

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**RESISTÊNCIA OU SUSCETIBILIDADE À *SCRAPIE* EM
OVINOS PERTENCENTES AO GRUPAMENTO GENÉTICO
“OVELHAS PANTANEIRAS”**

Aline Najara Domingos Gonçalves

**CAMPO GRANDE
MATO GROSSO DO SUL – BRASIL**

2012

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**RESISTÊNCIA OU SUSCETIBILIDADE À *SCRAPIE* EM
OVINOS PERTENCENTES AO GRUPAMENTO GENÉTICO
“OVELHAS PANTANEIRAS”**

**RESISTANCE OR SUSCEPTIBILITY TO *SCRAPIE* IN
OVINES FROM GENETIC
GROUP “OVELHAS PANTANEIRAS”**

Aline Najara Domingos Gonçalves

Orientador: Dr. Cleber Oliveira Soares

Co-orientadora: Dra. Grácia Maria Soares Rosinha

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito à obtenção do título de Mestre em Ciência Animal. Área de concentração: Saúde Animal.

CAMPO GRANDE

MATO GROSSO DO SUL – BRASIL

2012

*Mas é claro que o sol vai voltar amanhã
Mais uma vez, eu sei
Escuridão já vi pior, de endoidecer gente sã
Espera que o sol já vem.*

*Nunca deixe que lhe digam que não vale a pena
Acreditar no sonho que se tem
Ou que seus planos nunca vão dar certo
Ou que você nunca vai ser alguém*

*Tem gente que machuca os outros
Tem gente que não sabe amar
Mas eu sei que um dia a gente aprende
Se você quiser alguém em quem confiar
Confie em si mesmo*

Quem acredita sempre alcança!

(Renato Russo)

Ao Deus supremo...

À minha amada família: Meus pais Selma e Gilmar, e meus irmãos Cássio e Kauê, minha avó Benedita, meus mais valiosos presentes de vida, que me dão força, segurança e coragem para nunca desistir dos meus sonhos...

Dedico...

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiro a Deus, meu supremo Senhor, pela dádiva da vida, por me fazer superar as adversidades e ter me abençoado para que este sonho nascesse e fosse adiante... Agradeço pela saúde, fé e perseverança que tem me dado. E, principalmente, por ter sido meu suporte na busca de soluções para o que parecia impossível...

Meu maior agradecimento é dirigido a minha mãe e minha avó, por me mostrarem a importância do trabalho acadêmico com rigor e disciplina, propiciando-me a fundamentação básica, sem a qual este trabalho não teria sido escrito. Agradeço, de forma muito carinhosa, a atuação de minha mãe no período de construção deste trabalho. Sua paciência infinita e sua crença absoluta na capacidade de realização a mim atribuída foram indubitavelmente, os elementos propulsores desta dissertação.

Ao meu orientador, Dr. Cléber Oliveira Soares pelos preciosos conhecimentos a mim concedidos e pela confiança depositada.

À minha co-orientadora, Dra. Grácia Maria Soares Rosinha pela sua disposição e esforço para dar todas as condições físicas e laboratoriais para a execução deste trabalho, pela disponibilidade e esclarecimentos necessários para o meu desempenho e crescimento profissional.

Ao Programa de Mestrado em Ciência Animal da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul pela oportunidade e a todos os professores, sempre tão dispostos a ensinar.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro.

À Embrapa Gado de Corte, por ter cedido os animais utilizados no trabalho e em especial ao laboratório de Engenharia Genética Animal onde pude realizar meus experimentos. Ao pesquisador Fernando Alvarenga Reis que sempre esteve disposto a ajudar, ouvir e discutir qualquer questão.

Aos meus colegas de laboratório pelo convívio... Por sempre me apoiarem em todos os momentos, mas principalmente, pela amizade, alegria, companheirismo, união e disposição deste grupo que esteve sempre pronto a ajudar. Enfim, a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização desse trabalho, muito obrigada!

SUMÁRIO

“Página”

1. INTRODUÇÃO	2
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1. Importância da ovinocultura	4
2.3. Proteína príon: estrutura e função.....	9
2.4. As encefalopatias espongiformes transmissíveis.....	12
2.4.1. Diagnósticos das EETs.....	14
2.5. Scrapie	16
2.5.1. Sinais Clínicos	16
2.5.2. Epidemiologia de <i>scrapie</i>	16
2.5.3. Identificação genética da <i>scrapie</i>	18
2.5.3.1. Gene <i>prnp</i>	18
2.5.3.2. Principais polimorfismos relacionados à <i>scrapie</i>	18
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	22
ARTIGO CIENTÍFICO	31
Perfil genotípico de ovinos do grupamento genético “Ovelhas Pantaneiras” para suscetibilidade ou resistência à <i>scrapie</i>	31
Resumo.....	31
Introdução.....	31
Material e Métodos	33
Resultados e Discussão	34
Conclusões.....	39
Agradecimentos.....	40
Referências	41

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO DE LITERATURA

“Página”

Figura 1. Exemplares de Ovinos Pantaneiros.....	6
Figura 2. Estrutura tridimensional da proteína <i>prion</i>	9
Figura 3. Proteína <i>prion</i>	10
Figura 4. Papel da PrP ^C na resposta celular ao estresse oxidativo.....	11
Figura 5. Situação mundial quanto à notificação de <i>scrapie</i> à OIE (OIE, 2012).....	17
Figura 6. Representação esquemática dos polimorfismos nos códons 136, 154 e 171 do gene <i>prnp</i> ovino	19

ARTIGO CIENTÍFICO

Fig. 1. Eletroferogramas de um ovino homozigoto com genótipo ARR/ARR, que confere risco muito baixo à <i>scrapie</i>	Erro! Indicador não definido.
Fig. 2. Eletroferogramas de um ovino heterozigoto com genótipo ARR/ARQ confere risco baixo à <i>scrapie</i>	Erro! Indicador não definido.

LISTA DE TABELAS

REVISÃO DE LITERATURA

“Página”

Tabela 1. Ganho de peso de cordeiros do grupo genético Ovelhas Pantaneiras	7
Tabela 2. Etiologia das Encefalopatias espongiformes transmissíveis	13
Tabela 3. Classificação dos 15 genótipos e seus respectivos grupos de risco.....	20

LISTA DE TABELAS

ARTIGO CIENTÍFICO.....“Página”

Tabela 1. Frequência de haplótipos no gene <i>prnp</i> em ovinos do grupamento genético Ovelhas Pantaneiras.....	38
Tabela 2. Frequências genotípicas classificadas segundo o grau de risco à <i>scrapie</i> (NSP)....	38

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

% – por cento

nm – nanomol

μL – microlitro

A – Alanina

ANUALPEC – Anuário da Pecuária Brasileira

DEC – Doença do Emagrecimento Crônico

DNA – ácido desoxirribonucléico

dNTP – desoxirribonucleotídeo trifosfatado

EDTA – etilenodaminotetra céticos

EEB – encefalopatia espongiforme bovina

EEF – encefalopatia espongiforme felina

EETs – encefalopatias espongiformes transmissíveis

ELISA – ensaio de imunoadsorção enzimática

et al. – e colaboradores

ETM – encefalopatia transmissível da marta

EUG – encefalopatia dos ungulados exóticos

FDC – células dentríticas foliculares

fDCJ – doença de creutzfeldt-jakob familiar

GPI – glicosil fosfatidil inositol

GSS – síndrome de gerstmann-sträussler-scheinker

H – Histidina

iDCJ – doença de creutzfeldt-jakob iatrogênica

IEF – insônia esporádica fatal

IFF – insônia familiar fatal

IHQ – imuno-histoquímica

kb – kilobases

kD – kilodalton

Kg - quilograma

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MgCl₂ – cloreto de magnésio

mM – milimolar

NH₂OH – hidroxilamina

NHP – EET em primatas não-humanos

nm – nanometro

NMDA – N-metil-D-aspartato

°C – graus Celsius

OIE – Organização mundial de saúde animal (*World Organization for Animal Health*)

pb – pares de base

PCR – reação em cadeia da polimerase

PNCRH – Plano Nacional de Combate da Raiva dos Herbívoros

príon – proteinaceous infectious particles

PrP^C – *príon* celular

PrP^{SC} – *príon* infecciosa

Q – Glutamina

R – Arginina

SNC – sistema nervoso central

SNPs – polimorfismos de nucleotídeo único

SOD – superóxido dismutase

UV – ultravioleta

V – Valina

vDCJ – doença de creutzfeldt-jakob variante

VPSPr – variavel protease-sensível prionopathy

WB – Western Blot

WHO – Organização mundial de saúde (*World Health Organization*)

pmol – picomol

1. INTRODUÇÃO

A *scrapie* é uma doença neurodegenerativa, crônica e fatal que acomete ovinos e caprinos, pertencente ao grupo das encefalopatias espongiformes transmissíveis (EETs), em bovinos a encefalopatia espongiforme bovina (EEB) e em humanos a doença de Creutzfeldt-Jakob (DCJ) e a variante da doença de Creutzfeldt-Jakob (vDCJ) (YOKOYAMA et al., 2010). As EETs são caracterizadas por longos períodos de incubação e por causar degeneração do sistema nervoso central (SNC) (DI BARI et al., 2008).

A *scrapie* foi primeiramente notificada na Grã Bretanha e em outros países da Europa Ocidental a mais de 250 anos, tendo sido relatada em vários países (DAWSON et al., 2008). Prusiner (1982) foi quem propôs o agente etiológico para as EETs denominando-o de “*prion*” (*proteinaceous infectious particles*). Esta proteína quando em sua forma normal é considerada uma glicoproteína, de constante produção no retículo endoplasmático, que é processada no complexo de Golgi para então ser transportada para a superfície celular do tecido cerebral. Seu tempo de vida é curto devido a processos de endocitose, sofrendo degradação proteolítica e sendo rapidamente metabolizada (MOSER et al., 1995).

Esta enfermidade é causada pelo acúmulo da proteína anormal, resistente a proteases, denominada proteína *prion* infecciosa (PrP^{SC}). A PrP^{SC} resulta de uma alteração estrutural ocorrida após a tradução de sua isoforma normal, a *prion* celular (PrP^C). Esta proteína é sintetizada pelo próprio hospedeiro, sendo o *prnp* o gene responsável (BROWN et al., 2001, TAMGÜNEY et al., 2008).

A suscetibilidade a esta doença pode ser avaliada pela taxa de mortalidade e pelo período de incubação, sendo controlada principalmente por polimorfismos no gene *prnp*. Algumas mutações pontuais localizadas nos códons 136 (Alanina/Valina), 154 (Arginina/Histidina) e 171 (Arginina/Glutamina/Histidina) deste gene tem sido associada a casos de animais naturalmente infectados (DÍAZ et al., 2005). A suscetibilidade aumenta após a substituição de A por V no códon 136, enquanto que a alteração de Q por R no códon 171 confere resistência (SANTUCCIU et al., 2010).

Baseado nessas informações foi desenvolvido na Grã Bretanha, o Plano Nacional de Controle e Erradicação da *scrapie* (PNS), o regulamento impõe a União Européia que os países membros devem realizar seleção de animais para o alelo A₁₃₆R₁₅₄R₁₇₁ (ARR), considerado o mais resistente à *scrapie* e eliminar outros genótipos tidos como mais suscetíveis principalmente VRQ (LÜHKEN et al., 2007). Este plano foi criado para auxiliar

programas de melhoramento genético e outros programas similares foram desenvolvidos nos Estados Unidos e aprimorados por membros da União Européia (DAWSON et al., 1998)

No Brasil, não há nenhum tipo de seleção de animais geneticamente resistentes a esta enfermidade. A *scrapie* foi detectada no país pela primeira vez em 1985 em ovinos importados do Reino Unido. Foram notificadas duas ocorrências em ovinos importados dos Estados Unidos no ano de 2001, adotando-se as medidas condizentes à contenção da doença. A ocorrência do primeiro caso nativo brasileiro se deu em fevereiro de 2003, sendo o animal acometido descendente de ovino importado também dos Estados Unidos. Em dezembro de 2004 foi notificado mais um caso nativo de um descendente de um animal importado. As últimas notificações foram dois casos, sendo um em julho e outro em agosto, ambos em 2006 (BRASIL, 2011a).

Tendo em vista o potencial para o desenvolvimento da criação de ovinos, cuidados sanitários são essenciais para a produção desses pequenos ruminantes, pois, contribuirão para a sobrevivência das crias, saúde dos rebanhos e conquista de mercados (SIMPLÍCIO, 2003). A escolha da raça ou grupo genético é fundamental para garantir o sucesso da ovinocultura, recentemente, foi identificado um novo grupamento genético adaptado às condições do Pantanal Sulmatogrossense, denominado “Ovelhas Pantaneiras” (GOMES et al., 2007). Estes animais possuem potencial para o aumento da produtividade do rebanho e com isso expansão da renda. As fêmeas não apresentam anestro sazonal, podem ter até dois partos ao ano (MARTINS et al., 2008) e seus cordeiros exibem biometria corporal semelhante a raças exóticas melhoradas geneticamente (VARGAS JUNIOR et al., 2010). Outro importante aspecto a ser destacado é que machos e fêmeas apresentam desempenho e produção semelhante, bem como acabamento de carcaça uniforme (VARGAS JUNIOR et al., 2011a)

Desta forma, esta dissertação tem como objetivos contribuir com informações sobre o grupamento genético Ovelhas Pantaneiras, analisar polimorfismos de base única (SNP) no gene *prnp* ovino, visando identificar animais com características genéticas resistentes ou suscetíveis à *scrapie* e traçar o perfil genotípico destes animais formadores em potencial de uma futura raça de ovinos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Importância da ovinocultura

A ovinocultura foi uma das primeiras explorações animais domesticadas pelo homem no início da civilização, proporcionando-lhe alimento, em forma de carne e leite e proteção por meio da lã e da pele (BELLUZO et al., 2001). Esta atividade econômica é explorada em todos os continentes e está presente em áreas sob as mais diversas características climáticas, edáficas e botânicas (VIDAL et al., 2006).

