



DOENÇA DEBILITANTE CRÔNICA EM CERVÍDEOS - REVISÃO DE LITERATURA

Gabriela Nocelli Nogueira - Médica Veterinária graduada na Pontifícia Universidade Católica de Campinas.

[*gabriela.nocelli@hotmail.com*](mailto:gabriela.nocelli@hotmail.com)

RESUMO

A Doença Debilitante Crônica (CWD) é uma Encefalopatia Espongiforme Transmissível (EET's) de caráter altamente patogênico que acomete cervídeos ao redor do mundo, tendo como espécie mais acometida o cervo-de-cauda-branca (*Odocoileus virginianus*) e o cervo-mula (*Odocoileus hemionus*). Ela é causada pela PrP^{SC}, uma isoforma modificada de príons naturalmente encontrados principalmente em tecidos do sistema nervoso e linforreticulares. Sua principal via de transmissão é a horizontal, com rápida disseminação pelo sistema linfático e sistema nervoso central, causando vacúolos neurais e morte celular, trazendo consequente aspecto esponjoso para a massa encefálica. Os animais acometidos por essa doença apresentam um variado tempo de incubação, tendo como principais sinais clínicos a perda do apetite com consequente perda de peso progressivo, sialorréia, abaixar de cabeça e orelhas, ataxia, incoordenação, estereotípias e por fim, óbito. Assim como as demais EET's, a ausência de tratamentos específicos conhecidos torna o entendimento sobre a afecção e o diagnóstico precoce, os melhores método de prevenção da doença atualmente, possibilitando a implementação de medidas restritivas e abate de animais infectados, visando impedir a disseminação desenfreada e possível quebra na barreira entre espécies.

Palavras-chave: Cervídeos; CWD; Diagnóstico; Príons



INTRODUÇÃO

As Encefalopatias Espongiformes Transmissíveis (EET's) são um grupo de doenças infecciosas neurodegenerativas de origem priônica, com disseminação mundial com um amplo número de espécies susceptíveis (Falcão & Garcia, 2012). Seu nome deriva da característica presença de vacúolos neurais e morte celular do sistema nervoso central (SNC), trazendo consequente aspecto esponjoso para a massa encefálica (Bourne, 2004; Aguzzi *et al.*, 2007).

Alguns exemplos de EET's são a Creutzfeldt-Jacob em humanos, a Encefalopatia Espongiforme Bovina (BSE) em bovinos, a *Scrapie* em ovinos, e a Doença Debilitante Crônica (CWD) em cervídeos, sendo ela a mais eficientemente transmitida dentre todas as EET's conhecidas (Falcão & Garcia, 2012).

Conforme os estudos da National Wildlife Health Center (2019), atualizado em maio de 2021, a CWD já foi notificada em 26 estados dos Estados Unidos e três províncias canadenses. Em 2001, foi confirmada a primeira aparição da doença na Coreia do Sul, introduzida por alces (*Cervus elaphus nelsoni*) importados do Canadá (Lee *et al.*, 2013; Kim *et al.*, 2005). Já na Europa, até 2021, foram relatados 34 casos em animais de vida livre, distribuídos entre Noruega, Norte da Suécia e Leste da Finlândia (Benestad *et al.*, 2016; Guere *et al.*, 2020; Agren *et al.*, 2021).

Apesar da ausência de casos no Brasil até o momento, a grande variedade de espécies de cervídeos no país torna possível a disseminação futura para tais. Um grande exemplo é o veado-de-cauda-branca (*Odocoileus virginianus*), uma das espécies mais envolvidas e susceptíveis entre os relatos de CWD, que está presente no Amazonas e estendendo-se até o norte dos Estados Unidos (Duarte *et al.*, 2001), trazendo preocupação para a preservação e saúde dos animais nativos.

Atualmente ainda é incerta a possibilidade da transmissão para humanos. Porém, foi descoberto através da inoculação experimental por via intracerebral em espécies de animais de criação, que o fator mais importante para a infecção ocorrer é a compatibilidade conformacional entre PrP^C e a cepa de príon, do que a espécie em si (Béringue *et al.*, 2008; Collinge *et al.*, 2007).



Tendo estas informações em vista, o grande potencial de transmissão entre espécies, a ausência de tratamentos e as escassas fontes sobre o assunto em português, traz então o objetivo deste trabalho. Abordando uma revisão de literatura, visando a disseminação das informações pouco conhecidas, e na conseqüente tentativa de diminuir as ameaças à preservação destas espécies e possível zoonose.

METODOLOGIA

O presente trabalho foi realizado a partir de uma revisão bibliográfica, com um panorama geral sobre uma das Encefalopatias Espongiformes Transmissíveis mais patogênicas atualmente, tendo como seus hospedeiros naturais os cervídeos.

Os artigos científicos utilizados foram acessados em variados bancos de dados, dentre eles: SciELO, PubMed, Google Acadêmico, ScienceResearch; além de artigos publicados em revistas veterinárias internacionais e sites governamentais.

O período de busca foi de Janeiro de 2024 a Agosto de 2024, utilizando trabalhos de épocas com ampla variação, incluindo publicações em português, inglês e espanhol no intuito de abranger uma visão global do tema.

