

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA  
CAMPUS URUGUAIANA  
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

**RELATÓRIO DO ESTÁGIO CURRICULAR  
SUPERVISIONADO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

Orientador: Bruno Leite dos Anjos

**Pedro Araujo Damboriarena**

Uruguaiana, julho de 2015

**PEDRO ARAUJO DAMBORIARENA**

**RELATÓRIO DE ESTÁGIO CURRICULAR SUPERVISIONADO EM  
MEDICINA VETERINÁRIA**

Relatório do Estágio Curricular Supervisionado em Medicina Veterinária apresentado ao Curso de Medicina Veterinária, Campus Uruguaiana da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária.

Orientador: Bruno Leite dos Anjos  
Médico Veterinário, Msc. Dr.

**Uruguaiana  
2015**

# **PEDRO ARAUJO DAMBORIARENA**

Relatório do Estágio Curricular Supervisionado em Medicina Veterinária apresentado ao Curso de Medicina Veterinária, Campus Uruguaiana da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para obtenção de título em Bacharel em Medicina Veterinária.

Área de concentração: Patologia Veterinária

Relatório apresentado e defendido em 13 de julho de 2015.

---

Prof. Dr. Bruno Leite dos Anjos  
Medicina Veterinária-Unipampa.

---

Prof Dr. Tiago Gallina  
Medicina Veterinária-Unipampa

---

Prof. Dr. Débora Pellegrini  
Medicina Veterinária-Unipampa

Dedico a conclusão desta etapa a meu pai, mãe e irmã, que são meus maiores exemplos de vida.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a meu pai, que me deixou valores, princípios, coragem e perseverança para nunca desistir. A minha mãe, que sempre foi uma grande guerreira, mantendo uma estrutura familiar sólida e disciplinada. Minha irmã, que também é um exemplo de dedicação e sucesso, que sempre me apoiou e me inspirou a seguir em frente. E toda minha família que sempre esteve torcendo e apoiando.

Aos meus amigos do peito, Lucas Michels, Cassio, Lucas Quevedo, Attilio, Pedro Murad, Geórgia, Deyverson, Fernando, Mário, e todos os outros que considero um verdadeiro amigo, que de perto ou de longe, tanto ajudaram e apoiaram nas horas ruins e contribuíram para as horas boas. Não chegaria até aqui, com esta felicidade no peito, sem as verdadeiras amizades.

Aos mestres e professores da Unipampa, que incansavelmente, todos os dias, estavam presentes, dedicando cada momento do seu dia para formar acadêmicos de excelente qualidade. Seus conhecimentos e valores, vamos levar para o resto da vida. Ao professor Bruno, um especial agradecimento por tudo que me ensinou, não só em conhecimentos técnicos, mas em valores de vida. Um verdadeiro multiplicador. Ao professor Mario, Tiago, Claudia, Maria Elisa e Diego Moscarelli. São exemplos de professores e seres humanos, pessoas em quem se inspirar.

À equipe de trabalho, de colegas, de pesquisadores e, mais do que tudo, de amigos, Carol, Ricardo, Raissa, Ana e Maiara. Vocês foram fonte de felicidade e alegria. Que a amizade se multiplique com o sucesso de cada um.

A toda equipe do Setor de Patologia Veterinária da UFRGS, em especial ao Professor Davi Driemeier, que é um exemplo de dedicação, confiança e humildade.

E por fim a Leonardo Perez e Ben-hur Machado, que ao longo destes cinco anos, me passaram calma e serenidade para enfrentar os problemas, sempre me ajudando e me deixando tranquilo. Não chegaria até aqui sem vocês.

*“Tenha sempre bons pensamentos,  
porque seus pensamentos se transformam em suas  
palavras.  
Tenha boas palavras,  
porque suas palavras se transformam em suas  
ações.  
Tenha boas ações,  
porque suas ações se transformam em seus hábitos.  
Tenha bons hábitos,  
porque seus hábitos se transformam em seus valores.  
Tenha bons valores,  
porque seus valores se transformam em seu próprio  
destino.”*

Mahatma Gandhi

## **RELATÓRIO DE ESTÁGIO CURRICULAR SUPERVISIONADO EM MEDICINA VETERINÁRIA - ÁREA DE PATOLOGIA VETERINÁRIA**

O Estágio Curricular Supervisionado de conclusão de curso foi realizado na área de Patologia Veterinária, no Setor de Patologia Veterinária (SPV) da Faculdade de Veterinária (FAVET) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), no período entre 2 de março de 2015 e 19 de junho de 2015. O SPV é um laboratório de referência nacional, destinado a realização do diagnóstico de doenças de animais de produção, de companhia e silvestres, através de exames de necropsia, anatomopatológicos e exames complementares. Também é um grande centro de produção científica através de atividades de pesquisa, ensino e extensão. O estágio compreendeu um total de 570 horas com carga horária de 40 horas semanais. Ao total, foram realizados 188 exames de necropsia, sendo 47% (90) caninos, 17 (32%) felinos, 14% (26) bovinos, 9% (16) equinos, 5% (10) silvestres e aves domésticas, 3% (6) ovinos, 3% (5) suínos e 2% (3) caprinos. Foram realizados 880 exames anatomopatológicos dos quais destes, 648 biópsias e 241 citológicos. Das biópsias 75 (483) foram de caninos, 10% (71) felinos, 6% (41) suínos, 3% (22) equinos, 2% (18) bovinos e 3% (13) silvestres. Dos citológicos, 96% (232) foram de caninos e 8% (9) de felinos. O diagnóstico de dois casos foram acompanhados e descritos detalhadamente, com os achados epidemiológicos e as alterações macroscópicas e microscópicas. Os casos foram Raiva bovina, que compreendeu um total de 10 necropsias, sendo apenas duas descritas detalhadamente e Intoxicação natural por *Baccharis megapotamica* var. *weirii* em caprinos. Uma terceira atividade foi descrita e correspondeu ao acompanhamento de toda técnica imuno-histoquímica (IHC) realizada no laboratório, sendo relatado os protocolos utilizados e seus respectivos propósitos de diagnóstico, bem como as doenças frequentemente diagnosticadas através da técnica. O estágio supervisionado no SPV contribuiu significativamente para a capacitação profissional como médico veterinário, especialmente na área de Patologia Veterinária, através da ampla rotina de diagnósticos de animais domésticos e silvestres.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- FIGURA 1: A. Fachada do prédio que alberga o Setor de Patologia Veterinária da UFRGS. B. Sala de necropsia. C. Laboratório de histopatologia para confecção de lâminas histopatológicas. D. Laboratório de imuno-histoquímica. Fonte: o autor.....15
- FIGURA 2: A. Laboratório de bacteriologia. B. Sala para clivagem de material. Fonte: o autor.....16
- FIGURA 3: A. Fragmento de encéfalo clivado e encaminhado em cassete para posterior processamento em bloco de parafina. B. Aparelho responsável por processar em blocos de parafina (Histotécnico). C. Aparelhos utilizados para realização dos cortes histológicos. D. Bateria de coloração de hematoxilina e eosina. Fonte: o autor.....18
- FIGURA 4: Exames de necropsia realizados nas diferentes espécies durante o período de estágio supervisionado no Setor de Patologia Veterinária da UFRGS. Fonte: o autor.....19
- FIGURA 5: Exames anatomopatológicos realizados nas diferentes espécies durante o período de estágio supervisionado no Setor de Patologia Veterinária da UFRGS.....24
- FIGURA 6: A. Ovino. Seção de um hamartoma vascular cutâneo demonstrando ausência de imunomarcção para anticorpo Von Villebrand (fator VIII) com recuperação antigênica por calor em panela de pressão a 96oC. Nota-se pigmento escuro (hematina) (seta), indicando excessiva fixação do tecido, obj.20x B. Imuno-histoquímica do mesmo hamartoma vascular cutâneo com recuperação antigênica em forno micro-ondas, onde houve excessiva imunomarcção inespecífica, com coloração de fundo, obj.40x. Fonte: o autor.....34
- FIGURA 7: A. Bovino. Imunomarcção positiva em neurônio da medula espinhal pela técnica de imuno-histoquímica (seta). Método biotina-estreptovidina-peroxidase, contra-contracorado com hematoxilina de Harris, obj.40x. B. Suíno. Imunomarcção positiva para anticorpo monoclonal anti-SIV em epitélio bronquiolar (seta), obj. 20x. C. Suíno. Imunomarcção positiva para anticorpo policlonal anti-PCV-2 no

citoplasma de macrófagos de placas de peyer (seta), obj. 20x. D. Bovino. Imunomarcção positiva anti-BVDV em células epiteliais basais de folículos pilosos (seta), obj. 40x. Fonte: o autor.....39

FIGURA 8: A. Terneira antes de ser eutanasiada demonstrando paresia dos membros posteriores. B. Exame de necropsia de bovino com bexiga marcadamente distendida (bexiga neurogênica). Fonte: o autor.....40

FIGURA 9: Medula espinhal lombar: há marcado infiltrado inflamatório composto predominantemente por linfócitos e plasmócitos circundando vasos (manguitos perivasculares). Observa-se ainda acentuada congestão e área focal de gliose. Fonte: o autor.....41

FIGURA 10: Bovino. Múltiplos corpúsculos de inclusão intracitoplasmáticos eosinofílicos em neurônio da medula espinhal lombar. Fonte: o autor.....42

FIGURA 11: A. Bovino em decúbito lateral em estágio terminal de raiva. B. Encéfalo com moderada hiperemia dos vasos das leptomeninges. C. Abscesso hepático que se estende do parênquima até a cápsula com 8cm de diâmetro. D. Pâncreas acentuadamente esbranquiçado e firme ao corte, evidenciando múltiplos exemplares de *Eurytrema pancreaticum* no interior dos ductos. Fonte: o autor.....43

FIGURA 12: Corte transversal da medula espinhal. Observa-se marcado infiltrado inflamatório linfoplasmocitário circundando vasos da substância branca e cinzenta da medula espinha. HE, obj.10x. Fonte: o autor.....44

FIGURA 13: Glânglio de Glasser. Há marcado infiltrado inflamatório linfoplasmocitário com necrose neuronal e neuroniofagia. Observa-se ainda nódulos gliais, denominados nódulos de Babe (seta). HE, obj.20x. Fonte: o autor.....45

FIGURA 14: Casa abandonada no campo. B. Piso evidenciando as fezes dos morcegos. Fonte: o autor.....47

- FIGURA 15: A. Exemplares de *Baccharis megapotamica* var. *weirii* na beira de um reservatório de água na propriedade. B. Exemplar em floração. Fonte: o autor.....52
- FIGURA 16: A. Área focalmente extensa avermelhada da parede do rúmen, que se encontra distendido e com marcada congestão de vasos. B. Abomaso. A mucosa está difusamente avermelhada com áreas focalmente extensas de hemorragia. C. Rúmen. Área focalmente extensa avermelhada com numerosas úlceras multifocais a coalescentes na mucosa. D. Superfície de corte de alguns linfonodos mesentéricos com marcada hemorragia. Fonte: o autor.....53
- FIGURA 17: A. Observa-se desprendimento do epitélio das papilas do rúmen com vacuolização e necrose das células epiteliais. HE, obj.10x. B. Em maior aumento evidenciando a degeneração e necrose do epitélio ruminal e formação de fendas com ocasionais células inflamatórias no seu interior. HE, obj.40x. C. Omaso: há marcada ulceração focalmente extensa do epitélio de revestimento com grande quantidade de debris celulares e infiltrado inflamatório. Observa-se ainda agregados bacterianos basofílicos na superfície do epitélio ulcerado e numerosos vasos sanguíneos ocluídos por trombos. HE, obj.20x. D. Linfonodo: necrose focalmente extensa no centro germinativo. HE, obj.20x. Fonte: o autor.....54

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1: Modelo de registro de exame de necropsia no livro de (N) do SPV-UFRGS.....	16
TABELA 2: Enfermidades diagnosticadas em caninos em exames de necropsia, durante o período do ECSMV no SPV-UFRGS.....	19
TABELA 3: Enfermidades diagnosticadas em felinos em exames de necropsia durante o período do ECSMV no SPV-UFRGS.....	21
TABELA 4: Enfermidades diagnosticadas em felinos em exames de necropsia durante o período do ECSMV no SPV-UFRGS.....	22
TABELA 5: Enfermidades diagnosticadas em equinos em exames de necropsia durante o período do ECSMV no SPV-UFRGS.....	22
TABELA 6: Enfermidades diagnosticadas em suínos em exames de necropsia durante o período do ECSMV no SPV-UFRGS.....	23
TABELA 7: Enfermidades diagnosticadas em animais silvestres e aves domésticas em exames de necropsia durante o período do ECSMV no SPV-UFRGS.....	23
TABELA 8: Exames anatomopatológicos de pele e tecido subcutâneo de caninos, realizados durante o período do ECSMV no SPV-UFRGS.....	24
TABELA 9: Exames anatomopatológicos dos sistemas reprodutor masculino e feminino, digestivo, hemolinfopoiético, urinário e músculo-esquelético de caninos, realizados durante o período do ECSMV no SPV-UFRGS.....	26
TABELA 10: Exames anatomopatológicos de felinos, realizados durante o período do ECSMV no SPV-UFRGS.....	27
TABELA 11: Exames anatomopatológicos de equinos, realizados durante o período do ECSMV no SPV-UFRGS.....	28
TABELA 12: Exames anatomopatológicos de bovinos, realizados durante o período do ECSMV no SPV-UFRGS.....	28
TABELA 13: Exames anatomopatológicos de suínos, realizados durante o período do ECSMV no SPV-UFRGS.....	29

TABELA 14: Exames anatomopatológicos de animais silvestres (mamíferos, aves e aquáticos) e aves domésticas, realizados durante o período do ECSMV no SPV-UFRGS.....	29
TABELA 15: Exames citológicos de caninos, realizados durante o período do ECSMV no SPV-UFRGS.....	30
TABELA 16: Exames citológicos de felinos, realizados durante o período do ECSMV no SPV-UFRGS.....	31
TABELA 17: Principais anticorpos utilizados na rotina do SPV para imuno-marcação celular.....	36

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 ATIVIDADES DESENVOLVIDAS.....	14
2.1 Local de realização do estágio.....	14
2.1.1 Setor de Patologia Veterinária UFRGS .....	14
2.1.2 Infraestrutura .....	14
2.2 Atividades realizadas no setor .....	16
2.2.1 Rotina de necropsia .....	16
2.2.2 Rotina de anatomopatológico .....	17
2.2.3 Seminários de lâminas histopatológicas .....	18
2.3 Levantamento de necropsias e anatomopatológicos.....	19
3.1 Diagnóstico Imuno-histoquímico .....	32
3.2 Raiva bovina.....	39
3.3 Intoxicação natural por <i>Baccharis megapotamica</i> var. <i>weirii</i> em caprinos .....	52
4 CONCLUSÃO.....	58
REFERÊNCIAS .....	59
ANEXOS.....	64

## 1 INTRODUÇÃO

A realização do exame *post mortem* em medicina veterinária em determinados casos é a única forma de se chegar ao diagnóstico definitivo de uma enfermidade. Essa prática permite o melhor entendimento das doenças e auxilia na prevenção e controle, bem como na definição da linha de tratamento de enfermidades que possam acometer rebanhos e animais de companhia (PEIXOTO & BARROS, 1998).

O Estágio Curricular Supervisionado em Medicina Veterinária foi realizado no Setor de Patologia Veterinária (SPV) da Faculdade de Veterinária (FAVET) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) localizado na Avenida Bento Gonçalves, 9090, Prédio 42505, Bairro Agronomia, Porto Alegre, RS. O estágio foi realizado sob orientação do professor Dr. Bruno Leite dos Anjos e supervisão do professor Dr. David Driemeier e teve duração de 570 horas, com carga horária de 40 horas semanais totalizando 16 semanas.

O Setor de Patologia Veterinária exerce atividades de ensino, pesquisa e extensão, que estão interligadas através do serviço de diagnóstico de enfermidades com base na realização de exames de necropsia e histopatologia, onde são realizados exames para o Hospital de Clínicas Veterinárias e empresas agropecuárias, agroindústrias privadas e laboratórios de diagnóstico veterinários privados, que atuam em diversos estados brasileiros, através de convênios com essas entidades.

O estágio teve como objetivo participar da rotina de diagnóstico que permeiam as atividades de pesquisa, ensino e extensão do Setor de Patologia Veterinária-UFRGS. Este se justifica pelo prestígio e dedicação à realização de diagnósticos de enfermidades, com o intuito de realizar trabalhos de pesquisa que resultem especialmente em auxílio a proprietários de animais de companhia e produtores rurais, no controle e prevenção de doenças.

## **2 ATIVIDADES DESENVOLVIDAS**

### **2.1 Local de realização do estágio**

#### **2.1.1 Setor de Patologia Veterinária UFRGS**

O Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul realiza diagnósticos em medicina veterinária há mais de 20 anos, totalizando em média mais de 1400 necropsias e mais de 4000 exames anatomopatológicos por ano. O setor realiza visitas a propriedades para realização de exames de necropsias, investigação epidemiológica e orientação de produtores e técnicos, os quais proporcionam um crescimento mútuo de produtores/proprietários e do meio acadêmico. Atualmente é composto por 19 alunos de pós-graduação dois técnicos e oito alunos da graduação, sendo coordenado pelo professores Dr. Davi Driemeier, Dr. Luciana Sonne e Dr. Saulo Petinatti Pavarini.

#### **2.1.2 Infraestrutura**

O laboratório está localizado no campus da Veterinária, atrás do Hospital de Clínicas Veterinárias da Faculdade de Veterinária (FAVET) - UFRGS. O prédio encontra-se em excelentes condições e proporciona uma maior organização da rotina de diagnósticos e do ambiente de trabalho (FIGURA - 1 A). A sala de necropsia é composta por seis mesas de inox, lavatórios, instrumental para realização dos exames (facas, tesouras, pinças, machados, serras, etc), câmara fria para acomodação dos cadáveres e área anexa para fotografias (FIGURA - 1 B). A sala de histopatologia dispõe de quatro micrótomos, uma capela de exaustão, placa refrigerada, dois banho-marias, um aparelho histotécnico, um aparelho criostato, uma central de inclusão, geladeiras, armários e lavatório (FIGURA - 1 C). O laboratório de imuno-histoquímica está equipado com duas estufas, duas geladeiras, um microondas, uma panela de pressão, balança analítica, vórtex, uma capela de exaustão, um

microscópio óptico, lavatório e armários (FIGURA - 1 D). O laboratório também dispõe de um laboratório de biologia molecular. Atualmente foi instalado um laboratório de bacteriologia, com o intuito de aperfeiçoar os exames bacteriológicos através da coleta adequada de matérias durante a necropsia juntamente com a proximidade do local de processamento das amostras (FIGURA - 2 A). Há ainda sala de microscopia para leitura de lâminas e seminários, sala de pós-graduação, sala de clivagem de materiais (FIGURA - 2 B), almoxarifado e vestuários.



FIGURA 1 - A. Fachada do prédio que alberga o Setor de Patologia Veterinária da UFRGS. B. Sala de necropsia. C. Laboratório de histopatologia para confecção de lâminas histopatológicas. D. Laboratório de imuno-histoquímica. Fonte: o autor.



