

CEAEE

**Comissão de Estudo e Acompanhamento das Encefalopatias
Espongiformes Transmissíveis em Portugal**

MANUAL BSE

**Aspectos científicos e regulamentares
das Encefalopatias Espongiformes
Transmissíveis**



Ministério da Saúde
Direcção-Geral da Saúde

CEAEE – Comissão de Estudo e Acompanhamento das Encefalopatias Espongiformes transmissíveis em Portugal

Manual BSE: aspectos científicos e regulamentares das encefalopatias espongiformes transmissíveis – Lisboa: Direcção-Geral da Saúde, 2000. – 90 p

ISBN 972-9425-85-X

Manuais/Doenças de Prion-transmissão/Encefalopatia espongiforme bovina – transmissão/Animal/ Humano/Portugal/Europa

Editor

**Direcção-Geral da Saúde
Al. D. Afonso Henriques, 45
1049-005 Lisboa
Tel. 218430500 Fax 218430530
dgsaude@dgsaude.min-saude.pt
<http://www.dgsaude.pt>**

Capa

Vitor Alves

Impressão

**EUROPRESS, Editores e Distribuidores de Publicações, Lda.
Praceta da República, Loja A, Póvoa de Santo Adrião
2675-183 PÓVOA DE SANTO ADRIÃO
Tel.: 21 938 14 50 • Fax: 21 938 14 52 • LISBOA – PORTUGAL**

Tiragem

1000

Depósito Legal

161614/01

MEMBROS DA CEAAE

JOÃO VASCONCELOS COSTA – Director do Instituto de Higiene e Medicina Tropical. Professor da Universidade Nova de Lisboa.

M. ABREU DIAS – Consultor privado de Tecnologia e Higiene dos Alimentos.

ALEXANDRE GALO – Director do Laboratório Nacional de Investigação Veterinária.

CARLOS LIMA – Assistente Hospitalar de Neuropatologia. Responsável pela Unidade de Neuropatologia do Hospital Egas Moniz.

ARMANDO LOUZÃ – Professor de Saúde Pública Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa.

JOSÉ PIMENTEL – Director do Laboratório de Neuropatologia do Hospital de Santa Maria. Professor da Faculdade de Medicina de Lisboa.

AZEVEDO RAMOS – Director da delegação do Porto do Laboratório Nacional de Investigação Veterinária.

M. FÁTIMA REIS – Investigadora Principal e colaboradora do Laboratório de Toxicologia e Nutrição do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge.

CARLOS SINOGAS – Professor da Universidade de Évora. Consultor Científico no Instituto Nacional da Farmácia e do Medicamento (INFARMED).

ÍNDICE GERAL

| | |
|--|-----------|
| PREÂMBULO | 7 |
| NOTA HISTÓRICA SOBRE AS ENCEFALOPATIAS ESPONGIFORMES TRANSMISSÍVEIS ANIMAIS | |
| Alexandre Galo | 9 |
| NOTA HISTÓRICA SOBRE AS ENCEFALOPATIAS ESPONGIFORMES TRANSMISSÍVEIS HUMANAS | |
| José Pimentel | 15 |
| CLÍNICA E PATOLOGIA DAS ENCEFALOPATIAS ESPONGIFORMES TRANSMISSÍVEIS HUMANAS | |
| José Pimentel | 17 |
| MEDIDAS DE DESCONTAMINAÇÃO E MANEJO DOS TECIDOS INFECTADOS | |
| José Pimentel | 19 |
| CLÍNICA E PATOLOGIA DAS ENCEFALOPATIAS ESPONGIFORMES ANIMAIS | |
| Azevedo Ramos | 21 |
| EPIDEMIOLOGIA E TRANSMISSÃO DA BSE AO HOMEM E A NOVA VARIANTE DA DOENÇA DE CREUTZFELD-JAKOB | |
| Carlos Lima | 29 |
| BIOLOGIA E MECANISMOS DE ACÇÃO DOS AGENTES DAS ENCEFALOPATIAS ESPONGIFORMES TRANSMISSÍVEIS | |
| João Vasconcelos Costa | 31 |
| A VIGILÂNCIA E O CONTROLO DAS ENCEFALOPATIAS ESPONGIFORMES TRANSMISSÍVEIS NA EUROPA – A BSE EM PORTUGAL | |
| Alexandre Galo | 39 |
| EPIDEMIOLOGIA E TRANSMISSIBILIDADE DAS ENCEFALOPATIAS ESPONGIFORMES TRANSMISSÍVEIS ANIMAIS | |
| Armando Louzã | 47 |
| PREVENÇÃO DA PROPAGAÇÃO DA BSE E MINIMIZAÇÃO DA EXPOSIÇÃO HUMANA POR VIA ALIMENTAR | |
| M. Fátima Reis, M. Abreu Dias | 57 |
| A MINIMIZAÇÃO DO RISCO DE TRANSMISSÃO DA BSE POR MEDICAMENTOS DE ORIGEM ANIMAL E HUMANA | |
| Carlos Sinogas | 69 |
| GLOSSÁRIO | 81 |
| BIBLIOGRAFIA | 83 |

PREÂMBULO

Desde o princípio da década de oitenta, nenhum outro grupo de doenças, com excepção da SIDA e do cancro, terá sido objecto de tanta controvérsia e atenção por parte da população e dos media como as que são tratadas nesta publicação. A razão parece óbvia. Pelo facto de atingirem algumas espécies animais e a humana e pela comprovação de que a encefalopatia espongiforme bovina, vulgo BSE (Bovine Spongiform Encephalopathy), é transmitida ao homem, elas "tocam" todos os estratos sócio-económicos em muitos aspectos que nos são caros, tais como o perigo de contágio, a possibilidade de hereditariedade e a certeza de morte por ausência de cura. Daí, os sentimentos despertados nas populações, que podem oscilar entre a indiferença, o medo, mais ou menos contido, e o pavor, que originam, não raramente, o abandono de hábitos alimentares saudáveis ou típicos, a não autorização de certos actos médicos e, finalmente, dificuldades económicas para os sectores que vivem da criação e comercialização de animais que consumimos na nossa alimentação.

Por outro lado, trata-se de doenças que, pelo menos na vertente humana, são extremamente raras, e sobre as quais, embora já muito se saiba, certamente muito ainda virá a descobrir-se. Este facto determina que, à luz dos conhecimentos actuais, por um lado, algumas decisões que dizem respeito ao consumo alimentar possam ter que ser deixadas ao livre arbítrio de cada um, salvaguardada que esteja a correcta e devida informação sobre o assunto, e que, por outro, seja extremamente difícil aconselhar uma política a longo ou, mesmo, a médio prazo. Na realidade, "o que é verdade hoje, pode não o ser amanhã".

O leitor poderá encontrar algumas sobreposições de assuntos nos diversos capítulos. Se bem que tivéssemos feito o possível para minimizar este aspecto, o grande número de colaboradores deste manual e a similitude de algumas das envolventes tornaram quase inevitável a sua ocorrência.

A Comissão de Estudo e Acompanhamento das Encefalopatias Espongiformes, no âmbito das suas competências, achou por bem publicar este documento com o intuito único de fornecer conhecimentos básicos e práticos sobre estas doenças, ajudando assim ao esclarecimento dos sectores populacionais que mais directamente lidam com elas, ou que, eventualmente, por elas se possam interessar. Se o tivermos conseguido, sentir-nos-emos recompensados pelo esforço despendido.

Março 2000

Comissão de Estudo e Acompanhamento das
Encefalopatias Espongiformes Transmissíveis em Portugal

NOTA HISTÓRICA SOBRE AS ENCEFALOPATIAS ESPONGIFORMES TRANSMISSÍVEIS ANIMAIS

INTRODUÇÃO

As Encefalopatias Espongiformes Transmissíveis (EET) nos animais são reconhecidas desde há muitos anos tendo sido demonstrada, em quase todas as espécies, a sua transmissibilidade. De todas elas, a mais mediatizada, pela apreensão que desde a sua descoberta, em 1986, vem causando à população consumidora de carne, é a BSE, designação derivada da terminologia Anglo-Saxónica - *Bovine Spongiform Encephalopathy*.

O aparecimento da BSE, vulgarmente conhecida como "Doença das Vacas Loucas", teve lugar no Reino Unido (RU) e pouca gente se apercebeu, na altura, da magnitude dos problemas que se seguiriam.

Tal como no Homem, as EET animais são doenças neurológicas lentas, incluídas no grupo das doenças progressivas e degenerativas do sistema nervoso central (SNC), invariavelmente de desfecho fatal.

A ocorrência de milhares de casos de BSE no RU chamou a atenção de cientistas de todo o mundo, em especial na Comunidade Europeia, para o grupo de doenças na qual esta se enquadra, por duas razões de grande importância.

Em primeiro lugar, porque desde logo se equacionou a hipótese da sua transmissão ao Homem e, em segundo, porque, decorrente desta possibilidade de elevado risco em termos de Saúde Pública, houve que acautelar tal transmissão, através de medidas que muito afectaram e afectam a economia dos Estados Membros nos quais foi identificada.

ENCEFALOPATIAS APARENTADAS À BSE NOS ANIMAIS

Apesar da BSE ter estimulado na última década e meia a investigação das EET, tanto no homem como nos animais, em especial no que diz respeito à transmissão do seu agente causal dos animais ao Homem, é pertinente esclarecer que em ambos os casos o seu agente etiológico partilha, de acordo com a maioria das teorias, as mesmas características fundamentais, dando origem a um só grupo de doenças.

Nos animais a doença foi assinalada e a sua transmissibilidade demonstrada, tal como explicitado no Quadro I, segundo a ordem cronológica do seu reconhecimento.

As seguintes características são comuns a todas estas doenças:

- ◆ São causadas por um agente não convencional, altamente resistente (conhecido por prião);
- ◆ Têm um período de incubação extremamente longo;
- ◆ São doenças progressivas e invariavelmente fatais;
- ◆ Não provocam reacções inflamatórias significativas nem reacções imunológicas;
- ◆ São causadoras de alterações degenerativas no cérebro, designadamente vacuolização;
- ◆ Induzem o aparecimento de estruturas fibrilares (**SAF – *Scrapie Associated Fibrils***), detectadas nos extractos cerebrais, através do microscópio electrónico.

Quadro I – Cronologia da identificação das encefalopatias espongiformes animais

| Doença | Espécie de ocorrência | Demonstração de transmissibilidade |
|---|------------------------------|---|
| <i>Scrapie</i> | Ovinos/caprinos | 1936 |
| Encefalopatia Transmissível do Visão (TME) | Visão | 1965 |
| Doença Crónica Emaciante (CWD) | Veado | 1983 |
| Encefalopatias Espongiformes | Antílopes vários | * |
| Encefalopatia Espongiforme Bovina (BSE) | Bovinos | 1988 |
| Encefalopatia Espongiforme Felina (FSE) | Gato | 1992 |

* Período alargado de tempo

A ORIGEM DA DOENÇA NOS BOVINOS

Os primeiros casos de BSE foram diagnosticados em Novembro de 1986, por exame histopatológico do cérebro de animais afectados, embora a análise retrospectiva de outras descrições da doença pareça indicar que o primeiro caso de BSE terá ocorrido em Abril de 1985.

O estudo epidemiológico, levado então a efeito no RU, tendo como principais premissas factores comuns no maneo nas explorações afectadas, tais como a alimentação, tratamentos, uso de pesticidas e herbicidas, trânsito animal, coabitação com ovinos, acentuou a suspeita de que o agente causal do *Scrapie* tinha ultrapassado a barreira das espécies e infectado os bovinos.

Este facto, não provado no que diz respeito à passagem do *Scrapie* ao Homem, não obstante os vários estudos efectuados, gerou grande expectativa sobre a hipótese da transmissão da doença ao Homem e consequentes riscos para a Saúde Pública.

De facto, apesar da similitude do agente causal e das características lesionais da *Scrapie* com a doença humana, tem sido rejeitada a possibilidade daquela estar na origem da afecção no ser humano.

Ora se nenhuma prova consistente até agora foi apurada relativamente à transmissão do *Scrapie* ao Homem, também é verdade que o mesmo era suposto acontecer relativamente à transmissão aos bovinos.

Todavia, a partir de 1986, altura em que os estudos epidemiológicos pareciam indicar que a BSE decorria da ingestão, pelos bovinos, de rações contendo farinha de carne e ossos de ovinos rejeitados nos matadouros, uma nova questão ganhou forma e foi levantada a hipótese de esta nova doença ser transmissível ao Homem a partir dos bovinos, ultrapassando outra barreira de espécie.

Na actualidade, as investigações já efectuadas e confirmadas deram nova visibilidade à questão e permitiram concluir que o agente causal da BSE e da nova variante da Doença de Creutzfeldt-Jakob (*vCJD - Variant of Creutzfeldt-Jakob Disease*), entretanto surgida no Homem, é o mesmo, nas suas características moleculares e biológicas, sendo contudo diverso do agente causador do *Scrapie*.

Nesta evidência, a hipótese de o consumo de farinhas de carne e osso de ovinos, afectados pelo *Scrapie*, estar na origem da doença começou a ser afastada e a possibilidade da amplificação da BSE a partir dos mesmos produtos de origem bovina ganhou forma.

Para tal assume-se que a doença já existia nos bovinos, antes da amplificação colossal que se observou, e que outros factores tiveram intervenção em todo o processo de reciclagem de despojos de matadouros e lhe vieram dar origem.

Os estudos efectuados permitem apoiar esta última teoria e centram-se na actividade industrial de reciclagem e transformação de restos de matadouro em farinha de carne e osso, com vista à incorporação nos alimentos compostos para animais, neste caso concreto, em bovinos, sobretudo de produção de leite.

A forma da curva epidémica da BSE no RU é típica de uma epizootia que progrediu a partir de um foco comum. Por exclusão, o único factor comum que pôde ser identificado como responsável foi a alimentação com produtos específicos do comércio. Cada caso detectado revelou-se um caso primário, no qual não foi possível provar a transmissão de bovino a bovino. As gorduras animais e as farinhas de carne e ossos foram responsabilizadas como veículo da infecção, já que na sua maioria eram provenientes de ovinos com *Scrapie*, ou de bovinos afectados pela nova BSE - doenças com semelhanças evidentes.

Contudo, o *Scrapie* existe no RU desde há três séculos, numa população numerosa de ovinos, os quais constituem 15% dos produtos animais reciclados para incorporação nas rações, contribuindo os bovinos com 45% dos citados produtos.

A questão que, pertinentemente, se pôs então teve a ver com a razão pela qual a doença não se manifestou nos bovinos antes de 1980. Para lhe responder, foi feita uma investigação detalhada em 46 empresas de transformação de subprodutos animais no RU.

Os elementos recolhidos permitiram apurar que na produção de farinhas de carne e ossos as temperaturas alcançadas, na maioria dos processos de tratamento, a uma pressão atmosférica normal, não eram suficientemente elevadas para garantir a eliminação total de grandes quantidades do agente infeccioso do *Scrapie*, sendo, apesar de tudo, adequadas para um nível baixo de contaminação.

Foi, de facto, uma alteração aos processos de tratamento que permitiu a sobrevivência do agente infectante na farinhas de carne e ossos.

Entre 1972 e 1988, 75% da farinha de carne e ossos passou a ser produzida mediante processos contínuos, facto que não explica o aparecimento da BSE, já que, relativamente aos processos descontínuos antes utilizados, não houve diferenças nas médias de temperaturas máximas, além de que esta mudança foi demasiado gradual, para poder ser relacionada com o começo da exposição dos bovinos ao agente infeccioso. Acresce ainda que o tamanho das partículas da matéria prima é menor nos processos contínuos, o que favorece a inactivação do agente do *Scrapie*.

Contudo, e durante o período referido, verificou-se também um decréscimo acentuado no uso de solventes para extracção de gorduras animais, especialmente entre 1980 e 1983, em que se verificou, de forma abrupta, uma redução em cerca de 50%.

As condições habituais da extracção de gorduras com solventes implicavam uma temperatura inicial de 70°C durante oito horas, o que reduzia a infecciosidade do agente do *Scrapie* e o tornavam mais termo-sensível.

Numa segunda fase, a aplicação de vapor a alta temperatura, durante 15 a 30 minutos, com a finalidade de eliminar os restos de solventes, completava a inactivação do agente infeccioso, já que é mais sensível ao calor húmido do que ao seco.

O abandono do uso de solventes em grande número de fábricas e a forma rápida como se processou condiz, de facto, com os factores essenciais apurados no aparecimento da BSE, e daí a conclusão de ter sido esta a verdadeira origem epizoótica da doença. Refira-se ainda, em apoio a esta conclusão, que no RU apenas duas fábricas continuavam usando o processo dos solventes para extracção das gorduras, ambas na Escócia, o que explica uma incidência muito inferior da BSE nessa Região.

Além disso, metade das fábricas aí localizadas processavam subprodutos intermediários que, de seguida, eram vendidos a outras fábricas. Estas, por sua vez, misturavam-nas a outras matérias primas nas rações, submetendo-as a um novo ciclo de tratamento técnico.

É curioso notar que o número de fábricas que assim procedia aumentava do Sul para o Norte de Inglaterra, em direcção à Escócia, podendo assim explicar-se a mesma tendência na incidência da doença no país.

Esta tendência, conhecida como gradiente Norte/Sul, pode igualmente ter outros factores implicados, como por exemplo a quantidade de despojos de ovinos e bovinos utilizados nas diferentes regiões.

Restam hoje poucas dúvidas, apesar dos estudos antes enunciados terem sido feitos com base nos despojos de ovinos com *Scrapie*, que a epizootia da BSE foi amplificada pela reciclagem dos despojos de bovinos infectados, através da farinha de carne e ossos deles provenientes e incorporados nas rações, antes da proibição de tal prática.

Alexandre Galo

NOTA HISTÓRICA SOBRE AS ENCEFALOPATIAS ESPONGIFORMES TRANSMISSÍVEIS HUMANAS

Tudo começa em 1920, ano em que um patologista alemão, Creutzfeldt, descreve um quadro neurológico complexo numa doente de 22 anos, o qual, todavia, e posteriormente, não viria a ser considerado como pertencente a este grupo de doenças. Nos anos seguintes, outro patologista alemão, Jakob, coleciona cinco casos com características morfológicas semelhantes entre si, embora, mais uma vez, apenas dois deles viessem a ser englobados nesta patologia. Como quer que seja, Spielmeyer, em 1924, junta estes casos e chama-lhes Doença de Creutzfeldt-Jakob (CJD – *Creutzfeldt-Jakob Disease*). Nesse mesmo ano, é descrito o primeiro caso de transmissão hereditária desta doença.

Em 1936, Gerstmann e cols. fazem a descrição inicial de uma doença hereditária do mesmo grupo, que viria a ser conhecida por Doença de Gerstmann-Sträussler-Scheinker (DGSS).

Em 1957, Gajdusek publica as manifestações clínicas de uma afecção misteriosa, confinada à tribo Papua, da Nova Guiné, e que denominou Kuru. Anos mais tarde, viria a descobrir-se que ela era transmitida entre os seus membros por intermédio de rituais canibalísticos. Em 1959, Klatzo fez a sua descrição morfológica, que contém muitos pontos em comum com o Scrapie das ovelhas. Gajdusek e cols. e Gibbs e cols., respectivamente em 1966 e 1968, conseguiram provar a infecciosidade da CJD e do Kuru ao transmitirem-nas ao chimpanzé.

Porque estas doenças eram infecciosas, mas tinham longos períodos de incubação, foram denominadas Doenças por vírus lentos. Por outro lado, uma vez que o suposto "vírus" não é inativado pelos métodos convencionais, como o álcool, formol, radiações ultravioletas, etc., também eram conhecidos por Doenças por vírus não convencionais. Finalmente, dado que todas elas tinham de comum a "degenerescência esponjosa" do cérebro, foram e são denominadas por EET Humanas.

Mil novecentos e oitenta e dois é o ano em que Prusiner descreve a sua "teoria priónica", atribuindo a causa das doenças a uma partícula proteínica, com capacidade replicativa, mas desprovida de ácido nucleico, que designou por prião (PrP). Pouco tempo depois, em 1984, o mesmo Prusiner descreve o gene da PrP, que denomina PRNP, localizado no cromossoma 20. Abre-se, deste modo, o caminho para a compreensão das formas hereditárias destas doenças.

Porque esta teoria é quase unanimemente reconhecida pela comunidade científica, justifica-se também o nome de Doenças Humanas por Priões, pelo qual são conhecidas.

Em 1986, Lugaresi e colaboradores fazem a descrição de outra EET humana, a Insónia Familiar Fatal (FFI – *Fatal Familial Insomnia*), também ela hereditária.

Entretanto, em meados dos anos setenta, publicavam-se os primeiros casos iatrogénicos da CJD, por transmissão a partir de transplantes de córnea de cadáveres com a doença, ou pela implantação de eléctrodos corticais contaminados.

Finalmente, em 1996, Will e cols. descrevem os primeiros dez casos da vCJD, e Collinge e cols., no mesmo ano, e Bruce e cols., em 1997, associam definitivamente esta variante à BSE.

No entanto, muito está ainda por compreender e descobrir, e o futuro próximo adivinha-se entusiasmante para todos os que se interessam por esta patologia.

José Pimentel

CLÍNICA E PATOLOGIA DAS ENCEFALOPATIAS ESPONGIFORMES TRANSMISSÍVEIS HUMANAS

São quatro as EET humanas actualmente conhecidas: CJD, que inclui quatro formas: esporádica, hereditária, iatrogénica e "nova variante"; a DGSS e a FFI, hereditárias; o Kuru, também ele iatrogénico, já praticamente desaparecido.

São todas doenças bastante raras, caracterizadas por um longo período de incubação, invariavelmente fatais, por não haver tratamento específico.

Do ponto de vista neuropatológico, caracterizam-se por degenerescência esponjosa do parênquima cerebral, alteração típica mas não patognomónica, perda de neurónios, proliferação astrocitária reactiva e depósitos de PrP, evidenciados por técnicas de imunocitoquímica. Todas as estruturas do sistema nervoso podem ser atingidas, embora haja um claro predomínio da substância cinzenta (córtex) do cérebro e cerebelo e dos gânglios da base. Ao contrário do que se passa com a BSE, por exemplo, o tronco cerebral é bastante poupado.

Embora não os descrevamos, existem actualmente critérios clínicos, relativamente bem definidos, que permitem o diagnóstico provável ou possível em vida do doente. O diagnóstico definitivo é sempre anátomo-patológico, igualmente com base em critérios histopatológicos.

A DGSS é autosómica dominante, raríssima (estão descritas apenas algumas famílias), atinge predominantemente o cerebelo, medula espinhal, cérebro e gânglios da base, e manifesta-se habitualmente por perturbações da coordenação motora e do equilíbrio, movimentos involuntários e demência. Conhecem-se cerca de meia dúzia de quadros clínicos que correspondem a outras tantas mutações do PRNP.