REVISÃO DE LITERATURA

A Doença Debilitante Crônica, também conhecida como “Doença do cervo Zombie” em alguns lugares, possui sua origem incerta. Segundo a teoria de Williams e Miller (2002), acredita-se que o primeiro caso foi devido ao contato de cervos com animais infectados com *scrapie*, visto que as lesões no SNC se assemelham as lesões de animais acometidos pela CWD (Hamir *et al.*, 2004). Já Salman (2003) acredita na teoria em que uma mutação espontânea do gene PrnP foi responsável pelo início da disseminação da doença.

Conforme Béringue *et al.* (2008), cerca de 85% dos casos de CWD ocorrem de forma esporádica tendo sua etiologia desconhecida. Os 15% restantes dos casos teriam origem de mutações no gene em linhagens genéticas ou devido a exposição ao agente patogênico.



Esta afecção apresenta um grande número de espécies acometidas, sendo algumas delas: veado-de-cauda-preta (*Odocoileus hemionus columbianus*), cervos-mula (*Odocoileus hemionus*), veados-de-cauda-branca (*Odocoileus virginianus*), veado-vermelho (*Cervus elaphus*), cervos Sika (*Cervus nippon*), renas (*Rangifer tarandus tarandus*), alces das Montanhas Rochosas (*Cervus elaphus nelsoni*), alces (*Alces alces*), Uapiti (*Cervus elaphus canadensis*), Gamo (*Dama dama*) e Muntjac (*Muntiacus reevesi*) (Hamir *et al.*, 2011; Spraker *et al.*, 1997; Lee *et al.*, 2013; Guere *et al.*, 2020).

Todos os genótipos PRNP podem ser afetados pela CWD, porém é destacado por Johnson *et al.* (2011) e Brandt *et al.* (2015) que alguns polimorfismos de nucleotídeo simples (SNP) estão diretamente associados a patogenia, resistência do príon, tempo de incubação e apresentação de sinais clínicos da doença em cada espécie, além de ser possível concluir que algumas espécies são mais susceptíveis a CWD, tendo um destaque aos cervos-mula (*Odocoileus hemionus*) e os veados-de-cauda-branca (*Odocoileus virginianus*), sendo este último o mais presente em relatos de CWD (Nalls *et al.*, 2013).

Devido ao pouco conhecimento da doença, foram realizados diversos estudos para analisar o potencial transmissivo para outras espécies fora da família dos cervídeos (Figura 1). Sendo efetivo através do uso de uma cepa da CWD norte-americana transmitida experimentalmente por via intracerebral (Hamir *et al.*, 2006). Para a análise de potencial zoonótico os modelos mais utilizados e relevantes foram os camundongos transgênicos humanizados, que não apresentaram desenvolvimento da doença (Sandberg *et al.*, 2010). E os macacos, que causaram resultados contraditórios e incertos (Race *et al.*, 2018; Osterholm *et al.*, 2019), sendo que a inoculação intracerebral e oral em macacos-esquilo induziu o desenvolvimento de uma EET típica (Race *et al.*, 2009; Race *et al.*, 2014).

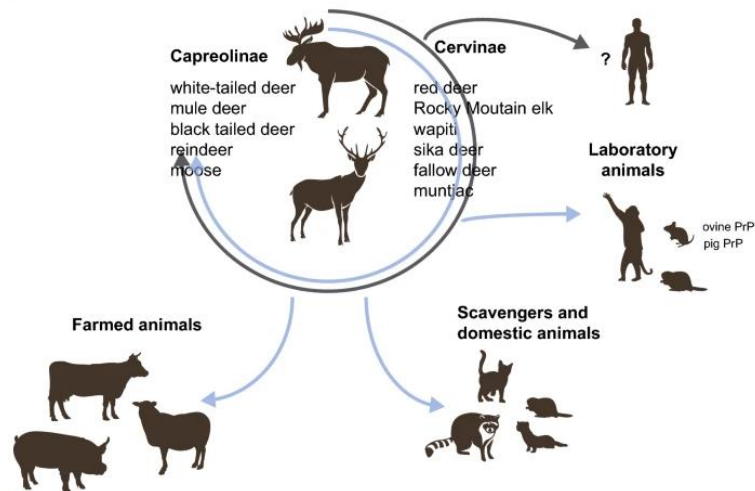


Figura 1 – Animais acometidos naturalmente (seta cinza) e experimentalmente (seta azul) pela CWD. (Fonte: Mozami-Gouadarzi et al., 2021).

Esta e as demais EET's são causadas por uma isoforma modificada da proteína príonica celular (PrP^C), uma glicoproteína da membrana celular também conhecida como príon, naturalmente encontrada em diferentes tecidos, sendo estes predominantemente de células do SNC e em tecidos linforreticulares (Aguzzi & Calella, 2009). A PrP^C liga-se à superfície das células através da glicosilfosfatidilinositol (GPI), uma molécula de ancoragem com papel crucial na ligação de proteínas à membrana celular (Dias Correia & Dias Correia, 2005).