No Brasil os ovinos foram introduzidos pelos seus colonizadores, principalmente grupos genéticos portugueses e espanhóis (LÔBO, 2005). No Mato Grosso do Sul, esses animais foram introduzidos pelo rio Paraguai, espalhando-se por quase todas as propriedades rurais, principalmente nas fazendas voltadas para a bovinocultura no Pantanal e fronteiriças com o Paraguai (MARIANI & SÓRIO, 2008).

A criação de ovinos vem se desenvolvendo no Brasil em larga escala nos últimos anos o que representa uma boa alternativa de trabalho e renda, visto a produção de alimentos de alto valor biológico (leite, carne e vísceras), bem como de pele de excelente qualidade (COSTA et al., 2008). O agronegócio da ovinocultura nacional mobiliza mais de um milhão de propriedades rurais, gerando pelo menos 500 mil empregos diretos e o triplo em empregos indiretos. Grande parte destas propriedades é de médios e pequenos produtores que lutam diariamente para se manter no negócio e manter um setor que é de extrema importância para a pecuária brasileira (SCHWAB, 2011).

O Estado de Mato Grosso do Sul possui posição geográfica privilegiada para acompanhar este crescimento, pois está próximo de grandes centros consumidores do país, além de contar com um rebanho efetivo de aproximadamente 478 mil cabeças, o 8º maior do Brasil (ANUALPEC, 2011).

A ovinocultura pode tomar impulso maior se apetite por esta carne aumentar. A procura pela carne ovina cresce no Brasil por volta de 25% ao ano, cada brasileiro consome em média 700 gramas desta carne por ano, porém, apesar dos avanços na genética e de criatórios modelos, falta produto para atender à demanda de consumo no país (EMBRAPA, 2010).

Nota-se um crescente interesse por esta iguaria na alta gastronomia, representada por butiques de carne e restaurantes sofisticados. Aliado a isso, e decorrente da baixa oferta, fruto da menor disponibilidade de produtos importados, os preços pagos ao produtor pela carne de qualidade, especificamente de cordeiro, tem alcançado índices atrativos (REIS, 2010). Uma

medida para se elevar o consumo e com isso a produção é popularizar a carne ovina, uma vez que não há o hábito que denote o uso ou a introdução de carne ou leite de ovinos na dieta da população; mesmo a utilização de seus subprodutos que é pouco divulgada (AZEVEDO & ANTONIALI, 2008).

Para alcançar o êxito desejado, esse processo de “incentivo” à ovinocultura deve ser acompanhado de uma nova concepção dentro dos processos de produção ao longo da cadeia produtiva, tanto dentro quanto fora da porteira (NETO et al., 2004). Alguns pontos de estrangulamento como a inconstância no fornecimento, escala e sistemas de produção, o baixo número de abatedouros e frigoríficos especializados, preço e importação, necessitam de maior atenção, pois impedem a estruturação deste segmento no agronegócio nacional (REIS, 2009).

O desenvolvimento da ovinocultura requer o envolvimento de um conjunto de atividades destinadas a estimular iniciativas e o espírito empreendedor dos produtores e empresários nas unidades produtivas, oferecendo condições para desenvolvimento e sobrevivência do agronegócio (ALVES, 2008).

Evoluindo de criações voltadas para subsistência, é evidente a necessidade de transformação no panorama produtivo da ovinocultura nacional. A produção deve ser fundamentada em sistemas de exploração que possam garantir melhores condições sanitárias para os animais, além de considerar que a viabilidade econômica está diretamente relacionada à eficiência zootécnica do rebanho (ADEAL, 2011).

2.2. Grupamento genético “Ovelhas Pantaneiras”

As Ovelhas Pantaneiras, como são chamadas, tratam-se de um novo grupamento genético adaptado às condições região do Pantanal sulmatogrossense (GOMES et al., 2007). Esses animais são o resultado de uma mistura de diversas raças que estão nas planícies alagadas desde a vinda dos primeiros exploradores que buscavam ouro há cerca de 300 anos (DA LUZ, 2009).

Baseado em um estudo exploratório iniciado em 2005, um grupo de pesquisadores do Centro Tecnológico de Ovinocultura (CTO) da Universidade Anhaguera-UNIDERP, Universidade Federal da Grande Dourados (UFDG), Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) e Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), estão realizando estudos com este grupo genético da região Pantanal para junção de dados que possam caracterizá-los como raça (JACINTO et al., 2011).

A princípio foram adquiridos 300 animais “pantaneiros” de criatórios do alto e baixo pantanal sulmatogrossense, os quais apresentavam características fenotípicas semelhantes entre si, mas distante dos padrões genotípicos das raças exóticas criadas no Brasil. Esses animais são encontrados em grande quantidade em fazendas isoladas na região, vivendo há anos sob qualquer tipo de seleção ou melhoramento genético, fato este que possibilita concluir que esses ovinos são adaptados à região essa região (VARGAS JUNIOR et al., 2011a).

Para compreender algumas características das Ovelhas Pantaneiras é preciso também entender o Pantanal, seu clima é classificado como tropical caracterizado por temperaturas elevadas. A região apresenta duas estações bem definidas: o verão chuvoso, de outubro a março, quando a temperatura fica em torno de 32 °C e o inverno seco, de abril a setembro, quando a média de temperatura é de 21 °C (MORAES, 2011). Para suportar este ambiente os animais foram modificando seus corpos ao longo de gerações. Uma característica visível é o fato de terem pernas longas, o que facilita caminharem em terrenos inundados sem carregar o peso extra da água na lã (DA LUZ, 2009).

A lã destes ovinos serve-lhes como protetor contra o sol, o frio e a água das chuvas, mantendo-as sempre em homeostasia com o ambiente. Observa-se pouca ou nenhuma lã nas pernas, barriga e pescoço, locais que permanecem mais tempo molhadas quando há necessidade de se locomoverem em locais repletos de água e em vegetação com muitos carrapichos e que fatalmente se enroscariam nas partes baixas quando transitassem por locais muito sujos (Figura 1) (BARBOSA-FERREIRA, 2011).



Figura 1. Exemplos de Ovinos Pantaneiros (Fonte: Fernando Alvarenga Reis)

Em relação à potencialidade desses animais para a produção de lã, tem-se que apesar da mesma não apresentar a qualidade exigida pelo mercado para a comercialização, sua lã é muito utilizada em trabalhos artesanais e na fabricação de materiais utilizados na pecuária de corte, como baixeiros (BRAUNER, 2010).

Uma questão que merece atenção na produção de ovinos é a verminose, pois se trata do principal problema sanitário da ovinocultura (BASSETTO et al., 2009), podendo levar o animal rapidamente à morte ou, sob a forma crônica, causar efeitos como menor desenvolvimento corporal, perda de peso, redução na produção e na qualidade de lã, má eficiência reprodutiva, reduzida resistência a enfermidades e elevado índice de mortalidade, principalmente entre os animais jovens (SCZESNY-MORAES et al., 2010). As ovelhas Nativas sulmatogrossense apresentam a capacidade de tolerar infecção por helmintos sem que esta interfira em seu peso vivo e condição corporal (PINTO et al., 2008a).

Vargas Junior et al. (2010) avaliaram a biometria corporal *in vivo* de cordeiros “pantaneiros” e consideram que mesmo sem nunca terem sofrido nenhum tipo de melhoramento genético para as características zoométricas avaliadas (peso vivo, comprimento corporal, perímetro torácico, largura de garupa, altura de posterior e compacidade corporal), esses ovinos apresentam medidas muito próximas às principais raças criadas no Brasil, demonstrando um grande potencial como uma futura raça de corte.

Algumas características produtivas em relação à produção de carne desses animais são apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Ganho de peso de cordeiros do grupo genético Ovelhas Pantaneiras

Características	Valor
Peso ao nascimento (Kg)	3,7±0,82
Peso aos 50 dias (Kg)	11,55 ± 2,73
Peso aos 90 dias (Kg)	17± 3,81
Ganho médio diário do nascimento ao desmame (Kg/dia)	0,147 ± 0,023
Peso ao abate (Kg)	28-34
Idade ao abate (Dias)	110-150

Adaptado de Vargas Junior, 2006

Pinto et al. (2008b) verificaram que a linhagem Ovelhas Pantaneiras possuem bom potencial para produção de carne, com características de carcaça elevadas, apresentando valores de rendimento de carcaça semelhantes às raças tradicionalmente de corte. O

cruzamento destes animais com animais das raças Texel e Santa Inês resultou em animais com boas características de carcaça, o que sugere maiores estudos com estes grupos raciais.

Observou-se ainda que a qualidade da carcaça de animais resultantes do cruzamento com reprodutores da raça Santa Inês atende às exigências do mercado e a pele é de boa qualidade para a indústria coureira. Já do cruzamento das ovelhas pantaneiras com reprodutores Texel, resultou em animais com uma carne levemente gordurosa e uma pele de excelente qualidade para trabalhos artesanais, principalmente destinados às montarias (MACIEL, 2009).

Em relação à pele dos ovinos pantaneiros, Jacinto et al. (2011) constataram que o grupo genético tem influência sobre sua qualidade e que amostras de couro de animais provenientes de cruzamentos de raça Santa Inês × Ovelhas Pantaneiras têm tido melhor qualidade intrínseca quando comparados a Ovelhas Pantaneiras puras e cruzas de Texel × grupamento Ovelhas Pantaneiras.

No aspecto reprodutivo, animais deste grupamento genético apresentam características que merecem destaque. Estudos mostraram que o ovino pantaneiro é fértil em qualquer época do ano, sendo essa a grande vantagem dessas ovelhas rústicas em relação às que habitam regiões frias, que só entram em cio numa determinada época para que os filhotes nasçam durante a primavera (FONSECA, 2010).

As fêmeas nativas possuem fertilidade favorável durante a época de diversidade de foto período, não deixando de se reproduzir, favorecendo assim a produção de ovinos durante o ano todo. Os reprodutores jovens e adultos apresentam desempenho reprodutivo semelhante e constante, salienta-se a supressão no período de maior luminosidade e também o fato de não se observar variações sazonais na rotina da libido dos machos durante o ano (HUGO, 2011).

A pecuária de corte representa a principal atividade econômica do Pantanal, mostrando grande capacidade de adaptação às características especiais da região. Durante três séculos de competição entre animais das raças naturalizadas no Pantanal, indivíduos foram eliminados, não acidentalmente, mas diferencialmente, advindo que desta eliminação houve alterações nas frequências gênicas das raças (ABREU et al., 1998). Os ovinos locais se destacam pela rusticidade e a capacidade adaptativa adquiridas nas regiões de clima tropical e subtropical. Tais características possibilitaram a sobrevivência dos animais nesses locais, justificando assim, a conservação para a sua utilização futura (SILVA, 2010).

Dessa forma, destruir todo esse trabalho da natureza pelo cruzamento indiscriminado com animais de raças exóticas é, antes de qualquer coisa, retroceder no tempo e uma perda irreparável do nosso mais notável patrimônio genético (SALLES et al., 2004).

2.3. Proteína *príon*: estrutura e função

A *príon* é uma glicoproteína celular formada por uma grande parte não-estruturada e flexível chamada N-terminal e por um C-terminal, um domínio globular mais rígido com as regiões de estrutura secundária (três α -hélices e uma curta estrutura anti-paralela β -folheadas), estabilizadas por uma ponte de dissulfeto que liga as hélices (Figura 2) (ACUTIS et al., 2007). Esta proteína encontra-se ligada à membrana celular por meio de uma âncora de glicosil fosfatidil inositol (GPI), sendo composta por uma sequência de aproximadamente 254 aminoácidos, possui 22 resíduos de sua porção N-terminal clivada logo após sua produção, sendo que os 24 resíduos finais da porção C-terminal são clivados quando esta se liga à âncora de GPI. A porção N-terminal possui segmento entre os aminoácidos 51 e 91 na qual uma sequência de oito aminoácidos se repete cinco vezes (CHOI et al., 2006).

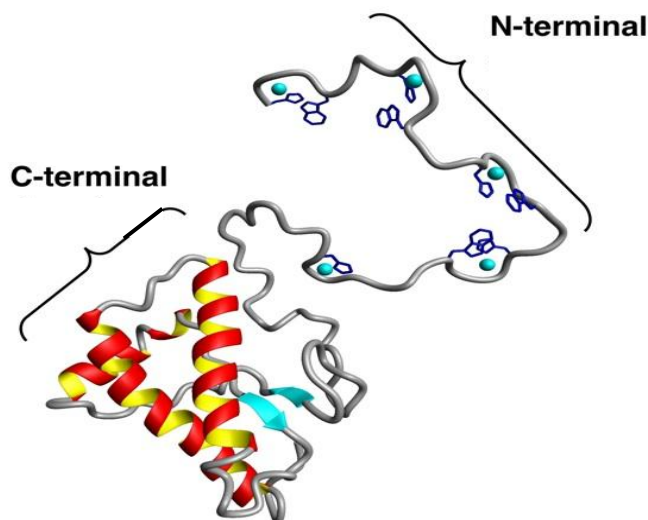


Figura 2. Estrutura tridimensional da proteína príon (BURNS et al., 2003)

A *príon* é codificada por um único gene e é altamente conservada nos vertebrados, amplamente expressa e se acumula no SNC e sistema linforreticular. Pode ser produzida por várias vias, sendo encontrada no líquido extracelular, no exterior da superfície de membrana plasmática e complexo de Golgi (THORGEIRSDOTTIR et al., 1999; GABUS et al., 2001).

Esta proteína pode ser encontrada sob duas formas, uma patogênica (PrP^{SC}) e outra não (PrP^{C}). Prusiner (1982) foi quem a propôs como agente etiológico para as EET's

denominando-a de “príon” (do inglês: *proteinaceous infectious particles*), uma partícula proteínica infecciosa com características especiais. A PrP^{SC} é extremamente resistente a agentes que facilmente inativariam vírus ou bactérias como formol, o calor (se mantendo estável a 90 °C por 30 minutos), à radiação ultravioleta e também à digestão com nucleases (CALLADO & TEIXEIRA, 1998).