A FFI, igualmente autosómica dominante e bastante rara, manifesta-se por perturbações autonómicas (hipertensão arterial, taquicardia, hipertermia, etc.), disfunções endocrinológicas múltiplas, perturbação do sono e do sistema motor voluntário e involuntário. A estrutura mais atingida é o tálamo.

O Kuru, ligado a rituais canibalísticos, atingia quase exclusivamente o cerebelo, ocasionando graves perturbações da coordenação motora, a que se associavam movimentos involuntários e demência, esta exclusivamente na fase terminal da doença. Caracteristicamente, do ponto de vista anátomo-patológico, são típicos os depósitos de PrP, denominados "placas de Kuru".

A forma esporádica da CJD é a mais frequente das doenças humanas a priões, com uma incidência de um caso por milhão de habitantes por ano, e a sua etiologia não é conhecida. É característico o seu aparecimento na sexta ou sétima décadas de vida, dependendo as manifestações clínicas das estruturas mais atingidas. O quadro mais frequente consta de demência rapidamente progressiva, associada a movimentos involuntários de tipo mioclónico e mutismo acinético terminal, demorando o curso

da doença habitualmente um ano ou menos. Os exames complementares importantes para o diagnóstico são o electroencefalograma (EEG), que mostra uma actividade periódica característica, bem como a positividade da proteína 14.3.3 no líquido cefalorraquidiano (LCR).

A forma hereditária, muito mais rara que a precedente, está ligada, tal como as doenças hereditárias do mesmo grupo, a mutações do PRNP e as manifestações clínicas, semelhantes às da forma esporádica, dependem dessa mutação.

A forma iatrogénica já foi parcialmente descrita no capítulo anterior. Acrescentamos que os casos mais frequentes e dramáticos desta forma referem-se ao atingimento de crianças com problemas de desenvolvimento, tratadas parentericamente com extractos de hipófise de cadáveres com CJD. Tal como as restantes formas iatrogénicas de exposição ou contaminação periférica (Kuru e "nova variante"), manifestam-se predominantemente por incoordenação motora, seguindo-se movimentos involuntários e demência.

A nova variante, a "BSE humana", da qual estão diagnosticados mais de cinco dezenas de casos até ao momento, atinge predominantemente os grupos etários mais novos, tem um tempo de evolução que anda à roda dos dois anos e manifesta-se inicialmente por um quadro psiquiátrico que nada tem de específico (ansiedade, depressão, alucinações, etc.), ao qual se associam, caracteristicamente, perturbações sensitivas de tipo disestésico (percepção dolorosa de um estímulo táctil) e dores atípicas. Cerca de seis meses depois, surge o quadro neurológico que consta de descoordenação motora, por atingimento do cerebelo, movimentos involuntários mioclónicos e, finalmente, o síndrome demencial. O EEG bem como o doseamento da proteína 14.3.3 não se têm mostrado valiosos no diagnóstico. A ressonância magnética nuclear cerebral, por seu lado, pode evidenciar alterações nos gânglios da base. A biópsia das amígdalas palatinas, tendo em conta a contaminação precoce dos órgãos linfáticos destes doentes, tem sido útil numa percentagem assinalável de casos, revelando depósitos de PrP. O diagnóstico definitivo, anátomo-patológico, mostra, caracteristicamente, os referidos depósitos no cérebro e cerebelo.

José Pimentel

MEDIDAS DE DESCONTAMINAÇÃO E MANEJO DOS TECIDOS INFECTADOS



Como foi descrito anteriormente, o agente priónico resiste aos métodos habituais de inactivação dos agentes infecciosos convencionais. Daí que devam ser observadas algumas regras, simples, para obviar ao perigo de contágio quando se lida com tecidos ou fluidos biológicos potencialmente infectados.

DESCONTAMINAÇÃO

Devem ser descontaminadas as superfícies e os instrumentos que tenham entrado em contacto com os referidos tecidos ou fluidos biológicos. Para as primeiras, utiliza-se o hidróxido de sódio a 2N durante uma hora. Para os segundos, o procedimento é idêntico mas é seguido de autoclavagem a 134°C durante uma hora, à pressão de 3 bars.

AUTÓPSIAS

Não há razão para não serem efectuadas se forem observadas as seguintes medidas:

- 1 – Evitar feridas penetrantes acidentais, utilizando protecção adequada, que inclui luvas metálicas por baixo de luvas de borracha, aventais e protectores da boca e olhos descartáveis;**
- 2 – Utilização de folhas de plástico descartáveis entre a mesa de autópsia e o cadáver, e remoção do cérebro com uma serra mecânica;**
- 3 – Descontaminação das superfícies e instrumentos utilizados.**

Considerandos idênticos devem ser aplicados às salas de cirurgia.

LABORATÓRIOS

- 1 – Protecção idêntica à das autópsias, mas utilizando luvas de teflon;**
- 2 – Desactivação da infecciosidade dos tecidos, pela sua introdução em ácido fórmico (95-100%) durante uma hora, seguido de solução de formaldeído**

fresco a 4%, durante 48 horas. Todo o material que tenha estado em contacto com os tecidos deverá ser descontaminado e o restante incinerado.

José Pimentel

CLÍNICA E PATOLOGIA DAS ENCEFALOPATIAS ESPONGIFORMES ANIMAIS

As EET animais adquiriram significativa importância após o início do surto da BSE.

Existem referências das EET, nas literaturas britânica e germânica, desde 1732 e 1759, respectivamente, relativamente ao tremor epizoótico (*Scrapie* na língua inglesa, *tremblante* na língua francesa e *Prurido lombar* na língua espanhola), ocorrendo a primeira publicação científica sobre esta patologia nos ovinos, em 1898.

Em 1947, foi reconhecido pela primeira vez, nos Estados Unidos da América do Norte (EUA), a Encefalopatia Transmissível dos Visões (TME – *Transmissible Mink Encephalopathy*), em unidades de criação de visões para produção de pele, doença que foi posteriormente identificada em 1963 no Canadá, em 1965 na Finlândia, tendo também sido relatada na Alemanha e na Rússia.

Nos animais em cativeiro, parques ou jardins zoológicos, foi registada, há cerca de três décadas nos EUA (1967), a Doença Crónica Emaciante (CWD – *Chronic Wasting Disease*), o mesmo acontecendo em ruminantes selvagens da família dos cervídeos, como sejam, o veado (*Odocoileus hemionus hemionus*, *O. hemionus columbianus*, *O. virginianus*) e o Alce das Montanhas Rochosas (*Cervus elaphus nelsoni*). Posteriormente, também já foi assinalada CWD em cervídeos criados em liberdade nos EUA.

No decurso da década de oitenta, ocorreu EET em cinco espécies de antílopes da família dos bovídeos, em colecções zoológicas ou em parques de vida selvagem, no sul de Inglaterra, tendo-se já constatado a doença nos grande koudu, nyala, alce e oryx.

No mesmo período, foi também reconhecida a EET em felídeos, no lobo-tigre, no puma, no tigre, no gato tigre da América e no gato doméstico, a Encefalopatia Espongiforme do Gato (FSE – *Feline Spongiform Encephalopathy*).

Experimentalmente, já se transmitiu, a várias espécies animais, o *Scrapie* (ao ratinho, hamster, vaca, saimiri e visão), a BSE (à ovelha, cabra, ratinho, gato, porco, sagui, visão), a TME (ao hamster, vaca, furão), o Kuru (ao chimpanzé, macacos americanos, cercopitecos, visão, furão, cabra) e a CJD (ao chimpanzé, macaco americano, macaca, gato, cobaio, hamster, ratinho), sendo de assinalar que o coelho, de entre os mamíferos, se tem mantido, até à presente data, refractário à doença.

CLÍNICA E PATOLOGIA DAS ENCEFALOPATIAS ESPONGIFORMES ANIMAIS

Foi com a ocorrência da BSE que as EET ganharam significativa importância, assim como os conceitos de Prusiner, no que se refere ao agente responsável pela mesma. Pela importância que a mesma tem, nomeadamente no que se refere a aspectos relacionados com a Saúde Pública, bem como os de natureza económica e social, iremos apresentar, de forma resumida, os conceitos de maior significado relativamente à clínica e patologia destas doenças, dando maior destaque à BSE.

Encefalopatia Espongiforme dos Bovinos (BSE)

No diagnóstico da BSE, para além da intervenção activa do médico veterinário, é de reconhecida importância a participação e colaboração do produtor e dos trabalhadores da exploração, nomeadamente dos que distribuem os alimentos, procedem à higienização das instalações, efectuem a ordenha e aos que procedem ao encaminhamento das vacas para a sala de ordenha. Sem a sua colaboração, não será possível ter acesso aos animais clinicamente suspeitos, bem como a toda a informação clínica anterior à primeira observação efectuada pelo médico veterinário. As informações facultadas aos clínicos serão tão exaustivas e precisas, quanto maior o tempo de observação prestada aos bovinos e melhor for o poder de observação e sensibilidade das pessoas que convivem e tratam dos animais.

Estas recomendações transpõem-se, da mesma forma, para os médicos veterinários que se dediquem às actividades clínica, de inspecção sanitária, ou ao estudo da patologia e da epidemiologia.

Não deverão ser ignoradas as nefastas consequências económicas, para um produtor de leite ou de carne, na sequência da comunicação, pouco consistente, de uma suspeita clínica, pelo que, tendo em consideração a etiopatogenia deste tipo de patologias, e a fim de que a suspeita seja devidamente fundamentada, o bovino deve ser observado, persistentemente, ao longo de vários dias ou semanas, senão mesmo por alguns meses, salvo nos casos terminais, até que seja possível estabelecer um diagnóstico diferencial ou a sustentação da suspeita de BSE, intervindo o médico veterinário, sempre, em defesa da sanidade dos animais e, como consequência, da Saúde Pública.

Um bovino afectado pela BSE evidencia uma combinação de sinais clínicos do foro neurológico associados a sinais clínicos de carácter geral.

Os sinais do foro neurológico incluem-se em três categorias:

- ◆ as alterações do estado mental, de postura e de movimento e do foro sensitivo
- ◆ as alterações do estado mental, observadas em cerca de 98% dos casos de BSE, nas quais a apreensão e o nervosismo são os mais comumente observados, quando confrontados com vãos de portas e outras entradas ou passagens

- ♦ as alterações de postura e de movimento (perturbação na locomoção) ocorrem em 93% dos casos de BSE, sendo manifestações mais comuns a ataxia dos membros posteriores, as mioclonias e as quedas
- ♦ as alterações do foro sensitivo, que afectam cerca de 95% dos bovinos com BSE, manifestam-se de formas bastante diferentes, sendo a hiperstesia ao contacto, ao som ou à luz intensa, as mais exuberantes.

Diagnóstico diferencial da BSE

Os sinais clínicos da maioria dos casos da BSE são característicos e de fácil reconhecimento. No entanto, na fase inicial da doença, existem outras doenças que são passíveis de se confundir com a BSE, como sejam a doença de Aujeszky, a raiva, a listeriose, a imunodeficiência vírica dos bovinos, a cetose, a hipomagnesiemia e as intoxicações por produtos químicos e por plantas tóxicas.

PATOLOGIA DA BSE

Até à presente data, não existe nenhum teste laboratorial, utilizado em rotina, que permita identificar bovinos afectados pela BSE, antes do desenvolvimento dos primeiros sinais clínicos da doença.

O diagnóstico da BSE efectua-se pelo reconhecimento dos sinais clínicos e pela confirmação laboratorial pelo exame histopatológico do SNC, nomeadamente no tronco cerebral, obex, protuberância e mesencéfalo.

O diagnóstico histopatológico da BSE caracteriza-se pela vacuolização, bilateral e simétrica no neurópilo e nos neurónios, associada a perda neuronal e astrocitose.

A maior frequência das lesões vacuolares na BSE ocorre no trajecto do nervo solitário e no trajecto do nervo trigémeo, no bulbo, sendo possível diagnosticar 99,6% de casos de BSE no obex. Se necessário, deverão ser observadas outras áreas do tronco cerebral.

Outros meios auxiliares e complementares de diagnóstico permitirão confirmar ou infirmar uma suspeita clínica de BSE, perante condições adversas para o diagnóstico histopatológico, como sejam a congelação ou a autólise do SNC, bem como quando ocorrem acidentes durante a recolha ou no processamento laboratorial do SNC, ou ainda perante um exame histopatológico inconclusivo.

A detecção do constituinte modificado da PrPc pode efectuar-se, em cortes histológicos do SNC, por imuno-histoquímica, utilizando anticorpos anti-PrP^{Bse/Sc}.

Técnicas de *immunoblotting* e *western blot*, a partir de extractos do SNC, frescos ou congelados, podem ser utilizadas para detectar e quantificar a PrP^{Bse/Sc}.

A observação das SAF, pelo microscópio electrónico, é outro dos meios auxiliares de diagnóstico, embora o resultado negativo da pesquisa das SAF não signifique que o bovino não estava afectado por BSE, pelo que este método só é válido quando o mesmo resultar positivo.

A inoculação em estirpes, adequadas, de murganhos transgénicos poderá ser outro meio de confirmação laboratorial, embora seja dispendiosa e de execução prolongada (nunca inferior a 10 - 12 meses).

Assinale-se que se têm ensaiado testes para se efectuar o diagnóstico em vida, como sejam o doseamento, por ELISA, da proteína 14.3.3 no LCR, a detecção da isoforma da Apolipoproteína E (Apo E) e de duas proteínas de 35 e 36 kDa no LCR, por electroforese bidimensional / *immunoblotting* (na fase pré-clínica), testes que ainda são pouco aliciantes, para além da sua execução em estudos experimentais.

No entanto, a detecção da PrP 27-30, quantificada por quimioluminiscência em *Relative Light Units*, a partir de fragmentos de SNC (medula espinal cervical ou bulbo raquidiano), através duma prova por ELISA, permite identificar animais com BSE, na fase clínica da doença, no prazo de cerca de quatro horas após o início da execução da prova. Os mesmos resultados podem ser obtidos com a utilização de uma prova por *western blot*.

TREMOR EPIZOÓTICO

O tremor epizoótico afecta o SNC dos ovinos e dos caprinos e foi reconhecida pela primeira vez no RU, tendo veterinários britânicos e germânicos efectuado relatos sobre a ocorrência do tremor epizoótico em ovinos, desde 1732 e 1759, respectivamente.

É o protótipo das EET, a partir do qual se têm efectuado muitos estudos e extrapolações científicas para as outras doenças do mesmo tipo, quer humanas, quer animais.

Os sinais clínicos do tremor epizoótico

Caracteriza-se por um prolongado período de incubação (vários meses a anos), com evolução progressiva e debilitante, com um final sempre fatal. Ocorre com maior frequência em explorações de ovinos, entre os dois e os cinco anos, com o pico de incidência da doença entre os três e os três anos e meio, embora seja variável com a raça.

Os animais manifestam alterações do comportamento (isolamento, nervosismo, olhar fixo) com tremores mais evidentes na cabeça e pescoço, prurido e descoordenação motora, que determina dificuldade em se levantarem e o decúbito permanente, terminando com a morte do animal.

A hipersensibilidade é outro dos sinais característicos do tremor epizoótico, bem como o prurido, que os obriga a friccionar intensamente o corpo contra objectos fixos, podendo surgir feridas onde a lã se perde.

Nem todos os animais exibem todos os sinais clínicos da doença, que podem também variar consoante as raças. No decurso da evolução clínica do tremor epizoótico os ovinos têm maior tendência para perder peso, relativamente aos caprinos, por vezes com valor significativo, embora mantenham o seu apetite.

Diagnóstico diferencial do tremor epizoótico

Os sinais clínicos da maioria dos casos do tremor epizoótico são característicos e de fácil reconhecimento. No entanto, na fase inicial da doença, existem outras doenças que são passíveis de se confundir com o tremor epizoótico, como sejam as ectoparasitoses, a doença de Aujeszky, a raiva, a listeriose, o maedi-visna, a cetose, a hipomagnesiemia e as intoxicações por produtos químicos e por plantas tóxicas.

Patologia do tremor epizoótico

Reportam-se os conceitos já descritos na patologia da BSE, procedendo-se a observação histológica das alterações patológicas, predominantemente na espinal medula cervical, bulbo raquidiano, protuberância, cérebro médio e tálamo, onde se pode visualizar a vacuolização neuronal, mais exuberante e frequente que na BSE, assim como a perda neuronal.

Assinale-se que, ao invés do padrão lesional constante e relativamente uniforme da BSE, no tremor epizoótico é evidente que nem todas as raças de ovinos exibem o mesmo padrão, quer quanto à sua severidade, quer quanto à distribuição das lesões histopatológicas, provocando, por vezes, alguma dificuldade ao diagnóstico definitivo, nomeadamente quando a vacuolização ocorre com pouca expressão.

ENCEFALOPATIA ESPONGIFORME DO GATO

Em Abril de 1990, em Bristol (RU), é diagnosticado o primeiro caso de FSE, sendo levada a cabo a primeira descrição clínica completa, bem como anatomopatológica, no mesmo ano.

Os sinais clínicos da encefalopatia espongiforme do gato

Os sinais clínicos do foro nervoso predominam sobre os restantes, em particular a alteração do comportamento, como hiper-reflexos, timidez e agressividade, e a ataxia dos membros posteriores. A idade média de ocorrência dos primeiros sintomas é aos sete anos, não tendo sido reportado nenhum caso antes dos dois anos de idade, com a evolução clínica por um período de cerca de cinco meses.

Diagnóstico diferencial da encefalopatia espongiforme do gato

Recomenda-se o diagnóstico diferencial do síndrome cerebral difuso evolutivo, da infecção pela raiva, doença de Aujeszky, leucemia felina a vírus, imunodeficiência felina a vírus, peritonite felina infecciosa, toxoplasmose e da intoxicação pelo chumbo.

Patologia da encefalopatia espongiforme do gato

Reportam-se, mais uma vez, os conceitos já descritos na patologia da BSE, procedendo-se a observação histológica das alterações no cérebro (lobo frontal), pedúnculos cerebelosos, mesencéfalo, onde se pode visualizar a vacuolização do neurópilo e dos neurónios.

ENCEFALOPATIA ESPONGIFORME DOS CERVÍDEOS – CWD

O número de animais reconhecidos com EET tem aumentado, nos últimos anos, incluindo também os ruminantes selvagens.

Nos EUA tem-se observado casos de CWD em populações de veados (*Odocoileus hemionus hemionus*), de alces das Montanhas Rochosas (*Cervus elaphus nelsoni*) – A maioria dos casos tem ocorrido em populações de animais criados em cativeiro, embora também se tenham observado alguns casos em animais em liberdade.

Em ambas as espécies, os sinais clínicos reconhecem-se pela perda de peso, bem como pelas alterações de comportamento e por uma abundante salivação. No cervo, a polidipsia e a poliúria são sinais clínicos também frequentes.

As lesões histopatológicas mais significativas limitam-se ao SNC e são as típicas deste grupo de doenças.

Desconhece-se a origem da CWD. Inversamente aos casos observados nas cinco espécies de antílopes (família dos bóvidos) em parques zoológicos britânicos, os quais estão relacionados com a BSE, a origem da CWD não está relacionada com a contaminação dos alimentos pela PrPBSE/Sc. A transmissão horizontal e, provavel-

mente, vertical, parecem ser as formas de contágio da CWD, entre os animais em cativeiro.

As encefalopatias espongiformes dos ruminantes selvagens encontram-se geograficamente isoladas e afectam um número de animais relativamente reduzido. No entanto, estas doenças potencialmente transmissíveis podem vir a adquirir maior importância mercê do tráfico internacional de ruminantes selvagens, bem como pela actual expansão da produção de animais de caça em várias regiões do mundo.

ENCEFALOPATIA TRANSMISSÍVEL DO VISÃO – TME

É uma doença rara do visão de criação, provocada por alimentos contaminados com PrPBSE/Sc. Dadas as semelhanças clínicas e patológicas entre a TME e o tremor epizoótico, alguns investigadores sugeriram que uma das fontes de infecção foram os ovinos. No entanto, os ensaios de inoculação em visões, com material proveniente de bovinos com BSE, já reproduziram a TME.

Azevedo Ramos

EPIDEMIOLOGIA E TRANSMISSÃO DA BSE

AO HOMEM E A NOVA VARIANTE DA DOENÇA DE CREUTZFELD-JAKOB (vCJD)



facto da BSE ter sido transmitida, experimentalmente, a animais da mesma e de espécies diferentes, por injeção intracerebral do encéfalo e medula infectada, e também, por via oral, a diversas espécies animais, constitui motivo de preocupação, tendo em conta que essas experiências significam que não só o agente da BSE passa a barreira da espécie, mas também pode ser transmitida por via oral.

A possibilidade de transmissão inter-espécies depende de diversos factores: barreira da espécie, dose de inócuo, via de inoculação e estirpe do agente. Quanto ao primeiro, ela depende do grau de afinidade entre a PrP' da espécie infectante e a PrP' da espécie hospedeira para a formação de heterodímeros e conversão na isoforma patogénica. Salienta-se ainda que a barreira da espécie não é obrigatoriamente absoluta. Significa apenas a necessidade de uma maior dose de inócuo para passagem à nova espécie, com tempo de incubação consideravelmente mais longo, aliás o que se passa na nova variante da vCJD.

Quanto à dose de inócuo e via de inoculação, o risco de infecciosidade dos diversos tecidos ou órgãos utilizados na alimentação é muito diferente. As determinações de infecciosidade foram feitas por inoculação intracerebral de murganhos sensíveis ao *Scrapie*, situação que na infecção por via oral, como seria na eventual contaminação humana por alimentos, não corresponde à realidade, dado saber-se serem necessárias doses 100 000 vezes maiores para transmitir a doença. Assim, se o encéfalo e a medula têm a mais alta infecciosidade, o músculo, o leite, o rim, entre outros, não apresentam infecciosidade detectável. No entanto, se a infecção por via oral parece ser mais difícil, há que ter em conta situações particulares de maior risco de inoculação parentérica, seja por administração de produtos farmacêuticos, transfusões ou risco profissional. As formas iatrogénicas de CJD e o Kuru são exemplos humanos de transmissibilidade das EET e corroboram essa possibilidade.

