



COLETA DO ENCÉFALO DE
BOVINOS
PARA EXAME LABORATORIAL

Claudio S.L. de Barros, Med. Vet., PhD.
Professor Titular
Chefe do Setor de Patologia Veterinária
Departamento de Patologia
Universidade Federal de Santa Maria
Santa Maria, Rio Grande do Sul

COLETA DO ENCÉFALO DE BOVINOS PARA EXAME LABORATORIAL

1 - Introdução

A encefalopatia espongiforme bovina (BSE), conhecida em todo o mundo como “doença da vaca louca”, é uma doença degenerativa crônica que afeta o sistema nervoso central de bovinos. A doença foi diagnosticada pela primeira vez na Grã-Bretanha em 1986^{1,2} e causou grande impacto econômico na pecuária do Reino Unido. Foi também confirmada em bovinos nativos da Áustria, Bélgica, Canadá, República Tcheca, Dinamarca, Eslováquia, Eslovênia, Espanha, Finlândia, França, Alemanha, Holanda, Itália, Irlanda, Israel, Japão, Liechtenstein, Luxemburgo, Portugal e Suíça. A preocupação de que a BSE apresentasse risco para os consumidores de carne bovina esteve presente desde o início da epidemia na Inglaterra. Essa preocupação atingiu níveis extremamente altos quando, na terceira semana de março de 1996, num comunicado ao parlamento inglês, o Secretário do Estado da Saúde da Inglaterra anunciou que a ocorrência de uma nova variante da doença neurológica de humanos, Creutzfeldt Jakob (CJD), era provavelmente relacionada à BSE^{1,2}. Um dos resultados dessa crescente preocupação é que as autoridades sanitárias internacionais estão solicitando dos países exportadores de carne que apresentem evidências de que seus rebanhos são livres da doença. Isso equivale a dizer que esses países devem ter um controle capaz de atestar que seu rebanho bovino é livre de BSE, identificar as doenças que afetam os sistema nervoso central e reconhecer casos de BSE, se eles ocorrerem.

O objetivo deste manual é fornecer uma orientação para coleta de material para o diagnóstico histológico de BSE e de outras doenças do sistema nervoso de bovinos. Embora a BSE não ocorra no Brasil, é necessário

manter-se um esquema de vigilância para essa doença. Constam aqui instruções para o exame preliminar do tecido nervoso, seleção e remessa ao laboratório de diagnóstico. As enfermidades que afetam direta ou indiretamente o sistema nervoso de bovinos no Rio Grande do Sul foram revisadas recentemente¹⁰ e presume-se que a distribuição no restante do Brasil seja, pelo menos, semelhante, com variações quanto à prevalência das doenças em certas regiões. Essas doenças serão levadas em consideração na coleta do material.

Para que o exame do sistema nervoso de bovinos atinja um número significativo de casos, espera-se poder contar com o material recebido pela rede de diagnóstico para raiva, já existente no país. Por essa razão, procurou-se incluir instruções que contemplem a coleta de material, possibilitando o exame para o diagnóstico de raiva, da BSE e de outras enfermidades do sistema nervoso de bovinos¹⁰.

2 - Recomendações gerais

2.1 As doenças do sistema nervoso central (SNC) freqüentemente não apresentam lesões óbvias à necropsia. Por isso, o patologista que examina o material no laboratório depende de um histórico e de observações clínicas confiáveis para orientação sobre a natureza da doença neurológica⁹. Um formulário com os principais dados referentes ao(s) animal(ais) afetado(s), aos achados epidemiológicos e clínicos e aos principais achados de necropsia deve ser preenchido (Anexo 1). A remoção e coleta de amostras do sistema nervoso requerem tempo e esforço. É, portanto, necessário estabelecer critérios para realização dessas tarefas. Se não houver sinais clínicos e histórico sugestivos de doença neurológica, é pouco provável que o exame do sistema nervoso revele lesões significativas. Nos casos em que não há histórico clínico ou ele é pouco preciso ou quando a morte do animal ocorreu sem sinais premonitórios, recomenda-se o exame neuropatológico.

2.2 Informe sobre a data e hora da morte, o tempo decorrido entre a morte e a necropsia e sobre qualquer demora entre coleta e fixação do material. Esses dados são importantes para a realização do exame neuropatológico. Doenças que oferecem risco para a saúde humana (por ex., raiva, listeriose) devem ser consideradas antes da realização dos exames e os cuidados necessários devem ser tomados. O uso de luvas de borracha e de um visor (óculos) durante a abertura do crânio é recomendado.