FIGURA 2 - A. Laboratório de bacteriologia. B. Sala para clivagem de material. Fonte: o autor

## 2.2 Atividades realizadas no setor

### 2.2.1 Rotina de necropsia

A solicitação de necropsia no SPV por um proprietário, responsável ou médico veterinário consiste no preenchimento de uma ficha de requisição (ANEXO 2) com o setor de recepção do prédio, com os dados dos animais, histórico e suspeita clínica e, em seguida, o pagamento pelo processamento. Os valores variam conforme a espécie. Todas as solicitações da semana são registradas no livro de necropsia (“N”), conforme modelo na tabela 1.

TABELA 1 - Modelo de registro de exame de necropsia no livro de “N” do SPV-UFRGS

N°	Ficha	Espécie/raça/sexo/idade	Proprietário/endereço	Requisitante	Data
N 228/15	28890	canino/Boxer/ macho/8 anos	Mauro Souza	HCV-UFRGS	28/06/2015
N 229/15	NI	suíno/macho/ 10 semanas	João Fausto	MIG PLUS	28/06/2015

Após a realização da necropsia os órgãos são coletados em formol a 10%, e refrigerados quando necessário, e posteriormente clivados (entre 24 a 48h após coleta no formol) em secções com aproximadamente 2 mm e acomodados em cassetes para processamento histopatológico (FIGURA 3 A). Também são realizadas as necropsias a campo

solicitadas por produtores rurais. A ficha de requisição de necropsia a campo é preenchida com dados do rebanho, historia clínica, doenças anterior e outras informações importantes relacionadas ao manejo dos animais (ANEXO 3).

### **2.2.2 Rotina de anatomopatológico**

Na rotina de exames anatomopatológicos são recebidos fragmentos de órgãos em formol ou resfriados, como biopsias de lesões ou órgãos coletados a partir de necropsias realizadas por outros médicos veterinários, bem como outras matérias, como sangue, soro, ou fezes que são encaminhados à outros setores da FAVET (Laboratório de Virologia, Parasitologia, etc). No momento da chegada do material é preenchida a ficha de requisição (ANEXO 4) e realizado o registro no livro de anatomopatológico (AP). Os materiais recebidos que são enviados para outros setores (sangue, fezes, soro e tecidos resfriados), também são identificados, encaminhados/armazenados e descritos no livro de registro. Após clivagem (FIGURA 3 A) todos os cassetes são levados à sala de histopatologia e processadas no aparelho histotécnico (FIGURA 3 B), onde passam por séries de álcool, xilol e parafina. No dia seguinte, todo o material deve ser incluso em parafina e levado a geladeira. Os blocos são seccionados em micrótomo em secções de 3 $\mu$ m, e as secções passam por bateria de coloração com hematoxilina e eosina (HE) (FIGURA 3 C e D). O laboratório também dispõe de diversos reagentes e kits utilizados para colorações especiais, as quais são definidas conforme o tipo de alteração observada nas colorações de rotina.



FIGURA 3 – A. Fragmento de encéfalo clivado e encaminhado em cassete para posterior processamento em bloco de parafina. B. Aparelho responsável por processar em blocos de parafina (Histotécnico). C. Aparelhos utilizados para realização dos cortes histológicos. D. Bateria de coloração de hematoxilina e eosina. Fonte: o autor.

As lâminas são posteriormente avaliadas em microscópio óptico com o plantonista responsável pela semana acompanhado do professor responsável, e um laudo é emitido com o diagnóstico do caso, juntamente com laudos de exames complementares (imuno-histoquímica, pesquisa bacteriológica, PCR), se realizados. O laudo é enviado ao requisitante em um prazo de até 15 dias para exames de necropsia e 10 dias para anatomopatológicos.

### 2.2.3 Seminários de lâminas histopatológicas

A cada duas semanas são desenvolvidos seminários com lâminas histopatológicas do *Armed Forces Institute of Pathology* (AFIP), de Washington - EUA. As conferências da AFIP fazem parte de uma disciplina da pós-graduação, no entanto, todos os alunos da pós-graduação e graduação podem participar, com a condição de ter que apresentar se for sorteado no dia de apresentação do seminário. A AFIP tem o objetivo de estimular a descrição histopatológica e a formulação de diagnósticos morfológicos para as lesões encontradas.

### 2.3 Levantamento de necropsias e anatomopatológicas

O estágio curricular foi realizado no período entre o dia 2 de março de 2015 e 19 de junho de 2015, compreendendo um total de 570 horas. Ao total, foram realizadas 340 necropsias, entretanto, foram contabilizadas apenas as necropsias com diagnóstico definitivo, pois muitas, o diagnóstico ainda estava em andamento. Desse total, 188 necropsias foram contabilizadas com diagnóstico. Os animais de companhia corresponderam a 122 necropsias, sendo 47% (90) cães e 17% (32) gatos. Em animais de produção foram realizados 54 exames de necropsia, onde 14% (26) correspondiam bovinos, 9% (16) equinos, 3% (5) ovinos, 3% (5) suínos, 2% (3) caprinos. Os animais silvestres e aves domésticas (outros) corresponderam 5% (10). A porcentagem de enfermidades sobre cada espécie está demonstrada na Figura (4).

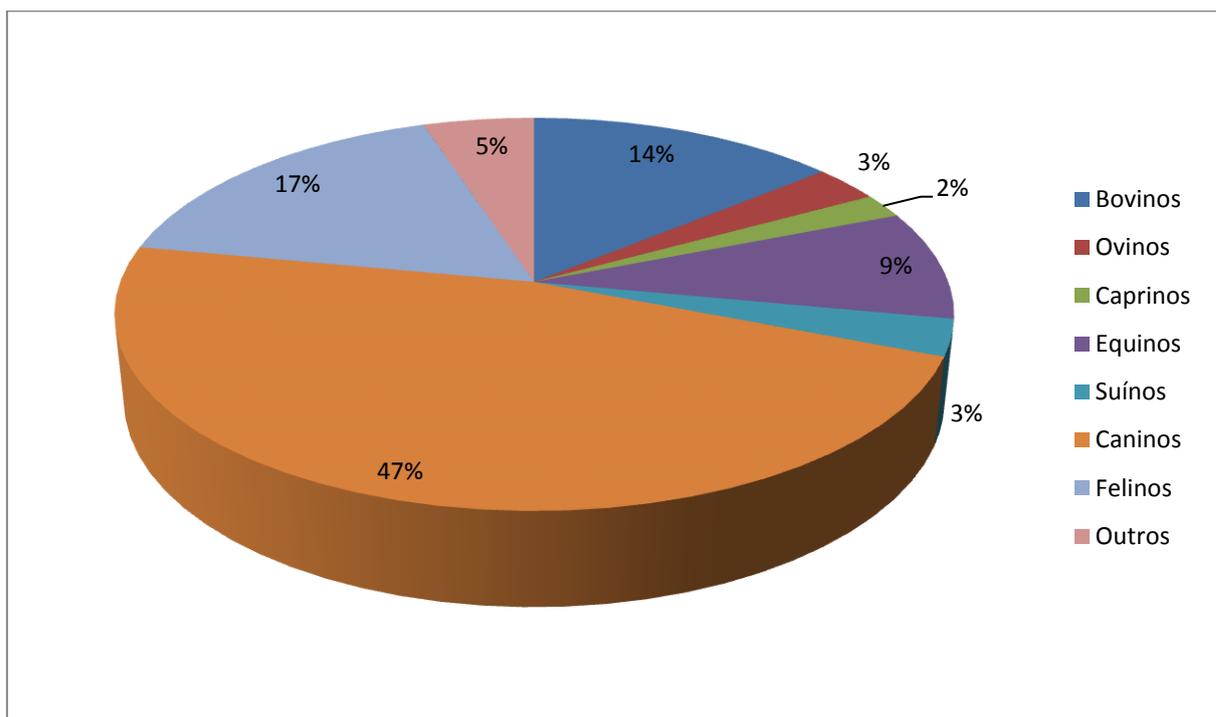


FIGURA 4 - Exames de necropsia realizados nas diferentes espécies durante o período de estágio supervisionado no Setor de Patologia Veterinária da UFRGS. Fonte: o autor.

TABELA 2 - Enfermidades diagnosticadas em caninos em exames de necropsia, durante o período do ECSMV no SPV-UFRGS.

Diagnóstico	Numero de casos
Parvovirose	13
Insuficiência renal crônica	5

---

<b>Endocardite valvular bacteriana</b>	4
<b>Enterite bacteriana</b>	3
<b>Peritoníte aguda</b>	3
<b>Leptospirose</b>	2
<b>Insuficiência renal aguda por displasia renal</b>	2
<b>Septicemia bacteriana</b>	2
<b>Peritonite por ruptura de bexiga e septicemia</b>	2
<b>Cardiomiopatia dilatada</b>	2
<b>Pneumonia hemorrágica aguda de causa não determinada</b>	2
<b>Broncopneumonia bacteriana (aspirativa)</b>	2
<b>Síndrome hemorrágica de causa não determinada</b>	2
<b>Extrusão de disco intervertebral</b>	2
<b>Linfoma multicêntrico</b>	2
<b>Carcinoma anaplásico de mama com metástase pulmonar</b>	2
<b>Feocromocitoma maligno</b>	2
<b>Mastocitoma grau 3</b>	2
<b>Cinomose</b>	1
<b>Leishmaniose visceral</b>	1
<b>Diabete mellitus</b>	1
<b>Cardiomiopatia hipertrófica, hipotireoidismo e pneumonia bacteriana secundária</b>	1
<b>Intoxicação por cobre</b>	1
<b>Choque hipovolêmico por diátese hemorrágica de causa não determinada</b>	1
<b>Hemorragia pulmonar aguda de causa não determinada</b>	1
<b>Edema cerebral e malácia cerebelar de causa não determinada</b>	1
<b>Carcinoma exócrino de pâncreas</b>	1
<b>Broncopneumonia supurativa e insuficiência renal</b>	1
<b>Palatosquise acentuada</b>	1
<b>Pleurite e flegmão agudo de origem bacteriana por ferimento corto-contundente</b>	1
<b>Degeneração hepatocelular de causa não determinada</b>	1
<b>Urolitíase</b>	1
<b>Hemoperitônio aguda por ruptura de hemangiossarcoma esplênico</b>	1
<b>Tamponamento cardíaco por ruptura de hemangiossarcoma em aurícula direita</b>	1
<b>Encéfalopatia urêmica</b>	1
<b>Quimiodectoma maligno em corpo aórtico</b>	1
<b>Endocardiose em válvula mitral com insuficiência cardíaca congestiva</b>	1
<b>Osteossarcoma de células gigantes</b>	1
<b>Edema cerebral e pneumonia por aspiração</b>	1
<b>Vólvulo gástrico (180°) com rotação de baço</b>	1
<b>Politraumatismo</b>	1
<b>Tumor maligno de bainha de nervo periférico</b>	1

---

Plasmocitoma	1
Melanoma oral	1
Tumor metastático de células redondas	1
Carcinoma hepatocelular	1
Condrossarcoma em vértebra lombar	1
Toxocaríase	1
Epididimite purulenta com seminoma e tumor de células de leydig	1
Colapso traqueal e glomerulonefrite	1
Enterite fibrinosa aguda de origem bacteriana	1
Meningoencefalite granulomatosa	1
Intoxicação por ácido acetilsalicílico	1
Pancreatite necrótica aguda	1
<b>Total</b>	<b>90</b>

TABELA 3 – Enfermidades diagnosticadas em felinos em exames de necropsia durante o período do ECSMV no SPV-UFRGS.

Diagnóstico	Número de casos
Lipidose hepática	4
Politraumatismo	2
Leucemia mieloide aguda	2
Metástases de carcinoma de células escamosas	2
Estenose de esôfago e pneumonia bacteriana por aspiração	1
Linfossarcoma	1
Pneumonia proliferativa de causa não determinada	1
Peritonite infecciosa felina	1
Linfoma	1
Cistite necro-hemorrágica	1
Peritonite associada a ruptura de estômago	1
Glomerulonefrite proliferativa crônica	1
Hernia diafragmática, shuntportossistêmico e granuloma intestinal	1
Malformação osteomuscular congênita	1
Insuficiência renal crônica	1
Pleurite bacteriana	1
Doença do trato urinário inferior	1
Atelectasia pulmonar total	1
Panleucopenia felina	1
Metrite necrosupurativa difusa acentuada	1
Megaesôfago e pneumonia bacteriana aspirativa	1

<b>Linfoma digestivo</b>	1
<b>Linfoma mediastínico</b>	1
<b>Peritonite aguda associada a úlcera gástrica perfurada</b>	1
<b>Inconclusivo</b>	2
<b>Total</b>	<b>32</b>

TABELA 4 - Enfermidades diagnosticadas em ruminantes (bovinos, ovinos e caprinos) em exames de necropsia durante o período do ECSMV no SPV-UFRGS.

<b>Espécie</b>	<b>Diagnóstico</b>	<b>Número de casos</b>
Bovino	<b>Raiva</b>	10
	<b>Timpanismo ruminal secundário decorrente da obstrução esofágica por limão</b>	5
	<b>Tristeza parasitária bovina</b>	3
	<b>Deficiência de cobre</b>	1
	<b>Intoxicação por <i>Sida carpinifolia</i></b>	1
	<b>Meningite bacteriana</b>	1
	<b>Nefroblastoma com múltiplas metástases</b>	1
	<b>Neurotuberculose</b>	1
	<b>Inconclusivo</b>	3
Ovino	<b>Intoxicação por <i>Ricinus communis</i></b>	2
	<b>Hemoncose e miopatia por intoxicação por monensina</b>	1
	<b>Hemoncose</b>	1
	<b>Múltiplas malformações</b>	1
	<b>Sugestivo de Língua Azul</b>	1
Caprino	<b>Intoxicação por <i>Bacharris megapotâmica</i> var. <i>veirii</i></b>	3
	<b>Total</b>	<b>35</b>

TABELA 5 - Enfermidades diagnosticadas em equinos em exames de necropsia durante o período do ECSMV no SPV-UFRGS.

<b>Diagnóstico</b>	<b>Número de casos</b>
<b>Botulismo</b>	4
<b>Raiva</b>	2
<b>Tétano</b>	2
<b>Tendovaginite</b>	1
<b>Fibrose cardíaca multifocal e infarto agudo com edema cerebral</b>	1
<b>Hepatopatia aguda de provável causa tóxica</b>	1
<b>Mieloencefalite por protozoário</b>	1

<b>Peritonite fibrinosa subaguda por ruptura de cólon menor</b>	1
<b>Choque hipovolêmico e hemoperitônio por fratura de pélve</b>	1
<b>Sobrecarga alimentar</b>	1
<b>Pneumonia supurativa e empiema de bolsa gutural</b>	1
<b>Total</b>	<b>16</b>

TABELA 6 - Enfermidades diagnosticadas em suínos em exames de necropsia durante o período do ECSMV no SPV-UFRGS.

<b>Diagnóstico</b>	<b>Número de casos</b>
<b>Circovirose</b>	3
<b>Sugestivo de meningoencefalite estreptocócica</b>	2
<b>Total</b>	<b>5</b>

TABELA 7 - Enfermidades diagnosticadas em animais silvestres e aves domésticas em exames de necropsia durante o período do ECSMV no SPV-UFRGS.

<b>Espécie</b>	<b>Diagnóstico</b>	<b>Número de casos</b>
Pomba ( <i>Columba livia</i> )	<b>Politraumatismo</b>	1
	<b>Inconclusivo</b>	1
Caturrita ( <i>Myiopsitta monachus</i> )	<b>Politraumatismo</b>	2
Galinha ( <i>Gallus gallus domesticus</i> )	<b>Sugestivo de pneumonia e aerosaculite por <i>Escherichia coli</i></b>	1
	<b>Salmonelose</b>	2
	<b>Bronquite infecciosa das galinhas</b>	1
	<b>Botulismo</b>	1
Bacurau-da-telha ( <i>Hydropsalis longirostris</i> )	<b>Politraumatismo</b>	1
	<b>Total</b>	<b>10</b>

Durante o estágio, foram recebidas 1350 amostras para exame anatomopatológico, entretanto muitas amostras eram referentes a experimentos de outros laboratórios ou dos próprios pós-graduandos do setor. Os exames anatomopatológicos contabilizados compreenderam um total de 648 amostras avaliadas, sendo 75% (483) de caninos, 10% (71) de felinos, 6% (41) de suínos, 3% (22) de equinos, 18 (2%) bovinos e 2% (13) de silvestres. A porcentagem de exames

anatomopatológicos sobre cada espécie está demonstrada na Figura (5). Na figura não foram incluídos os exames citológicos.

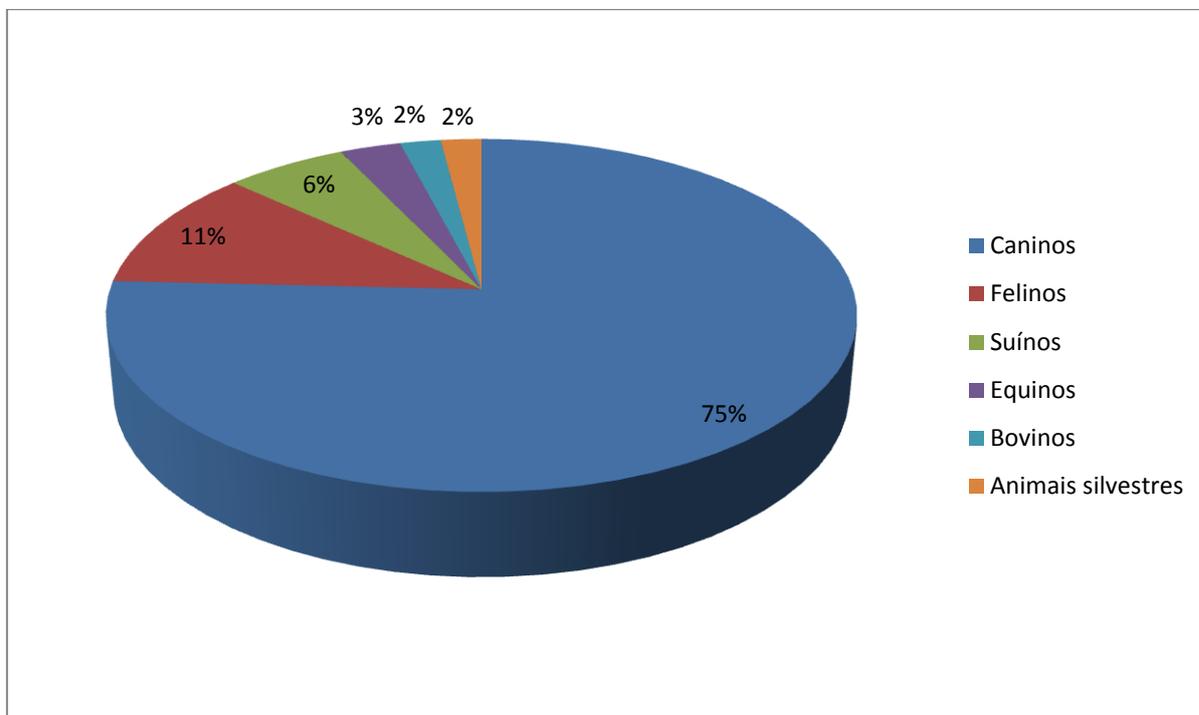


FIGURA 5 - Exames anatomopatológicos realizados nas diferentes espécies durante o período de estágio supervisionado no Setor de Patologia Veterinária da UFRGS.

