



**Ministerio de la Agricultura,
Pecuaria y Abastecimiento**

**SDA - Secretaria de Defensa Agropecuaria
DDA - Departamento de Defensa Animal**



Procedimientos para el Diagnóstico de las enfermedades del Sistema Nervioso Central de Bovinos



Encefalopatía Espongiforme Bovina

"Prevención es nuestro trabajo"

www.agricultura.gov.br



MINISTERIO DE LA AGRICULTURA, PECUARIA Y ABASTECIMIENTO
SDA - SECRETARÍA DE DEFENSA AGROPECUARIA
DDA - DEPARTAMENTO DE DEFENSA ANIMAL



Procedimientos para el Diagnóstico
de las enfermedades del Sistema Nervioso Central de Bovinos



Encéfalo Espongiforme Bovino

"Prevención es nuestro trabajo"

Brasília-DF, Brazil

2003

Presidente de la República

Luis Inácio Lula da Silva

Ministro de la Agricultura, Pecuaria y Abastecimiento

Roberto Rodrigues

Secretario Ejecutivo

José Amauri Dimarzio

Secretario de la Defensa Agropecuaria

Maçao Tadano

Director del Departamento de Defensa Animal

João Crisostomo Mauad Cavalléro

Coordinador de Vigilancia y Programas Sanitarios

Jamil Gomes de Souza

Gerente Nacional del Programa de Control de la Rabia de los Herbívoros y otras Encefalopatias

Guilherme Henrique Figueiredo Marques

Asesoría

Maria das Graças Queiroz Turíbio - PNESEA

Catalogación en la Fuente

Coordenação Geral de Informação Documental Agrícola - CENAGRI

Coordenación y Planificación de Producción y Marketing

PeterPublisher & Associados

Dirección de Arte

Américo de Brito

Impresión

Lid Gráfica Editora Ltda.

Traducción

Dominguita Lúhers Graça, PhD.

Barros, Claudio Severo Lombardo.

Procedimientos para el diagnóstico de las enfermedades del sistema nervioso central de bovinos /
Claudio Severo Lombardo Barros y Guilherme Henrique Figueiredo Marques. -- Brasília : MAPA/SDA/DDA, 2003.
50 p. : il. color.

I. Enfermedad de la Vaca Louca. 2. Enfermedad animal - EEB. 3. Enfermedad animal - BSE. 4. Diagnóstico.
5. Prevención. 6. Control. 7. Enfermedad de la Vaca Louca - Manual. I. Marques, Guilherme Henrique Figueiredo.
II. Secretaría de Defensa Agropecuaria. Departamento de Defensa Animal. III. Ministerio de la Agricultura, Pecuaria y
Abastecimiento. IV. Título.

□

□

AGRIS 5212; L73; L70

Presentación

Con la globalización creciente de los mercados, la mantención de la salud de los rebaños se transformó en asunto fundamental para la preservación del patrimonio pecuario de países como el Brasil. Actualmente, el comercio internacional establece exigencias sanitarias rígidas, que constituyen obstáculos mayores que las barreras arancelarias. Dentro de ese cuadro, la iniciativa privada no podrá competir en el mercado globalizado de oferta de productos de calidad sin el concurso de un servicio eficaz de defensa sanitaria, que atestigüe la calidad de la materia prima y de los productos, actuando como socio esencial de los segmentos de exportación.

Durante la última década, la epidemia de Encefalopatía Espongiforme Bovina - EEB, registrada en el Reino Unido y, posteriormente, en otros países europeos, causó enormes perjuicios al sector pecuario, en consecuencia, principalmente, de la elevada percepción de riesgo en relación a la enfermedad, que resultó en acentuada reducción del consumo de carne bovina en aquel continente.

A pesar de que el riesgo asociado a la EEB sea muy bajo en el Brasil, la adopción de medidas sanitarias para prevenir su introducción en el país es imprescindible, pues su existencia causaría inmensos perjuicios a la pecuaria nacional, y gran riesgo a la salud humana, con elevadas repercusiones sociales y económicas.

De ese modo, desde el surgimiento de la EEB en el Reino Unido, las autoridades sanitarias brasileñas están preocupadas en evitar su introducción en el país, mediante la adopción de medidas sanitarias que involucran, entre otras, restricciones a la importación de animales susceptibles y sus productos, originados en países considerados en riesgo para la enfermedad, el rastreamiento de animales antes importados de esos países, y la prohibición del uso de proteína de origen animal en la formulación de alimentos destinados a los rumiantes.

La valorización y la calificación de los servicios de defensa sanitaria animal, como elementos fundamentales en el proceso de evaluación y certificación de la condición sanitaria de los rebaños, son los pilares para la credibilidad internacional. Por su vez, el proceso de toma de decisiones, relacionadas a la mantención de gestión eficaz de toda la estructura sanitaria, envuelve la presencia de profesionales permanentemente informados, motivados y evaluados, que participan de una organización dirigida a las actividades fundamentales que deben, como mínimo, considerar:

- la obtención de documentos informativos y de apoyo al sistema;
- el almacenamiento de los datos en los niveles locales y centrales determinados;
- la retroalimentación del sistema de vigilancia y prevención, considerando todos los actores sociales envueltos.

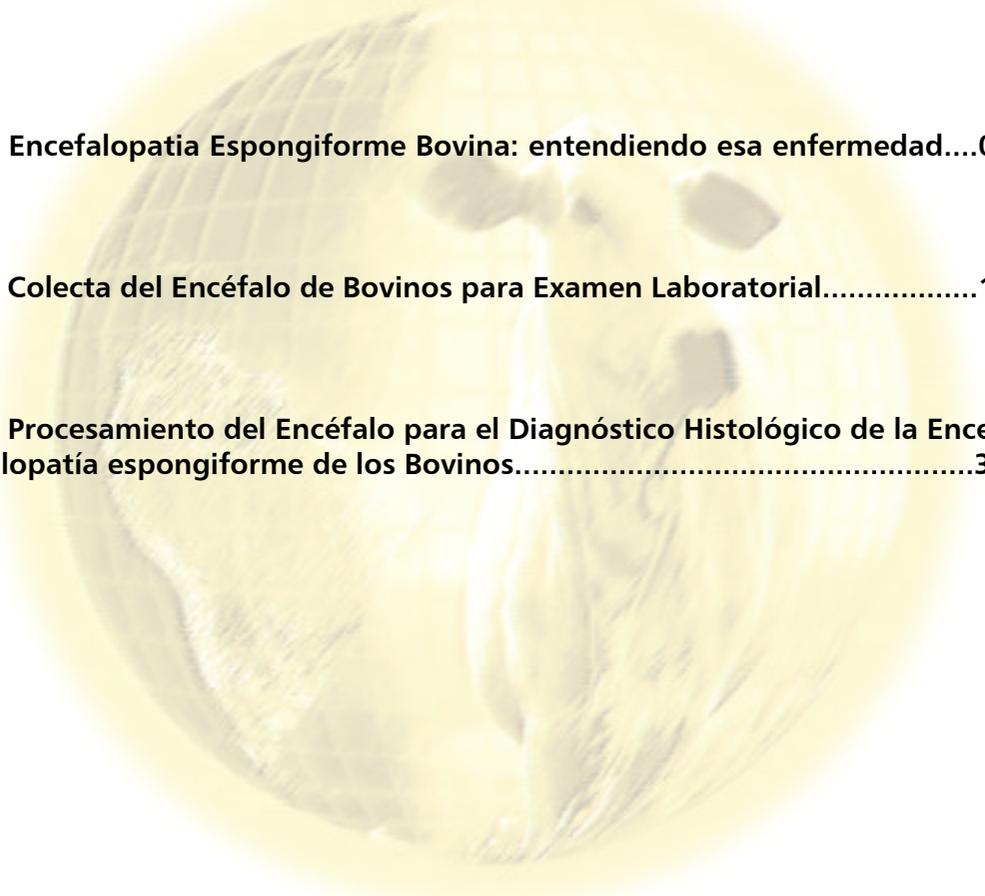
En ese contexto, el Ministerio de la Agricultura, Pecuaria y Abastecimiento, sustentado por una legislación específica, implantó el sistema nacional de vigilancia para las Encefalopatías Espongiformes Trasmisibles - EET, que recibe ahora el soporte de este manual, que, además de padronizar las acciones, tiene por objetivo ofrecer subsidios para la vigilancia de los síndromes neurológicos a todos los Médicos Veterinarios Oficiales y a los profesionales autónomos envueltos en los programas de sanidad animal, dando garantías del estado sanitario de nuestro rebaño y ofreciendo a las autoridades sanitarias brasileñas un valioso instrumento para la mantención del Brasil como país libre de la EEB.



João Crisostomo Mauad Cavallero

Director del Departamento de Defensa Animal

Sumario

- 
1. Encefalopatía Espongiforme Bovina: entendiendo esa enfermedad....05
 2. Colecta del Encéfalo de Bovinos para Examen Laboratorial.....15
 3. Procesamiento del Encéfalo para el Diagnóstico Histológico de la Encefalopatía espongiforme de los Bovinos.....35



ENCEFALOPATIA ESPONGIFORME
BOVINA
ENTENDIENDO ESA ENFERMEDAD

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

Professor de Patologia
Jefe del Laboratorio de Patologia
Departamento de Patologia
Universidade Federal de Santa Maria
Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil

Guilherme H. Figueiredo Marques, Med. Vet., PhD.

Agente Veterinario Federal
Gerente Nacional del PNCRH
Departamento de Defensa Animal
Ministerio da Agricultura, Pecuaria y Abastecimiento
Brasília, Distrito Federal, Brasil

ENCEFALOPATIA ESPONGIFORME BOVINA: ENTENDIENDO ESA ENFERMEDAD

I - Definición:

La encefalopatía espongiforme bovina - EEB - (en inglés, BSE, sigla para *bovine spongiform encephalopathy*), conocida como "enfermedad de la vaca loca" - es una condición degenerativa crónica y trasmisible del sistema nervioso central (SNC) de bovinos, caracterizada clínicamente por nerviosismo, reacción exagerada a estímulos externos y dificultad de locomoción, principalmente de los miembros pélvicos⁶.

Las alteraciones espongiformes encontradas en el examen microscópico dieron el nombre a la enfermedad. El agente de la EEB es extremadamente resistente al calor, a los procedimientos convencionales de esterilización, y no induce una respuesta inmune o inflamatoria. La enfermedad fue relatada en bovinos de cerca de 20 países, a pesar de que más de 90% de los casos tengan acontecido en Gran Bretaña. La EEB es parte de un grupo complejo de enfermedades neurodegenerativas que afectan personas y animales, conocidas como encefalopatías espongiformes trasmisibles (EETs). Las características principales de las EETs son encontradas en la Tabla 1. Las principales EETs de personas y animales son relacionadas en las Tablas 2 y 3, respectivamente.

2 - La causa de la EEB y de las otras EETs.

Durante la investigación para elucidar la etiología de las EETs, los cerebros homogeneizados de hamsters infectados con scrapie (una EET de ovinos) eran fraccionados en varios componentes. De esos, la fracción más infecciosa mostró poseer grandes cantidades de una determinada proteína que no era destruída por proteasas (enzimas que disuelven las proteínas). Esa proteína, bautizada como prion (del inglés *proteinaceous infectious particle*, con e "i" y el "o" cambiados por conveniencia lingüística) o PrP (*prion protein*)⁷, no era encontrada en cerebros de hamsters normales. La secuencia de aminoácidos de la PrP era la misma que de una proteína encontrada en cantidades iguales en cerebros infectados y no infectados, pero que, al contrario de la PrP, podía ser degradada por enzimas proteolíticas. Había, por lo tanto, dos formas (presentaciones estructurales) de la misma proteína. La forma encontrada solamente en los cerebros de los animales infectados fue a seguir denominada de PrP^{Sc} (sc significa scrapie, la enfermedad prototipo de las EETs). La forma encontrada tanto en los cerebros infectados como en los no infectados fue llamada de PrP^C (c significa celular, o sea, propia de las células normales)¹. Varias evidencias acumuladas hasta los días de hoy, indican que la proteína PrP^{Sc} sea el agente etiológico de las EETs, aunque otras teorías como la del virus y la del virino todavía persistan.

La PrP^C es una glicoproteína normal de la membrana plasmática de la célula y existe en la mayoría de las células, aunque predominantemente en las células del SNC. La PrP^C es transformada en la isoforma anormal PrP^{Sc} que se acumula en el SNC y produce la enfermedad.

El agente de las EETs es extremadamente resistente a la inactivación por el calor (1 hora a 360° C de calor seco), radiación ultravioleta y sustancias químicas.

Estudios sobre la patogénesis de las EETs, basados en experimentos con scrapie indican que, cuando se usan las rutas periféricas de la infección, el agente replica inicialmente en el bazo y los ganglios linfáticos y llega al cerebro, probablemente, a lo largo de las fibras simpáticas de los nervios viscerales que son conectados a la porción media de la médula espinal torácica¹⁴. De la médula, el agente sigue para el cerebro a la velocidad de un milímetro por día. Una vez dentro del SNC, la infectividad puede pasar, centrífugamente, para los tejidos periféricos.