2.3 Se o material for destinado ao exame histológico, é extremamente importante que o manuseio do tecido nervoso ainda não-fixado seja o mínimo possível. O exame macroscópico detalhado deve, por isso, ser feito após a fixação. O manuseio do tecido nervoso não-fixado causa artefatos que prejudicam a avaliação histológica das lesões.

2.4 Tanto quanto possível, o exame macroscópico sistemático do encéfalo deve ser feito no órgão fixado (a fixação endurece os tecidos). Isso facilita a seleção de áreas apropriadas para o diagnóstico de doenças específicas e permite que se determine a distribuição das lesões. A distribuição das lesões no sistema nervoso (i.é, bilaterais, simétricas, focais, multifocais, na substância branca, na substância cinzenta) é característica para várias doenças e deve ser anotada. Muitas vezes o encéfalo não pode ser fixado inteiro, como seria o ideal, pois há necessidade de conservar partes do órgão não fixadas para exames virológicos e bacteriológicos.

2.5 Não misture tecidos de animais diferentes, mesmo que representem casos de uma mesma doença. Tecidos de cada animal devem ser identificados claramente.

3 - Retirada do encéfalo

A coleta não criteriosa e aleatória de numerosas amostras de encéfalo não-fixado pode dificultar o exame neuropatológico no laboratório. Quando houver vários animais para necropsia, num surto de uma doença neurológica, o tempo para a retirada do encéfalo pode ser um fator limitante. Nesse caso, selecione alguns animais para o exame neuropatológico. Colha o material tentando eliminar, ou diminuir ao máximo, danos ao tecido nervoso, causados durante a sua retirada.

3.1 Através de um acesso ventral, remova a cabeça, desfazendo a articulação atlanto-occipital. Nesse ponto, examine a superfície e a cápsula das articulações e o aspecto físico do líquido cefalorraquidiano (LCR) que flui quando a dura-máter é seccionada. Em casos com pouco tempo decorrido desde a morte, pode-se retirar uma amostra asséptica de LCR antes de seccionar-se a dura-máter.

3.2 Disseque a pele e os músculos da cabeça. Abra a cavidade craniana seguindo as linhas mostradas na Figura 1. Isso pode ser feito com serra comum ou cutelo do tipo usado por açougueiros. O encéfalo é, então, exposto com a dura-máter intacta.

3.3 Usando tesouras, retire a dura-máter, seccionando a foice do cérebro e o tentório (tenda) do cerebelo (Figura 2). Com a cabeça do bovino inclinada, remova o encéfalo seccionando os nervos cranianos. Sem o corte prévio dessas estruturas, é impossível remover o cérebro intacto. Evite ao máximo manusear, pressionar e apertar o tecido nervoso durante o processo de remoção, para evitar artefatos histológicos que prejudiquem o exame no laboratório.

3.4 O gânglio do nervo trigêmeo (gânglio de Gasser) e a *rete mirabile* carotídea devem ser colhidos junto com a hipófise (Figura 3). O exame desse par de gânglios nervosos do 5º par de nervos cranianos é importante para o diagnóstico de doenças como raiva e meningoencefalite por herpesvírus bovino (BHV-5). Nessas duas doenças, freqüentemente se observa inflamação (ganglioneurite) do gânglio do nervo trigêmeo. Em casos de febre catarral maligna¹¹, os vasos da *rete mirabile* mostram lesão característica (vasculite).

3.5 Examine o encéfalo para possíveis lesões macroscópicas, pesquisando possíveis assimetrias (i. é, algumas estruturas mais volumosas que outras) e alterações da cor (por ex., hiperemia das meninges, congestão do córtex em casos de babesiose por *Babesia bovis*, córtex amarelo-castanho em casos de polioencefalomalacia).

4 - Seleção das amostras a serem colhidas

O material para exames virológicos e bacteriológicos deve ser colhido antes da fixação do encéfalo. Por outro lado, o congelamento torna o encéfalo inadequado para o exame histológico. Como muitos casos necessitam da realização dos três tipos de exame, um meio-termo deve ser alcançado.