Suas estruturas diferem entre si, a PrP^{C} é predominantemente α -hélice e a forma PrP^{SC} em estrutura β -folheada (Figura 3) (VICARIVENTO et al., 2008), sendo que a PrP^{C} apresenta 38% de sua conformação de α -hélice e 14% de conformação β -folheada e 27% de giros e 22% em espiral ao acaso, enquanto PrP^{SC} apresenta 19% da conformação de α -hélice e 38% de conformação β -folheada e os 43% restantes tornam-se espirais aleatórias (SAFAR, 1996).

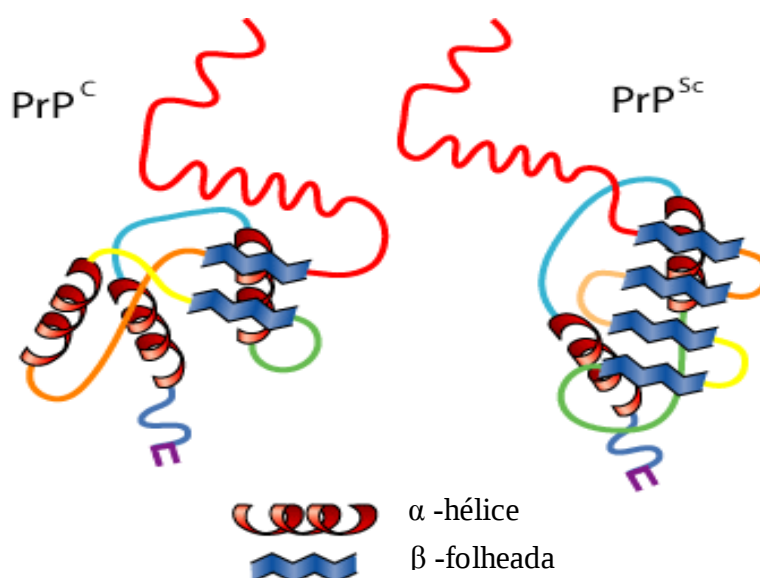


Figura 3. Proteína príon. A esquerda PrP^{C} e a direita sua isoforma infecciosa a PrP^{SC} (<http://www.scq.ubc.ca/prions-infectious-proteins-responsible-for-mad-cow-disease>)

Existem outras diferenças entre as formas da *príon* como o peso molecular, a PrP^{C} possui peso de 33-35 kD, já sua forma patogênica ao sofrer proteólise parcial produz uma proteína de peso molecular de 27-30 kD sem a perda da infectividade (HERBST et al., 2009; PRUSINER, 1991), além do tempo de vida, na qual a PrP^{C} tem duração de seis horas e a PrP^{SC} pode sobreviver anos (BOSSERS, 1999).

O evento chave para as EET's é a conversão da proteína celular normal em uma isoforma anormal e infectante que se acumula nos tecidos de indivíduos infectados (LACROUX et al., 2008). Como isso acontece trata-se de um enigma, a hipótese mais comum é que a PrP^{SC} atue como molde e catalisador para esta mudança. Alguns modelos de mecanismos foram sugeridos para explicar como isso ocorre, sendo a semente de

polimerização o amplamente aceito, no qual a PrP^{SC} atua como semente para a polimerização da PrP^{C} (PANZA et al., 2010).

Embora a PrP^{C} seja fundamental para o desenvolvimento das doenças causadas por *príon* por meio de sua conversão em PrP^{SC} , o papel fisiológico da PrP^{C} não é muito claro, e, portanto, é incerto se as doenças priônicas são em parte devido a perda de uma função normal neuroprotetora da PrP^{C} . Em cérebros de animais em fase terminal da doença, há uma diminuição acentuada da proteína normal, o que evidencia a hipótese de que a perda da função da PrP^{C} pode desempenhar um papel na patogênese dessas doenças (WATT et al., 2005).

De acordo com Brown et al. (2001) proteínas *príon* recombinantes e peptídeos relacionados com sua sequência indicaram que sua função está relacionada com a metabolização do cobre. Estudos constataram a capacidade da PrP^{C} em se ligar a íons de cobre divalentes (Cu^{2+}) *in vivo* e *in vitro* o que sugere que seu papel está relacionado à homeostase do cobre. Também foi proposto que a PrP^{C} funciona como um superóxido dismutase (SOD), protegendo regiões sinápticas do estresse oxidativo, o que não ocorre quando a proteína *príon* está em sua forma anormal (Figura 4) (BURNS et al., 2003). Outra área de atuação é na sinapse nervosa, inibindo o receptor N-metil-D-aspartato (NMDA) na membrana celular dos neurônios, impedindo assim a entrada exagerada de cálcio na célula que pode causar hiper-excitabilidade (STEELE, 2008).

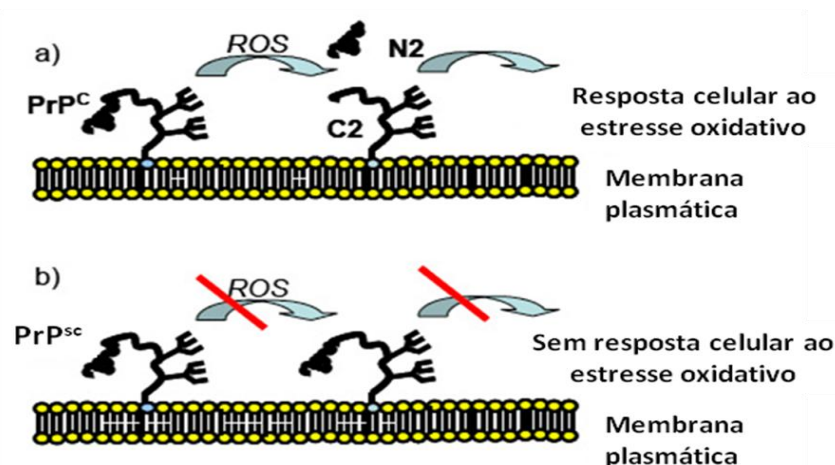


Figura 4. Papel da PrP^{C} na resposta celular ao estresse oxidativo. (A) Mediante a exposição a células de espécies reativas de oxigênio (ROS) na superfície da célula, a PrP^{C} é clivada gerando dois fragmentos N2 e C2. (B) A forma de PrP^{SC} é incapaz de se fragmentar para formar N2 e C2, com isso a resposta celular ao estresse oxidativo permanece comprometida (http://www.fbs.leeds.ac.uk/staff/Hooper_N/prion.htm)

Esta proteína é codificada pelo próprio hospedeiro, o qual o gene foi identificado em diversos mamíferos (RIBEIRO et al., 2007). A análise da sequência de aminoácidos da PrP^C mostrou alta identidade entre os mamíferos, assim como dentre espécies de aves, (ACUTIS, et al., 2007).

2.4. As encefalopatias espongiformes transmissíveis

As EETs, também conhecidas como doenças priônicas, fazem parte de um grupo de doenças neurodegenerativas e fatais que acometem humanos e animais (HUANG et al., 2011). Este grupo inclui a *scrapie* em ovinos, a doença do emagrecimento crônico dos cervídeos, encefalopatia espongiforme bovina em bovinos, bem como kuru, síndrome de Gerstmann–Straüssler–Sheinker e as formas esporádicas, familiares, iatrogênica de Creutzfeldt-Jacob em humanos. Até o momento dezesseis doenças causadas por *príon* foram relatadas, sendo nove em humanos e sete em animais (BENESTAD et al., 2008; IMRAN & MAHMOOD, 2011). A etiologia, hospedeiro e ano de descrição das EETs em mamíferos constam na Tabela 2.

O caminho mais rápido de infecção das EETs é a via de entrada direta para o sistema nervoso central por inoculação intracerebral. No entanto, modelos de *príon* incluem diferentes vias de exposição fora do SNC, onde o início da doença é geralmente mais lento. A infecção periférica é muitas vezes acelerada pela amplificação local do agente em células dentríticas foliculares (FDC), de órgãos linfóides, seguido por difusão por meio dos nervos locais para o SNC. O mecanismo pelo qual a PrP^{SC} é transportada ao longo dos nervos periféricos ao SNC não é bem compreendido, e alguns estudos sugerem que o transporte axonal convencional não é o principal mecanismo (KLINGEBORN et al., 2011).

Tabela 2. Etiologia das Encefalopatias espongiformes transmissíveis

Doenças causadas em animais			
Doença	Hospedeiro	Etiologia	Ano de Descrição
Scrapie	Ovinos e Caprinos	Origem desconhecida	1732
ETM	Marta	Infecção por <i>prions</i> de ovinos ou bovinos	1947
DEC	Cervídeos	Origem desconhecida	1967
EEB	Bovinos	Origem desconhecida	1986
EUG	Cudu, Nyala, Oryx	Infecção por <i>prions</i> de EEB	1986
EEF	Gatos	Infecção por <i>prions</i> de EEB	1990
NHP	lémure	Infecção por <i>prions</i> de EEB	1996
Doenças causadas em Humanos			
Doença	Hospedeiro	Etiologia	Ano de Descrição
Kuru	Humanos	Rituais de canibalismo	1900s
eDCJ	Humanos	Esporádica PRP ^c → PrP ^{sc} Conversão ou mutação somática	1920
fDCJ	Humanos	Mutação no gene <i>prnp</i>	1924
GSS	Humanos	Mutação no gene <i>prnp</i>	1936
iDCJ	Humanos	Infecção por <i>prions</i> de origem humana (enxertos de cadáver, córneas, dura mater, HGH e etc.)	1734
IFF	Humanos	Gene <i>prnp</i> nos haplótipos 178N-129M	1986
vDCJ	Humanos	Infecção por <i>prions</i> de EEB	1996
IEF	Humanos	Esporádica PRP ^c → PrP ^{sc} Conversão ou mutação somática	1999
VPSPr	Humanos	Esporádica PRP ^c → PrP ^{sc} Conversão ou mutação somática	2008

ETM (Encefalopatia Transmissível da Marta), **DEC** (Doença do Emagrecimento Crônico), **EEB** (Encefalopatia Espongiforme Bovina), **EUG** (Encefalopatia dos Ungulados Exóticos), **EEF** (Encefalopatia Espongiforme Felina), **NHP** (EET em primatas não-humanos), **eDCJ** (Doença de Creutzfeldt-Jakob esporádica), **fDCJ** (Doença de Creutzfeldt-Jakob familiar), **GSS** (Síndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker), **iDCJ** (Doença de Creutzfeldt-Jakob iatrogênica), **IFF** (Insonia Familiar Fatal), **vDCJ** (Doença de Creutzfeldt-Jakob variante), **IEF** (Insonia Esporádica Fatal), **VPSPr** (Variável Protease-Sensível Prionopathy)

A transmissão das EETs dentro de uma mesma espécie ocorre facilmente, porém a transmissão interespecíes normalmente é um processo ineficiente caracterizado por longos períodos de incubação e baixa infecção (KLINGEBORN et al., 2011). Evidências sugerem que a barreira entre as espécies é o resultado da incompatibilidade entre a conformação da *príon* anfitriã e a infectante, em parte devido às diferenças na sequência de aminoácidos. No entanto, neste longo período de incubação, a PrP^{SC} sofre alterações de conformação se adaptando ao seu novo hospedeiro (GHAEMMAGHAMI et al., 2011).

A DCJ causa mudanças espongiiformes no cérebro e possui quatro formas clínicas: esporádica, genética, iatrogênica e variante, sendo que os casos esporádicos e genéticos parecem ocorrer em pessoas de todos os países e grupos étnicos, além disso, há registros de 400 casos dessa enfermidade obtida pela forma iatrogênica em 20 países (KIM et al., 2011). O polimorfismo no códon 129 no gene *prnp* humano é associado à suscetibilidade iatrogênica e esporádica da DCJ, quando o alelo com a mutação no códon D178N codifica uma valina na posição 129, os pacientes desenvolvem esta doença (BELT et al., 1995).

A EEB (conhecida como mal da vaca louca) foi diagnosticada pela primeira vez em 1986 no Reino Unido e sua origem é um enigma. As hipóteses incluem: a) adição de derivados de tecidos de ovinos ou caprinos infectados com *scrapie* a dieta de bovinos, b) um caso esporádico de EET não detectado ou origem genética, c) início a partir de uma EET humana, por intermédio de alimentação animal com restos humanos contaminados (RICHT et al., 2008). A encefalopatia espongiiforme bovina é tida como a causa mais provável da vDCJ, e pode ser transmitida a outros animais por meio de rações comerciais contendo farinhas de carne e ossos contaminadas, além da inclusão de tecidos de bovinos infectados a dieta de uma série de felinos domésticos e também animais de zoológicos (MOORE et al., 2011).

2.4.1. Diagnósticos das EETs

O primeiro método utilizado para confirmar o diagnóstico de uma EET foi os exames neuropatológicos de tecidos de cérebro de animais ou humanos (WHO, 1998). Neste método o tecido é coletado, preservado em formalina, seccionado, corado e então examinado em microscópio de luz, no qual são observadas as anormalidades patológicas no exame histológico. Este procedimento é geralmente complementado com revelação imuno-histoquímica 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*) (KOO et al., 2001; MERZ et al., 1983).

O diagnóstico positivo de EEB, *scrapie* ou doença do emagrecimento crônico pode ser baseado em alterações histopatológicas somente quando as alterações características vacuolares no cérebro, como as distribuições neuroanatômicas típicas, são reconhecidas. Outras características histológicas das EETs como a presença de astrogliose e perda neuronal servem como apoio ao resultado positivo, mas na ausência de vacuolização não pode ser tida como diagnóstico (GAVIER-WIDÉN et al., 2005).

A técnica original utilizada para diagnóstico de EEB é a de *Western immunoblotting* e se baseia na extração em detergente de material cerebral fresco (aproximadamente 4g), seguida por ultra centrifugação para se concentrar a PrP. Após a extração em detergente, segue-se o tratamento com proteinase K, enzima que digere totalmente qualquer proteína (incluindo PrP^C). Portanto, resta somente PrP^{SC} que é parcialmente resistente a esta protease, para se vincular a um anticorpo específico, que fornece um sistema de detecção para amostras positivas de cérebro (OIE, 2009).