La presencia del agente de las EETs en los tejidos, es determinada por la inoculación de ratones con el material a ser testado, lo que puede llevar 700 días. La EEB ha sido transmitida experimentalmente a varias especies. En bovinos naturalmente infectados, la región distal del íleo, la médula ósea, los ganglios del nervio trigeminal y los ganglios de las raíces dorsales de los nervios espinales también mostraron infectividad. No fueron encontradas evidencias de infectividad en la leche o en la carne (músculos) de bovinos afectados tanto experimental como naturalmente.

3 - Epidemiología

La EEB fue identificada por la primera vez en Gran Bretaña en 1986¹⁰, aunque datos epidemiológicos y revisiones de archivos de preparaciones histológicas atestiguan la existencia de casos ya en 1985¹³ y algunos estudios sugieren que algunos casos podrían haber ocurrido en la década de 70. La gran mayoría de los bovinos afectados por EEB pertenece a rebaños de Gran Bretaña. Son, oficialmente, cerca de 180.000, desde 1986, distribuidos en 35.000 rebaños, en una media de 1 a 2 casos por rebaño afectado¹³. Fuera de Gran Bretaña, la enfermedad fue confirmada en un número relativamente pequeño (cerca de 2.800) de bovinos nativos de Alemania, Austria, Bélgica, Canadá, Dinamarca, Eslovaquia, Eslovenia, España, Finlandia, Francia, Grecia, Irlanda, Israel, Italia, Japón, Liechtenstein, Luxemburgo, Países Bajos, Polonia, Portugal, República Checa y Suiza. Con la excepción de unas pocas decenas de casos, todos los 2.800 bovinos afectados fuera de Gran Bretaña son nativos. En algunos países hubo casos solamente en bovinos importados, como en las Islas Malvinas y Omán. Informaciones actualizadas pueden ser obtenidas en la dirección electrónica de la Organización Mundial de Sanidad Animal - OIE (www.oie.int).

Aunque no exista predilección por raza o sexo o por cuestiones de manejo, la enfermedad en Gran Bretaña ocurre principalmente en vacas de leche, entre los 3 y los 6 años de edad.

La EEB fue adquirida por los bovinos a través de la alimentación con raciones de harina de carne o de hueso contaminadas por el agente etiológico. La fuente de infección podrían ser ovinos contaminados por scrapie o bovinos afectados por una forma esporádica de la enfermedad, hasta entonces no detectada. La entrada de los primeros bovinos contaminados en la cadena alimentaria, ciertamente aumentó la epidemia. Alteraciones en los procesos de fabricación de esas raciones de harina de carne o hueso, introducidas al final de la década de 70 e inicio de la década de 80, pueden haber contribuido para el surgimiento de la enfermedad¹³. La ingestión de menos de un gramo de cerebro de un animal contaminado es suficiente para producir la enfermedad. No hay evidencia de que la EEB se disemine horizontalmente, pero se sugiere que la transmisión materna o vertical pueda suceder. Sin embargo, se cree que eso sería posible en niveles muy bajos, insuficientes para perpetuar la epidemia.¹³.

4 - Signos clínicos

El período de incubación de la EEB (tiempo transcurrido desde que el animal fue infectado hasta el surgimiento de los primeros signos clínicos) es de 2 a 8 años (media de 5 años), a pesar de que períodos de incubación más largos hayan sido relatados. Después del surgimiento de los signos clínicos, la enfermedad evoluciona invariablemente para la muerte en un curso de 3 semanas a 6 meses. Bovinos afectados por EEB sufren degeneración progresiva del SNC y pueden presentar alteraciones de temperamento, sensibilidad y locomoción^{2,8,9,12}. Signos clínicos generales incluyen disminución de la producción de leche y pérdida de peso, aunque los enfermos mantienen buen apetito.

a. Alteraciones del comportamiento.

Incluyen nerviosismo, miedo o agresividad, postura anormal, incoordinación y dificultad en levantarse. Los bovinos con EEB son, frecuentemente, muy nerviosos, alertas y excitables, alteraciones que pueden manifestarse a través de un movimiento espasmódico de todo el cuerpo. Esos disturbios del comportamiento son más evidentes cuando el animal es excitado. Otros signos clínicos que pueden ocurrir son salivación, y mirada asustada con ojos dilatados. A veces, el animal presenta rechinar de dientes. Otros síntomas incluyen la lamida frecuente del hocico y torcedura de la nariz. Algunos bovinos también exhiben movimientos nerviosos de las orejas. En las fases terminales de la EEB, el animal tiene dificultad en levantarse o puede permanecer en decúbito permanente.

b. Alteraciones de la sensibilidad.

Los bovinos con EEB comúnmente presentan alteraciones de la sensibilidad y reaccionan exageradamente al toque (alteración más común), al sonido y a la luz.

c. Alteraciones de la locomoción.

Caminar rígido, incoordinación, hipermetría y ataxia generalizada son signos frecuentes en bovinos afectados por la EEB. La hipermetría es más pronunciada en los miembros pelvianos y confiere a los bovinos un paso alto, semejante al observado en caballos con arpejamiento. La ataxia grave evoluciona para caídas y finalmente paresia posterior y decúbito.

5 - Hallazgos de necropsia e histopatología.

No hay lesiones macroscópicas directamente relacionadas con la enfermedad, mas las lesiones microscópicas de la EEB son altamente específicas. Son lesiones degenerativas, simétricas y bilaterales y se localizan en ciertas regiones de la substancia gris del tronco encefálico^{11,12}. Esas alteraciones se caracterizan básicamente por vacuolas que dan el aspecto esponjiforme a la substancia encefálica.

Existen hallazgos incidentales que deben ser considerados con cuidado en el examen histológico de bovinos. Vacuolas en el citoplasma de las neuronas del núcleo rojo del mesencéfalo son un hallazgo incidental común en el cerebro de bovinos y encontrados en 64% de los encéfalos de bovinos normales⁵. Cuando encontrados solamente en esse local, no deben ser considerados en el diagnóstico de la EEB^{11,12}. Inflamaciones no supurativas inespecíficas (manguitos perivasculares) son encontradas en cerca de 30% de los bovinos adultos normales⁴ y pueden ser el resultado de infecciones subclínicas o latentes. De modo semejante, aparecen gránulos intracitoplasmáticos de ceroide-lipofucsina en las neuronas. Esos hallazgos parecen carecer de significado¹² y deben ser considerados como hallazgos incidentales.

6 - Diagnóstico

Actualmente no hay un examen para detectar la enfermedad en el animal vivo. La enfermedad puede ser confirmada por el examen microscópico del tejido encefálico o por la detección de la forma anormal del prion (PrP^{Sc}). Eso puede ser realizado por microscopía electrónica o por métodos inmunológicos. Cuando extractos de cerebros de animales afectados con EETs son examinados al microscopio electrónico, las PrP^{Sc} (priones) aparecen como estructuras en forma de bastón llamadas SAFs (*scrapie associated fibrils*). Los métodos inmunológicos incluyen la detección de la proteína (PrP^{Sc}) por inmunohistoquímica o por western immunoblotting³ y los llamados exámenes rápidos en ELISA o immunoblotting⁵.

Actualmente, en el Brasil, el diagnóstico es realizado por examen histológico de cortes seleccionados del tronco encefálico y por inmunohistoquímica. Para ambos exámenes es suficiente el envío del cerebro, fijado de acuerdo con lo especificado en el informativo *Procedimientos para el Diagnóstico de las Enfermedades del Sistema Nervioso Central de los Bovinos*.

7 - Control, profilaxis y tratamiento

No hay tratamiento ni vacuna para impedir el apareamiento de la enfermedad. Las medidas destinadas a prevenir la introducción de casos incluyen no importar rumiantes y sus productos de países considerados de riesgo para la EEB, no alimentar rumiantes con proteína de origen animal, con cama de aves, con residuos de la explotación de cerdos, e impedir la permanencia de cadáveres en el campo.

8 - Datos sobre el sistema de vigilancia brasileño

La producción de leche y de carne bovina en el Brasil es hecha, casi exclusivamente, por la crianza y engorda de animales de pastoreo. La suplementación alimenticia, cuando ocurre, es hecha con proteína vegetal, tornando remota la difusión de la EEB en el país.

Sin embargo, desde el surgimiento de la enfermedad en el Reino Unido (RU), las autoridades sanitarias brasileñas se preocuparon en proteger el país de la entrada de la EEB, con el objetivo de preservar el patrimonio pecuario y la salud pública. Fueron tomadas medidas sanitarias como la restricción a la importación de animales susceptibles y sus productos, cuando sean originarios de países en riesgo, el rastreamiento de los animales importados de esos países y la imposición de restricciones a la formulación de alimentos destinados a los rumiantes.

Existe un gran número de productos para uso humano que son obtenidos de tejidos de varias especies de rumiantes. Esas substancias de origen animal son usadas como componentes en la producción de medicamentos, cosméticos, productos biológicos y otros productos para la salud humana. Muchas medidas sanitarias fueron adoptadas por la Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria ANVISA (www.anvisa.gov.br/vacalouca/index.htm) con el objetivo de proteger la salud de la población, garantizando la seguridad sanitaria de productos y servicios.

El Gobierno Brasileño no importó harina de carne y huesos de los países considerados de riesgo para la EEB, teniendo como única y eventual fuente de riesgo los bovinos importados de los países en los cuales no fueron detectadas señales de EEB. Considerando que las importaciones tuvieron lugar entre 10 y 23 años atrás (tiempo considerablemente más largo que el período medio de incubación de la enfermedad), la posibilidad de que esos bovinos vengan a desenvolver EEB es remota. Mismo así, todos los bovinos importados, bien como sus descendientes están siendo acompañados, inclusive con análisis laboratoriales.

En la Tabla 4 están relacionados los tipos de poblaciones bovinas evaluadas en el sistema de vigilancia de la EEB en el Brasil. En 2001 y 2002 fueron examinados histológicamente 5.894 encéfalos de bovinos, siendo que 1.361 de esos presentaron signos clínicos de enfermedad neurológica. Esa cifra es muy superior a los 433 encéfalos de bovinos con signos clínicos nerviosos que la OIE recomienda examinar.

Los países que mantienen comercio de productos de origen animal con el Brasil, consideran satisfactorias las garantías dadas por el gobierno brasileño sobre los bovinos importados, y en relación a la estabilidad de nuestro sistema de vigilancia, clasificando el riesgo de la importación de esos productos y bovinos como despreciable.

9 - Referencias

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

ANEXO I

Tabla 1. Características de las encefalopatías espongiformes transmisibles (EETs)

<p>Periodo de incubación largo (meses o años) Enfermedad inmunológica progresiva y siempre fatal Alteraciones patológicas confinadas al sistema nervioso central (SNC) Alteraciones espongiformes en el SNC Transmisibles (natural o experimentalmente) Ausencia de respuestas inflamatoria e inmune Ocurren en personas y animales (ver Tablas 2 y 3))</p>

Tabla 2. Encefalopatías espongiformes transmisibles (EETs) en seres humanos

<p>Enfermedad esporádica (sin previos antecedentes conocidos)</p>	<p>Enfermedad de Creutzfeld-Jakob (CJD). Ocurre en todo el mundo, con una incidencia de un caso por un millón de personas.</p>
<p>Enfermedad adquirida (adquirida por contaminación con el agente infeccioso)</p>	<p>Kuru (canibalismo, epidémica en la población Foré de Papua-Nueva Guinea) CJD iatrogénica (transplantes, administración de hormonas) Nueva variedad de CJD (vCJD, ingestión de alimentos contaminados por el agente de la EEB).</p>
<p>Enfermedad familiar (heredada genéticamente)</p>	<p>CJD familiar. Representa 10-15% de todos los casos de CJD. Síndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker (GSS). Incidencia de cerca de un caso en 10 millones de personas. Insomnio fatal familiar. Enfermedades priónicas atípicas. No se ajustan fácilmente a los criterios diagnósticos de las EETs.</p>

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

Tabla 3. Encefalopatías espongiformes transmisibles (EETs) en animales

Scrapie	Enfermedad endémica rara de ovejas y cabras. Considerada el prototipo de las EETs.
Encefalopatía transmisible de los visones (TME)	Enfermedad de visones criados para fines comerciales (piel). Probablemente causada por la alimentación de los visones con carne de oveja contaminada con scrapie.
Enfermedad consuntiva crónica (CWD)	Enfermedad de origen oscura que afecta alces salvajes y en cautiverio en Estados Unidos y Canadá
Encefalopatía espongiforme de los bovinos (EEB)	Enfermedad epidémica de bovinos de leche, principalmente en el Reino Unido. Causada probablemente por la alimentación de bovinos con ración con restos de ovinos infectados por scrapie o de bovinos infectados por EEB o ambos.
Encefalopatía espongiforme felina (FSE)	Enfermedad observada en gatos domésticos y en algunos felinos salvajes en cautiverio (puma, guepardo y ocelote). Causada probablemente por la alimentación de esos animales con ración con restos de material contaminado por EEB.
Encefalopatía espongiforme en otras especies	Identificada en varios ruminantes de zoológico; por ejemplo kudú, órix árabe y cimitar). Causada probablemente por la alimentación de esos animales con ración con material contaminado por EEB.

