

Documentos

ISSN 1983-974X
Junho, 2013

197

Paraplexia Enzoótica dos Ovinos: características gerais da *Scrapie*



ISSN 1983-974X

Junho, 2013

**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Gado de Corte
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

Documentos 197

Paraplexia Enzoótica dos Ovinos: características gerais da *Scrapie*

Cristiane Camargo Sanches
Grácia Maria Soares Rosinha
Cleber Oliveira Soares
Cleber Eduardo Galvão
Flábio Ribeiro de Araújo
Gelson Luís Dias Feijó

Embrapa
Brasília, DF
2013

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Gado de Corte

Rodovia BR 262, Km 4, CEP 79002-970 Campo Grande, MS

Caixa Postal 154

Fone: (67) 3368 2090

Fax: (67) 3368 2150

<http://www.cnpqc.embrapa.br>

E-mail: publicacoes@cnpqc.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: *Pedro Paulo Pires*

Secretário-Executivo: *Andréa Alves do Egito*

Membros: *Rodrigo Carvalho Alva, Elane de Souza Salles, Valdemir Antônio Laura, Dalziza Montenário de Aguiar, Davi José Bungenstab, Guilherme Cunha Malafaia, Roberto Giolo de Almeida*

Supervisão editorial: *Rodrigo Carvalho Alva*

Revisão de texto e Editoração Eletrônica: *Rodrigo Carvalho Alva*

Normalização bibliográfica: *Elane de Souza Salles*

Foto da capa: *João Carlos Costa Júnior*

1ª edição

Versão online (2013)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Gado de Corte.**

636.3089

Paraplética enzoótica dos ovinos : características gerais da *Scrapie* [recurso eletrônico]/Cristiane Camargo Sanches et al. – Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte, 2012.

40 p. ; 21cm. - (Documentos / Embrapa Gado de Corte, ISSN 1983-974X ; 197).

Sistema requerido: Adobe Acrobat Reader, 4 ou superior.

Modo de acesso: <<http://www.cnpqc.embrapa.br/publicacoes/doc/DOC197.pdf>>

Título da página da Web (acesso em 28 de junho de 2013).

Outros autores: Grácia Maria Soares Rosinha ; Cleber Oliveira Soares ; Cleber Eduardo Galvão ; Flávio Ribeiro de Araújo ; Gelson Luís Dias Feijó .

1. Sanidade animal. 2. Encefalopatia espongiiforme transmissível. 3. Scrapie. I. Sanches, Cristiane Camargo. II. Série.

CDD 636.213 (21. ed.)

© Embrapa Gado de Corte 2012

Autores

Cristiane Camargo Sanches

Médica-Veterinária, M.Sc. em Ciência Animal, bolsista DTI-2 CNPQ da Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS, sanches@cnpqc.embrapa.br

Grácia Maria Soares Rosinha

Engenheira Agrônoma, Ph.D. em Bioquímica Biologia Molecular, pesquisadora da Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS, rosinha@cnpqc.embrapa.br

Cleber Oliveira Soares

Médico-Veterinário, Dr. em Ciências Veterinárias, pesquisador da Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS, cleber@cnpqc.embrapa.br

Cleber Eduardo Galvão

Médico-Veterinário, M.Sc. em Ciência Animal, bolsista DTI-2 CNPQ da Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS, cleber_galvao@cnpqc.embrapa.br

Flávio Ribeiro Araújo

Médico-Veterinário, Ph.D. em Imunologia
pesquisador da Embrapa Gado de Corte,
Campo Grande, MS, flabio@cnpqg.embrapa.br

Gelson Luís Dias Feijó

Médico Veterinário, Ph.D. em Ciência Animal,
pesquisador da Embrapa Gado de Corte, Campo
Grande, MS, feijogld@cnpqg.embrapa.br

Sumário

Agradecimentos	6
Resumo	6
Abstract.....	7
Introdução.....	9
Breve histórico.....	10
A proteína Celular (PrP ^C).....	12
Doenças priônicas	14
Scrapie	15
Origem genética.....	15
Origem infecciosa	18
Origem esporádica	19
O agente	20
Patogênese.....	24
Diagnóstico e tratamento	28
Considerações finais	30

Paraplexia Enzoótica dos Ovinos: características gerais da *Scrapie*

Cristiane Camargo Sanches
Grácia Maria Soares Rosinha
Cleber Oliveira Soares
Cleber Eduardo Galvão
Flávio Ribeiro de Araújo
Gelson Luís Dias Feijó

Agradecimentos

Agradeço aos pesquisadores Dra. Grácia Maria Soares Rosinha e Dr. Cleber Oliveira Soares, principalmente, pela oportunidade ímpar de compor esta equipe de trabalho. À Embrapa Gado de Corte, Fundect, CNPq e FINEP que contribuíram estruturalmente e financeiramente para a realização deste projeto. À Universidade Federal de Mato Grosso do Sul pelo programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. À Dra. Carina Elisei e ao M.Sc. Cleber Eduardo Galvão, ambos amigos e valiosos colaboradores. À toda equipe do Laboratório de Biologia Molecular da Embrapa Gado de Corte, exemplo de companheirismo e união. Palavras-chave: Ectoparasitos, doenças, pantanal, cerrado, animais silvestres.

Resumo

A *scrapie*, enfermidade que acomete ovinos, faz parte do grupo de doenças priônicas denominadas como encefalopatias espongiformes transmissíveis (EETs), na qual estão incluídas a encefalopatia espongiforme bovina (EEB) e, em humanos, a kuru, doença de Gerstmann-Straussle-Scheinker (GSS), e doença de Creutzfeldt-Jakob (CJD). Estas enfermidades são fatais, caracterizadas por sintomas neurodegenerativos incluindo demência e mudança de comportamento, ataxia, incoordena-

ção muscular, prurido, entre outros. As doenças priônicas são causadas pelo acúmulo indiscriminado da proteína PrP^C que por alteração em seu sítio de codificação, sofre modificações químicas, transformando sua estrutura inicialmente primária (PrP^C), em estrutura terciária, denominada PrP^{Sc}, forma protease-resistente de difícil metabolização. Até o momento, foram descritas origens esporádicas, genéticas e infecciosas da doença, que pode ser transmitida verticalmente durante o parto ou por via oral, caracterizada por ingestão de placenta de animais acometidos. A enfermidade não possui tratamento sendo que animais acometidos devem ser eutanasiados bem como os rebanhos a que fazem parte. O diagnóstico clínico-diferencial é muito importante na determinação da doença e exames laboratoriais post-mortem como histopatologia e imunohistoquímica são utilizados para confirmação da presença do agente. Em ovinos vários estudos indicam a associação de determinados genótipos à suscetibilidade à *scrapie* em que mutações do gene *prnp* já estudadas, podem interferir na tradução dos códons 136, 154 e 171 e estão associadas à ocorrência da doença. O conhecimento da frequência de alelos resistentes e suscetíveis à *scrapie* poderá ser a primeira etapa de um trabalho direcionado à erradicação, uma vez que permitirá a elaboração de estratégias de seleção assistida para cada raça com a utilização destes potenciais marcadores.

Palavras-chave: prion, polimorfismo, resistência, suscetibilidade.

Abstract

The scrapie, a disease that affects sheep, is part of the group of prion diseases referred to as transmissible spongiform encephalopathies (TSEs), which included the bovine spongiform encephalopathy (BSE) and, in humans, kuru, Gerstmann-Straussler-Scheinker (GSS), and Creutzfeldt-Jakob disease (CJD). These diseases are fatal neurodegenerative disorders characterized by symptoms including dementia and behavioral changes, ataxia, muscular incoordination, itching, among others. The prion diseases are caused by the indiscriminate accumulation of PrP protein to its site by changing the coding, chemically changed, making his first primary structure (PrP^C) in tertiary structure, termed PrP^{Sc},

protease-resistant form of metabolism difficult. To date, origins were described sporadic, genetic and infectious disease, which can be transmitted vertically during childbirth or orally, characterized by eating the placenta of affected animals. The disease has no treatment and that affected animals should be euthanized and the herds to which they belong. The clinical differential diagnosis is very important in determining the disease and laboratory tests as a post-mortem histopathology and immunohistochemistry are used to confirm the presence of the agent. In sheep various studies indicate the association of particular genotypes to susceptibility to scrapie in prnp gene mutations already studied, can interfere in translating codons 136, 154 and 171 and are associated with disease occurrence. Knowledge of the frequency of resistant alleles and susceptible to scrapie could be the first stage of work aimed at the eradication, since it will allow the development of assisted selection strategies for each race with the potential use of these markers.

Keywords: *prion, sheep, polymorphism, resistance, susceptibility.*

Introdução

Atualmente se produz mundialmente cerca de 8,4 milhões de toneladas de carne ovina, sendo Austrália e Europa os principais produtores, detendo cerca de 40% deste total. Com um efetivo ovino representado por aproximadamente 13,85 milhões de cabeças, o Brasil tem aumentado gradativamente a sua produção de carne ovina ao longo dos últimos anos, apresentando uma projeção para 2008 da ordem de 123 mil toneladas, segundo estimativas da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO, 2008).

O Estado de Mato Grosso do Sul detém o segundo maior rebanho ovino do Brasil e o primeiro do Centro-Oeste com 485 mil cabeças (ANUAL-PEC, 2010)

Em busca da melhora da produtividade dos rebanhos, alguns sistemas de produção utilizados podem contribuir para o surgimento de diversas enfermidades que antes não causavam prejuízo sanitário ou econômico. Programas intensivos de melhoramento genético, principalmente os que visam a precocidade e aumento da massa muscular em ovinos podem estar associados às altas taxas de prevalência de várias doenças, entre elas, a *scrapie* (LEANES, 2008).

A *scrapie*, enfermidade que faz parte do grupo das Encefalopatias Espongiformes Transmissíveis (EETs) teve seu primeiro relato por volta de 1730 na Europa e representa ainda hoje, um grave problema econômico.

Em ovinos, vários estudos indicam a associação de determinados genótipos à suscetibilidade à *scrapie*. Existem mutações bem conhecidas no gene *prnp*, que modificam a tradução dos códons 136 (Alanina/Valina), 154 (Histidina/Arginina) e 171 (Glutamina/Arginina/Histidina/Lisina) e, que estão associadas à ocorrência da doença (VACCARI et al., 2004).