Atualmente os testes realizados ainda são *post-mortem* e usa tanto a imuno-histoquímica (IHQ), como o ensaio de imunoadsorção enzimática (ELISA) para detectar a proteína *príon* infecciosa em cérebro ou tecidos linfoides. O teste “padrão ouro” é a IHQ, mas possui desvantagens como a necessidade de análise *post-mortem*. Embora os testes baseados em anticorpos sejam precisos e exatos, um teste de diagnóstico *ante-mortem* usando fluído corporal seria de grande utilidade (HERBST et al., 2009).

Em todos os testes para diagnóstico de EETs a PrP^{SC} é utilizada como um marcador. Em resumo, os testes de rotinas são baseados principalmente na triagem rápida por imunodeteção de PrP^{SC} e em imunoenaios utilizando, ELISA ou *Western Blot* (WB), seguido de confirmação por meio de exames histopatológicos e comprovação da presença de PrP^{SC} usando a IHQ e WB (HUANG et al., 2011).

No Brasil, desde 1976, o diagnóstico da EEB e da *scrapie* passou a ser realizado conjuntamente ao sistema de vigilância sanitária da raiva animal, fazendo parte do Plano Nacional de Combate da Raiva dos Herbívoros (PNCRH), coordenado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (BRASIL, 2009). Desta forma, bovinos, ovinos e caprinos com sintomatologia nervosa de caráter progressivo deverão ser submetidos ao diagnóstico diferencial para raiva, outras encefalites, EEB e *scrapie*. Estas normas visam

incrementar medidas de vigilância epidemiológica específicas para manter e preservar a condição de país livre da EEB (DEL FAVA, 2011).

2.5. Scrapie

A *scrapie* é uma neuropatologia degenerativa que acomete ovinos e caprinos e está inserida no grupo das EETs, doenças fatais causadas pela acúmulo da proteína infecciosa *príon* (PrP^{Sc}) (SANDER et al., 2004; YOKOYAMA et al., 2010). Seu primeiro relato é datado em 1738 na Inglaterra (DE BLESER & PLUN, 1998).

2.5.1. Sinais Clínicos

O termo *scrapie* vem da palavra inglesa *scrape*, que significa roçar ou de tirar algo raspando. Essa enfermidade caracteriza-se pelo surgimento de prurido constante que leva o animal infectado a esfregar-se em cercas de contenção ou árvores, sendo reconhecida como uma doença dermatológica e neurológica de evolução fatal (LUPI, 2003).

O período de incubação desta doença pode variar de 1,5 a 3 anos e uma vez que os primeiros sintomas se manifestam o animal é rapidamente levado a morte (BABAR et al., 2009). Os primeiros sinais da *scrapie* incluem mudanças sutis de comportamento e temperamento. Outros sinais são a perda de coordenação, anormalidades na marcha, perda de peso, apesar de um bom apetite e o fato dos animais morderem os membros e estalarem os lábios (THOMAS et al., 2011).

O fluxo mais típico desta moléstia é a evolução desses sintomas, para progressiva ataxia, paralisia motora, tremores, fasciculação e, finalmente, morte do animal (VICARIVENTO et al., 2008). Entretanto os indivíduos infectados podem ser abatidos ou morrerem decorrentes a outras causas antes do início dos sinais clínicos (CORBIÈRE et al., 2007).

2.5.2. Epidemiologia de *scrapie*

A ocorrência dessa enfermidade é relatada na Europa desde o século XVIII, e vem sendo notificada em diversos países (Figura 5). De acordo com o Código Sanitário de Animais Terrestres da Organização Mundial de Saúde Animal (OIE), o país pode auto declarar-se livre de *scrapie*, mas, para isso, deve seguir requisitos específicos de vigilância, controle da alimentação de ruminantes e identificação de ovinos e caprinos, dentre outros itens. A Austrália e a Nova Zelândia são países notoriamente reconhecidos como livres da *scrapie*, e vários outros países também se consideram livres, baseando-se na ausência de

registro da doença, apesar de não comprovarem os requisitos da OIE para tal (BRASIL, 2011b).

Estudos epidemiológicos revelaram que a ocorrência da doença não tem ligação com sexo ou idade dos animais e sim com a ingestão de proteína animal contaminada com outras proteínas mutadas, que não foram submetidas a nenhum tratamento específico para desnaturá-la. Mundialmente, o Reino Unido é o único país com grande incidência da enfermidade, com ênfase ao sul da Inglaterra. Além disso, outros países fora da Europa tiveram casos detectados, como as Ilhas Malvinas, Oman e Canadá (WILESMITH et al., 1988).

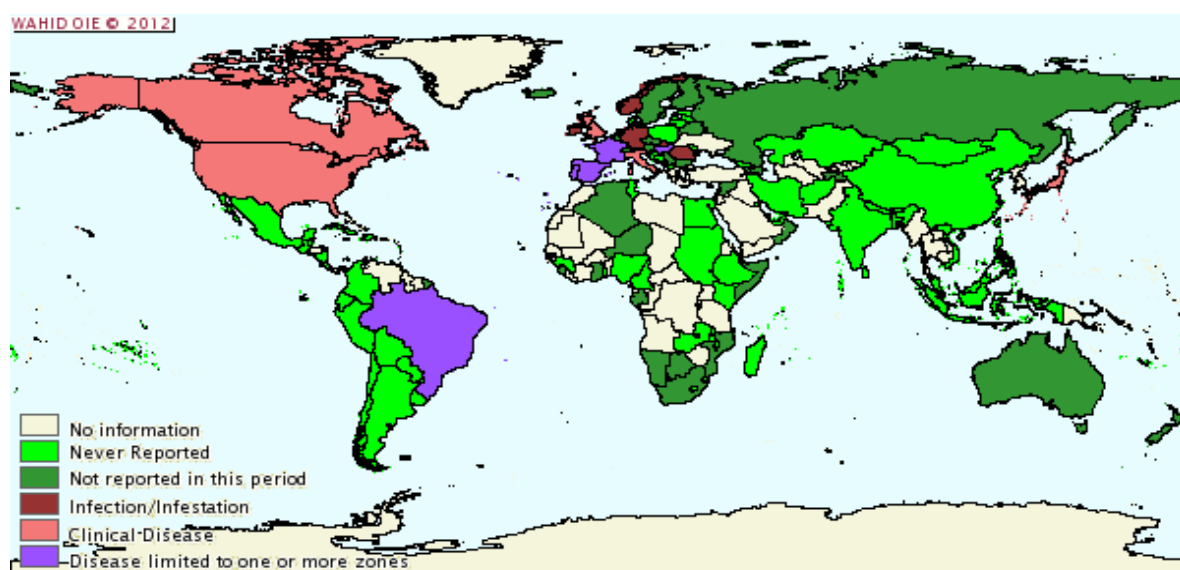


Figura 5. Situação mundial quanto à notificação de *scrapie* à OIE (OIE, 2012)

No Brasil, o primeiro registro desta doença remonta a 1978, quando o país adquiriu ovinos Hampshire Down importados da Inglaterra. Outros casos foram identificados nos anos de 2000, 2001, 2003 e 2005, sendo as notificações de 2005 limitadas ao estado do Paraná (SOTOMAIOR et al., 2008). Em 2006 o Mato Grosso do Sul registrou, pela primeira vez, um caso de *scrapie* numa ovelha de três anos de idade, a fêmea infectada foi transportada de São Paulo ao Estado e pertencia a um lote de 300 animais importados do Canadá por empresários do Paraná (SEAGRI, 2006).

Mesmo não sendo considerada zoonose, a situação sanitária de um país para *scrapie* interfere sobremaneira no comércio internacional de ovinos e caprinos, seus produtos e subprodutos. No Brasil a paraplexia enzoótica dos ovinos é de notificação obrigatória e sua suspeita ou ocorrência deve ser imediatamente informada à autoridade de defesa sanitária animal e de quaisquer das instâncias (Central e Superior, Intermediárias e Locais) do Sistema Unificado de Atenção a Sanidade Agropecuária (BRASIL, 2009).

2.5.3. Identificação genética da *scrapie*

2.5.3.1. Gene *prnp*

O gene *prnp* é membro da família *Prn* e é conhecido em várias espécies; seu quadro de leitura aberta (ORF) é codificado dentro de um único exon (COLBY & PRUSINER, 2011). O gene é organizado em três exons com 52, 98 e 4028 nucleotídeos respectivamente, separados por dois introns, 2.421 e 14.031 nucleotídeos respectivamente. A sequência de codificação está localizada no exon 3. O número de polimorfismos de nucleotídeo único na ORF deste gene é associado com as diferentes expressões fenotípicas da doença, como período de incubação, patologia e sinais clínicos, porém até o momento os mecanismos exatos pelos quais as diferentes variantes alélicas do gene contribuem para a suscetibilidade à *scrapie* não são completamente compreendidos (PACHECO et al., 2007).

Este gene está presente no cromossomo 13 de ovinos e caprinos. Em ovinos a sequência genômica disponível em todo o *locus* do gene *prnp* é de 32 kb (GOLDMANN, 2008). Até o momento, dos 256 códons que compõem o gene *prnp*, 39 foram considerados polimórficos (MESQUITA et al., 2009).

A suscetibilidade ou resistência à *scrapie* em ovinos é controlada principalmente pelo gene *prnp*, que codifica a proteína *príon* (CLOUSCARD et al. 1995; TAMGÜNEY et al., 2008), no entanto, a suscetibilidade a esta enfermidade é avaliada pela taxa de mortalidade e pelo período de incubação (DÍAZ et al. 2005) e pode variar entre os rebanhos e raças de ovinos (CHASE-TOPPING et al., 2005; MOUM et al., 2005).

2.5.3.2. Principais polimorfismos relacionados à *scrapie*

O genótipo do hospedeiro tem importante papel na patogenia da *príon*, porém de acordo com Billinis (2004) o mecanismo pelo qual os alelos variantes levam às alterações na vulnerabilidade ou períodos de incubação não foi até o momento elucidado.

Segundo Debbie et al. (1997) a seleção da mutação ou polimorfismo envolve: (i) constatação de qualquer sequência de alterações em um fragmento de DNA específico, como poderia ocorrer quando há seleção em populações afetadas para descobrir mutações que causam doenças, (ii) a detecção de uma mutação específica em uma grande população, como seria necessário para o diagnóstico ou genotipagem.

Desde os primeiros relatos da *scrapie* em ovinos, observou-se que a linha da família tinha forte influência sobre sua ocorrência e a medida posta em prática para o controle da

doença era fortemente focada sobre esse fato. Pensou-se que esta seria uma enfermidade estritamente genética devido ao forte vínculo familiar, no entanto atualmente sabe-se que os genótipos suscetíveis e uma infecção são necessários para que a doença se desenvolva (HUNTER et al., 2007).

Em ovinos as principais mutações associadas à suscetibilidade ou resistência à *scrapie* são as encontradas nos códons 136 (Alanina/Valina), 154 (Histidina/Arginina) e 171 (Glutamina/Arginina/Histidina) (Figura 6) (LACROUX et al., 2007; MESQUITA et al., 2009).

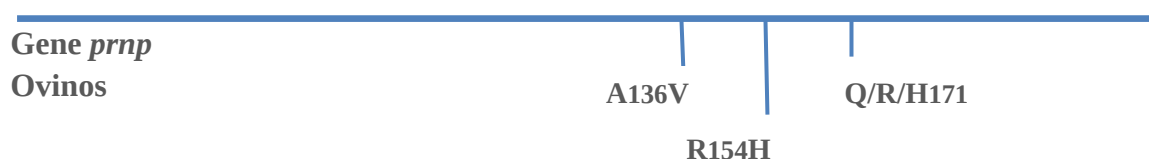


Figura 6. Representação esquemática dos polimorfismos nos códons 136, 154 e 171 do gene *prnp* ovino
Adaptado de Colby & Prusiner (2011)

No códon 154, a arginina (R) está ligada à suscetibilidade, enquanto histidina (H) está ligada à resistência; no códon 171, a glutamina (Q) e histidina (H) estão ligadas à suscetibilidade, enquanto arginina (R) está relacionada à resistência; no códon 136 a valina (V) esta ligada a suscetibilidade enquanto a alanina (A) esta relacionada à resistência. Apesar destes polimorfismos gerarem 15 combinações possíveis, apenas cinco aparecem com maior frequência sendo elas ARR, ARQ, VRQ, ARH e AHQ (ARSAC et al., 2007; BAYLIS et al., 2004).

Tem-se ARQ como o alelo ancestral nestes códons, onde A indica o aminoácido alanina, R a arginina e Q uma glutamina, nos códon 136, 154 e 171, respectivamente (MAESTRALE et al., 2009). Ovinos com o genótipo VRQ/VRQ apresentam em média um risco três vezes maior de desenvolver a doença quando comparados a animais com genótipos ARQ/ARQ e ARQ/VRQ (DÍAZ et al., 2005). Normalmente o alelo VRQ é raro ou ausente, mas está associado à maior suscetibilidade à *scrapie* (MESQUITA et al, 2009). Em relação ao genótipo ARQ/ARQ, apesar de seu grau de risco ser tido como moderado, surtos em alguns países levam a crer que o mesmo pode ter risco semelhante aos portadores de VRQ (GOLDMANN, 2008).

O aumento da frequência genotípica ARR/ARR em ovinos reprodutores é considerado uma ferramenta eficaz para erradicação da *scrapie* por meio de programas de seleção, mas a eficiência depende de alguns fatores como tamanho da população e frequência do alelo ARR

(GUAN et al., 2011). Baseados nisso muitos países implementaram planos de melhoramento visando o aumento da frequência ARR em seus rebanhos. Estes planos apóiam-se em genotipagem de rotina do gene *prnp*, para identificação de homozigotos ARR (PONGOLINI et al., 2009).

O regulamento imposto pela União Européia rege que os países membros devem realizar seleção de animais para o alelo A₁₃₆R₁₅₄R₁₇₁ (ARR), considerado o mais resistente à *scrapie* e eliminar outros genótipos tidos como mais suscetíveis principalmente VRQ (LÜHKEN et al., 2007).