4.1 Coleta de amostras para a bacteriologia e virologia

4.1.1 Inicialmente remova o cerebelo, cortando no nível dos pedúnculos cerebelares. Introduza a ponta de uma lâmina no 4º ventrículo pela parte caudal do cerebelo (Figura 4). Corte rostral e horizontalmente os pedúnculos cerebelares separando o cerebelo do bulbo num dos lados e, depois, no outro. Ao findar essa operação, o cerebelo estará completamente separado do encéfalo (Figura 5).

4.1.2 Corte na altura do tálamo, separando o tronco encefálico do resto do encéfalo (Figura 6). Ao findar essa operação, você obterá três partes: a) o tronco encefálico, b) o cerebelo, c) o restante do encéfalo (Figura 7).

4.1.3 Para obter a amostra 1, retire uma fatia sagital (cerca de 0,5 cm) do verme do cerebelo (Figura 8).

4.1.4 Para obter a amostra 2, corte um segmento transversal de cerca de 2,5 cm da medula espinhal cervical (Figura 9).

4.1.4 A amostra 3 é obtida cortando-se uma fatia do tálamo cerca de 1 cm de espessura (Figura 10).

4.1.5 A amostra 4 é obtida dividindo um dos hemisférios cerebrais na altura do quiasma óptico, separando a parte caudal do restante (Figura 11).

4.1.6 Nesse ponto, as quatro amostras a serem enviadas para o exame virológico ou bacteriológico foram obtidas (Figura 12). Os fragmentos selecionados são adequados para o exame de raiva^{3,8} e para exame de outras doenças causadas no sistema nervoso de bovinos por outros vírus e bactérias^{9,11}. Essas três amostras devem ser conservadas em um refrigerador e remetidas refrigeradas. No entanto, se o tempo entre a coleta e a remessa for maior que 24 horas é aconselhável congelar as amostras para a remessa, mas nunca fixá-las.

4.1.7 O restante do encéfalo (Figura 13) deve ser fixado conforme instruções a seguir (item 4.2), pois destina-se ao exame histológico. Deve-se também fixar em formol a 10% e remeter, junto com o material mostrado na Figura 3, o bloco de tecidos constituído pela rede admirável carotídea, o gânglio do nervo trigêmeo e a hipófise.

4.2 Coleta e fixação de material para exame histológico

4.2.1 Para fixar o encéfalo, formol a 10% é o fixador indicado. Para preparar um litro dessa solução, use 100 ml de formaldeído (35-40%) e 900 ml de água de torneira. Existe uma confusão freqüente entre aldeído fórmico (ou **formaldeído**) e formalina comercial (ou **formol**). Formaldeído é um gás com o qual se prepara uma solução aquosa de 35-40%. Essa solução constitui a formalina comum.

O termo formalina refere-se, portanto, à apresentação comercial da solução de formaldeído. Assim, formol (ou formalina) a 10% representa uma solução preparada misturando-se 10 ml de formalina comercial (formaldeído a 35-40%) com 90 ml de água⁴. O formol tamponado fornece uma fixação com melhores resultados, mas não é essencial, pois a fórmula dada acima permite um exame histológico aceitável do encéfalo. A fórmula para preparação de um litro de formol tamponado é dada a seguir⁷.

Reagentes

Solução de 35-40% de formaldeído (formalina)	100ml
Água destilada	900ml
Fosfato monobásico de sódio	4g
Fosfato dibásico (anidro) de sódio	6,5g

Procedimento

Misture previamente os tampões fosfato em água quente para que se dissolvam, antes de adicionar o restante da água com solução de formaldeído. Adicione o formaldeído após esfriar a solução para diminuir os vapores. Inverta o recipiente várias vezes para permitir uma boa mistura. Faça a mistura e use a solução apenas em áreas bem ventiladas.

Observações

Mesmo que essa solução de formol seja tamponada, com o tempo o pH vai baixar, provocando o aparecimento de pigmentos de hematina ácida em tecidos congestos (que têm muito sangue).

4.2.2 Coloque o encéfalo num volume de fixador que seja, pelo menos, 10 vezes maior que o volume de tecido a ser fixado. Assim, são necessários 6 litros do fixador para fixar o encéfalo inteiro de um bovino adulto (600 cm³). O tempo mínimo de fixação varia com o tamanho do encéfalo. Um encéfalo de camundongo necessita 24 horas para ser fixado; um encéfalo de ovelha, aproximadamente 4 dias; um encéfalo de bovino adulto, uma semana. Após a fixação, o tecido necessitará uma quantidade muito menor de fixador, facilitando o transporte ao laboratório.