O conhecimento da frequência de alelos que conferem resistência e suscetibilidade à *scrapie* contribui de forma acelerada para a iden-

tificação de animais geneticamente resistentes, o que pode auxiliar em programas de melhoramento genético, que por meio de direcionamento de acasalamentos, poderão aumentar a frequência de alelos favoráveis à erradicação da doença (MORENO et al., 2006).

Breve histórico

De acordo com levantamentos epidemiológicos descritos na literatura, a primeira referência às Encefalopatias Espongiformes Transmissíveis (EETs) ou doenças priônicas ocorreu por volta do ano de 1730, quando foram detectados casos de Tremor Enzoótico dos Ovinos (*Scrapie*) em alguns países do Reino Unido (MACGOWAN, et al. 1922) e na Alemanha (LEOPOLDT; NÜTZLICHE, 1959).

Nas décadas de 1950 e 1960, o surto de uma doença neurodegenerativa, até então desconhecida, foi relatada em integrantes da tribo Fore da Nova Guiné, onde mais tarde foi descoberto que a causa mais provável era a prática de ritual de canibalismo. Este canibalismo foi apontado como o mecanismo de transmissão de *prions*, na doença que ficou conhecida como Kuru (GAJDUSEK; ZIGAS, 1957).

Neste mesmo período, estudos em chimpanzés demonstraram como ocorre a forma de transmissão do agente por meio de inoculação intracerebral. A partir daí, outras três enfermidades que acometem humanos como a doença de Creutzfeldt-Jakob familiar (fCDJ), Síndrome de Gerstmann Stausler-Scheinker (GSS), Insônia Fatal Familiar e uma enfermidade que acomete bovinos, a Encefalopatia Espongiforme Bovina (EEB), passaram a ser relatadas de forma mais detalhada (KÜBLER et al., 2003).

A disseminação da doença fora da Europa foi relacionada à exportação de animais infectados, sendo considerada a principal causa na ocorrência do primeiro caso nos EUA em 1947, na Austrália e Nova Zelândia, em 1952 (LEANES, 2008).

A doença foi introduzida no Brasil pela importação de ovinos Hampshi-

re Down de rebanhos ingleses (FERNANDES et al., 1978). O primeiro caso foi identificado em 1978 no Rio Grande do Sul (FERNANDES et al., 1978), seguindo-se de um segundo episódio em 1985, no Paraná (RIBEIRO, 1993). Diante dos fatos, o governo brasileiro proibiu a importação de animais do Reino Unido, mas manteve aberta as fronteiras para a introdução de ovinos de outros países, EUA e Canadá em particular, onde a doença é endêmica. Segundo Ojeda e Oliveira (1998), de 1991 a 1996 foram importados 2.267 ovinos, a maioria dos EUA.

Os dados da Tabela 1 demonstram que a doença ocorre em rebanhos onde foram importados animais de países da América do Norte. O governo brasileiro não permite mais a importação de ovinos em pé desses países, mas, mesmo assim, novos casos têm sido diagnosticados. Provavelmente, em virtude da herança genética dos animais anteriormente introduzidos no Brasil.

Tabela 1 - Casos de *scrapie* ocorridos em ovinos no Brasil – período de 1978 a 2006.

Ano	Raça	Procedência	Estado
1978	Hampshire Down	Reino Unido	RS
1985	Wiltshire Horn	Reino Unido	PR
1995	Suffolk	EUA	RS
1997	Suffolk	EUA	PR
2001	Hampshire Down	Canadá	PR
2003	Hampshire Down	Brasil	PR
2006	Hampshire Down	Brasil	MS
2006	Suffolk	Brasil	RS

Fonte: Adaptado de Rodrigues; Ribeiro (2001).

A *scrapie* e a EEB estão distribuída mundialmente, ambas compõem o quadro de enfermidades priônicas de maior repercussão mundial, em particular, por constituírem um grupo de doenças que acarretam grandes perdas econômicas, além de apresentarem grande risco à saúde humana (WOOLHOUSE et al., 2004).

A proteína Celular (PrP^C)

O primeiro relato da detecção da proteína priônica celular (PrP^C) foi descrita por Prusiner (1998) em experimentos realizados com o objetivo de isolar e identificar o possível agente exógeno, responsável pelo desenvolvimento de doenças caracterizadas por neurodegeneração, as EETs.

Porém, o termo príon ou partícula proteínica infecciosa, foi criado muito antes, também por Prusiner, em 1982, para denominar o agente causador das EETs (PRUSINER et al., 1990).

Em ovinos, o gene *prnp* que codifica a proteína priônica, está localizado no cromossomo 13 e possui uma região de aproximadamente 31 kb, constituída por dois exons curtos não codificantes e um exon que contém a ORF (*open reading frame*), constituída por 236 códon (LEE et al., 1998).

A proteína priônica normal ou proteína príon celular (PrP^C) é considerada uma glicoproteína que quando está associada a complexos moleculares na membrana, medeia diversas funções em diferentes compartimentos celulares, dependendo de sua localização (Figura 1) (LEE et AL., 2003).

O fato de a proteína ser expressa em grandes quantidades, em neurônios, sugere sua importância nestas células podendo estar relacionada com propagação do impulso nervoso por meio dos axônios, tanto em impulsos pré como pós-sinápticos (HERMS et al., 1999).

A proteína priônica normal pode apresentar importante função quando ligada à proteína STI-1 (*stress inducible protein 1*), que desempenha papel de uma co-chaperona. Juntas, elas são responsáveis por neuroproteção em neurônios da retina, além da STI-1 potencialmente controlar o funcionamento da príon (ZANATA et al., 2002; GOLDGABER 1989). Solforosi et al., (2004), comprovaram que este complexo é essencial para constituição de prolongamentos neuronais do hipocampo e cerebelo, podendo protegê-los e controlar sua morte celular programada, apoptose.

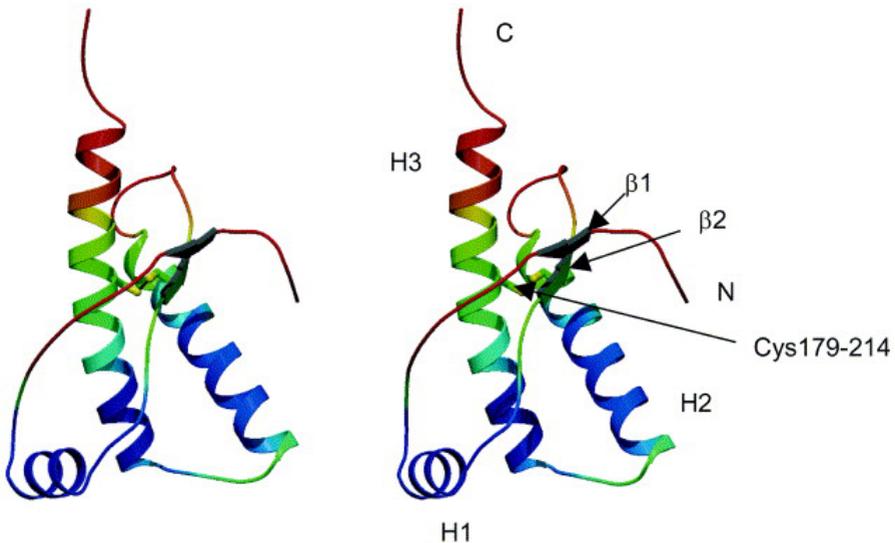


Figura 1. Estrutura do domínio globular da PrP de ovinos mostrando seus elementos estruturais secundários (Haire et al. 2004).

Atualmente, está comprovado que a proteína priônica é também responsável por modular a resposta do sistema imunológico às inflamações, ora aumentando, ora reduzindo a atividade das células de defesa, estimulando a ação dos neutrófilos, as células de defesa mais abundantes no organismo. Experimentos com camundongos geneticamente alterados para não produzir a prion celular, demonstraram que esses animais apresentam um número menor de neutrófilos, além de se apresentarem mais lentos do que os roedores normais (ZOMOSA-SIGNORET et al., 2008).

O metabolismo detalhado da atividade cerebral da *prion* celular ainda não está totalmente esclarecido, porém, é conhecido que a proteína se encontra ancorada em regiões mais espessas da superfície celular, por uma longa molécula de açúcar e lipídios em forma de barbante por onde a prion pode deslizar para áreas mais delgadas da membrana dos neurônios. Neste momento, esta é transportada no interior de vesículas contendo ácidos, onde se conecta a outras proteínas e envia comandos para o núcleo ou

outras regiões. Este deslocamento não ocorre ao acaso, pois a príon celular só se move na superfície dos neurônios depois que proteínas específicas se acoplam a ela, ativando-a (ZOMOSA-SIGNORET et al., 2008).

Como um receptor, a *príon* saudável conduz outras proteínas para o interior dos neurônios. Uma vez no interior da célula, o complexo formado pela *príon* e sua proteína ativadora, envia sinais químicos que ordenam a emissão de prolongamentos ou a produção de compostos que protegem o neurônio da morte. Sem essa penetração no interior da célula, a comunicação mediada pela *príon* celular fica incompleta (ZOMOSA-SIGNORET et al., 2008).

Doenças priônicas

As doenças priônicas são enfermidades neurodegenerativas, também conhecidas como Encefalopatias Espongiformes Transmissíveis (EETs), e acometem o Sistema Nervoso Central (SNC), podendo ser divididas de acordo com sua origem genética em infecciosas ou esporádicas (PRUSINER, 1996).

Dentre as EETs em animais estão a *scrapie* em pequenos ruminantes, a encefalopatia espongiforme bovina (EEB), que também é conhecida popularmente como Doença da Vaca Louca, a doença emaciante crônica dos cervídeos e alces (CWD), a Encefalopatia Transmissível das Martas (ETM), a Encefalopatia Espongiforme Felina (EEF), além das Encefalopatias Espongiformes Transmissíveis encontradas em ungulados não domésticos, criados em cativeiro e avestruzes (SIMMONS et al., 2007).

Scrapie

Scrapie é uma doença neurodegenerativa crônica e fatal que acomete ovinos domésticos (*Ovis aries*) e caprinos (*Capra hircus*) (VICARIVENTO et al., 2008).

Existem duas formas de manifestações clínicas da doença: a forma pruriginosa e a forma nervosa, de acordo com a predominância de si-

nais sensitivos ou motores. Dentre os principais sintomas, destacam-se prurido, hiperexcitabilidade, ranger de dentes, incoordenação motora e morte. A evolução da doença é demorada, podendo ser observada caquexia, paralisia, movimento excessivo ou estresse ao manejo (VICARIVENTO et al., 2008).

