



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

GUSTAVO GOMES FONSECA

**ENCEFALOPATIA ESPONGIFORME BOVINA ATÍPICA:
CARACTERIZAÇÃO E IMPLICAÇÕES PARA O SISTEMA DE
PREVENÇÃO NO BRASIL.**

**Monografia apresentada para a conclusão do
Curso de Medicina Veterinária da Faculdade de
Agronomia e Medicina Veterinária da
Universidade de Brasília.**

Brasília-DF

Julho/2015



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

GUSTAVO GOMES FONSECA

**ENCEFALOPATIA ESPONGIFORME BOVINA ATÍPICA:
CARACTERIZAÇÃO E IMPLICAÇÕES PARA O SISTEMA DE
PREVENÇÃO NO BRASIL.**

**Monografia apresentada para a conclusão do
Curso de Medicina Veterinária da Faculdade de
Agronomia e Medicina Veterinária da
Universidade de Brasília.**

Orientador

Vitor Salvador Picão Gonçalves

Brasília-DF

Julho/2015

FICHA CATALOGRÁFICA

Fonseca, Gustavo Gomes

Encefalopatia Espongiforme Bovina Atípica: Caracterização e Implicações para o Sistema de Prevenção no Brasil./ Gustavo Gomes Fonseca, orientação de Vitor Salvador Picão Gonçalves. - Brasília, 2015.

40 p.: il.

Monografia – Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2015.

1. Encefalopatia Espongiforme Bovina. 2. Atípica. 3. Vaca louca. 4. Panorama atual. I. Fonseca, G.G. II. Gonçalves, V.S.P.

Cessão de Direitos

Nome do Autor: Gustavo Gomes Fonseca

Título da Monografia de Conclusão de Curso: EEB atípica, o novo padrão de ocorrência da doença da vaca louca.

Ano: 2015

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta monografia e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva-se a outros direitos de publicação e nenhuma parte desta monografia pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor.

Gustavo Gomes Fonseca

CPF: 023595271-00

SHIN QI 12 Conjunto 1 Casa 16.

71525-210 - Brasília-DF - Brasil

(061)9107-9704; gustavogomes8@gmail.com

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome do autor: FONSECA, Gustavo Gomes.

Título: Encefalopatia Espongiforme Bovina Atípica: Caracterização e Implicações para o Sistema de Prevenção no Brasil.

Monografia de conclusão do Curso de Medicina
Veterinária apresentada à Faculdade de Agronomia e
Medicina Veterinária da Universidade de Brasília

Aprovado em: ___/___/___

Banca Examinadora

Prof. Dr. Vitor Salvador Picão Gonçalves

Instituição: Universidade de Brasília

Julgamento: _____

Assinatura: _____

Dr. Flavio Pereira Veloso

Instituição: CIDASC/ SC

Julgamento: _____

Assinatura: _____

Dr. Carlos Henrique Pizarro Borges

Instituição: MAPA/DF

Julgamento: _____

Assinatura: _____

“Tudo o que fizerem, façam de todo o coração, como para o Senhor, e não para os homens.” Colossenses 3:23

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pois sem Ele, eu não teria forças para esta longa jornada, e aos meus pais e irmãs, alicerces da minha vida, que me deram todo incentivo e apoio necessários para que eu atingisse meus objetivos.

Agradeço a toda minha família, pelos incentivos e desejos de sorte na minha profissão.

Agradeço a todos os meus professores, aos quais tenho o maior respeito e admiração.

Aos meus amigos de turma, que estiveram compartilhando comigo as mesmas alegrias e experiências, especialmente ao Adriel, Camille, Ernesto, Lucas e Thiego.

Ao meu orientador, Vitor Picão, por todos ensinamentos.