TABELA 8 - Exames anatomopatológicos de pele e tecido subcutâneo de caninos, realizados durante o período do ECSMV no SPV-UFRGS.

Diagnóstico	Número de casos
Mastocitoma	48
Hemangiossarcoma	26
Melanoma maligno	20
Adenoma de glândula hepatoide	11
Tumor maligno de bainha de nervo periférico	10
Adenoma sebáceo	9
Hemangioma	9
Furunculose piogranulomatosa	9
Carcinoma perianal	8
Fibrossarcoma	8
Cisto folicular epidermoide	8
Hamartoma colagenoso	6
Lipoma	6
Pilomatricoma	6

<b>Adenoma meibomiano</b>	6
<b>Dermatite piogranulomatosa crônica</b>	5
<b>Melanocitoma</b>	5
<b>Dermatite de interface (Lupus eritematoso)</b>	5
<b>Inflamação piogranulomatosa crônica</b>	4
<b>Adenocarcinoma de glândula apócrina</b>	4
<b>Mucinose cutânea</b>	4
<b>Tricoblastoma</b>	4
<b>Dermatite irritativa crônica</b>	3
<b>Epitelioma sebáceo</b>	3
<b>Calo de apoio</b>	3
<b>Tricoepitelioma</b>	3
<b>Granuloma vacinal</b>	3
<b>Tumor venéreo transmissível</b>	3
<b>Acantoma infundibular queratinizante</b>	2
<b>Papiloma</b>	2
<b>Plasmocitoma</b>	2
<b>Nevo colagenoso (dermatofibroma)</b>	2
<b>Hemangiopericitoma</b>	1
<b>Fibrohistiocitoma maligno</b>	1
<b>Granuloma lepróide</b>	1
<b>Hiperplasia de glândula sebácea</b>	1
<b>Furunculose</b>	1
<b>Fibroma</b>	1
<b>Granuloma por lambedura</b>	1
<b>Granuloma do pelo</b>	1
<b>Paniculite piogranulomatosa crônica</b>	1
<b>Cisto folicular ístímico</b>	1
<b>Adenoma de glândula seruminosa</b>	1
<b>Dermatite acral</b>	1
<b>Dermatopatia degenerativa crônica (sugestivo de hipotireoidismo)</b>	1
<b>Mixossarcoma</b>	1
<b>Fibrose dermal</b>	1
<b>Linfoma</b>	1
<b>Abscesso</b>	1
<b>Total</b>	<b>264</b>

TABELA 9 – Exames anatomopatológicos dos sistemas reprodutor masculino e feminino, digestivo, hemolinfopoiético, urinário e músculo-esquelético de caninos, realizados durante o período do ECSMV no SPV-UFRGS.

<b>Sistema</b>	<b>Orgão</b>	<b>Diagnóstico</b>	<b>Número de casos</b>	
Reprodutor da fêmea	Mama	<b>Carcinoma complexo</b>	33	
		<b>Carcinoma simples</b>	31	
		<b>Carcinoma em tumor misto</b>	22	
		<b>Carcinossarcoma</b>	16	
		<b>Tumor misto benigno</b>	8	
		<b>Adenoma</b>	8	
		<b>Adenoma complexo</b>	6	
		<b>Hiperplasia</b>	4	
	Útero	<b>Hiperplasia endometrial cística</b>	5	
		<b>Leiomioma</b>	1	
	Ovário	<b>Ovário policístico</b>	7	
		<b>Luteoma</b>	2	
		<b>Carcinoma</b>	1	
		<b>Tumor de células da granulosa</b>	1	
		<b>Tumor de células da teca</b>	1	
Reprodutor do macho	Testículo	<b>Tumor de células de Leydig</b>	16	
		<b>Seminoma</b>	5	
		<b>Sertolioma</b>	2	
		<b>Atrofia testicular</b>	2	
		<b>Degeneração testicular</b>	1	
		<b>Necrose testicular</b>	1	
		<b>Hiperplasia adenomatosa</b>	1	
	Próstata			
	Digestivo	Cavidade oral	<b>Ameloblastoma acantomatoso</b>	3
			<b>Estomatite linfocitária</b>	1
<b>Épulide fibromatoso do ligamento periodontal</b>			1	
<b>Condrossarcoma</b>			1	
<b>Melanoma</b>			1	
Intestino			<b>Pólipo intestinal</b>	1
Fígado			<b>Carcinoma hepatocelular</b>	3
		<b>Sugestivo de intoxicação por cobre</b>	1	
Hemolinfopoiético		Baço	<b>Hemangiossarcoma</b>	4
Urinário		Bexiga	<b>Carcinoma</b>	1
Músculo-esquelético	Osso	<b>Osteossarcoma osteoblástico</b>	6	
		<b>Osteossarcoma condroblástico</b>	1	

	<b>Osteoma</b>	1
Referente a todos os sistemas	<b>Inconclusivo</b>	20
	<b>Total</b>	219

Tabela 10 - Exames anatomopatológicos de felinos, realizados durante o período do ECSMV no SPV-UFRGS.

<b>Sistema</b>	<b>Órgão</b>	<b>Diagnóstico</b>	<b>Número de casos</b>		
Tegumentar	Pele	<b>Carcinoma de células escamosas</b>	11		
		<b>Fibrossarcoma</b>	4		
		<b>Hemangiossarcoma</b>	4		
		<b>Dermatite fúngica por <i>Cryptococcus sp.</i></b>	3		
		<b>Inflamação piogranulomatosa de causa não determinada</b>	3		
		<b>Linfoma</b>	2		
		<b>Esteatite crônica</b>	2		
		<b>Dermatose actínica</b>	1		
		<b>Necrose de gordura</b>	1		
		<b>Adenoma sebáceo</b>	1		
		<b>Dermatite piogranulomatosa por <i>Microsporum sp.</i></b>	1		
		<b>Sarcoma histiocítico</b>	1		
		<b>Adenoma cístico de glândula meiobomiana</b>	1		
		<b>Sarcoma histiocítico</b>	1		
		<b>Dermatite crônica sugestiva de Herpesvirus</b>	1		
		<b>Granuloma eosinofílico</b>	1		
		<b>Dermatite eosinofílica</b>	1		
		<b>Plasmocitoma</b>	1		
		Digestivo	Cavidade Oral	<b>Gengivoestomatite de causa não determinada</b>	1
			Intestino	<b>Enterite linfoplasmocitária</b>	2
<b>Adenocarcinoma</b>	2				
<b>Linfoma</b>	1				
Reprodutor	Glândula mamária	<b>Leiomiossarcoma</b>	1		
		<b>Carcinoma cribiforme</b>	5		
		<b>Adenocarcinoma</b>	4		

		<b>Hiperplasia</b>	2
	Vagina	<b>Sarcoma</b>	1
Urinário	Bexiga	<b>Cistite crônica</b>	1
Músculo-esquelético	Músculo	<b>Atrofia focal</b>	1
	Osso	<b>Osteoma</b>	1
Ocular	Olho	<b>Melanoma uveal</b>	2
		<b>Melanoma de íris</b>	2
Referente a todos os sistemas		<b>Inconclusivo</b>	5
		<b>Total</b>	<b>71</b>

TABELA 11 - Exames anatomopatológicos de equinos, realizados durante o período do ECSMV no SPV-UFRGS.

<b>Sistema</b>	<b>Órgão</b>	<b>Diagnóstico</b>	<b>Número de casos</b>
Tegumentar	Pele	<b>Sarcóide</b>	9
		<b>Pitiose</b>	4
		<b>Fibrossarcoma</b>	1
		<b>Carcinoma de células escamosas</b>	1
		<b>Habronemose</b>	1
Digestivo	Fígado	<b>Intoxicação por cobre</b>	1
Músculo-esquelético	Músculo	<b>Miosite piogranulomatosa por aplicação de medicamento</b>	1
Nervoso	Encéfalo e medula	<b>Raiva</b>	1
Referente a todos os sistemas		<b>Inconclusivo</b>	3
		<b>Total</b>	<b>22</b>

TABELA 12 - Exames anatomopatológicos de bovinos, realizados durante o período do ECSMV no SPV-UFRGS.

<b>Sistema</b>	<b>Órgão</b>	<b>Diagnóstico</b>	<b>Número de casos</b>
Tegumentar	Pele	<b>Papiloma viral</b>	1
		<b>Carcinoma de células escamosas</b>	1
Digestivo	Fígado	<b>Sugestivo de tristeza parasitária</b>	3
		<b>Hepatite abcessadativa crônica</b>	1
Respiratório	Pulmão	<b>Abcesso</b>	1
		<b>Pneumonia necrótica aguda</b>	1

Músculo-esquelético	Músculo	<b>Miosite granulomatosa (granuloma vacinal)</b>	3
Nervoso	Encéfalo	<b>Meningite bacteriana</b>	1
Referente a todos os sistemas		<b>Inconclusivo</b>	6
<b>Total</b>			<b>18</b>

TABELA 13 - Exames anatomopatológicos de suínos, realizados durante o período do ECSMV no SPV-UFRGS.

<b>Sistema</b>	<b>Orgão</b>	<b>Diagnóstico</b>	<b>Número de casos</b>
Digestivo	Intestino	<b>Enterite necrótica aguda sugestivo de <i>Clostridium</i> sp.</b>	5
		<b>Enterite bacteriana</b>	4
		<b>Circovirose</b>	2
		<b>Colite fibrinonecrótica sugestivo de salmonelose</b>	2
		<b>Sugestivo de Rotavirus</b>	1
		<b>Ileíte por <i>Lawsonia intracellularis</i></b>	1
		<b>Endocardite valvular bacteriana</b>	2
Respiratório	Pulmão	<b>Influenza</b>	4
Tegumentar	Pele	<b>Dermatite neutrofílica aguda</b>	3
		<b>Erisipela</b>	3
Nervoso	Encéfalo	<b>Intoxicação por sal</b>	3
Referente a todos os sistemas	Pleura, Coração e Meninge	<b>Pleuríte, pericardíte e meningite por <i>Haemophilus parasuis</i></b>	3
		<b>Inconclusivo</b>	8
<b>Total</b>			<b>41</b>

TABELA 14 - Exames anatomopatológicos de animais silvestres (mamíferos, aves e aquáticos) e aves domésticas, realizados durante o período do ECSMV no SPV-UFRGS.

<b>Espécie</b>	<b>Sistema</b>	<b>Orgão</b>	<b>Diagnóstico</b>	<b>Número de casos</b>
Hamster ( <i>Mesocricetus</i> )	Tegumentar	Pele	<b>Sarcoma histiocítico</b>	1

<i>auratus</i> )			<b>Hemangiossarcoma</b>	2
Peixe	Músculo- esquelético	Músculo estriado	<b>Leiomioma</b>	1
Camundongo ( <i>Mus musculus</i> )	Tegumentar	Pele	<b>Linfoma</b>	1
Rato ( <i>Rattus norvegicus</i> )	Reprodutor	Mama	<b>Fibroadenoma</b>	1
	Respiratório	Pulmão	<b>Bronquiectasia</b>	1
Furão ( <i>Mustela putorius furo</i> )	Todos	Todos	<b>Inconclusivo</b>	1
Porquinho-da-Índia ( <i>Cavia porcellus</i> )	Todos	Todos	<b>Criptococose sistêmica</b>	1
Coelho ( <i>Oryctolagus cuniculus</i> )	Ósseo	Mandíbula	<b>Ameloblastoma</b>	1
Galinha ( <i>gallus gallus domesticus</i> )	Todos	Todos	<b>Inconclusivo</b>	1
Ganso ( <i>Anser anser</i> )	Tegumentar	Pele	<b>Fibrossarcoma</b>	1
			<b>Total</b>	<b>13</b>

TABELA 15 - Exames citológicos de caninos, realizados durante o período do ECSMV no SPV-UFRGS.

<b>Diagnóstico</b>	<b>Número de casos</b>
<b>Inconclusivo</b>	46
<b>Carcinoma de mama</b>	37
<b>Sugestivo de mastocitoma</b>	34
<b>Lipoma</b>	33
<b>TVT</b>	12
<b>Sugestivo de cisto folicular</b>	11
<b>Sugestivo de linfoma</b>	10
<b>Sugestivo de inflamação</b>	10
<b>Sugestivo de sarcoma</b>	10
<b>Sugestivo de tumor de células redondas</b>	6
<b>Sugestivo de melanoma maligno</b>	5
<b>Sugestivo de carcinoma perianal</b>	4
<b>Sugestivo de osteossarcoma</b>	3
<b>Linfadenite</b>	3
<b>Transudato</b>	3
<b>Diestro</b>	2

<b>Cisto sebáceo</b>	2
<b>Pitorax</b>	1
<b>Total</b>	<b>232</b>

TABELA 16 - Exames citológicos de felinos, realizados durante o período do ECSMV no SPV-UFRGS.

<b>Diagnóstico</b>	<b>Número de casos</b>
<b>Linfoma</b>	3
<b>Lipoma</b>	1
<b>Sugestivo de cisto folicular</b>	1
<b>Esporotricose</b>	1
<b>Peritonite aguda</b>	1
<b>Inflamação piogranulomatosa crônica</b>	1
<b>Transudato</b>	1
<b>Total</b>	<b>9</b>

## 3 DISCUSSÃO

### 3.1 Diagnóstico Imuno-histoquímico

Diversas amostras de exames anatomopatológicos e de necropsias, muitas vezes, requerem exames complementares para determinar a etiologia da lesão. Em casos em que a ausência de lesões específicas, ou a descrição do histórico clínico pelo requisitante juntamente com os dados epidemiológicos são insuficientes para se estabelecer o diagnóstico, o emprego da técnica de imuno-histoquímica torna-se uma ferramenta eficaz e segura para o correto diagnóstico (TAYLOR, 2010; RAMOS-VARA, 2005)

A imuno-histoquímica é uma técnica utilizada em cortes histológicos baseada no processo de identificação e localização dos antígenos nos tecidos. A técnica envolve a detecção de epítomos celulares específicos com a utilização de um anticorpo e um sistema de ligação apropriado (TAYLOR et al., 2010; RAMOS-VARA, 2005; SANTOS et al., 1999). As amostras, após o processamento de rotina, são incluídas em parafina, e cortadas em micrótomo com 3µm de espessura e aplicadas sobre lâminas positivadas (ImmunoSlide-EasyPath). O corte histológico pode cair da lâmina durante a etapa de recuperação antigênica por calor em panela de pressão ou forno micro-ondas, e as lâminas positivadas tem a função de atrair eletrostaticamente as seções de tecidos histológicos, evitando assim quedas e fragmentação do tecido (TAYLOR et al., 2010).

Para uma ótima marcação pela técnica de imuno-histoquímica é necessário uma fixação dos tecidos de qualidade. Essa é essencial para a preservação do tecido e do antígeno, e tem como princípio geral a formação de uma ligação cruzada entre as proteínas, através do reestabelecimento da estrutura cito-esquelética da célula (RAMOS-VARA et al., 2014; TAYLOR, 2010). A má fixação do tecido ou seu processamento de forma inadequada, pode resultar em uma série de artefatos ou a não localização do antígeno (RAMOS-VARA et al., 2014). A formalina é o fixador mais utilizado para a histologia, o qual produz um bom detalhe morfológico e permite sua utilização na técnica de imuno-histoquímica, entretanto o tecido super-fixado, ou seja, muito tempo em solução de formol (dias ou meses) pode provocar problemas graves, como o mascaramento ou até mesmo a desnaturação do antígeno, o que

impede o acesso do anticorpo e pode gerar resultado falso negativo. (RAMOS-VARA & MILLER, 2014; SANTOS et al., 1999).

Em uma amostra de uma lesão de pele de um cordeiro processada rotineiramente em bloco de parafina, para realização da técnica de imuno-histoquímica, com o intuito de identificar o tipo celular predominante no corte histológico da lesão, utilizou-se o marcador Von Villebrand (vide TABELA 17), porém não se observou imuno-marcação na amostra. Ao analisar o corte, pode-se observar hematina (pigmentos de formol) na seção, um artefato que indica a excessiva fixação do tecido (FIGURA 4 A). Essa amostra ficou aproximadamente 20 dias em solução formol a 10%. A fixação correta do tecido, bem como o tempo em solução de formol 10% é fundamental para a eficácia da técnica (RAMOS-VARA, 2005).

As ligações antígeno-anticorpo (Ag-Ac) na técnica de imuno-histoquímica ocorrem principalmente através da utilização de enzimas que reagem com um determinado cromógeno e produzem uma reação final marcada e estável, e adequada ao microscópio ótico (TAYLOR et al., 2010). Um dos principais problemas na técnica é a excessiva coloração de fundo sem especificidade (FIGURA 4 B) que ocorre principalmente por atividades de enzimas endógenas e ligação inespecífica de anticorpos a componentes teciduais, e ocorre quando enzimas similares àquela utilizada como ligação estão presentes no tecido (RAMOS-VARA & MILLER, 2014). Para isto realizam-se métodos de bloqueio para essas enzimas (RAMOS-VARA, 2005; TAYLOR, 2010).

Um destes métodos e a primeira etapa da técnica é o bloqueio da peroxidase endógena, porém sua necessidade varia conforme o protocolo utilizado. A peroxidase é uma propriedade comum de todas as hemoproteínas, mioglobina, citocromo e catalases. A decomposição do peróxido de hidrogênio acarreta uma interferência na coloração da imuno-marcação. Para o bloqueio da peroxidase endógena utiliza-se o método de saturação, com seu substrato (peróxido de hidrogênio), usualmente na forma de peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) a 3% em um diluente (água, tampão ou metanol). Outra enzima a ser bloqueada é a fosfatase alcalina endógena, que é extinta pela adição do seu substrato (levamisole) na solução do cromógeno. O levamisole inibe muitos tipos de atividade de fosfatase alcalina (SANTOS et al., 1999).

A próxima etapa é recuperar os antígenos bloqueados pela etapa de fixação (TAYLOR et al., 2010; SANTOS et al., 1999). A fixação dos tecidos como já citado, provoca uma ligação cruzada das proteínas, através da formação de pontes de metileno. O processamento da amostra com desidratação e banhos de parafina podem destruir alguns epítomos antigênicos (RAMOS-VARA, 2005). A recuperação antigênica pode ser feita de duas formas, através da digestão enzimática (proteolítica) ou recuperação antigênica por calor (TAYLOR et al.,

2010). Na digestão enzimática, as enzimas mais usadas são: pepsina, tripsina, protease XIV e proteinase K. A digestão usando estas enzimas pode ocorrer a 37° em banho-maria, e as enzimas devem ser diluídas em água destilada e usadas a um pH 7,8. O tempo de digestão deve ser controlado conforme o tempo de fixagem do tecido, ou seja, quanto mais tempo o tecido ficar no fixador, mais pontes de metileno terão se formado, requerendo um tempo maior na enzima para quebrar estas ligações (RAMOS-VARA et al., 2014). A recuperação antigênica por calor pode ser uma técnica mais agressiva, porém com maior potencia de quebra de pontes de metileno e conseqüentemente maior exposição de antígenos (RAMOS-VARA et al., 2014; TAYLOR et al., 2010). A técnica pode ser realizada em forno micro-ondas, panela de pressão ou panela de pressão digital (Marca Deckloader). A utilização de enzimas ou a recuperação antigênica através do calor varia conforme o protocolo utilizado.