A *scrapie*, bem como todas as EETs, são enfermidades que merecem atenção especial da comunidade científica integrada a órgãos do governo, principalmente, por se tratarem de enfermidades que oferecem risco à saúde pública, além de constituírem fortes barreiras sanitárias.

Origem genética

A origem genética da *scrapie* em ovinos foi comprovada há alguns anos e foi estabelecido a relação de polimorfismos do gene *prnp* com o desenvolvimento da doença. Casos clínicos e rebanhos de animais que apresentaram a doença foram registrados e genotipados, sendo determinada a resistência/suscetibilidade genética à doença baseada nos genótipos que constituíam o gene *prnp* (DETWEILER; BAYLIS, 2003).

Existe uma estreita associação entre a existência de alterações polimórficas no gene responsável pela codificação de aminoácidos essenciais que constituem a proteína priônica e a suscetibilidade ao tremor epizootico ovino, sendo que polimorfismos nos códons (136, 154 e 171) foram observados em animais positivos e foram associados a diferentes focos da *scrapie* em ovinos (LUHKEN et al., 2007).

Os códons 136 (Alanina, A), 154 (Arginina, R) e 171 (Arginina, R), foram classificados como os mais importantes na suscetibilidade à *scrapie* (SWEENEY; HANRAHAN, 2008), já que estão localizados em uma região do gene importante na produção da molécula proteica. Esta região quando sofre alterações polimórficas pode interferir na composição da proteína PrP^C (proteína naturalmente produzida pelo organismo) e podendo assim produzir a PrP^{SC} (proteína alterada, responsável pelo desenvolvimento da doença) (BOSSERS et al., 2000).

O gene *prnp* ovino caracteriza-se por apresentar cópia única localizado na região 15 do cromossomo 13 (13q15). Após o sequenciamento completo do gene e comparação do gene entre animais saudáveis e ovinos da raça Sulffolk que desenvolveram a doença, foi possível localizar regiões polimórficas do gene, possivelmente associadas à resistência/suscetibilidade à doença (IANNUZZI et al., 1998).

Seu sequenciamento também permitiu visualizar a constituição do gene que, em ovinos é descontínuo e possui três exons intercalados. A ORF (*open reading frame*) do gene *prnp* de ovinos, está localizada completamente no exon III, sem interrupção de introns (LIEMANN, 1998; GOLDMANN, 2008). Outros mamíferos, também apresentam constituição parecida do gene, possuindo um ou dois exons não codificantes (LEE et al., 1998).

Em ovinos, os alelos polimórficos do gene *prnp* considerados importantes por estarem relacionados a casos de *scrapie*, são os localizados nos códons 136 (alteração do aminoácido Alanina para Valina), 154 (alteração do aminoácido Arginina para Histidina), e 171 (alteração do aminoácido Glutamina para Arginina, Glutamina para Histidina ou Glutamina para Lisina) (GOLDMANN, 2008; SWEENEY; HANRAHAN 2008). Estes códons polimórficos combinados formam cinco alelos (ARQ, VRQ, AHQ, ARR, ARH) que podem ser organizados em 15 genótipos (Tabela 2).

Baseado nos 15 diferentes genótipos, uma forma de classificação contendo grupos de risco foi desenvolvida na Grã-Bretanha, por meio do Plano Nacional de Controle e Erradicação da *scrapie* (PNS) (DEFRA, 2003). Esta classificação foi criada para auxiliar os programas de melhoramento genético e outros planos similares foram desenvolvidos nos Estados Unidos e por membros da União Europeia (DAWSON et al., 1998; DETWEILER; BAYLIS, 2003).

O grupo de risco R5 está relacionado com animais que apresentam maior risco de desenvolver a doença (BOSSERS et al., 1996; BAYLIS et al., 2004). No Reino Unido e em muitos outros focos registrados, tais como na França, Irlanda e Noruega, os animais que apresentaram os genótipos VRQ/VRQ foram incluídos neste grupo (HERMANN et al., 2002; O'DOHERTY et al., 2002; TRANULIS et al., 1999).

Tabela 2 - Classificação dos 15 genótipos do gene *prnp* e seus respectivos grupos de risco, segundo Plano Nacional de combate à *scrapie* estabelecido pela Grã-Bretanha em 2001.

Genótipo	Classificação do PNS	Risco associado à <i>scrapie</i>
ARR/ARR	R1	Muito baixo
ARR/AHQ	R2	Baixo
ARR/ARH		
ARR/ARQ		
AHQ/AHQ	R3	Moderado, especialmente em ARQ/ARQ
AHQ/ARH		
AHQ/ARQ		
ARH/ARH		
ARH/ARQ		
ARQ/ARQ		
ARR/VRQ	R4	Moderado
VRQ/AHQ	R5	Alto, especialmente em VRQ/ARQ e VRQ/VRQ
VRQ/ARH		
VRQ/ARQ		
VRQ/VRQ		

Fonte: DAWSON et al., 2008.

O risco do grupo R5 é tão elevado que, por algum tempo, a *scrapie* foi considerada uma doença estritamente genética. Porém, vários estudos têm demonstrado, de modo conclusivo, que ovinos com o genótipo VRQ/VRQ podem sobreviver até à velhice quando mantidos em ambientes livres da doença (HUNTER et al., 1997). Os outros três genótipos incluídos no grupo R5 são VRQ/ARQ, VRQ/ARH e VRQ/AHQ (HOFFMANN et al., 2007).

O genótipo incluso no grupo R4 é constituído por animais que apresentam menores riscos de serem afetados pela *scrapie* em relação aos classificados no grupo R5, mas que o risco disseminado aos seus descendentes ainda é significativo, sobretudo, porque a prole gerada e que se enquadra no grupo R5 pode ser produzida a partir de reprodutores que são enquadrados no grupo R4. O genótipo ARR/VRQ representa esse grupo (DAWSON et al., 2008).

A presença do alelo ARH indica uma redução significativa da suscetibilidade, sendo que animais e descendentes que apresentam este genótipo, acompanhados de alelos que conferem suscetibilidade, estão inclusos no grupo R3 (DAWSON et al., 2008). Em comparação aos grupos R4 e R5, o grupo R3 é representado por genótipos que conferem aos animais uma redução de risco de cerca de três vezes (resistência parcial) em desenvolver a doença, neste estão incluídos animais com os genótipos AHQ/ARQ (BILLINIS et al., 2004; DAWSON et al., 2008).

O grupo R2 é constituído por animais que apresentam os genótipos ARR/AHQ, ARR/ARH e ARR/ARQ, sendo considerados resistentes, porém, ocasionalmente seus descendentes podem desenvolver a doença e apresentar genótipos que estão incluídos em grupos de classificação de risco mais elevado (BOSSERS et al., 1996; DAWSON et al., 2008).

Animais que constituem o grupo R1, apresentam o genótipo ARR/ARR e são considerados como resistentes à *scrapie* (HOUSTON et al., 2008).

Origem infecciosa

Entre mamíferos acometidos pelas doenças priônicas, os ovinos constituem o grupo mais estudado na tentativa de elucidar o comportamento das EETs, incluindo, principalmente, a transmissão da doença. Análises de dados obtidos por vários anos, desde os primeiros dados experimentais, indicam evidências epidemiológicas para explicar a origem infecciosa da doença que envolve, principalmente, a transmissão vertical (DIAZ et al. 2005). Por meio dessas análises, foi possível verificar que o número de casos foi maior em ovinos recém-nascidos que foram mantidos junto com a mãe, logo após o parto, e diminuição no número de casos quando comparados a animais que foram separados da mãe precocemente. A transmissão desta maneira pode acontecer via colostro (TOUZEAU et al., 2006).

A *scrapie* também foi constatada em casos de transferência de embrião. Casos de transmissão lateral também foram constatados ao longo dos anos, quando o ambiente contaminado pode influenciar na disseminação da doença; tecidos como sistema linfo-reticular do intes-

tino, secreção de glândulas salivares e placenta, podem estar envolvidos na liberação do agente infeccioso no ambiente (TUO et al., 2001; WELLS et al., 2006).

A transmissão da proteína infecciosa de uma espécie para outra pode acontecer (LIEMANN; GLOCKSHUBER, 1998), sendo que entre indivíduos de uma mesma espécie pode acontecer a transmissão de proteínas de conformação estrutural diferentes (PrP^C ou PrP^{Sc}) (PRUSINER et al., 1990).

Várias espécies expressam a PrP^C com sutis diferenças, principalmente, relacionadas com a quantidade de aminoácidos produzidos. Por exemplo, 16 aminoácidos são responsáveis pela diferença entre a PrP^C de Ramsters e ratos, logo, dificilmente a PrP^C que acomete um irá infectar o outro. Porém, a diferença do número de aminoácidos entre as proteínas de bovinos e ovinos é de apenas sete aminoácidos, o que possibilita a transmissão do agente entre estas duas espécies. Em humanos, a PrP^C difere em mais de 30 aminoácidos entre a proteína de bovinos, e apesar da transmissão ser extremamente difícil, pode ocorrer (OWEN, 1998).

Origem esporádica

A forma esporádica da doença caracteriza-se pela ocorrência sem que o animal apresente formas potencialmente genéticas (ou herdáveis) ou infecciosas, ou seja, pode se manifestar em animais sem que eles tenham predisposição genética ou tenham entrado em contato com a proteína infecciosa (BROWN et al., 2000).

Alto nível de metais na forma de cátions, principalmente o manganês, no Sistema Nervoso Central, pode desempenhar um papel importante da patogênese da forma esporádica das encefalopatias espongiformes (PURDEY, 1994; PURDEY, 1996). Os cátions divalentes de manganês e de níquel podem interferir na produção de Metaloproteínas que requerem metais específicos para constituir o dobramento da proteína. Logo, a concentração destes metais pode influenciar na recombinação da PrP^C com a PrP^{Sc} e na produção da forma normal da proteína. Propõe-se que formas de cátion tri-valente de Mn estão relacionadas com o desenvolvimento das mais importantes EETs (SMITH et al, 1997; KARLIN et al., 1997).