A toda equipe técnica do Departamento de Saúde Animal do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento que sempre esteve disposta a ensinar e proporcionar novas experiências de trabalho.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BASE – Encefalopatia Espongiforme Amiloidótica Bovina

CWD - Doença Crônica Depauperante

DCJ – Doença de Creutzfeldt-Jakob

EEB – Encefalopatia Espongiforme Bovina

EET – Encefalopatia Espongiforme Transmissível

EFSA – European Food Safety Authority

ETM – Encefalopatia Transmissível dos Vison

FCO – Farinha de Carne e Ossos

GSS – Síndrome de Gerstmann-Straüssler-Scheinker

IFF – Insônia Fatal Familiar

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

MRE – Material de Risco Específico

OIE – Organização Mundial de Saúde Animal

OMS – Organização Mundial de Saúde

PRION – Proteinaceous Infectious Particle

PRP^C – Proteína Priônica Celular

PRP^{SC} – Proteína Priônica Alterada

PRP^{RES} – Proteína Priônica Resistente

SNC – Sistema Nervoso Central

SVO – Serviço Veterinário Oficial

TgBov - Camundongo Transgênico para PrP bovino

TgOv- Camundongo Transgênico para PrP ovino

vDCJ – Variante da Doença de Creutzfeldt-Jakob

WB – Western Blot

RESUMO

FONSECA, G. G. **EEB atípica, o novo padrão de ocorrência da doença da vaca louca.** [Atypical BSE, the new pattern of occurrence of mad cow disease]. 2015. 40 p. Monografia de conclusão do curso de Medicina Veterinária – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília (UnB), Brasília, DF.

Desde 1987, quando a Encefalopatia Espongiforme Bovina (EEB) surgiu como uma nova doença, enormes esforços foram feitos para entender a origem e a patogenia da enfermidade. Posteriormente também se comprovou que se tratava de uma zoonose fatal, associada à nova variante da doença de Creutzfeldt-Jakob. Devido às várias medidas de mitigação de risco como: proibição da alimentação de ruminantes com produtos de origem animal, remoção de material de risco específico, vigilância epidemiológica e controle de importação de animais e de subprodutos de origem animal, a incidência de EEB caiu drasticamente.

Entretanto, em 2004 foram reconhecidas duas novas formas da doença, denominadas variantes atípicas da EEB, que parecem ocorrer de forma esporádica e sem uma tendência geográfica. No Brasil, recentemente, dois casos de EEB atípica foram detectados e notificados à Organização Mundial de Saúde Animal (OIE).

Houve, portanto, a necessidade de se obter informações sobre as características patológicas destas novas formas da doença, bem como a distribuição tecidual do príon e o potencial risco de transmissão para humanos, para avaliar se as medidas de mitigação de risco, já estabelecidas para EEB clássica, seriam suficientes para abranger estas novas formas atípicas da doença, garantindo a sanidade dos rebanhos e a proteção à saúde pública.

Este trabalho é uma breve revisão sobre os recentes estudos que abordam as diferentes características entre as formas atípicas e clássicas da doença, avaliando as consequências para uma estratégia de prevenção e vigilância.

Palavras-chave: Encefalopatia Espongiforme Bovina, Atípica, Vaca louca, Panorama atual.

ABSTRACT

FONSECA, G. G. **Atypical BSE, the new pattern of occurrence of mad cow disease.** [EEB atípica, o novo padrão de ocorrência da doença da vaca louca]. 2013. 40 p. Monografia de conclusão do curso de Medicina Veterinária – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília (UnB), Brasília, DF.

Since 1987, when BSE emerged as a novel disease in cattle, enormous efforts were undertaken to understand the origin and the pathogenesis of that which should become one of the largest outbreaks of a disease in cattle. Later on, it has also been proven that BSE was a fatal zoonosis, causing variant Creutzfeldt-Jakob disease in human being. The ban on meat and bone meal in livestock feed, the removal of specified risk materials from the food chain, epidemiological surveillance and control of imports, were the main measures to successfully prevent infection in cattle and to protect human beings from BSE exposure.

However, in 2004, two new disease patterns have been recognized, termed as atypical BSE, which appear to occur sporadically and without geographic trend. In Brazil, two cases of atypical BSE were recently detected and notified to the World Organization for Animal Health (OIE).

There was a necessity, on that account, to obtain informations about the pathological characteristics of the disease's new patterns, as well as the tissue distribution of prion and the potential risk of human transmission, in order to assess whether the mitigation measures pre-set to classic BSE would suffice to comprise these recent and atypical disease patterns, just as to ensure the herd sanity and the protection of human public health.