Ao fixar o encéfalo, evite misturá-lo com outros materiais que possam comprimir o tecido nervoso, danificando-o para o exame histológico.

5 - Remessa do material ao laboratório

5.1 Cada material de encéfalo deve ser enviado em vasilhame não deformável (por ex., um vasilhame plástico duro), ao invés de ser enrolado em algodão ou gaze. O vasilhame deve ser completamente preenchido pelo fixador, de modo a excluir o ar, amortecendo, assim, os efeitos do movimento. Em casos urgentes, mesmo cérebros não completamente fixados podem ser transportados, mas, nesse caso, devem ser fornecidas informações sobre o tempo de fixação.

5.2 É importante que a embalagem que contém o encéfalo (tanto as partes não fixadas como as fixadas) a ser remetido ao laboratório seja hermeticamente fechada para evitar vazamentos e exposição de pessoas que manuseiem o pacote. Qualquer remessa deve ser acompanhada do formulário do Anexo 1, preenchido.

6 - Referências

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

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

7 - Glossário

Aracnóide: membrana delgada que recobre o encéfalo e a medula espinhal.

BSE: encefalopatia espongiforme dos bovinos (do inglês, Bovine Spongiform Encephalopathy).

CJD: doença de Creutzfeldt Jakob. Doença neurológica de humanos causada por príon, com lesões semelhantes às da BSE.

Dura-máter: membrana mais espessa que recobre o encéfalo e a medula espinhal.

Foice do cérebro: prega da dura-máter em forma de foice, localizada entre os hemisférios cerebrais. Sua parte rostral fixa-se na crista *galli* e a parte caudal se junta ao tentório do cerebelo⁴.

Gânglio: acúmulo de neurônios fora do sistema nervoso central.

Leptomeninges: conjunto formado pela pia-máter e aracnóide.

Paquimeninge: dura-máter.

Pia-máter: membrana delgada que recobre o cérebro e a medula espinhal.

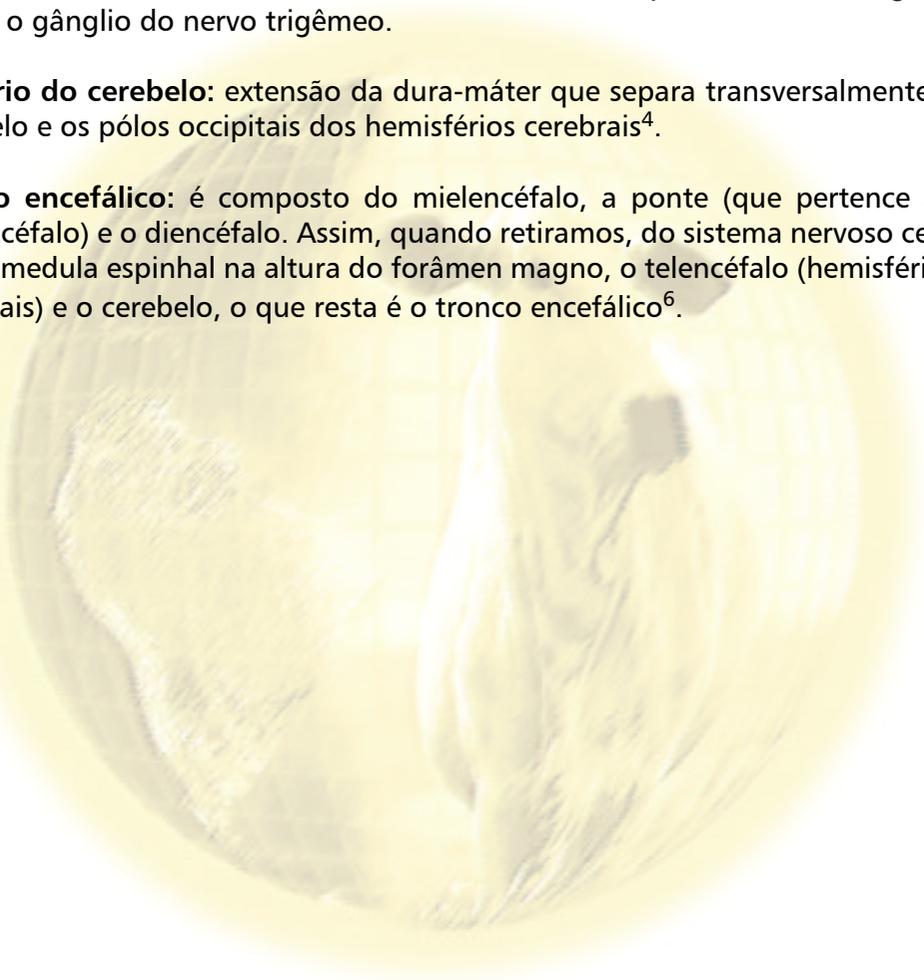
Príons: um nome dado a moléculas protéicas consideradas os agentes etiológicos das encefalopatias espongiformes, como a BSE. Essa proteína é central para o desenvolvimento dessas doenças. Em indivíduos sadios ela pode ser digerida por uma protease (enzima que digere proteínas). Nos indivíduos com doenças causadas por príons (por ex., BSE), essa proteína sofre uma modificação pós-translacional, de maneira a se tornar resistente à digestão de proteases.