Sobre sua função no organismo, existe a hipótese que assim como as glicoproteínas N-CAMs e as cadetrinas, os príons apresentem um papel de adesão celular auxiliando na integridade das células do sistema nervoso (Manson, 1991). Além disso, fala-se sobre sua possível participação nas atividades sinápticas (Colling et al., 1996), no metabolismo do cobre (Hope, 2000) e no controle do ritmo circadiano (Prusiner, 1996).

Na afecção a PrP^C, forma natural do príon encontrada no organismo, sofre uma alteração conformacional pelo gene PRNP, na qual ocorre a remoção de um peptídeo de sinal amino-terminal, uma clivagem de uma sequência de sinal terminal carboxila após a adição de uma âncora de GPI, e uma adição de duas ou três cadeias de açúcar ligados à asparagina (Gabriel *et al.*, 1992). Neste processo, uma porção estrutural alfa-hélice da proteína é transformada em folha-beta (Figura 2) (Pan *et al.*, 1993).

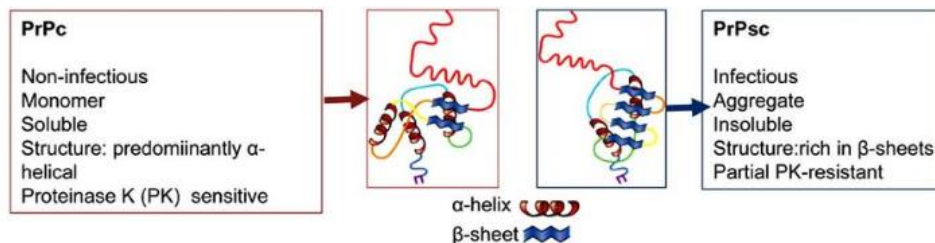


Figura 2 – Conformação estrutural de PrP^C e PrP^{SC}. (Fonte: Pani, Mandas, Dessi, 2010).

Segundo Stanley Prusiner (1982), o agente patogênico das doenças priônicas denominada proteína priônica scrapie (PrP^{SC}), torna-se resistente aos procedimentos que inativam as propriedades dos ácidos nucleicos e parcialmente sensível aos procedimentos de desnaturação proteica.

Com o fim desta mutação, a isoforma é capaz de reformular demais formas naturais não patogênicas em PrP^{SC}, atuando como molde com contínuo processo de infecção (Prusiner, 1998). Essas glicoproteínas modificadas então formarão grandes complexos em forma de placas amiloides (Aguzzi, 2009) com rápida disseminação pelos tecidos linfáticos (Fox *et al.*, 2006), sendo encontrada principalmente no cérebro, linfonodos, baço, tonsilas e olhos (Falcão & Garcia, 2012).

Alguns outros tecidos em que a PrP^{SC} foi encontrada em animais acometidos pela CWD foram coração, fígado, língua, pâncreas, tecido adiposo, sangue e veludo do chifre (Ricci *et al.*, 2017; Mammadova *et al.*, 2020). Além da descoberta de acúmulo em folículos linfóides ectópicos nos rins de um cervo-de-cauda-branca inoculado experimentalmente, tornando as vias excretoras uma grande fonte de disseminação da doença (Hamir *et al.*, 2006).

A PrP^{SC} causa lesões neuropatológicas características, devido a morte celular e consequente formação de vacúolos intraneuronais e degeneração neuronal no núcleo do trato solitário, hipotálamo, tálamo, córtex olfatório e de forma menos acentuada em mesencéfalo, metencéfalo e mielencéfalo (Correia & Correia, 2001).



Além disso, no tálamo, hipotálamo e em região óbex da medula oblonga é possível observar astrocitose, uma resposta a danos ao tecido nervoso desencadeado pelos astrócitos, células da glia responsáveis pela manutenção do ambiente extracelular removendo quaisquer substâncias que possa apresentar toxicidade. E em casos crônicos de astrocitose, ocorre a formação de cicatrizes gliais que impedem a regeneração axonal e a recuperação funcional, contribuindo para a progressão da doença (Properzi *et al.*, 2003; Buffo *et al.*, 2010).

Dentre as EET's atualmente conhecidas, a CWD é a que apresenta maior eficácia na transmissão (Falcão & Garcia, 2012). A afecção apresenta uma disseminação elevada principalmente em rebanhos de alta densidade (Moazami-Goudarzi *et al.*, 2021), podendo alcançar até 30% de transmissibilidade em populações de vida livre e até 100% em cativeiro (Falcão & Garcia, 2012).

A transmissão ocorre de maneira horizontal, tendo como as principais vias de disseminação os fluidos corporais, como a urina, fezes (Haley *et al.*, 2009), saliva e sangue (Sigurdson & Aguzzi, 2007). Sendo também relatada a transmissão através de carcaças em decomposição (Miller *et al.*, 2004), leite, via placentária durante o nascimento da prole (Nalls *et al.*, 2013; Brandt *et al.*, 2015) e fômites contaminados (Haley N.J., 2015; Denkers *et al.*, 2020).

Além disso, na Noruega, através da análise de uma população de renas, foi possível concluir no papel contribuinte do fenômeno crescente de canibalismo de chifres e a transmissão da Doença Debilitante Crônica (Mysterud *et al.*, 2020).