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

Tabla 4. Categorías de bovinos cuyos encéfalos son examinados en el sistema de vigilancia para EEB en el Brasil

<p>Bovinos negativos en el examen para rabia de la red oficial de diagnóstico</p> <p>Bovinos con signos clínicos neurológicos</p> <p>Bovinos importados de países con casos nativos de BSE</p> <p>Bovinos mayores de 30 meses de alta producción lechera abatidos en mataderos frigoríficos</p> <p>Bovinos abatidos de emergencia</p> <p>Bovinos mayores de 30 meses con enfermedad crónica caquetizante</p> <p>Bovinos mayores de 30 meses en decúbito</p>



COLECTA DEL ENCÉFALO DE
BOVINOS
PARA EXAMEN LABORATORIAL

Claudio S.L. de Barros, Med. Vet., PhD.
Professor de Patologia
Jefe del Laboratorio de Patologia
Departamento de Patologia
Universidade Federal de Santa Maria
Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil

COLECTA DEL ENCÉFALO DE BOVINOS PARA EXAMEN LABORATORIAL

1 - Introducción

La encefalopatía espongiforme bovina (BSE) conocida mundialmente como la "enfermedad de la vaca loca", es una enfermedad degenerativa crónica que afecta el sistema nervioso central de bovinos. La enfermedad fue diagnosticada por la primera vez en Gran Bretaña en 1986¹² y causó gran impacto económico en la pecuaria del Reino Unido. Fue también confirmada en bovinos nativos de Austria, Bélgica, Canadá, República Checa, Dinamarca, Eslovaquia, Eslovenia, España, Finlandia, Francia, Alemania, Holanda, Italia, Irlanda, Israel, Japón, Liechtenstein, Luxemburgo, Portugal y Suiza. La preocupación de que la BSE constituyese un riesgo para los consumidores de carne bovina estuvo presente desde el inicio de la epidemia en Inglaterra. Esa preocupación alcanzó niveles extremadamente altos cuando, en la tercera semana de marzo de 1996, en un comunicado al parlamento inglés, el Secretario de Estado de la Salud de Inglaterra anunció que la existencia de una nueva variedad de la enfermedad neurológica de humanos, Creutzfeldt Jakob (CJD), estaba probablemente relacionada a la BSE¹². Uno de los resultados de esa preocupación creciente es que las autoridades sanitarias internacionales están solicitando a los países exportadores de carne que muestren evidencias de que sus rebaños están libres de la enfermedad. Eso significa que esos países deben tener un control capaz de garantizar que su rebaño bovino está libre de BSE, identificar las enfermedades que afectan el sistema nervioso central y reconocer la BSE en el caso de que ella surja.

El objetivo de este manual es ofrecer una orientación para la colecta de material para el diagnóstico histológico de la BSE y de otras enfermedades del sistema nervioso de los bovinos. A pesar de que la BSE no existe en el Brasil, es necesario mantener un esquema de vigilancia

para esa enfermedad. Son presentadas instrucciones para el examen preliminar del tejido nervioso, selección y envío al laboratorio de diagnóstico. Las enfermedades que, directa o indirectamente, afectan el sistema nervioso de bovinos en Río Grande del Sur fueron recientemente revisadas¹⁰ y se supone que la distribución es semejante en el resto del Brasil, con algunas variaciones regionales de frecuencia. Esas enfermedades serán consideradas en la colecta del material.

Para que el examen del sistema nervioso de bovinos alcance un número significativo de casos, se espera poder contar con el material recibido por la red de diagnóstico para rabia, ya existente en el país. Por esa razón, son incluidas instrucciones que contemplan la colecta de material, permitiendo el examen para el diagnóstico de rabia, de BSE y de otras enfermedades del sistema nervioso de bovinos¹⁰.

2 - Recomendaciones generales

2.1 Las enfermedades del sistema nervioso central (SNC) con frecuencia no presentan lesiones obvias en la necropsia. Por ese motivo, el patólogo que examina el material en el laboratorio, depende de una historia y de observaciones clínicas confiables que lo orienten sobre la naturaleza de la enfermedad neurológica⁹. Un formulario con los datos principales referentes al (los) animal (es) afectado (s), hallazgos epidemiológicos y clínicos y los datos principales de la necropsia debe ser llenado (Anexo 1). La retirada y colecta de muestras del sistema nervioso requieren tiempo y esfuerzo. Es, por lo tanto, necesario establecer criterios para la realización de esas tareas. Si no hubiera signos clínicos e historia sugestivos de enfermedad neurológica, es poco probable que el examen del sistema nervioso revele lesiones significativas. En los casos en que no hay historia clínica o ella es imprecisa o cuando la muerte del animal ocurrió sin signos previos, se recomienda el examen neuropatológico.

2.2 Informe sobre la fecha y la hora de la muerte, el tiempo transcurrido desde la muerte y la necropsia y sobre cualquier demora entre la colecta y la fijación del material. Esos datos son importantes para la realización del examen neuropatológico. Enfermedades que representan riesgo a la salud humana (por ejemplo, rabia y listeriosis) deben ser consideradas antes de la realización de los exámenes, y los cuidados necesarios deben ser tomados. Se recomienda el uso de guantes de goma y lentes de protección durante la abertura del cráneo.

2.3 Si el material es destinado al examen histológico, es muy importante que el manoseo del tejido nervioso todavía no fijado sea el **mínimo** posible. El examen macroscópico detallado debe, por eso, ser hecho **después** de la fijación. El manoseo del tejido nervioso sin fijar causa alteraciones que perjudican la evaluación histológica de las lesiones.

2.4 En la medida de lo posible, el examen macroscópico sistemático del encéfalo debe ser hecho en el órgano fijado (la fijación endurece los tejidos). Eso facilita la selección de áreas apropiadas para el diagnóstico de enfermedades específicas y permite que se determine la distribución de las lesiones. La distribución de las lesiones en el sistema nervioso (i.e. bilaterales, simétricas, focales, multifocales, en la sustancia blanca, en la sustancia gris) es característica para varias enfermedades y debe ser anotada. Muchas veces, el encéfalo no puede ser fijado entero, como sería ideal, pues hay necesidad de conservar partes del órgano sin fijar para exámenes virológicos y bacteriológicos.

2.5 No mezcle tejidos de animales diferentes, aunque representen casos de una misma enfermedad. Tejidos de cada animal deben ser claramente identificados.

3 - Retirada del encéfalo

La colecta no criteriosa y aleatoria de muchas muestras de cerebro sin fijar puede dificultar el examen neuropatológico en el laboratorio. Cuando haya varios animales para necropsia, en un brote de enfermedad neurológica, el tiempo para la retirada del encéfalo puede ser un factor limitante. En ese caso, seleccione algunos animales para el examen neuropatológico. Colecte el material tratando de eliminar, o disminuir al máximo, daños al tejido nervioso, causados durante la retirada.

3.1 A través de acceso ventral, retire la cabeza, deshaciendo la articulación atlantooccipital. En ese punto, examine la superficie y la cápsula de las articulaciones y el aspecto físico del líquido cefalorraquídeo (LCR) que fluye cuando la duramadre es cortada. En los casos en que hubo poco tiempo transcurrido después de la muerte, se puede retirar una muestra aséptica de LCR antes de cortar la duramadre.

3.2 Diseque la piel y los músculos de la cabeza. Abra la cavidad craneana siguiendo las líneas mostradas en la Figura 1. Eso puede ser hecho con sierra común o cuchilla del tipo usada por carniceros. El cerebro es expuesto con la duramadre intacta.

3.3 Usando tijeras, retire la duramadre, cortando la hoz del cerebro y el tentorio del cerebelo (Figura 2). Con la cabeza del bovino inclinada, retire el encéfalo seccionando los nervios craneanos. Sin el corte previo de esas estructuras, es imposible retirar el cerebro intacto. Evite al máximo manosear, presionar y apretar el tejido nervioso durante el proceso de retirada, para evitar alteraciones histológicas que perjudiquen el examen en el laboratorio.

3.4 El ganglio del nervio trigémino (ganglio de Gasser) y la red admirable carotídea deben ser colectados junto con la hipófisis (Figura 3). El examen de ese par de ganglios nerviosos del 5º par de nervios craneanos es importante para el diagnóstico de enfermedades como rabia y meningoencefalitis por herpes virus bovino (BHV-5). En esas dos enfermedades, con frecuencia se observa inflamación (ganglioneuritis) del ganglio del nervio trigémino. En casos de fiebre catarral maligna¹¹, los vasos de la red admirable muestran lesión característica (vasculite).

3.5 Examine el cerebro en busca de posibles lesiones macroscópicas, pesquizando posibles asimetrías (i.e. algunas estructuras más voluminosas que otras) y alteraciones de color (por ej: hiperemia de las meninges, congestión de la corteza en casos de babesiosis por *Babesia bovis*, corteza amarillo-castaña en casos de polioencefalomalacia).

4 - Selección de muestras a colectar

El material para exámenes virológicos y bacteriológicos debe ser colectado antes de la fijación del encéfalo. Por otro lado, el **congelamiento** torna el encéfalo inadecuado para el examen histológico. Como en muchos casos existe la necesidad de realizar los tres tipos de exámenes, debe ser alcanzado un término medio.

4.1 Colecta de muestras para bacteriología y virología

4.1.1 Inicialmente retire el cerebelo, cortando al nivel de los pedúnculos cerebelares. Introduzca la punta de una lámina en el 4º ventrículo por la parte caudal del cerebelo (Figura 4). Corte rostral y horizontalmente los pedúnculos cerebelares separando el cerebelo del bulbo en uno de los lados y, después, en el otro. Al finalizar la operación, el cerebelo estará completamente separado del encéfalo (Figura 5).

4.1.2 Corte a la altura del tálamo, separando el tronco encefálico del resto del encéfalo (Figura 6). Al finalizar esa operación, Ud. obtendrá tres partes: a) el tronco encefálico, b) el cerebelo, c) lo restante del encéfalo (Figura 7).

4.1.3 Para obtener la muestra 1, retire una tajada sagital (cerca de 0,5 cm) del vermis del cerebelo (Figura 8).

4.1.4 Para obtener la muestra 2, corte un segmento transversal de cerca de 2,5 cm de la médula espinal cervical (Figura 9).

4.1.5 La muestra 3 es obtenida al cortar una tajada del tálamo de cerca de 1 cm de espesor (Figura 10).

4.1.6 La muestra 4 es obtenida dividiendo uno de los hemisferios cerebrales a la altura del quiasma óptico, separando la porción caudal de lo restante (Figura 11).

4.1.7 En ese punto, las cuatro muestras que serán enviadas para el examen virológico o bacteriológico fueron obtenidas (Figura 12). Los fragmentos seleccionados son adecuados para el examen de rabia^{3,8} y para el examen de otras enfermedades causadas en el sistema nervioso de bovinos por otros virus y bacterias⁹⁻¹¹. Esas tres muestras deben ser conservadas en refrigerador y enviadas refrigeradas. Sin embargo, si el tiempo entre la colecta y el envío es mayor que 24 horas, se aconseja congelar las muestras, pero nunca fijarlas.

4.1.8 Lo restante del encéfalo (Figura 13) debe ser fijado de acuerdo con las instrucciones a seguir (sección 4.2), pues se destina al examen histológico. Debe ser fijado también en formol a 10% y enviado junto con el material mostrado en la Figura 3, el bloque de tejidos formado por la red admirable carotídea, el ganglio del nervio trigémino y la hipófisis.

4.2 Colecta y fijación del material para examen histológico

4.2.1 Para fijar el cerebro, el fijador indicado es formol a 10%. Para preparar un litro de esa solución, use 100 ml de formaldehído (35-40%) y 900 ml de agua de la canilla. Existe una confusión frecuente entre aldehído fórmico (o **formaldehído**) y formalina comercial (o **formol**). Formaldehído es un gas con el que se prepara una solución acuosa de 35-40%. Esa solución constituye la formalina común.

La palabra formalina se refiere, por lo tanto, a la presentación comercial de la solución de formaldehído. De esa manera, formol (o formalina) a 10% representa una solución preparada al mezclarse 10 ml de formalina comercial (formaldehído a 35-40%) con 90 ml de agua⁴. El formol con tampón ofrece fijación mejor, pero no es esencial, pues la fórmula dada arriba permite un examen histológico aceptable del cerebro. La fórmula para la preparación de un litro de formol con tampón es dada abajo⁷:

Reactivos

Solución de 35-40% de formaldehído (formalina)	100 ml
Água destilada	900 ml
Fosfato monobásico de sodio	4 g
Fosfato dibásico (anhidro) de sodio	6,5 g

Procedimiento

Mezcle previamente los tampones de fosfato en agua caliente para que se disuelvan antes de adicionar lo restante del agua con solución de formaldehído. Agregue el formaldehído a la solución fría para disminuir los vapores. Invierta el recipiente varias veces para permitir una buena incorporación. Haga la mezcla y use la solución apenas en áreas bien ventiladas.