O nome príon é derivado da expressão inglesa *proteinaceous infectious*. Deveria, por lógica, ser denominada "proin", mas a expressão príon era mais facilmente pronunciável¹.

Rete mirabile (rede admirável): uma rede intercalada no trajeto de uma artéria⁴. A rede admirável carotídea fica de cada lado da hipófise, entre essa glândula e o gânglio do nervo trigêmeo.

Tentório do cerebelo: extensão da dura-máter que separa transversalmente o cerebelo e os pólos occipitais dos hemisférios cerebrais⁴.

Tronco encefálico: é composto do mielencéfalo, a ponte (que pertence ao metencéfalo) e o diencéfalo. Assim, quando retiramos, do sistema nervoso central, a medula espinhal na altura do forâmen magno, o telencéfalo (hemisférios cerebrais) e o cerebelo, o que resta é o tronco encefálico⁶.



ANEXO I

Formulário de requisição de exames

Material nº: Laboratório / nº do protocolo / ano Município: _____ UF: _____
 Veterinário Remetente: _____ CRMV-UF nº: _____
 Endereço: _____ Telefone: () _____
 Email: _____ Fax: () _____

Para preenchimento exclusivo quando for bovino importado

Nome do animal: _____ Número do animal: _____ País de Origem: _____
 Com sintomatologia nervosa? Sim Não Para indenização? Sim Não

Proprietário: _____ Propriedade: _____
 Endereço: _____ Município: _____ UF: _____
 Email: _____ Telefone: () _____ Fax: () _____

Espécie: Bovina Ovina Caprina Raça: _____ Idade: _____ meses
 Haviam outras espécies afetadas? Sim Não Categoria afetada: ♂ ♀
 Número de animais: no rebanho (_____) doentes (_____) mortos (_____)
 O animal morto já foi vacinado para: Raiva Clostridiose Outras _____

Data do início do surto/doença: ____/____/____ Duração do surto/doença: _____
 Tipos de sinais clínicos apresentados:

. Morte súbita <input type="checkbox"/> . Depressão <input type="checkbox"/> . Ataxia <input type="checkbox"/> . Opistótono <input type="checkbox"/>	. Cegueira <input type="checkbox"/> . Incoordenação <input type="checkbox"/> . Tetania <input type="checkbox"/> . Agressividade <input type="checkbox"/>	. Torção <input type="checkbox"/> . Convulsões <input type="checkbox"/> . Dismetria <input type="checkbox"/> . Tremores <input type="checkbox"/>	. Paralisia flácida dos membros posteriores <input type="checkbox"/> . Paralisia flácida dos membros anteriores <input type="checkbox"/> . Com paralisia, mais ainda alerta <input type="checkbox"/> . Nistagmo <input type="checkbox"/>
---	---	---	---

Duração dos sinais clínicos (desde o início até a morte): _____ horas
 Haviam animais que se recuperaram dos sinais clínicos? Sim Não Que percentual? _____ %

Dia e hora da morte: ____/____/____ às _____:_____
 Tempo decorrido entre a morte e a coleta do material: _____ horas
 Tempo decorrido entre a morte e a fixação do material: _____ horas minuto
 Material conservado em: _____

