animal no formulário de coleta de amostra (INSTRUÇÃO DE SERVIÇO CIPOA nº 05/2018).

A coleta adequada do tronco encefálico (TE) é imprescindível para a correta realização dos testes (triagem ou confirmatório, caso necessário), e interpretação de resultados. Isso porque, a distribuição da proteína priônica alterada pode estar restrita a certos pontos, reduzindo a medida que se distânciava do óxex. Por isso, é fundamental haver material suficientemente para os testes e, assim, a coleta da amostra deve ser criteriosa. A coleta do TE poderá ser realizada mediante a abertura da calota craniana ou pela utilização da colher para tal.

Vale ressaltar que a coleta utilizando a colher modificada (o instrumento ideal para remover o tronco cefálico), é uma colher modificada que possui as bordas cortantes.

O profissional deverá se paramentar utilizando equipamentos de proteção individual, remover a cabeça do animal na altura da articulação atlanto-occipital. Durante a remoção, a cabeça deve permanecer estendida o suficiente para manter o TE na posição mais posterior durante o processo de remoção; logo fazer a identificação do forame magno e os côndilos

occipitais e depois apoiar a cabeça em uma superfície plana e estável, se caso necessário retirar excesso de gordura ou músculo que estiver próximo dos côndilos occipitais, para permitir acesso fácil ao forame magno, logo após com o dedo indicador, desbridar a dura-máter e qualquer outro tecido como nervos cranianos que estejam conectados ao TE.

Ainda, o rebatimento da dura-máter permite melhor visualização e o debridamento dos tecidos é fundamental para a posterior retirada do TE íntegro. Insira a colher modificada entre a dura-máter e a superfície dorsal do TE, até que a junção entre o cabo e a lâmina da colher esteja nivelada aos côndilos occipitais. Se preciso, pode se tracionar levemente o TE com uma pinça, a colher tem que ser posicionada de forma invertida o que é fundamental para os próximos passos (a colher se introduzida de forma errada fará com que a ponta da mesma alcance o meio do tecido cerebral e a superfície cortante que separaria o TE do cerebelo não estará disponível).

Uma vez que a lâmina da colher esteja totalmente inserida, empurre-a firmemente no sentido ventral contra a crista esfenoidal occipital e gire a da esquerda para a direita, para romper os tecidos aderidos ao redor do TE e assim separa-los do cerebelo.

Após tocar o assoalho da crista esfenoidal occipital puxe a colher caudalmente ao longo da superfície ventral e assim remova o TE (INSTRUÇÃO DE SERVIÇO CIPOA nº 05/2018).

Para uma boa conservação, acondicionamento e envio do TE: a amostra deverá ser conservada sob congelamento, seu acondicionamento correto é feito em embalagem tríplice, ou seja, embalagem primária, secundária e terciária. A embalagem primária fica em contato direto com a amostra, exemplo (saco plástico com fechamento hermético, tipo zíper (envolto por saco polibolha), frasco de boca larga e fechamento hermético).

A embalagem secundária envolve a embalagem primária e acolhe o conteúdo em caso de vazamento ou derramamento de líquidos, impedindo contato com o meio externo, exemplo (saco plástico, frasco hermético); e, a embalagem terciária composta de caixa isotérmica, acompanhada de substância refrigerante em quantidade o suficiente para manutenção da temperatura de conservação da amostra, envolta em caixa de papelão (INSTRUÇÃO DE SERVIÇO CIPOA nº 05/2018) (Figura 10).

Figura 10: TE de bovino com óbex.



Fonte: WERNER 2007.

Com relação aos procedimentos de acondicionamento de amostras deve ser feita em: saco plástico com fechamento hermético, tipo zíper, envolto por plástico polibolha ou frasco de boca larga e fechamento hermético, com tampa rosqueada em polipropileno translúcido, com dimensões mínimas sugeridas de dez cm de altura, dez cm de diâmetro e tampa de um cm. Ainda, deve-se preencher e afixar na embalagem primária a etiqueta de identificação da amostra com fita adesiva transparente. A fita deve envolver todo o local da etiqueta, de forma se houver extravasamento de conteúdo a etiqueta não se torne ilegível. O modelo da etiqueta é divulgado pelo centro de Inspeção de Produtos de Origem Animal (CIPOA-CDA) (Figura 11).

Figura 11. Modelo de identificação da embalagem de acondicionamento da amostra

Vigilância de Encefalopatias Espongiformes Transmissíveis (EET).
Amostra n° _____/_____/_____/_____ (n° controle/n° do Estabelecimento/Estado/Ano).
N° da GTA _____.