O tempo de incubação e desenvolvimento da CWD é incerta, tendo uma grande variação entre animais de mesma espécie (Moazami-Goudarzi *et al.*, 2021). Além de uma certa divergência entre sinais clínicos citados por autores, conforme o avanço e gravidade do quadro do animal analisado.

Dentre os sinais clínicos mais observados estão: perda de apetite com consequente perda de peso progressiva (Figura 3 e 4); isolamento social; sialorreia (Figura 5); alteração comportamental; estereotípias, polidipsia, poliúria, refluxo esofágico excessivo e depressão (Sigurdson & Aguzzi, 2007; Fox *et al.*, 2006; Williams & Young, 1992).



Figura 3 – Animal acometido pela CWD evidenciando perda de peso. (Fonte: Departamento de Caça e Pesca de Wyoming e CWD Alliance, 2015).



Figura 4 – Animal acometido pela CWD apresentando perda de peso. (Fonte: Universidade da Florida, 2023).



Figura 5 – Animal acometido pela CWD apresentando sialorreia. (Fonte: Kalkomey Enterprises, LCC, 2018).

Com a progressão e agravamento da doença, os animais passaram a apresentar distensão esofágica, dificuldade respiratória, fraqueza, sinais locomotores (Figura 6), ataxia, estado de alerta diminuído, apatia, cabeça e orelhas abaixadas (Figura 7), ranger de dentes, opacificação dos olhos (Figura 8) e óbito (Figura 9) (Fox *et al.*, 2006; Williams & Miller, 2002; Williams E.S., 2005).

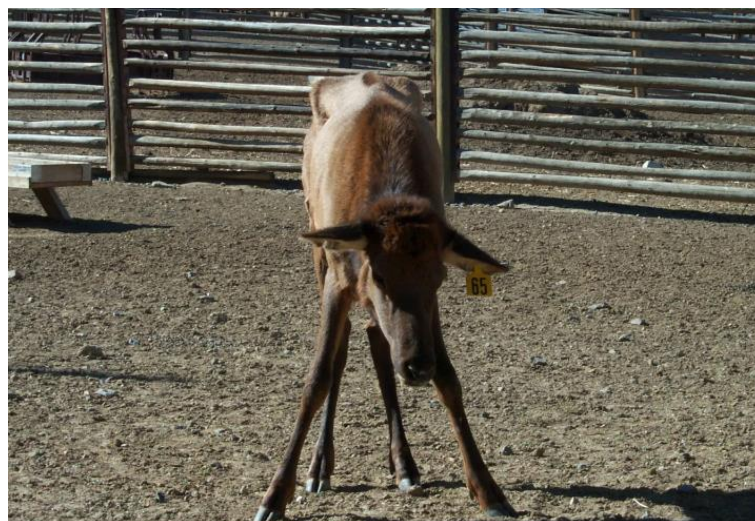


Figura 6 – Animal acometido pela CWD apresentando perda de peso e fraqueza. (Fonte: Departamento de Caça e Pesca de Wyoming e CWD Alliance, 2015).



Figura 7 – Animal acometido pela CWD apresentando cabeça e orelhas baixas. (Fonte: Departamento de Caça e Pesca de Wyoming e CWD Alliance, 2015).



Figura 8 – Animal morto devido a CWD apresentando opacificação dos olhos. (Fonte: Departamento de Recursos Naturais de Wisconsin, 2017).



Figura 9 – Animal encontrado morto em decorrência da CWD. (Fonte: Comissão de Caça e Pesca de Arkansas, 2018).

Outros sinais citados por poucos autores, porém com igual relevância são: sinais sensoriais, hiperexcitabilidade, reação agressiva, pneumonia, ptialismo e atonia ruminal (Williams E.S., 2005; Fox *et al.*, 2006). Sendo também possível a apresentação da doença, mas de forma assintomática por longos períodos, tornando-se uma fonte de eliminação crônica da CWD (Moazami-Goudarzi *et al.*, 2021).

Em questão do diagnóstico da CWD, devido à ausência de tratamentos específicos conhecidos, está é a maneira mais viável de realizar o controle da mesma desempenhando um papel crucial na vigilância da CWD em populações de cervídeos, visando impedir a disseminação desenfreada e possível quebra na barreira entre espécies.

Apesar de os métodos diagnósticos serem empregados em sua maioria como exames *post-mortem*, também é possível realizá-los como um teste *ante-mortem* para detectar a doença em sua fase pré-clínica, podendo assim auxiliar nos estudos epidemiológicos e na gestão de animais vivos, tanto de vida livre como cativos (Wild *et al.*, 2002).

Alguns dos métodos mais utilizados são: a análise histopatológica de amostras de tecido do SNC, sendo de fácil realização, porém dependente de uma maior progressão da doença, visto que em sua fase inicial é possível que não existam alterações microscópicas. Em casos positivos, as alterações observadas consideradas como patognomônicas para todas as EET's

serão, a presença de vacuolização neuronal e alterações espongiiformes não inflamatórias (Correia & Correia, 2001). Em alguns casos também é possível observar astrocitose, e em casos crônicos a presença de cicatrizes gliais (Buffo *et al.*, 2010).