Observaciones

Mismo que esa solución de formol sea tamponada, con el pasar del tiempo el pH bajará, provocando el apareamiento de pigmentos de hematina ácida en tejidos con congestión (que tienen mucha sangre).

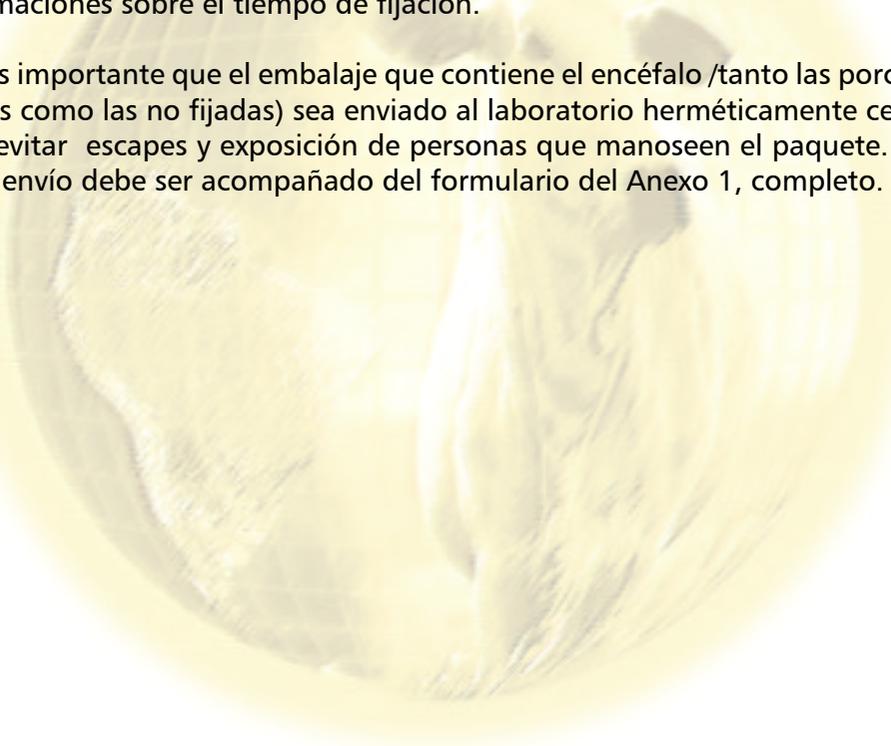
4.2.2 Coloque el encéfalo en un volumen de fijador que sea, por lo menos, 10 veces mayor que el volumen del tejido a ser fijado. Así, serán necesarios 6 litros del fijador para fijar el cerebro entero de un bovino adulto (600 cm³). El tiempo mínimo de fijación varía con el tamaño del cerebro. Un cerebro de ratón precisa 24 horas para ser fijado; el de una oveja, aproximadamente 4 días; un cerebro de bovino adulto, una semana. Después de la fijación, el tejido necesitará una cantidad mucho menor de fijador, lo que facilitará el transporte al laboratorio.

Al fijar el encéfalo, evite mezclarlo con otros materiales que puedan comprimir el tejido nervioso, dañándolo para el examen histológico.

5 - Envío de material al laboratorio

5.1 Cada material de cerebro debe ser enviado en recipiente rígido (de plástico duro, por ejemplo), en lugar de ser envuelto en algodón o gasa. El recipiente debe estar totalmente lleno de fijador, para expulsar el aire y amortiguar los efectos del movimiento. En casos urgentes, mismo los cerebros incompletamente fijados pueden ser transportados, pero, en tal caso, deben ser dadas informaciones sobre el tiempo de fijación.

5.2 Es importante que el embalaje que contiene el encéfalo /tanto las porciones fijadas como las no fijadas) sea enviado al laboratorio herméticamente cerrado para evitar escapes y exposición de personas que manoseen el paquete. Cualquier envío debe ser acompañado del formulario del Anexo 1, completo.



6 - Referencias

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

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

7 - Vocabulario

Aracnoide: membrana delgada que cubre el cerebro y la médula.

BSE: encefalopatía espongiforme de los bovinos (del inglés, Bovine Spongiform Encephalopathy).

CJD: enfermedad de Creutzfeldt Jakob. Enfermedad neurológica de humanos causada por prión, con lesiones semejantes a las de la BSE.

Duramadre: membrana más espesa que cubre el encéfalo y la médula espinal.

Hoz del cerebro: pliegue de la duramadre en forma de hoz, localizada entre los hemisferios cerebrales. Su parte rostral se fija en la crista *galli* y la parte caudal se une al tentorio del cerebelo⁴.

Ganglio: agrupación de neuronas fuera del sistema nervioso central.

Leptomeninges: conjunto formado por la piamadre y la aracnoides.

Paquimeninge: duramadre.

Piamadre: membrana delgada que cubre el cerebro y la médula.

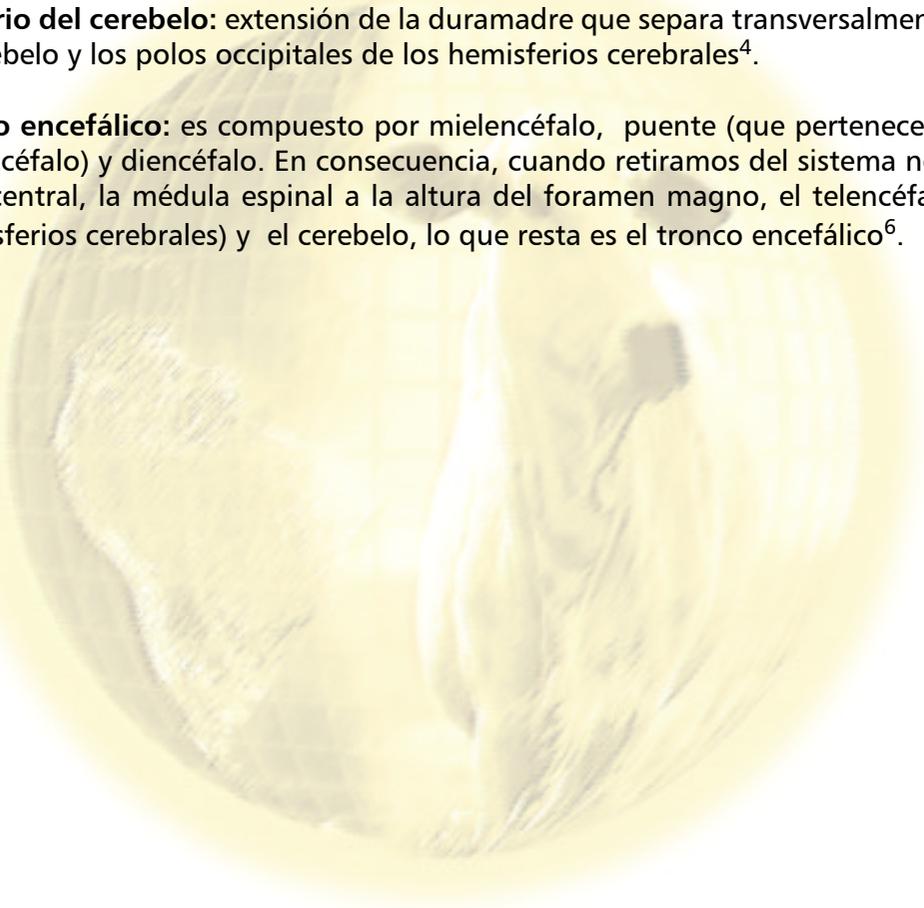
Prions: nombre dado a moléculas proteicas consideradas como agentes etiológicos de las encefalopatías espongiformes, como la BSE. Esa proteína es crucial para el desarrollo de esas enfermedades. En individuos sanos, ella puede ser digerida por una proteasa (enzima que digiere proteínas). En los individuos con enfermedades causadas por prions (BSE, por ejemplo) esa proteína sufre modificación postraduccion , de modo que se torna resistente a la digestión por proteasas.

El nombre príon deriva de la expresión inglesa proteinaceous infectious. Debería, lógicamente, ser denominada "proin", pero la expresión príon es más fácilmente pronunciable¹.

Red admirable: es una red intercalada en el curso de una arteria⁴. La red admirable carotídea está localizada a cada lado de la hipófisis, entre esta glándula y el ganglio del nervio trigémino.

Tentorio del cerebelo: extensión de la duramadre que separa transversalmente el cerebelo y los polos occipitales de los hemisferios cerebrales⁴.

Tronco encefálico: es compuesto por mielencéfalo, puente (que pertenece al metencéfalo) y diencefalo. En consecuencia, cuando retiramos del sistema nervioso central, la médula espinal a la altura del foramen magno, el telencéfalo (hemisferios cerebrales) y el cerebelo, lo que resta es el tronco encefálico⁶.



ANEXO I

Formulario de solicitud de exámenes

Material n°: Laboratorio: n° protocolo / año Municipio: Depto./Prov.:
 Veterinario remitente: Inscripción n°:
 Dirección: Teléfono: ()
 e-mail: Fax: ()

Para uso exclusivo con bovinos importados
 Nombre del animal: Número del animal: País de origen:
 Con sintomatología nerviosa? Si No Para indemnización? Si No

Propietario: Propiedad:
 Dirección: Ciudad:
 E-mail: Teléfono: () Fax: ()

Especie: Bovina Ovina Caprina Raza: Edad: meses
 Había otras especies afectadas? Si No Categoría afectada: macho hembra
 Número de animales: en el rebaño () enfermos () muertos ()
 El animal muerto ya fue vacunado para: Rabia Clostridiosis Otras: _____

Fecha del inicio del brote/enfermedad: / / Duración del brote/enfermedad: _____
 Tipos de signos clínicos presentados:

- Muerte súbita <input type="checkbox"/>	- Ceguera <input type="checkbox"/>	- Torneo <input type="checkbox"/>	- Parálisis flácida de los miembros posteriores <input type="checkbox"/>
- Depresión <input type="checkbox"/>	- Incoordinación <input type="checkbox"/>	- Convulsiones <input type="checkbox"/>	- Parálisis flácida de los miembros anteriores <input type="checkbox"/>
- Ataxia <input type="checkbox"/>	- Tetania <input type="checkbox"/>	- Dismetria <input type="checkbox"/>	- Con parálisis, pero todavía alerta <input type="checkbox"/>
- Opistótonus <input type="checkbox"/>	- Agresividad <input type="checkbox"/>	- Temblores <input type="checkbox"/>	- Nistagmo <input type="checkbox"/>

Duración de los signos clínicos (desde el inicio hasta la muerte): _____ horas:
 Había animales que se recuperaron de los signos clínicos? Si No Que porcentaje? _____ %

Día y hora de la muerte: / / a las _____ : _____
 Tiempo transcurrido entre la muerte y la colecta del material: _____ horas
 Tiempo transcurrido entre la muerte y la fijación del material: _____ horas minuto
 Material conservado en: _____

Veterinario responsable por la colecta: Inscripción n°
 Dirección: Teléfono: ()
 E-mail: Fax: ()

Observaciones:

Local / Fecha: _____, / /

ANEXO 2

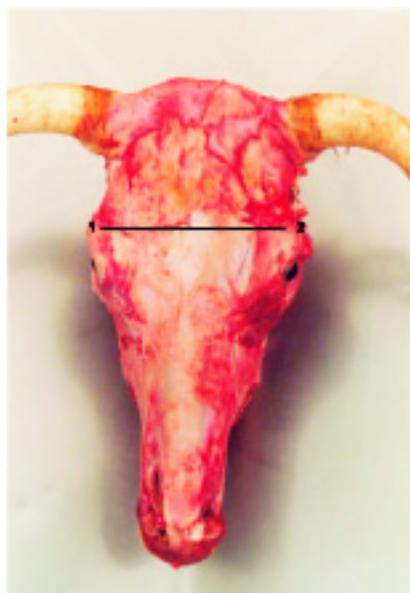


Figura 1 A



Figura 1 B



Figura 1 C

Figura 1. Retirada del encéfalo. Las líneas marcan los locales donde el cráneo debe ser cortado para la retirada del encéfalo. A. La primera línea liga dos puntos (1 y 2) inmediatamente anteriores a las órbitas. B. La segunda línea une los puntos 1 y 2 al foramen magno del occipital. C. La misma línea mostrada en B es vista en la porción posterior de la cabeza.