Veterinário responsável pela coleta: _____ CRMV-UF nº: _____
 Endereço: _____ Telefone: () _____
 Email: _____ Fax: () _____

Observações:

Local / Data: _____, ____/____/____

ANEXO 2

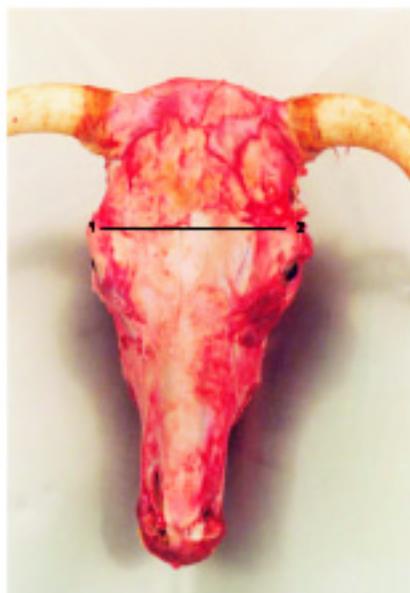


Figura 1 A



Figura 1 B



Figura 1 C

Figura 1. Remoção do encéfalo. As linhas marcam os locais onde o crânio deve ser cortado para a retirada do encéfalo. **A.** A primeira linha liga dois pontos (1 e 2) imediatamente anteriores às órbitas. **B.** A segunda linha une os pontos 1 e 2 ao forâmen magno do occipital. **C.** A mesma linha mostrada em *B* é visualizada na porção posterior da cabeça.

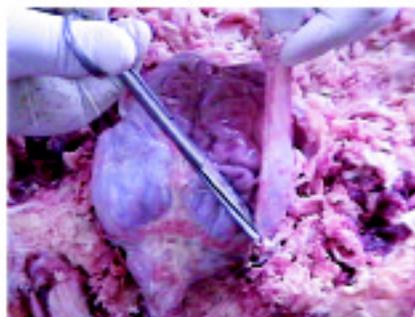


Figura 2 A



Figura 2 B

Figura 2. Usando tesouras, retire a dura-máter, seccionando a foíce do cérebro (A) e o tentório (tenda) do cerebelo (B).