A técnica de coloração imuno-histoquímica (IHC) é considerada o “teste ouro” para o diagnóstico da CWD, sendo capaz de detectar a protease-proteína príon resistente (PrP-res), uma forma modificada de uma siagloproteína encontrada no SNC, considerada um marcador específico para as EET's (Prusiner, 1992). Para a realização deste teste é necessário a coleta de uma amostra de tecido, em sua maioria utilizando biopsias tonsilares, de tecido cerebral ou medular e mucosa retoanal (Peters *et al.*, 2000) (Figura 10).

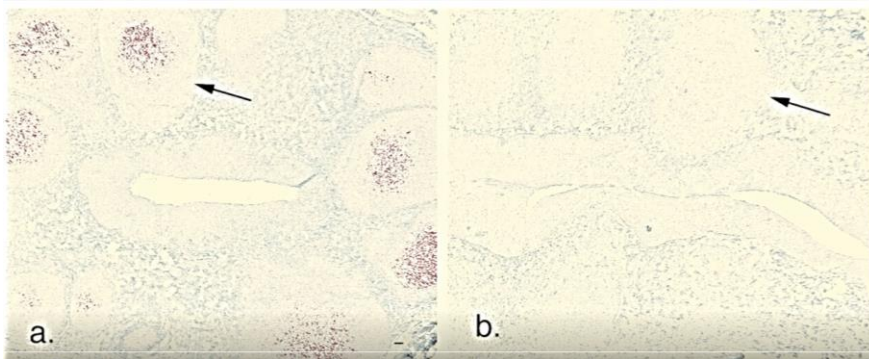


Figura 10 – Biopsias tonsilares submetidas a IHC. **(a)** Biopsia positiva para CWD com visível imunocoloração vermelha granular em folículos linfóides **(b)** Biopsia negativa para CWD (Fonte: Wild *et al.*, 2002).

O teste de Western blot, que tem como objetivo detectar e semiquantificar proteínas alvo, comumente utilizado associado aos testes de IHC (Mishra *et al.*, 2017) é realizado principalmente com amostras de tecido do SNC, sendo, portanto, um método diagnóstico post-mortem. As amostras são homogeneizadas e submetidas idealmente a proteinase K, fazendo com que a PrP^C seja removida e mantendo apenas a PrP^{SC}, visto que elas são sensíveis à protease e parcialmente resistente à protease, respectivamente. Produzindo fluorescência nas amostras positivas, com variação de tonalidade conforme quantidade de príons presente (Nicholson *et al.*, 2007).



O ensaio imunoenzimático, ou ELISA também pode ser utilizado como um método diagnóstico para a CWD, porém dificilmente é realizado sozinho, visto que sua sensibilidade para detecção dos PrP^{SC} não é elevada, além da necessidade de amostras maiores, permitindo a obtenção de resultados errôneos principalmente em animais na fase inicial da doença (Haley et al., 2012).

Dois outros métodos mais eficientes para o diagnóstico desta afecção são o ensaio de amplificação de príons (PMCA) e a conversão induzida por tremores em tempo real (RT-QuIC), visto que ambos os métodos permitem o uso de amostras com baixas quantidade de PrP^{SC} devido a sua alta sensibilidade. Tornando viável portanto coletas menos invasivas, como por exemplo de tecido muscular, swabs nasais, sangue, saliva e urina (Ronvnyagina et al., 2019).

A PMCA tem como objetivo a coleta de uma amostra tecidual e reprodução do ambiente natural das PrP, na qual será utilizado substratos de animais saudáveis, com o intuito de caso haja a presença de PrP^{SC} na amostra coletada, as demais formas naturais desta proteína se redobrem para a isoforma infectante, posteriormente sendo analisados pela técnica de Western Blot (Morales, E. *et al.*, 2012).

Já a RT-QuIC é um ensaio *in vitro* de detecção de amiloide que analisa a capacidade dos PrP^C converterem-se em PrP^{SC}, em que a amostra é submetida em uma mistura de reação contendo proteína príon recombinante e é alternadamente agitada e incubada (Atarashi et al., 2008). Durante este processo, é realizada a leitura contínua da fluorescência da tioflavina T, permitindo uma análise semiquantitativa da formação de amiloide, que resultara em um aumento de intensidade da fluorescência (Biancalana, 2010).

Além disso, é necessário a ciência de que os sinais clínicos observados em um animal acometido pela CWD é extremamente abrangente, variando de acordo do avanço da doença, idade, espécie e de indivíduo para indivíduo. Devido a isto, é possível relacionar estes sinais com outras doenças. Portanto é de suma importância o conhecimento de afecções mais habituais nesses animais com sintomatologia semelhante, assim como seus respectivos sinais clínicos e métodos diagnósticos.