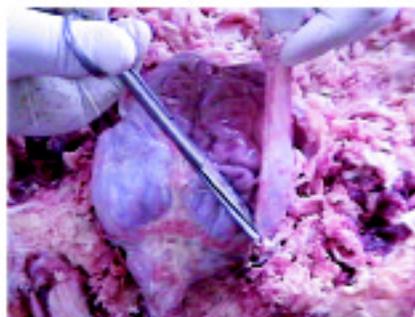


Figura 2 A



Figura 2 B

Figura 2. Usando tijeras, retire la duramadre, seccionando la hoz del cerebro (A) y la tienda del cerebelo (B).

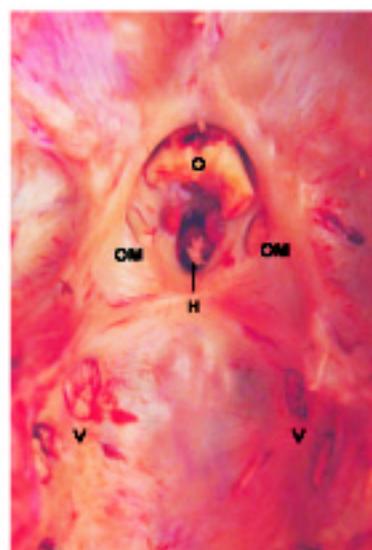


Figura 3 A

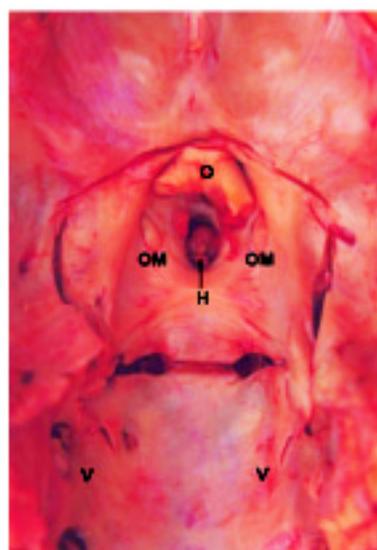


Figura 3 B

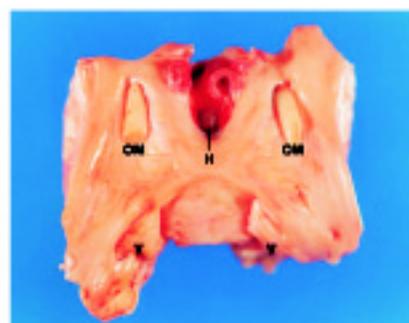


Figura 3 C



Figura 3 D

Figura 3. El ganglio del nervio trigémino (5º par craneano, ganglio de Gasser), la red admirable carotídea y la hipófisis deben ser retiradas en una única pieza (monobloco 1). **A.** Piso de la cavidad craneana mostrando las referencias anatómicas para la retirada del monobloco 1. Nervio trigémino (V), nervio oculomotor (OM), nervio óptico (O), localización de la hipófisis (H). **B.** La figura muestra lo que debe ser hecho con el bisturí para la retirada del monobloco 1. Son identificadas las siguientes estructuras. Nervio trigémino (V), nervio oculomotor (OM), nervio óptico (O), localización de la hipófisis (H). **C.** Vista dorsal del monobloco 1. Son identificadas las siguientes estructuras. Nervio trigeminal (V), nervio oculomotor (OM), localización de la hipófisis (H). **D.** Vista ventral del monobloco 1. Son identificadas las siguientes estructuras. Nervio trigémino (V), ganglio del nervio trigémino (G), nervio oculomotor (OM), red admirable (R) e hipófisis (H). Ese monobloco debe ser fijado en formol a 10% para examen histopatológico.



Figura 4. Introduzca la punta de una lámina en el 4º ventrículo, por la parte caudal del cerebelo. Corte rostral y horizontalmente los pedúnculos cerebelares, separando el cerebelo del bulbo en uno de los lados y, después, en el otro.

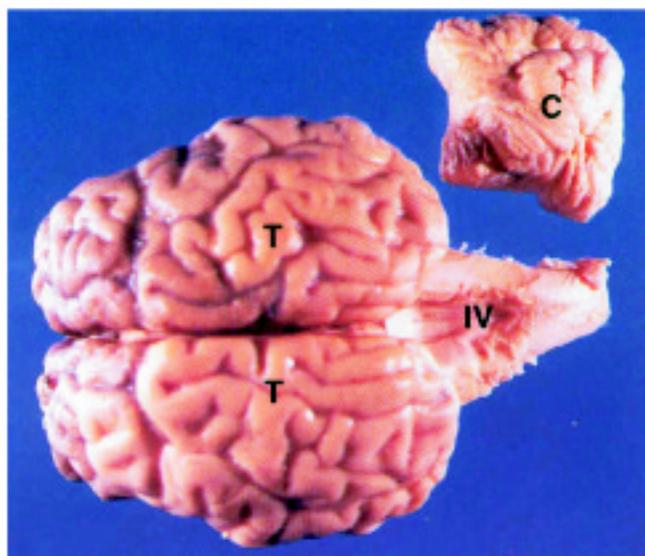


Figura 5. Al finalizar la operación descrita en la Figura 4, el cerebelo estará completamente separado del encéfalo. Los hemisferios telencefálicos (T), el 4º ventrículo (IV) y el cerebelo (C) están identificados en la figura.

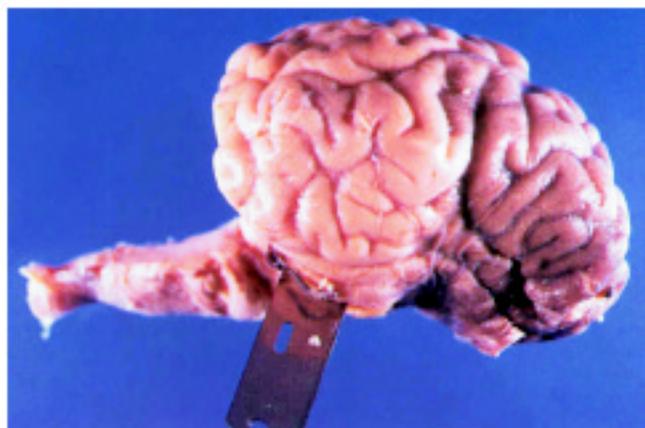


Figura 6. Separe el tronco encefálico del resto del encéfalo, cortando de los dos lados, a la altura del tálamo, como muestra la figura.



Figura 7. Al terminar la operación descrita en la Figura 6, el encéfalo estará dividido en tres partes: el tronco encefálico (arriba, a la derecha), el cerebelo (abajo, a la izquierda) y los hemisferios telencefálicos.



Figura 8 A



Figura 8 B

Figura 8. A. Para la obtención de la muestra 1, que será enviada para exámenes virológicos y/o bacteriológicos, una tajada de cerca de 0,5 cm es retirada a lo largo del vermis del cerebelo. **B.** Esta tajada (1) debe ser refrigerada o congelada.

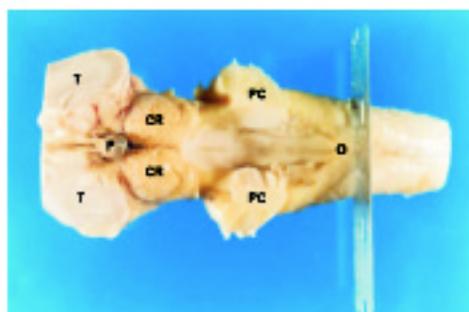


Figura 9 A



Figura 9 B

Figura 9. A. Para obtener la muestra 2, corte un segmento transversal de aproximadamente 2,5 cm de la médula cervical, en el punto donde el tronco encefálico fue separado de la médula cervical. Óbex (O), pedúnculos cerebelares (PC) colícolos craneales (CR), pineal (P) y tálamo (T). **B.** Este segmento (2) debe ser refrigerado o congelado.



Figura 10. Para obtener la muestra 3, corte un segmento transversal del tálamo (T) de cerca de 1 cm de altura.

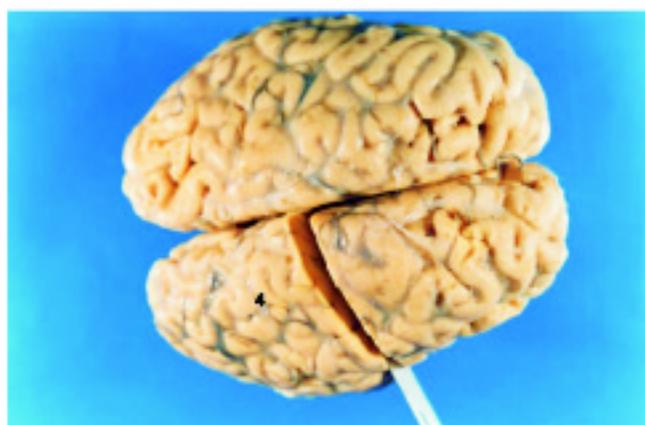


Figura 11. La muestra 4 es obtenida dividiendo uno de los hemisferios cerebrales a la altura del quiasma óptico, separando la parte craneal (4) del resto.

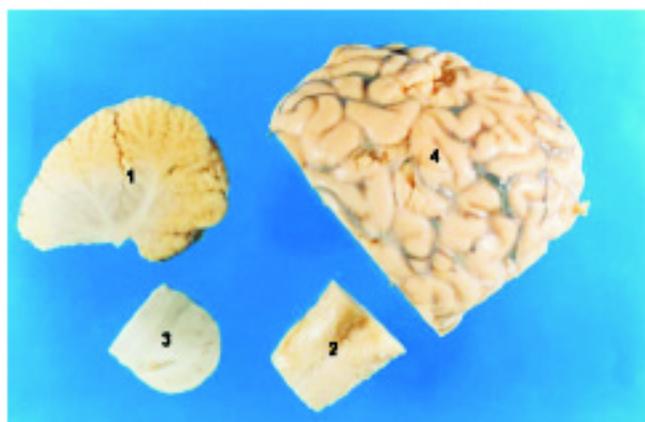


Figura 12. Esas son la cuatro muestras para el examen virológico o bacteriológico. 1, tajada del cerebelo seccionada a lo largo del vermis; 2, segmento de médula cervical; 3, tajada del tálamo y 4, mitad caudal de uno de los hemisferios telencefálicos. Esos fragmentos deben ser enviados refrigerados o congelados.



Figura 13. El material mostrado en esta figura es el que resta después de la retirada de las muestras 1-4 para los exámenes virológicos/bacteriológicos. Ese material es formado por el tronco encefálico completo (arriba, a la derecha), dos partes del cerebelo (abajo, a la derecha) y $\frac{3}{4}$ de los hemisferios telencefálicos. Es destinado al examen histológico y debe ser fijado en formol a 10%.



**PROCESAMIENTO DEL ENCÉFALO PARA
EL DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO
DE LA ENCEFALOPATÍA ESPONGIFORME DE LOS BOVINOS**

Claudio S.L. de Barros, Med. Vet., PhD.
Professor de Patologia
Jefe del Laboratorio de Patologia
Departamento de Patologia
Universidade Federal de Santa Maria
Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil

PROCESAMIENTO DEL ENCÉFALO PARA EL DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO DE LA ENCEFALOPATÍA ESPONGIFORME DE LOS BOVINOS

1 - Introducción

Esta es la segunda parte del manual iniciado con la retirada del encéfalo de bovinos para examen laboratorial. El objetivo de la primera parte fue dar una orientación para la retirada, en el campo, del encéfalo de bovinos y su preparación para el envío al laboratorio. Esta segunda parte tratará del procesamiento del material, en el laboratorio, para examen histológico. El objetivo principal de los manuales es dar bases para el diagnóstico de la encefalopatía espongiforme de los bovinos (BSE) y posibilitar la mantención de un sistema de vigilancia para la enfermedad en el Brasil. Sin embargo, es nuestra intención que las indicaciones presentadas permitan, también, el diagnóstico de otras enfermedades del sistema nervioso en bovinos. Con esa finalidad, la primera parte incluye instrucciones para el envío de material para exámenes virológicos (principalmente rabia), bacteriológicos e histológicos.

Las principales enfermedades que afectan, directa o indirectamente, el sistema nervioso de bovinos en el Brasil, son brevemente revisadas para orientar el diagnóstico diferencial. Esas enfermedades serán tratadas resumidamente, mas, el lector podrá encontrar mayores detalles sobre cada una de ellas en las publicaciones presentadas en las referencias^{1,4-6}. Las instrucciones para el procesamiento y examen histológico llevan en consideración el material recibido en formol por el laboratorio, de acuerdo con el manual para colecta del encéfalo.