This report briefly reviews and summarizes the current level of knowledge about the differences between atypical and classical forms of the disease, assessing the consequence for a surveillance strategy.

Key Words: Bovine Spongiform Encephalopathy, Atypical Bovine Spongiform, Mad Cow Disease, Current Overview.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
1.1. EEB clássica e Surto de vDCJ	11
1.2. Teorias Priônica	12
2. A EEB ATÍPICA	14
2.1. Potencial Transmissibilidade da EEB Atípica	15
2.2. Sinais Clínicos	18
2.3. Potencial Risco de Transmissão para Humanos	20
2.4. Distribuição do PrP^{sc} atípico no SNC	22
2.5. Infectividade Tecidual	23
3. PANORAMA MUNDIAL DE CASOS DE EEB ATÍPICA	24
4. PROGRAMA NACIONAL DE PREVENÇÃO E VIGILÂNCIA DA EEB (PNEEB)	26
4.1. Casos Brasileiros De EEB Atípica	28
5. DISCUSSÃO	29
6. CONCLUSÃO	31
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33

1. INTRODUÇÃO

1.1. EEB clássica e Surto de vDCJ

As Encefalopatias Espongiformes Transmissíveis (EETs) são condições degenerativas, crônicas e fatais (Prusiner, 1998) que causam doença em humanos e em algumas espécies de mamíferos e são caracterizadas por lesões espongiformes no Sistema Nervoso Central (SNC) (Wells et al., 1995). Em humanos as EETs incluem a doença de Creutzfeldt Jakob (DCJ), Síndrome de Gerstmann-Straussler-Sheinker (GSS), Kuru e Insônia Fatal Familiar (IFF). Nos animais, as principais EETs são o Scrapie, que afeta ovinos e caprinos, a Encefalopatia Transmissível dos Vison (*Mustela vison*) (ETM), a Doença Crônica Depauperante (CWD), a Encefalopatia Espongiforme Felina e a Encefalopatia Espongiforme Bovina (EEB), (Seuberlich et al., 2010), objeto deste estudo.

A Encefalopatia Espongiforme Bovina (EEB) é uma zoonose (OMS, 2015), fatal e progressiva, que afeta o sistema nervoso central de bovinos. Possui um período de incubação longo, em média de quatro a cinco anos, e não existe tratamento nem vacinas (OIE, 2015a).

O primeiro caso de EEB foi reconhecido no Reino Unido em 1986 (Wells et al., 1987), causando um dos maiores surtos epidêmicos de uma doença em animais naquele país. Mais de 180.000 animais foram mortos, embora se estime que mais de três milhões de bovinos tenham sido infectados e abatidos no estágio pré-clínico (Donnelly et al., 2002).

Clinicamente a doença é caracterizada por nervosismo, reação exacerbada a estímulos, dificuldade de locomoção, afetando principalmente os membros pélvicos. As mudanças neuropatológicas observadas incluem vacuolizações ou alterações espongiformes, gliose e degeneração neuronal, sem reação inflamatória (Wells et al., 1987).

Após o reconhecimento dos primeiros casos, foi realizado um estudo epidemiológico para investigar possíveis causas daquela nova doença. Wilesmith e colaboradores (1988) concluíram que a farinha de carne e ossos (FCO), usada como um suplemento protéico para os animais, seria a fonte causadora do início da epidemia, sendo a principal forma de transmissão do agente a via oral, pela ingestão de alimento contendo carcaças de animais que estavam infectados.

Permaneciam incertezas sobre o fato dessa nova doença ter caráter zoonótico, por isso, como meio de precaução, foi reinstituída em 1990 a vigilância da doença de Creutzfeldt-Jakob (DCJ) no Reino Unido, pelo fato de ser uma encefalopatia espongiforme esporádica de humanos. A partir dessa vigilância, investigações minuciosas de cada novo caso da doença eram feitas, avaliando-se o aumento da incidência, mudanças no padrão de ocorrência e possíveis sintomatologias incomuns (Will et al., 1996).