A amostra da lesão do cordeiro proveniente do LPV-Unipampa, primeiramente passou pelo processo de recuperação antigênica por calor em panela de pressão digital a 96°C, está por sua vez, não demonstrou nenhuma imuno-marcação na lâmina histológica. Posteriormente, foi realizada a recuperação antigênica em tampão citrato em forno micro-ondas na potência máxima através de três passagem de 5 minutos, o que obteve uma relativa eficácia na recuperação de antígenos demonstrando pouca imuno-marcação, e com excessiva coloração de fundo (FIGURA 4 B).

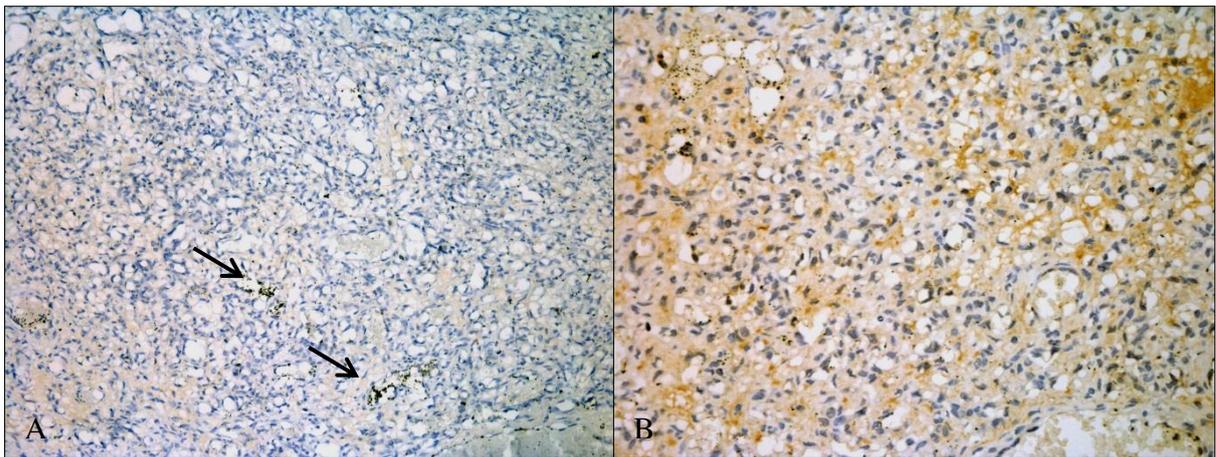


FIGURA 6 - A. Ovino. Seção de um hamartoma vascular cutâneo demonstrando ausência de imunomarcção para anticorpo Von Willebrand (fator VIII) com recuperação antigênica por calor em panela de pressão a 96°C. Nota-se pigmento escuro (hematina) (seta), indicando excessiva fixação do tecido, obj.20x B. Imuno-histoquímica do mesmo hamartoma vascular cutâneo com recuperação antigênica em forno micro-ondas, onde houve excessiva imunomarcção inespecífica, com coloração de fundo, obj.40x. Fonte: o autor.

Em amostras em que há células epiteliais, adipócitos, laminina e proteoglicanos, bem como tecido conjuntivo onde há presença de elastina, ocorrem muitas reações inespecíficas

(*Background*) em decorrência de interações hidrofóbicas e iônicas entre as proteínas teciduais e os anticorpos (TAYLOR et al., 2010). O método mais eficiente de bloquear as interações hidrofóbicas é o uso da proteína bloqueadora, neste caso, leite em pó desnatado a 5% ou Protein block (caseína pronta comercial), ou dependendo do protocolo utilizado, o uso de levamizole, no qual inibe muitos tipos de fosfatase alcalina (RAMOS-VARA, 2005; SANTOS et al., 1999).

O próximo passo é a aplicação dos anticorpos, denominadas específicos ou primários, na amostra. Existem dois tipos de anticorpos, os policlonais e os monoclonais (TAYLOR et al., 2010; RAMOS-VARA, 2005). São denominados anticorpos policlonais quando um grande número de linfócitos B produzem muitos anticorpos que se ligam a vários epítomos de um antígeno. Estes possuem a vantagem sobre os monoclonais, no qual são mais propensos a identificar várias isoformas (epítomos) da proteína alvo, porém pode ocorrer maior quantidade de reação cruzada, pois o anticorpo policlonal reconhecerá um grande número de epítomos, assim há uma maior propabilidade daquele epítomo ser dividido com outra proteína (TAYLOR et al., 2010). Já os anticorpos monoclonais possuem maior especificidade em relação ao antígeno e são produzidos por uma única linhagem de célula B (denominada clone). A ausência de anticorpos inespecíficos significa que menos coloração de fundo é alcançada quando usado anticorpos monoclonais (TAYLOR et al., 2010). Após a aplicação dos anticorpos específicos, as lâminas devem ficar incubadas em câmara úmida por algumas horas para que ocorram as ligações Ag-Ac (TAYLOR et al., 2010). Dependendo do protocolo utilizado esse tempo varia. Anticorpos monoclonais, geralmente, necessitam de um maior tempo, já os policlonais por detectarem um maior número de epítomos necessitam menos tempo. De modo geral, grande parte dos protocolos no SPV realiza a incubação com os anticorpos em câmara úmida por 12-14 horas em temperatura ambiente (*overnight*).

As técnicas imuno-enzimáticas reúnem a imuno-reatividade de anticorpos e as propriedades químicas de enzimas, que reagem com substrato-cromógeno incolor para produzir produto final corado (SANTOS et al., 1999). As primeiras técnicas empregavam o método direto, que consistia na conjugação da enzima diretamente ao anticorpo específico (primário). Atualmente, através da utilização métodos indiretos, houve significativa melhora na sensibilidade das técnicas imuno-histoquímicas. Nesse método, a enzima está conjugada a um segundo anticorpo (secundário), que irá reagir com o anticorpo primário (RAMOS-VARA, 2005; SANTOS et al., 1999).

Após aplicação dos anticorpos específicos, as amostras são tratadas com o anticorpo secundário biotinizado, sendo atualmente, o mais utilizado em grande parte dos protocolos o

DAKO LSAB 2 kit, por 20 minutos em câmara úmida e temperatura ambiente. Posteriormente as seções são tratadas com o conjugado. Esta etapa pode variar conforme o protocolo, sendo diferentes técnicas utilizadas.

A técnica de Biotina-estreptovidina-peroxidase, mais utilizada nos protocolos de imuno-histoquímica na rotina de diagnóstico do SPV, utiliza a alta afinidade da glicoproteína de estreptovidina para biotina (uma vitamina de peso molecular baixo). Essa variante do método avidina-biotina-peroxidase, ou seja, a estreptavidina ligada à biotina (LSAB HRP) é 4 a 8 vezes mais sensível (SANTOS et al., 1999). Nesse método, o anticorpo secundário biotinilado irá se ligar ao complexo estreptovidina-biotina que, por sua vez, já se encontra ligado à enzima peroxidase (RAMOS-VARA, 2005).

Outra técnica utilizada, o método indireto, ou MACH 4, emprega um polímero compacto que tem um grande número de moléculas de enzimas ligadas. A grande vantagem é que pode ser usado em tecido que contenha muita biotina endógena sem produzir coloração de fundo (*background*).

As ligações Ag-Ac não são visíveis ao microscópio, e para isto são utilizadas enzimas nas diferentes técnicas supracitadas para que se produza uma reação final corada e estável, adequada ao microscópio ótico (RAMOS-VARA, 2005). As enzimas mais utilizadas são: peroxidase e fosfatase alcalina, e cada enzima possui substratos específicos e cromógenos para produzir uma cor precipitante.

Finalmente as amostras são submetidas à revelação com cromógeno (RAMOS-VARA, 2005). No SPV, a grande maioria dos protocolos imuno-histoquímicos realizados utiliza a enzima Peroxidase Horseradish no método biotina-estreptovidina-peroxidase. Esta, por sua vez, utiliza o cromógeno DAB (3,3' Diaminobenzidine tetrahydrochloride). O DAB em presença de peróxido de hidrogênio é reduzido, produzindo um composto insolúvel, corado e eletro-denso de coloração marrom (FIGURA 7 A, B e C). A Fosfatase alcalina é geralmente utilizada com 146 3-Amino-9-eticarbazol (AEC) ou Fast red, no qual produz coloração vermelha. Em seguida, utiliza-se um contra corante, sendo o mais frequentemente utilizado hematoxilina de Harris.

Em amostras de tumores, ou qualquer amostra que se tenha necessidade de definir o tipo celular, a técnica de imuno-histoquímica auxilia na identificação (TAYLOR et al., 2010; RAMOS-VARA, 2005; SANTOS et al., 1999). A tabela (17) demonstra os principais anticorpos utilizados na rotina do SPV para imuno-marcação celular.

TABELA 17 - Principais anticorpos utilizados na rotina do SPV para imuno-marcação celular.

<b>Anticorpo</b>	<b>Tipo celular</b>	<b>Exemplo para utilização</b>
Actina alfa de músculo liso	Células musculares lisas	Leiomiossarcoma
CD3	Linfócitos T	Linfomas
CD79	Linfócitos B	Linfomas
CD68	Macrófagos	Histiocitoma
Citoqueratinas (AE1AE3)	Células epiteliais	Carcinoma
Vimentina	Células mesenquimais	Sarcoma
Enolase	Células neuroendócrinas	Schwannoma
GFAP	Astrócitos	Astrocitoma
Ki-67	Mitose	Proliferação celular
Cromogranina	Células neuroendócrinas	Feocromocitoma
Desmina	Célula muscular esquelética	Rabdmiossarcoma
Von Villebrand	Células endoteliais	Hemangiomas
Neurofilamentos	Células neuronais	Neuroblastoma
Proteína S-100	Melanócitos	Melanomas

Além do auxílio no diagnóstico de tumores, a imuno-histoquímica aplicada à rotina de diagnóstico complementar é uma ferramenta de grande auxílio no reconhecimento de agentes etiológicos nas enfermidades (WATANABE et al., 2012; TAYLOR et al., 2010; JUFFO et al., 2009; GROOMS e KEILEN, 2002; BASZLER et al., 1995).

O diagnóstico imuno-histoquímico de raiva é frequentemente realizado na rotina de diagnóstico do SPV. A padronização do protocolo para a técnica foi realizada por Pedroso et al. (2008), durante a realização do doutorado, quando demonstrou que ambos os anticorpos, monoclonais e policlonais, obtiveram imuno-marcação satisfatória nas amostras, e o anticorpo policlonal foi definido com padrão para a técnica, pois não utiliza enzimas e necessita de um menor tempo na etapa de recuperação antigênica, diminuindo assim os custos e o tempo para a realização do diagnóstico. Também foi detectado que a diluição do anticorpo policlonal anti-raiva, obteve resultados positivos em diluições de 1:500 e 1:1000, e perda na qualidade da identificação do antígeno quando diluído 1:1500. Visto que, o custo do anticorpo anti-rábico é elevado e a necessidade do diagnóstico imuno-histoquímico para raiva é frequente, uma diluição maior seria mais rentável, porém o diagnóstico poderia ficar comprometido.

Na rotina de diagnóstico de enfermidades de suínos, o vírus da influenza suína (SIV) tipo A e o da circovirose suína tipo 2 (PCV 2), possuem especial atenção. Esses dois agentes, podem provocar lesões pulmonares caracterizadas por pneumonia intersticial com infiltrado

inflamatório linfocitoplasmocitário ao redor de vasos, brônquios e bronquíolos, e a técnica de imuno-histoquímica pode auxiliar na detecção do agente específico causador da doença (JUFFO et al., 2009). O antígeno viral mais predominante em amostras de pulmão com essas lesões é o vírus da influenza, porém em algumas amostras não se observa imuno-marcação positiva para este agente, este fato se dá em decorrência do curso muito rápido da doença, no qual a presença do antígeno viral ocorre apenas no início (WATANABE et al., 2012). Para influenza tipo A (SIV) utiliza-se anticorpo primário monoclonal, sorotipos H1N1, H3N2 e H1N2, e para PCV2 utiliza-se anticorpo policlonal, seguindo a técnica da estreptavidina-biotina-peroxidase, utilizando o cromógeno 3,3'diamino benzidina (DAB). Em algumas amostras recebidas durante a realização estágio, pode-se observar a imuno-marcação positiva para o antígeno viral da SIV em seções histológicas de pulmões (FIGURA 7 B). Algumas amostras de intestino também demonstraram imuno-marcação positiva para PCV2 (FIGURA 7 C).

Em bovinos, o vírus da diarreia viral bovina (BVDV) está associado a um amplo espectro de síndromes clínicas, incluindo a diarreia viral, doença das mucosas, complexo da doença respiratória bovina, aborto, retardo no desenvolvimento, efeitos teratogênicos no feto e infecções agudas que provocam alta mortalidade (BASZLER et al., 1995). Baseado neste amplo espectro de alterações e a variação dos sinais clínicos, lesões macroscópicas e microscópicas, a técnica de imuno-histoquímica é uma excelente alternativa para detecção do vírus nas amostras histológicas (BASZLER et al., 1995; GROOMS e KEILEN, 2002). Em 12 biópsias de orelha de bovino realizadas em uma propriedade rural no município de Glorinha-RS e posteriormente processadas em parafina e realizada a técnica de imuno-histoquímica, detectou-se a presença de antígeno viral nas 12 amostras coletadas (FIGURA 7 D). A técnica de imuno-histoquímica em biópsias de pele para detecção de animais persistentemente infectados é uma ferramenta de extremo auxílio na confirmação do diagnóstico (GROOMS & KEILEN, 2002).

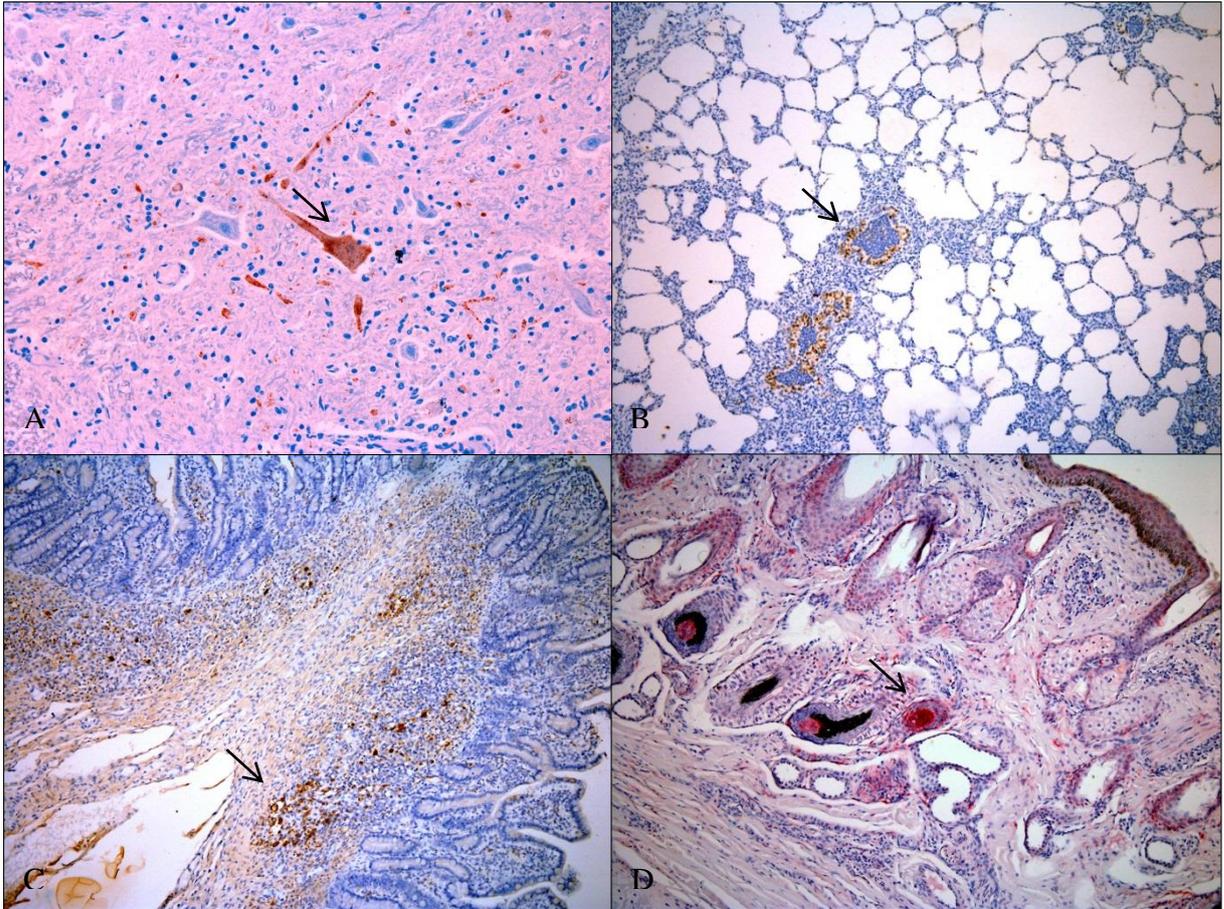


FIGURA 7 - A. Bovino. Imunomarcção positiva em neurônio da medula espinhal pela técnica de imunohistoquímica (seta). Método biotina-estreptovidina-peroxidase, contra-contracorado com hematoxilina de Harris, obj.40x. B. Suíno. Imunomarcção positiva para anticorpo monoclonal anti-SIV em epitélio bronquiolar (seta), obj. 20x. C. Suíno. Imunomarcção positiva para anticorpo policlonal anti-PCV-2 no citoplasma de macrófagos de placas de peyer (seta), obj. 20x. D. Bovino. Imunomarcção positiva anti-BVDV em células epiteliais basais de folículos pilosos (seta), obj. 40x. Fonte: o autor.

Os custos elevados da técnica de imunohistoquímica, bem como o tempo que demanda para sua realização são fatores que minimizam seu uso, entretanto sua eficácia e contribuição para a efetividade da rotina de diagnóstico de doenças no SPV fazem com que a técnica seja frequentemente usada em amostras de tecidos, principalmente no reconhecimento de agentes etiológicos das diferentes enfermidades em medicina veterinária.

### 3.2 Raiva bovina

Durante a realização do estágio, foram necropsiados 10 bovinos com doença neurológica compatível com raiva, e com base no levantamento de dados das propriedades, houve um total de 28 bovinos mortos entre todos os surtos ocorridos. A seguir, serão

demonstrados apenas dois surtos com suas principais características epidemiológicas e clínicas e lesões macroscópicas e microscópicas observadas. Os demais casos serão abordados apenas superficialmente pelo fato da distribuição das lesões e os achados epidemiológicos serem semelhantes aos descritos.

### Caso 1:

No dia 28 de abril de 2015, duas terneiras da raça Angus, com aproximadamente oito meses, em bom estado corporal foram eutanasiadas para exame de necropsia no município de Viamão-RS. As terneiras haviam sido compradas há quatro dias e estavam confinadas na propriedade com o intuito iniciar a alimentação com ração. Dois dias após a chegada na propriedade, as terneiras desenvolveram sinais clínicos caracterizados por ataxia, paresia dos membros pélvicos (FIGURA 8 A), quedas e decúbito esternal e lateral. Uma delas, no dia da necropsia estava em decúbito lateral, a outra ainda estava em pé, porém com marcada paresia dos membros posteriores. Na necropsia, observou-se em ambas as terneiras, moderada hiperemia dos vasos das leptomeninges do encéfalo e medula espinhal e acentuada distensão da bexiga por urina (bexiga neurogênica) (FIGURA 8 B).