CONSIDERAÇÕES FINAIS

Na análise da Doença Debilitante Crônica, reconheceu-se que esta representa uma ameaça crescente à saúde animal, especialmente entre os cervídeos. Observou-se que a origem da doença ainda gera debate, sendo atribuída a mutações espontâneas ou ao contacto com agentes infetantes como o scrapie. Identificou-se que a transmissão ocorre de forma eficiente e multifatorial, envolvendo fluidos corporais, fômites e até práticas comportamentais como o canibalismo de chifres. Além de confirmar que a PrP^{SC} é responsável em atuar como molde, e alterar a conformação da PrP^C, promovendo neurodegeneração progressiva e altamente transmissível. Reforçasse ainda, que os métodos diagnósticos estão em constante evolução, com tecnologias cada vez mais sensíveis, como a RT-QuIC e a PMCA, permitindo um rastreio mais precoce e menos invasivo. Considero essencial a intensificação dos estudos sobre o potencial zoonótico da doença, apesar de ainda não existirem evidências conclusivas em humanos. Enfatizo por fim, a importância do diagnóstico precoce, especialmente tendo em vista que animais assintomáticos também podem transmitir a CWD, compreendendo que, diante da ausência de cura, o controle depende de medidas de biossegurança, vigilância e investigação contínua.

REFERÊNCIAS

- AGUZZI, A.; CALELLA, A. M. Prions: protein aggregation and infectious diseases. **Physiological Reviews**, v. 89, n. 4, p. 1105-1152, oct 2009. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19789378/>> Acessado em 20 de maio de 2024.
- AGUZZI, A.; HEIKENWALDER, M.; POLYMENIDOU, M. Insights into prion strains and neurotoxicity. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, Switzerland, v. 8, n. 7, p. 552-561, jul 2007. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17585315/>> Acessado em 20 de maio de 2024.
- ÅGREN, E.O., *et al.* First detection of chronic wasting disease in moose (*Alces alces*) in Sweden. **Journal of Wildlife Disease**, v. 57, n. 2, p. 461–463, apr 2021. Disponível em: <<https://meridian.allenpress.com/jwd/article/57/2/461/453958/First-Detection-of-Chronic-Wasting-Disease-in>> Acessado em 20 de maio de 2024.



ATARASHI, R., *et al.* Detecção ultrasensível simplificada de príons por conversão de PrP recombinante com agitação. **Nature Methods**, v. 5, p. 211–212, mar 2008. Disponível em: < <https://www.nature.com/articles/nmeth0308-211> > Acessado em 18 de maio de 2024.

BENESTAD, S.L., *et al.* First case of chronic wasting disease in Europe in a Norwegian free-ranging reindeer. **Veterinary Research**, v. 47, n. 88, sep 2016. Disponível em: < <https://veterinaryresearch.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13567-016-0375-4#citeas> > Acessado em 18 de maio de 2024.

BÉRINGUE, V.; VILOTTE, J. L.; LAUDE, H. Prion agente diversity and species barrier. **Veterinary Research**, v.39, n.4, p.47, jun 2008. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18519020/> > Acessado em: 23 de maio de 2024.

BIANCALANA, M.; KOIDE, S. Mecanismo molecular de ligação da tioflavina-T às fibrilas amilóides. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteínas e Proteômica**, v. 1804, n. 7, p. 1405-1412, jul 2010. Disponível em: < <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1570963910000993?via%3Dihub> > Acessado em 22 de maio de 2024.

BOURNE, D. **Chronic wasting disease review**. United Kingdom: Wildlife Information Network, 2004

BRANDT AL, Kelly AC, Green ML, Shelton P, Novakofski J, Mateus-Pinilla NE. Prion protein gene sequence and chronic wasting disease susceptibility in white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). **Prion**. 2015;9(6):449–462. doi: 10.1080/19336896.2015.1115179

COLLINGE, J.; CLARKE, A. R. A general model of prion strains and their pathogenicity. **Science**, v. 318, n. 5852, p. 930–936, nov 2007. Disponível em: < <https://www.science.org/doi/10.1126/science.1138718> > Acessado em 20 de março de 2024.

DENKERS, N.D., *et al.* Very low oral exposure to prions of brain or saliva origin can transmit chronic wasting disease. **PLoS One**, aug 2020. Disponível em: < <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0237410> > Acessado em 23 de março de 2024.



DIAS CORREIA, J. H. R.; DIAS CORREIA, A. A. Etiopatogenia das Prionoses Animais e suas Bases. Faculdade de Medicina Veterinária de Lisboa, Lisboa. 150p. 2005

DUARTE, J. M. B., *et al.* Order Artiodactyla, Family Cervidae (deer). In: FOWLER, M. E. & CUBAS, Z. S. (Ed.), **Biology, Medicine, and Surgery of South American Wild Animals**. Ames: Iowa State University Press, 2001, p. 402-422.

FALCÃO, C. B. R.; GARCIA, J. E. Doença debilitante crônica: a doença priônica dos cervídeos. **Ars Veterinaria**, v. 28, n. 1, p. 13-21, 2012. Disponível em: < <https://www.arsveterinaria.org.br/index.php/ars/article/view/463> > Acessado em 17 de março de 2024.

FOX, K. A.; *et al.* Patterns of PrPCWD accumulation during the course of chronic wasting disease infection in orally inoculated mule deer (*Odocoileus hemionus*). **Journal of General Virology**, v. 87, n. 11, p. 3451-3461, nov 2006. Disponível em: < <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jgv/10.1099/vir.0.81999-0> > Acessado em 17 de março de 2024.