Em 1995, houve a emergência de uma nova EET em humanos. O governo britânico anunciou que uma variante da DCJ havia ocorrido em dez pessoas e que foram encontradas características neuropatológicas que claramente se distinguiam de outros casos da doença original (Will et al., 1996). Tal variante foi denominada, então, como a variante de Creutzfeldt-Jakob disease (vDCJ). Logo, estudos epidemiológicos e clinicopatológicos com camundongos transgênicos mostraram haver semelhantes padrões entre a vDCJ e a EEB, sugerindo que ambas teriam sido causadas pela mesma cepa priônica (Hill et al., 1997) e que a transmissão para humanos se daria por meio do consumo de alimentos contaminados (Bruce et al., 1997).

1.2. Teorias Priônica

A origem do agente causador das EETs permaneceu incerta, por muitos anos, quando surgiu a hipótese formulada por Stanley B. Prusiner, em 1982, afirmando que o agente causador seria uma proteína infecciosa, ou Príon, uma abreviação para *proteinaceous infectious particle*. Esta hipótese postulava que o agente do Scrapie era uma partícula proteica infecciosa, pois sua infectividade era dependente de proteína, já que era resistente a métodos conhecidos de inativação de ácidos nucleicos e, além disso, tinha a habilidade de se replicar no organismo (Prusiner et al., 1998).

Posteriormente, ficou claro que a proteína priônica celular PrP^c é um componente normal de vários tipos celulares (Basler et al., 1986), e que uma mudança conformacional na sua estrutura protéica formava uma estrutura secundária denominada PrP^{sc} (Safar et al., 1993). A estrutura primária da PrP^c é formada por quatro alfa hélices que ocupam cerca de 42% da cadeia polipeptídica, e 3% ocupada pelas folhas beta plissadas. Em contraste, no PrP^{sc}, predomina a forma beta plissada, que representa cerca de 43% da estrutura, seguida da alfa hélice, com 30% (Pan et al., 1993).

A proteína priônica patogênica foi denominada PrP^{sc}, pois foi identificada primeiramente em estudos com casos de Scrapie. Então, foi proposto que, considerando os padrões de similaridade entre as lesões, a origem da EEB poderia ter sido de ovinos infectados com Scrapie que entraram no ciclo alimentar de bovinos, na forma de FCO (Wilesmith et al., 1991).

A origem do agente causador da EEB ainda permanece incerta; pode ter sido tanto originada de uma doença espontânea de bovinos (Eddy, 1995), como de ovinos infectados com Scrapie (Wilesmith et al., 1988). Essa teoria do Scrapie foi uma das mais favorecidas, por ser uma doença endêmica e ter sido descrita por mais de 250 anos no Reino Unido (Colchester & Colchester 2005). Contudo o Scrapie, não é uma zoonose e não possui evidências de ser patogênica para humanos, embora tenha sido uma teoria plausível pelo fato de tecidos ovinos infectados com Scrapie terem entrado na cadeia alimentar de bovinos (Smith & Bradley 2003). Não havia, no entanto, uma explicação satisfatória do porquê o surto não ter surgido antes, dado que o Scrapie já havia sido relatado há mais de dois séculos e a implementação de FCO como suplemento ter se dado por volta de 1940 (Priola & Vorberg 2004). Uma possível explicação sugerida seria a de que, por motivos econômicos, houve mudanças no processo de fabricação da FCO, como a retirada de solventes que participavam da produção entre as décadas de 1960 e 1980 (Wilesmith et al., 1988). Mais tarde, experimentos demonstraram que a retirada do solvente teria pouca ou nenhuma contribuição na eliminação do agente causador das EEB (Taylor et al., 1997).

Estudos experimentais de transmissão intracerebral da cepa de Scrapie em bovinos mostraram ser possível que esses animais desenvolvam uma doença quando em contato com o agente do Scrapie, porém tiveram um curso clínico diferente de bovinos infectados com a EEB (Cutlip et al., 1994). Posteriormente, foi feito outro estudo em camundongos transgênicos que expressavam a proteína PrP de bovino; eles foram inoculados intracerebralmente com cepas de Scrapie e como resultado foram observadas alterações neuropatológicas diferenciadas daquelas observadas em camundongos inoculados com o príon da EEB e da vDCJ (Scott et al., 1999). Finalmente, tentativas de infecção de bovinos por via oral com o Scrapie falharam (Cutlip et al., 2001).