A distribuição dos genótipos e sua classificação quanto ao risco a esta enfermidade, de acordo com o sistema de classificação do Plano Nacional *Scrapie* (NSP) da Grã-Bretanha (DEFRA 2001) (Tabela 3).

Tabela 3. Classificação dos 15 genótipos e seus respectivos grupos de risco.

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
AHQ/ARH		em ARQ/ARQ
AHQ/ARQ		
ARH/ARH		
ARH/ARQ		
ARQ/ARQ		
ARR/VRQ	R4	Moderado
VRQ/AHQ	R5	Alto, especialmente
VRQ/ARH		em VRQ/ARQ e VRQ/VRQ
VRQ/ARQ		
VRQ/VRQ		

Com base nessas informações, a Comissão da União Européia em 2001, fundamentou o Plano Nacional de Erradicação da *scrapie* (PNS) com o objetivo de reduzir a frequências

dos alelos associados à suscetibilidade em rebanhos ovinos. A partir da elaboração do PNS, o conhecimento das frequências de alelos que conferem resistência/suscetibilidade das diversas raças de ovinos, se tornou a principal ferramenta no processo de seleção de animais geneticamente resistentes à *scrapie* (DAWSON et al., 2008).

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, U.G.P.; MARIANTE, A.S.; SANTOS, S.A. Conservação genética de raças naturalizadas do Pantanal. **Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento**, ano 1, n.5 p.18-21, 1998.

ACUTIS, P.L.; PELETTI, S.; GREGO E. et al. Comparative analysis of the prion protein (PrP) gene in cetacean species. **Gene**, v.392, p. 230–238, 2007.

ALVES, R.C. [2008]. **Sistema de criação de ovinos nos ambientes Ecológicos do Sul do Rio Grande do Sul**. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Ovinos/CriacaoOvinosAmbienteSEcológicosSulRioGrandeSul/preparomercado.htm>> Acesso em 22 nov. 2011.

ARSAC, J.N.; ANDREOLETTI, O.; BILHEUDE, J.M. et al. Similar Biochemical Signatures and Prion Protein Genotypes in Atypical Scrapie and Nor98 Cases, France and Norway. **Emerging Infectious Diseases**, v.13, p.58-65, 2007.

AZEVEDO, F.M.V.M.C., ANTONIALLI, L.M. produção e comercialização de carne de ovinos na região metropolitana de Belo Horizonte-mg. In: XLVI CONGRESSO SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA, ADMINISTRAÇÃO E SOCIOLOGIA RURAL, 46., 2008, Rio Branco. **Anais...** Rio Branco: Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural, 2008.

BABAR, M.E.; FARID, A.; BENKEL, B.F. et al. Frequencies of PrP genotypes and their implication for breeding against scrapie susceptibility in nine Pakistani sheep breeds. **Molecular Biology Reports**, v.36, p.561-565, 2009.

BARBOSA-FERREIRA, M. [2011]. **Resumo histórico do ovino pantaneiro**. Disponível em: <<http://www.ruralcentro.com.br/analises/2214/resumo-historico-do-ovino-pantaneiro>> Acesso em: 8 nov. 2011

BAYLIS, M.; CHIHOTA, C.; STEVENSON, E. et al. Risk of scrapie in British sheep of different prion protein genotype 2004. **Journal of General Virology**, v.85, p.2735-2740, 2004.

BASSETTO, C.C.; SILVA, B.F.; FERNANDES, S. et al. Contaminação da pastagem com larvas infectantes de nematoides gastrintestinais após o pastejo de ovelhas resistentes ou susceptíveis à verminose. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.18, p.63-68, 2009.

BENESTAD, S.L.; ARSAC, J.N.; GOLDMANN, W. et al. Atypical/Nor98 scrapie: properties of the agent, genetics, and epidemiology. **Veterinary Research**, v.39, 2008. doi: 10.1051/vetres:2007056

BELLUZO, C.E.C.; KANETO, C.N.; FERREIRA, G.M. **Curso de atualização a ovinocultura**. Introdução a ovinocultura. Universidade Estadual de São Paulo Júlio de Mesquita Filho: 110 p. 2001.

BELT, P.B.G.M.; MUILEMAN, I.H.; SCHUREUDER, B.E.C. et al. Identification of five allelic variants of the sheep PrP gene and their association with natural scrapie. **Journal of General Virology**, v.76, p.509-517, 1995.

BILLINIS, C.; PSYCHAS, V.; LEONTIDES, L. et al. Prion protein gene polymorphisms in healthy and scrapie-affected sheep in Greece. **Journal of General Virology**, v.85, p.547–554, 2004.

BOSSERS, A. Prion diseases: Susceptibility and transmissibility. *In vivo* and *in vitro* studies with sheep *scrapie*, **Thesis** (Doctorship), 1999.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento [2011a]. **Situação atual do Brasil frente à Scrapie**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Aniamal/programa%20nacional%20dos%20herbivoros/situacao%20atual%20do%20brasil%20scraipe.pdf> Acesso em: 29 nov. 2011.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento [2011b]. **O que é Scrapie**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Aniamal/programa%20nacional%20dos%20herbivoros/SCRAPIE.pdf> Acesso em: 6 dez. 2011.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento [2009]. **Manual de Legislação: programas nacionais de saúde animal do Brasil**. Manual técnico. Brasília: MAPA/SDA/SDA, 2009. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Aniamal/Manual%20de%20Legisla%C3%A7%C3%A3o%20-%20Sa%C3%BAde%20Animal%20-%20low.pdf>. Acesso em: 8 set. 2011.

BRAUNER, R. A.; **Potencialidades da lã de ovinos nativos pantaneiro**. Universidade Anhanguera-Uniderp. Dissertação de Mestrado. Campo Grande – MS, 2010.

BROWN, D.R.; CLIVE, C.; HASWELL, S.J. Antioxidant activity related to copper binding of native prion protein. **Journal Neurochemistry**, v.76, p.69-76, 2001.

BURNS, C.S.; ARONOFF-SPENCER, E.; LEGNAME, G. et al. Copper Coordination in the Full-Length, Recombinant Prion Protein. **Biochemistry**, v.42, p.6794–6803, 2003.

CALLADO, A.K.C.; TEIXEIRA, M.F.S. Encefalopatias espongiforme transmissíveis e considerações sobre o agente etiológico. **Ciência Animal**, v.8, p.13-21, 1998.

CHASE-TOPPING, M.E.; KRUUK, L.E.B.; LAJOUS, D. et al. Genotype-level variation in lifetime breeding success, litter size and survival of sheep in scrapie-affected flocks. **Journal of General Virology**, v.86, p.1229–1238, 2005.

CHOI C.J.; KANTHASAMY A.; ANANTHARAM V. et al. Interaction of metals with prion protein: possible role of divalent cations in the pathogenesis of prion diseases. **Neurotoxicology**; v.27, p.777-787, 2006.

CLOUSCARD, C.; BEAUDRY, P.; ELSSEN, J.M. et al. Different allelic effects of the codons 136 and 171 of the prion protein gene in sheep with natural scrapie. **Journal of General Virology**, v.76, p.2097-2101, 1995.

COSTA, R.G.; ALMEIDA C.C.; PIMENTA FILHO E.C. et al. Caracterização do sistema de produção caprino e ovino na região semi-árida do estado da Paraíba Brasil. **Archivos de zootecnia**, v.57, p. 195-205, 2008.

COLBY, D.W.; PRUSINER, S.B. Prions. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, 2011. doi: 10.1101/cshperspect.a006833

CORBIÈRE, F.; BARILLET, F.; ANDRÉOLETTI, O. et al. Advanced survival models for risk-factor analysis in Scrapie. **Journal of General Virology**, v.88, p.696–705, 2007.

DA LUZ, J. **Ovelha pantaneira, a quase nova raça que pode revolucionar a ovinocultura**. [2009]. Disponível em: <<http://www.acrissul.com.br/upload/jornal/1261145486.pdf>> Acesso em: 28 set. 2011.

DAWSON. M.; HOINVILLE L.J.; HOSIE B.D. et al. Guidance on the use of *PrP* genotyping as an aid to the control of clinical scrapie, **Veterinary Records**, v.23, p.623-625, 1998.

DAWSON, M.; MOORE, R.C.; BISHOP, S.C. Progress and limits of PrP gene selection policy. **Veterinary Research**, v.30, 2008. doi: 10.1051/vetres:2007064.

DE BLESER, D.; PLUM, J. Transmissible spongiform encephalopathies or Prion protein diseases and public health. **Arch Public Health**, v.56, p.169-186, 1998.

DEBBIE, P.; YOUNG, K.; POOLER, L. et al. Allele identification using immobilized mismatch binding protein: detection and identification of antibiotic-resistant bacteria and determination of sheep susceptibility to scrapie. **Nucleic Acids Research**, v.25, p.4825-4829, 1997.

DEL FAVA, C. [2011]. **Diagnóstico da Encefalopatia Espongiforme Bovina (Mal da Vaca Louca)**. Disponível em: <http://www.biologico.sp.gov.br/artigos_ok.php?id_artigo=153> Acesso em: 5 dez. 2011.

DEPARTMENT OF ENVIRONMENT, FOOD AND RURAL AFFAIRS – DEFRA. **National Scrapie Plan for Great Britain**. 2001.

DI BARI, M.A.; CHIANINI, F.; VACCARI, G. et al. The bank vole (*Myodes glareolus*) as a sensitive bioassay for sheep scrapie. **Journal of general Virology**, v.89, p. 2975-2985, 2008.

DÍAZ, C.; VITEZICA, Z.G.; RUPP, R. et al. Polygenic variation and transmission factors involved in the resistance/susceptibility to scrapie in a Romanov flock. **Journal of General Virology**, v.86, p.849–857, 2005.

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária [2010]. **Demanda por carne ovina cresce 25%, mas oferta é baixa**. Disponível em: <http://www.cnpc.embrapa.br/admin/pdf/03320012431.20_01_2010.pdf> Acesso em: 18 fev. 2012.

FONSECA, B. [2010]. **Ovelha rústica é adaptada ao clima do Cerrado Raça pantaneira com alta fertilidade possibilita a criação em pequenas propriedades com baixo custo e**

produção de carne magra. Disponível em: <http://www.diadecampo.com.br/zpublisher/materias/Materia.asp?id=23219&secao=Pacotes%20Tecnol%F3gicos&c2=Ovinos> Acesso em: 26 nov. 2011.

GABUS, C.; DERRINGTON, E.; LEBLANC P. et al. The Prion Protein Has RNA Binding and Chaperoning Properties. **The Journal of Biological Chemistry**, v.276, p.19301-19309, 2001.

GAVIER-WIDÉN, D.; STACK, M.J.; BARON, T. et al. Diagnosis of Transmissible Spongiform Encephalopathies in Animals: A Review. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.17, p.509-527, 2005.

GHAEMMAGHAMI, S.; WATTS, J.C.; NGUYE, H.O. et al., Conformational Transformation and Selection of Synthetic Prion Strains, **Journal of Molecular Biology**, 2011. doi:10.1016/j.jmb.2011.07.021

GOMES, W.S.; ARAÚJO, Â.R.; CAETANO, A.R. et al. Origem e diversidade genética da ovelha crioula do Pantanal, Brasil. In: SIMPÓSIO DE RECURSOS GENÉTICOS PARA AMÉRICA LATINA Y EL CARIBE, 2007, Chapingo. **Anais...** Chapingo: Universidade Autónoma Chapingo, 2007. p.339.

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

GUAN, F.; PAN, L.; LI, J. et al. Polymorphisms of the prion protein gene and their effects on litter size and risk evaluation for scrapie in Chinese Hu sheep. **Virus Genes**, v.43, p.147–152, 2011.

HERBST, A.; MCILWAIN, S.; SCHMIDT, J.J. et al. Prion Disease Diagnosis by Proteomic Profiling. **Journal of Proteome Research**, v.8, p.1030–1036, 2009.

HUANG, H.; SOUTYRINE, A.; RENDULICH, J. et al.; Investigation of the effects of experimental autolysis on the detection of abnormal prion protein in lymphoid and central nervous system tissues from elk and sheep using the Western blotting method. **The Canadian Journal of Veterinary Research**, v.75, p.69–72, 2011.

HUGO, M. [2011] **Ovino nativo do Pantanal é mais produtivo e cruza bem.** Disponível em: <http://flip.siteseguro.ws/pub/correiodoestado/index.jsp?ipg=8768> Acesso em: 26 nov. 2011.

HUNTER, N. Scrapie—Uncertainties, biology and molecular approaches. **Biochimica et Biophysica Acta**, p.619–628, 2000. doi:10.1016/j.bbadis.2007.04.007

IMRAN, M.; MAHMOOD, S. An overview of animal prion diseases. **Virology Journal**, v.8, 2011. doi:10.1186/1743-422X-8-493

JACINTO, M.A.C.; VARGAS JUNIOR, F.M.; MARTINS, C.F. et al. Influence of genotype on the quality of sheep leather. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.1830-1836, 2011.

KLINGEBORN, M.; RACE, B.; MEADE-WHITE, K.D. et al. Crucial Role for Prion Protein Membrane Anchoring in the Neuroinvasion and Neural Spread of Prion Infection. **Journal of Virology**, v.85, p.1484–1494, 2011.

KOO, H.C.; PARK, Y. H.; LEE, B. C. et al. Immunohistochemical detection of *Prion* protein (PrP-Sc) and epidemiological study of BSE in Korea. **Journal of Veterinary Sciences**, v.2 p.25-31, 2001.

LACROUX, C.; CORBIÈRE, F.; TABOURET, G. et al. Dynamics and genetics of PrPSc placental accumulation in sheep. **Journal of General Virology**, v.88, p.1056-1061, 2007.

LÔBO, R.N.B. [2005]. **Programas de Seleção para caprinos e ovinos no Brasil**. Disponível em: <http://www.sbpnet.org.br/livro/57ra/programas/CONF_SIMP/textos/raimundobragalobo.htm>. Acesso em: 23/09/2011.

