

SCRAPIE EM OVINOS: ASSOCIAÇÃO DO GRAU DE VACUOLIZAÇÃO ENCEFÁLICA COM OS SINAIS CLÍNICOS NEUROLÓGICOS¹

Maíra Daleffe Innocenti², Lucas de Souza Quevedo³, Jéssica Aline Withoef³, Luiz Cláudio Miletti⁴, Fabio Ferreira⁵, Renata Assis Casagrande⁶

¹ Vinculado ao projeto “*Scrapie* e seus diferenciais em pequenos ruminantes no estado de Santa Catarina”

² Acadêmica do Curso de Medicina Veterinária – CAV – Bolsista PIBIC/CNPQ

³ Pós-graduando(a) do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal (PPGCA) – CAV/UDESC

⁴ Professor – Laboratório de Bioquímica de Hemoparasitas e Vetores – CAV/UDESC

⁵ Médico Veterinário da Companhia Integrada de Desenvolvimento Agrícola de Santa Catarina (CIDASC)

⁶ Orientadora, Departamento de Medicina Veterinária – CAV – renata.casagrande@udesc.br

Scrapie é uma doença de notificação obrigatória que acomete ovinos e caprinos e possui como característica a deposição de uma forma alterada da proteína priônica (PrP^{Sc}) no sistema nervoso central e tecidos linfoides. *Scrapie* causa distúrbios neurodegenerativos caracterizados por vacuolização no pericário de neurônios e neurópilo, principalmente na região de óbex podendo ocorrer em mesencéfalo, ponte, medula oblonga, cornos laterais e ventrais da medula e núcleo motor dorsal do nervo vago. Na forma atípica Nor98, as lesões também são vacuolares principalmente no neurópilo, e alguns vacúolos intraneurais. Nessa forma atípica a vacuolização do neurópilo geralmente ocorre na camada molecular do cerebelo e no córtex cerebral, em menor grau pode observar-se no tronco cerebral, entretanto, não há alterações vacuolares no óbex. Este estudo tem como objetivo associar o quadro clínico neurológico com a mensuração das alterações vacuolares observadas em diferentes regiões do encéfalo de ovinos diagnosticados com *Scrapie*. Foram avaliados três ovinos com diagnóstico de *Scrapie*, um caso isolado (Caso 1) e dois casos do mesmo rebanho (Casos 2 e 3). Nos três animais foi realizada biópsia de tecido linfóide da terceira pálpebra e mucosa retal, armazenados em formalina tamponada a 10% para detecção por imunohistoquímica (IHQ) anti PrP^{Sc} e congelados para realização de ensaio de imun absorção enzimática (ELISA) anti-PrP^{Sc}. O material coletado foi remetido ao Laboratório Oficial de Encefalopatias Espongiformes Transmissíveis (EET) do Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA) em Recife, PE. Foi realizada coleta de sangue total por meio de punção da veia jugular com tubos contendo ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) para genotipagem da proteína príon (PRNP) obtida através da avaliação dos polimorfismos nos códons 136, 154 e 171 pela reação em cadeia da polimerase (PCR) e sequenciamento parcial pelo método de Sanger. Na genotipagem, os ovinos foram classificados como extremamente resistente, resistente, baixa resistência, suscetível ou alta suscetibilidade ao desenvolvimento do *Scrapie*. Os ovinos com resultado positivo na IHQ e ELISA anti PrP^{Sc} foram submetidos a eutanásia utilizando xilazina e cloreto de potássio. Realizou-se a necropsia sistemática na qual foram colhidos todos os órgãos e encéfalo em formalina tamponada a 10%. Foram realizados sete cortes em duplicata seriados transversais dos hemisférios cerebrais e um longitudinal em duplicata do cerebelo. Os oito cortes foram: 1: Lobo frontal na altura do joelho do corpo caloso - córtex frontal e dos núcleos da base; 2: Diencefalo através da