Tendo em vista os fatores supracitados, surgiu outra teoria, a qual propunha que a origem do agente da EEB teria ocorrido a partir de humanos ou de cadáveres humanos com a doença priônica humana. Tal teoria se baseava no fato de que o Reino Unido teria importado

materiais de mamíferos, como ossos e partes de cadáveres do subcontinente indiano, para a alimentação animal e a produção fertilizante. Contudo, é sabido que restos humanos de cadáveres lançados no Rio Ganges poderiam ser incorporados nos produtos importados (Colchester & Colchester, 2005). Esta teoria não apresentou nenhuma evidência e foi contestada por Shankar & Saltishchandra (2005), abordando que na Índia, neste período, teriam ocorrido 85 casos de DCJ em humanos, e não 150 casos como relatado por Colchester & Colchester (2005). Em adendo, esses óbitos teriam ocorrido em hospitais, não havendo a possibilidade de destinação desses cadáveres em rios.

2. A EEB ATÍPICA

Na União Europeia, desde 2001, foi estabelecido que os todos bovinos com mais de trinta meses ou encontrados caídos com mais de 24 meses teriam que passar por um teste rápido para EEB (European Community, 2001). Esta vigilância ativa levou à detecção de casos de EEB fora do Reino Unido, que, teoricamente, seriam da mesma cepa priônica até então detectada (Seuberlich et al., 2006). Isto, baseado no fato de que era amplamente difundido que somente existia um único agente da EEB e da vDCJ, pois os casos ocorridos teriam exibido características fenotípicas similares, com padrões de transmissão e perfis de lesões histopatológicas equivalentes (Bruce et al., 1997).

Em 2004, foram identificadas duas cepas diferentes de EEB: a EEB tipo H na França (Biacabe et al., 2004) e a EEB tipo L na Itália (Casalone et al., 2004), as quais foram definidas como formas atípicas da EEB. Para esta diferenciação, análises de Western Blotting (WB) foram utilizadas em amostras de suspeitos clínicos detectados a partir dos testes de triagem. Nestas tipificações fornecidas pelo exame, foi possível distinguir estes tipos de cepas atípicas de EEB com base em propriedades moleculares, bioquímicas e de peso molecular da proteína priônica (Dudas et al., 2010) .

Uma característica da proteína priônica celular PrP^c é a não resistência à ação da proteinase K. Porém, a proteína priônica relacionada à doença, PrP^{sc} , é parcialmente resistente, e sua forma resultante é denominada PrP^{res} , por ser associada como fração resistente e entendida como a porção infectiva da proteína (Jacobs et al., 2007; Dudas et al. 2010).

No exame, ela é observada em três bandas, que refletem os padrões das glicofomas do príon: a monoglicosilada, diglicosilada e a não-glicosilada, usadas como um dos critérios de diferenciação das doenças priônicas (Jacobs, et al., 2007).

Assim sendo, no escopo do exame de WB, a proteína priônica resistente à protease (PrP^{res}) caracterizou uma massa molecular da porção não-glicosilada, maior na EEB tipo H, por isso o uso do termo “H” (higher), e uma massa molecular da fração não glicosilada, menor na EEB tipo L (lower) (Balkema-Buschmann et al., 2006). Na prática, tal fato é visto no exame como uma migração das bandas em diferentes posições.

Na primeira descrição histopatológica da EEB-L, foram observadas deposições incomuns de placas amiloidóticas causadas pelo príon; foi sugerido, portanto, uma denominação de BASE (bovine amyloidotic spongiform encephalopathy). Nesse trabalho, descreveu-se que o padrão da EEB-L difere da clássica com a predominância fração monoglicosilada (Casalone et al., 2004).

Para muitos cientistas, após a identificação da EEB atípica, a hipótese da origem espontânea se tornou mais plausível, pois é suportada pela relativa idade avançada dos animais, sua distribuição geográfica variável e a falta de vínculos epidemiológicos com as outras EETs (Seuberlich et al., 2010).