FIGURA 8 - A. Terneira antes de ser eutanasiada demonstrando paresia dos membros posteriores. B. Exame de necropsia de bovino com bexiga marcadamente distendida (bexiga neurogênica). Fonte: o autor.

Fragmentos de diversos órgãos foram coletados, fixados em formol 10% e processados rotineiramente para a histologia. Fragmentos de encéfalo, cerebelo, tronco encefálico e medula espinhal foram enviados sob refrigeração para o Instituto de Pesquisas Veterinárias

Desidério Finamor (IPVDF) para exame de imunofluorescência direta para raiva. Na avaliação histológica, no encéfalo de ambas as terneiras, havia infiltrado inflamatório multifocal linfoplasmocitário circundando vasos sanguíneos do neurópilo (manguitos perivasculares) e áreas multifocais de gliose. O mesmo infiltrado inflamatório foi observado em diferentes segmentos da medula espinal de ambas as terneiras, porém mais acentuado em segmentos de medula espinal lombar e sacral (FIGURA 9). Em apenas uma das terneiras, haviam múltiplos corpúsculos de inclusão intracitoplasmáticos eosinofílicos (Corpúsculos de Negri) em neurônios da medula espinal lombar (FIGURA 10). No gânglio do nervo trigêmeo (Glânglio de Gasser) observou-se também moderado infiltrado inflamatório linfoplasmocitário e moderada necrose neuronal, caracterizada por neurônios retraídos, com o citoplasma hipereosinofílico e núcleo picnótico ou ausente. Ocasionalmente foi visualizado neuroniofagia e Corpúsculos de Negri no interior do citoplasma de alguns neurônios de ambas as terneiras. Observou-se ainda discreta degeneração vacuolar de hepatócitos em zona centrolobular.

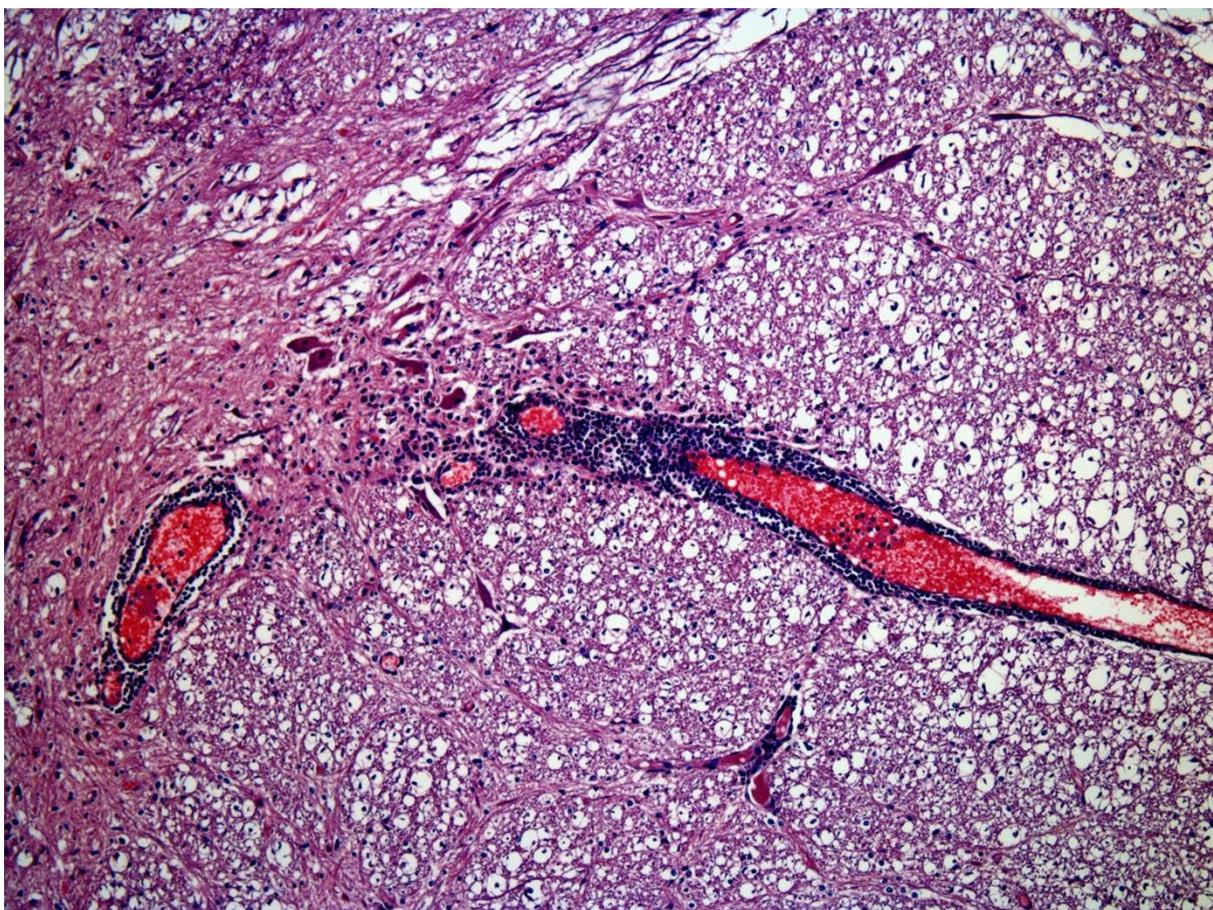


Figura 9 – Medula espinal lombar: há marcado infiltrado inflamatório composto predominantemente por linfócitos e plasmócitos circundando vasos (manguitos perivasculares). Observa-se ainda acentuada congestão e área focal de gliose. Fonte: o autor.

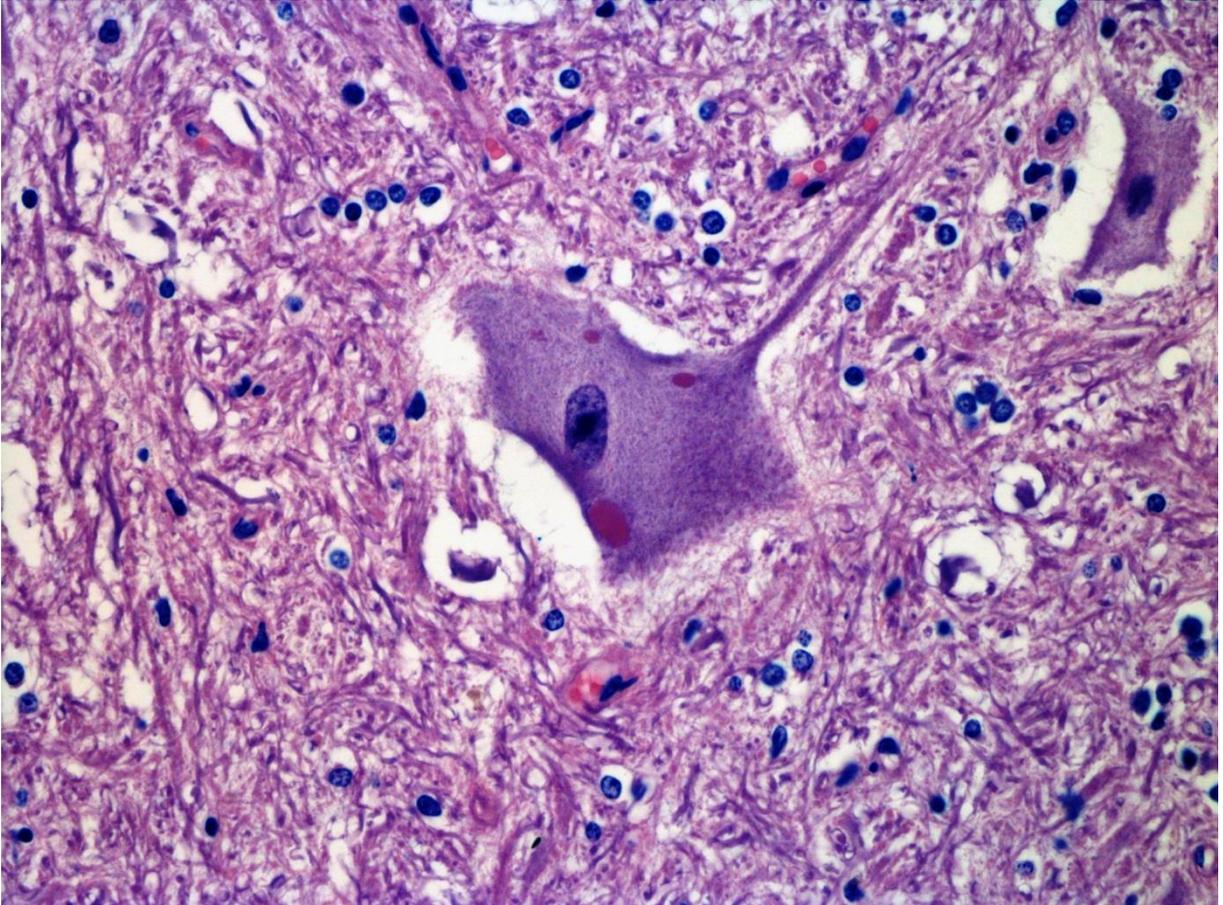


FIGURA 10 - Bovino. Múltiplos corpúsculos de inclusão intracitoplasmáticos eosinofílicos em neurônio da medula espinhal lombar. Fonte: o autor.

## Caso 2:

No dia 08 de abril de 2015, uma vaca Red Angus com 3 anos, em bom estado corporal e prenhe foi eutanasiada no município de Viamão-RS para exame de necropsia. A vaca apresentou sinais de incoordenação, tremores, quedas e decúbito lateral (FIGURA 11 A). Já havia morrido cinco animais de um total de 120 na propriedade, e estes nunca foram vacinados contra raiva. Macroscopicamente observou-se marcada hiperemia dos vasos das leptomeninges do encéfalo (FIGURA 11 B). Na medula espinhal, ao corte observaram-se áreas multifocais de hemorragia na substância cinzenta de diferentes segmentos. No parênquima hepático havia múltiplos abscessos que variavam entre 5 a 20 cm de diâmetro. Os abscessos eram preenchidos por grande quantidade de material brancacento caseoso (pus) (FIGURA 11 C). O pâncreas estava aumentado de tamanho, esbranquiçado, com superfície

irregular, firme e ao corte observou-se grande quantidade de exemplares de parasitas trematódeos morfológicamente compatíveis com *Eurytrema pancreaticum* no interior dos ductos (FIGURA 11 D). Fragmentos de diversos órgãos foram colhidos à necropsia, fixados em formol a 10% e processados rotineiramente para a histologia. Também foram coletados fragmentos refrigerados de encéfalo, cerebelo, tronco encefálico e diversos segmentos da medula espinhal, para encaminhar ao IPVDF para posterior exame de imunofluorescência direta para raiva.

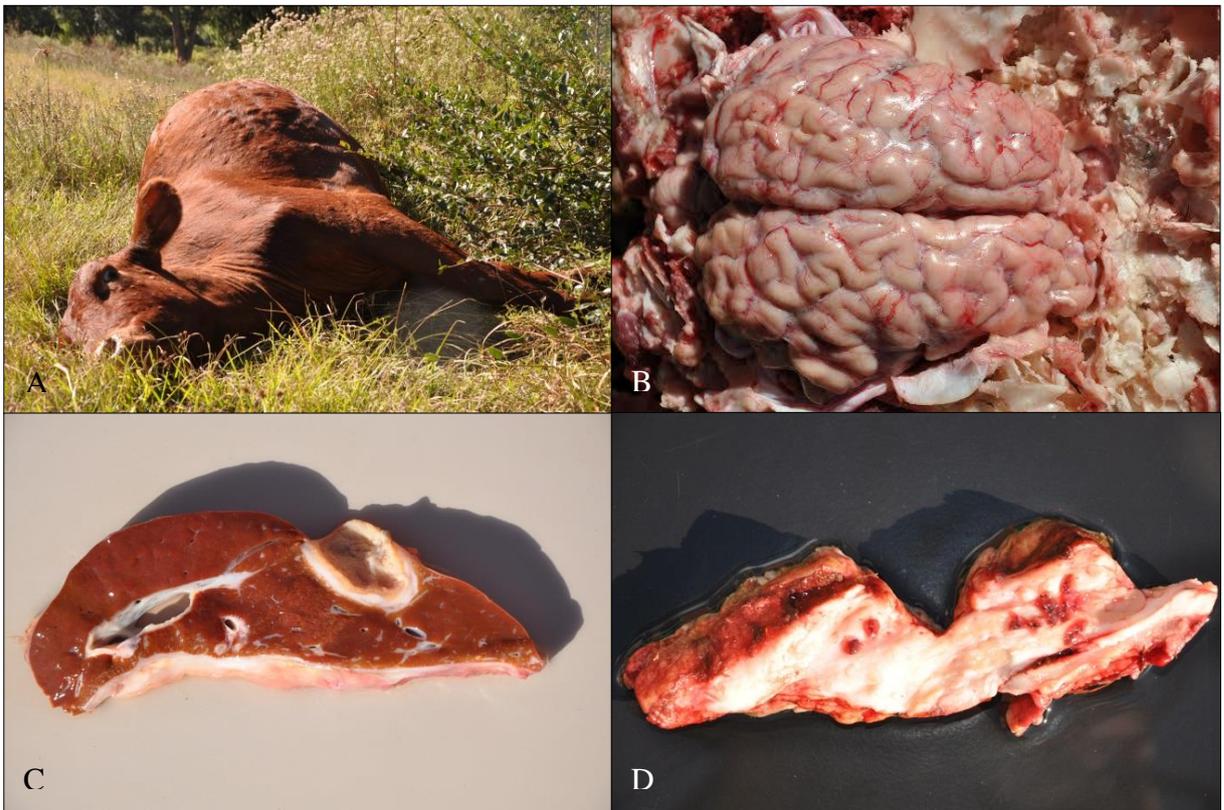


FIGURA 11 - A. Bovino em decúbito lateral em estágio terminal de raiva. B. Encéfalo com moderada hiperemia dos vasos das leptomeninges. C. Abscesso hepático que se estende do parênquima até a cápsula com 8cm de diâmetro. D. Pâncreas acentuadamente esbranquiçado e firme ao corte, evidenciando múltiplos exemplares de *Eurytrema pancreaticum* no interior dos ductos. Fonte: o autor.

Na avaliação histológica, em diferentes seções do encéfalo observou-se leve a moderado infiltrado inflamatório, predominantemente linfoplasmocitário no neurópilo. O mesmo infiltrado inflamatório foi observado circundando vasos (manguitos perivasculares). Multifocalmente havia focos de gliose e ocasionalmente observou-se neuronofagia. Havia ainda em alguns neurônios corpúsculos de Negri. Na medula espinhal, em diferentes segmentos analisados, foi observado marcado infiltrado inflamatório, predominantemente

linfoplasmocítico na substância cinzenta e branca, e circundando vasos sanguíneos (manguitos perivasculares) (FIGURA 12). Observaram-se também Corpúsculos de Negri em alguns neurônios e áreas multifocais de hemorragia. No gânglio trigêmeo havia marcado infiltrado inflamatório linfoplasmocitário com acentuada necrose de alguns neurônios, que possuíam o citoplasma hipereosinofílico e o núcleo picnótico ou ausente. Observou-se ainda neuroniofagia e Corpúsculos de negri em alguns neurônios (FIGURA 13).

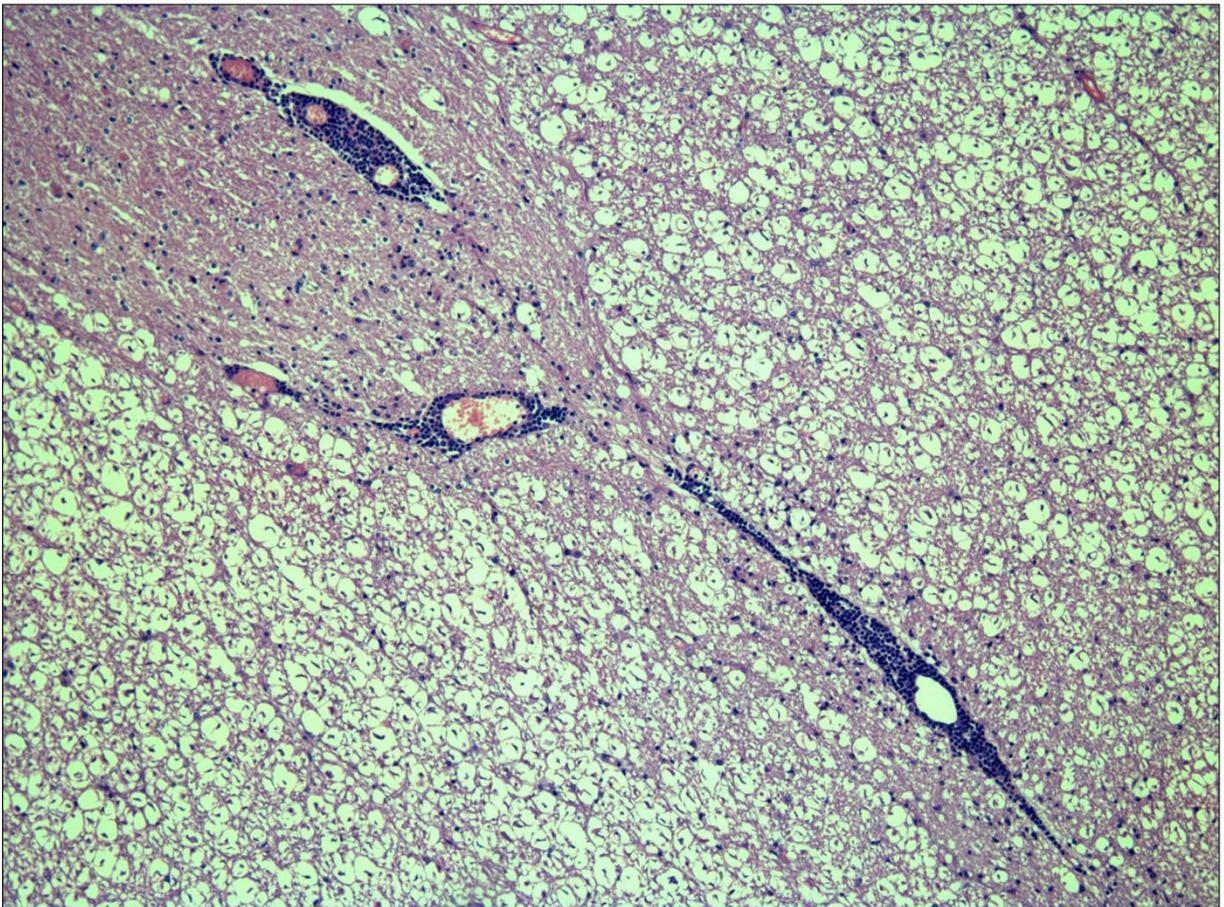


Figura 12 – Corte transversal da medula espinhal. Observa-se marcado infiltrado inflamatório linfoplasmocitário circundando vasos da substância branca e cinzenta da medula espinha. HE, obj.10x. Fonte: o autor.