2 - Encefalopatía espongiiforme de los bovinos (BSE)

2.1 Localización de los cortes a obtener para el diagnóstico histológico de la BSE

El examen macroscópico debe ser hecho en el encéfalo fijado. El cerebro es rutinariamente cortado con intervalos de 5 mm, y las dos superficies de corte son examinadas. Los cortes usados para el diagnóstico de la BSE son obtenidos del tronco encefálico (Figura 1). Son recomendados cortes en cuatro locales:

1. Bulbo al nivel del óbex (Figura 2)
2. Puente al nivel de los pedúnculos cerebelares caudales (posteriores) (Figura 3)
3. Mesencéfalo incluyendo el cuerpo cuadrigémino caudal (inferior) (Figura 4)
4. Mesencéfalo incluyendo el cuerpo cuadrigémino craneal (superior) y núcleo rojo (Figura 5)

2.2 Lesiones histológicas en la BSE

Las lesiones microscópicas en la BSE son altamente específicas y consideradas patognomónicas^{2,7-10}. Son lesiones degenerativas, simétricas y bilaterales, y se localizan en determinadas regiones de la sustancia gris del tronco encefálico⁸⁻¹⁰. Dos tipos de formación neuronal de vacuolos son observados. En la neurópila, hay vacuolos en los neuritos de hasta 20 μ m de diámetro - alteración espongiiforme (Figura 6). En el pericario hay vacuolos mayores, solitarios o múltiples, que llegan a 30-40 μ m de diámetro (Figura 7). Esos vacuolos dilatan el pericario y producen neuronas globosas que conservan solamente una fina cinta de citoplasma (Figura 8). La presencia de vacuolos en la neurópila de la sustancia gris y en el pericario de las neuronas, son los criterios para el diagnóstico positivo de la BSE, en el examen histológico¹⁰.

Atención: vacuolos en el citoplasma de las neuronas del núcleo rojo del mesencéfalo son un hallazgo casual común en cerebros de bovinos y encontrados en 64% de encéfalos de bovinos normales³. Cuando son encontrados solamente en ese local, no deben ser considerados en el diagnóstico de la BSE^{9,10}.

La distribución de las lesiones es bastante regular¹⁰. Ellas ocurren principalmente en el núcleo del tracto solitario, en el tracto espinal del trigémino, en el núcleo vestibular, en la formación reticular del bulbo, en la substancia gris periacueductal del mesencéfalo, en el área paraventricular del tálamo y en el septo talámico. La densidad de vacuolos es mayor en el bulbo, el mesencéfalo y el tálamo. Alteraciones en el cerebelo, hipocampo, núcleos basales y corteza cerebral son mínimas.

El mapeamiento de las lesiones en 684 cerebros afectados por la BSE, reveló que, en 99,6% de los casos, el corte del bulbo al nivel del óbex (vea la Figura 2) presentó las alteraciones típicas de la enfermedad, principalmente las alteraciones espongiiformes en el núcleo del tracto solitario y en el tracto espinal del nervio trigémino (vea la Figura 6), lo que indica que ese es el corte del cerebro más importante para el diagnóstico. Esferoides y necrosis individual de neuronas ocurren ocasionalmente, pero hay evidencias de neuronofagia. No hay reacción inflamatoria, y puede haber gliosis discreta con formación de gemistocitos. En una pequeña proporción de los casos, hay amiloidosis.

Inflamaciones no purulentas inespecíficas (manguitos perivasculares) son encontradas en cerca de 30% de los bovinos adultos normales³ y pueden resultar de infecciones subclínicas o latentes. Del mismo modo, aparecen gránulos intracitoplasmáticos de ceroide-lipofuscina en las neuronas. Esos hallazgos no parecen tener significado¹⁰ y deben ser considerados como casuales.

3 - Diagnósticos diferenciales

Los disturbios neurológicos de bovinos pueden ser resultado de varias causas^{1,4-6}. En Brasil, la enfermedad más frecuentemente diagnosticada en bovinos con signos clínicos de disturbios nerviosos es la rabia.

Los signos clínicos de rabia pueden ser confundidos con BSE , pero la observación clínica por un período prolongado ayuda a diferenciar las dos enfermedades. En la rabia, el curso clínico es, en general, más corto (2-7 días). El examen de inmunofluorescencia realizado en material sin fijar, resuelve la cuestión. Además, las lesiones histológicas de BSE son bastante típicas y diferentes de aquellas de la rabia. En esta última, hay meningoencefalite no supurativa y, muchas veces, inclusiones acidófilas en neuronas - los corpúsculos de Negri.

Un estudio cuidadoso de la historia clínica, de la epidemiología y de los hallazgos de necropsia, ayuda a distinguir varias enfermedades neurológicas de bovinos. Por ejemplo, las enfermedades genéticas o congénitas ocurren en animales recién nacidos o muy jóvenes, mientras que la BSE ocurre solamente en animales adultos (4 a 5 años). Por otro lado, ciertas intoxicaciones; como la causada por la toxina del hongo *Claviceps paspali*, ocurren apenas al inicio del otoño, cuando la gramínea parasitada (*Paspalum spp*) está germinando. Los principales disturbios neurológicos observados en bovinos en Brasil están relacionados en las Tablas 1-4. Allí son mostrados la edad y la categoría de los animales afectados, los principales signos clínicos y lesiones encontradas en cada enfermedad. Las informaciones que componen las Tablas sirven apenas como orientación para el diagnóstico diferencial. Más informaciones sobre cada una de esas enfermedades deberán ser obtenidas de los trabajos relacionados en la lista de referencias o en libros texto especializados..

4 - Cortes adicionales

Cortes adicionales deben ser realizados regularmente para facilitar el diagnóstico diferencial de otras enfermedades del sistema nervioso. Esos cortes son:

1. Corte sagital medial por el vermis del cerebelo (Figura 9)
2. Corteza frontal rostralmente al quiasma óptico (Figura 10)
3. Corteza parietal al nivel de los cuerpos mamilares (Figura 11)

En los casos cuando el examen de los blocos seleccionados inicialmente no es conclusivo, deben ser hechos cortes adicionales, de acuerdo con la decisión del patólogo.

5 - Referencias

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

ANEXO I

Tabla 1. Algunos disturbios neurológicos de causas genéticas/congénitas en bovinos

Enfermedad	Edad/categoría	Signos clínicos	Lesiones
Hidrocefalia	RN	Mugidos continuos, incapacidad de permanecer en estación.	Cráneo abovedado, ventrículos cerebrales dilatados.
Hipoplasia cerebelar	RN	Incapacidad de mantener la postura, incoordinación, visión comprometida.	Cerebelo pequeño o ausente.
Hipomielinogénesis congénita	RN	Ocurriencia esporádica. Ataxia progresiva, decubito.	Histología: ausencia de mielina en la sustancia blanca.
Abiotrofia cerebelar	Hasta los 6 meses	Ocurriencia esporádica. Ataxia, dismetría, movimientos rítmicos con la cabeza.	Histología: degeneración de neuronas cerebelares.

RN= recién nacidos

Tabla 2. Algunos disturbios neurológicos de causas metabólicas/nutricionales en bovinos

Enfermedad	Edad/categoría	Signos clínicos	Lesiones
Polioencefalomalacia	Animales jóvenes/confinados	Diarrea, movilidad disminuida, nistagmo, decubito, ceguera, movimentación de las orejas, opistótonos, convulsiones terminales, coma.	Necrosis de la sustancia gris del encefalo.
Cetosis	Vacas lecheras de alta producción con déficit energético/ Privación súbita de alimento en vacas de corte preñadas	Adelgazamiento, lamedura incessante, rozar de dientes, salivación, incoordinación, andar en círculos, presión de la cabeza contra objetos, temblores y tetania.	Degeneración grasa del hígado.
Fiebre vitularia	En el periodo perinatal/vacas de leche	Excitación inicial, espasmos tetánicos localizados que evolucionan para decubito esternal, depresión de reflejos, midriasis, decubito lateral, pérdida de la consciencia, coma y muerte.	No hay lesiones.

Tabla 3. Algunos disturbios neurológicos de causas infecciosas en bovinos

Enfermedad	Edad/categoría	Signos clínicos	Lesiones
Rabia	Todas las edades	Forma paralizante más comun. Puede presentar mugidos continuos, manía, temblor, salivación, constipación y parálisis.	Meningoencefalitis no purulenta, corpúsculos de inclusión acidofílicos en el citoplasma de neuronas (corpúsculos de Negri)
Meningoencefalitis por herpesvirus bovine 5	Principalmente animales jóvenes	Fiebre, dolor abdominal, presión de la cabeza contra objetos, andar en círculos, parálisis flácida de la lengua, depresión.	Meningoencefalitis no purulenta, vasculitis, necrosis neuronal, corpúsculos acidofílicos intranucleares en los astrocitos y neuronas.
Fiebre catarral maligna	Generalmente en adultos	Ocurriencia esporádica, menos frecuente en brotes. Asociado a la presencia de ovinos, principalmente en la época de partición. Descarga nasal mucopurulenta, fiebre, edema de párpados, opacidad de la córnea, congestión de los vasos de la esclerótica. Diarrea o constipación. Hiperemia o ulceraciones en las mucosas, dermatitis. Depresión profunda, incoordinación. Presión de la cabeza contra objetos, convulsiones y parálisis.	Histología: encefalomielitis no purulenta, arteritis y exudado fibrinoso en las meninges. Lesiones generalizadas de proliferación de células linfoides, vasculitis con necrosis y necrosis de epitelios.
Listeriosis	En todas las edades, mas principalmente en adultos	Mandíbula "caída", salivación, hipotalgesia facial, ptosis, oreja caída (generalmente unilateral), pérdida del reflejo palpebral de defensa, andar en círculos, ataxia, hemiparesis.	Puede no haber lesiones macroscópicas o pueden ser observados pequeños focos (microabscesos) marrón rojizos en el tronco encefálico. Histología: microabscesos en el tronco encefálico, antraxitos perivasculars mononucleares, Listeria monocytogenes puede ser aislada en cultura del material no fijado, pero la cultura es difícil. Los microorganismos pueden ser observados por la coloración de Gram en tejidos.
Babesiosis (Babesia bovis) cerebral	En todas las edades, mas principalmente en adultos	Fiebre, depresión, postración y ataques convulsivos.	Cortaza encefálica de color rojizo (patognomónico). Histología: edema y congestión de la cortaza. En frotis de la cortaza, B. bovis es fácilmente identificable en los eritrocitos que están secuestrados en los capilares.
Botulismo	Animales adultos	Parálisis flácida	Sin lesiones.
Coccidiosis	terneros, principalmente en confinamiento o estabulados	Diarrea con sangre. Ataxia, temblores musculares, ceguera, hiperestesia, convulsiones tónico-clónicas, nistagmo, opistótonos.	Hay solamente lesiones relacionadas al parasitismo intestinal (eimeriosis). No hay lesiones encefálicas. La forma nerviosa es aparentemente producida por una toxina elaborada por las coccidias intestinales

Tabela 4. Algunos disturbios neurológicos de causas tóxicas y neoplásicas en bovinos.

Enfermedad	Edad/categoría	Signos clínicos	Lesiones
Encefalopatía hepática secundaria a la intoxicación por <i>Jenecio</i> spp.	Adultos	Agresividad, ataxia, andar en círculos, depresión, tenesmo, diarrea.	Edema subcutáneo, edemas en las cavidades, edema de los pliegues del abomaso. Histología: fibrosis hepática con megalocitosis de hepatocitos e hiperplasia de ductos biliares. En el sistema nervioso central (SNC) ocurre degeneración esponjosa (edema) de la sustancia blanca.
Intoxicación por <i>Ateleva galanzoviána</i>	Varias edades	Apatía, ceguera, andar titubeante, heces secas, orejas "caídas". La enfermedad está asociada también a abortos en vacas, muertes súbitas y signos de insuficiencia cardíaca.	En la necropsia: áreas pálidas y firmes en el miocardio. Hígado de hueso-moscado. En el SNC ocurre degeneración esponjosa (edema) de la sustancia blanca.
Intoxicación por <i>Solanum fastigiatum</i>	Principalmente adultos	Ataques epileptiformes periódicos con extensión del pescuezo y miembros, hipermetría, nistagmo, opistótonos, temblores musculares y caídas.	Vacuolización, degeneración y desaparición de las neuronas de Purkinje del cerebelo.
Intoxicación por <i>Diplodia maydis</i> (micotoxicosis)	Diversas edades y categorías	Lagrimeo, salivación, temblores musculares, ataxia y dismetría con flexión exagerada de los miembros, dificultad para caminar, parálisis, decubito, opistótonos. Cuando retirados del acceso al maíz infectado los animales se recuperan en 7 a 10 días.	No hay lesiones específicas.
Intoxicación por <i>Claviceps paspali</i> (micotoxicosis)	Diversas edades y categorías	Temblores musculares, ataxia (ocurre en el otoño).	No hay lesiones específicas.
Intoxicación por <i>Phalaris</i> spp.	Principalmente adultos	Hiperexcitabilidad, temblores musculares, movimientos horizontales de la cabeza, incoordinación y andar titubeante.	Macroscopia: coloración verdosa, azulada o gris del SNC. Histología: pigmento marrón en el citoplasma de las neuronas.
Intoxicación por <i>Cynodum dactylon</i>	Diversas edades y categorías	Temblores musculares que se agravan, con el movimiento. Actitud alerta, ataxia, hipermetría, caídas.	No hay lesiones.
Intoxicación por Organofosforados/Carbamatos	En todas las edades	Brotos esporádicos. Salivación, diarrea, miosis, bradicardia, temblores musculares, tetania, sudoresis, ataxia, desorientación, convulsiones y coma.	Degeneración de nervios periféricos y tratos de la médula espinal.
Neoplasias			
Leucosis enzoótica	Adultos, más común en vacas lecheras	Incoordinación de los miembros posteriores y parálisis.	Masa tumoral (linfo sarcoma) blanca y blanda comprimiendo la médula espinal. Hay también tumores semejantes en otros locales (ganglios linfáticos, miocardio, abomaso, etc.).