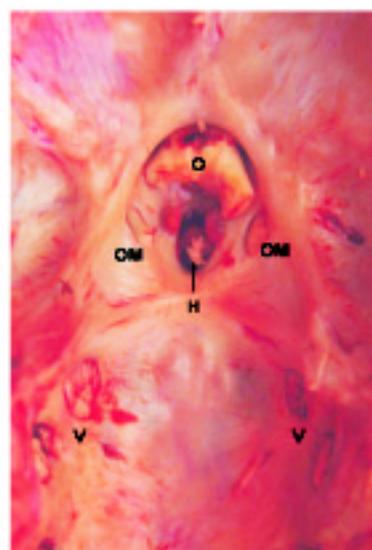


Figura 3 A

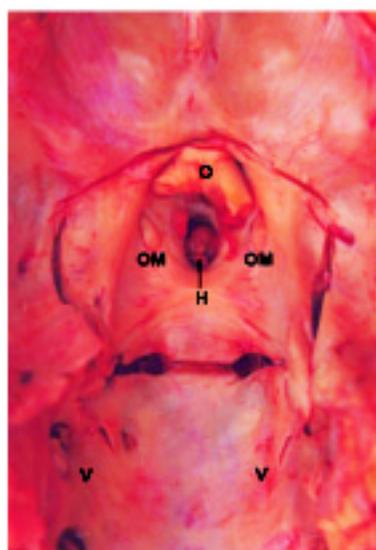


Figura 3 B

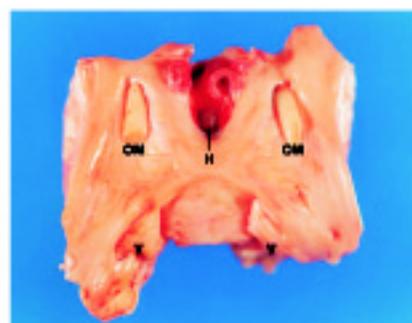


Figura 3 C

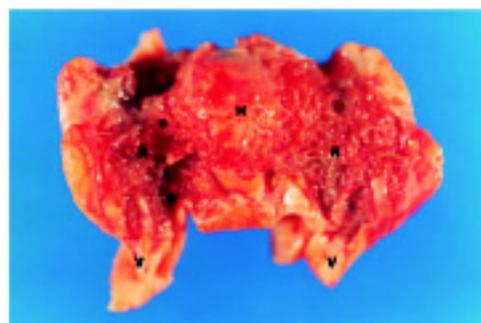


Figura 3 D

Figura 3. O gânglio do nervo trigêmeo (5º par craniano, gânglio de Gasser), a *rete mirabile* carotídea e a hipófise devem ser colhidas em uma peça só (monobloco 1). **A.** Assoalho da cavidade craniana mostrando as referências anatômicas para retirada do monobloco 1. Nervo trigêmeo (V), nervo oculomotor (OM), nervo óptico (O), localização da hipófise (H). **B.** A figura mostra que deve ser feito pelo bisturi para a retirada do monobloco 1. São identificadas as seguintes estruturas. Nervo trigêmeo (V), nervo oculomotor (OM), nervo óptico (O), localização da hipófise (H). **C.** Vista dorsal do monobloco 1. São identificadas as seguintes estruturas. Nervo trigêmeo (V), nervo oculomotor (OM), localização da hipófise (H). **D.** Vista ventral do monobloco 1. São identificadas as seguintes estruturas. Nervo trigêmeo (V), gânglio do nervo trigêmeo (G) nervo oculomotor (OM), *rete mirabile* (R) e hipófise (H). Esse monobloco deve ser fixado em formol a 10% para exame histopatológico.



Figura 4. Introduza a ponta de uma lâmina no 4º ventrículo, pela parte caudal do cerebelo. Corte rostral e horizontalmente os pedúnculos cerebelares, separando o cerebelo do bulbo num dos lados e, depois, no outro.

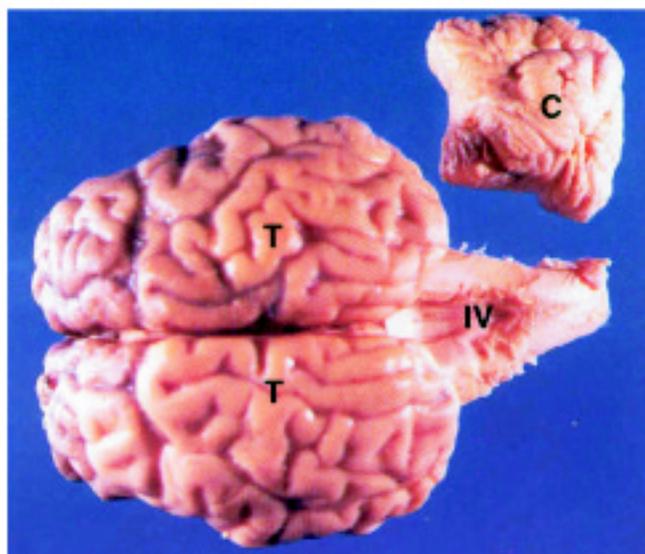


Figura 5. Ao finalizar a operação descrita na Figura 4, o cerebelo estará completamente separado do encéfalo. Os hemisférios telencefálicos (T), o 4º ventrículo (IV) e o cerebelo (C) estão identificados na figura.

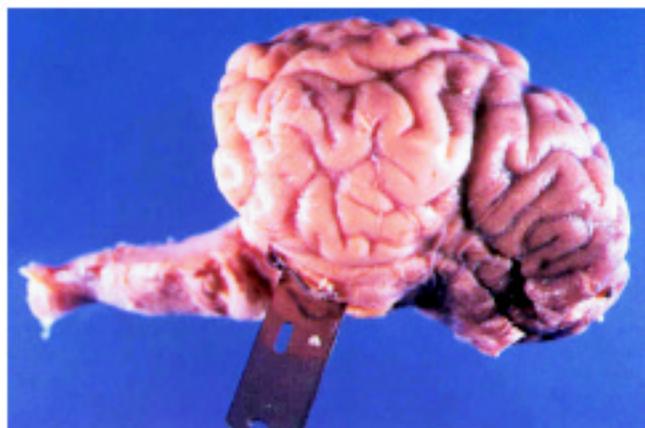


Figura 6. Separe o tronco encefálico do resto do encéfalo, cortando em ambos os lados, na altura do tálamo, como mostra a figura.