Em seguida deve-se congelar a amostra; inserir a embalagem primária na embalagem secundária: se a embalagem primária for o saco plástico envolto por saco polibolha, recomenda-se a utilização de frasco rígido, inquebrável, resistente, não deformável, com fechamento hermético, anti vazamento, com dimensões mínimas de dez a onze cm de diâmetro, como embalagem secundária. Quando utilizado o frasco de boca larga como embalagem primária, o mesmo deverá ser envolto por um saco plástico de fechamento hermético, sendo este a embalagem secundária.

Recomenda-se inserir a etiqueta de identificação da amostra também na embalagem secundária (etiqueta idêntica a da embalagem primária) em atendimento às normas de transporte de substância biológica. Posteriormente, deve-se inserir as amostras em caixa isotérmicas previamente preenchidas com material refrigerante; e preencher atentamente o formulário de coleta de envio de tranco encefálico para diagnóstico de encefalopatias espongiforme transmissíveis;

É importante também anexar às fotos dos animais e das arcadas dentárias e; afixar na caixa isotérmica, um envelope com o Memorando ao Laboratório, e o formulário de coleta do tronco encefálico. Inserir a caixa isotérmica na caixa de papelão (embalagem terciária), preparando a caixa de papelão para envio ao laboratório, constando de forma correta e completa o nome, endereço, CEP e o telefone (com o código da área) do remetente e destinatário, assim como um número de telefone em caso de emergência. O nome do destinatário deverá ser afixado na tampada caixa e a do remetente na lateral.

Além disso, afixar, na parte externa da caixa, abaixo da identificação do destinatário as seguintes etiquetas: Determinação de devolução imediata após a terceira tentativa de entrega; Etiqueta de manuseio (localizado em pelo menos em dois lados opostos da caixa); Etiqueta de manutenção de temperatura informando o estado do material biológico transportado, a variação da temperatura em Graus Celsius e o prazo máximo de entrega; Etiqueta de informação; Etiqueta de risco; Etiqueta de categoria (INSTRUÇÃO DE SERVIÇO CIPOA nº 05/2018).

Vale ressaltar que os modelos de documentos de envio das amostras. Para manter a conservação e o melhor processamento da amostra, o transporte deve ser em menos tempo possível até ao laboratório e deverá ser enviada congelada. A data de envio da amostra deve ser estrategicamente definida, considerando fatores como distância, feriados, finais de semanas, entre outros. Até que seja enviada, a amostra deve permanecer sobre congelamento em local apropriado, cuidando para que esse período seja o menor possível. Devendo evitar mecanismos que impliquem na estocagem intermediária entre o ponto de coleta e o laboratório. O prazo máximo de envio das amostras é de quarenta e cinco dias, se chegar ao laboratório com quarenta e seis dias, a amostra será automaticamente descartada (INSTRUÇÃO DE SERVIÇO CIPOA nº 05/2018).

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conclui-se que a encefalopatia espongiforme bovina é uma zoonose que pode ocorrer após o consumo de produtos cárneos contaminados. E, apesar de ser de poucos conhecimentos sobre diagnósticos, não ter uma vacina que a previna e exames que possibilitem diagnósticos com o animal ainda vivo, pode-se fazer exames laboratoriais para que comprovem resultados da doença por meio do histopatológico e imuno-histoquímica.

Assim medidas preventivas ainda é a melhor escolha para erradicação das encefalopatias, sendo assim é órgãos competentes façam vigilâncias de modo a terem e fazerem controle e monitoramento de animais provenientes de importação, além de estimularem produtores rurais e indústrias a não usarem produtos proibidos para a alimentação e indústrias de formulação animal estejam atentas aos materiais de risco como matéria prima, caso a prevenção não ocorra, poderá ter riscos de proteínas infectantes (príons) no rebanho brasileiro, podendo assim gerar um impacto econômico cessando barreiras entre os países exportadores, no qual também pode acarretar danos à saúde humana e animal.

Além disso, os frigoríficos devem realizar as medidas de controle da EEB como a retirada de materiais de risco específico, que são essenciais para que não corra o risco de ter fragmentos em alimentação animal e humana fornecendo um produto com confiabilidade e interrompendo perigos fazendo o descarte correto dos materiais.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA. **Programa estadual de prevenção e vigilância da encefalopatia espongiforme bovina – PEEEB.** Disponível em: <file:///C:/Users/HP/Desktop/TCC/Programa%20Estadual%20de%20Preven%C3%A7%C3%A3o%20e%20Vigil%C3%A2ncia%20da%20Encefalopatia%20Espongiforme%20Bovina%20-%20PEEEB.html>. Acesso em: 22 jun. 2022.