2.1. Potencial Transmissibilidade da EEB Atípica

Após a identificação das formas atípicas, houve necessidade de obter informações sobre a infectividade e patogenicidade dessas novas cepas atípicas de EEB, sendo importante ter estabelecido o potencial de transmissibilidade horizontal e vertical, sobre os quais vários estudos com camundongos comuns, transgênicos e outras espécies têm sido feitos (Seuberlich et al., 2010).

Os estudos de transmissibilidade mostraram que os agentes da EEB atípica possuem a capacidade de infectar outras espécies além da bovina, como por exemplo, um estudo de Baron e colaboradores (2007) que levanta a hipótese de que a origem da Encefalopatia Transmissível do Vison (*Mustela vison*) teria sido causada a partir de FCO contaminada com o agente da EEB tipo L, devido às semelhanças fenotípicas observadas em camundongos infectados com estes dois agentes.

Experimentos iniciais de transmissões das cepas atípicas em camundongos transgênicos expressando PrP bovina, apresentaram características que diferenciavam as cepas atípicas da EEB clássica, comprovando que, por distintos padrões neuropatológicos e fenótipos moleculares, se tratavam de cepas diferentes do surto epidêmico (Béringue et al., 2006 e Balkema-Buschmann et al., 2006).

No estudo de Béringue e colaboradores (2006), inoculou-se a EEB tipo H em camundongos transgênicos que expressavam PrP bovina (TgBov) e ovina (TgOv). Concluíram, por critérios moleculares e biológicos, que se tratava de uma forma diferente da EEB clássica. Observou-se ainda nesse mesmo estudo que o período de incubação foi maior em comparação com o observado na EEB clássica, os perfis moleculares também se diferiam quanto ao tamanho e proporções das glicofomas da PrP^{res}, além da não detecção de PrP^{res} no baço dos camundongos TgOv, fato que ocorria em grandes níveis em infecções com EEB clássica, indicando neurotropismo nesse modelo experimental.

Balkema-Buschmann e colaboradores (2006) relataram o sucesso da transmissão de ambas as cepas atípicas em camundongos transgênicos que expressavam a PrP bovina, e descreveram características que as diferenciavam da EEB clássica. Molecularmente, a forma atípica da EEB tipo L possuía quase a mesma distribuição das frações mono-, di- e não-glicosiladas, enquanto na EEB clássica, tinha uma clara dominância da fração diglicosilada. Com relação ao período médio de incubação, também houve diferenças entre as EEBs. Camundongos infectados com a cepa EEB tipo L apresentaram um período médio de incubação de 185 dias, enquanto na EEB clássica o período durou 230 dias, e para a EEB tipo H o período foi maior, 322 dias.

Experimentos como estes acima, reforçam a ideia de que se trata de agentes diferentes; entretanto, outros experimentos de transmissões mostraram que EEB tipo L possuía a capacidade de adquirir propriedades da EEB clássica quando transmitida para camundongos comuns ou camundongos transgênicos que expressavam PrP de ovinos (Béringue et al., 2007; Capobianco et al., 2007). Estes relatos levantaram à hipótese de que a conversão do agente da EEB tipo L, resultante da passagem por um hospedeiro intermediário, poderia explicar a origem da EEB clássica (Baron et. al., 2011).

Béringue e colaboradores (2007) relataram a caracterização molecular e neuropatológica da cepa EEB-L, e destacaram que, inesperadamente, quando propagada em

camundongos transgênicos para PrP ovino, essa variante adquiria características muito similares à forma clássica, observada na intensidade de deposição de PrP e padrões de vacuolização causadas no SNC.

Capobianco e outros (2007) também observaram que quando foi inoculada a EEB tipo L em camundongos comuns, foi induzida uma doença que após a segunda passagem possuía características neuropatológicas e moleculares indistinguíveis de camundongos infectados com a EEB clássica. Recentes relatos similares foram feitos para a EEB tipo H, que adquiriu características de EEB clássica depois de passagens seriadas para camundongos comuns.

Baron e colaboradores (2011), em um experimento com inoculação da cepa atípica tipo H em camundongos comuns, observaram que na terceira passagem este modelo teve o mesmo tempo de sobrevivência dos que estavam infectados com a EEB clássica, e o linfotropismo que somente era exibido em animais infectados com o agente da forma clássica foi presente nestes camundongos.