GÜERE, M.E., *et al.* Chronic wasting disease associated with prion protein gene (*PRNP*) variation in Norwegian wild reindeer (*Rangifer tarandus*). **Prion**, v. 14, n. 1, p. 1-10, dec 2019. Disponível em: < <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/19336896.2019.1702446> > Acessado em 19 de março de 2024.

HALEY, N. J.; SEELIG, D. M.; ZABEL, M. D.; TELLING, G. C.; HOOVER, E. A. Detection of CWD prions in urine and saliva of deer by transgenic mouse bioassay. **Public Library of Science One**, v. 4, n. 3, p. 4848, mar 2009. Disponível em: < <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0004848> > Acessado em 2 de abril de 2024.

HALEY, N.J., *et al.* Sensibilidade da amplificação cíclica de dobramento incorreto de proteínas versus imuno-histoquímica na detecção ante-mortem de doença debilitante crônica. **J Gen Virol.**, v. 93, n. 5, p. 1141-1150, mai 2012. Disponível em: <<https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jgv/10.1099/vir.0.039073-0>> Acessado em 14 de maio de 2024.



HALEY, N.J.; HOOVER, E. A. Chronic wasting disease of cervids: current knowledge and future perspectives. **Annual Review of Animal Biosciences**, v. 3, p. 305–325, feb 2015. Disponível em: < <https://www.annualreviews.org/content/journals/10.1146/annurev-animal-022114-111001> > Acessado em 4 de abril de 2024.

HAMIR, A.N., *et al.* Transmission of sheep scrapie to elk (*Cervus elaphus nelsoni*) by intracerebral inoculation: final outcome of the experimente. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 16, n. 4, p. 316-321, jul 2004. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15305743/> > Acessado em 27 de março de 2024.

HAMIR, A.N., *et al.* Abnormal prion protein in ectopic lymphoid tissue in a kidney of na asymptomatic white-tailed deer experimentally inoculated with the agente of chronic wasting disease. **Veterinary Pathology**, v. 43, n. 3, p. 367-369, may 2006. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16672586/> > Acessado em 27 de março de 2024.

HAMIR, A. N., *et al.* Experimental transmission of chronic wasting disease (CWD) from elk and white-tailed deer to fallow deer by intracerebral route: final report. **Can J Vet Res**, v. 75, n. 2, p. 152-156, apr 2011. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21731188/> > Acessado em 28 de março de 2024

JOHNSON, C. J., *et al.* Prion protein polymorphisms affect chronic wasting disease progression. **Pubic Library of Science One**, v.6, n.3, p.17450, mar 2011. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21445256/> > Acessado em 27 de março de 2024.

KIM, T -Y., *et al.* Additional cases of Chronic Wasting Disease in imported deer in Korea. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v.67, n.8, p.753-759, aug 2005. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16141661/> > Acessado em 27 de março de 2024.

LEE Y-H., *et al.* Strain characterization of the Korean CWD cases in 2001 and 2004. **J Vet Med Sci**, v.75, n.1, p.95–98, jan 2013. Disponível em: < <https://doi.org/10.1292/jvms.12-0077> > Acessado em 26 de março de 2024.

MAMMADOVA N.; CASSMANN E.; GREENIEE J.J. Successful transmission of the chronic wasting disease (CWD) agent to white-tailed deer by intravenous blood transfusion. **Res Vet**



Sci, v.133, p.304–306, dec 2020. Disponível em: < <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.10.009> > Acessado em 26 de março de 2024.

MILLER, M.W., *et al.* Environmental sources of prion transmission in mule deer. **Emerging Infectious Diseases**, v.10, n.6, p.1003-1006, jun 2004. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3323154/#:~:text=Whether%20transmission%20of%20the%20chronic,by%20excreta%20or%20decomposed%20carcasses.> > Acessado em 23 de março de 2024.

MISHRA, M.; TIWARI, S.; GOMES, A.V. Protein purification and analysis: next generation western blotting techniques. **Expert Rev. Proteomics**, v.14, n.11, p. 1037-1053, 2017.

MOAZAMI-GOUDARZI, K., *et al.* Review on *PRNP* genetics and susceptibility to chronic wasting disease of *Cervidae*. **Vet Res**, v.52, n.128, oct 2021. Disponível em: < <https://doi.org/10.1186/s13567-021-00993-z> > Acessado em 23 de março de 2024.

MORALES, R. *et al.* Amplificação cíclica de dobramento incorreto de proteínas de príons infecciosos. **Nat. Protoc**, v.7, p.1397–1409, 2012. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/nprot.2012.067>> Acessado em 3 de junho de 2024.

MYSTERUD A., *et al.* Antler cannibalism in reindeer. **Sci Rep**, v.10, n.22168, dec 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s41598-020-79050-2>> Acessado em 2 de abril de 2024.

NALLS A.V., *et al.* Mother to offspring transmission of chronic wasting disease in reeves' muntjac deer. **PLoS One**, v.8, n.71844. Disponível em: <<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0071844>> Acessado em 2 de abril de 2024.