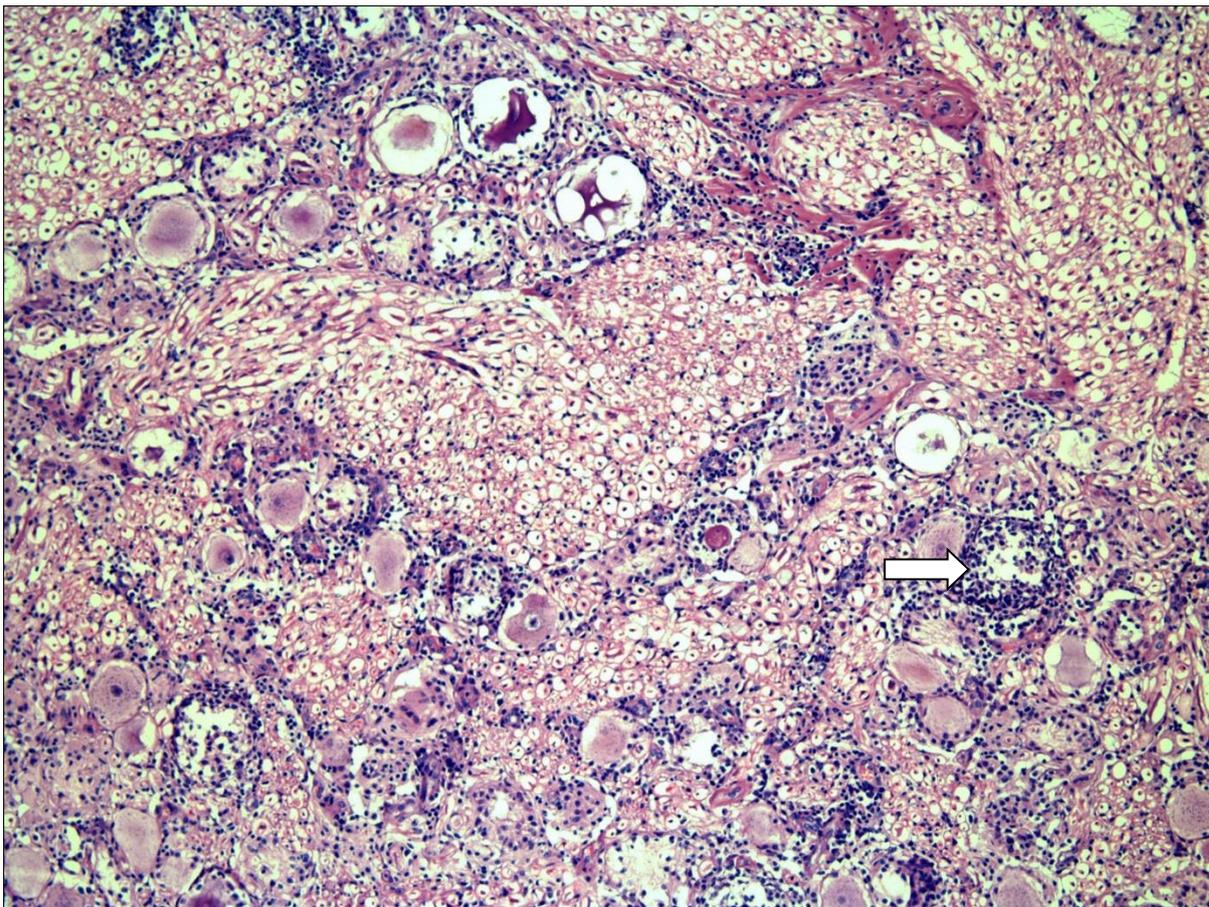


Figura 13 – Glânglio de Glasser. Há marcado infiltrado inflamatório linfoplasmocitário com necrose neuronal e neuroniofagia. Observa-se ainda nódulos gliais, denominados nódulos de Babe (seta). HE, obj.20x. Fonte: o autor.

A raiva é uma doença infecciosa de distribuição mundial causada por um vírus RNA, do gênero *Lyssavirus*, família *Rhabdoviridae*. (PEDROSO et al., 2009; SILVA et al., 2010; MARCOLONGO-PEREIRA et al., 2011; LIMA et al., 2005; RISSI et al., 2008). O principal transmissor na América do Sul é o morcego *Desmodus rotundus*, no entanto outros morcegos também podem transmitir a doença (*Diphylla ecaudata* e *Diaemus youngii*) (PEDROSO et al., 2009; FERNANDES & RIET-CORREA et al., 2007). A raiva acomete tanto animais domésticos quanto animais silvestres, que servem como reservatório durante longos períodos (LIMA et al., 2005). No Brasil existem duas variantes do vírus, uma do ciclo silvestre, isolada de morcegos e bovinos e outra do ciclo urbano, isolada de cães (BRASIL et al., 2009; BARROS et al., 2006; ROLIM et al., 2006).

A transmissão ocorre quando um animal raivoso, tanto portador quanto doente, morde um indivíduo sadio, inoculando o vírus que está presente na saliva (FERNANDES & RIET-CORREA, 2007). Outras formas de transmissão menos frequentes podem ocorrer através da

contaminação de feridas recentes com saliva ou material infectado, contaminação de mucosas e a transmissão via aerossol (FERNANDES & RIET-CORREA et al., 2007; BARROS et al., 2006). Após a infecção, a progressão do vírus do músculo ao sistema nervoso central pode ser rápida ou levar meses, dependendo da espécie acometida. O vírus realiza o trajeto através dos neurônios motores e/ou sensoriais via fluxo axonal retrógrado. Após chegar ao sistema nervoso central, de forma centrífuga dissemina-se para os nervos periféricos e invade tecidos altamente inervados, dentre eles as glândulas salivares, sendo posteriormente eliminado junto com a saliva (FERNANDES & RIET-CORREA, 2007; RADOSTITIS et al., 2002).

A raiva afeta todos os animais de sangue quente, não havendo predileção para raça, idade ou sexo (PEDROSO et al., 2009; LANGOHR et al., 2003). A doença ocorre em todo o Brasil possuindo grande importância pelo caráter zoonótico e por provocar significativas perdas econômicas na pecuária nacional, estimadas em aproximadamente 850.000 cabeças mortas por ano (LIMA et al., 2005). O ciclo aéreo incluso, além do ciclo urbano, rural e silvestre possui extrema importância na manutenção do vírus entre as várias espécies de morcegos (hematófagos, frutívoros e insetívoros). Os morcegos também são susceptíveis à raiva, e não são portadores sadios, portanto, por serem os únicos mamíferos que voam, são responsáveis pela disseminação do agente para as outras espécies susceptíveis (FERNANDES & RIET-CORREA et al., 2007).

A raiva em bovinos tende a ser cíclica, reaparecendo a cada 3-5 anos, o que ocorre simultaneamente com uma maior incidência em morcegos infectados e doentes, que também morrem em grande número. Isto faz com que o habitat dos mesmos necessite ser repovoado e o tempo para repovoar a colônia e ocorrer novamente infecção pelo vírus, determina os períodos de declínio da doença (LIMA et al., 2005; ABREU, 2012). A fêmea tem apenas uma cria por ano, fazendo com que o repovoamento de uma colônia seja lento (FERNANDES & RIET-CORREA et al., 2007). Na figura 14 pode-se observar um habitat dos morcegos que povoaram uma casa abandonada em uma propriedade rural no município de Viamão-RS, no qual foi realizada necropsia de bovinos positivos para raiva. No piso havia fezes e sangue dos morcegos que ficavam pendurados no local onde estava a lâmpada.



FIGURA 14 - A. Casa abandonada no campo. B. Piso evidenciando as fezes dos morcegos. Fonte: o autor.

Os morcegos eliminam o vírus pela saliva por aproximadamente 10 dias e morrem quando infectados, não havendo portadores assintomáticos (RADOSTITIS et al., 2002). Os machos disputam as fêmeas, ocorrendo agressões entre eles, e os machos menos dominantes tendem a procurar outras colônias, o que ocorre com maior frequência na primavera. Considerando o período de incubação do vírus nos morcegos e posteriormente nos animais agredidos a maior incidência tende a ser no outono, porém pode ocorrer em todas as estações do ano (MARCOLONGO-PEREIRA et al., 2011; LANGOHR et al., 2003). É observado na rotina de diagnóstico de raiva bovina no SPV uma maior frequência a partir dos primeiros meses do ano, porém isto pode variar anualmente, ocorrendo surtos ao longo de todo o ano. Outro fator importante na epidemiologia da raiva em uma determinada região é a presença de animais silvestres, geralmente os carnívoros, no qual são portadores e transmissores do vírus, porém estes morrem em poucos dias e não constituem reservatórios (LIMA et al., 2005).

O que determina a ocorrência da doença em uma região é a presença dos vetores, sendo os principais transmissores para os bovinos os animais da ordem Chiroptera, da qual fazem parte os morcegos (BRAGA et al., 2014; SOUZA et al., 2005). Fatores como, condições climáticas favoráveis, existência de abrigos naturais (morros, cavernas, ocos de árvores) ou artificiais (túneis, bueiros, pontes, minas, fornos para carvoaria, construções abandonadas), contribuem para a extensão e estabilidade enzoótica da doença (BRASIL, 2009; BARROS et al., 2006). Outro fator importante que pode agravar a ocorrência da raiva é a atuação insatisfatória, em alguns estados brasileiros, na execução do Programa Estadual de Controle da Raiva dos Herbívoros (BRASIL, 2009). Durante a realização do estágio e visitas às propriedades com surtos de raiva observou-se uma alta demanda por auxílios técnicos pelos produtores rurais, que muitas vezes não tinham conhecimento da doença e as formas de

controle. Foi observado também negligência dos produtores em relação à vacinação do rebanho, que muitas vezes realizavam a vacinação anualmente e por algum motivo deixavam de vacinar, fazendo com que a doença ocorresse novamente.

A raiva pode cursar com duas formas, a furiosa, mais frequente em cães, com lesões principalmente no córtex cerebral, hipocampo e tálamo e a paralítica, mais comum em bovinos com lesões na medula espinhal, tronco encefálico e cerebelo (PEDROSO et al., 2009; SILVA et al., 2010; FERNANDES & RIET-CORREA et al., 2007; RADOSTITIS et al., 2002). Os sinais clínicos são progressivos, primeiramente afetando membros posteriores, em seguida anteriores e finalizando em decúbito lateral permanente (PEDROSO et al., 2009; LIMA et al., 2005). Em todos os surtos observados nas propriedades, os sinais clínicos variaram de paresia flácida (debilidade) a decúbito esternal e lateral, juntamente com paresia ou paralisia da cauda, sendo estes sinais característicos de lesões medulares (RIET-CORREA et al., 2002). Em apenas um caso observou-se ataxia. Este fato decorre do tempo de evolução da doença, que cursa com aproximadamente 2-3 dias, podendo variar para mais ou para menos dias, até o decúbito permanente (FERNANDES, 2007; MARCOLONGO-PEREIRA et al., 2011; LANGOHR et al., 2003; PEDROSO et al., 2009). O período entre o momento da solicitação da necropsia pelo proprietário, até a chegada da equipe do SPV à propriedade, que normalmente ocorre quando os animais já estão mortos ou em estágio terminal da doença, faz com que, frequentemente não sejam observados sinais clínicos mais significativos. Para isto, uma correta anamnese juntamente com os dados epidemiológicos levantados com o requisitante da necropsia são indispensáveis para o correto diagnóstico (MARCOLONGO-PEREIRA et al., 2011; RISSI et al., 2010; LANGOHR et al., 2003). Nos casos em que os animais estão em estágio terminal, em decúbito lateral, pode-se observar estrabismo e nistagmo (LIMA et al., 2005). Sinais clínicos caracterizados por agressividade ou depressão, entre outros, são sugestivos de lesões no cérebro e cerebelo (RIET-CORREA et al., 2002), porém são praticamente ausentes na raiva bovina. Em apenas um caso observou-se agressividade do animal, que quando estimulado tentavam avançar nas pessoas, porém não é possível afirmar que seja em decorrência da doença.

Raramente observam-se lesões macroscópicas na raiva bovina, porém em alguns casos pode-se observar hiperemia dos vasos das leptomeninges, e hemorragia ou áreas amareladas de malácia na medula espinhal. (FERNANDES & RIET-CORREA et al., 2007; BARROS et al., 2006). Em grande parte dos casos observaram-se lesões secundárias ao comprometimento neurológico como bexiga repleta e ampola retal repleta de fezes (BARROS et al., 2006; LANGOHR et al., 2003). Estas alterações geralmente estão associadas à raiva, e ocorrem em

decorrência do acometimento da medula espinhal sacral (LIMA et al., 2005; RIET-CORREA et al., 2002). No caso 2, durante a realização da necropsia, as alterações encontradas levaram a suspeita de outro diagnóstico além de raiva, pois os abscessos hepáticos poderiam levar o animal à morte em decorrência de uma septicemia. Porém, após o processamento das amostras e avaliação histológica, as lesões em sistema nervoso foram características de raiva, que juntamente com os sinais clínicos e dados epidemiológicos, foram suficientes para se estabelecer o diagnóstico de raiva bovina. Os abscessos hepáticos, bem como a fibrose pancreática pela presença de parasitos foram apenas achados incidentais.

Microscopicamente as lesões provocadas pelo vírus da raiva são restritas ao sistema nervoso e são caracterizadas por meningoencefalite e ganglionite linfocitárias, com gliose focal ou difusa e ainda necrose neuronal, acompanhada de neurôniofagia e sateliose (MARCOLONGO-PEREIRA et al., 2011; PEDROSO et al., 2010; FERNANDES & RIET-CORREA et al., 2007; LANGOHR et al., 2003). No caso 2 além das lesões citadas anteriormente, observou-se nódulos gliais grandes, denominados nódulos de Babes. Estes nódulos representam focos de microgliose e, embora característicos, não são específicos de raiva (RECH et al., 2006). Além disso, inclusões eosinofílicas intracitoplasmáticas, denominadas corpúsculos de Negri são vistas nos neurônios dos núcleos localizados no tronco encefálico, na medula espinhal e principalmente, nos neurônios de Purkinje no cerebelo (MARCOLONGO-PEREIRA et al., 2011; PEDROSO et al., 2009; TEIXEIRA et al., 2008). A ganglionite no diagnóstico de raiva possui extrema importância quando não se observam corpúsculos de Negri e os resultados da imunofluorescência são negativos (RECH et al., 2006). As lesões microscópicas em córtex cerebral e cerebelo foram observadas em grande parte dos casos, porém houve casos em que não havia lesões nos mesmos, apenas em medula espinhal. Por vezes é enviado apenas o encéfalo ou cabeça inteira ao laboratório, e se não houver lesões nestes, o resultado pode ser falso positivo, comprometendo assim o diagnóstico (FERNANDES & RIET-CORREA et al., 2007). Para isto, ressalta-se a importância de realizar uma necropsia adequada, retirando todo o encéfalo, partes representativas da medula e o núcleo trigêmeo para exame histológico (RISSI et al., 2010; TEIXEIRA et al., 2010; LIMA et al., 2005).

Por ser uma doença de distribuição mundial e possuir um alto potencial zoonótico, o diagnóstico da raiva é essencial para o monitoramento da evolução da doença nas diferentes espécies e suas interações com os diferentes hospedeiros (ABREU, 2012; STEIN et al., 2010; TEIXEIRA et al., 2008). O MAPA utiliza oficialmente o emprego da técnica de imunofluorescência direta e da prova biológica (inoculação em camundongos ou células) nas

amostras encaminhadas para exame laboratorial de animais suspeitos de raiva (BRASIL, 2009). Em relação à inoculação em camundongos, o teste de IFD apresenta alta sensibilidade e especificidade. A técnica detecta antígenos do RabV em impressões de tecido cerebral fresco sobre a lâmina, permitindo a obtenção do resultado em poucas horas (RODRIGUEZ et al., 2007). O encaminhamento de material suspeito de raiva para os laboratórios é realizado por médicos Veterinários do Serviço Oficial. O médico veterinário, sempre que houver suspeita de raiva, deverá atuar rapidamente e comunicar à autoridade sanitária da região (BRASIL et al., 2009). O Serviço Estadual de Defesa Sanitária Animal, entretanto, é responsável por encaminhar um ofício, por intermédio do CRMV, para todos os veterinários autônomos do estado, com informações a respeito das ações a serem tomadas em execução do Programa Estadual de Controle da Raiva dos Herbívoros, juntamente com o endereço das unidades de atenção veterinária e os médicos veterinários oficiais responsáveis pelo programa (BRASIL, 2009).

No Rio Grande do Sul, o diagnóstico laboratorial de raiva é oficialmente realizado no Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor (IPVDF), órgão da Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária (Fepagro). O diagnóstico é realizado pelo uso da técnica de imunofluorescência direta (IFD) em amostras frescas ou congeladas utilizando-se conjugado anti-rábico e posteriormente os resultados da IFD são confirmados por inoculação em camundongos lactentes. Quando as amostras são enviadas corretamente, as falhas no diagnóstico entre histopatologia, imunofluorescência direta e inoculação em camundongos, são raras (TEIXEIRA et al., 2008). Porém, em um significativo número de casos diagnosticados durante o período de realização do estágio demonstrou no exame histopatológico lesões características de raiva e o resultado da imunofluorescência negativo. A eficiência da prova depende do treinamento do técnico e da qualidade dos reagentes utilizados, especialmente do conjugado (FERNANDES & RIET-CORREA et al., 2007). Durante o período de realização do estágio foi observado que o tempo para realização do diagnóstico por IFD levava em média dois dias, e o tempo para processamento das amostras coletadas na necropsia e a realização do diagnóstico histopatológico pode levar até 15 dias. Em determinados casos em que os aspectos epidemiológicos juntamente com os sinais clínicos eram característicos de raiva e a IFD foi negativa, as amostras em que não se observavam os Corpúsculos de Negri e lesões significativas, realizava-se a técnica de imunohistoquímica para confirmação (ABREU, 2012; STEIN et al., 2010). Cabe ressaltar que amostras com acentuado grau putrefação ou não formolizadas pode resultar em um falso negativo (SILVA et al., 2010). A presença dos corpúsculos de Negri associado aos achados

epidemiológicos são altamente sugestivos da doença, porém a presença destes dependem do estágio e curso da doença, bem como a cepa e a concentração do vírus (FERNANDES & RIET-CORREA et al., 2007). Quando amostras enviadas ao SPV por médicos veterinários são inadequadas ou incompletas, como por exemplo, a ausência da medula espinhal, e/ou a descrição dos sinais clínicos é subjetiva, a realização de imuno-histoquímica em material formolizado pode ser uma ferramenta de grande auxílio no diagnóstico de raiva (MARCOLONGO-PEREIRA et al., 2011; STEIN et al., 2010; PEDROSO et al., 2009).