Figura 7. Ao finalizar a operação descrita na Figura 6, o encéfalo estará dividido em três partes: o tronco encefálico (acima, à direita), o cerebelo (abaixo, à direita) e os hemisférios telencefálicos.



Figura 8 A



Figura 8 B

Figura 8 A. Para a obtenção da amostra 1, a ser enviada para exames virológicos e/ou bacteriológicos, uma fatia de cerca de 0,5 cm é retirada ao longo do verme do cerebelo. **B.** Esta fatia (1) deve ser refrigerada ou congelada.

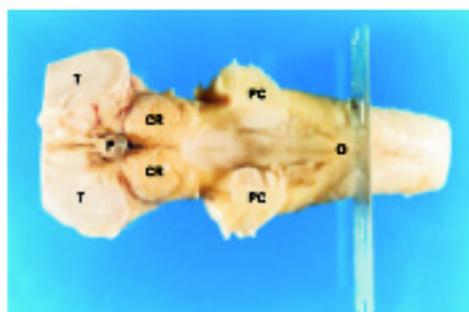


Figura 9 A



Figura 9 B

Figura 9 A. Para obter a amostra 2, corte um segmento transversal de aproximadamente 2,5 cm da medula cervical, no ponto onde o tronco encefálico foi separado da medula cervical. Óbex (O), pedúnculos cerebelares (PC) colículos rostrais (CR), pineal (P) e tálamo (T). B. Este segmento (2) deve ser refrigerado ou congelado.



Figura 10. Para obter a amostra 3, corte uma segmento transversal do tálamo (T) de cerca de 1 cm de espessura.

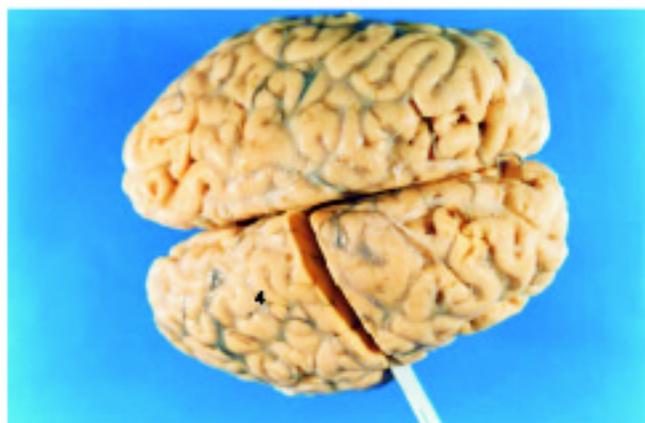


Figura 11. A amostra 4 é obtida dividindo um dos hemisférios cerebrais na altura do quiasma óptico, separando a parte caudal (4) do restante.

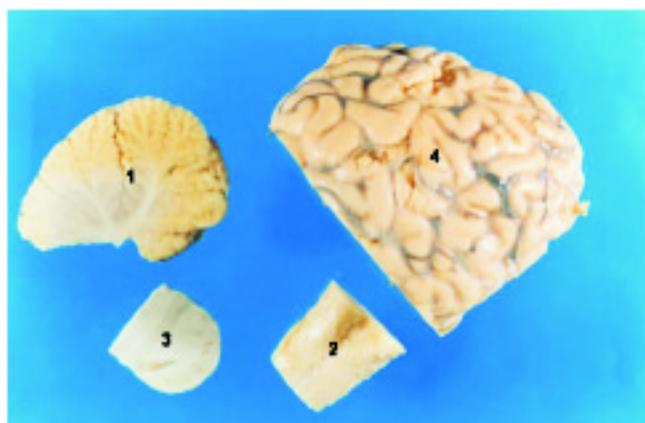


Figura 12. Essas são as quatro amostras para o exame virológico ou bacteriológico. 1, fatia do cerebelo seccionada o longo do verme; 2, segmento de medula cervical; 3, fatia do tálamo e 4, metade caudal de um dos hemisférios telencefálicos. Esses fragmentos devem ser remetidos refrigerados ou congelados.



Figura 13. O material mostrado nesta figura é o que resta após a retirada das amostras 1-4 para os exames virológicos/bacteriológicos. Esse material é formado pelo tronco encefálico completo (acima à direita), duas partes do cerebelo (abaixo à direita) e $\frac{1}{3}$ dos hemisférios telencefálicos. Destina-se ao exame histológico e deve ser fixado em formol a 10%.