aderência intertalâmica - córtex parietal, hipocampo e tálamo; 3: Córtex occipital; 4: Cerebelo; 5: Mesencéfalo - colículos rostrais; 6: Ponte com pedúnculos cerebelares; 7: Bulbo na altura do óbex; 8: Medula espinhal, totalizando 11 regiões avaliadas. A mensuração histológica do número de vacúolos foi obtida a partir da média de cada região. O grau de vacuolização foi avaliado de forma descritiva onde atribuiu-se grau 0 (ausência de vacúolos), grau 1 (leve, de 0 a 5 vacúolos), grau 2 (moderado, de 5 a 10 vacúolos), grau 3 (acentuado, acima de 10 vacúolos) por campo de maior aumento (Obj. 40). Quanto ao número de regiões afetadas do encéfalo, foram classificados em tipo I (vacuolização em 1 a 2 regiões), tipo II (3 a 5 regiões) e tipo III (acima de 5 regiões), divididos em vacuolização neuronal e vacuolização em neurópilo. O ovino (Caso 1) foi o animal que desenvolveu sinais clínicos mais exacerbados, caracterizados por decúbito esternal com postura de cão sentado, fasciculações dos membros pélvicos, cifose, déficit proprioceptivos dos membros pélvicos, redução da dor profunda e superficial e foi positivo no teste de Scratch. O ovino (Caso 2) apresentou prurido, perda de lã, tremores discretos de cabeça e teste de Scratch negativo. O ovino (Caso 3) apresentou prurido, alopecia na região de cabeça e teste de Scratch negativo. Na genotipagem, os animais foram classificados como ARQ/ARQ baixa resistência (Caso 1), ARQ/VRQ alta suscetibilidade (Caso 2), ARR/AHQ resistente (Caso 3). A média de vacúolos para cada animal foi de: Caso 1 com 74,98; Caso 2 com 44,82 e Caso 3 com 35,33 vacúolos. O local que mais observou-se vacúolos foi o tálamo (Casos 1 e 3) medula espinhal (Caso 2) (Tabela 1). Quanto ao número de regiões afetadas, os 3 casos foram classificados como tipo III. Conclui-se que os achados histológicos observados neste estudo demonstram que o grau de vacuolização pode influenciar na gravidade do quadro neurológico dos ovinos, entretanto nem sempre o animal desenvolve sinais clínicos. É de grande importância a realização de biópsia de tecido linfóide da terceira pálpebra e mucosa retal de todos os animais do rebanho quando há suspeita de *Scrapie*.

Tabela 1. Associação da graduação de vacuolização no encéfalo de ovinos com Scrapie com os sinais clínicos neurológicos.

	Graduação caso 1		Graduação caso 2		Graduação caso 3	
	Neurópilo	Neurônio	Neurópilo	Neurônio	Neurópilo	Neurônio
Córtex parietal	1	0	1	0	1	0
Hipocampo	1	0	1	0	2	0
Tálamo	2	1	1	0	2	0
Córtex frontal	1	0	1	0	1	1
Núcleos da base	1	0	1	0	1	0
Colículos	2	1	3	1	1	0
Córtex occipital	1	0	1	0	1	0
Óbex	2	1	2	1	1	1
Ponte	1	0	2	1	1	0
Cerebelo	1	0	1	1	1	0
Medula espinhal	1	0	3	1	0	0
Nº de regiões afetadas	11 regiões Tipo III		11 regiões Tipo III		10 regiões Tipo III	
Sinais clínicos neurológicos	acentuado		discreto		ausente	

0: ausência de vacúolos; 1: leve, de 0 a 5 vacúolos; 2: moderado, de 5 a 10 vacúolos; 3 acentuado, acima de 10 vacúolos; tipo I: vacuolização em 1 a 2 regiões; tipo II: de 3 a 5 regiões; tipo III: acima de 5 regiões.

Palavras-chave: Suscetibilidade. Vacuolização. Genotipagem.