LÜHKEN, G.; BUSCHMANN, A.; BRANDT, H. et al. **Epidemiological and genetical differences between classical and atypical scrapie cases**. *Veterinary Research*, v.38, p.65–80, 2007.

LUPI, O. Prionic disease: evaluation of the risks involved in using products of bovine origin. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v.78, p.7-18, 2003.

MACIEL, I. **Ovelhas Nativas do Pantanal para aumento da produtividade**. Disponível em: <<http://hotsites.sct.embrapa.br/prosarural/programacao/2009/ovelhas-nativas-do-pantanal-para-aumento-da-produtividade>> Acesso em 11 nov. 2011.

MAESTRALE, C.; CARTA, A.; ATTENE, S. et al. p.Asn176Lys and p.Met137Thr dimorphisms of the PRNP gene significantly decrease the susceptibility to classical scrapie in ARQ/ARQ sheep. **Animal Genetics**, v.40, p. 982–985, 2009.

MARIANI, M. P.; SÓRIO, A. M. A produção de carne ovina em mato grosso do sul e as Potencialidades para o turismo e a gastronomia. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA, ADMINISTRAÇÃO E SOCIOLOGIA RURAL, 46., 2008. Rio Branco. **Anais...** Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural, 2008.

MARTINS, C.F.; VARGAS JUNIOR, F.M.; PINTO, G.P. et al. Aspectos reprodutivos da ovelha nativa Sul-Mato-Grossense. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 45., 2008, Lavras. **Anais...** Lavras: Sociedade Brasileira de Zootecnia, [2008]. (CD-ROM).

MESQUITA, P.; BATISTA, M.; MARQUES, M.R. et al. Prion-like Doppel gene polymorphisms and scrapie susceptibility in portuguese sheep breeds. **Animal Genetics**, 2009. doi:10.1111/j.1365-2052.2009.01992.x.

MERZ, P. A.; SOMERVILLE, R. A.; WISNIEWSKI, H. M. et al. Scrapie-associated fibrils in Creutzfeldt-Jakob disease. **Nature**, 306:474-476, 1983.

MOORE, J.; HAWKINS, S.A.C.; AUSTIN, A.R. et al. Studies of the transmissibility of the agent of bovine spongiform encephalopathy to the domestic chicken. **BMC Research Notes**, v.4, 2011. doi:10.1186/1756-0500-4-501.

MORAES, D. [2011]. **Bioma Pantanal**. Disponível em: <<http://www.invivo.fiocruz.br/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?infoid=963&sid=2>> Acesso em: 24 nov. 2011.

MOSER, M.; COLELLO, R.J.; POTT, U. et al. Developmental expression of the prion protein gene in glial cells. **Neuron**, v.14, p.509-517, 1995.

MOUM, T.; OLSAKER, I.; HOPP, P. et al. Polymorphisms at codons 141 and 154 in the ovine prion protein gene are associated with scrapie Nor98 cases. **Journal of General Virology**, v.86, p.231-235, 2005.

NETO, O.A.P.; MÓRLAN, J.B.; CARVALHO, O.C.F.; CONDORELLI, E.M. **Práticas em ovinocultura ferramentas para o sucesso**. 1.ed. Porto Alegre: Senar, 2004, p.227.

OIE – Organização mundial de saúde animal (*World Organisation for Animal Health*) [2009]. **Scrapie**. Disponível em: <http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.07.13_SCRAPIE.pdf> Acesso em: 29 nov. 2011.

OIE – Organização mundial de saúde animal (*World Organisation for Animal Health*) [2012]. **Disease distribution maps**. Disponível em: <http://web.oie.int/wahis/public.php?page=disease_status_map&disease_type=Terrestrial&disease_id=53&disease_category_terrestrial=0&empty=999999&disease_category_aquatic=-1&disease_serotype=0&sta_method=semesterly&selected_start_year=2011&selected_report_period=1&selected_start_month=1> Acesso em: 20 jan. 2012.

PACHECO, A.C.L.; OLIVEIRA, S. M.P.; GOLVEIA, J.J.S. et al. Analysis of prion protein gene (*prnp*) polymorphisms in healthy Morada nova sheep reveals the presence of genotypes susceptible to scrapie. **Ciência Animal**, v.17, p.27-36, 2007.

PANZA G.; LUERS L.; STÖHR J. et al. Molecular interactions between prions as seeds and recombinant prion proteins as substrates resemble the biological interspecies barrier in vitro. **PLoS One**, v.5, p.1-7, 2010.

PASSOS, D. T.; RIBEIRO, L. A. O.; RODRIGUES, N. C. et al. PrP polymorphisms in brazilian sheep. **Small Ruminants Research**, v.74, p.130-133, 2008.

PIAO, Y.S.; KAKITA, A.; WATANABE, H. et al. Sporadic fatal insomnia with spongiform degeneration in the thalamus and widespread PrPSc deposits in the brain. **Neuropathology**, v.25, p.144-149, 2005.

PINTO, G.S.; MAGRIN, M.N.; SETTI, J. et al. Infestação por parasitos gastrintestinais em ovinos submetidos à pastejo contínuo na gramínea aruana. **In: CONGRESSO DE NORDESTINO DE PRODUÇÃO ANIMAL**, 5., 2008a, Aracaju.

PINTO, G.S.; VARGAS JR, F.M.; MARTINS, C.F. et al. Avaliação da carcaça de cordeiros nativos sulmatogrossense, texel e santa inês em confinamento. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE ZOOTECNIA, 2008, João Pessoa, **Anais...** João Pessoa, ZOOTEC 2008b.

PONGOLINI, S.; BERGAMINI, F.; BASSI, S. A new genotyping strategy for efficient scoring of closely positioned SNPs in the ovine prion protein gene. **Molecular and Cellular Probes**, v.23, p.122–125, 2009.

PRUSINER, S.B. Novel Proteinaceous Infectious Particles Cause Scrapie. **Science**, v.216, p.136-144, 1982.

PRUSINER, S.B. Molecular Biology of Prion Diseases. **Science**, v.252, p. 1515-1522, 1991.

REIS, F.A. Atualidades na criação de ovinos no Brasil Central. In: CONGRESSO INTERNACIONAL FEINCO, São Paulo, 2009.

REIS, F.A. [2010]. **Criação de ovelhas no Brasil Central: algumas considerações**. Disponível em: <<http://www.iepec.com/noticia/criacao-de-ovelhas-no-brasil-central-algumas-consideracoes>> Acesso em 23 nov. 2011.

RIBEIRO, L.A.O.; PASSOS, D.T.; RODRIGUES, N.C. et al. *Scrapie* (paraplexia enzoótica) em ovinos no Brasil. **Revista Veterinaria em foco**, v.4, p.203-208, 2007.

RICHT, J.A.; HALL, S.M. BSE case associated with prion protein gene mutation. **Plos pathogens**, v.4, 2008. doi:10.1371/journal.ppat.100015.

SAFAR, J. Spectroscopic conformational studies of prion protein isoforms and the mechanism of transformation, **Seminars in Virology**, v.7, p.207-214, 1996.

SANDER, P.; HAMANN, H.; PFEIFFER, I. et al. Analysis of sequence variability of the bovine prion protein gene (*PRNP*) in German cattle breeds. **Neurogenetics**, v.5, p.19-25, 2004.

SALLES, H.O.; SANTOS, D.O.; VALGUEIRO, D.E.A. [2004]. **Raças nativas, a ameaça da extinção**. Disponível em: <<http://www.cenargen.embrapa.br/publica/trabalhos/fn2003/arquivos/12020301.pdf>> Acesso em: 17 nov. 2011.

SANTUCCIU, C.; MAESTRALE, C.; MADAU, L. et al. Association of N176K and L141F dimorphisms of the *PRNP* gene with lack of pathological prion protein deposition in placentas of naturally and experimentally scrapie-affected ARQ/ARQ sheep. **Journal of General Virology**, v.91, p.2402–2407, 2010.

SCHWAB, P.A. [2011]. **Ovinocultura Made in Brazil**. Disponível em: <<http://www.paginarural.com.br/artigo/2242/ovino-cultura-made-in-brazil>> Acesso em 22 nov. 2011.

SCZESNY-MORAES, E.A.; Bianchin. I.; Silva, K.F. et al. Resistência anti-helmíntica de nematóides gastrintestinais em ovinos, Mato Grosso do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30, p.229-236, 2011.

SEAGRI – Secretaria da Agricultura, Irrigação e Reforma Agrária da Bahia [2006]. **MS descobre "scrapie" em ovelha.** Disponível em: <<http://www.seagri.ba.gov.br/noticias.asp?prt=true&qact=view&exibir=clipping¬id=7267>> Acesso em: 7 dez. 2006.

SILVA, D.B.S.; SENO, L.O.; GRISOLIA, A.B. et al. Estrutura genética dos ovinos naturalizados do Pantanal. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA, 56., 2010, Guarujá. **Anais...** Sociedade Brasileira de Genética, Ribeirão Preto, 2010.

SIMPLÍCIO, A. A. [2003]. **Caprino-ovinocultura: Uma alternativa à geração de emprego e renda.** Disponível em: <<http://www.cnpc.embrapa.br/artigo-6.htm>>. Acesso em: 25 fev. 2011.

SOTOMAIOR, C. S.; SOTOMAIOR, V.S.; MADEIRA, H.M.F. et al. Prion protein gene polymorphisms in sheep in the state of Paraná Brazil. **Animal Genetics**, v.39, p.659–661, 2008.

STEELE, A.D. All quiet on the neuronal front: NMDA receptor inhibition by prion protein. **The Journal of Cell Biology**, v.181, p.407-409, 2008.

TAMGÜNEY, G.; GILES, K.; GLIDDEN, D.V. et al. Genes contributing to prion pathogenesis. **Journal of General Virology**, v.89, p.1777-1788, 2008.

THOMAS, D.L. **Genetics of scrapie resistance in sheep.** Disponível: <<http://www.sheep.cornell.edu/management/health/scrapiegenetics.htm>> Acesso em: 7 dez. 2011.

THORGEIRSDOTTIR, S.; SIGURDARSON, S.; THORISSONN, H.M. et al.. PrP gene polymorphism and natural scrapie in Icelandic sheep. **Journal of General Virology**, v.80, p.2527–2534, 1999.

VARGAS JUNIOR, F.M. **Criação da raça de ovinos “pantaneiras”.** In: I Workshop sobre a Ovelha Pantaneira. Câmara Setorial de Ovinocaprinocultura de Mato Grosso do Sul, 2006. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/camaras_setoriais/Caprilinos_e_ovinos/26RO/A pp_Pantaneira.pdf> Acesso em: 28 nov. 2011.

VARGAS JUNIOR, F.M.; LONGO, M.L.; SENO, L.O. et al. Potencial produtivo de um grupamento genético de ovinos nativos Sulmatogrossenses. **PUBVET**, Londrina, v.5, n.30, Ed. 177, Art. 1197, 2011.

VARGAS JUNIOR, F.M.; MARTINS, C.F.; SOUZA, C.C. et al. Avaliação Biométrica de Cordeiros Pantaneiros. **Revista Agrarian**, v.4, p.60-65, 2011b.

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

VIDAL, M. D. F.; SILVA, R.G. NEIVA, J.N.M. et al. Análise econômica da produção de ovinos em lotação rotativa em pastagem de capim tanzânia (*Panicum maximum* (Jacq)). **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v.44, p.801-818, 2006.

WATT, N.T.; TAYLOR, D.R.; GILLOTT A. et al. Reactive Oxygen Species-mediated - Cleavage of the Prion Protein in the Cellular Response to Oxidative Stress. **The journal of biological chemistry**, v.280, p.35914-35921, 2005.

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.H.; CRANWELL, M.P.; RYAN, J.B. Bovine Spongiform encephalopathy: Epidemiologicla atudies. **Veterinary Record**, v.123 p.638-644, 1988.

YOKOYAMA T.; MASUJIN K.; SCHMERR M.J. et al. Intraspecies Prion Transmission Results in Selection of Sheep Scrapie Strains. **Plos One**, v.5, 2010. doi:10.1371/journal.pone.0015450.

ARTIGO CIENTÍFICO

REVISTA BRASILEIRA DE ZOOTECNIA

Perfil genotípico de ovinos do grupo genético Ovelhas Pantaneiras para suscetibilidade ou resistência à *scrapie*

**Aline Najara Domingos Gonçalves¹, Cleber Oliveira Soares², Simone Camargo Sanches¹, Cristiane Camargo Sanches¹, Fernando Alvarenga Reis³
Grácia Maria Soares Rosinha²**

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Brasil.

² Embrapa Gado de Corte, rosinha@cnpqg.embrapa.br

³ Embrapa Caprinos e Ovinos

RESUMO - Objetivou-se neste trabalho determinar o perfil genotípico específico para *scrapie* nos códons 136, 154, 171 e 141 presentes no éxon 3 do gene *prnp* de ovinos pertencentes ao grupo genético Ovelhas Pantaneiras, a fim de categorizar em animais resistentes e susceptíveis à *scrapie*. O DNA genômico foi extraído de 66 fêmeas a partir de amostras de sangue e, as regiões de interesse da fita de DNA amplificadas por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). Os produtos da PCR foram purificados, as amostras sequenciadas e confrontadas com o número de acesso M31313.1 do Gen Bank utilizando o programa Blastn. Foram encontrados cinco haplótipos ARR, ARQ, AHQ, ARH e VRQ e um total de sete dos quinze genótipos possíveis para estes cinco alelos foram observados, sendo ARQ/ARQ (27%) e ARR/ARQ (24%) os mais frequentes. Constatou-se que 57% dos animais analisados estavam concentrados nos grupos de Risco 1 e 2, onde a possibilidade de desenvolver a doença é baixa. O grupamento genético “Ovelhas Pantaneiras” possui perfil que indica resistência genética a esta enfermidade e a presença do alelo ARR pode ser útil para a implementação de rebanhos controlados, auxiliando na formação de uma raça com alta frequência do genótipo ARR/ARR, considerado o mais resistente à *scrapie*.