O agente

Em 1982, Stanley Prusiner, descreveu a “Hipótese da Proteína”, em que o agente infeccioso relacionado ao desenvolvimento das EETs era constituído por uma proteína príon anormal, a PrP^{Sc}, considerada uma isoforma protéica modificada da proteína celular normal, a PrP^C, que é abundantemente expressa em células de mamíferos (PRUSINER, 1997).

A primeira estrutura 3D do domínio C-terminal da proteína PrP foi determinada por ressonância nuclear magnética (RMN) em um laboratório em Wüthrich, na Suíça e foi quando se compreendeu o domínio globular da PrP presente em murinos. Daí em diante várias proteínas priônicas de diferentes espécies foram analisadas (LÓPEZ-GARCIA et al., 2000), principalmente, em murino (RIEK et al., 1996). Todas as proteínas analisadas demonstraram forma globular consistindo de grande presença de folhas β -pregueadas e, em menor quantidades, estruturas α -hélice, ambas ligadas por uma única ponte dissulfeto.

A constituição estrutural cristalográfica da PrP em ovinos foi descrita, estabelecendo diferença entre a proteína de ovinos e de outras espécies (EGHIAIAN et al., 2004; HAIRE et al., 2004). Elas apresentaram o mesmo domínio globular como a de outras espécies de mamíferos, no entanto, essas estruturas quando visualizadas em alta resolução, mostraram diferença nas bases moleculares dos dobramentos da proteína (HAIRE et al., 2004; REZAEI et al., 2002).

O mecanismo de conversão da proteína em estado normal para a forma anormal é um processo importante do desenvolvimento e transmissão da doença (Figura 2). A proteína normal, PrP^C, em é processada e enviada por meio do complexo de Golgi à superfície celular para que se ligue à âncora da glicofosfatidilinositol. Neste momento, a PrP^C pode desempenhar normalmente seu papel ou ser convertida em PrP^{Sc} (ZOMOSA-SIGNORET et al., 2008).

Logo após o primeiro contato, a molécula, tanto normal quanto anormal, da proteína, pode sair através da célula por meio de invaginações da membrana plasmática (ZOMOSA-SIGNORET et al., 2008).

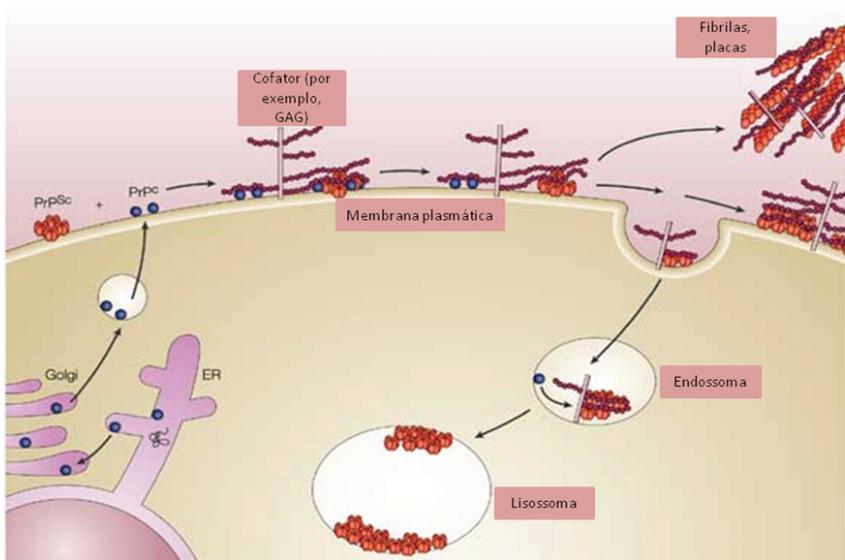


Figura 2. Processo de produção da PrP^C detalhando sua ligação com a PrP^{Sc} (CASHAMAN; CAUGHEY, 2004).

A conversão propriamente dita de PrP^C em PrP^{Sc} ocorre por meio de um ciclo, em que a PrP^{Sc} se encontra em equilíbrio como um segundo estado, chamada de PrP^{*}, um estado molecular intermediário que intervém na formação da PrP^C em PrP^{Sc} ou mesmo PrP^C (COHEN, 1999; PRUSINER, 1998).

Em circunstâncias normais, a PrP^C domina o equilíbrio conformacional, mas nas doenças infecciosas, a PrP^{Sc} é fornecida a partir do exterior e pode ligar-se a PrP^{*} para originar um heteromultímero (PrP^{Sc}/PrP^{*}), que pode ser convertido depois num homomultímero de PrP^{Sc} (PrP^{Sc}/PrP^{Sc}). Neste evento, um fator auxiliar intervém diretamente nesta conversão, chamada de proteína X; esta liga-se à PrP^{Sc} e após a conversão do PrP^{*} em PrP^{Sc} é liberada e reciclada, juntando-se a outro novo complexo heteromultimérico (TELLING et al., 1995; KANEKO et al., 1997; ZOMOSA-SIGNORET et al., 2008).

O complexo heteromultímero pode se dissociar originando a formação de dois moldes capazes de novas replicações, caracterizando, assim, o crescimento exponencial de PrP^{Sc} (CORREIA; CORREIA, 2001).

Na forma infecciosa, a prion exógena (PrP^{Sc}) inicia sua replicação ao ligar-se a um complexo constituído pela proteína X, no momento em que esta condiciona o enrolamento da proteína priônica celular normal (PrP^C), à qual se encontra ligada, e que por influência da PrP^{Sc}, passa a ter uma conformação em início de modificação, denominada PrP*, que com a continuação da sua biossíntese, passa a PrP^{Sc} endógena. Desta forma, a PrP^{Sc} exógena, molda, ajudada pela proteína X, a PrP*, convertendo-a em PrP^{Sc} endógena (CORREIA; CORREIA, 2001).

Na forma hereditária, a concentração de PrP*, conformação intermediária, aumenta quer devido ao efeito desestabilizador da mutação sobre a estrutura da PrP^C, quer por aumento de estabilidade da PrP^C ou do dímero ou multímero de PrP*. A presença do complexo PrP*/PrP* pode dar origem a PrP^{Sc}/PrP^{Sc} e iniciar um ciclo de replicação. Nas doenças priônicas hereditárias, e talvez nas doenças priônicas espontâneas que ocorrem devido a uma mutação celular somática, a proteína PrP^C mutada pode ligar-se à proteína X e dar origem ao complexo PrP*/Proteína X/PrP*/Proteína X, a partir do qual poderá originar a PrP^{Sc} endógena na ausência de uma PrP^{Sc} exógena que funcione como molde. Este papel seria adquirido pela proteína PrP^C mutada. Após esta formação inicial da PrP^{Sc} endógena, a replicação priônica seguiria o curso de crescimento exponencial (CORREIA; CORREIA, 2001).

Na forma esporádica, existe um acontecimento molecular que é a formação do complexo PrP*/PrP* ou ocorre uma mutação celular somática. Nas formas espontâneas das doenças priônicas, a formação rara do complexo PrP*/Proteína X/PrP*/Proteína X poderá originar a formação de PrP^{Sc} endógena, que depois seguirá um ciclo replicativo (CORREIA; CORREIA, 2001).

Patogênese

A infecção de ovinos pelo agente ocorre por via oral, embora escarificações na pele e mucosas/conjuntiva danificadas são consideradas como vias alternativas de infecção (MOHAN, 2004). O agente infeccioso da *scrapie* está presente em pastagens, sendo ingeridos durante o pastejo nestes locais contaminados (DICKINSON, 1976). No caso de bovinos, na EEB, a infecção ocorre por meio da alimentação a partir de concentrados contendo farinha de carne e ossos derivados de bovinos infectados pela doença (WILESMITH, 1991).

A forma como o agente atravessa a barreira da mucosa após ser ingerido ainda é obscura, porém são postuladas três formas possíveis de ocorrer (Figura 3). A primeira é a forma mediada pelas células M, um tipo de célula presente nos folículos do epitélio que constitui o intestino delgado e amígdala, especializada no transporte de macromoléculas e partículas por todo o segmento do epitélio (HEPPNER, 2001). Estas células M podem ser utilizadas por agentes patogênicos para atravessar a barreira das mucosas e ganhar acesso aos tecidos subjacentes (NEUTRA et al., 1996).

Após a ingestão e possível absorção pela células M ou células dendríticas, a PrP^{Sc} é transportada para os folículos linfóides (LF) e placas de Peyer subjacentes aos folículos associados ao epitélio. Dentro dos folículos linfóides, a PrP^{Sc} acumula-se nas células dendríticas foliculares e logo é absorvida por macrófagos. Esse acúmulo de PrP^{Sc} pode facilitar a infecção por meio do plexo submucoso do sistema nervoso. Alternativamente, PrP^{Sc} é carregada por meio da formação de um complexo com a ferritina. Depois que o epitélio é atravessado, a mucosa do plexo submucoso é infectada, podendo ser carregada por meio de fibras nervosas até o tecido cerebral (COHEN, 2008).

No entanto, o transporte da prion em todo o epitélio intestinal poderia ocorrer independente da célula M. Enzimas digestivas podem quebrar as moléculas infecciosas em moléculas menores, inclusive o núcleo da

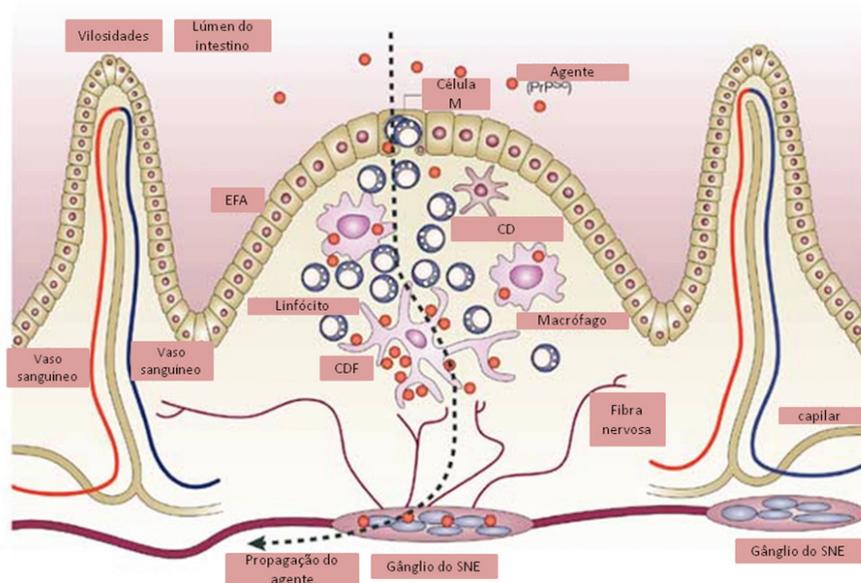


Figura 3. Representação esquemática das possíveis formas de passagem por meio do epitélio intestinal e posterior invasão do sistema nervoso (COHEN, 2008).