Considerado o agente infeccioso da BSE como um prião e dada a elevada diferença na sequência de aminoácidos entre o prião da vaca e o humano (diferindo em mais de 30), foi considerada inicialmente, por Prusiner, como pouco provável a possibilidade de priões bovinos ingeridos oralmente poderem agir como "indutores" capazes de distorcer os priões humanos e dar origem à doença, de acordo com a teoria elaborada por este autor. Outros factores, provavelmente celulares, também controlam a replicação da PrP, nomeadamente os genéticos, e é curioso o facto de todos os casos de vCJD serem homozigóticos, para a metionina no códon 129 do gene da PrP. No entanto, foi-se progressivamente acumulando evidência duma ligação

entre a BSE e a CJD. Primeiro, o aparecimento da epidemia da BSE no RU, em meados da década de 80, e a constatação do aumento da incidência de CJD neste país, que quase duplicou entre 1990 e 1994, juntamente com o reconhecimento da vCJD, que constituiu a primeira sugestão dum possível elo entre a BSE e a vCJD. Outra descoberta significativa neste sentido, em Junho de 1996, foi a observação dum quadro neuropatológico, idêntico à chamada nova variante de CDJ, em 3 macacos inoculados intracerebralmente com BSE, e que, embora não por via oral, veio sugerir adicionalmente a possibilidade de ligação entre o agente da BSE e a doença no ser humano.

Em Outubro de 1996 o investigador inglês Collinge publicou um artigo em que anunciou a primeira evidência científica consistente entre a conexão directa entre a BSE e vCJD com a descoberta duma identidade físico-química (a chamada assinatura da BSE) entre os priões dos doentes que faleceram com vCJD, de vacas com BSE e macacos experimentalmente infectados com BSE, após transmissão ao ratinho. Por outro lado, também conclui que estes priões diferiam dos encontrados na forma clássica ou esporádica de CJD, confirmando a emergência duma nova entidade e contribuindo para a possibilidade dum teste diagnóstico ante-mortem para a vCJD. Desenvolvimentos posteriores, relativamente recentes, mostraram que os priões anormais se replicam nos tecidos linforeticulares antes da neuroinvasão, o que se veio a revelar na prática com a realização de biópsias de tecidos de origem linfóide, nomeadamente da amígdala e a sua positividade para o agente da vCJD, ao contrário da forma clássica de CJD.

Em combinação com outros estudos, estes constituem a prova mais evidente duma conexão causal da infectividade da BSE aos humanos (excluída, por razões óbvias, a possibilidade da inoculação no Homem).

Presentemente, ainda não se conhece o tempo médio de incubação do agente da BSE, nem a dose necessária para a infecção em humanos e até a absoluta certeza das vias de infecção (directa, por via oral? Através de intermediário?), pelo que a compreensão da biologia das EET é incompleta e continua a ser imprevisível o número futuro de casos de vCJD.

Os resultados do megaestudo, em curso no RU, da incidência de sujeitos assintomáticos com tecidos de origem linfóide positivos, para a PrP anormal, trarão eventualmente novos dados para a clarificação destes assuntos.

Entretanto, mesmo com riscos considerados pequenos, deverão ser mantidas e até reforçadas todas as medidas em curso no sentido de minorar, o mais possível, o risco de transmissibilidade do agente da BSE.

Carlos Lima

BIOLOGIA E MECANISMOS DE ACÇÃO DOS AGENTES DAS ENCEFALOPATIAS ESPONGIFORMES TRANSMISSÍVEIS

O AGENTE INFECCIOSO



O agente do *Scrapie*, assim como os das restantes EET, só é detectável por inoculação a animais susceptíveis, não se dispondo de sistemas *in vitro* de replicação destes agentes, embora se tenha conseguido clonar células de neuroblastoma murino que, uma vez expostas a agente de *Scrapie*, produzem cronicamente o agente e são infecciosas para o murganho.

Apesar de nunca observado ao microscópio electrónico, a filtrabilidade do agente até 20-100 nm parecia indicar, inicialmente, a sua natureza viral. No entanto, logo algumas observações mostraram um comportamento pouco habitual em outros vírus, designadamente o longo período de incubação das doenças, a grande resistência a muitos agentes virucidas e a impossibilidade de identificação de um ácido nucleico. Estas características justificaram a designação, corrente até há alguns anos, de agentes virais não convencionais.

Barreira de espécie e estirpes

Características comuns entre os agentes das EET e os vírus convencionais são a existência de barreira de espécie, a impossibilitar ou dificultar a transmissão de espécie a espécie, e o isolamento de estirpes, com características biológicas ou de infecciosidade diferentes.

No caso dos agentes de EET, as estirpes são caracterizadas por diferente tempo de incubação da doença e por diferentes perfis de neuropatologia, designadamente de distribuição das lesões por diferentes áreas do cérebro. No caso do *Scrapie*, conhecem-se mais de 20 estirpes. Nas EET humanas, a dificuldade de transmissão experimental tem dificultado a definição de estirpes.

Todos os isolados de BSE, incluindo isolados distantes como de animais doentes do RU ou da Suíça, têm comportamento muito próximo, apontando para a existência de apenas uma estirpe. Este facto é estranho, quando comparado com a diversidade de estirpes de *Scrapie*, possivelmente na origem da BSE. É possível que tenha havido selecção de uma estirpe de *Scrapie* com capacidade de maior replicação nas vacas ou de uma estirpe mais resistente aos processos de inactivação usados no fabrico de farinha de carne e ossos.

A barreira de espécie é observável como baixa eficiência de transmissão entre espécies e com longos períodos de incubação. Uma vez ultrapassada, observa-se

acentuado encurtamento no período de incubação em passagens posteriores e, frequentemente, diferenças de patogénese.

A natureza química do agente

A existência de estirpes e de barreiras de espécie só parece explicável por uma molécula informativa. Em oposição a todos os vírus, com os seus genomas de DNA (ácido desoxirribonucleico) ou RNA (ácido ribonucleico), os agentes das EET escapam sistematicamente à identificação de um ácido nucleico próprio.

Com efeito, a infecciosidade é completamente resistente a nucleases, e experiências de cinética de inactivação com radiações mostraram que a dimensão máxima de um possível ácido nucleico seria de cerca de 1500 bases. A purificação do agente do *Scrapie* confirmou estes dados. O pico de infecciosidade em preparações purificadas é composto essencialmente por material proteico e é desprovido de ácidos nucleicos.

A hipótese de os agentes das EET serem constituídos exclusivamente por uma proteína com capacidade replicativa ou de converter uma proteína celular normal numa forma patogénica deve-se inicialmente a Griffith, em 1967, e foi muito depois popularizada por Prusiner, que designou como prião esse hipotético e heterodoxo agente, tendo recebido o prémio Nobel por esses trabalhos.

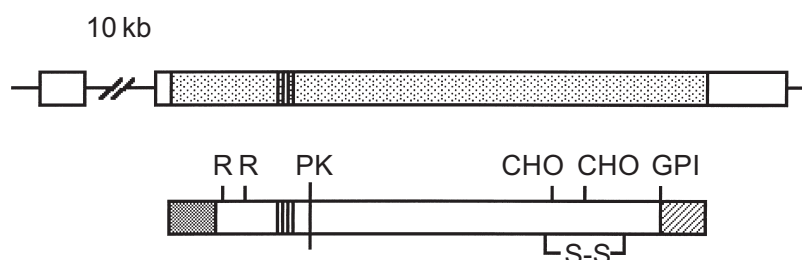


Figura 1. Esquema do gene e da PrP. Péptido de sinal (cinzento escuro), resíduos modificados de arginina (R) sítios de glicosilação (CHO), ponte dissulfureto (S-S) e péptido clivado (tracejado) pela adição da âncora de glicosil-fosfatil-inositol (GPI). Sítio de clivagem com proteínase K que gera a forma 27-30 kDa (PK). Os traços verticais indicam as repetições de octapeptidos.

A proteína identificada em preparações purificadas do agente do *Scrapie*, PrP^{Sc}, é uma proteína de 27-30 kDa, insolúvel em detergentes, resistente à digestão com proteínase K e com tendência para agregar em bastonetes semelhantes às SAF. A hibridação com sondas deduzidas da sequência da PrP^{Sc} purificada permitiu identificar um gene para uma versão celular normal da PrP^{Sc}, designada como PrP^C. A PrP^C tem peso molecular de 33-35 kDa, é solúvel e completamente sensível a proteases. As duas proteínas são quimicamente idênticas e a diferença de pesos moleculares é um artefacto devido à clivagem parcial da PrP^{Sc} por proteínase K durante a purificação. A PrP^C localiza-se na face externa da membrana celular, enquanto que

a PrP^{Sc} se acumula no citoplasma, provavelmente em lisossomas.

Os genes PRNP de muitos mamíferos e da galinha estão caracterizados e sequenciados. Como esquematizado na Figura 1, o gene é constituído por um pequeno exão (dois, no caso dos genes murino e ovino) separado por cerca de 10 kb de um segundo exão que contém, sem interrupção, toda a sequência codificante, o que elimina a possibilidade de a PrP^{Sc} ser gerada por splicing alternativo. Na região 5' existem quatro ou cinco repetições, conforme a espécie, de uma mesma sequência de oito codões. Todos os genes de mamífero conhecidos são altamente conservados, com homologies da ordem de 80-90%. A análise das sequências não mostra diferenças que possam ser relacionadas com os dados da transmissão entre espécies ou com as estruturas alternativas da molécula, discutidas adiante.

Sobre a função normal da PrP^C conhece-se pouco, tendo sido descrito que murganhos transgênicos a que se removeram os genes PRNP têm perturbações do sono e apresentam degenerescência das células de Purkinje.

Há um número crescente de resultados experimentais que mostram que a PrP^{Sc} é, pelo menos, o componente essencial da infecciosidade e que dão consistência a um modelo analisável, por exemplo, em termos de predição futura das barreiras de espécie:

- ◆ PrP^{Sc} e infecciosidade copurificam.
- ◆ PrP^{Sc} e infecciosidade acompanham-se em copartição em membranas, detergentes e lipossomas.
- ◆ A hidrólise de PrP^{Sc} causa perda de infecciosidade.
- ◆ A infecciosidade pode ser purificada por cromatografia de afinidade com anticorpos anti-PrP^{Sc}.
- ◆ Há proporcionalidade entre título de infecciosidade e concentração de PrP^{Sc} no cérebro de animais doentes.
- ◆ O soro anti-PrP^{Sc} neutraliza a infecciosidade.
- ◆ As placas de PrP^{Sc} são específicas das EET.
- ◆ Células de neuroblastoma murino em cultura infectadas com agente de Scrapie produzem PrP^{Sc} e causam doença quando inoculadas em murganhos.
- ◆ Os genes de susceptibilidade ao *Scrapie* na ovelha e no murganho são os próprios genes de PrP^C.
- ◆ Ao contrário da CJD esporádica ou das EET animais, em que a sequência da PrP^{Sc} é a da PrP^C normal, as EET humanas familiares são causadas por mutações no gene PRNP.
- ◆ Murganhos transgênicos com os genes PRNP inactivados são resistentes ao *Scrapie*.
- ◆ A sobre-expressão do gene PRNP em murganhos transgênicos causa

degenerescência espongiiforme. MECANISMO MOLECULAR DAS EET

Formação da PrP^{Sc}

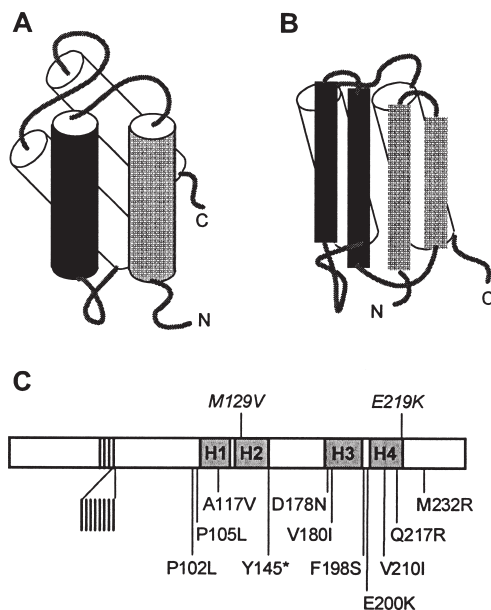


Figura 2. Modelo estrutural da PrP^c (A) e da PrP^{Sc} (B) e localização na sequência das quatro regiões que formam hélices alfa, em comparação com a localização das mutações e polimorfismos nas EET humanas. Os cilindros indicam hélices alfa e as setas largas indicam folhas beta.

A estrutura primária da PrP^{Sc} é idêntica à da PrP^c. Ao contrário das EET humanas familiares, não se encontram mutações na CJD esporádica, no Kuru e nas EET animais. Da mesma forma, nunca se demonstrou qualquer modificação pós-traducional em relação à PrP^c que pudesse justificar a patogenicidade da PrP^{Sc}.

A diferença significativa encontrada entre a PrP^{Sc} e a PrP^c diz respeito à estrutura secundária, que apresenta um conteúdo alto de hélices alfa e praticamente ausência de folhas beta na PrP^c, enquanto que a PrP^{Sc} tem 43% de folhas. A perda de estruturas em folha beta pela PrP^{Sc} por desnaturação térmica é paralela à perda de infecciosidade. A estrutura proposta para a PrP^c está esquematizada na Figura 2 A, em que os cilindros representam as hélices alfa. Note-se que as mutações conhecidas nas EET humanas mapeiam nestas hélices ou na transição para as outras regiões (Figura 2 C).

O mecanismo de "replicação"

Com base nestes dados, o grupo de Prusiner propôs um modelo para a replicação da PrP^{Sc} por conversão isomérica da PrP^c, tomando como molde a conformação da PrP^{Sc} e que está representado esquematicamente na Figura 3 A.

A PrP^c é sintetizada e degradada como parte do metabolismo celular normal.

Flutuações estocásticas na estrutura tridimensional da PrP^{Sc} podem criar uma variante anormal e rara, PrP*, parcialmente desenrolada em uma ou mais das hélices alfa e que é um intermediário na formação da PrP^{Sc}. Formando um dímero com uma molécula análoga ou com uma molécula normal, geraria, por esta interação, duas moléculas de PrP^{Sc}. Normalmente, a concentração de PrP* não seria suficiente para produzir PrP^{Sc}, mas ocasionalmente (com baixa frequência, correspondente no homem à incidência da CJD esporádica) poderia atingir uma concentração a partir da qual um *feedback* positivo levaria à formação exponencial e acumulação de PrP^{Sc}. Este processo seria muito facilitado e acelerado pela presença de PrP^{Sc} exógena, da própria espécie ou de outra espécie, mas com capacidade para formar heterodímeros com a PrP* e convertê-la em PrP^{Sc}. A formação de PrP*, a níveis suficientes para iniciação espontânea do processo de conversão, pode também ser facilitada por erros mutacionais na sequência da PrP^C, originando as formas familiares das EET. A conversão estrutural nos heterodímeros poderá necessitar da acção adicional de uma chaperona (barras cinzentas no esquema).

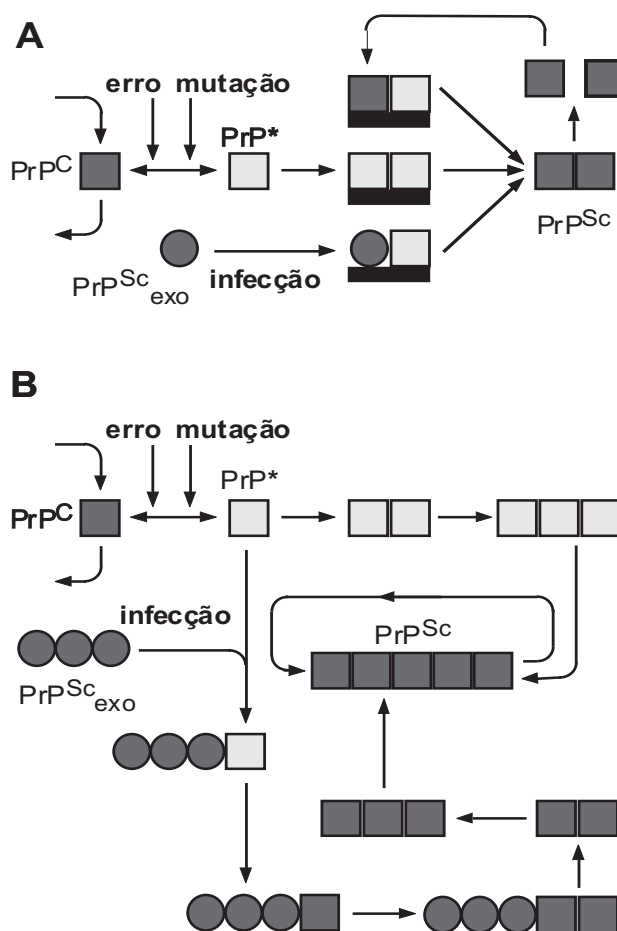


Figura 3. Modelos de formação da PrP^{Sc}, por conversão dimérica (A) ou por nucleação e polimerização (B).

Um modelo alternativo, retomando a proposta teórica de Griffith, postula que a

patogenicidade da PrP^{Sc} depende da sua cristalização em fibrilhas de amilóide, num processo de nucleação-polimerização análogo ao da síntese de microtúbulos, de flagelos ou de procapsides de bacteriófagos (Figura 3 B). Uma forma parcialmente desenrolada de PrP^C, correspondente à PrP^{*}, tende a agregar, num processo lento e ineficiente até que, ocasionalmente, atinge uma concentração crítica de nucleação a partir da qual a polimerização é rápida. O equilíbrio do processo seria sensível a mutações da PrP^C e a polimerização seria muito mais eficaz e rápida quando na presença de uma "semente" de PrP^{Sc} exógena. Em qualquer dos casos, a fragmentação dos polímeros fornece novas sementes, que ampliam exponencialmente o processo de polimerização.

Ambos os modelos predizem que, no caso de uma EET por transmissão entre espécies, a PrP^{Sc} produzida é da espécie hospedeira e não a PrP^{Sc} original infectante. Esta predição é confirmada por experiências com murganhos transgênicos expressando genes de PRNP de hamster. O murganho não é susceptível ao *Scrapie* de hamster e vice-versa. Os murganhos transgênicos com genes de hamster são sensíveis a *Scrapie* de murganho, como os murganhos normais. Ao contrário destes, são também susceptíveis ao *Scrapie* de hamster, com tempo de incubação muito curto, característico do *Scrapie* de hamster em hamsters. A neuropatologia é característica de *Scrapie* de hamster e o agente produzido é de tipo hamster, causando doença nestes animais mas não em murganhos. Pelo contrário, quando estes animais transgênicos são inoculados com *Scrapie* de murganho, o tempo de incubação e a patologia são de tipo murino e o agente produzido é patogénico para murganho mas não para hamster.

A barreira de espécie

Segundo estes modelos, a barreira de espécie depende apenas do grau de afinidade entre a PrP^{Sc} da espécie infectante e a PrP^C da espécie hospedeira para formação dos heterodímeros, ou para nucleação e conversão na isoforma patogénica. A chave da conversão entre espécies reside portanto nos respectivos genes de PrP^{Sc}.

Os murganhos transgênicos têm facultado resultados importantes quanto à transmissão das EET e foram usados na primeira experiência destinada a demonstrar a transmissão da BSE ao homem, depois comprovada com a observação de que a "assinatura de estirpe" do agente da vCJD era idêntica à da BSE. O grupo de Collinge construiu murganhos transgênicos com diversas combinações de genes PRNP de murganho e humanos e testou a sensibilidade destes murganhos transgênicos a príões de CJD e de BSE. Os murganhos normais não foram susceptíveis a CJD, enquanto que os transgênicos totais (só com genes PRNP humanos e nenhum de murganho) adoeceram. Murganhos com genótipo misto, humano e murino adoeceram com tempos de incubação mais longos. Os murganhos transgênicos só com genes humanos inoculados com BSE desenvolveram doença, embora ao fim de muito tempo, o que

mostra a susceptibilidade do homem à BSE.

A variabilidade de estirpes

O argumento mais forte contra a teoria priónica das EET é a dificuldade de explicar o elevado número de estirpes, designadamente do *Scrapie*. Por esta razão, ainda alguns investigadores, embora em número crescentemente reduzido, defendem uma origem viral para estas doenças. Em alternativa, também tem sido sugerido que, para além da PrP^{Sc} patogénica, as partículas infecciosas, designadas como virino ou holoprião, contêm um pequeno ácido nucleico responsável pela especificidade e variabilidade de estirpe.

Tirando partido da diferença de peso molecular das PrP 27-30 de duas estirpes diferentes de TME/EET transmitida ao hamster, demonstrou-se que cada uma dessas formas de PrP^{Sc} pode converter a mesma PrP^C de hamster em PrP^{Sc} com a especificidade da estirpe conversora. Assim, pelo menos uma característica de estirpe pode ser explicada exclusivamente pelo mecanismo de conversão em isoformas diferentes, mas as condições experimentais impedem uma caracterização de estirpe mais completa, por inoculação animal.

Cada estirpe tem um padrão típico de distribuição cerebral de PrP^{Sc}, embora experiências genéticas sugiram que um gene celular (gene Y), distinto mas próximo do gene PRNP, possa também determinar a neuropatologia. Em alternativa, pode-se especular que, pela facilidade em formar dímeros, a PrP^C seja o próprio receptor da PrP^{Sc}. Neste caso, a determinação da célula alvo poderia depender de diferentes afinidades para as diversas estirpes de PrP^{Sc}, consoante o microambiente da PrP^C (interacções com lípidos ou glicoproteínas da membrana, por exemplo).

João Vasconcelos Costa

A VIGILÂNCIA E O CONTROLO DAS ENCEFALOPATIAS ESPONGIFORMES TRANSMISSÍVEIS NA EUROPA A BSE EM PORTUGAL

BSE NA EUROPA

Não obstante o 1º caso de BSE se ter verificado no Reino Unido (RU) em Abril de 1985, a doença só foi identificada e descrita em Novembro de 1986.

Apesar da sua progressão se ter verificado em larga escala, só em 1988 a doença foi notificada ao *Office International des Epizooties* (OIE) e tomadas no RU as primeiras medidas cautelares, que consistiram na proibição e fiscalização da incorporação de farinha de carne e ossos nos alimentos dos ruminantes.

De facto, esta doença tornou-se num dos maiores problemas veterinários das últimas décadas e causa de grande prejuízo económico no RU, em primeiro lugar, mas também, embora de menor monta, na Suíça, Irlanda e Portugal.

Até ao aparecimento da BSE, as EET animais constituíram apenas motivo de apreensão para os especialistas em Saúde Pública, já que a sua transmissibilidade ao homem nunca tinha sido demonstrada, face a todos os estudos epidemiológicos e experimentais efectuados, os quais, quando não resultaram negativos, foram, no máximo, inconclusivos.

Tal foi o caso dos estudos efectuados com o *Scrapie*, doença que, pela sua prevalência e expansão em quase todo o mundo, melhor atenção mereceu, tendo ainda em conta que a carne dos animais susceptíveis constitui uma parcela muito importante da dieta alimentar humana.

A identificação da BSE fez ressurgir o interesse científico nas EET e podemos afirmar que uma nova era no estudo destas doenças se iniciou.