O diagnóstico diferencial para raiva inclui um grande número de enfermidades que possam acometer o sistema nervoso, e deve se levar em consideração as doenças mais frequentes na região, juntamente com os aspectos epidemiológicos, sinais clínicos e achados de necropsia. No Rio Grande do Sul, os principais diagnósticos diferenciais, incluído doenças virais são herpesvirus bovino tipo 5 (BHV-5) e febre catarral maligna (BARROS et al., 2006; LANGOHR et al., 2003; MARCOLONGO-PEREIRA et al., 2011; TEIXEIRA et al., 2008). Encefalopatia hepática pela ingestão de *Senecio spp.* e babesiose cerebral, também devem ser incluídas, principalmente devido alta frequência destas enfermidades no estado, porém estas apresentam lesões macroscópicas características, sendo altamente sugestivo o diagnóstico durante a necropsia (RISSI et al., 2010; MARCOLONGO-PEREIRA et al., 2011).

A raiva é uma doença que não possui tratamento, e a profilaxia deve ser realizada mediante programas de erradicação e controle (BRAGA et al., 2014; FERNANDES et al., 2007; ROLIM et al., 2006). Desde 1966, o Ministério da Agricultura, por meio da Divisão de Defesa Sanitária Animal, instituiu o Plano de Combate à Raiva dos Herbívoros, que atualmente se denomina Programa Nacional de Controle da Raiva dos Herbívoros (PNCRH), executado pelo Departamento de Saúde Animal (DSA), do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa) (BRASIL, 2009). O PNCRH consiste em um conjunto de ações baseadas na vacinação estratégica de espécies susceptíveis e do controle populacional de seu principal transmissor, o *Desmodus rotundus*, associados a outras medidas profiláticas e de vigilância (BRASIL, 2009). A instrução normativa n.º 5, de 1º de março de 2002 do Ministério da Agricultura determina a obrigatoriedade, nas áreas de ocorrência da doença, a vacinação anual de bovinos e equinos com vacinas inativadas, a partir dos três meses de idade e os animais primovacinações devem ser revacinados após 30 dias (BRASIL, 2009; FERNANDES & RIET-CORREA et al., 2007).

A raiva compreendeu 38% das necropsias de bovinos realizadas durante o estágio, e todas realizadas próximas à região metropolitana de Porto Alegre. Este fato demonstra a estabilidade enzoótica da doença na região, que aliada a fatores como a não vacinação dos

rebanhos bem como a presença dos vetores, contribuem para o agravamento da ocorrência dos surtos. Medidas de controle e prevenção mais adequadas devem ser instauradas para que haja o efetivo controle da raiva bovina no estado. A conscientização dos produtores rurais também possui real importância, pois são responsáveis pela notificação de casos positivos ou suspeitos de raiva bovina aos órgãos oficiais, que na região é a inspetoria veterinária do município, com os respectivos veterinários e auxiliares do Núcleo de Controle da Raiva Herbívora (NCR).

### **3.3 Intoxicação natural por *Baccharis megapotamica* var. *weirii* em caprinos**

No mês de abril, três caprinos sem raça definida e com baixo estado corporal foram necropsiados em uma propriedade rural no município de Viamão-RS. Na propriedade havia um total de 152 caprinos com idade entre seis meses a um ano e destes, 11 morreram. Os animais eram comprados de diferentes regiões do estado e mantidos por tempo indeterminado na propriedade para posterior venda. Também eram mantidos em dois poteiros: um poteiro de campo nativo com dois hectares e o outro com pastagem de *Brachiaria sp.* de três hectares. Nessas áreas havia escassa oferta de gramíneas. Além disso, os caprinos eram suplementados com sal mineral e durante as visitas observaram-se alguns animais com edema submandibular “papeira”. O curso clínico variou de aproximadamente 12 a 24 horas. Todos os caprinos apresentaram sinais clínicos caracterizados por apatia, anorexia, prostração, diarreia, desidratação, desconforto abdominal, leve a moderado timpanismo, decúbito e morte. Grande quantidade de exemplares de *Baccharis megapotamica* var. *weirii* em estágio de floração, foram encontrados nos poteiros onde os caprinos estavam. As plantas se desenvolveram em uma área úmida e alagada na beira de um pequeno reservatório de água (FIGURA 1).



FIGURA 15 - A. Exemplos de *Baccharis megapotamica* var. *weirii* na beira de um reservatório de água na propriedade. B. Exemplo em floração. Fonte: o autor.

Macroscopicamente observou-se congestão, hemorragia, edema e erosões na mucosa dos pré-estômagos e abomaso (FIGURA 16 A e B), e leve a acentuado avermelhamento de alguns segmentos do intestino delgado, principalmente duodeno e jejuno, e do intestino grosso. O rúmen estava preenchido por moderada quantidade de conteúdo líquido. Em um dos caprinos observou-se uma área focalmente extensa de avermelhamento na serosa do rúmen (FIGURA 16 C) e marcada hemorragia dos linfonodos mesentéricos (FIGURA 16 D).

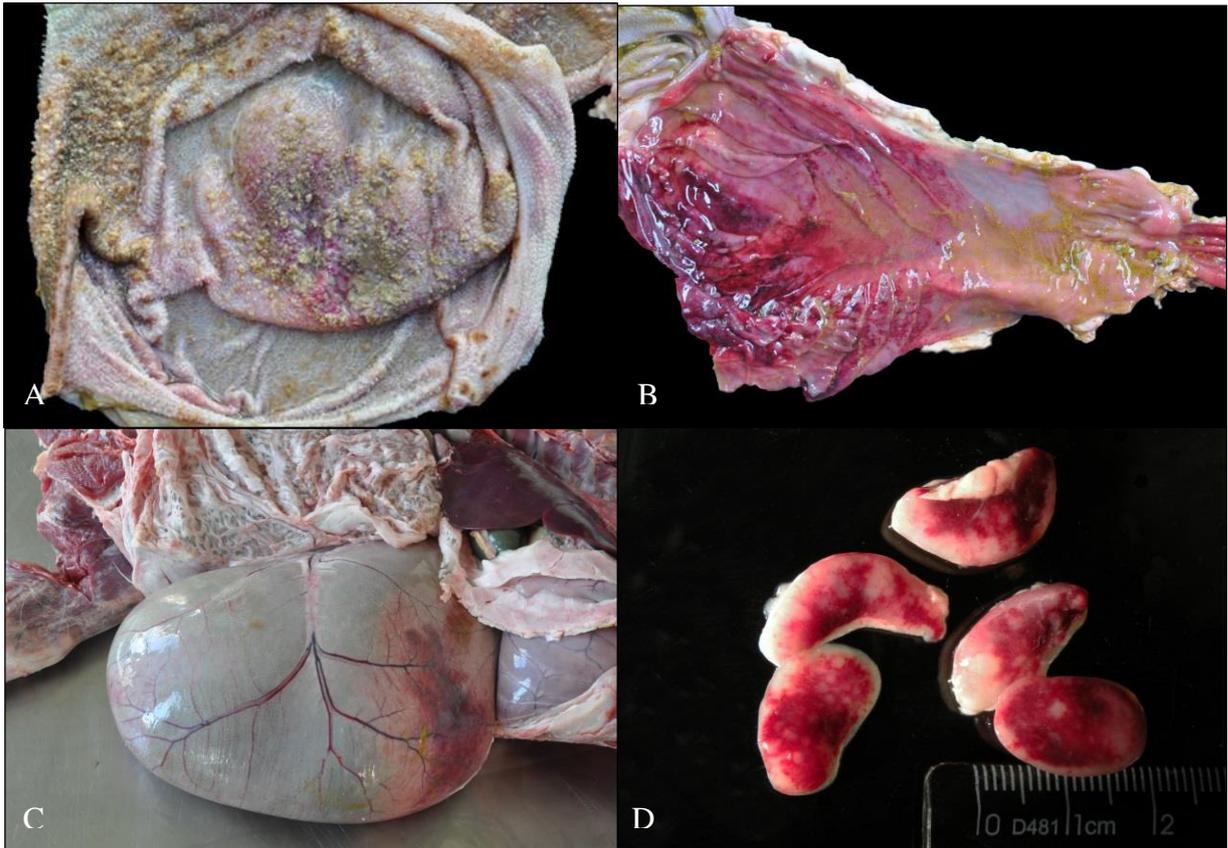


FIGURA 16 – A. Área focalmente extensa avermelhada da parede do rúmen, que se encontra distendida e com marcada congestão de vasos. B. Abomaso. A mucosa está difusamente avermelhada com áreas focalmente extensas de hemorragia. C. Rúmen. Área focalmente extensa avermelhada com numerosas úlceras multifocais a coalescentes na mucosa. D. Superfície de corte de alguns linfonodos mesentéricos com marcada hemorragia. Fonte: o autor.

Microscopicamente havia congestão, hemorragia, degeneração, necrose e úlceras variadas, no revestimento epitelial do rúmen, retículo e omaso, e na mucosa do abomaso e de alguns segmentos do intestino delgado, principalmente duodeno e jejuno. Em algumas áreas da mucosa dos pré-estômagos havia degeneração hidrópica das células epiteliais de revestimento da mucosa. Na maioria das pregas do rúmen, do retículo e omaso, havia degeneração e necrose. Na junção do epitélio com a lâmina própria observou-se múltiplas fendas (FIGURA 17 A), algumas com neutrófilos íntegros e degenerados, linfócitos, plasmócitos e macrófagos no seu interior (FIGURA 17 B). As áreas de necrose deixavam as papilas dos pré-estômagos parcialmente (erosão) ou totalmente (ulceração) desnudas e recobertas por restos celulares, infiltrado inflamatório predominantemente neutrofílico e densos aglomerados de bactérias cocoides (FIGURA 17 C). Multifocalmente, nas áreas ulceradas, observou-se numerosos vasos sanguíneos ocluídos por trombos. Havia ainda congestão dos vasos sanguíneos da lâmina própria dos pré-estômagos, abomaso e intestino. Infiltrado neutrofílico e hemorragias na lâmina própria ou transmural também foram

observados. Observou-se necrose do tecido linfóide em linfonodos mesentéricos (FIGURA 17 D) e em agregados linfóides no intestino. Nos linfonodos, as lesões necróticas envolviam somente os folículos, sugerindo envolvimento de linfócitos B. No fígado de todos os caprinos havia trombose multifocal e em um dos animais observou-se moderada degeneração hepatocelular vacuolar difusa.

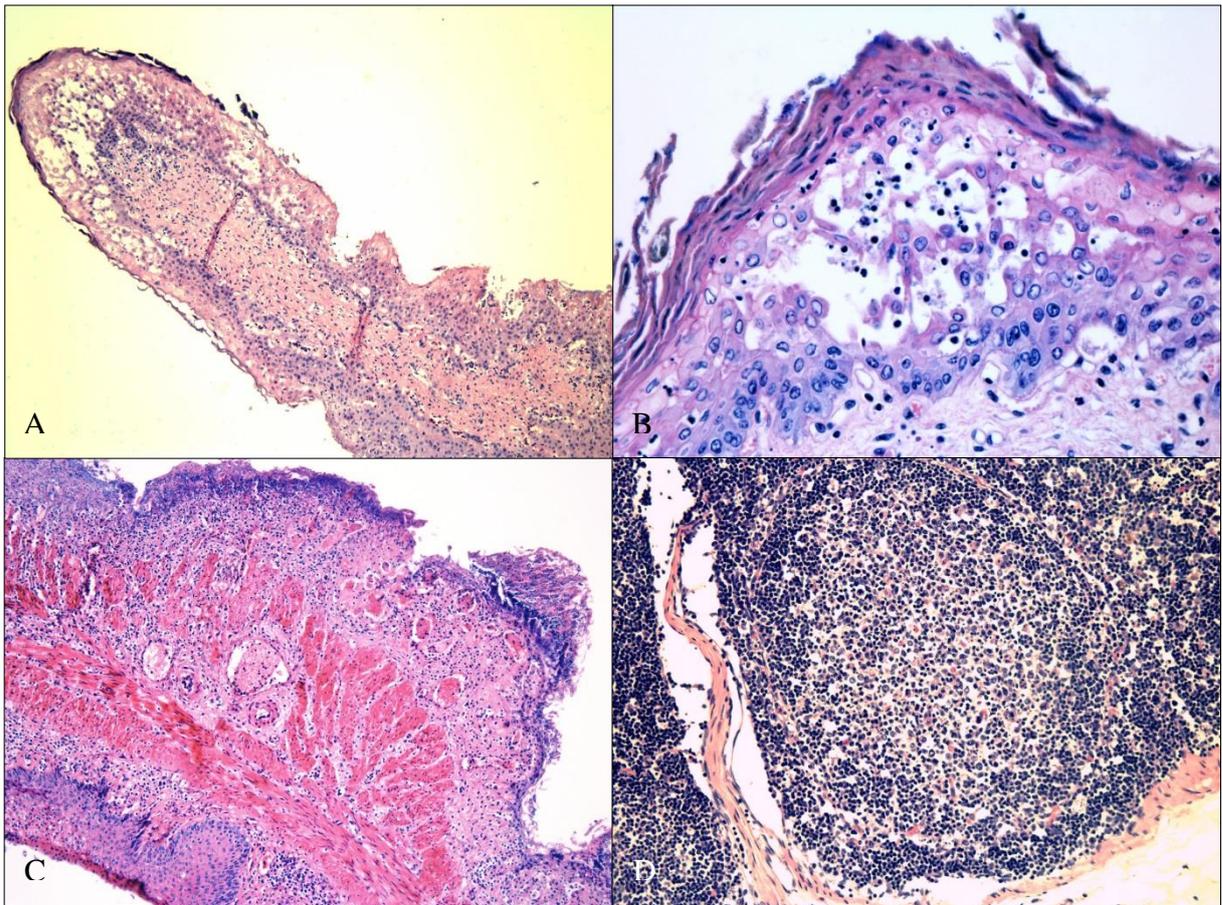


FIGURA 17 - A. Observa-se desprendimento do epitélio das papilas do rúmen com vacuolização e necrose das células epiteliais. HE, obj.10x. B. Em maior aumento evidenciando a degeneração e necrose do epitélio ruminal e formação de fendas com ocasionais células inflamatórias no seu interior. HE, obj.40x. C. Omaso: há marcada ulceração focalmente extensa do epitélio de revestimento com grande quantidade de debris celulares e infiltrado inflamatório. Observa-se ainda agregados bacterianos basofílicos na superfície do epitélio ulcerado e numerosos vasos sanguíneos ocluídos por trombos. HE, obj.20x. D. Linfonodo: necrose focalmente extensa no centro germinativo. HE, obj.20x. Fonte: o autor.

As plantas do gênero *Baccharis* são observadas basicamente na região sul do Brasil, no Uruguai e na Argentina (TOKARNIA et al., 2012). No Brasil, são conhecidas cerca de 120 espécies da planta, sendo *Baccharis coridifolia* e *Baccharis megapotamica* as espécies mais importantes (RIET-CORREA & MÉNDEZ 2007, TOKARNIA et al. 2012).

*B. megapotamica* é observado principalmente na região centro-sul e leste do Rio Grande do Sul e em Santa Catarina. Conhecida popularmente como “mio-mio do banhado”,

diferentemente do *B. coridifolia*, habita áreas alagadas. A planta possui duas variedades importantes que são responsáveis pelas intoxicações: *Baccharis megapotamica* var. *megapotamica* e *Baccharis megapotamica* var. *weirii* (TOKARNIA et al. 2012). Em caprinos é descrito na literatura apenas casos de intoxicação experimental pela variedade *weirii* (BARBOSA et al. 1994), já em bovinos e ovinos há relatos de intoxicação natural (PEDROSO et al., 2010; DRIEMEIER et al. 2000) e experimental em bovinos (TOKARNIA et al. 1992). A intoxicação por espécies de *Baccharis* se dá em decorrência da presença de tricotecenos macrocíclicos. Essas substâncias são micotoxinas produzidas por fungos presentes no solo, no qual são denominadas de roridinas A, D e E, verrucarinas A e J e miotoxina A (RIET-CORREA & MÉNDEZ, 2007). A intoxicação apresenta um curso clínico agudo e os sinais clínicos são em decorrência de distúrbios digestivos, sendo as lesões principalmente gastrintestinais (TOKARNIA et al. 2012).

No estado do Rio Grande do Sul, *B. coridifolia*, popularmente conhecida como “mio-mio”, possui maior importância quando comparada com *B. megapotamica*, sendo responsável por significativas perdas econômicas no estado, no qual bovinos e ovinos são as espécies mais acometidas (TOKARNIA et al. 2012). A planta é mais difundida na região da fronteira com o Uruguai e a Argentina e é responsável por uma alta mortalidade de bovinos e menos frequentemente ovinos (RIET-CORREA & MÉNDEZ 2007; RISSI et al., 2005).

Alguns fatores são apontados como causa para que ocorra a intoxicação, como a escassez de forragem associada com a alta infestação da planta no local, condições de estresse como jejum e sede, e principalmente quando são introduzidos animais de outros locais onde não há a ocorrência da planta (RIET-CORREA & MÉNDEZ 2007; TOKARNIA et al., 2012; RISSI et al., 2005). Neste surto, os caprinos eram comprados de diferentes locais do estado e acredita-se que os mesmos não tiveram contato com a planta em seu local de origem, tornando-os mais propensos a ingestão de *B. megapotamica*. Também a alta lotação encontrada nos poteiros em que estavam, contribuiu significativamente para a ingestão da planta pelos animais. Observou-se também “papeira” em alguns caprinos, o que sugere uma alta carga parasitária, que também está associado com alta lotação (COELHO et al., 2010).

Os animais deste surto desenvolveram um curso clínico agudo da doença, semelhantemente ao que é descrito na literatura, com manifestações clínicas relacionadas estritamente a distúrbios gastrintestinais. Essas alterações devem-se basicamente a ação da planta nos órgãos gástricos (TOKARNIA et al., 2012; BARBOSA et al., 1994). As lesões no abomaso e em segmentos do intestino delgado são mais graves em caprinos do que nas demais espécies (BARBOSA et al., 1994). Em uma investigação sobre plantas com atividade

antiblastica, tricotecenos macrocíclicos extraídos de *B. megapotamica* var. *weirii* foram capazes de destruir células neoplásicas em linfomas de células B em ratos (RISSI et al. 2005). Esse mecanismo poderia explicar a necrose linfoide encontrada nos folículos dos linfonodos e agregados linfoides do intestino desses cabritos.

A causa da morte nos casos de intoxicação por plantas do gênero *Baccharis* ainda não é bem esclarecida (RISSI et al., 2005), porém, considerando as lesões no epitélio dos pré-estômagos e mucosa do abomaso, o volume líquido no interior do rúmen, diarreia e a marcada desidratação, podem ter papel importante na morte dos caprinos desse surto, o que acontece semelhantemente na acidose ruminal, no qual há desequilíbrio de eletrólitos (TOKARNIA et al., 2012; BARBOSA et al., 1994). Possivelmente essas alterações associadas à ação dos tricotecenos macrocíclicos, que são altamente tóxicos, contribuíram no agravamento do quadro clínico e morte dos animais. A presença de grandes aglomerados de bactérias no epitélio afetado dos pré-estômagos sugere que a septicemia possa também atuar na patogênese (TOKARNIA et al. 1992, RISSI et al. 2005; BARBOSA et al., 1994). A presença do edema submandibular encontrado em alguns caprinos sugere uma alta carga parasitária no campo (COELHO et al., 2010), porém não influenciou na morte dos animais, pois não encontrou-se quantidade de parasitas significativa no trato gastrointestinal dos caprinos necropsiados. Este fato pode ser em decorrência do reduzido tempo em que os animais permanecem na propriedade até serem vendidos.