EFA – Epitélio Folículo Associado

CDF – Células Dendríticas Foliculares

SNE – Sistema Nervoso Entérico

CD - Células Dendríticas

proteína resistente à proteinase K. Esses pequenos fragmentos, em seguida, podem formar complexos com outras proteínas como a ferritina (COHEN, 2008).

No entanto, o transporte da príon em todo o epitélio intestinal poderia ocorrer independente da célula M. Enzimas digestivas podem quebrar as moléculas infecciosas em moléculas menores, inclusive o núcleo da proteína resistente à proteinase K. Esses pequenos fragmentos, em seguida, podem formar complexos com outras proteínas como a ferritina (COHEN, 2008).

Um terceiro percurso provável acontece por meio de captação direta pelas células dendríticas, que podem percorrer as estreitas junções que separam as células epiteliais em busca de antígenos (MISHRA et al., 2004).

Depois de atravessar a barreira das mucosas, a forma PrP^{Sc} acumula-se no tubo digestivo, nos tecidos associados aos nódulos linfóide da amígdala e placas de Peyer (VAN KEULEN et al., 2002). Esse acúmulo inicial no sistema digestivo favorece fortemente a hipótese de transporte do agente por meio das células M, já que, antígenos envolvidos pelas células M são ativamente carregados às células dendríticas e macrófagos. A primeira evidência imunohistoquímica da presença da PrP^{Sc} nos tecidos linfóides associados ao tubo digestivo (GALT), consiste no acúmulo intracelular de fragmentos da proteína no plasmalema de macrófagos e em folículos linfóides das células B (JEFFREY; GONZALEZ, 2007).

A replicação da *prion* GALT era até bem pouco tempo considerada crucial no mecanismo de neuroinvasão, porém quando a doença é reproduzida em modelos experimentais, a função das células dendríticas no mecanismo é prejudicada (MABBOTT, 2000). No entanto, a ausência deste mecanismo de replicação não impede totalmente a neuroinvasão. Por exemplo, em ovinos que possuem em seu gene *prnp* genótipos com os alelos VRQ e ARR (tanto os que transportam o alelo VRQ, associado à alta suscetibilidade à scrapie, como o alelo ARR, associado à alta resistência à *scrapie*), há pouco ou nenhum envolvimento deste mecanismo na replicação do agente (VAN KEULEN et al., 1996). No entanto, estes animais podem desenvolver a *scrapie* normalmente, embora a uma idade mais avançada. Em bovinos, a replicação do agente da EEB por meio dos tecidos linfóides é mínima ou ausente (BOSSERS et al., 1996).

Após o primeiro contato com a mucosa, o agente priônico é drenado por meio da linfa para os linfonodos mais próximos, isto significa que no caso das amígdalas o agente é drenado para os linfonodos retrofaríngeos e no caso das placas de Peyer para os linfonodos mesentéricos (VAN KEULEN et al., 2002). Nesta fase, a PrP^{Sc} pode ser detectada imunohistoquimicamente, indicando um transporte por meio de drena-

gem linfática a partir dos GALT. Além disso, as PrP^{Sc} podem ser vistas ao se acumularem nos folículos das células dendríticas e nos folículos linfóides e córtex dos gânglios linfáticos dos linfonodos associados ao GALT (COHEN, 2008).

Surpreendentemente, a PrP^{Sc} não tem sido descrita em células nos seios medulares, embora as príons sejam mais difundidas fora dos tecidos linfóides do GALT. Ainda não se sabe como ocorre a propagação das *príons* por meio de sangue e linfa. Acredita-se que aconteça por meio de um transporte ativo celular ou por meio de um estado livre, possivelmente ligado, a algum componente da linfa ou plasma sanguíneo (COHEN, 2008).

A possibilidade do agente infeccioso responsável pela *scrapie* estar presente no sangue tem sido, desde muito tempo, fonte de vários debates. Muitos estudos tem falhado em demonstrar sua ocorrência na corrente sanguínea ou em frações de sangue (HERMANN et al., 2002), mas, com o auxílio de técnicas mais sensíveis, a PrP^{Sc} tem sido detectada no sangue de ovinos provenientes de surtos (JACKMAN et al., 2006).

O sistema nervoso entérico é o primeiro tecido neural que entra em contato com a *príon*. Este tecido é constituído por duas grandes redes onde se localizam os corpos neuronais (FURNESS; COSTA, 1987). O agente infeccioso pode tanto entrar em contato direto com as fibras nervosas do plexo submucoso como ser transportado por meio das placas de Peyer. Porém, como visto anteriormente, esta forma de neuroinvasão não é requisito único para o desenvolvimento da enfermidade. Em estudos com ovinos infectados naturalmente com a *príon* infecciosa, o duodeno e o íleo foram identificados como potenciais sítios de invasão (VAN KEULEN et al., 2000).

Após o primeiro contato com o sistema nervoso entérico, o agente ascende até a medula espinhal (medula oblonga, óbex e segmentos torácicos) e a partir destes locais, a infecção se desenvolve tanto de forma ascendente como descendente, envolvendo todo o neuro-eixo (HOFFMANN et al., 2007).

Com o estabelecimento da doença, indivíduos infectados apresentam neurodegeneração com aparecimento de áreas contendo vacuolização cerebral, degeneração neuronal, astrogliose e morte, o que confere ao tecido aspecto esponjoso além de acúmulo de placas amiloides constituídas pela PrPC alterada. Estas mudanças podem ser observadas utilizando-se procedimentos histológicos padrão, e os depósitos da PrP^{Sc} podem ser visualizados após tratamento prévio com ácido fórmico (HARITANI et al., 1994).

A *scrapie* acomete, em maioria animais mais velhos, com idade entre dois a quatro anos de idade, isso porque o período de incubação do *príon* geralmente é longo. Porém, pode variar de acordo com as diferentes linhagens da proteína e genótipo do animal. Atualmente, cerca de 30 diferentes linhagens de príons estão relacionadas com a doença (JACKSON; COLLINGE, 2000; GOLDMANN et al., 1990).

Diagnóstico e tratamento

Não existe tratamento eficaz para a enfermidade. Experimentalmente, o uso de fatores de crescimento tem diminuído a perda neuronal, porém, sem melhora significativa das lesões causadas aos neurônios (VICARIVENTO; PUZZI; 2008).

Nos casos de suspeita de *scrapie*, o diagnóstico diferencial é muito importante na determinação da doença. Considera-se como suspeita clínica fundamentada de *scrapie*, aquela que persiste após investigação clínica, epidemiológica e diferencial para outras doenças, tais como sarna e outros ectoparasitos, cenurose, raiva, pseudo-raiva, pneumonia ovina progressiva (*maedivisna*), listeriose encefálica, polioencefalomalacia, toxemia da prenhez, fotossensibilização, hipomagnesemia, intoxicação por substâncias químicas ou por plantas, entre outras (BRASIL, 2009).

Um dos maiores problemas enfrentados quando se trata de doenças priônicas, são os testes diagnósticos. Atualmente, testes diagnósticos eficientes são realizados post-mortem, ou seja, após o aparecimento

da doença em animais com sintomatologia clínica evidente. Portanto, um dos maiores desafios para a ciência é o desenvolvimento de testes diagnósticos *ante-mortem* capazes de diferenciar com eficiência a PrP^{Sc} da PrP^C (O'ROURKE et al., 2000).

O primeiro método utilizado para confirmar o diagnóstico de uma EET foi o exame neuropatológico de tecidos do cérebro de animais ou humanos, sendo este ainda considerado como o método padrão (WHO, 1998). Neste método, o tecido é coletado, preservado em formalina, seccionado, corado, e então examinado em microscópio óptico, no qual são observadas as anormalidades patológicas no exame histológico. Este procedimento é, geralmente, complementado com revelação imunohistoquímica do tecido, a qual usa um anticorpo anti-PrP^{Sc}, marcado com uma enzima, que se ligará à PrP^{Sc}. A microscopia eletrônica pode, também, ser utilizada para detectar, em tecidos frescos *post-mortem*, fibrilas associadas à *scrapie* (as PrP^{Sc} aparecem como estruturas em forma de bastonetes denominadas SAFs – *scrapie associated fibrils*) (PARK et al., 2000).

Em busca de novos marcadores que possam auxiliar em testes diagnósticos *ante-mortem*, neuromarcadores protéicos têm sido estudados. Entre eles, uma proteína enolase neurônio-específica, a S100B, e a proteína glial fibrilar denominada Tau (GRASSI et al. 2000; GREEN et al., 2002; OTTO et al., 2002). Marcadores metabólicos como ácidos graxos, interferon- γ , prostaglandinas e interleucinas também tem sido estudadas (PARVEEN et al., 2005). Alguns grupos de pesquisa têm desenvolvido análises de soro por espectroscopia infravermelha combinada com processamento de dados da rede neural, esta abordagem tem mostrado alta sensibilidade e especificidade quando testadas em bovinos, porém, ainda não se sabe se poderá ser utilizada em testes rápidos para diagnósticos das EETs (LASCH et al., 2007; THOMZIG et al.; 2004).

A partir do ano de 2003, a Comissão Europeia (CE) aprovou cinco testes padrão de seleção comercial para uso na detecção direta e rápida da PrP^{Sc}. Um destes é o Western blot, em que a PrP^{Sc} purificada de material cerebral é detectada por meio do anticorpo monoclonal 6H4

derivado de camundongo. Outro é o teste Enfer que envolve a extração rápida das proteínas, acoplada à técnica ELISA, na qual a PrP^{Sc} é detectada por meio de anticorpos policlonais e um anticorpo secundário conjugado à peroxidase (KÜBLER et al., 2003). Segue ainda o teste de LIA (Príonics-Check Luminescence Immunoassay) (BIFFIGGER et al., 2002), CEA -Bio-Rad (Bennion & Daggett, 2002). e o InPro aCDI (InPro Automated Conformationally Dependent Immunoassay), que detectam a presença da proteína por meio de dois anticorpos monoclonais (SAFAR et al., 2002).