Pesem embora todas as investigações científicas efectuadas e a grande quantidade de informação já vertida sob a forma de publicação, continuam ainda muito obscuros aspectos fundamentais das EET, de tal modo que as medidas mais recomendadas contra a doença, quer em humanos quer nos animais, continuam a ser classificadas de cautelares.

Nesta circunstância tem sido na base de medidas cautelares que a vigilância e controlo das EET, em particular da BSE e do *Scrapie*, na Europa e no resto do Mundo, têm sido preconizadas.

O primeiro país da Europa a implementar tais medidas foi, naturalmente, o RU que, como antes dissemos, em Julho de 1998 proibiu a incorporação de proteína de ruminantes na produção de rações, após ter concluído ser esta a principal, senão única, via de transmissão da doença.

Apesar de tudo, não impediu que essa mesma farinha de carne e ossos fosse exportada para outros países da Europa e do resto do Mundo. Tenha-se em atenção que, em 1989, 50% da exportação dessa matéria prima teve como destino a França. Presume-se que uma parte dela tenha sido reexportada para outros países, dando assim continuidade à difusão da doença.

Importa dizer que os países, inicialmente sem BSE, a podem ter adquirido, a partir do RU, quer pela importação de animais vivos, quer pela contaminação com farinha de carne e ossos importada ou já reciclada a partir de despojos de animais que contraíram a doença em território nacional e que se destinaram à Indústria dos subprodutos.

A Comissão Europeia limitou a importação de animais vivos do RU para outros Estados Membros da União Europeia (UE), nascidos depois de Julho de 1988. Nessa altura, a transmissão materna era já considerada uma possibilidade real e por esse facto foi determinado que esses animais não poderiam ser descendentes de animais suspeitos ou confirmados com BSE.

Mais tarde, a importação passou a ser apenas permitida a animais de engorda destinados a abate, antes dos seis meses de idade.

Em 1 de Abril de 1990 a UE determinou que a doença fosse de notificação obrigatória.

Diversos países na Europa, nomeadamente na UE, iniciaram programas de vigilância e erradicação da BSE, uma vez detectada a doença.

O pico da doença no RU ocorreu em 1992. O efeito da interdição da farinha de carne e ossos na alimentação animal começou a ser visível em 1993. O declínio da doença foi notório nos grupos de animais mais jovens.

O curso previsível desta epizootia pode ter dois cenários: no primeiro, a doença acaba com o primeiro hospedeiro, como acontece com a TME, no segundo, se se apurar a transmissão horizontal, ela terá um prazo indefinido, o qual obrigará, certamente, a outras medidas de natureza mais drástica.

A transmissão materna já constatada cientificamente, embora apenas numa reduzida percentagem de casos, poderá vir a tornar a doença esporádica, tal como acontece na CJD, convertendo-se, apesar do seu baixo nível de incidência, numa epizootia de prazo indefinido.

A BSE foi experimentalmente transmitida ao porco num único caso, num grupo de dez animais, após inoculação intracerebral com dose elevada e aos ovinos por via oral. Não foi conseguida a transmissão da doença a outros animais de interesse zootécnico.

Mais recentemente, em 1998, a UE impôs medidas restritivas no consumo de produtos de origem animal provenientes de bovinos e ovinos, no sentido de proteger a saúde pública.

De facto, por decisão comunitária, foi proibido o consumo pelo homem, ou a utilização como subprodutos na alimentação animal, nomeadamente de cérebro,

espinhal medula, timo, baço, amígdalas e intestino, tendo em conta que estes serão os órgãos cuja infecciosidade é mais evidente.

O embargo à exportação de bovinos vivos e carne foi também imposto ao RU pela UE, embora, actualmente, tal embargo tenha sido levantado para carnes frescas desossadas, sob determinadas condições.

BSE EM PORTUGAL

A BSE teve, em Portugal, um percurso sinuoso.

Diagnosticada pelo autor em Junho de 1990, só em Julho de 1994 foi admitida a sua existência no nosso país.

No período que mediou entre estas duas datas, ocorreram factos fortemente mediatizados, como foram uma Audição e um Inquérito Parlamentar, o qual concluiu em 4 de Junho de 1993 que "não se pode concluir pela existência da doença das vacas loucas no nosso país".

Tinham, à época, sido diagnosticados apenas quatro casos de doença e a atitude da Assembleia da República impediu que fossem tomadas as medidas adequadas de vigilância, controlo e erradicação, que desde 1990 se impunham.

Só em 1996, perante o número crescente de casos de BSE registados em Portugal, a admissão da forte possibilidade da transmissão da doença ao Homem e ainda o início de nova Legislatura Parlamentar e de um novo Governo no País, se definiu um programa de erradicação em Portugal, o qual foi aprovado pela UE, e que se descreve resumidamente:

- ♦ Abate e destruição de todos os animais clinicamente suspeitos, garantindo a recolha de material necessário para análise laboratorial;**
- ♦ Colocação sob sequestro de todo o efectivo bovino das explorações em que ocorram casos suspeitos de BSE, até à confirmação ou infirmação laboratorial;**
- ♦ Marcação, de forma indelével, de todo o efectivo bovino das explorações em que são confirmados casos positivos de BSE, promovendo-se o seu abate compulsivo (abate de coabitantes) e posterior destruição total por incineração;**
- ♦ Pagamento total dos animais (coabitantes) abatidos, tendo em conta o seu valor comercial e zootécnico;**
- ♦ Realização dos adequados inquéritos epidemiológicos aos efectivos suspeitos, bem como às fábricas de alimentos compostos que laboraram com farinhas de carne e ossos que haviam sido importadas do RU;**
- ♦ Manutenção da interdição do uso de proteína de mamíferos na alimentação de animais ruminantes (Portaria 702/94, de 28/Julho) e reforço do mecanismo de**

vigilância e controlo, junto das fábricas de alimentos compostos, dos auto-produtores de rações e das explorações agrícolas;

- ◆ **Interdição absoluta da entrada na cadeia alimentar humana, por qualquer forma, de produtos de origem bovina provenientes de animais que apresentem sintomatologia da BSE e, em geral, de determinados órgãos dos bovinos (encéfalo, espinhal medula, amígdalas, baço, timo e intestino), mediante a aprovação e publicação do Decreto-Lei n.º 32-A/97, de 28/Janeiro;**
- ◆ **Instituição de um sistema de pesquisa da presença de proteína de mamíferos nos alimentos compostos destinados a ruminantes, com recolha periódica de material para análise, nas fábricas de alimentos compostos, nos autoprodutores, nos armazenistas e nas explorações agrícolas;**
- ◆ **Reforço do controlo e vigilância nas unidades de processamento de subprodutos de origem animal, com revisão das suas condições de licenciamento, promovendo o encerramento daquelas que não procederam à sua reconversão tecnológica, por forma a estarem aptas a proceder ao tratamento dos subprodutos e sua esterilização nos termos definidos na Decisão da Comissão n.º 96/449/CE de 18/Julho;**
- ◆ **Concessão de apoio financeiro à reconversão tecnológica (aquisição de novos equipamentos) das unidades de processamento de subprodutos de origem animal;**
- ◆ **Instituição da Comissão de Estudo e Acompanhamento das Encefalopatias Espongiformes Transmissíveis em Portugal, tendo em vista acompanhar e aprofundar os conhecimentos científicos sobre as referidas doenças e a sua evolução;**
- ◆ **Criação de um Grupo de Trabalho Interministerial, para a definição das medidas técnicas e condições de implementação da destruição sistemática dos produtos bovinos cuja utilização foi interdita;**
- ◆ **Promoção de acções de formação dos técnicos com vista ao reforço da vigilância da BSE e promoção de acções de divulgação junto aos criadores de bovinos.**

Em Outubro de 1998, perante o embargo decretado pela UE da exportação de animais vivos e carne a partir de Portugal, na sequência do número crescente de casos positivos de BSE no país, o Governo decidiu medidas complementares de emergência para combate da doença, como se descreve a seguir.

Reforço das medidas de epidemiovigilância

- ◆ **Aprofundamento e melhoria qualitativa dos inquéritos epidemiológicos;**
- ◆ **Reformulação do impresso existente, com base nas sugestões propostas no relatório da última Missão Veterinária da UE e com recurso à experiência de técnicos de outros Estados Membros;**

- ◆ **Estabelecimento da obrigatoriedade da confirmação do inquérito pelo veterinário oficial do quadro dos serviços regionais do Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas (MADRP);**
- ◆ **Aferição dos inquéritos por equipa especializada da Direcção-Geral de Veterinária (DGV), aquando da sua recepção por esta Entidade;**
- ◆ **Cruzamento dos dados recolhidos no inquérito com as informações constantes do sistema de identificação animal, do PISA, do Contraste Leiteiro, do Livro Genealógico e dos registos de inseminação artificial, por forma a atingir-se um adequado nível de rastreabilidade.**

Promoção da realização de acções de formação contínua dos agricultores e dos agentes sanitários de campo

- ◆ **Envio de *mailings* semestrais a associações de produtores e a produtores individuais (cerca de 140 000), com base em texto preparado pela DGV e com recurso à base de dados do Instituto Nacional de Garantia Agrária (INGA);**
- ◆ **Realização de acções de formação trimestrais, ministradas por monitores da DGV, destinadas a técnicos sanitários dos Agrupamentos de Defesa Sanitária e das 7 Direcções Regionais de Agricultura, num total de 28 acções/ano, durante os 3 anos seguintes.**

Antecipação em 6 meses da entrada em funcionamento do plano nacional de identificação (PNIB), já iniciado

- ◆ **Desenvolvendo iniciativas no sentido da aceleração do processo de especificações para a elaboração do caderno de encargos e subsequente lançamento do concurso para a operacionalidade da Base de Dados.**

Separação, marcação e inutilização dos materiais de risco específico (MRE) definidos na decisão nº. 97/534/CE (a nível dos estabelecimentos de abate e salas de desmancha)

- ◆ **Elaboração de um Manual de Procedimentos pelas Entidades Oficiais (MPEO);**
- ◆ **Contratação dos auxiliares de inspecção necessários, por forma a assegurar a existência de pelo menos 1 por estabelecimento;**
- ◆ **Realização de acções de formação contínua dirigidas aos auxiliares de inspecção;**
- ◆ **Elaboração e execução de um plano de supervisão a executar pela DGV.**

Verificação dos processos de fabrico e respectivos registos (a nível das unidades de transformação de subprodutos de origem animal)

- ◆ **Elaboração de um MPEO;**
- ◆ **Contratação de 1 técnico sanitário por cada unidade de transformação;**
- ◆ **Elaboração e execução de um plano de supervisão a executar pela DGV.**

Verificação da natureza das matérias-primas utilizadas, dos processos de fabrico e respectivos registos (a nível das fábricas de alimentos compostos para animais)

- ◆ **Elaboração de um MPEO;**
- ◆ **Realização de acções regulares de fiscalização, com periodicidade quinzenal;**
- ◆ **Realização de acções de formação aos agentes de controlo;**
- ◆ **Elaboração e execução de um plano de supervisão a executar pela DGV.**

Operações de destruição por incineração das farinhas de carne e ossos e do sebo de mamíferos

- ◆ **Elaboração de um MPEO;**
- ◆ **Acompanhamento permanente das operações de destruição por 1 técnico oficial.**

Minimização do risco em Saúde Pública

- ◆ **Interdição da entrada na cadeia alimentar humana e animal dos MRE de bovinos, ovinos e caprinos através da publicação de diploma já aprovado pelo Governo;**
- ◆ **Adopção de medida legislativa, de interdição total da incorporação de farinha de carne e ossos de mamíferos e de sebo dos materiais de risco especificado na alimentação animal, com a subsequente destruição por incineração;**
- ◆ **Destruição imediata dos stocks de farinha de carne e ossos e de sebo de mamíferos, bem como de alimentos compostos que contenham incorporações da referida farinha e/ou sebo existentes nas explorações agrícolas, revendedores, unidades de transformação de subprodutos e fábricas de alimentos compostos.**

Medidas legislativas, estabelecendo a revisão e o agravamento das sanções sobre as práticas e comportamentos violadores das normas instituídas

- ◆ **Quintuplicação das coimas mínimas ($100 \times 5 = 500$ contos);**
- ◆ **Duplicação das coimas máximas ($9\ 000 \times 2 = 18\ 000$ contos);**
- ◆ **Criminalização das infracções contra a Saúde Pública.**

Alexandre Galo

EPIDEMIOLOGIA E TRANSMISSIBILIDADE DAS ENCEFALOPATIAS ESPONGIFORMES TRANSMISSÍVEIS ANIMAIS

ANTECEDENTES

Como já foi referido, é no RU, na primeira metade do século XVIII (1732), que se referencia o primeiro registo oficial de EET em espécies animais, nomeadamente em rebanhos de ovinos. Este tipo de doenças, caracterizado pelo longo período de incubação e pelo quadro sintomático de tipo nervoso de desfecho fatal, tinha no *Scrapie* o modelo quase exclusivo nas espécies animais. Era também reconhecido que esta doença apenas afectava os pequenos ruminantes (ovinos e caprinos).

A excepção a esta regra eram as EET humanas (Kuru e CJD) transmitidas experimentalmente a primatas e as escassas notícias de ocorrências naturais similares, em outros ungulados como veados e alces e em explorações intensivas de martas.

Em meados dos anos oitenta, surgiu a BSE, tornando-se, em poucos anos, no principal e mais grave problema de sanidade afectando os efectivos bovinos do RU. A evidência da sua transmissão humana, associada ao intervalo temporal entre o momento da infecção e a revelação do quadro sintomatológico, transformou-a na maior ameaça zoonótica, transmitida, sobretudo, por produtos alimentares cárneos.

A peculiar origem desta nova doença e o desafio que os respectivos controlo e erradicação colocam justificam analisar com algum detalhe a sua presente distribuição espacial, a evolução registada e os principais indicadores epidemiológicos, bem assim como os inéditos mecanismos de transmissão e os respectivos desafios biológicos a eles associados.

SÍNTESE DA ACTUAL SITUAÇÃO DA BSE E DAS OUTRAS EET ANIMAIS

A análise dos dados relativos a ocorrências notificadas de BSE em diferentes países do mundo (Quadro II) permite verificar que apenas no RU o surto epidémico, iniciado em 1988, adquiriu uma dimensão significativa, consubstanciada nos quase duzentos mil casos notificados desde a última década. A doença atingiu sobretudo os efectivos de bovinos leiteiros. Alguns outros países europeus têm vindo a confirmar números variáveis de casos. Em algumas destas situações, os casos registados estão relacionados directamente com animais importados do RU e ou com a importação de farinhas de carne e ossos inglesa.

O detalhado estudo epidemiológico, realizado pelo grupo de investigadores do *Central Veterinary Laboratory* de Weybridge (RU), verificou a inexistência de asso-

ciação causal entre a BSE e diferentes produtos farmacêuticos e agro-químicos, a importação ou os movimentos de animais e a presença de ovinos. Não sendo uma doença de origem genética ou associada a qualquer raça ou linhagem bovinas, a susceptibilidade individual parece não estar excluída.

Quadro II – Distribuição mundial de casos notificados de BSE (www.oie.int)

| País | Casos acumulados(até 29/02/00) |
|-----------------------------|---------------------------------------|
| Reino Unido | 178 888 |
| República da Irlanda | 426 |
| Portugal | 371 |
| Suíça | 332 |
| França | 81 |
| Bélgica | 10 |
| Alemanha | 6 |
| Holanda | 6 |
| Itália | 2 |
| Sultanato de Omã | 2 |
| Dinamarca | 2 |
| Liechtenstein | 2 |
| Luxemburgo | 1 |
| Canadá | 1 |
| "Falklands" | 1 |

A consistência da hipótese da origem alimentar foi reforçada através da verificação da diferença de ocorrência dos casos de BSE entre efectivos de bovinos leiteiros e efectivos de bovinos de carne. Não só a incidência de BSE nos primeiros era muito mais elevada, como cerca de 85% dos casos assinalados em bovinos de carne eram de animais provenientes de efectivos leiteiros (vitelos leiteiros machos, engordados para produção de carne).

Admite-se ter tido origem na inclusão regular de despojos de ovinos infectados com *Scrapie* o início da epidemia de BSE no RU, que terá possibilitado a passagem da barreira de espécie do agente priónico. Entretanto, a reciclagem regular de subprodutos resultantes do abate de bovinos transformados em farinha de carne e ossos poderá ter sido responsável, posteriormente, pela amplificação do sinal infeccioso de uma estirpe de prião adaptada aos bovinos.

É relativamente consensual que as alterações introduzidas no tratamento dos despojos de matadouro, a partir do início dos anos oitenta – suspensão do tratamento

extractivo da fracção lipídica com agentes solventes, aquecimento sem utilização de vapor de água e introdução de processamento em sistema contínuo – terão sido determinantes na redução da capacidade de inactivação do agente priónico.

Curiosamente, a maioria dos efectivos afectados registaram um número muito baixo de casos (em cerca de 40% dos efectivos, apenas se registou um caso).

O efeito de passagem do prião devido à reciclagem de despojos de bovinos infectados foi revelado quer pela redução do período de incubação e pela sua respectiva fixação no intervalo modal dos estratos etários com 4 a 5 anos, quer pelo dramático aumento do material infeccioso em circulação, associado, agora, à inexistência da barreira de espécie. Estas assunções parecem ser confirmadas pela evidência da progressiva diminuição do período de incubação a partir de 1989, consubstanciada na proporção crescente de bovinos afectados na faixa etária dos 3 aos 4 anos.

Por outro lado, e parecendo confirmar a hipótese da rápida sucessão temporal de dois importantes acontecimentos biológicos – a ultrapassagem da barreira de espécie ovino – bovino, seguida da extensa multiplicação do material infeccioso por passagem sucessiva na espécie bovina –, o prião responsável pela BSE revela uma grande unicidade antigénica, divergindo nesta característica do padrão *Scrapie*. No entanto, o mesmo efeito, ou o seu favorecimento, poderá também ter sido conseguido pela pressão selectiva resultante do processamento dos despojos, que terá seleccionado apenas alguma estirpe mais resistente às condições de tratamento térmico utilizadas.

No RU, está reconhecido o facto de o *Scrapie* afectar muitos rebanhos de ovinos desde há mais de dois séculos. Segundo um estudo recente realizado em Inglaterra e Gales, cerca de um terço dos produtores de ovinos entrevistados, possuindo rebanhos de pelo menos 100 animais, indicaram ter, ou ter tido, casos desta doença. Em estudo epidemiológico mais recente esta proporção de infecção proposta parece não ultrapassar 15% dos respondentes.

A doença é endémica na maioria dos países europeus, tendo alguma expressão em França, na Islândia e na Itália. No entanto, alguns países como a Dinamarca, a Espanha e Portugal alegam não ter a doença pelo facto de nunca terem sido, oficialmente, notificados casos de *Scrapie*. Idêntica situação se regista em muitos outros países e continentes, mas apenas são considerados indemnes a Austrália, a Nova Zelândia e a África do Sul.

Em regra, a prevalência da doença nos rebanhos é baixa, atingindo apenas 0,5% a 1% dos animais adultos entre os 2 e os 5 anos de idade. Em muitos casos, a ocorrência do *Scrapie* é esporádica, o que dificulta o seu reconhecimento clínico. Presentemente, através de redes europeias de investigação, estão em curso iniciativas visando o desenvolvimento e teste de metodologias e de procedimentos que possam ser utilizados e dar mais eficácia aos sistemas de monitorização epidemiológica desta doença.

Presentemente, através de redes europeias de investigação, estão em curso iniciativas visando o desenvolvimento e teste de metodologias e de procedimentos, que possam ser utilizados e dar mais eficácia aos sistemas de monitorização epidemiológica desta doença.

Os casos de encefalopatia espongiforme em outras espécies animais, à parte os registos de transmissão experimental, foram quase todas registadas no RU ou estão relacionadas com a ingestão de despojos de matadouro ou de alimentos compostos contaminados com origem britânica. Os animais atingidos eram de várias espécies de antílopes (nialas, kudus, elandes, orix), felinos (chitas, pumas, tigre, leões) e primatas confinados em parques zoológicos.

Entretanto, estão também registados quase uma centena de casos de encefalopatia espongiforme felina no RU, em França e noutros países europeus, cuja origem se atribui à incorporação de material proteico contaminado proveniente de bovinos e com origem no RU, nas rações dos gatos domésticos.

A origem da maioria dos casos notificados de BSE em outros países e regiões assume-se serem da responsabilidade quer da importação directa de bovinos infectados do RU, quer por via da utilização de farinha de carne e ossos contaminada, de origem britânica, incorporada no processo de produção de alimentos compostos naqueles países. Já a mesma explicação não será a única para justificar as evoluções registadas em países como a Irlanda, a Suíça e Portugal.

ANÁLISE DA SITUAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DAS EET EM PORTUGAL

Assumindo que, provavelmente, para cada um dos países com número significativo de casos de BSE existirão explicações específicas para as respectivas evoluções da doença, analisaremos com maior detalhe o panorama da BSE em Portugal.

A doença foi diagnosticada pela primeira vez em Junho de 1990, como também já se disse. Por razões espúrias, a publicitação do diagnóstico dos casos suspeitos foi mantido confidencial até 1993. O esforço oficial de levantamento epidemiológico dos focos foi pontual e as medidas de traçabilidade e de vigilância dos animais importados do RU e a fiscalização das unidades de produção de alimentos compostos, para prevenir a utilização de farinha de carne e ossos de origem suspeita foram inexistentes.

Com efeito, até 1994 todos os casos diagnosticados eram de bovinos importados do RU. A partir de 1994, a quase totalidade dos 308 casos, desde então registados, são de animais nascidos em Portugal (Quadro III).

Quadro III – Evolução anual da BSE em Portugal (www.min-agricultura.pt)

| Ano | Origem | | Total |
|---------------|--------------------|-----------------|--------------|
| | Reino Unido | Portugal | |
| 1990 | 1 | - | 1 |
| 1991 | 1 | - | 1 |
| 1992 | 1 | - | 1 |
| 1993 | 3 | - | 3 |
| 1994 | 0 | 12 | 12 |
| 1995 | 1 | 14 | 15 |
| 1996 | 0 | 31 | 31 |
| 1997 | 0 | 30 | 30 |
| 1998 | 0 | 127 | 127 |
| 1999* | 0 | 146 | 146 |
| TOTAIS | 7 | 360 | 314 |

* Actualização a 30/11/99. Registos relativos à data da morte do animal

Segundo Almeida (1997), a proposta de suspeita de BSE não resulta de nenhuma operação rotineira integrada em adequado sistema de vigilância epidemiológica. A indicação de suspeita parte sobretudo da iniciativa dos clínicos assistentes ou dos veterinários assalariados pelas organizações de produtores nas visitas de saneamento aos efectivos animais. E nenhum dos casos suspeitos foi colocado a nível do matadouro.