Outras plantas que causam lesões no trato gastrintestinal, principalmente aquelas que contêm como princípio tóxico tricotecenos macrocíclicos, como *B. coridifolia*, *Eupatorium tremulum* e *Baccharidastrum triplinervium*, devem ser incluídas no diagnóstico diferencial. O correto diagnóstico consiste na avaliação epidemiológica juntamente com os achados macroscópicos e microscópicos. (TOKARNIA et al. 2012).

Como medida profilática, existem alguns métodos para induzir a aversão dos animais à planta, como administração oral em doses mais baixas que as doses tóxicas, inalação forçada da fumaça proveniente da planta queimada ou esfregação da planta no focinho dos animais (ALMEIDA et al., 2013). Entretanto esses métodos não são totalmente eficientes, e a alternativa mais segura para se evitar a intoxicação é erradicar a planta da propriedade.

A confirmação do diagnóstico de intoxicação por *Baccharis megapotamica* var. *weirii* permitiu ao proprietário tomar medidas de prevenção para que não ocorresse mais caprinos acometidos. Devido ao fato de a propriedade possuir uma área muito pequena, foi recomendado ao proprietário que arrancasse manualmente os exemplares da planta nos poteiros.

## 4 CONCLUSÃO

O estágio proporcionou um maior senso crítico frente à linha de diagnóstico de doenças através do acompanhamento da rotina de exames de necropsia e anatomopatológicos de animais de companhia, bem como os surtos acompanhados de raiva e outras doenças que acometem rebanhos. O diagnóstico correto das enfermidades, como a intoxicação por *Baccharis megapotamica* var. *weirii* nos caprinos, permitiu a realização do controle e, principalmente, da prevenção da doença, visto que não possui tratamento. A técnica de imunohistoquímica permite o reconhecimento do agente etiológico, ou a identificação de possíveis células tumorais em uma lesão, o que auxilia significativamente no tratamento mais adequado para as diferentes enfermidades.

Além do grande aprendizado adquirido durante o estágio curricular, a convivência com a equipe de trabalho do SPV, contribuiu para um enorme amadurecimento como ser humano. Uma equipe com um grande número de graduandos e pós-graduandos, liderada por excelentes professores em patologia veterinária, faz com que o SPV, hoje, mantenha um centro de formadores de excelentes profissionais.

Todo o conhecimento adquirido durante esses cinco anos, transpassados por excelentes professores, aliado com a vivência do estágio curricular serviram de base para uma ótima formação em medicina veterinária. A área de patologia veterinária proporcionou um entusiasmo e ânimo para essa formação, através da rotina de diagnóstico e principalmente pelo estudo de doenças, com o intuito de auxiliar no tratamento, controle e prevenção de enfermidades.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, M.B.; SCHILD, A.L.; PFISTER, J.; PIMENTEL, M.; FORSTER, K.M.; RIET-CORREA, F. Métodos de indução de aversão alimentar condicionada a *Baccharis coridifolia* (mio-mio) em bovinos. **Ciência Rural**, v.43, n.10, p.1866-1871, 2013. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/cr/v43n10/a29013cr2012-1270.pdf>

ABREU, C.C. Imuno-histoquímica para diagnóstico rápido da raiva bovina e estudo da distribuição periférica do vírus. 75 p. **Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras**, Lavras, 2012. Disponível em: <http://repositorio.ufla.br/handle/1/1025>

BRAGA, B.G.; GRISI-FILHO, J.H.H; LEITE, B.M.; SENA, E.F.; DIAS, R.A. Predictive qualitative risk model of bovine rabies occurrence in Brazil. **Preventive Veterinary Medicine**, v.113, n.4, p.536-546, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24433635>

BARROS, C.S.L.; DRIEMEIER, D.; DUTRA, I.S.; LEMOS, R.A.A. **Doenças do sistema nervoso de bovinos no Brasil**. 1 ed. Montes Claros, MG: Vallée, 2006.

BASZLER, T.V.; EVERMANN, J.F.; KAYLOR, P.S.; BYINGTON, T.C.; DILBECK, P.M. Diagnosis of Naturally Occurring Bovine Viral Diarrhea Virus Infections in Ruminants Using Monoclonal Antibody-based Immunohistochemistry. **Veterinary Pathology**, v.32, p.609-618, 1995. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8592795>

BARBOSA J.D, ARMIÉN A.G. & TOKARNIA C.H. Intoxicação experimental por *Baccharis megapotamica* var. *weirii* (Compositae) em caprinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.14, n.1, p.5-13, 1994. Disponível em: acervo de revistas do SPV-UFRGS.

BRASIL. **Manual Técnico do Programa Nacional de Controle da Raiva dos Herbívoros**. Departamento de Defesa Animal, Secretaria de Defesa Agropecuária, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), Brasília, DF, 2009. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/animal/sanidade-animal>.

COELHO, W.A.C.; AHID, S.M.M.; VIEIRA, L.S.; FONSECA, Z.A.A.S; SILVA, I.P. Resistência anti-helmíntica em caprinos no município de Mossoró, RN. **Ciência Animal Brasileira**, v.11, n.3, p.589-599, 2010. Disponível em: <http://www.revistas.ufg.br/index.php/vet/article/view/5389>

DRIEMEIER D., CRUZ C.E.F. & LORETTI A.P. *Baccharis megapotamica* var. *weirii* poisoning in brazilian cattle. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.42, n.4, p.220-221, 2000. Disponível em: <http://vdi.sagepub.com/content/23/3/610.full.pdf+html>

FERNANDES G.V.; RIET-CORREA, F. Raiva. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.; LEMOS, R.A.A.; BORGES, J.R.J. (3 ed.) **Doenças de ruminantes e equídeos**. Santa Maria: Palloti, 2007, p.184-197.

GROOMS, D.L.; KEILEN, E.D. Screening of neonatal calves for persistent infection with Bovine Viral Diarrhea Virus by immunohistochemistry on skin biopsy samples. **Clinical And Diagnostic Laboratory Immunology**, v.9, n.4, p. 898-900, 2002. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12093692>

JUFFO, G.D.; BITENCOURT, A.P.G.; TAKEUTI, K.L.; OLIVEIRA, L.G.S.; ANTONIASSI, N.A.B.; ZLOTOWSKI, P. Avaliação imuno-histoquímica para vírus da Influenza Suína tipo A e Circovírus Suíno tipo 2 em lesões pulmonares de suínos no Setor de Patologia Veterinária da UFRGS. **Salão de iniciação científica**, 21 p.19-23, 2009. Disponível em: <http://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/41929>

LANGOHR, I.M.; IRIGOYEN, L.F.; LEMOS, R.A.A.; BARROS, C.S.L. Aspectos epidemiológicos, clínicos e distribuição das lesões histológicas no encéfalo de bovinos com raiva. **Ciência Rural**, v.33, n. 1, p. 125-131, 2003. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-84782003000100020&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-84782003000100020&script=sci_arttext).

LIMA, E.F; RIET-CORREA, F.; CASTRO, R.S.; GOMES, A.A.B; LIMA, F.S. Aspectos clínicos e patológicos em bovinos afetados por raiva com especial referência ao mapeamento do antígeno rábico por imuno-histoquímica. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.24, n.4, p.250-264, 2005. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-736X2009001100006](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2009001100006).

MARCOLONGO-PEREIRA, C.; SALLIS, E.S.V.; GRECCO, F.B.; RAFFI, M.B.; SOARES, M.P.; SCHILD, A.L. Raiva em bovinos na Região Sul do Rio Grande do Sul: epidemiologia e diagnóstico imuno-histoquímico. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.31, n.4, p.331-335, 2011. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-736X2011000400010&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-736X2011000400010&script=sci_arttext).

PEDROSO P.M.O., BANDARRA P.M., FELTRIN C., GOMES D.C., WATANABE T.T.N., FERREIRA H.H. & DRIEMEIER D. 2010. Intoxicação por *Baccharis megapotamica* var. *weirii* em ovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30, n.5, p.403-405. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/pvb/v30n5/a05v30n5.pdf>

PEDROSO, P.M.O.; PESCADOR, C.A.; BANDARRA, P.M.; RAYMUNDO, D.L.; WOUTERS, F.; JUNIOR, P.S.B.; DRIEMEIER, D. Padronização da técnica de imunohistoquímica para raiva em amostras de tecido do sistema nervoso central de bovinos fixadas em formol e emblocadas em parafina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.28, n.12, p.627-632, 2008. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-736X2008001200012](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2008001200012).

PEDROSO, P.M.O.; COLODEL, E.M.; PESCADOR, C.A.; ARRUDA, L.P.; DRIEMEIER, D. Aspectos clínicos e patológicos em bovinos afetados por raiva com especial referência ao mapeamento do antígeno rábico por imuno-histoquímica. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. Rio de Janeiro, v.29, n.11, p. 899-904, 2009. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-736X2009001100006](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2009001100006).

PEIXOTO, P.V.; BARROS, C.S.L. A importância da necropsia em medicina veterinária. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 18, n. 3-4, p. 1-3, 1998. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-736X1998000300008&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-736X1998000300008&script=sci_arttext).

RAMOS-VARA, J.A. Technical Aspects of Immunohistochemistry. **Veterinary Pathology**, v.42, n.4, p.404-426, 2005. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16006601>.

RAMOS-VARA, J.A.; MILLER, M.A. When Tissue Antigens and Antibodies Get Along: Revisiting the technical aspects of immunohistochemistry—The red, brown, and blue technique. **Veterinary Pathology**, v.51, n.1, p.42-87, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24129895>.

RAMOS-VARA, J. A. WEBSTER, J. D. DUSOLD, D. MILLER, M. A. Immunohistochemical Evaluation of the Effects of Paraffin Section Storage on Biomarker Stability. **Veterinary Pathology**, v.51, n.1, p. 102-109, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23435571>.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Clínica Veterinária. Um Tratado de Doenças dos Bovinos, Ovinos, Suínos, Caprinos e Equinos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2002. 1737p.

RECH, R.R. et al. Histomorfologia do gânglio de Gasser, da rete mirabile carotídea e da hipófise de bovinos: estudo de 199 casos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 26, n. 2, p.105-111, 2006. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-736X2006000200008](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2006000200008)

RODRIGUEZ, L.; BATISTA, H.R.; ROEHE, P.M.; KURTH, G. Rhabdoviridae. In: **Virologia Veterinária**. Santa Maria: Editora da UFSM, 2007. p.689-720.

RISSI, D.R.; PIEREZAN, F.; OLIVEIRA-FILHO, J.C.; LUCENA, R.B.; CARMO, P.M.S.; BARROS, C.S.L. Abordagem diagnóstica das principais doenças do sistema nervoso de ruminantes e equinos no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30, n. 11, p.958-967, 2010. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-736X2010001100010&script=sci\\_abstract&lng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-736X2010001100010&script=sci_abstract&lng=pt).

RISSI, D.R.; RECH, R.R.; FIGHERA, R.A.; CAGNINI, D.Q.; KOMMERS, G.D.; BARROS, C.L. Intoxicação espontânea por *Baccharis coridifolia* em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.25, n.2, p.111-114, 2005. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-736X2005000200008&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-736X2005000200008&script=sci_arttext).

RIET-CORREA F.; MÉNDEZ M.C. Intoxicações por plantas e micotoxinas,. In: RIET-CORREA F., SCHILD A.L., LEMOS R.A.A. & BORGES J.R.J. (Eds), **Doenças de Ruminantes e Equídeos**. Vol. 2. 3ª ed. Pallotti, Santa Maria, 2007, p.99-221.

ROLIM, R.L.P.; LOPES, F.M.R.; NAVARRO, I.T. Aspectos da vigilância epidemiológica da raiva no município de Jacarezinho, Paraná, Brasil, 2003. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 27, n. 2, p. 271-280, 2006. Disponível em: <http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/view/2431>.

SANTOS, R.T.M.; WAKAMATSU, A.; KANAMURA, C.T.; NONOGAKI, S.; PINTO, G.A. Procedimentos laboratoriais em imuno-histoquímica e hibridização “in situ”. ALVES, V.A.F.; BACCHI, C.E.; VASSALLO, J. **Manual de Imuno-histoquímica**. São Paulo: Sociedade Brasileira de Patologia, 1999. p.237-259.

SILVA, M.L.C.R.; RIET-CORREA, F.; GALIZA, G.J.N.; AZEVEDO, S.S.; AFONSO, J.A.B.; GOMES, A.A.B. Distribuição do vírus rábico no sistema nervoso central em ruminantes naturalmente infectados. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.30, n.11, p.940-944, 2010. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-736X2010001100007](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2010001100007).

WATANABE, T.T.N.; ALMEIDA, L.L.; WOURTERS, F.; WOUTERS, A.T.B.; ZLOTOW, P.; DRIEMEIER, D. Histopathological and immunohistochemical Findings of swine with spontaneous influenza A infection in Brazil, 2009-2010. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.32, n.11, p.1148-1154, 2012. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-736X2012001100013&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-736X2012001100013&script=sci_arttext).

STEIN, L.T.; RECH, R.R.; HARRINSON, L.; BROWN, C.C. Immunohistochemical study of rabies virus within the central nervous system of domestic and wildlife species. **Veterinary Pathology**, v.47, n.4, p.630-636, 2010. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20484176>.

TAYLOR, C.R.; SHI, S.R.; BARR, N.J. Techniques of immunohistochemistry: principles, pitfalls, and standardization. In: DABBS, D.J. **Diagnostic Immunohistochemistry: theranostic and genomic applications**. 3<sup>o</sup> Ed. Philadelphia: Saunders, 2010. p.1-41.

TOKARNIA C.H., BRITO M.F., BARBOSA J.D., PEIXOTO P.V. & DÖBEREINER J. Plantas que afetam o trato digestório. In: **Plantas tóxicas do Brasil para animais de produção**. 2 ed. Helianthus, Rio de Janeiro, 2012, p.95-128.

TOKARNIA C.H., PEIXOTO P.V., GAVA A. & BARROS C.S.L. Intoxicação experimental por *Baccharis megapotamica* var. *megapotamica* e var. *weirii* (Compositae) em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v,12, p.19-31, 1992.

## ANEXO 1 – Certificado do Estágio Curricular Supervisionado em Medicina Veterinária



Faculdade de Veterinária  
Departamento de Patologia Clínica Veterinária  
Setor de Patologia Veterinária



Porto Alegre, 19 de janeiro de 2015

### CERTIFICADO

Certifico que o acadêmico PEDRO ARAUJO DAMBORIARENA, matriculado (102440068) no curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Pampa - Campus Uruguaiana, realizou estágio curricular obrigatório na área de patologia veterinária, no Setor de Patologia Veterinária da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, sob minha supervisão, no período de 02 de março de 2015 a 19 de junho de 2015, realizando 40h semanais, com total de 570 horas.

Prof. Davi Driemeier

CRMV-RS 5756

Setor de Patologia Veterinária UFRGS CRMV-RS 5756

David Driemeier  
Professor Associado  
SPV-UFRGS

Setor de Patologia Veterinária

Av. Bento Gonçalves, 9090 Prédio 42505 – Agronomia – Porto Alegre - RS

CEP 91540-000 Telefone: (51) 3308-6107

E-mail: setpatvet@ufrgs.br

Página 1 de 1

**ANEXO 3 – Formulário de requisição de necropsia. SPV-UFRGS.**



**Universidade Federal do Rio Grande do Sul**  
 Faculdade Veterinária  
 Departamento de Patologia Clínica Veterinária  
 Setor de Patologia Veterinária

Requisição de Exame \_\_\_\_ - \_\_\_\_ / 15

<u>Espécie:</u>	<u>Veterinário:</u>
<u>Raça:</u>	<u>Endereço:</u>
<u>Sexo:</u>	<u>Telefone:</u>
<u>Idade:</u>	<u>Data da morte (se adequado):</u>
<u>Nome:</u>	<u>Data do recebimento:</u>
<u>Proprietário:</u>	
<u>Endereço:</u>	
<u>Telefone/e-mail:</u>	

Histórico:

Suspeita Clínica:

Material enviado:

Exame Solicitado:

REQUISITANTE

Responsável pelas anotações e recebimento

**OBS. O cadáver, após necropsia, será considerado material hospitalar contaminante e, portanto terá destinação apropriada.**

**ANEXO 2 – Formulário de requisição de necropsia a campo. SPV-UFRGS.**

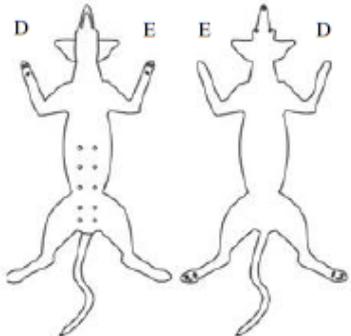
		<b>Universidade Federal do Rio Grande do Sul</b> <b>Fac. de Veterinária- Dep. de Patologia Clínica veterinária</b> <b>Setor de Patologia Veterinária</b>				
Ficha	Data	Veterinário				
Telefone/e-mail				Endereço/empresa		
Proprietário			Telefone			
Endereço						
Espécie	Raça		Sexo	Idade	Amostras	
Totais de animais		Doentes	Mortos	Materiais Recebidos		
Diagnóstico presuntivo						
<b>Dados Epidemiológicos</b>						
Área da Propriedade			Doenças anteriores		Época de ocorrência	
Alimentação						
Observações (Plantas tóxicas, manejo, Aquisição de animais)						
<b>História clínica (Início dos sintomas, evolução)</b>						
<b>Amostras para laboratório</b>						
Micro.	Paras.	Viol.	Micologia	Outros		
<b>Lesões Macroscópicas</b>						

**ANEXO 4** – Formulário de requisição de exame anatomopatológico. SPV-UFRGS.



**Universidade Federal do Rio Grande do Sul**  
**Faculdade Veterinária**  
**Departamento de Patologia Clínica Veterinária**  
**Setor de Patologia Veterinária**

**Requisição de Biópsia AP - \_\_\_\_\_ / 15**

<u>Espécie:</u> <u>Raça:</u> <u>Sexo:</u> <u>Idade:</u> <u>Nome:</u> <u>Proprietário:</u> <u>Endereço:</u> <u>Telefone/e-mail:</u>	<u>Requisitante:</u> <u>Endereço:</u>  <u>Telefone/e-mail:</u>  <u>Material coletado:</u> <u>Data da coleta:</u> <u>Data do recebimento:</u>
<u>Lesão:</u> <input type="checkbox"/> Inflamatória <input type="checkbox"/> Tumoral <u>Superfície:</u> <input type="checkbox"/> Irregular <input type="checkbox"/> Regular <input type="checkbox"/> Arredondada <u>Consistência:</u> <input type="checkbox"/> Firme <input type="checkbox"/> Friável <input type="checkbox"/> Mole <input type="checkbox"/> Ossificada <input type="checkbox"/> Elástica <u>Conteúdo:</u> <input type="checkbox"/> Plasma <input type="checkbox"/> Sangue <input type="checkbox"/> Purulento <u>Relação com tecido periférico:</u> <input type="checkbox"/> Encapsulado <input type="checkbox"/> Infiltrado <input type="checkbox"/> Aderido	<u>Localização e tamanho:</u>  <p style="text-align: center;">Ventral                      Dorsal</p>

**Histórico:**

\_\_\_\_\_  
 REQUISITANTE

\_\_\_\_\_  
 Responsável pelas anotações e recebimento