Até o momento, não existe terapia eficiente e que seja aceitável contra as doenças priônicas. Entretanto, diversos grupos têm procurado desenvolver formas e substâncias capazes de interromper ou reverter a produção de PrP^{Sc} causadora da doença (PERRIER et al., 2000; SOTO et al., 2000). Mallucci et al. (2003) conseguiram parar a conversão da proteína saudável para a mutante em cobaias geneticamente modificadas. As cobaias recuperaram-se e viveram tanto quanto animais não infectados, a despeito da contínua presença da príon anormal nos cérebros das mesmas.

O processo de conversão, e não o acúmulo da proteína, parece ser a chave da doença, levando à suspeita de que a substituição da proteína normal pela mutante pode produzir um produto tóxico, uma forma intermediária, ou pode esgotar um fator que seja crucial para a sobrevivência das células cerebrais (MALLUCCI et al., 2003).

Considerações finais

Por ser a *scrapie* uma doença de grande preocupação internacional, necessitando de maiores desenvolvimentos sobre seu comportamento, erradicação e principalmente no âmbito da prevenção, o Laboratório de Engenharia Genética da Embrapa Gado de Corte vem desenvolvendo pesquisas no sentido de identificar raças presentes no Estado de MS e no Brasil com maior predisposição genética a *scrapie*, bem como, raças geneticamente resistentes.

Para isto diversas raças, dentre elas, ovinos Suffolk, Hampshire Down, Texel e Santa Inês são submetidas à genotipagem, já que existem mutações bem conhecidas no gene *prnp*, que modificam a tradução dos códons 136 (Alanina/Valina), 154 (Histidina/Arginina) e 171 (Glutamina/Arginina/Histidina/Lisina) e, que estão associadas à ocorrência da doença (VACCARI et al., 2004). O conhecimento da frequência de alelos que conferem resistência e suscetibilidade à *scrapie* contribui para a identificação de animais geneticamente resistentes.

No futuro, estas informações poderão ser úteis para auxiliar programas de melhoramento genético, por meio do uso de matrizes que tenham fenótipos favoráveis à erradicação da *scrapie*, contribuindo para diminuir a ocorrência da doença no Brasil e evitando que ela possa prejudicar o crescimento do Estado nesta área, o que pode afetar negativamente sua economia.

Referências bibliográficas

ANUALPEC 2010. São Paulo: FNP, 2010. 273 p.

BAYLIS, M.; C. CHIHOTA, E.; STEVENSON, W.; GOLDMANN, A.; SMITH, K.; SIVAM, S.; TONGUE E. M.; GRAVENOR, B. Risk of *scrapie* in British sheep of different *prion* protein genotype. **Journal of General Virology**, v.85, n. p. 9, Sep, p.2735-2740, 2004.

BEDROCK. *Prion*, Disponível em: < http://bioquest.org/bedrock/problem_spaces/prion/index.php>. Acesso em: 30 out. 2010.

BIFFIGER, K.; ZWALD, D.; KAUFMANN, L.; BRINER, A.; NAYKI, I.; PURRO, M.; BOTCHER, S.; STRUCKMEYER, T.; SCHALLER, O.; MEYER, R.; FATZER, R.; ZURBRIGGEN, A.; STACK, M.; MOSER, M.; OESCH, B.; KUBLER, E. Validation of a luminescence immunoassay for the detection of PrP^(Sc) in brain homogenate. **Journal of Virological Methods**, v.101, p.79-84, 2002.

BILLINIS, C.; PSYCHAS V.; LEONTIDES L.; SPYROU V.; ARGYROUDIS S.; VLEMMAS, S. LEONTIDES I.; SKLAVIADIS E. T. ; PAPAPOPOULOS O. *Prion* protein gene polymorphisms in healthy and *scrapie*-affected sheep in Greece. **Journal of General Virology**, v.85, n. 2, p.547-554, 2004.

BOSSERS, A.; SCHREUDER B. E.; MUILEMAN I. H.; BELT E, P. B.; SMITS, M. A. PrP genotype contributes to determining survival times of sheep with natural *scrapie*. **Journal of General Virology**, v.77, p.2669-2673, 1996.

BOSSERS, A.; DE VRIES R.; SMITS, E. M. A. Susceptibility of sheep for *scrapie* as assessed by in vitro conversion of nine naturally occurring variants of PrP. **Journal of Virology**, v.74, n.3, p.1407-1144, 2000.

BROWN, D. R.; F. HAFIZ, L. L.; GLASSSMITH, B. S.; WONG, I. M.; JONES, C.; CLIVE E.; HASWELL. S. J. Consequences of manganese replacement of copper for *prion* protein function and proteinase resistance. **The Embo Journal**, v.19, n.6, p.1180-1186, 2000.

CASHMAN, N. R.; CAUGHEY, B. *Prion* Diseases close to effective therapy. **Nature Reviews Drug Discovery**, v.3, n.10, p.874-884, 2004.

COHEN, F. E. Protein misfolding and *prion* diseases. **Journal of Molecular Biology**, v.293, n.2, p.313-320, 1999.

COHEN, F.E. The Cohen Group. Disponível em: <<http://www.cmpharm.ucsf.edu/cohen/research/>>. Acesso em: 12 nov. 2008.

CORREIA, J. H. R.; CORREIA, A. Initiation and replication of *prion* pathogenic synthesis in transmissible spongiform encephalopathy. **Revista Portuguesa de Ciência Veterinárias**, v. 96, p. 105-112, 2001.

DAWSON, M.; HOINVILLE L. J.; HOSIE B. D.; HUNTER, N. Guidance on the use of PrP genotyping as an aid to the control of clinical *scrapie*. *Scrapie* Information Group. **Veterinary Record**, v.142, n.23, p.623-625, 1998.

DAWSON, M., MOORE, R. C.; BISHOP, E. S. C. Progress and limits of PrP gene selection policy. **Veterinary Research**, v.39, n.4, p.25, 2008.

DEFRA. National *Scrapie* Plan for Great Britain. Department for Food, Environment and Rural Affairs, 2003. Disponível em: <<http://www.defra.gov.uk/corporate/regulat/forms/Ahealth/nsp/nsp1.pdf>> Acesso em 10 fev. 2009.

DETWEILER, L. A.; BAYLIS, M. The epidemiology of *scrapie*. **Revue Scientifique Technique**, v.22, n.1, p.121-143, 2003.

DIAZ, C.; VITEZICA, Z. G.; RUPP,R.; ANDREOLETTI, O.; ELSSEN, E. J. M. Polygenic

variation and transmission factors involved in the resistance/susceptibility to *scrapie* in a Romanov flock. **Journal of General Virology**, v.86, n. 3, p.849-57, 2005.

DICKINSON, A. G. *Scrapie* in sheep and goats. **Frontiers in Biology**, v.44, p.209-41, 1976.

EGHIAIAN, F.; GROSCLAUDE, J.; LESCEU, S.; DEBEY, P.; DOUBLET, B.; TREGUER, E.; REZAEI, H.; KNOSSOW, M. Insight into the PrP^C in PrP^{Sc} conversion from the structures of antibody-bound ovine *prion scrapie*-susceptibility variants. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of USA**, v.101, n.28, p.10254-10259, 2004.

FAO. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. Disponível em: <<http://apps.fao.org/lim500/nphwrap.pl?Production.Livestock.Stocks&Domain>> Acesso em 23 dez. 2008

FERNANDES, R. E.; REAL, C. M.; FERNANDES J. C. T. *Scrapie* em ovinos no Rio Grande do Sul, **Arquivos da Faculdade de Veterinária – UFRGS**, v.6, p.139-146, 1978.

FURNESS, J.B.; COSTA, M. **The enteric nervous system**, Churchill Livingstone, Edinburgh, UK, 1987.

GAJDUSEK, D. C.; ZIGAS, V. Degenerative disease of the central nervous system in New Guinea; the endemic occurrence of kuru in the native population. **The New England Journal of Medicine**, v.257, n.20, p.974-8, 1957.

GOLDGABER, D.; GOLDFARB, L. G.; BROWN, P.; ASHER, D. M.; BROWN, W. T.; LIN, S.; TEENER, J. W.; FEINSTONE, S. M.; RUBENSTEIN, R.; KASCSAK, R. J. et al. Mutations in familial Creutzfeldt-Jakob disease and Gerstmann-Straussler-Scheinker's syndrome. **Experimental Neurology**, v.106, n.2, p.204-6, 1989.

GOLDMANN, W., HUNTER, N.; FOSTER, J. D.; SALBAUM, J. M.; BEYREUTHER, K.; HOPE, J. Two alleles of a neural protein gene linked to *scrapie* in sheep. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of USA**, v.87, n.7, p.2476-80, 1990.

GOLDMANN, W. PrP genetics in ruminant transmissible spongiform encephalopathies. **Veterinary Research**, v.39, n.4, p.30. 2008.

GRASSI, J., CREMINON, C.; FROBERT, Y.; FRETIER, P.; TURBICA, I.; REZAEI, H.; HUNSMANN, G.; COMOY, E.; DESLYS, E J. P. Specific determination of the proteinase K-resistant form of the *prion* protein using two-site immunometric assays. Application to

the post-mortem diagnosis of BSE. **Archives of Virology, Supplement**, n.16, p.197-205, 2000.

GREEN, A. J. Cerebrospinal fluid brain-derived proteins in the diagnosis of Alzheimer's disease and Creutzfeldt-Jakob disease. **Neuropathology and Applied Neurobiology**, v.28, n.6, Dec, p.427-40. 2002.

HAIRE, L. F.; WHYTE, S. M.; VASISHT, N.; GILL, A. C.; VERMA, C.; DODSON, E. J.; DODSON, G. G.; BAYLEY, P. M. The crystal structure of the globular domain of sheep *prion* protein. **Journal of Molecular Biology**, v.336, n.5, Mar 5, p.1175-1183, 2004.

HARITANI, M., SPENCER, Y. I.; WELLS, G. A. Hydrated autoclave pretreatment enhancement of *prion* protein immunoreactivity in formalin-fixed bovine spongiform encephalopathy-affected brain. **Acta Neuropatholy**, v.87, n.1, p.86-90, 1994.

HEPPNER, F. L., CHRIST, A. D.; KLEIN, M. A.; PRINZ, M.; FRIED, M.; KRAEHNBUHL, J. P.; AGUZZI, A. Transepithelial *prion* transport by M cells. **Nature Medicine**, v.7, n.9, Sep, p.976-7, 2001.