Palavras - chaves: gene *prnp*, genotipagem, ovelhas pantaneiras.

INTRODUÇÃO

A escolha da raça ou grupo genético é fundamental para o sucesso na ovinocultura. Uma alternativa pode ser a utilização das Ovelhas Pantaneiras, um novo grupo genético adaptado às condições do Pantanal Sul-Mato-Grossense (Gomes et al., 2007). Esses animais apresentam uma combinação de alelos que os aproximam das

38 raças lanadas da região Sul e deslanadas da região Nordeste do Brasil, com perspectivas
39 da criação de uma nova raça (Vargas Junior et al., 2011a).

40 A presença de qualquer enfermidade em um rebanho pode ocasionar desde a
41 queda na produção do animal até sua morte. A *scrapie* é uma doença
42 neurodegenerativa, crônica e fatal que acomete ovinos (Yokoyama et al., 2010),
43 caracterizada por longos períodos de incubação e degeneração do sistema nervoso
44 central (Di Bari et al., 2008).

45 Esta doença é causada pelo acúmulo da proteína anormal, resistente a proteases,
46 denominada *príon* infecciosa (PrP^{SC}). A PrP^{SC} resulta de uma alteração estrutural após a
47 tradução de sua isoforma normal, a *príon* celular (PrP^C) (Prusiner, 1982). Esta proteína
48 é sintetizada pelo próprio hospedeiro, cujo gene responsável é o *prnp* (Tamgüney et al.,
49 2008), localizado no cromossomo 13 em ovinos (Goldmann, 2008). Este gene é
50 composto por 256 códons, dos quais 39 são considerados polimórficos (Mesquita et al.,
51 2009).

52 Uma das causas de suscetibilidade genética à *scrapie* está relacionada com
53 polimorfismos nos códons 136 (Alanina-A/Valina-V), 154 (Arginina-R/Histidina-H) e
54 171 (Glutamina-Q/Arginina-R/Histidina-H) localizados no exon 3 do gene *prnp* (Díaz
55 et al., 2005). Mutações nesses códons resultam nos haplótipos ARR, ARQ, AHQ, ARH
56 e VRQ (Wisniewska & Mroczkowski, 2009), enquanto VRQ confere alta
57 suscetibilidade, ARQ está associado à vulnerabilidade moderada, AHQ ao aumento de
58 resistência e o alelo ARR confere resistência máxima à *scrapie* (Nodelijk et al., 2011).

59 As combinações desses alelos podem dar origem a 15 genótipos, sendo o
60 homozigoto ARR/ARR extremamente resistente à doença (Imran & Mahmood, 2011).
61 Um tipo incomum de *scrapie*, chamada de *scrapie* atípica, afeta animais com o genótipo
62 ARR/ARR. Esta foi identificada em 1998 e caracteriza-se pela troca de uma Leucina

pela Fenilalanina, uma mutação no códon 141 também no gene *prnp* (Wemheuer et al., 2011).

Objetivou-se neste trabalho determinar o perfil genotípico específico para os códons 136, 154, 171 e 141 do gene *prnp* de fêmeas pertencentes ao grupo genético Ovelhas Pantaneiras, a fim de estimar o grau de resistência ou suscetibilidade à *scrapie*.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas amostras de sangue de 66 fêmeas de dois anos de idade provenientes do rebanho de Ovelhas Pantaneiras da Embrapa Gado de Corte, localizada em Campo Grande, MS. O sangue foi coletado por meio da veia cefálica cranial com auxílio de tubos Vacutainer®, contendo o anticoagulante ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA), aliquotados em tubos de 2 mL, identificados e conservados a -80 °C durante 48 horas.

A extração de DNA genômico foi realizada a partir do sangue total utilizando o kit DNA Easy (Invitrogen®). A observação da qualidade das amostras de DNA foi feita por eletroforese em gel de agarose (Invitrogen®) a 0,8%, posteriormente corado com SYBR Gold (Invitrogen®), analisado sob luz ultravioleta em transiluminador (Transluminator Loccus Biotecnologia®) e fotografado em câmera digital com auxílio do programa L. PIX (Loccus Biotecnologia®). A quantificação das amostras foi determinada por leitura em espectrofotômetro (NanoDrop®), em comprimentos de onda 260 nm e 280 nm. As amostras apresentaram razão entre 1,8 e 2,0, sendo consideradas assim puras e diluídas para a concentração de 60 ng/μL.

As regiões de interesse da fita de DNA foram amplificadas por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), utilizando-se oligonucleotídeos iniciadores específicos nas direções *forward* (5'-CACATGGTGGTGGAGGCTGG - 3') e *reverse* (3' - GGAGCGAGTGGTGGAGCAAA - 5'), desenhados a partir do acesso nº M31313.1 do *GeneBank* localizado no site do NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). A reação de PCR foi realizada em volume final de 50μL, contendo 60 ng de DNA genômico, tampão 1X (50mM Tris, 1.5mM MgCl₂, 10mM KCl, 50mM(NH₄)₂SO₄, pH 8,3) (Invitrogen), 0,5mM de desoxirribonucleotídeo fosfatado (dNTP) (Invitrogen), 5 pmol de cada oligonucleotídeo iniciadores e 1 U de *Taq* DNA polimerase

91 (Invitrogen), para amplificação de um fragmento de 388 pares de bases (pb). O ciclo de
92 temperaturas empregado foi de desnaturação inicial a 94°C por 3 minutos e empregados 30
93 ciclos divididos em três fases: desnaturação a 94°C por 30 segundos, anelamento a 67°C por 45
94 segundos e extensão por 72°C durante 30 segundos e extensão final a 72°C por 10 minutos.

95 Após a comprovação da amplificação da região alvo, o produto da PCR foi purificado e
96 as amostras sequenciadas. Para a reação de sequenciamento foi utilizado o kit Big Dye
97 Terminator v3.1 (Applied Biosystems®), utilizando-se 1 µL de oligonucleotídeo iniciador
98 *forward* e 1 µL de oligonucleotídeo iniciador *reverse* a 5 pmol, em reações separadas; 2 µL de
99 Big Dye; 2 µL de tampão 5 X e 5 µL de PCR purificada.

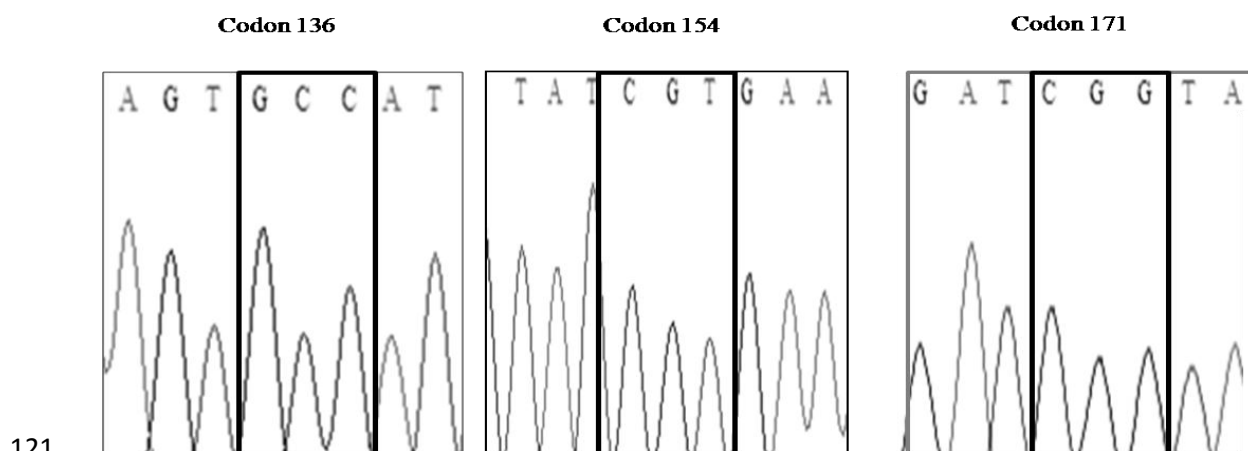
100 Os resultados dos sequenciamentos foram analisados com o programa *Blastn*, onde foram
101 alinhados com o acesso M31313.1
102 ([http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/2809230?report=genbank&log%24=nucldtop&](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/2809230?report=genbank&log%24=nucldtop&blast_rank=1&RID=49EYGH201N)
103 [blast_rank=1&RID=49EYGH201N](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/2809230?report=genbank&log%24=nucldtop&blast_rank=1&RID=49EYGH201N)) para busca de homologias em bancos de dados. Os
104 eletroferogramas gerados pelo sequenciador, foram visualizados com o auxílio do programa
105 BioEdit®. As sequências foram analisadas individualmente e de forma manual. Os
106 polimorfismos nos códons 136 (A/V), 154 (R/H), 171 (Q/R/H) e 141 (L/F) foram utilizados
107 para a determinação dos genótipos de cada animal.

108 A classificação de indivíduos homozigotos e heterozigotos foi realizada de acordo com a
109 observação de SNPs (Polimorfismos de Nucleotídeo Único), que são caracterizados pela
110 sobreposição de picos, onde a ausência de picos simultâneos classifica o indivíduo como
111 homozigoto e a presença de SNP como heterozigoto. A distribuição dos genótipos e sua
112 classificação quanto ao risco à *scrapie* foram realizadas de acordo com o sistema de
113 classificação do Plano Nacional de *Scrapie* (NSP) da Grã-Bretanha (Defra 2001).

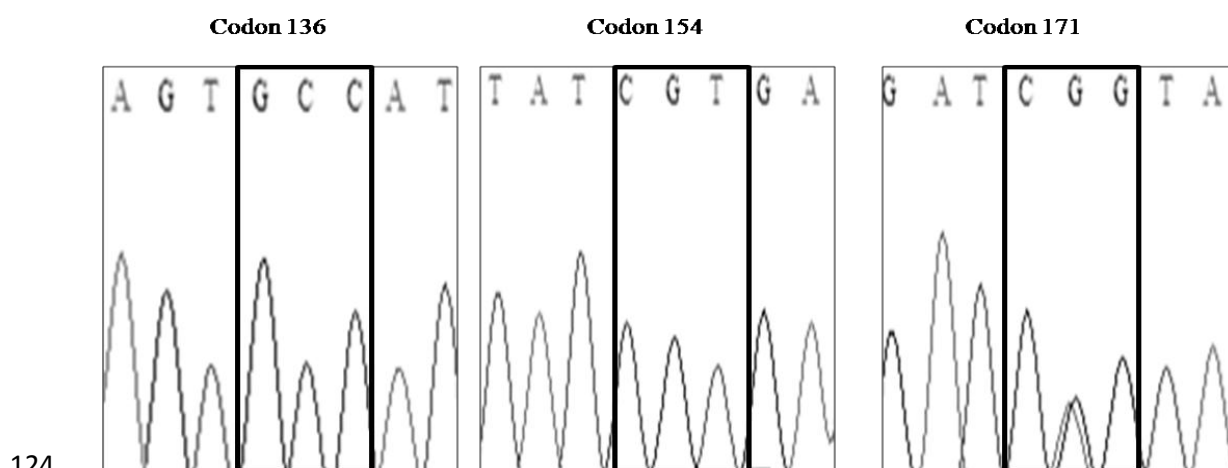
114 RESULTADOS

115
116 O sequenciamento dos fragmentos resultou em um arquivo gráfico contendo picos
117 representativos dos quatro nucleotídeos possíveis, Adenina (A), Timina (T), Citosina
118 (C) e Guanina (G), tornando possível a interpretação para a identificação dos genótipos.

119 As figuras 1 e 2 representam os eletroferogramas de um animal homozigoto
 120 (ARR/ARR) e de um heterozigoto (ARR/ARQ), respectivamente.



122 Figura 7. Eletroferograma de uma Ovelha Pantaneira com perfil homozigoto com
 123 genótipo ARR/ARR, que confere risco muito baixo à *scrapie*



125 Figura 8. Eletroferogramas de uma Ovelha Pantaneira com perfil heterozigoto com
 126 genótipo ARR/ARQ confere risco baixo à *scrapie*

127 Considerando os polimorfismos nos códons 136, 154 e 171, foram encontrados os
 128 cinco haplótipos ARR, ARQ, AHQ, ARH e VRQ, mostrando alta variabilidade genética
 129 das Ovelhas Pantaneiras, sendo os alelos mais frequentes ARR e ARQ (Tabela 1). Os
 130 haplótipos ALRQ (1), AFRR (1) e AFRQ (2) relacionados com a *scrapie* atípica
 131 também foram observados.

132

133

134 Tabela 4. Frequência de haplótipos para os códons 136, 154 e 171 no gene *prnp* em
 135 fêmeas do grupo genético Ovelhas Pantaneiras

Frequência de haplótipos		
Alelos	N	Frequência (%)
ARQ	60	45
ARR	51	39
AHQ	19	14
ARH	1	1
VRQ	1	1

136

137 Um total de sete dos quinze genótipos possíveis para os cinco alelos observados
 138 foram identificados nas amostras (Tabela 2), confirmando os dimorfismos nos códons
 139 136 (Alanina ou Valina) e 154 (Arginina ou Histidina), além dos polimorfismos no
 140 códon 171 (Glutamina ou Histidina ou Arginina).

141 Tabela 5. Frequências genotípicas classificadas segundo o grau de risco à
 142 *scrapie* (NSP)

Frequências genotípicas		
Risco	Genótipos	Frequência (%)
Muito Baixo	ARR/ARR	18
Baixo	ARR/ARQ	24
Baixo	ARR/AHQ	15
Moderado	ARQ/ARQ	27
Moderado	ARQ/AHQ	12
Moderado	ARR/VRQ	2
Moderado	AHQ/ARH	2

150

151 O genótipo ARR/ARR que confere resistência genética máxima (Pongolini et al.,
 152 2009) foi encontrado em 12 animais. Já ovelhas com o perfil homozigoto VRQ/VRQ,

153 considerado os mais suscetível à *scrapie* (Arsac et al., 2007), não foi observado em
154 nenhuma das amostras.