BITENCOURT, K. B.; RIBEIRO, L. F. Encefalopatia espongiforme em bovinos. **GETEC**, v. 11, 2022.

BRAZIL, Governo do Estado de São Paulo, Secretaria de Agricultura e Abastecimento, Coordenadoria de Defesa Agropecuária. **Instrução de Serviço CIPOA nº 05 / 2018**, Aos Diretores Técnicos dos Escritórios de Defesa Agropecuária. Cc: Assistentes Agropecuários dos Escritórios de Defesa Agropecuária, Estabelecimentos SISP e seus Responsáveis técnicos. Implantação de procedimentos para retirada de Material Especificado de Risco para Encefalopatias (MER) em estabelecimentos SISP de abate de ruminantes e unidades de beneficiamento de produtos não comestíveis - graxarias. Disponível em: www.defesa.agricultura.sp.gov.br. Acesso em 24 jun. 2022.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Cartilha Técnica da Encefalopatia espongiforme bovina – EEB : doença da vaca louca / Ministério da Agricultura,

Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. – **Biblioteca Nacional de Agricultura – BINAGRI Brasília** : MAPA/SDA, 2008.

BRASIL, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 8**, DE 25 DE MARÇO DE 2004. Proibi 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, 23 mar. 2004. Disponível em: <http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=visualizarAtoPortalMapa&chave=178957228>. Acesso em 21 jun. 2022.

BRASIL, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 18**, DE 15 DE DEZEMBRO DE 2003. Considerando a não ocorrência da Encefalopatia Espongiforme Bovina - EEB no Brasil, condição que deve ser mantida e preservada, em benefício do patrimônio pecuário nacional. Diário Oficial da União, 24 dez. 2003.

BRASIL, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 44**, DE 17 DE SETEMBRO DE 2013. Institui o Programa Nacional de Prevenção e Vigilância da Encefalopatia Espongiforme Bovina - PNEEB, nos termos desta Instrução Normativa. Diário Oficial da União, 18 set. 2013.

BRASIL, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa SDA nº 13**, de 14 de maio de 2014. Estabelece as normas para identificação, monitoramento e controle da movimentação de bovinos importados de países considerados de risco para encefalopatia espongiforme bovina (EEB) e aprovar os formulários constantes dos Anexos desta Instrução Normativa.

CAPOZZI, R.; LARA, J. T. DE. Entre o gado degenerado e o bife infectado: A repercussão da encefalopatia espongiforme bovina no jornal do Brasil (1990-1996). **Revista Hydra**, v.4, 2020.

DALL' ALBA, C.; HAUSSEN, D. C.; MARX, C. B.; HAUSSEN, R. S, Relato de caso Creutzfeldt-Jakob: primeiro relato de caso no Rio Grande do Sul, **Revista da AMRIGS**, Porto Alegre, v 48, 2004.

DEPARTAMENTO DE SAÚDE ANIMAL E INSUMOS PECUÁRIOS; Encefalopatia espongiforme bovina (EEP). **Ficha técnica**, 2020.

DIEHL, G. N. Prevenção da encefalopatia espongiforme (EEB) no Brasil. **Informativo técnico**, nº 10, 2010.

FAVA, C. DEL; PITUCO, E. M. Diagnóstico da encefalopatia espongiforme bovina (Mal da vaca louca). **Centro de P&D de Saúde Animal**, nº 153,2011.

FONSECA, G. G. **Encefalopatia espongiforme bovina atípica: caracterização e implicações para o sistema de prevenção no Brasil**. 2015. 40f. Monografia (Conclusão no curso de Medicina Veterinária)- Universidade de Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Brasília.

GOTELIPE, F. M.C. **Avaliação do sistema de vigilância da encefalopatia espongiforme bovina no Brasil**. 2006. 114f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias)- Universidade de Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Brasília.

HAGA, G. S. I.; MARCOS, A. DOS S.; Nota técnica: Encefalopatia espongiforme bovina “Doença da vaca louca”. **Defesa Agropecuária do estado de São Paulo**, 2021. Disponível em:

file:///C:/Users/HP/Desktop/TCC/Nota%20T%C3%A9cnica_%20Encefalopatia%20Espongiforme%20Bovina%20E2%80%9CDoen%C3%A7a%20da%20Vaca%20Louca%20E2%80%9D%20_%20Defesa%20Agropecu%C3%A1ria%20do%20Estado%20de%20S%C3%A3o%20Paulo%20Usado%20TCC.html. Acesso em: 21 jun. 2022.