ANEXO 2

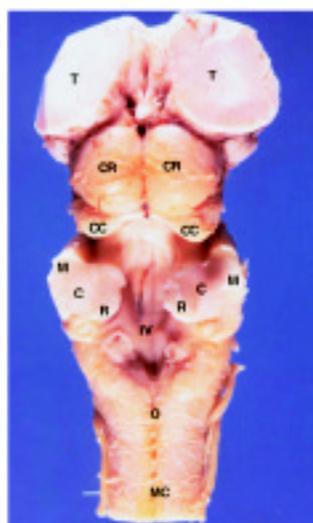


Figura 1. Vista dorsal del tronco encefálico de bovino. Fue retirado el cerebelo. Están identificados los cuerpos cuadrigéminos craneal (CR) y caudal (CC), pedúnculos cerebelares medial (M), caudal (C) y craneal (R), suelo del cuarto ventrículo (IV), óbex (O) y médula cervical (MC).

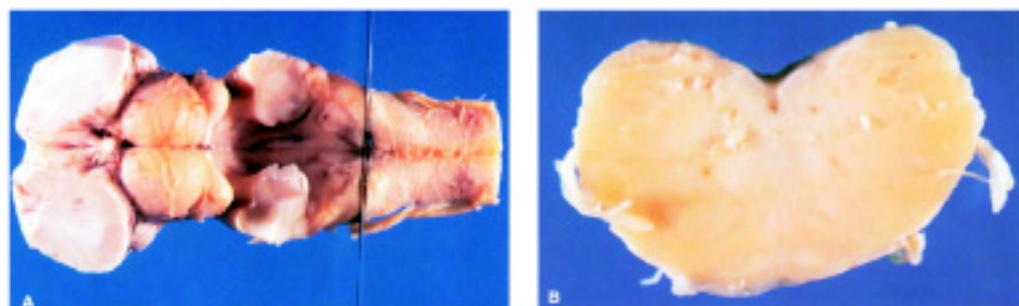


Figura 2. Locales de los cuatro cortes a efectuar en el tronco encefálico para el diagnóstico de la BSE. **A.** Corte 1, bulbo al nivel del óbex. **B.** Sección obtenida por el corte 1 que deberá ser procesada para examen histológico.

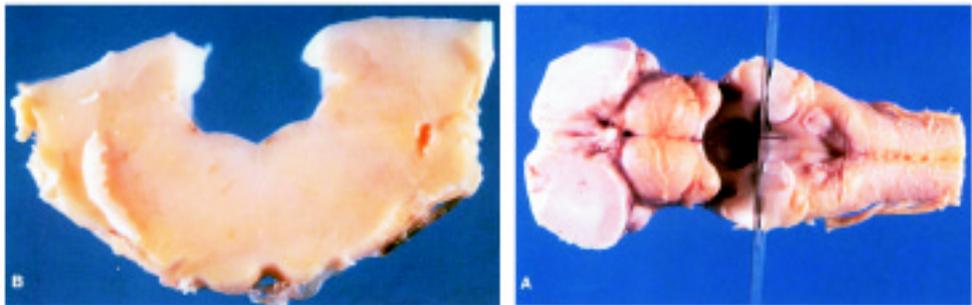


Figura 3. Locales de los cuatro cortes a efectuar en el tronco encefálico para el diagnóstico de la BSE. **A.** Corte 2, puente al nivel de los pedúnculos cerebelares caudales (posteriores). **B.** Sección obtenida por el corte que deberá ser procesada para examen histológico.

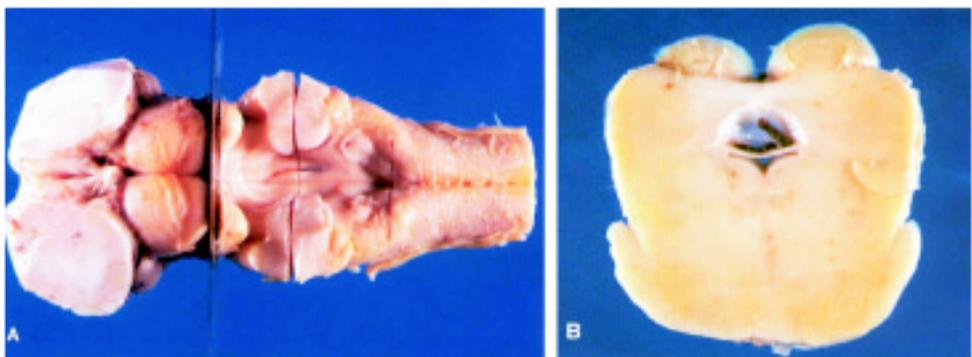


Figura 4. Locales de los cuatro cortes a efectuar en el tronco encefálico para el diagnóstico de la BSE. **A.** Corte 3, mesencéfalo incluyendo el cuerpo cuadrigémino caudal (inferior). **B.** Sección obtenida por el corte 3 que deberá ser procesada para examen histológico.

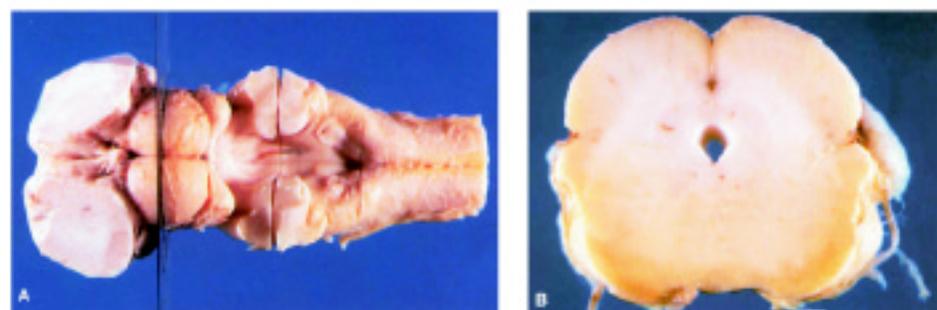


Figura 5. Locales de los cuatro cortes a efectuar en el tronco encefálico para el diagnóstico de la BSE. **A.** Corte 4, mesencéfalo incluyendo el cuerpo cuadrigémino craneal (superior) y núcleo rojo. **B.** Sección obtenida por el corte 4 que deberá ser procesada para examen histológico.

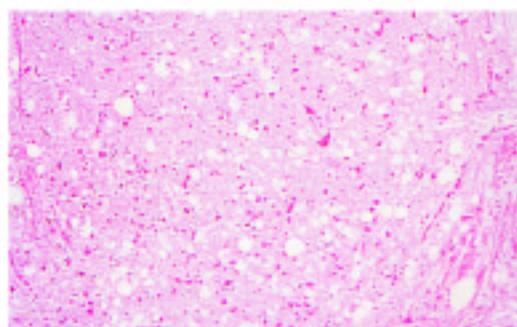


Figura 6. Encefalopatía espongiforme de los bovinos. Microcavitaciones (alteración espongiforme) en la sustancia gris dorsal del bulbo. Método de hematoxilina y eosina (Fotografiado de lámina cedida por el Dr. G.A.H. Wells).

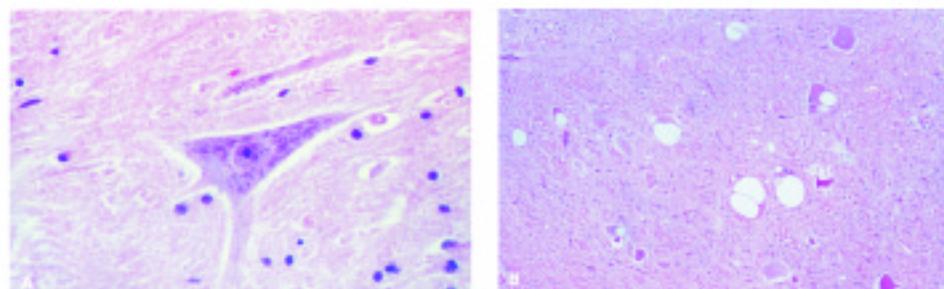


Figura 7. A. Neurona normal. El citoplasma muestra la substancia de Nissl característica, formada por gránulos azulados. Coloración de hematoxilina y eosina. **B.** Varias neuronas del bulbo con vacuolos solitarios o múltiples en el epicario. Coloración de hematoxilina y eosina (la lesión mostrada en B fue fotografiada de una lámina cedida por el Dr. G.A.H. Wells).

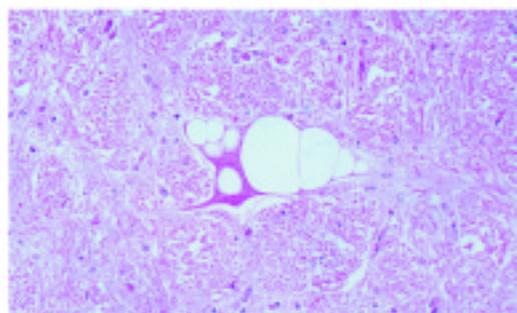


Figura 8. Múltiplos vacuolos en una neurona del bulbo. Esas vacuolos dilatan el pericario, produciendo una neurona de aspecto globoso que conserva apenas un fino margen de citoplasma. Coloración de hematoxilina y eosina (Fotografiado de una lámina cedida por el Dr. G.A.H. Wells).

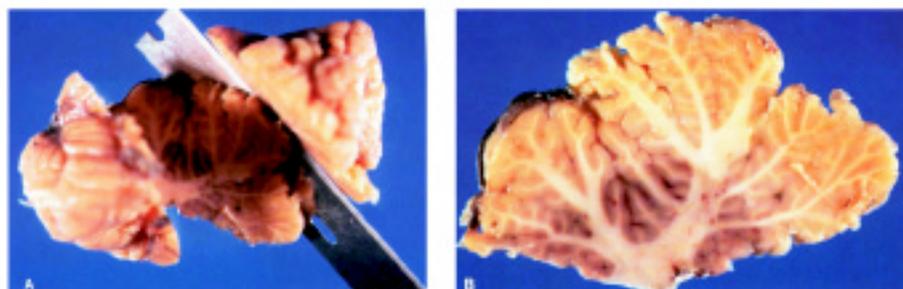


Figura 9. Cortes adicionales. A. Corte por el vermis del cerebelo. B. Sección obtenida que deberá ser procesada para examen histológico.

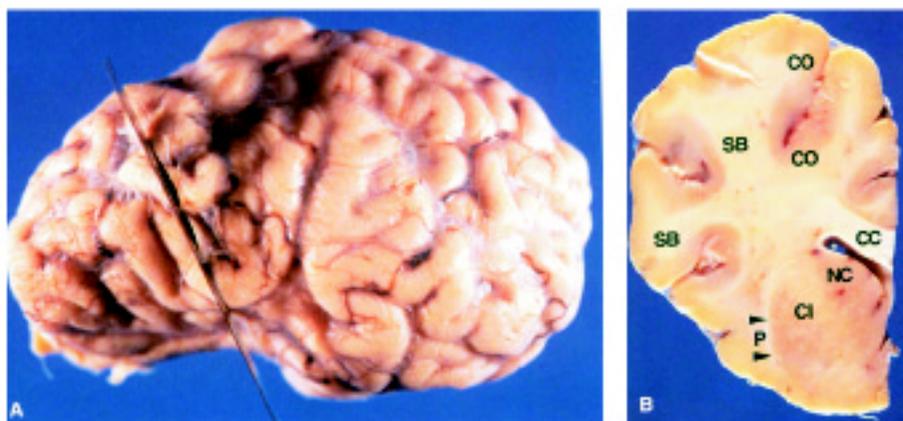


Figura 10. Cortes adicionales. A. Corte transversal del cerebro, pasando por la corteza frontal cranealmente al quiasma óptico. B. Sección obtenida que deberá ser procesada para examen histológico. Si fuera necesario, divida la corteza para entrar en el casete de encaminamiento de material. Cuerpo caloso (CC), cápsula interna (CI) núcleo caudado, (NC), putamen (P), cápsula externa (cabezas de flecha), substancia blanca subcortical (SB), corteza (CO), ventrículo lateral (asterisco).