NICHOLSON, E.M., *et al.* Detecção da isoforma associada à doença da proteína prion em tecidos fixados em formalina por Western Blot. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 19, n. 5, p. 548-552, set 2007. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17823401/>> Acessado em 2 de maio de 2024.

OSTERHOLM M.T., *et al.* Chronic wasting disease in cervids: implications for prion transmission to humans and other animal species. **MBio**, july 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1128/mBio.01091-19>> Acessado em 2 de abril de 2024.



PAN, K-M., *et al.* Conversion of alpha-helices into beta-sheets features in the formation of the scrapie prion proteins. **Proceedings of the National Academy of Science USA**, v.90, n.23, p.10962-10966, dec 1993. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC47901/>> Acessado em 2 de abril de 2024.

PANI, Alessandra & Mandas, Antonella & Dessì, Sandra. (2010). Cholesterol, Alzheimer's Disease, Prion Disorders: A menage a trois?. **Current drug targets**. 11. 1018-31. 10.2174/1389210204504744501.

PETERS, J., *et al.* Immunohistochemical Diagnosis of Chronic Wasting Disease in Preclinically Affected Elk from a Captive Herd. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.12, n.6, p.579-582, nov 2000. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11108464/>> Acessado em 2 de abril de 2024.

PRUSINER, S.B. Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. **Science**, v.216, n.4542, p.136-44, apr 1982. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6801762/> > Acessado em 30 de março de 2024.

PRUSINER, S.B. Química e biologia de príons. **Bioquímica**, v.31, p.12277–12288, 1998.

PRUSINER, S.B. Introduction: Prion diseases. *Seminars in Virology*, Amsterdam. **NED**, v. 7, p. 157, 1996.

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

RACE, B., *et al.* Lack of transmission of chronic wasting disease to cynomolgus macaques. **J Virol**, v.92, n.550, p.18, jun 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1128/JVI.00550-18>> Acessado em 30 de março de 2024.

RACE, B., *et al.* Susceptibilities of nonhuman primates to chronic wasting disease. **Emerg Infect Dis**, v.15, n.9, p.1366–1376, set 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.3201/eid1509.090253>> Acessado em 30 de março de 2024.



RACE, B., *et al.* Chronic wasting disease agents in nonhuman primates. **Emerg Infect Dis**, v.20, n.5, p.833–837, may 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.3201/eid2005.130778>> Acessado em 10 de abril de 2024.

RICCI., *et al.* Chronic wasting disease (CWD) in cervids. **EFSA Journal**, v.15, n1, jan 2017. Disponível em: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.2903/j.efsa.2017.4667> Acessado em Julho de 2024.

ROVNYAGINA, N.R., *et al.* Moléculas de tioflavina T livres e ligadas com relaxamento ultrarrápido: implicações para avaliação da ligação e agregação de proteínas. **Letra de Física Laser**, v.16, n.7, 2019. Disponível em: <<https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1612-202X/ab2244>> Acessado em 10 de abril de 2024.

SALMAN, M. D. Chronic wasting disease in deer and elk: scientific facts and findings. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v.65, n.7, p.761-768, jul 2003. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12939501/>> Acessado em 12 de abril de 2024.

SANDBERG, M.K., *et al.* Chronic wasting disease prions are not transmissible to transgenic mice overexpressing human prion protein. **J Gen Virol**, v.91, n.10, p.2651–2657, oct 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1099/vir.0.024380-0>> Acessado em 1 de abril de 2024.

SIGURDSON, C. J.; AGUZZI, A. Chronic wasting disease. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1772, n.6, p.610-618, ju 2007. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17223321/>> Acessado em 4 de abril de 2024.

SPRAKER, T.R., *et al.* Spongiform encephalopathy in free-ranging mule deer (*Odocoileus hemionus*), white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) and Rocky Mountain elk (*Cervus elaphus nelsoni*) in northcentral Colorado. **J Wildl Dis**, v.33, n.1, p.1-6, jan 1997. Disponível em: <<https://doi.org/10.7589/0090-3558-33.1.1>> Acessado em 3 de abril de 2024.

WILD., *et al.* Preclinical diagnosis of chronic wasting disease in captive mule deer (*Odocoileus hemionus*) and White-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) using tonsillar biopsy. **Journal of General Virology**, v.83, n.10, oct 2002. Disponível em: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jgv/10.1099/0022-1317-83-10-2629> Acessado em julho de 2024.



WILLIAMS, E.S.; MILLER, M. W. Chronic wasting disease in deer and elk in North America. **Revue Scientifiqueet Technique**, v.21, n.2, p.305-316, aug 2002. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11974617/>> Acessado em 29 de março de 2024.

WILLIAMS, E.S. Doença debilitante crônica. **Veterinary Pathology**, v.42, n.5, p.530–549, 2005. Disponível em: <<https://doi.org/10.1354/vp.42-5-530>> Acessado em 29 de março de 2024.

WILLIAMS, E.S; YOUNG, S. Spongiform encephalopathies in Cervidae. **Revue Scientifiqueet Technique**, v.11, n.2, p.551-567, jun 1992. Disponível em: <<https://doc.woah.org/dyn/portal/index.xhtml?page=alo&aloId=26204>> Acessado em 29 de março de 2024.