LAURINDO, E. E; FILHO, I. R. DE B.; Encefalopatia espongiforme bovina atípica: uma revisão. **Arq. Inst. Biol.**, v 84, 2017.

LAURINDO, E. E. **Análise comparativa do sistema de vigilância da encefalopatia espongiforme bovina do Brasil e dos Estado Unidos da América considerando a forma atípica da doença**. 2015. 170f. Dissertação (Programa de Pós Graduação, com parte das exigências para obtenção de título de Mestre em Ciências Veterinária)- Universidade Federal do Paraná, setor de Ciências Veterinárias, Curitiba.

MACIEL, N. R. **Estudos dos tempos de incubação de doenças priônicas utilizando o método Monte Carlo Dinâmico**. 2008. 42 f. Dissertação (Mestrado de Ciências Farmacêuticas)- Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Ribeirão Preto.

MASUJIN, K; OKADA, H; MIYAZAWA, K. et al. Emergência de um novo príon de encefalopatia espongiforme bovina (BSE) de uma BSE atípica do tipo H. **Sci Rep**, v. 6, 2016. Disponível em:

<https://www.nature.com/articles/srep22753>. Acesso em: 2 nov. 2022.

MEIRELES; I. M. DE F.; **Materiais específicos de risco no abate de bovinos**. 2019. 38f. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) – UniRV Universidade De Rio Verde Faculdade De Medicina Veterinária, Rio Verde – Goiás.

NITRINI, R.; Nova variante da doença de Creutzfeld-Jakob: A doença priônica humana relacionada à encefalopatia espongiforme bovina – “Doença da vaca louca”. **Revista Associação de Medicina Brasileira**, São Paulo, v 47 n°. 2 , p. 25 - 28, 2001.

PUZZI, M. B; XAVIER, A; LIFTFALLA, F.; Encefalopatia espongiforme bovina. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, nº 10, 2008.

Disponível em:
http://www.faeef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/SFX6h2ndXVlzywV_2013-5-29-10-22-3.pdf. Acesso em: 21 jun. 2022.

POLAK, M.P. et al. Atypical status of bovine spongiform encephalopathy in Poland: a molecular typing study. **Archives of Virology**, v. 153, n. 1, 2008.

POLAK, M.P.; ZMUDZINSKI, J.F. Distribution of a pathological form of prion protein in the brainstem and cerebellum in classical and atypical cases of bovine spongiform encephalopathy. **Veterinary Journal (London, England : 1997)**, v. 191, n.1, 2012.

SANCHES, C. C. **Análise de polimorfismos no gene prnp em raças bovinas no Brasil**. 2014. 95f. Tese (Obtenção do título de doutor em ciência animal). Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Programa de pós graduação em ciência animal curso de doutorado, Campo Grande.

SENA, E. F.; BORGES, C. H. P.; LAURINDO, E. E. *et al.* **Sistema brasileiro de prevenção e vigilância da encefalopatia espongiforme bovina (EEB)**. 2014.

SENA, E. F.; BORGES, C. H. P.; LAURINDO, E. E. *et al.* **Sistema brasileiro de prevenção e vigilância da encefalopatia espongiforme bovina (EEB)**. 2015.

SOUZA, A. DE C.; MESSIAS, C. T.; DE MARCHI, P. G. F. *et al.* Segregação e destinação dos materiais especificados de risco nos abatedouros de bovinos: medida de mitigação de risco para encefalopatia espongiforme bovina. **GETEC**, v.10, 2021.

WERNER, P. R.; HILL, J. A. G.; BRONZE, S. J. M. *et al.* 2007. 10f. **Colheita e envio de amostras para diagnóstico morfológico diferencial de BSE e outras encefalopatias bovinas. Material complementar das aulas teóricas e práticas do “curso de treinamento em métodos de diagnóstico e controle da brucelose e tuberculose e noções em encefalopatias espongiformes transmissíveis”**, Curitiba, 2007.

WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH. Encefalopatia espongiforme bovina. **Boletim de notícias**, 2018. Disponível em: <https://www.woah.org/en/disease/bovine-spongiform-encephalopathy/>. Acessado em: 22 jun. 2022.