Até ao presente, já foram analisadas laboratorialmente 804 suspeitas clínicas, tendo sido confirmados 367 casos de BSE. Estes dados indiciam quer uma notável capacidade de diagnóstico clínico, que ronda os 50% de confirmação, quer a importância desta nosologia no panorama da patologia nervosa dos bovinos, quer ainda uma melhoria da capacidade de diagnóstico (maior sensibilidade dos testes laboratoriais utilizados).

Os casos detectados correspondem a 341 focos, ou seja, a explorações de bovinos com, pelo menos, um caso confirmado laboratorialmente. A exemplo do já sucedido no RU, a maioria dos focos (332) apresenta apenas um animal com sintomas, em 7 efectivos foram detectados dois casos e nas duas explorações restantes foram registados 3 casos e 9 casos, respectivamente.

A evolução da BSE em Portugal regista um aumento significativo de casos a partir de 1998 (inclusive). Este facto é, eventualmente, explicado em recente trabalho de modelagem epidemiológica da evolução da BSE no nosso país, publicado na revista "Journal of Epidemiology and Biostatistics" (1999), que indica ser a seguinte evolução prevista da incidência da BSE (dentro dos respectivos intervalos de segurança):

Quadro IV – Perspectiva da evolução da BSE em Portugal

| 1999 | 2000 | 2001 | 2002 | 2003 |
|-----------|-----------|----------|---------|--------|
| 219 | 160 | 76 | 26 | 7 |
| (160-302) | (114-246) | (48-133) | (13-55) | (2-19) |

Assumindo por correctas estas previsões, a actual situação corresponderia ao final do período de incidência máxima do surto epidémico. A comprovar o registado agravamento do gradiente de incidência nos últimos dois anos, salienta-se a diminuição progressiva do período de incubação no conjunto dos casos detectados. É exemplo disso o facto de a idade mínima apresentada por animais com infecção confirmada ser de 5,6 anos para os nascidos em 1988, sendo de 3,4 anos para a coorte dos nascidos em 1994.

Cerca de 37% (114) dos animais positivos nascerem em 1993 e apresentaram uma idade média de 5,2 anos (máximo 7 anos e mínimo 3,7 anos).

De todos os casos, até à data confirmados, já foram registados 9 em animais nascidos após a interdição da incorporação de farinhas de carne e ossos nos alimentos compostos para ruminantes, decretada em Julho de 1994 (Portaria nº702/94).

Os animais exibindo sintomatologia e confirmados laboratorialmente como positivos são sobretudo bovinos da raça Frísia, de vocação leiteira. No entanto, 39 (12,4%) dos casos detectados atingiram bovinos de outras raças como as Galega, Minhota e Mirandesa e os cruzamento Saller com Alentejano. Embora as duas primeiras raças tenham vocação leiteira dominante e, portanto, um maneio alimentar similar, a raça Mirandesa e o cruzamento referenciado são, exclusivamente, animais vocacionados para trabalho e produção de carne.

Desde 1996 que o Plano Nacional de Erradicação de BSE prevê o abate compulsivo de todos os bovinos coabitantes de casos confirmados, sendo realizada a recolha sistemática de amostras e a respectiva análise laboratorial. Das mais de 6.000 amostras até agora processadas foram detectados 15 animais positivos mas que ainda não exibiam quaisquer sintomas que os indicassem como suspeitos.

A distribuição geográfica dos casos notificados de BSE apresenta, à primeira vista, algum paralelismo com a concentração dos bovinos leiteiros em Portugal. É sobretudo na faixa litoral a norte do rio Mondego que se registou o maior número de casos (321), ou seja, cerca de 87,5% do total. No entanto, na área de implantação das DRA (Direcção Regional de Agricultura) de Entre-Douro e Minho e da Beira Litoral estão arrolados 504.000 bovinos, correspondendo a apenas 47,2% do total nacional. Ainda mais relevante é o facto de Trás-os-Montes e Alto Douro ter já registado 36 casos e a região do Ribatejo e Oeste apenas 4 casos. A concentração de bovinos é, respectivamente, de 74.000 cabeças e de 140.000 cabeças.

A explicação destas aparentes contradições terá de ser procurada através da avaliação detalhada dos sistemas de produção utilizados nas diferentes regiões (e em particular nas explorações afectadas) e pela análise dos factores de risco a eles associados.

Até ao presente, apenas o Algarve e as regiões Autónomas dos Açores e da Madeira nunca registaram qualquer caso de BSE. O panorama da distribuição geográfica nacional está descrito na Quadro V.

Quadro V – Distribuição dos casos notificados, por Direcção Regional de Agricultura (www.min-agricultura.pt)

| Direcção Regional de Agricultura | N. ° de casos | % |
|---|----------------------|--------------|
| Entre Douro e Minho | 247 | 67,3 |
| Trás-os-Montes e Alto Douro | 36 | 9,8 |
| Beira Litoral | 74 | 20,2 |
| Beira Interior | 3 | 0,8 |
| Ribatejo e Oeste | 4 | 1,1 |
| Alentejo | 3 | 0,8 |
| Algarve | 0 | 0,0 |
| TOTAL | 367 | 100,0 |

No nosso país e em relação ao *Scrapie*, nunca foi confirmado laboratorialmente qualquer caso desta encefalopatia espongiforme dos pequenos ruminantes. No entanto, também nunca foi instituído qualquer sistema activo de vigilância, nem efectuado nenhum estudo especificamente dirigido a esta EET. Existe, contudo, uma forte probabilidade de, mesmo que se confirme não ser endémica, esta doença poder ser introduzida através da importação, sem adequado controlo sanitário, de pequenos ruminantes provenientes de países afectados.

Relativamente à ocorrência de casos de EET em outras espécies animais, não existe qualquer indicação clínica da sua presença.

TRANSMISSÃO DAS EET

O modelo mais estudado e divulgado das vias e tipos de transmissão dos agentes priónicos é o do *Scrapie*. O padrão de infecciosidade dos diferentes órgãos e tecidos dos animais infectados está proposto no caso do *Scrapie* há quase uma dezena de anos. Foi com base nesse conhecimento que as primeiras medidas de prevenção e de controlo de BSE foram tomadas. No Quadro VI, explicitam-se os gradientes de infecciosidade conhecidos para o *Scrapie*:

QUADRO VI – Categorias de infecciosidade dos órgãos e tecidos animais no *Scrapie* (Organização Mundial de Saúde, 1992)

| Categorias | Órgãos/Tecidos |
|---|--|
| Categoria I Alta infecciosidade | Encéfalo, espinal medula |
| Categoria II Infecciosidade média | Baço, amígdala, linfonodos, íleo e cólon proximal, placenta, hipófise e suprarenais |
| Categoria IIIa Alguma infecciosidade | Nervo ciático, pituitária, cólon distal, mucosa nasal |
| Categoria IIIb Infecciosidade mínima | Líquido cefalorraquidiano, timo, medula óssea, fígado, pulmão, pâncreas |
| Categoria IV Sem infecciosidade | Tecido muscular, glândula mamária, colostro, leite, sangue, fezes, rins, tiróide, glândulas salivares e saliva, ovário, útero, testículos, vesícula seminal |

Dados relativos às categorias de infecciosidade dos órgãos e tecidos de bovinos infectados com BSE são apresentados no Capítulo seguinte.

Admite-se que a via oral é a via de transmissão natural mais importante nas EET. No entanto, no caso do *Scrapie*, está comprovado existirem outras vias de disseminação do agente, implicando quer a transmissão horizontal, quer a transmissão vertical. Nesta doença, presume-se que a placenta dos animais infectados seja fonte de infecção tanto para o feto como, aquando da sua expulsão, para outros pequenos ruminantes que com ela contactem no meio ambiente. A transmissão indirecta é também considerada importante, podendo efectuar-se através da contaminação das pastagens e dos locais de abeberamento dos rebanhos, devido à excepcional resistência do prião aos agentes físicos e químicos, que lhe permite permanecer longos períodos no solo.

Na BSE, a via de transmissão natural é a via oral, embora como para todas as outras EET, a infecção experimental por via intracerebral seja considerada a mais eficiente.

O murganho é a espécie utilizada como sistema experimental, desenvolvendo a infecção em cerca de um ano após inoculação intracerebral e um pouco mais tarde (18 meses) após administração por via oral. À excepção do hamster e do cão, muitas outras espécies domésticas e laboratoriais são susceptíveis à transmissão experimental por via intracerebral. No entanto, a transmissão por via oral parece ser muito menos eficaz, sendo necessárias doses cerca de 100.000 vezes mais altas.

Por via oral, a dose mínima infectante assumida para a BSE é de 0,5 gramas de tecido infeccioso, sendo de 5×10^4 unidades priónicas a dose mínima suficiente para transmitir a infecção por via intracerebral.

Uma das características mais decisivas, quer para o sucesso das infecções priónicas na natureza, quer para as implicações epidemiológicas que acarreta, é o facto das EET serem doenças de longo período de incubação. Consoante a espécie animal e a fixação das características patogénicas do agente, a exibição do quadro sintomatológico apenas ocorre na vida adulta dos animais. Este facto favorece a manutenção e a perpetuação do prião nos efectivos animais, uma vez que, nestas circunstâncias, é difícil relacionar a origem da infecção com a exibição do quadro clínico. Assim, apenas os grupos de animais de produção ou os núcleos de reprodutores que são mantidos durante mais de 3 anos constituem a população alvo para a monitorização destas doenças.

Por outro lado, e em particular para o caso do *Scrapie*, tem vindo a acumular-se evidência científica que parece responsabilizar a homozigotia para determinados genes, como associada a uma maior susceptibilidade para a revelação da infecção. Esta constatação impõe um levantamento sistemático do padrão genético das raças nacionais de pequenos ruminantes de modo a sustentar a aparente ausência da doença. Por outro lado, as autoridades sanitárias deverão dar particular atenção à origem dos lotes de animais importados e fazer o escrutínio rigoroso à história progressa dos rebanhos com animais importados.

Armando Louzã

PREVENÇÃO DA PROPAGAÇÃO DA BSE E MINIMIZAÇÃO DA EXPOSIÇÃO HUMANA POR VIA ALIMENTAR

OS MATERIAIS DE RISCO ESPECIFICADO - MRE



O conhecimento científico actual sugere que o risco de exposição humana ao agente da BSE por via alimentar tem, de longe, origem no consumo directo de produtos de origem animal potencialmente infectado, apesar de o consumo indirecto desse tipo de produtos também não poder ser ignorado. Sugere ainda que o risco é potenciado pela reciclagem do agente da BSE na cadeia alimentar animal, factor determinante na propagação da doença. É, por isso, de importância capital determinar o risco de exposição associado a cada um dos diferentes produtos de origem animal que entram nas cadeias alimentares.

O mesmo tipo de informação permitiu ainda definir, para bovinos, a lista dos materiais de maior risco na transmissão da doença através de um animal potencialmente infectado (*Cf.* Quadro VII), os chamados MRE. Factos como o sucesso relativamente recente da transmissão oral da BSE a ovinos e caprinos; a possibilidade de transmissão horizontal e vertical nestas espécies; a diferenciação dos tecidos destes animais a respeito da respectiva infecciosidade potencial (à semelhança do que acontece com os bovinos) e ainda a particularidade de o risco de exposição e propagação da infecção diferir de país para país apontam no sentido de a lista dos MRE dever não só ser alargada a outras espécies, como ainda entrar em linha de conta com factores como a idade dos animais e a sua origem geográfica.

Quadro VII – Infecciosidade relativa dos materiais de risco especificado num bovino infectado com BSE

| Tecidos | Peso (kg) (num animal de 537 kg) | Percentagem da carga infecciosa total por animal (%) |
|--------------------------------|---|---|
| Cérebro | 0.5 | 64.0 |
| Espinal medula | 0.2 | 25.6 |
| Gânglios trigeminais | 0.02 | 2.6 |
| Gânglios dorsais | 0.03 | 3.8 |
| Íleo | 0.8 | 3.3 |
| Coluna vertebral | 5.0 | 0.2 |
| Baço | 0.8 | 0.04 |
| Olhos e resto da cabeça | 11.6 | 0.5 |

Na avaliação da importância da espécie para o risco de BSE, que se apresenta em seguida, vão ser considerados, principalmente para as espécies ovina/caprina e suína,

os meios possíveis para a transferência do agente infeccioso, os factores críticos dessa transferência e também a probabilidade de que o agente exista realmente na espécie, se mantenha e seja reciclado e/ou propagado por transmissão horizontal e vertical.

Relativamente aos ovinos e caprinos, os dados disponíveis demonstram claramente que a BSE pode ser oralmente transmitida a certos genótipos de pequenos ruminantes, sendo, assim, provável que o agente infeccioso possa ter sido introduzido nestas espécies, através de práticas alimentares que tenham incluído farinha de carne e ossos infectada. Embora não se tenha ainda determinado em que medida a farinha contaminada com BSE tem o mesmo efeito que os tecidos altamente infecciosos, utilizados na alimentação dos animais durante as experiências, o que é facto é que a informação (incompleta) de que se dispõe actualmente não permite excluir a hipótese de que a BSE, uma vez introduzida, seja mantida e propagada na população dos ovinos e caprinos por transmissão horizontal (ovelha a ovelha) e vertical (ovelha a cordeiro), que fazem subsistir a doença na população, mesmo depois de modificadas as práticas alimentares. Para além disso, estudos experimentais de infecção mostram que, nos ovinos e caprinos infectados, à semelhança do que acontece com os bovinos, há diferenciação dos tecidos a respeito da sua infecciosidade potencial. Assim, embora a ocorrência natural de BSE em ovinos e caprinos, em condições de terreno, não tenha sido ainda identificada e se reconheça que as práticas alimentares a que são sujeitos são diferentes das dos bovinos, não podem ser excluídos nem o risco da existência de BSE em ovinos e caprinos, nem o risco de exposição ao agente infeccioso através da introdução, na cadeia alimentar, de animais destas espécies em estado clínico ou pré-clínico da doença. As práticas alimentares em ovinos e caprinos são diferentes das dos bovinos em aspectos como a idade em que os animais são alimentados com farinha de carne e ossos e as quantidades que lhes são fornecidas. Há ainda a ter em conta as diferenças dependentes de o objectivo da produção ser a carne, a lã ou o leite. De qualquer forma, o princípio da precaução determina, por isso, que partes destes animais, nomeadamente as de maior infecciosidade potencial, devam também ser consideradas como MRE.

No que respeita a suínos, aves e outras espécies que servem de alimento ao ser humano, não há evidência de ocorrência de BSE após exposição oral ao agente infectante, nem tão pouco de ocorrência natural de qualquer forma de EET, apesar de, em quase toda a parte e até há pouco tempo, estas espécies terem continuado (excepto no RU) a ser alimentadas com farinha de carne e ossos de mamíferos. Por isso, as espécies referidas parece não apresentarem, em si próprias, risco de transmissão da doença. Pode-se argumentar que, sendo muito baixa a idade em que os animais normalmente são abatidos, a ausência de sinais clínicos de infecção não significa que, designadamente os suínos, não possam estar, na altura do abate, num período de incubação muito longo, mas já com infecciosidade transmissível. Contudo, aquelas espécies animais não são isentas de risco, dada a eventualidade de as rações que consomem estarem infectadas com os agentes de *Scrapie* ou de BSE: por um lado, fazem introduzir, nos matadouros, uma carga infecciosa não desprezível, susceptível de provocar a contaminação própria, ou de outras espécies, em linhas de produção não

dedicadas, se as condições higiénicas não forem as adequadas para garantir a completa eliminação dos conteúdos dos tractos alimentares; por outro lado, quando os seus estômagos e intestinos são utilizados nas cadeias alimentares humana e animal, podem ser factores de disseminação do agente infeccioso, não pela infecciosidade dos tecidos em si próprios, que parece não existir, mas pela remoção provavelmente incompleta dos resíduos infectados.

Considerações deste tipo podem ser reproduzidas, em maior ou menor grau, a propósito de todas as espécies que entram nas cadeias alimentares humana e animal e que incluem, na sua alimentação, farinha de carne e ossos. Em particular, podem estender-se à piscicultura, atendendo à possibilidade de reciclagem do agente infeccioso pela utilização, em várias espécies animais, de farinhas de peixe eventualmente infectadas.

Na investigação dos efeitos do factor idade na infecciosidade potencial dos produtos de origem animal, surgiram indicações de que a infecciosidade dos diferentes tecidos de qualquer animal infectado depende do estágio da infecção, ou seja, depende do tempo decorrido desde a primeira exposição efectiva. Por exemplo, em bovinos, as experiências realizadas mostraram que, regra geral, o sistema nervoso central (o tecido de maior infecciosidade relativa) só se tornou efectivamente infeccioso cerca de 32 meses após a infecção, embora se tenham observado períodos de incubação mais curtos. Em ovinos, experiências do mesmo tipo das realizadas nos bovinos determinaram períodos de incubação semelhantes aos anteriormente verificados para o *Scrapie*. É também de registar que a ocorrência natural da doença é rara em animais com idades inferiores a um ano e que a infecciosidade, induzida experimentalmente, só foi detectada no sistema nervoso central após 24 meses de infecção. No entanto, existindo, como parece ser o caso, uma grande variabilidade individual (eventualmente de origem genética) na susceptibilidade à BSE dos ovinos expostos à infecção, são teoricamente possíveis menores períodos de incubação para a BSE nestes animais. Assumindo transmissão vertical e tomando a infecção como tendo ocorrido no parto ou proximoamente, a idade torna-se sinónimo do período pós-infecção e passa a ser um factor determinante da infecciosidade potencial de cada tecido/órgão do animal infectado, condicionando, desta forma, o risco que lhe está associado na transmissão da doença. Atendendo aos casos excepcionais de aparecimento precoce dos sinais clínicos de BSE, o princípio de precaução determina, para a idade, um limite máximo de 12 meses para que o órgão de maior infecciosidade relativa possa ser considerado não infeccioso. Há registo de um caso de manifestação clínica da doença num vitelo de 20 meses e de um número reduzido de casos com idades inferiores a 30 meses. Em ovinos com *Scrapie* natural foi detectada infecciosidade no sistema nervoso central em idades próximas dos 24 meses e foi descrito um caso de doença num cordeiro de 4 meses.

De todo o exposto, parece poder afirmar-se que o maior risco de incidência e propagação da BSE e de exposição humana ao agente infeccioso é, em última análise, determinado pela extensão da utilização de suplementos proteicos (farinha de carne e ossos), potencialmente infectados, na alimentação dos animais que entram na cadeia alimentar humana. A extensão desta utilização tem a ver com a estrutura e dinâmica

das populações animais (nomeadamente de ruminantes) e práticas alimentares a que são sujeitas, características fortemente dependentes do país/região de origem/residência dessas populações e que, como tal, em conjunto com outros parâmetros igualmente relevantes, acabam por determinar o estatuto de cada país/região relativamente à BSE. Embora não tenha ainda sido possível, por falta de informação adequada, estabelecer o estatuto epidemiológico dos diferentes países no que respeita às EET (designadamente Scrapie e BSE), foram já propostos os critérios para avaliação do risco geográfico dessas doenças e para classificação dos países, em função do grau de conformidade comprovada da respectiva situação real com os critérios estabelecidos. Por enquanto, a lista de MRE aqui reproduzida (Cf. Quadro VIII) e que foi elaborada com base na análise detalhada de todos os factores demonstradamente relevantes na patogénese da BSE, tem aplicação em todos os países/regiões onde, com os dados actualmente disponíveis, tenha sido identificado um risco potencial da doença. No entanto, uma vez que a problemática relativa à BSE se caracteriza por uma constante evolução, a lista de MRE deve ser regularmente reavaliada e, sempre que necessário, modificada, tendo-se em conta a evidência epidemiológica e experimental mais actual no que respeita ao risco de exposição às EET, decorrente do carácter infeccioso de outras espécies, categorias etárias e tecidos ou materiais. Essa actualização deve ainda considerar as condições reais de cada país/região a respeito da BSE, que possam vir a influenciar a definição do risco de transmissão da doença, associado aos tecidos de animais oriundos e/ou alojados nesses países. No limite, num futuro próximo, é previsível que venham a existir várias listas de MRE, aplicáveis aos países, consoante o respectivo estatuto epidemiológico em relação à BSE.

Quadro VIII – Lista sugerida para os materiais de risco especificado em países não isentos de BSE ou com risco não negligenciável

| Tecidos | Espécie animal | Limite de idade^a |
|-------------------------|--|------------------------------------|
| Cérebro | Bovina, ovina^b e caprina^b | > 12 meses |
| Olhos | Bovina, ovina^b e caprina^b | > 12 meses |
| Dura máter | Bovina, ovina^b e caprina^b | > 12 meses |
| Pituitária | Bovina, ovina^b e caprina^b | > 12 meses |
| Cabeça | Bovina, ovina^b e caprina^b | > 12 meses |
| Espinal medula | Bovina, ovina e caprina | > 12 meses |
| Gânglios dorsais | Bovina, ovina e caprina | > 12 meses |
| Coluna vertebral | Bovina, ovina e caprina | > 12 meses |
| Baço | Ovina e caprina | De todas as idades |
| Intestino | Bovina, ovina e caprina | De todas as idades |
| Amígdalas | Bovina, ovina e caprina | > 12 meses |
| Pulmões | Bovina, ovina e caprina | > 12 meses |

a – Em países classificados como de alto risco de BSE, pode ser adequado reduzir o limite de idade de 12 para 6 meses.

b – Razões de ordem prática levam a que sejam considerados como materiais de risco especificado as cabeças inteiras de ovinos e caprinos de todas as idades

Neste contexto, é de referir que está actualmente em curso a discussão de uma proposta de Directiva (ou de Regulamento do Parlamento Europeu e do Conselho), apresentada pela Comissão Europeia, em que os MRE são definidos em função da categoria do país de origem/residência do animal. A proposta é relativa ao estabelecimento de regras de prevenção e controlo de determinadas encefalopatias espongiformes transmissíveis. As suas disposições baseiam-se em recomendações do Gabinete Internacional de Epizootias sobre a BSE (1998) e em diversos pareceres científicos pedidos pela Comissão Europeia a Comitês e Grupos Científicos. Estas categorias são, por sua vez, determinadas com base na patogénese das EET e na avaliação do risco geográfico que está associado a cada país/região, fortemente dependente da estimativa dos riscos de incidência, de propagação e de exposição do ser humano ao agente da BSE. Se a proposta vier a ser aprovada, os MRE passarão a ser designados segundo o normativo sintetizado no Quadro IX, que apresenta o que, a este respeito, está contemplado no articulado da proposta.