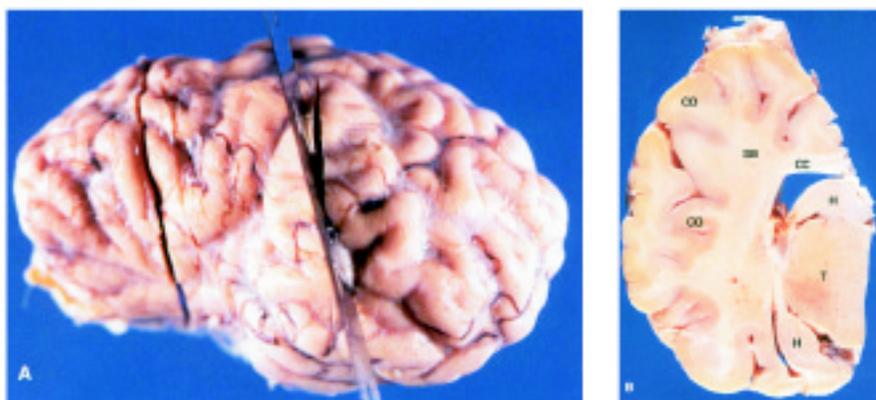


Figura 11. Cortes adicionales. **A.** Corte transversal del cerebro, pasando por la corteza parietal a la altura de los cuerpos mamilares. **B.** Sección obtenida que deberá ser procesada para examen histológico. Si fuera necesario divide la corteza para caber en el casete de encaminamiento de material. Cuerpo caloso (CC), hipocampo (H), tálamo (T), sustancia blanca subcortical (SB), corteza (CO).

LABORATORIOS ACREDITADOS POR EL MAPA PARA EL DIAGNOSTICO HISTOPATOLOGICO DE LAS EETS

DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA - UFSM

Resp.: Dr. Claudio Severo Lombardo Barros - Santa Maria, RS - Brasil Cep: 97.105-900
e-mail: claudiosevero@ufsm.br or barrosca@fincsa.hcv.ufsm.br
Tel.: 55 (55) 320-8148 Fax: 55 (55) 320-8284

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

Resp.: Dr. Euripedes Batista Guimarães
Rua Felinto Müller, 2443 Cep: 79.070-900 Campo Grande Mato Grosso do Sul - Brasil
Tel.: 55 (67) 345-3615 Fax: 55 (67) 345-3600 e-mail: etg@trin.ufms.br

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

Resp.: Dr. David Dismember - Av. Bento Gonçalves, 9090 - Brasil Cep: 91.540-000
Tel.: 55 (51) 3316-6107 Fax: 55 (51) 3316-7305 e-mail: davepat@vovox.ufrgs.br

LABORATÓRIO DE PATOLOGIA ANIMAL DO CENTRO DE SAÚDE ANIMAL E TECNOLOGIA RURAL DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE/PB

Resp.: Dr. Franklin Ret Correa Amaral - Avenida Universitária s/nº, Santa Cecília CEP: 58708-110 Patos/PB Brasil
Tel.: 55 (83) 421 3397 Fax: 55 (83) 421-4659 e-mail: ries@cczar.ufcg.edu.br

LABORATÓRIO DO INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA - IMA/MG

Resp.: Dr. Arilton César Vasconcelos - Avenida do Contorno nº 1707 A - Floresta CEP 30110-078 Belo Horizonte/MG Brasil
Tel.: 55 (31) 3213-4263 Fax: 55 (31) 3213-4263 e-mail: laboratorioanimalma@ifmto.com.br

LABORATÓRIO DE ANATOMIA PATOLÓGICA DO INSTITUTO BIOLÓGICO DE SÃO PAULO - SP

Resp.: Dr. Romeu Macruz - Avenida Conselheiro Rodrigues Alves nº 1252, Vila Mariana CEP 04014-002 São Paulo/SP Brasil
Tel.: 55 (11) 5087 1710 Fax: 55 (11) 5087-1779 e-mail: lara@biologico.sp.gov.br

DELEGACIAS FEDERALES DE LA AGRICULTURA EN LOS ESTADOS

DFA/AC - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO ESTADO DO ACRE
SSA - SETOR DE SANIDADE ANIMAL
RODOVIA AC-40, Nº 793 - SEGUNDO DISTRITO
69901-180 Rio Branco/AC
55 (68) 321.4815 / 221.3817 - FAX 221.3812
ssa-ac@agricultura.gov.br

DFA/AM - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO ESTADO DE AMAZONAS
SSA - SETOR DE SANIDADE ANIMAL
RUA MACEIO, 460 - ADRIANÓPOLIS
69057-010 Manaus/AM
55 (92) 234.7814 - FAX 234.3426
ssa-am@agricultura.gov.br

DFA/DF - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO DISTRITO FEDERAL
SSA - SERVIÇO DE SANIDADE ANIMAL
SBN Q.01, BL.D - 5º Andar
ED. PALÁCIO DESENVOLVIMENTO
70057-900 Brasília/DF
55 (61) 326.8968 / 326.2035 - FAX 326.2565
ssa-df@agricultura.gov.br

DFA/MA - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO ESTADO DO MARANHÃO
SSA - SETOR DE SANIDADE ANIMAL
PRAÇA DA REPÚBLICA, 147 - BAIRRO DIAMANTE
65020-130 São Luís/MA
55 (98) 331.0817 / 221.4393 - FAX 221.4786
ssa-ma@agricultura.gov.br

DFA/MG - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO ESTADO DE MINAS GERAIS
SSA - SERVIÇO DE SANIDADE ANIMAL
Av. RAJA GABAGLIA, 245 - CIDADE JARDIM
30180-070 Belo Horizonte/MG
55 (31) 3250.0306 / 3250.0300 - FAX 3250.0314
ssa-mg@agricultura.gov.br

DFA/PR - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO ESTADO DO PARANÁ
SSA - SERVIÇO DE SANIDADE ANIMAL
RUA JOSÉ VERISSIMO, 420 - TARUMÁ,
83820-000 Curitiba/PR
55 (41) 361.4040 / 361.4042 / 361.4000 - FAX 267.2411
ssa-pr@agricultura.gov.br

DFA/AL - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO ESTADO DE ALAGOAS
SSA - SETOR DE SANIDADE ANIMAL
AVENIDA FERNANDES LIMA, 72 - BARRIO FAROL
37050-900 Maceió/AL
55 (82) 323.2767 / 221.5020 - FAX 221.7047 / 326.3349
ssa-al@agricultura.gov.br

DFA/BA - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO ESTADO DA BAHIA
SSA - SETOR DE SANIDADE ANIMAL
LARGO DOS AFLITOS, S/N - ED. CERES
40060-030 Salvador/BA
55 (71) 320.7436 / 320.7637 - FAX 320.7490
ssa-ba@agricultura.gov.br

DFA/ES - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO ESTADO DO ESPÍRITO SANTO
SSA - SERVIÇO DE SANIDADE ANIMAL
AV. SRS. DOS NAVEGANTES, N.495,
8º AND-PRACA DO SOL
29050-420 Vitória/ES
55 (27) 3137.2703 / 3137.2700 - FAX 325.8427
ssa-es@agricultura.gov.br

DFA/MT - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO ESTADO DE MATO GROSSO
SSA - SERVIÇO DE SANIDADE ANIMAL
ALAMEDA DR. ANIBAL MOLINA, S/N - PONTE NOVA
78115-901 Várzea Grande/MT
55 (65) 685.2230 / 685.1030 - FAX 685.1887
ssa-mt@agricultura.gov.br

DFA/PA - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO ESTADO DO PARÁ
SSA - SETOR DE SANIDADE ANIMAL
Av. ALMIRANTE BARROSO, 5384 - SOLJZA
66030-000 Belém/PA
55 (91) 243.3355 / 243.4360 - FAX 231.5878
ssa-pa@agricultura.gov.br

DFA/PE - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO ESTADO DE PERNAMBUCO
SSA - SETOR DE SANIDADE ANIMAL
Av. GENERAL SAN MARTIN, 1000 - BONGI
50630-060 Recife/PE
55 (81) 3445.4774 / 3227.3911 - FAX 3227.0309
ssa-pe@agricultura.gov.br

DFA/AP - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO ESTADO DE AMAPÁ
SSA - SETOR DE SANIDADE ANIMAL
RUA TIRADENTES, 469 - BARRIO CENTRAL
68906-380 Macapá/AP
55 (96) 223.3079 R.312 - FAX 222.4467
ssa-ap@agricultura.gov.br

DFA/CE - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO ESTADO DO CEARÁ
SSA - SETOR DE SANIDADE ANIMAL
Av. DOS EXPEDICIONÁRIOS, 3442 - BENFICA
60410-410 Fortaleza/CE
55 (85) 281.3211 / 281.0167 - FAX 281.0004
ssa-ce@agricultura.gov.br

DFA/GO - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO ESTADO DE GOIÁS
SSA - SERVIÇO DE SANIDADE ANIMAL
PRAÇA CÍVICA 100, 3º Andar
CK. POSTAL 149
74003-010 Goiânia/GO
55 (62) 224.4549 / 221.7306 - FAX 229.0400
ssa-go@agricultura.gov.br

DFA/MS - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO ESTADO DE MATO GROSSO DO SUL
SSA - SERVIÇO DE SANIDADE ANIMAL
RUA DOM AQUINO, 2696 - CENTRO
79002-970 Campo Grande/MS
55 (67) 325.7100 - FAX 325.7666
ssa-ms@agricultura.gov.br

DFA/PB - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO ESTADO DA PARAÍBA
SSA - SETOR DE SANIDADE ANIMAL
BR-230, KM 14, ESTRADA
JOÃO PESSOA/Cabedelo
58310-000 Cabedelo/PB
55 (83) 246.2123 / 246.1335 - FAX 246.2535
ssa-pb@agricultura.gov.br

DFA/PI - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO ESTADO DO PIAUÍ
SSA - SETOR DE SANIDADE ANIMAL
RUA TALMATURGO DE AZEVEDO, 1315
64001-340 Teresina/PI
55 (86) 222.4545 R/226 - FAX 222.4524
ssa-pi@agricultura.gov.br

DFA/RN - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO ESTADO DO RIO GRANDE DO NORTE
SSA - SETOR DE SANIDADE ANIMAL
AV. HILDEBRANDO DE GÓES, 150 - RIBEIRA
59010-700 Natal/RN
55 (84) 221.2430 / 221.1741 R/211 - FAX 221.2430
ssa-rn@agricultura.gov.br

DFA/RO - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO ESTADO DE RONDÔNIA
SSA - SETOR DE SANIDADE ANIMAL
BR-364, KM 5,5 - SENTIDO A CUIABÁ - CP 35
78900-970 Porto Velho/RO
55 (69) 216.5907 - FAX 222.2460
ssa-ro@agricultura.gov.br

DFA/SE - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO ESTADO DE SERGIPE
SSA - SETOR DE SANIDADE ANIMAL
AV. JOÃO RIBEIRO, 428 - CENTRO
49065-000 Aracaju/SE
55 (79) 215.4646 R/353 - FAX 215.4814
ssa-se@agricultura.gov.br

DFA/RS - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL
SSA - SERVIÇO DE SANIDADE ANIMAL
AV. LOUREIRO DA SILVA, 515, 7º. Andar, 5/701
90010-420 Porto Alegre/RS
55 (51) 3221.0744 / 3221.0612 / 3221.0189
FAX 3225.2732
ssa-rs@agricultura.gov.br

DFA/RR - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO ESTADO DE RORAIMA
SSA - SETOR DE SANIDADE ANIMAL
AVSANTOS DUMONT, 582 - CRI 32
BARRO DE S. PEDRO
69305-340 Boa Vista/RR
55 (95) 623.9605 R/29 - FAX 623.9271
ssa-rr@agricultura.gov.br

DFA/SP - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO ESTADO DE SÃO PAULO
SSA - SERVIÇO DE SANIDADE ANIMAL
AV. 13 DE MAIO N. 1558, 9º. Andar - BELA VISTA
01327-002 São Paulo/SP
55 (11) 3284.6044 / 3284.6544
FAX 285.1492 / 287.7270
ssa-sp@agricultura.gov.br

DFA/RJ - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO
SSA - SERVIÇO DE SANIDADE ANIMAL
AV. RODRIGUES ALVES, 129, 8º. Andar
20081-250 Rio de Janeiro/RJ
55 (21) 2291.4141 - FAX 2253.8182
ssa-rj@agricultura.gov.br

DFA/SC - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO ESTADO DE SANTA CATARINA
SSA - SERVIÇO DE SANIDADE ANIMAL
RUA FELIPE SCHMIDT, Nº 755
ED. EMBADADOR, 11º ANDAR - CP 1502
88010-002 Florianópolis/SC
55 (48) 3025.9999 / 3025.9901 / 3025.9902
FAX 3025.9988
ssa-sc@agricultura.gov.br

DFA/TO - DELEGACIA FEDERAL DE AGRICULTURA NO ESTADO DE TOCANTINS
SSA - SETOR DE SANIDADE ANIMAL
183 NORTE, 1 - RUA NO 01, LOTES 33/35
77013-020 Palmas/TO
55 (63) 215.2518 R/214
ssa-to@agricultura.gov.br



Apoyo:



Ministerio de la Agricultura,
Pecuaria y Abastecimiento