HERMANN, L. M., BASZLER, T. V.; KNOWLES, D. P.; CHEEVERS, W. P.; PrP(Sc) is not detected in peripheral blood leukocytes of *scrapie*-infected sheep: determining the limit of sensitivity by immunohistochemistry. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v.9, n.2, Mar, p.499-502, 2002.

HERMS, J.; TINGS, T.; GALL, S.; MADLUNG, A.; GIESE, A.; SIEBERT, H.; SCHURMANN, P.; WINDL, O.; BROSE, N.; KRETZSCHMAR, H. Evidence of presynaptic location and function of the *prion* protein. The **Journal of Neuroscience**, v.19, n.20, p.8866-8875, 1999.

HOFFMANN, C.; ZIEGLER, U.; BUSCHMANN, A.; WEBER, A.; KUPFER, L.; OELSCHLEGEL, A.; HAMMERSCHMIDT, B.; GROSCHUP, M. H. *Prions* spread via the autonomic nervous system from the gut to the central nervous system in cattle incubating bovine spongiform encephalopathy. **Journal of General Virology**, v.88, p.1048-1055, 2007.

HOUSTON, F.; MCCUTCHEON, S.; GOLDMANN, W.; CHONG, A.; FOSTER, J.; SISO, S.; GONZALEZ, L.; JEFFREY, M.; HUNTER, N. Prion diseases are efficiently transmitted by blood transfusion in sheep. **Blood**, 2008 .

HUNTER, N., CAIRNS, D.; FOSTER, J. D.; SMITH, G., GOLDMANN, W.; DONNELLY, K. Is *scrapie* solely a genetic disease? **Nature**, v.386, n.6621, p.137. 1997.

IANNUZZI, L.; PALOMBA, R.; DI MEO, G. P.; PERUCATTI, A.; FERRARA, L. Comparative FISH-mapping of the *prion* protein gene (*PRNP*) on cattle, river buffalo, sheep and goat chromosomes. **Cytogenetics and Cell Genetics**, v.81, n.3-4, p.202-204, 1998.

JACKMAN, R.; EVEREST, D. J.; SCHMERR, M. J.; KHAWAJA, M.; KEEP, P.; DOCHERTY, J. Evaluation of a preclinical blood test for *scrapie* in sheep using immunocapillary electrophoresis. **The Journal of AOAC INTERNATIONAL**, v.89, n.3, p.720-727, 2006.

JACKSON, G. S.; COLLINGE, J. *Prion* disease--the propagation of infectious protein topologies. **Microbes and Infection**, v.2, n.12, p.1445-1449, 2000.

JEFFREY, M.; GONZALEZ, L. Classical sheep transmissible spongiform encephalopathies: pathogenesis, pathological phenotypes and clinical disease. **Neuropathology and Applied Neurobiology**, v.33, n.4, p.373-394, 2007.

KANEKO, K.; ZULIANELLO, L.; SCOTT, M.; COOPER, C. M.; WALLACE, A. C.; JAMES, T. L.; COHEN, F. E.; PRUSINER, S. B.. Evidence for protein X binding to a discontinuous epitope on the cellular *prion* protein during *scrapie prion* propagation. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of USA**, v.94, n.19, p.1069-1074, 1997.

KARLIN, S.; ZHU, Z. Y.; KARLIN, K. D. The extended environment of mononuclear metal centers in protein structures. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of USA**, v.94, n.26, p.14225-14230, 1997.

KÜBLER, E.; OESCH, B.; RAEBER, A. J. Diagnosis of *prion* diseases. **British Medical Bulletin**, v.66, p.267-79, 2003.

LASCH, P.; BEEKES, M.; SCHMITT, J. & NAUMANN, D. Detection of preclinical *scrapie* from serum by infrared spectroscopy and chemometrics. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v.387, n.5, p.1791-800, 2007.

LEANES, L. F. **Scrapie** - anotaciones utiles. Disponível em: <www.iicasaninet.net/pub/sanani/pdf/scrapie.pdf>, Acesso em 15 nov 2008.

LEE, I. Y.; WESTAWAY, D.; SMIT, A. F.; WANG, K.; SETO, J.; CHEN, L.; ACHARYA, C.; ANKENER, M.; BASKIN, D.; COOPER, C.; YAO, H.; PRUSINER, S. B.; HOOD, L. E. Complete genomic sequence and analysis of the *prion* protein gene region from three mammalian species. **Genome Research**, v.8, n.10, p.1022-1037, 1998.

LEE, K. S.; LINDEN, R.; PRADO, M. A.; BRENTANI, R. R.; MARTINS, V. R. Towards cellu-

lar receptors for *prions*. **Reviews in Medical Virology**, v.13, n.6, p.399-408, 2003.

LEOPOLDT, J. NÜTZLICHE. Auf die erfahrung gegrünete einleitung zu der lanwirtschaft. Berlin: **Glogau**, p.344-360, 1959.

LIEMANN, S. & GLOCKSHUBER, R. Transmissible spongiform encephalopathies. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.250, n.2, p.187-93, 1998.

LOPEZ GARCIA, F.; ZAHN, R.; RIEK, R. & WUTHRICH, K. NMR structure of the bovine *prion* protein. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of USA**, v.97, n.15, p.8334-8339, 2000.

LUHKEN, G.; BUSCHMANN, A.; BRANDT, H.; EIDEN, M.; GROSCHUP, M. H.; ERHARDT, G. Epidemiological and genetical differences between classical and atypical *scrapie* cases. **Veterinary Research**, v.38, n.1, p.65-80, 2007.

MABBOTT, N. A.; MACKAY, F.; MINNS, F. & BRUCE, M. E. Temporary inactivation of follicular dendritic cells delays neuroinvasion of *scrapie*. **Nature Medicine**, v.6, n.7, p.719-20, 2000.

MACGOWAN, D.J.; DELANTY, N.; PETITO, F.; EDGAR M.; MASTRIANNI, J. & DEARMOND, S. J. Isolated myoclonic alien hand as the sole presentation of pathologically established Creutzfeldt-Jakob disease: a report of two patients. **Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry**, v. 63, p. 404-407, 1922.

MALLUCCI, G.; DICKINSON, A.; LINEHAN, J.; KLOHN, P. C.; BRANDNER, S. & COLLINGE, J. Depleting neuronal PrP in *prion* infection prevents disease and reverses spongiosis. **Science**, v.302, n.5646, p.871-874, 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimentos. Disponível em < http://extranet.agricultura.gov.br/primeira_pagina/extranet.htm > Acesso em 15 fev 2009.

MICROSCOPES BLOG. *Prion*, Disponível em: < <http://www.microscopesblog.com/2010/01/prion.html> >. Acesso em: 30 jun 2010.

MISHRA, R. S.; BASU, S.; GU, X. LUO, Y.; ZOU, R.; MISHRA, R.; LI, R.; CHEN, S. G.; GAMBETTI, P.; FUJIOKA, H.; SINGH, N. Protease-resistant human *prion* protein and ferritin are cotransported across Caco-2 epithelial cells: implications for species barrier in *prion* uptake from the intestine. **The Journal of Neuroscience**, v.24, n.50, p.11280-11290, 2004.

MOHAN, J.; BROWN, K. L.; FARQUHAR, C. F.; BRUCE, M. E.; MABBOTT, N. A. *Scrapie* transmission following exposure through the skin is dependent on follicular dendritic cells in lymphoid tissues. **Journal of Dermatological Science**, v.35, n.2, p.101-111, 2004.

MORENO, C. R.; LANTIER, F.; LANTIER, I.; SARRADIN P. & ELSEN, J. M. Detection of new quantitative trait Loci for susceptibility to transmissible spongiform encephalopathies in mice. **Genetics**, v.165, n.4, p.2085-2091, 2006.

NEUTRA, M. R.; PRINGAULT E, E.; KRAEHENBUHL, J. P. Antigen sampling across epithelial barriers and induction of mucosal immune responses. **Annual Review of Immunology**, v.14, p.275-300, 1996.

O'DOHERTY, E.; HEALY, A.; AHERNE, M.; HANRAHAN, J. P.; WEAVERS, E.; DOHERTY, M.; ROCHE, J. F.; GUNN, M.; SWEENEY, T. *Prion* protein (PrP) gene polymorphisms associated with natural *scrapie* cases and their flock-mates in Ireland. **Research in Veterinary Science**, v.73, n.3, p.243-250, 2002.

O'ROURKE, K. I.; BASZLER, T. V.; BESSER, T. E.; MILLER, J. M.; CUTLIP, R. C.; WELLS, G. A.; RYDER, S. J.; PARISH, S. M.; HAMIR, A. N.; COCKETT, N. E.; JENNY, A. & KNOWLES, D. P. Preclinical diagnosis of *scrapie* by immunohistochemistry of third eyelid lymphoid tissue. **Journal of Clinical Microbiology**, v.38, n.9, p.3254-3259, 2000.

OJEDA, D. B.; N. OLIVEIRA. Serviço de Avaliação Genética de Reprodutores Ovinos. **(SAGRO): Resultados de 1998**. Bagé, Embrapa Pecuária Sul, p.31. 1998.

OTTO, M.; WILTFANG, J.; CEPEK, L.; NEUMANN, M.; MOLLENHAUER, B.; STEINACKER, P.; CIESIELCZYK, B.; SCHULZ-SCHAEFFER, W.; KRETZSCHMAR, H. A. & POSER, S. Tau protein and 14-3-3 protein in the differential diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease. **Neurology**, v.58, n.2, p.192-197, 2002.

OWEN, F. *Prions*. **Biological Sciences**, v.10 (5), p. 38-40, 1998.

PARK, SANG-KOO; CHOI, SEUNG-II1; JIN, JAE-KWANG1; CHOI, EUN-KYOUNG1; KIM, JAE-II1; CARP, RICHARD I.3; KIM, YONG-SUN, Differential expression of Bax and Bcl-2 in the brains of hamsters infected with 263K scrapie agent, **Neurology Report**, v. 11, p. 1677-1682, 2000.

PARVEEN, I.; MOORBY, J.; ALLISON, G. & JACKMAN, R. The use of non-*prion* biomarkers for the diagnosis of Transmissible Spongiform Encephalopathies in the live animal. **Veterinary Research**, v.36, n.5-6, p.665-683, 2005.