155 A troca da Leucina pela Fenilalanina no códon 141, polimorfismo associado à
156 *scrapie* atípica foi observado em 2 animais, com os genótipos AF₁₄₁RR/AL₁₄₁RQ e
157 AF₁₄₁RQ/AF₁₄₁RQ.

158 Por meio da técnica de sequenciamento automático foi possível traçar o perfil
159 genotípico das Ovelhas Pantaneiras e constatar que 57% dos animais analisados estão
160 concentrados nos Grupos de Risco 1 e 2, onde a possibilidade de desenvolver a doença
161 é baixa, enquanto o restante se enquadra no grupo de risco tido como moderado.

162
163
164

DISCUSSÃO

165 O alelo ARR está presente em 39% dos animais analisados do grupo genético
166 Ovelhas Pantaneiras. Ovinos da raça Dorper possuem baixa frequência - apenas 7% -
167 do alelo ARR, enquanto as raças Ile de France e Crioula apresentam 63% e 65%,
168 respectivamente (Sotomaior et al., 2008).

169 O haplótipo VRQ foi detectado somente em um dos sessenta e seis animais
170 analisados. Um dado interessante é a ocorrência do haplótipo VRQ em ovinos
171 Corriedale, Dorper, Hampshire, Ile de France e Suffolk comercializados no Brasil
172 (Lanella et al., 2011), o que pode trazer a difusão deste alelo nos rebanhos brasileiros.

173 Os alelos mais frequentes neste estudo foram ARR e ARQ, esse dado corrobora
174 com observado por Corbière et al. (2007) que constatarem o mesmo em ovinos puros da
175 raça Manech do rosto-vermelho, já em relação aos genótipos, o mais frequente para essa
176 raça foi ARQ/ARQ. Apesar de este genótipo ter o grau de risco classificado como
177 moderado, surtos em alguns países levam a crer que o mesmo pode proporcionar risco
178 semelhante aos portadores de VRQ (Goldmann, 2008). É importante ressaltar que

179 existem casos como os que ocorrem em ovinos Suffolk e em algumas raças francesas,
180 em que o alelo V₁₃₆ é raro e o polimorfismo que determinará o grau de suscetibilidade
181 encontra-se no códon 171 (Moreno et al., 2008).

182 A alta frequência de ARQ/ARQ também foi observada por Babar et al. (2008)
183 estimaram a resistência genética de nove raças de ovinos paquistaneses e encontraram
184 prevalência do genótipo ARQ/ARQ. Animais da raça Sulffolk também apresentam
185 maiores números deste homozigoto (Simmons et al., 2009), assim como a raça
186 portuguesa Mondegueira (Mesquita et al., 2009). A expressão de ARQ/ARQ é frequente
187 em muitas raças, no entanto, esse genótipo não foi observado por Wisniewska &
188 Mroczkowski (2009) em ovinos da raça Ile de France.

189 As Ovelhas Pantaneiras apresentaram sete diferentes genótipos quando analisados
190 os códons 136, 154 e 171, já a raça Morada Nova que é uma das principais raças
191 deslanadas do Nordeste brasileiro, em pesquisa realizada por Pacheco et al. (2007) com
192 suas variedades branca e vermelha, apenas quatro genótipos foram observados e pela
193 primeira vez, o extremamente raro VRR/VRR foi relatado em um rebanho brasileiro.

194 Novos elementos têm mudado o cenário da genética da *scrapie* nos últimos anos.
195 A suscetibilidade genética dos ovinos à “*scrapie atípica*” é significativamente diferente
196 da observada na forma clássica, onde portadores do alelo ARR, tanto homozigotos
197 como heterozigotos, são suscetíveis à mesma (Andréoletti et al., 2011). Animais com
198 maior risco de desenvolver a forma atípica são os que possuem o homozigoto AA no
199 códon 136, os alelos AHQ ou ARQ tanto com homozigose como heterozigose para o
200 códon 154 (H/R), sendo o alelo AF₁₄₁Q mais suscetível que AL₁₄₁Q (Benestad et al.,
201 2008).

202 O genótipo ARR/ARR é suscetível, embora muitas vezes ovinos portadores desse
203 genótipo permaneçam com a forma subclínica da doença e com acúmulo mínimo de

204 PrP^{Sc}. Já o alelo VRQ não possui influência extrema na suscetibilidade à *scrapie* atípica
205 como faz para *scrapie* clássica (Colussi et al., 2007).

206 Algumas medidas para minimizar os casos de *scrapie* são a introdução e
207 perpetuação do genótipo ARR/ARR nos rebanhos, sendo esta a principal ferramenta no
208 processo de seleção de animais geneticamente resistentes à doença (Dawson et al.,
209 2008). Uma questão importante que cerca as formas clássicas e atípicas da *scrapie* é se
210 a elaboração de programas de melhoramento genético baseados na seleção deste
211 genótipo traria ao mesmo tempo resistência genética a uma e aumento no número de
212 casos da outra.

213 Levando em consideração os esforços empreendidos para que a ovinocultura se
214 torne uma atividade estável e rentável, os resultados deste estudo contribuirão para
215 que essa doença não se torne uma barreira para o fortalecimento deste grupo
216 genético, uma vez que possuem excelentes qualidades, como o fato das fêmeas não
217 apresentarem anestro sazonal e podem ter dois partos ao ano (Martins et al., 2008) e
218 seus cordeiros exibem biometria corporal com crescimento com comportamento
219 quadrático e semelhante as principais raças exóticas melhoradas geneticamente para as
220 características de comprimento longitudinal, perímetro torácico, comprimento trocanter
221 e comprimento da perna, (Vargas et al., 2011) características como essas fortalecem o
222 caminho para que as Ovelhas Pantaneiras se tornem não somente a mais nova raça
223 brasileira de ovinos, mas .

224
225
226

CONCLUSÕES

227 O grupo genético Ovelhas Pantaneiras apresentou perfil genético que indica
228 resistência à *scrapie*. A análise dos códons 136, 154 e 171 resultou na presença do
229 alelo ARR o que é importante para a implementação de rebanhos controlados, pois

230 pode auxiliar a formação de uma raça com alta frequência do genótipo ARR/ARR,
231 considerado o mais resistente à doença.

232

233 **Agradecimentos.** - À Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino e Tecnologia do
234 Estado de Mato Grosso Do Sul (Fundect) e Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP) pelo
235 apoio financeiro, e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)
236 pela concessão de bolsa de mestrado.

237

238

239

240

241

242

243

244

245

246

247

248

249

250

251

252

253

254

255

256

257

258

259

260

261

262

263

264

265

266

267

268

269

270

271

272

273

274

275

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, C.P.; ALMEIDA, L.L.; CASTRO, L.A. et al.. Single nucleotide polymorphisms at 15 codons of the prion protein gene from a scrapie-affected herd of Suffolk sheep in Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.31, p.893-898, 2011.
- ANDRÉOLETTI, O.; ORGE, L.; BENESTAD, S.L. et al. Atypical/Nor98 scrapie infectivity in sheep peripheral tissues. **Plos Pathogens**, v.7, doi: 10.1371/journal.ppat.1001285. 2011
- ARSAC, J.N.; ANDREOLETTI, O.; BILHEUDE, J.M. et al. Similar Biochemical Signatures and Prion Protein Genotypes in Atypical Scrapie and Nor98 Cases, France and Norway. **Emerging Infectious Diseases**, v.13, p.58-65, 2008.
- BABAR, M.E.; FARID, A.; BENKEL, B.F. et al. Frequencies of PrP genotypes and their implication for breeding against scrapie susceptibility in nine Pakistani sheep breeds. **Molecular biology reports**, v.36, p.561-565, 2008.
- BENESTAD, S.L.; ARSAC, J.N.; GOLDMANN, W. et al. Atypical/Nor98 scrapie: properties of the agent, genetics, and epidemiology. **Veterinary Research**, v.39, 2008. doi: 10.1051/vetres:2007056
- COLUSSI, S.; VACCARI, G.; MAURELLA, C.; et al. Histidine at codon 154 of the prion protein gene is a risk factor for Nor98 scrapie in goats. **Journal of General Virology**, v.89, p.3173–3176, 2008.
- CORBIÈRE, F.; BARILLET, F.; ANDRÉOLETTI, O. et al. Advanced survival models for risk-factor analysis in Scrapie. **Journal of General Virology**, v.88, p.696–705, 2007.
- DI BARI, M.A.; CHIANINI, F.; VACCARI, G. et al. The bank vole (*Myodes glareolus*) as a sensitive bioassay for sheep scrapie. **Journal of general Virology**, v.89, p. 2975-2985, 2008.
- DÍAZ, C.; VITEZICA, Z.G.; RUPP, R. et al. Polygenic variation and transmission factors involved in the resistance/susceptibility to scrapie in a Romanov flock. **Journal of General Virology**, v.86, p.849–857, 2005.
- GOLDMANN, W. *PrP* genetics in ruminant transmissible spongiform Encephalopathies. **Veterinary Research**, v.39, 2008. doi: 10.1051/vetres:2008010.
- GOMES, W.S.; ARAÚJO, Â.R.; CAETANO, A.R. et al. Origem e diversidade genética da ovelha crioula do Pantanal, Brasil. In: SIMPÓSIO DE RECURSOS GENÉTICOS PARA AMÉRICA LATINA Y EL CARIBE, 2007, Chapingo. **Anais...** Chapingo: Universidade Autónoma Chapingo, 2007. p.339.

- GUAN, F.; PAN, L.; LI, J. et al. Polymorphisms of the prion protein gene and their effects on litter size and risk evaluation for scrapie in Chinese Hu sheep. **Virus Genes**, v.43, p.147–152, 2011.
- IMRAN M. & MAHMOOD S. 2011. An overview of animal prion diseases. **Journal Virology**, v.8, doi:10.1186/1743-422X-8-493
- LANELLA, P.; MCMANUS, C.M.; PAIVA, S.R. et al. PRNP haplotype and genotype frequencies in Brazilian sheep: Issues for conservation and breeding programs. **Research in Veterinary Science**, 2011. doi:10.1016/j.rvsc.2011.06.025.
- MARTINS, C.F.; VARGAS Jr, F.M.; PINTO, G.P. et al. Aspectos reprodutivos da ovelha nativa Sul-Mato-Grossense. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 45., 2008, Lavras. **Anais...** Lavras: Sociedade Brasileira de Zootecnia, [2008]. (CD-ROM).
- MESQUITA, P.; BATISTA, M.; MARQUES, M.R.; Prion-like Doppel gene polymorphisms and scrapie susceptibility in portuguese sheep breeds. **Animal Genetics**, v.41, p.311-314, 2009.
- MOSER, M.; COLELLO, R.J.; POTT, U. et al. Developmental expression of the *prion* protein gene in glial cells. **Neuron**, v.14, p.509-517, 1995.
- MORENO, C.R.; COSSEDDU, G.M.; SCHIBLER, L. et al. Identification of New Quantitative Trait Loci (Other Than the PRNP Gene) Modulating the Scrapie Incubation Period in Sheep. **Genetics**, v.179, p.723–726, 2008.
- Nodelijk, G.; Van Roermund, HJ.; Van Keulen LJ. et al. Breeding with resistant rams leads to rapid control of classical scrapie in affected sheep flocks. **Veterinary Research**, Doi: 10.1186/1297-9716-42-5, 2011.
- PACHECO, A.C.L.; OLIVEIRA, S. M.P.; GOLVEIA, J.J.S. et al. Analysis of prion protein gene (*prnp*) polymorphisms in healthy Morada nova sheep reveals the presence of genotypes susceptible to scrapie. **Ciência Animal**, v.17, p.27-36, 2007.
- PONGOLINI, S.; BERGAMINI, F.; BASSI, S. A new genotyping strategy for efficient scoring of closely positioned SNPs in the ovine prion protein gene. **Molecular and Cellular Probes**, v.23, p.22–125, 2009.
- PRUSINER, S.B. Novel Proteinaceous Infectious Particles Cause Scrapie. **Science**, v.216, p.136-144, 1982.
- SANTUCCIU, C.; MAESTRALE, C.; MADAU, L. et al. Association of N176K and L141F dimorphisms of the PRNP gene with lack of pathological prion protein deposition in placentas of naturally and experimentally scrapie-affected ARQ/ARQ sheep. **Journal of General Virology**, v.91, p.2402–2407, 2010.

- 368 SIMMONS, H.A.; SIMMONS, M.M.; SPENCER, Y.I. et al. Atypical scrapie in sheep
369 from a UK research flock which is free from classical scrapie. **BMC Veterinary**
370 **Research**, v.5, 2009. doi:10.1186/1746-6148-5-8.
- 371
- 372 SOTOMAIOR, C.S.; SOTOMAIOR, V.S.; MADEIRA, H.M.F. et al. Prion protein gene
373 polymorphisms in sheep in the state of Paraná Brazil. **Animal Genetics**, v.39,
374 p.659–661, 2008.
- 375
- 376 TAMGÜNEY, G.; GILES, K.; GLIDDEN, D.V. et al. Genes contributing to prion
377 pathogenesis. **Journal of General Virology**, v.89, p.1777–1788, 2008.
- 378
- 379 VARGAS JUNIOR, F.M.; LONGO, M.L.; SENO, L.O. Potencial produtivo de um grupamento
380 genético de ovinos nativos Sulmatogrossenses. **Pubvet**. 5: Ed. 177, Art. 1197, 2011a.
- 381
- 382 VARGAS JUNIOR, F.M.; MARTINS, C.F.; SOUZA, C.C. et al. Avaliação Biométrica
383 de Cordeiros Pantaneiros. **Revista Agrarian**, v.4, p.60-65, 2011b.
- 384
- 385 WISNIEWSKA, E.; MROCZKOWSKI, S. Different breeding strategies for scrapie
386 resistance depending on breed-specific PrP allele and genotype frequencies in the
387 Polish sheep. **Züchtungskund**, v.81, p.180–189, 2009.
- 388
- 389 YOKOYAMA, T.; MASUJIN, K.; SCHMERR, M.J. et al. Intraspecies Prion
390 transmission results in selection of sheep scrapie strains. **Plos One**, v.5, 2010.
391 doi:10.1371/journal.pone.0015450.