Admitindo a via alimentar como o principal vector para a exposição ao agente da BSE, torna-se evidente que, agir ao nível dos MRE, optando designadamente pela interdição à sua entrada, por qualquer forma, nas cadeias alimentares humana e animal, contribui decisivamente para reduzir o risco de transmissão da BSE por via alimentar, e o de exposição humana ao agente infeccioso. A partir do Quadro VII pode ver-se, por exemplo, que o cérebro e a espinal-medula de um bovino infectado representam, em conjunto, 89,6 % da carga infecciosa total do animal; os gânglios trigeminais e dorsais, 6,4 %; e o íleo mais 3,3 %. Daqui se conclui que, pela simples exclusão destes tecidos, seria reduzida, em 99,3 %, a carga infecciosa que entra na cadeia alimentar, aquando do abate desse animal.

MINIMIZAÇÃO DA PROPAGAÇÃO DA BSE

Até meados de 1997, era aceite a inexistência de infecciosidade residual, na farinha de carne e ossos, mesmo que derivada de material infectado, desde que os despojos, a partir dos quais era produzida, tivessem sido reduzidos a fragmentos com um tamanho máximo de 50 mm e que cada ponto desta massa tivesse sido sujeito à temperatura mínima de 133°C e à pressão absoluta de 3bar, durante 20 minutos, em processamento por *batch* ou sistema contínuo, no pressuposto de que os materiais dos despojos têm os teores de água e gordura, normalmente existentes em tecidos animais. As experiências entretanto realizadas levaram à conclusão de que, em condições do pior cenário, não se pode excluir a possibilidade de permanência de resíduos de infecciosidade no produto acabado, visto que a eficácia do tratamento varia significativamente com o estado de dessecação do material e respectivo teor lipídico. O estado físico-químico do material, em aspectos como o tamanho das partículas, estado de hidratação e presença de lípidos, pode ser determinante na transferência de calor. Sabe-se que há diferenças entre algumas estirpes do agente do Scrapie em termos da sua termoestabilidade. Até à data, não há dados conclusivos

Quadro IX – Materiais de risco especificado (designados em função da categoria do país de origem/residência do animal de que provêm)

| Categorias de classificação dos países/regiões | Tecidos/Órgãos | Espécie animal | Limite de idade^a |
|---|---|--|--|
| Categoria 1 | Nenhum | - | - |
| Categoria 2^{a, b} | Cérebro e espinal medula | Bovinos Ovinos e caprinos | > 30 meses ≥ > 12 meses^c |
| | Parte distal do íleo | Ovinos e caprinos | Qualquer idade |
| | Baço | Ovinos e caprinos | Qualquer idade |
| Categoria 3 | Toda a cabeça^d e espinal medula | Bovinos Ovinos e caprinos | > 6 meses > 12 meses |
| | Parte distal do íleo | Bovinos, ovinos e caprinos | Qualquer idade |
| | Baço | Ovinos e caprinos | Qualquer idade |
| Categoria 4^b | Toda a cabeça^d | Bovinos Ovinos e caprinos | > 6 meses > 12 meses |
| | Timo | Bovinos Ovinos e caprinos | > 6 meses > 12 meses |
| | Intestino (desde o duodeno ao recto) | Bovinos Ovinos e caprinos | > 6 meses > 12 meses |
| | Coluna vertebral^e | Bovinos Ovinos e caprinos | > 6 meses > 12 meses |
| | Outros ossos | Bovinos | > 30 meses |
| | Parte distal do íleo | Bovinos, ovinos e caprinos | Qualquer idade |
| | Baço | Ovinos e caprinos | Qualquer idade |

a - Nos países/regiões classificados na categoria 2, os materiais indicados só constituem MRE no caso de se ter registado algum caso de BSE.

b - Enquanto se aguarda confirmação do Gabinete Internacional das Epizootias.

c - Ou com um dente incisivo definitivo que já tenha rompido a gengiva.

d - Excluindo língua e incluindo cérebro, dura-máter, glândula pituitária, olhos, gânglios do trigémio e amígdalas.

e - Incluindo os gânglios das raízes dorsais, a espinal medula e a dura-máter.

sobre a eventual diferença de termoestabilidade entre os agentes de *Scrapie* e BSE. Por isso, e enquanto não se dispuser de testes de diagnóstico *ante-mortem* para os casos não-clínicos de BSE e *Scrapie*, nem forem identificados processamentos capazes de garantir adequadamente a segurança dos produtos, a única forma de minimizar a propagação da doença, por via alimentar, é implementar medidas que combinem restrições à origem das matérias-primas (seja no aspecto geográfico ou de espécie animal, na natureza dos materiais utilizados ou na idade dos animais donde estes materiais provêm), com a utilização do processamento com vapor hiperbárico

a 133°C, durante 20 minutos, que continua a ser, dos processos conhecidos para a produção de suplementos proteicos, o mais eficaz na inactivação/remoção do agente das encefalopatias espongiformes. No que respeita à produção dos derivados de gorduras fundidas destinados à produção de alimentos para animais ou fertilizantes, devem ser utilizados métodos validados e certificados.

Em conformidade com as considerações acima apresentadas, o Comité Científico Director da Comissão Europeia emitiu um parecer sobre a segurança da farinha de carne e ossos, onde, na perspectiva da prevenção da propagação da BSE por via alimentar, inclui recomendações sobre medidas de redução do risco potencial resultante da exposição a produtos com origem em animais infectados. Essas recomendações, em síntese, dizem o seguinte:

*Em países classificados de alto risco ou, à falta de informação adequada, considerados como tal, não deve ser produzida farinha de carne e ossos derivada de ruminantes, para ser utilizada na alimentação de mamíferos (não obstante ter sido questionado sobre a segurança da farinha de carne e ossos de mamíferos, o Comité Científico Director só se pronunciou sobre farinha de carne e ossos derivada de ruminantes potencialmente infectados com BSE ou *Scrapie*).*

Em todos os outros países (à excepção dos que, à luz de critérios reconhecidos, possam comprovadamente ser considerados livres de BSE), a matéria-prima para a produção de farinha de carne e ossos deve excluir os MRE e ter origem em animais "certificados para consumo humano" (refere-se a animais que passaram nas inspecções ante e pós-mortem e que foram certificados por autoridade veterinária competente, com base em legislação nacional e comunitária).

Cumulativamente, o processo de produção deve respeitar as condições 133°C/20'/3 bar ou ser equivalente na inactivação/remoção do agente da BSE ou *Scrapie*, e devem ser criadas condições para que, no processamento de despojos globalmente considerado, possa evitar-se uma eventual contaminação cruzada entre as matérias-primas provenientes de espécies diferentes ou para os produtos finais destinados a outras espécies. O conceito de processamento de despojos globalmente considerado abrange, para além do processo tecnológico propriamente dito, a recolha dos materiais, a distribuição pelos locais de processamento e a moagem final dos produtos proteicos.

Os pareceres científicos constituem, para a Comissão Europeia, uma etapa prévia de importância primordial para a elaboração de propostas ou medidas legislativas susceptíveis de ter impacte na segurança das cadeias alimentares e na protecção do consumidor. No entanto, sem pôr em causa o papel essencial destes pareceres, a Comissão reconhece que, em certos casos, é razoável ir um pouco mais além dos dados científicos, tendo em conta os riscos identificados que, para além da avaliação científica dos perigos, têm também em conta a sua probabilidade de ocorrência num determinado contexto. Por isso, na perspectiva da adopção de medidas de protecção da sanidade animal em relação ao risco das EET, a Comissão propôs a proibição da

utilização de proteínas de mamíferos em todas as rações para ruminantes e a remoção, e subsequente eliminação sob rigoroso controlo, de todos os materiais de risco especificado da cadeia alimentar animal, quer incorporados directamente sob forma de alimentos, quer enquanto fertilizantes agrícolas. Nos Estados Membros, ou nas suas regiões, pertencentes à categoria 4 do estatuto epidemiológico em relação à BSE, estas medidas são complementadas com a proibição (não aplicável a leite ou produtos à base de leite; proteínas hidrolisadas derivadas de restos de carne aderentes às peles; ou plasma seco e outros produtos do sangue) de alimentar qualquer animal de criação (vertebrado ou invertebrado, mantido, engordado ou criado para reprodução ou para a produção de carne, leite, ovos, lã, peles, penas ou qualquer outro produto de origem animal) com proteínas provenientes de mamíferos, ou de alimentar mamíferos (à excepção dos cães) com proteínas provenientes de ruminantes. A eliminação dos materiais classificados como de risco especificado (após a remoção, preferencialmente em matadouro, e marcação com corante indelével) deve ser feita por incineração directa ou, se necessário, serem primeiro transformados e depois incinerados ou utilizados como combustível, desde que, na transformação, o corante seja visualizável. Para ser efectivo, o controlo da remoção e destruição dos materiais de risco exige acompanhamento técnico adequado e a realização de acções de fiscalização frequentes a todos os locais e operações que, pela sua natureza, sejam susceptíveis de promover situações de contaminação ou fraude, nomeadamente matadouros e salas de desmancha, instalações de processamento de resíduos de animais e locais de armazenamento e venda.

As medidas preventivas propostas, relativas à redução do risco potencial para os animais, e as que visam especificamente a segurança alimentar dos seres humanos (a apresentar na secção seguinte deste capítulo), implicam a necessidade de garantir a formação adequada das pessoas envolvidas na prevenção e controlo das EET, de veterinários, de exploradores agrícolas e de todos os trabalhadores envolvidos no transporte, comercialização e abate dos animais de criação. Implicam, ainda, a implementação de programas rigorosos de controlo (para assegurar, por exemplo, a não utilização fraudulenta de proteínas de mamíferos nos alimentos compostos destinados a ruminantes) e de vigilância epidemiológica da BSE e do *Scrapie*, que contemplem a notificação obrigatória, à autoridade competente, de todos os casos suspeitos ou do aparecimento de qualquer outra encefalopatia espongiforme transmissível, e ainda a adopção das medidas já estabelecidas aquando da ocorrência de um caso confirmado. Estas medidas incluem a destruição da carcaça, a instauração de um inquérito que identifique quaisquer outros animais em risco, a restrição de deslocações dos animais e produtos de origem animal que envolvam risco, e a compensação monetária, imediata e integral, aos proprietários, pela perda dos animais e produtos de origem animal, destruídos ao abrigo do disposto no articulado dessas medidas.

Em alguns países, nomeadamente em Portugal, os coabitantes de cada caso suspeito são mantidos em sequestro e, em caso de se confirmar a doença no suspeito, é promovido o abate compulsivo dos coabitantes e as suas carcaças e despojos tratados de modo idêntico ao utilizado nos casos confirmados.

As normas propostas pela Comissão Europeia, no que diz respeito à prevenção da propagação animal da BSE por via alimentar, podem parecer demasiado cautelosas, se analisadas na perspectiva única desta prevenção. Contudo, considerando que o que está também, e principalmente, em causa é encontrar as formas mais eficazes para assegurar o nível máximo possível de protecção ao ser humano, justifica-se, pelo menos por enquanto, o rigor e extensão destas normas, pelo acréscimo que promovem na segurança dos animais e produtos que servem de alimento ao ser humano e na confiança deste como consumidor. Algumas destas normas já foram adoptadas em vários Estados Membros e países terceiros.

MINIMIZAÇÃO DA EXPOSIÇÃO HUMANA À BSE POR VIA ALIMENTAR

O risco de exposição humana ao agente da BSE tem a sua origem no consumo directo de produtos provenientes de animais que se encontram na fase pré-clínica ou clínica da doença. Avaliar a exposição do ser humano ao consumo directo das diferentes espécies animais potencialmente infectadas e seus produtos pode ser tarefa de dificuldade extremamente elevada, uma vez que os dados sobre padrões de consumo alimentar são muito difíceis de obter e/ou, no mínimo, exigem tempo (por vezes proibitivo) para serem reunidos. Por isso, esta avaliação tem sido feita a partir de cenários hipotéticos, que partiram do princípio de que o animal estaria sub-clinicamente infectado, com a doença quase a declarar-se, portanto, sendo portador de toda a carga infecciosa. Nesta base, avaliaram-se as três situações criadas pelo facto de os MRE terem sido todos excluídos da cadeia alimentar, ou terem sido excluídos apenas os tecidos de maior infecciosidade relativa (sistema nervoso central e gânglios do ráquis dorsal), ou todos os MRE terem sido normalmente introduzidos na cadeia alimentar. A análise detalhada dos factores relevantes do risco da exposição humana nos vários cenários criados levou à conclusão de que este risco só pode ser reduzido – e não eliminado, por ser inviável o conceito de risco nulo – através da adopção de um conjunto de medidas que abrangem, nomeadamente:

- ♦ a interdição absoluta à entrada, na cadeia alimentar, de quaisquer produtos provenientes de animais que apresentem sintomatologia de BSE;**
- ♦ o aprovisionamento seguro dos animais para consumo humano, segundo normas rigorosas que assegurem a interdição à introdução no mercado de animais potencialmente infectados;**
- ♦ a exclusão, da cadeia alimentar, de todos os tecidos susceptíveis de estarem significativamente infectados – ainda que os animais de onde provêm sejam aparentemente saudáveis bem como a sua remoção e eliminação em condições que evitem contaminação ou quaisquer outros riscos para a saúde pública ou sanidade animal;**
- ♦ a redução da idade de abate dos animais destinados ao consumo humano;**

- ♦ a aplicação de processos de transformação validados, cuja capacidade para reduzir/eliminar a infecciosidade residual de BSE tenha sido comprovada.

Uma das medidas mais eficazes na redução do risco de exposição humana à BSE é o desenvolvimento e validação de testes de grande escala, ante e/ou pós-mortem, destinados a implementar métodos de diagnóstico pré-clínico da doença. Considera-se prioritária a investigação desenvolvida com este objectivo.

No que diz respeito à carne de bovino, ovino ou caprino e a alguns produtos dela derivados, as normas comunitárias propostas prevêem a proibição da sua comercialização e consumo, desde que sejam provenientes de animais com origem em países, ou suas regiões, pertencentes à categoria 4 do estatuto epidemiológico em relação à BSE.

Não são incluídos nesta proibição as carnes fresca e picada, ou os preparados de carne e os produtos à base de carne que, cumulativamente, satisfaçam as seguintes condições:

- ♦ os animais de que provêm nasceram após a aplicação efectiva da proibição de alimentar ruminantes com proteínas derivadas de mamíferos;
- ♦ os efectivos em que os animais nasceram, em que foram criados e se mantiveram até serem abatidos, têm antecedentes certificados de isenção em relação à BSE;
- ♦ o estabelecimento onde têm lugar as operações de abate e corte (demonstradamente realizadas em observância das regras de segurança estatuídas) foi sujeito à implementação de um sistema que assegura a plena separação dos produtos, bem como o rastreio integral da carne e de todos os produtos de origem animal em todos os estádios.

A este respeito, continua a ser preocupante a possibilidade de inclusão fraudulenta de materiais da mais alta infecciosidade potencial, em produtos alimentares processados, seja pelo aproveitamento de carne removida por processos mecânicos a partir dos ossos da cabeça e/ou da coluna vertebral (e, por isso, potencialmente contaminada com cérebro e espinal medula), seja pela utilização de materiais de risco especificado em pastas de carne, salsichas ou outros alimentos processados. Em resultado da investigação que tem estado a ser realizada para resolver esta questão, surgiu recentemente um grupo de cientistas que reclama ter desenvolvido um método de detecção da adulteração, por sistema nervoso central, de alguns alimentos de origem animal, designadamente salsichas de fígado. A confirmarem-se os resultados alegadamente obtidos, o método desenvolvido pode vir a constituir um meio sistemático de detecção de práticas ilegais de inclusão de materiais de risco em alimentos para consumo humano e, dessa forma, contribuir para o controlo das encefalopatias espongiformes transmissíveis.

Apesar do consumo directo ser a componente mais importante do risco de exposição humana ao agente da BSE, o consumo indirecto, associado aos produtos

intermédios derivados – como a gelatina e o sebo, que são utilizados na manufactura ou como ingredientes de muitos alimentos processados – também não pode ser ignorado. Por isso, tornou-se necessário investigar a eventualidade de estes produtos provirem de matérias-primas infectadas com BSE e avaliar o risco decorrente dessa situação. Os resultados dos estudos realizados levaram à conclusão de que a gelatina e o sebo, ou os produtos deles derivados, só podem ser considerados seguros se forem seguras as matérias-primas a partir das quais são produzidos, uma vez que os processos de produção normalmente utilizados não são completamente eficazes na inactivação/remoção da infecciosidade residual da BSE. Desta forma, as medidas preventivas propostas envolvem a proibição de utilizar matérias-primas provenientes de ruminantes, com excepção das peles, para a produção de gelatina, e dos derivados de gorduras fundidas, desde que sejam utilizados processos de produção validados e certificados, algumas vezes complementados com procedimentos adicionais de filtração, entre outros.

As medidas preconizadas com o objectivo de garantir a segurança alimentar e a protecção da saúde pública (e também da sanidade animal) em relação à BSE são, em conjunto com uma política rigorosa de informação, uma das formas de restabelecer a confiança do consumidor nos alimentos de origem animal, já antes abalada pela chamada "crise da BSE" e agora acentuada pela perspectiva, em geral pouco esclarecida, de vir a ser confrontado com uma situação de epidemia de vCJD. Por tudo o que atrás foi exposto e também por esta razão, é imprescindível promover a criação de sistemas de rastreio (em explorações, matadouros, salas de desmancha, instalações de processamento e pontos de armazenagem e venda, ou quaisquer outros locais onde decorrem operações passíveis de fraude) para verificar e, não menos importante, para demonstrar, em toda a linha de produção "desde o estábulo ao prato", a satisfação dos requisitos normativos, em especial os que dizem respeito à origem e natureza das matérias-primas e às normas de transformação, nas unidades industriais, a propósito da utilização dos processos de produção mais eficazes na inactivação/eliminação de eventual infecciosidade residual e da aplicação, garantida e documentada, dos procedimentos de Análise de Perigos e Controlo de Pontos Críticos – HACCP (*Hazard Analysis Critical Control Points*). Esses sistemas devem contemplar a rotulagem de todos os alimentos de origem animal, tanto quanto possível qualitativa e quantitativa, facto que, dando às autoridades competentes a possibilidade de verificar, por métodos apropriados, a conformidade entre a composição efectiva dos alimentos e a que é declarada pelos produtores, constitui, para o consumidor, uma garantia adicional de prevenção e combate à fraude

Dadas as incertezas científicas acerca da perigosidade de certos materiais, a provável e ainda não completamente identificada dispersão geográfica das EET, designadamente BSE e *Scrapie*, os interesses económicos em jogo, e, por último, mas não menos importante, a determinação das mais diversas entidades e grupos sociais em garantirem o nível máximo de segurança alimentar ao consumidor, é previsível que o debate sobre a oportunidade, o rigor e a abrangência das medidas propostas ou já em vigor, para assegurar um grau adequado de protecção da saúde pública e da

sanidade animal no contexto da BSE, venha ainda a suscitar o interesse e envolvimento de toda a comunidade durante bastante mais tempo, ainda que dividindo as opiniões do mundo científico, político e restantes componentes da sociedade civil. A importância social e económica das EET torna imperioso continuar a financiar e, onde possível, reforçar a investigação em todos os domínios relativos a estas patologias e, ao mesmo tempo, ir promovendo a revisão das normas e medidas legislativas, tendo em conta os novos dados científicos, mas sem ignorar o nível de risco tolerado pelos consumidores devidamente informados.

M. Fátima Reis, M. Abreu Dias

A MINIMIZAÇÃO DO RISCO DE TRANSMISSÃO DA BSE POR MEDICAMENTOS DE ORIGEM ANIMAL E HUMANA



Quando, em 1986, foi pela primeira vez oficialmente reconhecida uma nova encefalopatia espongiforme transmissível que afectava o gado bovino no RU, a BSE, as autoridades sanitárias responsáveis pela regulamentação dos medicamentos e outros produtos farmacêuticos tomaram a devida nota da ocorrência.

O crescimento do número de casos, que haveria de transformar-se em epidemia, começou a preocupar as autoridades, dado existirem inúmeros medicamentos preparados de matérias primas de origem bovina. Apesar de ser oficial e sistematicamente garantida no RU a ausência de qualquer risco para a população humana, o Comité Europeu das Especialidades Farmacêuticas (CPMP – *Committee for Proprietary Medicinal Products*) assumiu as suas responsabilidades e adoptou, em 1991, uma directriz destinada a recomendar as medidas a adoptar pelos produtores de medicamentos para minimização do risco de transmissão do agente causador da BSE pelo uso terapêutico de medicamentos. Assumida uma atitude do pior cenário possível foi desde logo admitida a possibilidade de transmissão ao Homem do agente infeccioso causador da BSE.

As medidas então recomendadas foram sendo paulatinamente aplicadas à produção de medicamentos por pressão dos Estados Membros da União Europeia. Destacaram-se pelo rigor da aplicação das medidas recomendadas pelo CPMP o RU, onde o problema tinha maior acuidade, e Portugal, provavelmente por já não ter uma Indústria Farmacêutica Nacional a ser perturbada, como sucedia em muitos dos outros países europeus.

Quando, em princípios de 1996, as autoridades sanitárias do RU anunciaram publicamente a vCJD, a directriz BSE, como era conhecida, estava então em consideração numa perspectiva de adaptação das recomendações ao evoluir dos conhecimentos científicos observados. Face ao impacte que aquele anúncio público teve e tendo sido consideradas globalmente válidas as recomendações em aplicação, o processo de revisão da directriz arrastou-se até fins de 1997. Foi preciso aguardar cerca de dois anos pela estabilização das decisões comunitárias e dos Estados Membros sobre a matéria, antes da finalização do processo de revisão. Considerada suficientemente garantida a segurança da Saúde Pública pela aplicação das recomendações constantes da directriz anterior, não se pretendia introduzir novas recomendações que contribuíssem para aumentar, desnecessariamente, o alarmismo então instalado na população europeia.

Entretanto, na sequência do reconhecimento público da possibilidade de transmissão do agente da BSE ao Homem, todos os países da União Europeia passaram em

revista os medicamentos disponíveis nos respectivos mercados, com vista a uma mais rigorosa aplicação das recomendações.

Em Portugal, para além da proibição prática do uso de quaisquer produtos de origem bovina provenientes do RU, este processo, anteriormente encetado, culminou com a retirada do mercado nacional de todos os medicamentos que incorporavam substâncias activas preparadas de órgãos ou tecidos classificados nos grupos I e II e dos injectáveis do grupo III (ver adiante texto sobre a directriz). Simultaneamente, todas as empresas responsáveis pela comercialização de medicamentos no país foram convidadas a responder a um inquérito específico em que eram considerados vários aspectos de aplicação da directriz. As empresas farmacêuticas declararam a origem geográfica dos materiais de origem animal utilizados no fabrico dos seus medicamentos e os órgãos e tecidos de que eram obtidas as matérias primas das substâncias activas, excipientes e reagentes empregues durante a manufactura dos medicamentos em uso no país.