PERRIER, V.; SOLASSOL, J.; CROZET, C.; FROBERT, Y.; MOURTON-GILLES, C.; GRASSI, J. & LEHMANN, S. Anti-PrP antibodies block PrPSc replication in *prion*-infected cell cultures by accelerating PrPC degradation. **Journal of Neurochemistry**, v.89, n.2, p.454-63, 2004.

PURDEY M. Are organo-phosphate pesticides involved in the causation of BSE? Hypothesis based upon a literature review and limited trials on BSE cattle. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.4(1), p. 43-82, 1994.

PURDEY, M. The UK epidemic of BSE: slow virus or chronic pesticide-initiated modification of the *prion* protein? Part 1: Mechanisms for a chemically induced pathogenesis/transmissibility. **Medical Hypotheses**, v.46, n.5, p.429-443, 1996.

PRUSINER, S. B.; SCOTT, M.; FOSTER, D.; PAN, K. M.; GROTH, D.; MIRENDA, C.; TORCHIA, M.; YANG, S. L.; SERBAN, D.; CARLSON, G. A. et al. Transgenic studies implicate interactions between homologous PrP isoforms in *scrapie prion* replication. **Cell**, v.63, n.4, Nov 16, p.673-86. 1990.

PRUSINER, S. B. Molecular biology and pathogenesis of *prion* diseases. **Trends in Biochemical Sciences**, v.21, n.12, p.482-487, 1996.

PRUSINER, S. B. *Prion* diseases and the BSE crisis. **Science**, v.278, n.5336, p.245-251, 1997.

PRUSINER, S. B. *Prions*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of USA**, v.95, n.23, Nov 10, p.13363-13383, 1998.

RIBEIRO, L. A. O. Risco da introdução de doenças exóticas pela importação de ovinos, **Boletim do Laboratório Regional de Diagnóstico – UFPEL**, v.13, p.39-44. 1993.

RIBEIRO, L. A. O.; PASSOS, T. D.; RODRIGUES, C. N.; WEIMER, A. T. Scrapie (paraplexia enzoótica) em ovinos no Brasil. **Veterinária em Foco**, v. 4, p. 203-209, 2007.

REZAEI, H.; CHOISSET, Y.; EGHIAIAN, F.; TREGUER, E.; MENTRE, P.; DEBEY, P.; GRO-SCLAUDE, J. & HAERTLE, T. Amyloidogenic unfolding intermediates differentiate sheep *prion* protein variants. **Journal of Molecular Biology**, v.322, n.4, p.799-814. 2002.

RIEK, R.; HORNEMANN, S.; WIDER, G.; BILLETER, M.; GLOCKSHUBER, R. & WUTH-RICH, K. NMR structure of the mouse *prion* protein domain PrP(121-321). **Nature**, v.382, n.6587, p.180-182. 1996.

SAFAR, J. G.; SCOTT, M.; MONAGHAN, J.; DEERING, C.; DIDORENKO, S.; VERGARA, J.; BALL, H.; LEGNAME, G.; LECLERC, E.; SOLFOROSI, L.; SERBAN, H.; GROTH, D.; BURTON, D. R.; PRUSINER, S. B.; WILLIAMSON, R. A. Measuring prions causing bovine spongiform encephalopathy or chronic wasting disease by immunoassays and transgenic mice. **Nature Biotechnology**, v. 20, p.1147-1150, 2002.

SOLFOROSI, L.; CRIADO, J. R.; MCGAVERN, D. B.; WIRZ, S.; SANCHEZ-ALAVEZ, M.; SUGAMA, S.; DEGIORGIO, L. A.; VOLPE, B. T.; WISEMAN, E.; ABALOS, G.; MASLIAH, E.; GILDEN, D.; OLDSTONE, M. B.; CONTI, B. & WILLIAMSON, R. A. Cross-linking cellular *prion* protein triggers neuronal apoptosis in vivo. **Science**, v.303, n.5663, p.1514-1516, 2004.

SOTO, C.; KASCSAK, R. J.; SABORIO, G. P.; AUCOUTURIER, P.; WISNIEWSKI, T.; PRELLI, F.; KASCSAK, R.; MENDEZ, E.; HARRIS, D. A.; IRONSIDE, J.; TAGLIAVINI, F.; CARP, R. I. & FRANGIONE, B. Reversion of *prion* protein conformational changes by synthetic beta-sheet breaker peptides. **Lancet**, v.355, n.9199, Jan 15, p.192-197, 2000.

SMITH, C. J., A. F. DRAKE, B. A. BANFIELD, G. B. BLOOMBERG, M. S. PALMER, A. R. CLARKE E J. COLLINGE. Conformational properties of the *prion* octa-repeat and hydrophobic sequences. **FEBS Letters**, v.405, n.3, p.378-384. 1997.

SIMMONS, M. M.; KONOLD, T.; SIMMONS, H. A.; SPENCER, Y. I.; LOCKEY, R.; SPIROPOULOS, J.; EVERITT, S.; CLIFFORD, D. *Experimental transmission of atypical scrapie to sheep*. **BMC Veterinary Research**, v. 3, n.20, 2007.

SWEENEY, T.; HANRAHAN, J. P. The evidence of associations between *prion* protein genotype and production, reproduction, and health traits in sheep. **Veterinary Research** v.39, n.4, p.28. 2008.

TELLING, G. C.; SCOTT, M.; MASTRIANNI, J.; GABIZON, R.; TORCHIA, M.; COHEN, F. E.; DEARMOND E, S. J.; PRUSINER, S. B.. *Prion* propagation in mice expressing human and chimeric PrP transgenes implicates the interaction of cellular PrP with another protein. **Cell**, v.83, n.1, p.79-90, 1995.

THOMZIG, A.; SPASSOV, S.; FRIEDRICH, M.; NAUMANN, D.; BEEKES, M. Discriminating *scrapie* and bovine spongiform encephalopathy isolates by infrared spectroscopy of pathological *prion* protein. **The Journal of Biological Chemistry**, v.279, n.32, p.33847-33854, 2004.

TRANULIS, M. A.; OSLAND, A.; BRATBERG, B.; ULVUND, M. J. *Prion* protein gene polymorphisms in sheep with natural *scrapie* and healthy controls in Norway. **Journal of**

General Virology, v.80, p.1073-7, 1999.

TOUZEAU, S.; CHASE-TOPPING, M. E.; MATTHEWS, L.; LAJOUS, D.; EYCHENNE, F.; HUNTER, N.; FOSTER, J. D.; SIMM, G.; ELSEN, J. M.; WOOLHOUSE, M. E. Modelling the spread of *scrapie* in a sheep flock: evidence for increased transmission during lambing seasons. **Archives of Virology**, v.151, n.4, p.735-51, 2006.

TUO, W.; ZHUANG, D.; KNOWLES, D. P.; CHEEVERS, W. P.; SY, M. S.; O'ROURKE, K. I. Prp-c and Prp-Sc at the fetal-maternal interface. **The Journal of Biological Chemistry**, v.276, n.21, p.18229-34. 2001.

VACCARI, G.; CONTE, M.; MORELLI, L.; DI GUARDO, G.; PETRAROLI, R.; AGRIMI, U. Primer extension assay for *prion* protein genotype determination in sheep. **Molecular and Cellular Probes**, v.18, n.1, p.33-7, 2004.

VAN KEULEN, L. J.; SCHREUDER, B. E.; MELOEN, R. H.; MOOIJ-HARKES, G.; VROMANS, M. E.; LANGEVELD, J. P. Immunohistochemical detection of *prion* protein in lymphoid tissues of sheep with natural *scrapie*. **Journal of Clinical Microbiol**, v.34, n.5, p.1228-12231, 1996.

VAN KEULEN, L. J.; SCHREUDER, B. E.; VROMANS, M. E.; LANGEVELD, J. P.; SMITS, M. A. Pathogenesis of natural *scrapie* in sheep. **Archives of Virology**, n.16, p.57-71. 2000.

VAN KEULEN, L. J. M.; VROMANS, M. E. W.; VANZIJDERVERELD, F. G. Early and late pathogenesis of natural scrapie infection in sheep. **Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica**, n. 110, p. 23–32. 2002.

WELLS, G. A. H.; RYDER, S. J.; HADLOW, W. J. The pathology of prion diseases in animals. In: Prions in Humans and Animals. eds. de Gruyter, Berlin, Germany, p. 315–327, 2006.

VICARIVENTO, N. B.; PUZZI, M. B. *SCRAPIE*. **Revista Científica Eletrônica De Medicina Veterinária**, v. 10, p. 1679-7353, 2008.

PERRIER, V.; KANEKO, J.; SAFAR, J.; VERGARA, P.; TREMBLAY, S.; DEARMOND, J.; COHEN, J. F. E.; PRUSINER, S.; WALLACE, A. C. Dominant-negative inhibition of prion replication in transgenic mice. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of USA**, v.1, n.99, p.20, 13079-13084, 2002.

WHO (World Health Organization). Global Surveillance, Diagnosis and Therapy of Human Transmissible Spongiform Encephalopathies, **Report of a WHO Consultation**, Geneva, WHO. 1998.

WILESMITH, J. W.; WELLS, G. A. Bovine spongiform encephalopathy. **Microbioly and Immunoly**, v.172, p.21-38, 1991.

WOOLHOUSE, M. E.; COEN, P.; MATTHEWS, L.; FOSTER, J. D.; ELSEEN, J. M.; LEWIS, R. M.; D. T. HAYDON; HUNTER, N. A centuries-long epidemic of *scrapie* in British sheep? **Trends Microbioly**, v.9, n.2, p.67-70, 2004.

ZANATA, S. M.; LOPES, M. H.; MERCADANTE, A. F.; HAJJ, G. N.; CHIARINI L. B.; NOMIZO R.; FREITAS A. R.; <http://ag.ansc.purdue.edu/sheep/ansc442/Semprojs/2002/scrapie/scrapie.htm> Acesso em 30 JUN 2011.

ZOMOSA-SIGNORET, V.; ARNAUD, J. D.; FONTES, P.; ALVAREZ-MARTINEZ, M. T. & LIAUTARD, J. P. Physiological role of the cellular *prion* protein. **Veterinary Research**, v.39, n.4, p.9, 2008.

Embrapa

Gado de Corte

CGPE 10628



Ministério da
Agricultura, Pecuária
e Abastecimento