É neste contexto que, actualmente, já não existem em uso clínico no país quaisquer medicamentos preparados de órgãos ou tecidos de maior risco provenientes de animais susceptíveis à infecção pela BSE. Além disso, os produtores de medicamentos autorizados no país com componentes obtidos de animais susceptíveis, adquirem as suas matérias primas em regiões do globo em que o risco de BSE é baixo, em que ainda não foram detectados casos em animais autóctones e em que a vigilância veterinária da doença é considerada adequada, de acordo com as regras internacionais consensualizadas em sede própria.

DIRECTRIZ BSE

A adopção das primeiras recomendações, em forma de directriz, publicadas na União Europeia, para minimização do risco de transmissão do agente causador da BSE pelos medicamentos, ocorreu em 1991. Estas recomendações assentavam em três vectores principais: a origem geográfica dos animais, o tipo de tecido utilizado e o processo de fabrico do medicamento.

Relativamente à origem geográfica era recomendada a não utilização de animais provenientes de zonas e países de maior risco relativo, avaliado pela incidência da doença em animais autóctones. Ao tempo em que a directriz começou a ser aplicada, a não utilização de matérias primas de origem bovina provenientes do RU constituía a interpretação generalizada das autoridades regulamentares da área dos medicamentos de todos os Estados Membros da União Europeia.

A classificação dos tecidos e órgãos animais, quanto ao risco relativo assumido para a sua capacidade de transmitir o agente infeccioso, foi elaborada repartindo aqueles órgãos e tecidos por quatro categorias. Dada a inexistência de dados científicos suficientes, ao tempo em que a directriz foi preparada, relativamente à

capacidade infecciosa dos tecidos bovinos, foi adoptada uma tabela de classificação dos tecidos baseada nos níveis de infecciosidade detectados em ovinos infectados pelo agente *Scrapie*. Lembra-se que o *Scrapie* era considerado o equivalente ovino da BSE.

O processo de fabrico do medicamento constituía o terceiro vector fundamental da directriz. Um pouco por analogia com as recomendações adoptadas para garantia de inactivação de agentes virais, como os usados em vacinas, por exemplo, era considerada na directriz a possibilidade de validação do processo de inactivação do agente causador da BSE como medida susceptível de contribuir para a redução do risco de transmissão da infecciosidade dos medicamentos preparados por esses processos.

Adicionalmente, recomendava-se também aos produtores e autoridades sanitárias que nos seus exercícios de avaliação considerassem a via de administração, a dose e a frequência da utilização do medicamento, entre outros.

Ao contrário do que agora se constata ter motivado na altura os serviços veterinários do RU, as autoridades responsáveis pela regulamentação dos produtos farmacêuticos assumiram a opção do pior cenário possível, parecendo não terem tido em conta os interesses dos agentes económicos envolvidos.

Na prática, a aplicação da directriz resultou muito rapidamente na não utilização de matérias primas bovinas provenientes do RU para a produção de medicamentos. Não terá sido muito difícil, ao que se julga, que as empresas produtoras de medicamentos passassem a utilizar as mesmas matérias primas de origem bovina adquiridas em países e regiões alternativas. Nada no processo de fabrico se alterava.

Também em Portugal, onde a directriz foi aplicada com grande rigor, como se referiu, passou a ser impensável autorizar o uso de quaisquer produtos de origem bovina provenientes do RU. Agrupados os medicamentos autorizados no país, de acordo com as categorias de risco dos órgãos e tecidos utilizados no seu fabrico, foi determinada a reavaliação da segurança da sua utilização. Os produtores foram convidados a remover as matérias primas de origem bovina, substituindo-as por outras equivalentes, ou a justificar a sua inclusão à luz da directriz europeia. Para os medicamentos preparados de materiais classificáveis nas categorias I e II, as opiniões então produzidas pelos técnicos portugueses, chamados a reavaliar os medicamentos que não alteraram a origem biológica das suas matérias primas, começaram por considerar a utilidade e a necessidade clínica desses medicamentos. A não comprovação suficiente da sua eficácia clínica (relembremos que na maior parte dos casos tratava-se de medicamentos há muito existentes no mercado que haviam sido autorizados à luz de diferentes critérios de avaliação) ou a existência de alternativas terapêuticas de menor risco relativo foi fatal para a maior parte desses produtos.

Situações houve em que a utilização de matérias primas bovinas provenientes de países consensualmente considerados como isentos de BSE, como a Austrália ou a Nova Zelândia, associada a processos de fabrico bastante drásticos foram insu-

cientos para convencer os avaliadores portugueses da segurança desses medicamentos. Vale aqui lembrar que, qualquer que seja o medicamento, este só o é porque produz efeitos no organismo a que é administrado. Estes efeitos são sempre, necessariamente, acompanhados de outros directamente induzidos pelo medicamento ou como resposta do organismo e que não são pretendidos para a indicação terapêutica. Não há medicamentos inócuos, todos têm efeitos colaterais indesejáveis. Neste contexto, a autorização para comercialização de qualquer medicamento assenta em avaliação técnica do seu perfil de qualidade, segurança e eficácia. São susceptíveis de ser autorizados os medicamentos em que a relação entre o benefício clínico esperado e o risco associado à sua utilização seja considerada positiva. No caso presente, a ausência de comprovação suficiente de eficácia clínica ou a existência de outras alternativas terapêuticas, quando conjugadas com o risco de transmissão do agente da BSE, mesmo que muito pequeno ou só teórico, resultaram em relações desfavoráveis.

Dada a grande ausência de dados científicos, ao tempo em que a directriz foi elaborada, as suas recomendações eram bastante ambíguas e simultaneamente muito abrangentes. Foi à luz da aplicação da mesma directriz que foram retirados do mercado português todos os medicamentos preparados de substâncias classificadas nos grupos I e II e que na Alemanha foi adoptado um esquema de pontuação que permitia mesmo o uso de produtos derivados de cérebro bovino, se as pontuações dos restantes aspectos o compensassem.

DIRECTRIZ EET

Desde a adopção da directriz BSE em 1991, até à sua revisão em 1997, os conhecimentos científicos disponíveis foram significativamente acrescentados. Porque na elaboração da directriz inicial foi adoptado o princípio do pior cenário possível, o avolumar das preocupações de segurança relativamente à possibilidade de transmissão do agente causador da BSE ao Homem não ultrapassou os pressupostos iniciais. Na sua essência, as recomendações da nova directriz não revêem de forma muito significativa as recomendações anteriormente adoptadas.

A diferença mais relevante será, porventura, a relativa desvalorização da validação do processo de fabrico como factor de segurança fundamental. Outras das diferenças que se observam centram-se na maior ênfase de aplicação da directriz não só às substâncias activas mas também aos excipientes e reagentes que possam contactar com os componentes do produto final e no alargamento a outros ruminantes susceptíveis ao agente causador da BSE, para além dos bovinos.

O alargamento das recomendações da nova directriz a outros animais alvo reflecte-se desde logo no seu título e justifica a designação corrente como é conhecida: directriz EET. Este alargamento de âmbito resulta directamente do facto

de ter sido demonstrada a transmissibilidade do agente da BSE a outros ruminantes e de não parecer fácil identificar e distinguir no terreno os animais eventualmente portadores de BSE dos afectados por outras encefalopatias espongiformes transmissíveis, como o agente causador do Scrapie dos ovinos, que se avalia como não infeccioso no Homem.

Relativamente aos excipientes e outros reagentes usados nos processos de fabrico de medicamentos, a directriz anterior já se lhes referia, mas de forma menos explicitada que agora.

Os critérios para a selecção dos animais continuam a ser basicamente os mesmos. Quando não é possível deixar de utilizar material biológico, preparado de ruminantes susceptíveis aos agentes causadores das EET, continua a ser recomendado o uso de animais provenientes de países e zonas geográficas em que aquelas doenças não tenham sido detectadas nos efectivos autóctones. Os critérios para a caracterização destas regiões puderam ser explicitados de forma mais clara, em resultado dos consensos internacionalmente aceites pelas autoridades veterinárias. Adicionalmente é recomendado aos produtores de medicamentos, os verdadeiros responsáveis pela segurança dos produtos que fabricam e comercializam, que obtenham certificação adequada da origem dos animais e auditem os seus fornecedores.

Quanto à classificação dos órgãos, tecidos e fluidos biológicos, também aqui continuam a aplicar-se os mesmos princípios e a estrutura adoptada na directriz BSE. Estes são repartidos por quatro categorias, conforme o nível de infecciosidade, determinado pela injeção intracraniana desses materiais em murganhos (ver Quadro VI). Os materiais não incluídos deverão ser classificados por analogia, baseada na sua composição.

Os dados científicos que foram sendo acumulados permitiam já, ao tempo em que a directriz foi revista, conhecer várias diferenças nos níveis relativos de infecciosidade dos tecidos bovinos com BSE e ovinos com *Scrapie*. Porque em todas as situações caracterizadas os níveis de infecciosidade do agente causador da BSE nos bovinos era inferior aos níveis de infecciosidade do Scrapie nos ovinos, a manutenção da mesma tabela de classificação garante melhor a segurança dos utilizadores de medicamentos do que garantiria uma eventual nova classificação baseada nos dados científicos disponíveis para os tecidos bovinos. O único tecido acrescentado foram os nervos periféricos, na categoria III, que inclui as categorias IIIa e IIIb do Quadro VI.

A capacidade do processo de fabrico para remover ou inactivar os agentes EET foi relativamente desvalorizada. Das várias experiências conhecidas poucas foram as que, consistentemente, puderam demonstrar uma significativa redução da infecciosidade.

Os vectores mais importantes da directriz EET são, por isso, a origem geográfica dos animais e o tipo de tecido utilizado no fabrico dos produtos a incorporar nos medicamentos.

Tendo em conta a aplicação das recomendações constantes da directriz, a aceitabilidade de qualquer medicamento que utiliza no seu fabrico produtos derivados de ruminantes susceptíveis a EET deverá ser considerada caso a caso, devendo a avaliação final da relação benefício / risco ter em conta:

- ◆ **A origem geográfica dos animais, devidamente registada e certificada**
- ◆ **O tipo de tecido**
- ◆ **O processo de fabrico**
- ◆ **A quantidade de tecido animal utilizado**
- ◆ **A dose terapêutica máxima (dose diária e duração do tratamento)**
- ◆ **A indicação terapêutica do medicamento**

A verificação da adequabilidade dos produtos de origem animal a usar no fabrico de medicamentos pode também ser efectuada pelos serviços de certificação da Farmacopeia Europeia, de acordo com monografia específica criada para o efeito.

A GELATINA E OS DERIVADOS DE SEBO

Tanto a gelatina como o sebo são subprodutos aproveitados dos despojos dos animais abatidos, depois de retirados os tecidos usados na alimentação humana. Estas gelatinas são preparadas a partir do colagénio, extraído dos ossos animais. O sebo provém das gorduras que não têm utilização na cadeia alimentar humana.

O seu uso na indústria farmacêutica é muito alargado, calculando-se que mais de 80% de todos os medicamentos incorporam ou usam no seu fabrico gelatina ou produtos derivados do sebo. Relembremos apenas que todos os invólucros das cápsulas são feitos de gelatina bovina e que produtos como o glicerol ou os ácidos gordos são, usualmente, preparados a partir do sebo bovino.

Porque as gelatinas e os derivados de sebo utilizados na indústria farmacêutica eram quase exclusivamente de origem bovina, estes dois produtos foram alvo de atenção especial das autoridades sanitárias responsáveis pela gestão do sector dos medicamentos e dos produtores de medicamentos.

A preocupação inicial com os derivados do sebo foi muito rapidamente aliviada com a validação do processo de extracção e preparação daqueles derivados utilizados na indústria farmacêutica. De facto, estes foram, talvez, os únicos processos de fabrico alvo de validação da inactivação deste tipo de agentes infecciosos que demonstraram uma significativa, consistente e eficaz capacidade de eliminação da infecciosidade, eventualmente presente, na matéria prima inicial. Nas experiências efectuadas, os materiais a submeter a extracção ou purificação eram adicionados de quantidades significativas de agentes infecciosos, sendo depois determinada a presença de infecciosidade nos produtos obtidos. Após o primeiro passo para

liquefacção das gorduras, indispensável para a sua separação dos restantes desperdícios, deixava de ser possível detectar qualquer infecciosidade na fracção lipídica. Adicionalmente, os passos subsequentes de destilação e filtrações múltiplas demonstraram também significativa capacidade para eliminar ou inactivar os agentes infecciosos deliberadamente adicionados, antes da aplicação das técnicas em estudo.

Os resultados obtidos nestas experiências de validação dos processos de remoção da infecciosidade são considerados suficientes, para garantir que qualquer potencial infeccioso, arrastado com os desperdícios animais, não passará ao sebo. Mas, se mesmo assim ainda puder ser assumido um potencial risco, os processos de destilação subsequentes garantem de forma suficiente a segurança dos produtos derivados de sebo bovino. Em conjugação com estas garantias, os produtos derivados de sebo utilizados no fabrico de medicamentos são preparados a partir de matéria prima de animais, provenientes de países em que não existe elevada incidência da BSE.

No que se refere à gelatina, a situação é bastante diferente. Começa por que, tratando-se de uma proteína, os processos utilizados na sua extracção não podem ser tão drásticos quanto os aplicados na preparação dos derivados de sebo. Adicionalmente, os ossos indispensáveis ao fabrico da gelatina bovina envolvem naturalmente a medula óssea e são atravessados por nervos periféricos, dois tecidos classificados na categoria III. Também, ao tempo em que esta questão começou a ser alvo das preocupações das autoridades regulamentares da área dos medicamentos, não havia a eliminação dos crânios e estes arrastavam, inevitavelmente, tecidos do sistema nervoso central, classificados na categoria I.

A validação dos processos de inactivação dos agentes causadores de EET, aplicados para o fabrico da gelatina, não conduziram aos resultados que todos, produtores e autoridades, desejariam. De facto, nas experiências desenhadas para o efeito, com adição deliberada do agente infeccioso, alguma da infecciosidade inicial era recuperada no produto subsequentemente obtido. Observa-se alguma redução da infecciosidade inicial, que foi considerada insuficiente à luz dos critérios com que é avaliada a segurança dos medicamentos. Apesar de tudo, um dos três métodos mais frequentemente utilizados na preparação da gelatina bovina, o chamado processo alcalino, apresenta-se como mais eficaz na redução da infecciosidade inicial.

É neste contexto que o CPMP recomenda, explicitamente, que não sejam usados ossos do crânio, nem vértebras no fabrico das gelatinas e que seja adoptado o processo alcalino na manufactura da gelatina, destinada à indústria farmacêutica. Esta recomendação, reconhecidamente de difícil aplicação prática no contexto do funcionamento do sistema, é também de difícil aplicação regulamentar, dado que os fabricantes de gelatina não são regulados pela autoridade das áreas dos medicamentos. A não utilização de ossos do crânio é agora uma imposição legal indirecta, devido ao facto dos mesmos serem retirados do circuito, no acto do abate, por terem sido considerados MRE. Os principais produtores europeus de gelatina, que também colaboraram com as autoridades sanitárias no estudo deste problema e estão

suficientemente motivados para a questão, anunciaram o propósito de adoptar as recomendações das autoridades de saúde. Também, como no caso dos derivados de sebo e demais produtos de origem bovina, as gelatinas usadas na indústria farmacêutica são provenientes de ossos de animais recolhidos em países e zonas consideradas livres de BSE.

MEDICAMENTOS DE ORIGEM HUMANA

Também o Homem é animal susceptível aos agentes causadores de EET e também do homem se preparam medicamentos para uso humano. A transmissibilidade de agentes priónicos do homem ao homem, como já se referiu, está suficientemente documentada em vários casos de infecção pela CJD iatrogénica (resultante de tratamento médico).

Devido a estes casos, mas principalmente devido a outros casos de transmissão de agentes virais, são cada vez mais raros os medicamentos de uso humano preparados a partir de tecidos humanos. Situações como as da hormona de crescimento não se repetirão, pois já estão disponíveis terapêuticas alternativas com medicamento equivalente preparado por tecnologia de DNA recombinante, em cultura de células *in vitro*. As novas biotecnologias vieram permitir a substituição de quase todos os medicamentos preparados de tecidos humanos, por alternativas mais seguras dum ponto de vista da transmissão de agentes infecciosos. Remanescem apenas os medicamentos preparados a partir de plasma humano. Também aqui os produtos recombinantes têm vindo a substituir gradualmente alguns dos concentrados, mas o estado actual da técnica e dos conhecimentos científicos ainda não permite a completa dispensa dos medicamentos hemoderivados, sem grave prejuízo para a Saúde Pública.

Relativamente aos agentes priónicos, múltiplos estudos de retrovigilância ainda não permitiram comprovar a possibilidade da sua transmissão por medicamentos e outros componentes derivados de sangue humano. Pelo contrário, se este tipo de doenças fosse facilmente transmissível por via sanguínea, muitos dos doentes hemofílicos, que recebem regularmente concentrados de factores de coagulação, estariam seguramente infectados pelo agente causador da CJD. A própria natureza do material infeccioso determinaria a sua concentração nas fracções do sangue terapêuticamente activas e que são administradas a estes doentes. Também no RU foram identificadas situações de transfusão de sangue, doado por pessoas que desenvolveram depois a vCJD e, até ao momento, continuam em observação sem quaisquer indicações de poderem ter sido infectados por esta via.

Mas, como a ausência de evidência de risco não pode ser tomada por evidência da ausência do risco, as autoridades responsáveis pela gestão do sector dos medicamentos estão atentas e vão adoptando as medidas que, cientificamente, mais

se justificam. Também aqui é assumido o cenário do pior caso possível e se tem em conta que um adequado nível de segurança dos medicamentos derivados de plasma humano tem de ser compatibilizado com uma suficiente disponibilidade de produtos preparados de uma matéria prima preciosa e disponível em quantidades limitadas.

Relativamente à segurança dos medicamentos hemoderivados, naquilo que à transmissão de agentes priónicos diz respeito, há que considerar as situações que envolvem a CJD clássica e a vCJD de forma independente.

Quanto à CJD clássica, de há muito estão adoptados critérios de selecção e exclusão de dadores de sangue que minimizam o risco da utilização de sangue de pessoas potencialmente portadoras daquele agente infeccioso. Para além das pessoas a quem tenha sido diagnosticada a situação de doença, são também excluídas da dádiva as pessoas de idade mais avançada (a CJD prevalece nos indivíduos da terceira idade), os transplantados de dura-máter e os indivíduos que apresentem um risco acrescido de desenvolvimento de CJD familiar, entre outros.

Até há bem pouco tempo, as medidas de exclusão de dadores eram consideradas suficientes para garantir um adequado nível de protecção dos receptores de medicamentos hemoderivados, relativamente à transmissibilidade da CJD. A partir de determinada altura, e por razões que a ciência desconhece (não esquecer que ainda não foi detectado qualquer caso de transmissão da doença pela utilização do sangue e seus derivados) foi decidido nos EUA encetar um esquema de retirada do mercado de produtos preparados a partir de dádivas de pessoas e seus familiares a quem viesse a ser diagnosticada a CJD em fase posterior à dádiva. Tomada a medida, os peritos europeus, na altura, recusaram-se a secundá-la, por falta de dados científicos suficientes para a justificar e por anteciparem possíveis roturas no mercado dos medicamentos hemoderivados. Pôs-se então a questão de saber até onde deveria ir a recolha desses produtos, isto é, a partir de que período de tempo, entre a dádiva e o diagnóstico da doença, seria permitido usar os medicamentos preparados das dádivas das pessoas em causa e até que grande relação familiar era considerado o risco de contracção da doença identificada num dos membros da família. Não estabelecendo de início quaisquer limitações deste tipo, rapidamente as autoridades americanas se viram confrontadas com a retirada maciça de medicamentos derivados de plasma humano. Os lotes dos produtos preparados industrialmente a partir de *pools* de plasma, provenientes de muitas dádivas individuais, incluíam quase sistematicamente uma dádiva considerada suspeita, no contexto que se refere e que determinava a retirada do mercado de todos os lotes de medicamentos preparados a partir dessas *pools*. Além de se apresentar complicado gerir a situação dos doentes que já haviam consumido produtos dos lotes retirados, as dificuldades logísticas começaram a tornar-se mais aparentes e identificou-se a possibilidade de falta de medicamentos suficientes para tratar doentes que não podem sobreviver sem a utilização desses produtos. Não fora a rápida revisão da medida e muitos hemofílicos americanos não teriam disposto de quantidades suficientes de concentrados de

factores de coagulação, para fazer face à sua situação clínica. Tiveram então de ser adoptadas restrições àquelas medidas. A comercialização dos lotes alvo começou por ser suspensa com manutenção dos produtos em quarentena mas disponíveis para utilização clínica dos doentes que deles precisassem nas situações de rotura do mercado. O relaxar das medidas, anteriormente adoptadas sem fundamento científico suficiente, foi também acompanhado pela não retirada de lotes preparados de dádivas de familiares de doentes de CJD.

Apesar da recomendação científica dos peritos europeus, no sentido de não acompanhar as medidas implementadas nos Estados Unidos, alguns governos europeus encetaram também uma estratégia de retirada pontual de lotes de medicamentos hemoderivados, que tinham incorporado dádivas de pessoas a quem fosse posteriormente diagnosticada a CJD. Porque o mercado destes medicamentos está cada vez mais globalizado, o CPMP, apesar de continuar a não reconhecer fundamento científico à medida, viu-se na contingência de ter de recomendar, também, a não utilização de medicamentos dos lotes cuja retirada fosse iniciada em qualquer país. Pretendia-se que a não utilização de alguns lotes de produtos, em alguns países, não determinasse a concentração do eventual risco associado à sua utilização, nos países que seguissem as recomendações anteriores. O resultado prático deste processo conduziu a que, actualmente, se observe a sistemática retirada do mercado de lotes de medicamentos que incorporaram, nas suas *pools* de fabrico, plasma de dador ulteriormente identificado como infectado pela forma clássica da CJD.

Relativamente à vCJD, a situação é completamente diferente. São os diversos perfis de distribuição da infecciosidade pelos vários tecidos de doentes infectados, com particular realce para a maior infecciosidade detectada nos tecidos das linhas linfóides dos doentes da vCJD; é também maior a infecciosidade do agente causador da BSE relativamente ao agente causador da CJD; são ainda os resultados de experiências laboratoriais, em que a adição de agentes príónicos infecciosos a sangue humano, antes da aplicação do processo clássico de fraccionamento do plasma, que apontam para a distribuição da infecciosidade por todas as fracções obtidas.

Seja porque o agente causador da BSE é o mesmo agente causador da vCJD, seja porque existe uma causa comum que desencadeia as duas situações patológicas, a ligação entre as duas doenças está consolidada. Um dos factores de risco identificados para o desenvolvimento da vCJD é a residência no RU aquando da ocorrência da epidemia BSE. Como consequência destas constatações, o RU deixou de usar sangue recolhido no seu território para a preparação de medicamentos hemoderivados, e vários países, entre os quais Portugal, seguiram a recomendação do CPMP, no sentido da proibição do uso de medicamentos preparados de plasma de dadores de países, em que o risco de desenvolvimento da vCJD seja mais significativo, pela identificação de vários casos da doença. O único país excluído neste momento continua a ser o RU.

Mais recentemente, também os Estados Unidos e o Canadá decidiram excluir da dádiva as pessoas que, entre os anos de 1980 e 1996, tenham permanecido no RU por mais de seis meses.

Dada a falta de dados epidemiológicos suficientes que continua a persistir, pois apenas foram identificados cerca de 52 casos de vCJD, e mesmo reconhecendo o período de maior risco de transmissão do agente da BSE à população residente no RU, naquele período, não se conhece fundamentação científica para a definição das janelas de proibição, adoptadas pelas autoridades americanas e canadianas.

A questão está na agenda das autoridades europeias, suspeitando-se que a eventual adopção de medida idêntica possa prejudicar o objectivo almejado da auto-suficiência europeia em sangue e seus derivados. Ao contrário do que se perspectivava, se pudessem continuar a ser usados na Europa os lotes de medicamentos retirados do mercado americano, por suspeitas de segurança devida à CJD clássica, a eventual não adopção de medida restritiva, idêntica à agora aplicada nos Estados Unidos e Canadá, não parece contribuir para um risco acrescido dos utentes europeus desses produtos. Outrossim a indústria europeia de hemoderivados poderá ver prejudicados os seus negócios além Atlântico se, na Europa, medida de idêntico alcance não for adoptada.

Dados os factos, os conhecimentos científicos disponíveis e os procedimentos globais em aplicação e tendo também em conta a não detecção de transmissão anterior de doenças priónicas por transfusão sanguínea ou pela utilização de medicamentos hemoderivados, quando as medidas adicionais que aqui se referem ainda não haviam sido implementadas, as probabilidades de transmissão de CJD ou vCJD pela utilização clínica de medicamentos derivados de plasma humano afiguram-se remotas.

Contudo, a progressiva substituição de produtos derivados de plasma humano por medicamentos obtidos por expressão *in vitro* de DNA recombinantes, que hoje se observa, contribui decisivamente para a diminuição do número de pessoas em risco potencial de contracção destas e de outras doenças infecciosas, garantindo assim uma melhor protecção da Saúde Pública da população.

Carlos Sinogas

GLOSSÁRIO

| | |
|-------------------------|---|
| BSE | Encefalopatia Espongiforme dos Bovinos - EEB (Bovine Spongiform Encephalopathy) |
| CJD | Doença de Creutzfeldt-Jakob - DCJ (Creutzfeldt-Jakob Disease) |
| CPMP | (Committee for Proprietary Medicinal Products) - Comité Europeu das Especialidades Farmacêuticas |
| CWD | Doença Crónica Emaciante, Encefalopatia Espongiforme dos Cervídeos (Chronic Wasting Disease) |
| DGV | Direcção-Geral de Veterinária |
| DGSS | Doença de Gerstmann-Sträussler-Scheinker (Gerstmann-Sträussler-Scheinker Disease - GSSD) |
| DNA | Ácido Desoxirribonucleico |
| DRA | Direcção-Regional de Agricultura |
| EEG | Electroencefalograma |
| EET | Encefalopatia Espongiforme Transmissível (Transmissible Spongiform Encephalopathy - TSE) |
| EUA | Estados Unidos da América |
| FFI | Insónia Familiar Fatal - IFF (Fatal Familial Insomnia) |
| FSE | Encefalopatia Espongiforme do Gato (Feline Spongiform Encephalopathy) |
| LCR | Líquido Cefalorraquidiano |
| MPEO | Manual de Procedimentos pelas Entidades Oficiais |
| MRE | Materiais de Risco Especificado (Specified Risk Material - SRM) |
| Prião | Proteína PRP |
| PRNP | Gene do Prião |
| PrP* | Variante anormal e rara da PRP |
| PrP^c | Proteína Celular Normal |
| PrP^{Sc} | Proteína patogénica |
| RNA | Ácido Ribonucleico |
| RU | Reino Unido |
| SAF | Fibrilas Associadas ao Scrapie (Scrapie Associated Fibrils) |
| Scrapie | Tremor Epizoótico dos Ovinos |
| SNC | Sistema Nervoso Central |
| TME | Encefalopatia Transmissível do Visão (Transmissible Mink Encephalopathy) |
| UE | União Europeia |
| vCJD | Variante da Doença de Creutzfeldt-Jakob - vDCJ (Variant of Creutzfeldt-Jakob Disease) |

BIBLIOGRAFIA

DOCUMENTOS CIENTÍFICOS

- Almeida V. S. (1997) – *Epidemiologia das Encefalopatias Espongiformes Transmissíveis: Aspectos Animais*. Rev. Ovelha.
- Anon. (1991) – *BSE found in calf born after start of feed ban*. Vet. Rec. 128: 314.
- Austin A. R., Simmons M. M., Weells G. A. H. (1996) – *Pathological temperament changes in bovines*. Proceedings, Vol. 2. XIX World Buiatrics Congress. British Cattle Veterinary Assotiation. July.
- Bockman J. M., Kingsburry D. T., Mckinley M. P., Bendheim P. E., Prusiner S. B. (1986) – *Creutzfeldt-Jakob Disease proteins in human brains*. N. Enge. J. Med. 312: 73-78.
- Bolton D. C., Mckynley M. P., Prusiner S. B. (1982) – *Identification of a protein that purifies with the scrapie prion*. Science 218: 1309-11.
- Bradley R., Wilesmith J. W., Lowson R. C. (1989) – *Encephalopatie Spongiforme Bovine – Synthèse des principales caractéristiques de la maladie, de l'épidémiologie et des mesures de prophylaxie en Grande-Bretagne*. Communication to Office International des Epizzoties, 30 Nov.
- Bradley R. (1994) – *Bovine spongiform encephalopathy epidemiology – a brief review*. Livestock Production Science, Elsevier, N. ° 38.
- Brown P., Cathala F., Raubertas R. F., Gajdusek D. C., Castaigne P. (1987) – *The epidemiology of Creutzfeldt-Jakob disease: conclusion of a 15 year investigation in France and review of the world literature*. Neurology; 37: 895-904.
- Brown P. (1995) – *Can Creutzfeldt-Jakob disease be transmitted by transfusion?* Current Opinion in Hematology, 2: 472-7.
- Brown P., Cervenakova L., McShane L. M., Barber P., Rubenstein R., Drohan W. N. (1999) – *Further studies of blood infectivity in an experimental model of transmissible spongiform encephalopathy, with an explanation of why blood components do not transmit Creutzfeldt-Jakob disease in humans*. Transfusion, 39: 1169-78.
- Brown R., Gibbs C. J., Rodgers-Johnson P. (1994) – *Human spongiform encephalopathy: the National Institute of Health series of 300 cases of experimentally transmitted disease*. Ann Neurol 35: 513-529.
- Budka H., Aguzzi A., Brown P. (1995) – *Tissue handling in suspected Creutzfeldt-Jakob disease (CJD) and other human spongiform encephalopathies*. Brain Pathol 5: 319-322.

- Davanipour Z., Alter M., Sobel E., Callahan M. (1985) – *Sheeps consumption: a possible source of Spongiform Encephalopathy in humans* – Neuroepidemiology, 4: 240-249.
- Dawson M., Wells G. A. H., Parker B. N. J. (1990) – *Preliminary evidence of the experimental transmissibility of bovine spongiform encephalopathy to cattle*. Vet. Rec. 126: 112-113.
- Dawson M., Wells G. A. H., Parker B. N. J., Scott, A. C. (1990) – *Primary parenteral transmission of bovine spongiform encephalopathy to the pig*. Vet. Rec. 127: 338.
- Dawson M., Wells G. A. H., Parker B. N. J., Scott A. C. (1991) – *Transmission studies of BSE in cattle, hamsters, pigs and domestic fowl. In sub-acute spongiform encephalopathies*. Proceedings of a Seminar in the CEC Agriculture Research Programme, Bruxelles, 12-14. November 1990 (R. Bradley, M. Savey & B. A. Marchant, édit) Keuwer Academic Publishers.
- Dealler S. F., Lacey R. W. (1990) – *Transmissible spongiform encephalopathies: threat of BSE to man*. Food Microbiology. 7: 253: 279.
- Dickinson A. G., Stamp J. I., Renwick, C. C., (1974) – *Maternal and lateral transmission of scrapie in sheeps*. J. Comp. Path. 84: 19-25.
- Donnelly C. A, Santos R., Ramos M. A., Galo A., Simas J. P. (1999) – *BSE in Portugal: anticipating the decline of an epidemic*. J. Epidem&Biostat. 4 (4).
- Fernie K., Taylor D. M., Steele P. J., McConnell I. (1999) – *Autoclaving studies on EET agents: paradoxical inactivation data*. Abstract Book of the International Symposium on Characterization and Diagnosis of Prion Diseases in Animals and Man, Tubingen (23-25 September), P107.
- Hauw J. -J., Lazarini F., Sazdovitch V. (1998) – *Les maladies à agents transmissibles non conventionnels (Prions): nosologie et diagnostic*. Rev Neurol (Paris) 154: 131-137.
- Hawkins S. A. C., Wells G. A. H., Simmons M. M., Blamire I. W. H., Meek S. C., Harris P. (1996) – *The topographic distribution pattern of vacuolation in the central nervous system of cattle infected orally with Bovine Spongiform Encephalopathy*, BCVA, Edinburg, 347 – 390.
- Hoek A, McLean A., Gravenor M., Hoinville L. (1999) – *Scrapie in Britain: incidence, case definition and surveillance methods*. Proc. Symp. "Characterization and Diagnosis of Prion Diseases in Animals and Man", Tubingen, 23-25 Setembro.
- Holt T. A., Phillips J. (1988) – *Bovine Spongiform Encephalopathy*. Br. Med. J. 296: 1581-1583.
- Hope J., Reekie L. J. D., Hunter N., Multhamp G., Beyrenther K., White H. Scott A. C., Stack M. J., Dawson M., Wells G. A. H. (1988) – *Fibrils from brains of cows with new cattle disease contain scrapie associated protein*. Nature, 336: 390-392.

- Kimberlin R. H. (1992) – *Bovine Spongiform Encephalopathy*. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz. 11 (2): 347-390.
- Lucker E., Eigenbrodt E., Bulte M. (1999) – *Risk reduction in foodborne exposure to prion diseases by detection of central nervous tissue in retail meat products*. Abstract Book of the International Symposium on Characterization and Diagnosis of Prion Diseases in Animals and Man, Tübingen (23-25 September), P99
- Masters C. L., Harris J. O., Gajdusek C., Gibbs C. J., Bernoulli C., Asher D. M. (1979) – *Creutzfeldt-Jakob disease: patterns of worldwide occurrence and the significance of familial and sporadic clustering*. Ann Neurol; 5: 177-88.
- Morgan K. L., Nicholas K., Glover M. J., Hall A. P. (1990) – *A questionnaire survey of the prevalence of scrapie in sheep in Britain*. Vet. Rec. 127, 373-376.
- Operskalski E. A., Mosley J. W. (1995) – *Pooled plasma derivatives and Creutzfeldt-Jakob disease*. Lancet; 346: 1223.
- Prusiner S. B. (1982) – *Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie*. Science 216: 136-144.
- Prusiner S. B. (1994) – *Biology and genetics of prion diseases*. Annu. Rev. Microbiol., 48: 655-86.
- Prusiner S. B., Hsiao K. K. (1994) – *Human prion diseases*. Ann Neurol 35: 385-395.
- Prusiner S. B. (1994) – *Prion diseases of humans and animals*. J Royal College Physicians London 28 (Suppl): 1-30.
- Richardson Jr. E. P. Masters C. L. (1995) – *The nosology of Creutzfeldt-Jakob Disease and conditions related to the accumulation of PrP^{CJD} in the nervous system*. Brain Pathol 5: 33-41.
- Riedinger O. (1997) – *Safety aspects and potential risks associated with animal waste disposal*. Proceedings of the International Scientific Conference on Animal Meat, Brussels (1-2 July).
- Schreuder B. E. C. (1994) – *Animal Spongiform Encephalopathies – an update. Part II. Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE)*. Vet. Quart. 16 (3), 182-192.
- Simmons M. M., Harris P., Meek S. C., Blamire I. W. H., Jeffrey M. (1996) – *The BSE Epidemic: Consistencies of neurohistological findings in annual samples of clinical suspects*. BCVA Endinburg, 347 – 390.
- Taylor D. D. M., Connell, I. (1988) – *Autoclaving does not decontaminate formol-fixed Scrapie tissues*. Lancet: 1463-1464.
- Taylor D. D. M. (1989) – *Scrapie agent decontamination: implications for bovine spongiform encephalopathy*. Vet. Record. 24: 291-292.

- Taylor D. M., Fraser H., McConnell I., Brown D. A., Brown K. L., Lamza K. A., Smith G. R. A. (1994) – *Decontamination studies with the agents of BSE and scrapie*, Arch. of Virol., Vol. 139: 313-326.**
- Taylor D. M., Woodgate S. L., Atkinson M. J. (1995) – *Inactivation of the bovine spongiform encephalopathy agent by rendering procedures*, Veterinary Record, Vol. 137: 605-610.**
- Taylor D. M. (1997) – *Research on the safety of meat and bone meal with regard to BSE and scrapie agents*, Proceedings of the International Scientific Conference on Animal Meat, Brussels (1-2 July).**
- Tyrrell (1989) – *Interim Report to the Department of Health and Maff of "Consultive Committee on Research into Spongiform Encephalopathies"* Jun.**
- Wells G. A. H., Scott A. C., Johnson C. T., Gunning R. F., Hancock R. D., Jeffrey M., Dawson M., Bradley R. (1987) – *A novel progressive spongiform encephalopathy in cattle*. Vet. Rec. 121: 419-20.**
- Wilesmith J. W., Wells G. A. H., Cranwell M. P., Ryan J. B. M. (1988) – *Bovine Spongiform Encephalopathy: epidemiological studies*. Vet. Rec. 123: 638-644.**
- Wilesmith J. W., Ryan J. B. M., Atkinson M. J. (1991) – *Bovine Spongiform Encephalopathy: epidemiological studies on the origin*. Vet. Rec. 128: 199-203.**
- Will R. G., Ironside J. W., Zeidler M. (1996) – *A new variant of Creutzfeldt-Jakob disease in the UK*. Lancet 347: 921-925.**
- Will R. (1999) – *Personal communication* in the International Symposium on Characterization and Diagnosis of Prion Diseases in Animals and Man, Tübingen (23-25 September).**
- Williams E. S., Young S. (1992) – *Spongiform Encephalopathies in cervidae*. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz. 11 (2): 551-567.**
- (1996) – *Encéphalopathies spongiformes transmissibles et pathologie comparée*. Le Point Vétérinaire, Vol. 28, n. ° 179, Octobre-Novembre.**

DOCUMENTOS REGULAMENTARES

- Order (1988) – The Bovine Spongiform Encephalopathy. Amendment Order. Statutory Instrument, n° 1343. HMSO – London.**
- Order (1988) – The Zoonoses order 1988. Statutory Instrument, n° 2264. HMSO – London.**
- Order (1988) – The Bovine Spongiform Encephalopathy n° 2. Statutory Instrument, n° 2299. HMSO – London.**

Southwood, R. (1989) – Report of the working party on Bovine Spongiforme Encephalopathy. Department of Health – Ministry of Agriculture, Fisheries & Food. ISBN 85 197 – 405-9 Crown Copyright.

Regulations (1989) – The Bovine Offal (prohibition) regulations 1989. Statutory Instrument 1989, nº 2061. HMSO – London.

Order (1990) – The Bovine Spongiform Encephalopathy nº 2. Amendment Order 1990. Statutory Instrument 1990, nº 1930. HMSO – London.

Note for Guidance on minimizing the risk of transmitting agents causing spongiform encephalopathy via medicinal products (1991). CPMP.

Comunicação da Comissão COM (96) 582 Final – Iniciativa europeia relativa às encefalopatias espongiformes transmissíveis (EET).

Comunicação da Comissão COM (97) 183 Final – Sobre a saúde dos consumidores e segurança alimentar.

Decisão da Comissão 97/534/CE – Relativa à proibição de utilização de matérias de risco no que diz respeito às EET.

World Health Organization consultation on clinical and neuropathological characteristics of the new variant of CJD and other human and animal TSEs. Geneva: WHO, 1996.

Note for Guidance on minimising the risk of transmitting animal spongiform encephalopathy agents via medicinal products (1999). EMEA. CPMP/BWP/1230/98.

Position paper on production of tallow derivatives for use in pharmaceuticals. EMEA. CPMP/1163/97.

CPMP position statement on new variant CJD and Plasma-derived medicinal products. EMEA. CPMP/201/98.

SEAC (Spongiform Encephalopathy Advisory Committee) Annual Report 1997-1998.

Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE) – Vademecum – Information for consumers, EU, 3rd edition (1998).

Global surveillance, diagnosis and therapy of human transmissible spongiform encephalopathies: report of a WHO consultation, Geneva, Switzerland (9-11 February 1998).

Decisão do Conselho 98/256/CE: Relativa a determinadas medidas de emergência em matéria de protecção contra a BSE.

Proposta da Comissão COM (1998) 623 Final e Proposta de Regulamento do Parlamento Europeu e do Conselho 98/0323 (COD) que estabelece regras de prevenção e controlo de determinadas EET.

CE (Comissão Europeia), First and second half-yearly reports of the European Commission on BSE follow-up (1998).

E. Bonino, Présentation du 2e rapport semestriel de suivi sur l'ESB, Conférence sur l'Union Européenne et la sécurité alimentaire: les leçons de la crise ESB, Brussels (30 Novembre 1998).

Opinion on the risk quantification for CJD transmission via substances of human origin (1998). The Scientific Committee on Medicinal Products and Medical Devices. October 21.

Opinion on the safety of tallow derived from ruminant tissues (1998). Scientific Steering Committee, March 26-27.

LNIV – Laboratório Nacional de Investigação Veterinária; Encefalopatia Espongiforme dos Bovinos / BSE – Relatório de Progresso 1/99.

Comissão de Estudo e Acompanhamento das Encefalopatias Espongiformes (1999). Relatório de actividades do 1º ano.

Guidance for Industry. Revised precautionary measures to reduce the possible risk of transmission of Creutzfeldt-Jakob disease (CJD) and new variant Creutzfeldt-Jakob disease (nvCJD) by blood and blood products. U. S. Department of Health and Human Services, FDA / CBER. November 1999.

PARECERES E RELATÓRIOS DO COMITÉ CIENTÍFICO DIRECTOR DA COMISSÃO EUROPEIA

Jan 98 Listing of Specified Risk Materials: a scheme for assessing relative risks to man.

Opinion of the SSC on defining the BSE risk for specified geographical areas.

Opinion on the contents of a "complete dossier of the epidemiological status with respect to TSEs".

Mar 98 Opinion on BSE risk.

Opinion on the safety of tallow derived from ruminant tissues.

Scientific report and opinion on the safety of gelatine.

Scientific opinion on the safety of meat and bone meal from mammalian animals, naturally or experimentally susceptible to TSE.

Jun 98 Opinion on possible links between BSE and organophosphates used as pesticides against ecto and endoparasites in cattle.

Opinion on the safety of dicalcium phosphate precipitated from ruminant bones and used as an animal feed additive.

Set 98 Opinion on the risk of infection of sheep and goats with Bovine Spongiform Encephalopathy agent.

Report and scientific opinion on mammalian derived meat and bone meal forming a cross-contaminant of animal feedstuffs.

Updated scientific report on the safety of meat-and-bone meal derived from mammalian animals fed to non-ruminant food producing farm animals.

Scientific opinion on the safety of organic fertilisers derived from mammalian animals.

Out 98 Opinion on the safety of bones produced as by-product of the Date Based Export Scheme.

Report and scientific opinion on the safety of hydrolysed proteins produced from bovine hides.

Jan 99 Evaluation of the "133°/20'/3 bars heat/pressure conditions" for the production of gelatine regarding its equivalency with commonly used industrial gelatine production processes in terms of its capacity of inactivating/eliminating possible TSE infectivity in the raw material.

Mar 99 Opinion on the possible vertical transmission of Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE) .

Mai 99 Opinion on a method to assess the Geographical BSE-Risk (GBR) of countries or regions.

Set 99 Intra-Species Recycling – Opinion on the risk born by recycling animal by-products as feed with regard to propagating TSE in non-ruminant farmed animals.

LIVROS

Slow transmissible diseases of the nervous system (1979) – Eds. Prusiner S. B., Hadlow W. J. Academic Press, New York.

Prion diseases of humans and animals (1992) – Eds. Prusiner S. B. et al. Ellis Horwood, Chichester.

Virology (1996) – Eds. Fields E. N. et al. (3^a ed.). Raven Press, New York.

Bovine Spongiform Encephalopathy: The BSE Dilemma (1996) – Eds. Gibbs C. J. Springer-Verlag. New York.

Prion diseases (1997) – Eds. Collinge J., Palmer M. S. Oxford University Press. Oxford.

Greenfield's neuropathology (1997) – Eds. Graham D. I., Lantos P. I. Arnold, London.

Epidemiological aspects of Scrapie and BSE including a risk assessment study (1998) – Schreuder B. E. C. (PhD. Thesis), Utrecht Univ.

Fatal protein: the story of CJD, BSE, and other prion diseases (1998) – Eds. Ridley M. R., Baker H. F. Oxford University Press. Oxford.

The trembling mountain. A personal account of Kuru, cannibals, and mad cow disease
(1998) – Ed. Klitzman R. Plenum Press, New York.

LOCAIS NA INTERNET

CJD Helpline – cjd.ed.ac.uk/

CJD Voice – www.cjdvoice.org/

BSE – www.maff.gov.uk/animalh/bse/

BSE (For the Scientific World) – www.airtime.co.uk/bse/

BSE Timeline – <http://www.bse.org.uk/>

The Official Mad Cow Disease Home Page – www.mad-cow.org/

Vache folle en ligne – www.inra.fr/Internet/Produits/DPENV/vchfol00.htm

Transmissible Spongiform Encephalopathies (TSE) – www.who.int/emc/diseases/bse/

Prions (BMBL Section VII-D) – www.cdc.gov/od/ohs/biosfty/bmb14/bmb14s7d.htm