Outro estudo (Torres et al., 2011), mas em camundongos transgênicos para PrP bovino, concluiu que características muito similares da forma clássica da doença emergiram em alguns animais inoculados com a EEB atípica tipo H. As principais semelhanças foram, um indistinguível perfil da PrP^{res} quanto à massa molecular e o padrão de glicosilação. As vacuolizações e a distribuição de PrP^{res} muito similares entre as duas formas e a detecção de PrP^{res} no baço, sendo esta uma característica marcante na infecção com a EEB clássica. Mostraram, portanto, a capacidade desta forma atípica adquirir propriedades da EEB clássica durante a propagação, reforçando a hipótese de que a origem da epidemia poderia ter sido a partir desta cepa (Torres et al., 2011). Apesar desses achados em modelos experimentais com camundongos, o mesmo não foi observado em inoculações em bovinos.

Lombardi e colaboradores (2008) realizaram o primeiro estudo de transmissão da EEB atípica em bovinos. Infectaram por via intracerebral seis animais com o agente causador da EEB tipo L e utilizaram como controle seis bovinos com a EEB clássica. Concluíram que as duas formas induziam diferentes fenótipos da doença, baseado nos perfis neuropatológicos e moleculares, sendo causadas por cepas priônicas diferentes, não observando a transformação do príon para a sua forma clássica.

No Japão, foi realizado um estudo também com a EEB- tipo L, num desafio intracerebral em cinco bovinos. Observou-se que as vacuolizações mais severas foram

observadas no mesencéfalo, tálamo, hipotálamo e córtex frontal. Esse estudo experimental concluiu que a transmissão desta cepa atípica em bovinos induziu um período de incubação curto e mudanças neuropatológicas mais severas comparada com a EEB clássica, sugerindo que a EEB tipo-L, pode ser mais virulenta em bovinos. Entretanto, tais especulações entram em conflito com os casos de EEB atípica encontradas a campo, onde são encontradas principalmente em animais adultos e mais velhos. A razão para esta discrepância no período de incubação entre os casos naturais e experimentais ainda é desconhecida. (Fukuda et al., 2009).

Balkema-Buschmann e colaboradores (2011b) realizaram um experimento de inoculação intracerebral das duas formas atípicas de EEB e constataram que houve mudanças nos padrões de distribuição cerebral de ambas as cepas, não demonstrando a conversão dessas formas na forma clássica da doença, além da restrição dessas formas em relação à distribuição no SNC. O período de incubação de 14 meses para ambas as formas atípicas, foi mais prolongado em comparação com a EEB clássica, o que justificaria a ocorrência a campo em animais mais velhos.

Em estudo posterior Konold, e colaboradores (2012) também inocularam intracerebralmente em bovinos as duas formas atípicas (L e H), nos quais foram identificadas deposições de PrP^{sc} nos músculos espinhais e no gânglio trigêmeo. Relataram também que características patológicas e moleculares eram distintas da forma clássica da EEB, observando-se dois fenótipos clínicos: uma forma nervosa e a forma apática.

Estudos como esses, apesar de descreverem características fenotípicas diferentes entre as formas atípicas e a clássica, sugerem uma relação entre elas e dão indícios da origem da EEB clássica (EFSA, 2014).

2.2. Sinais Clínicos

No estudo, já citado de Lombardi e colaboradores (2008) com a EEB atípica tipo L e a clássica, comparou-se os sinais clínicos entre os bovinos infectados. Os primeiros sinais clínicos nos animais com a EEB clássica foram baseados em mudança comportamental e hipersensibilidade, como agressividade, cabeça baixa, exagerado reflexo de piscar e hiperestesia cutânea generalizada. Já com a EEB tipo L, houve clara mudança de

sintomatologia e progressiva atrofia muscular; nestes animais foi observado um comportamento e postura depressiva, incluindo cabeça baixa, cifose leve, diminuição do estado de alerta e a atrofia muscular da região glútea.

Fukuda e colaboradores (2009) também relataram a sintomatologia de bovinos infectados com a EEB tipo L, comparando-os com a forma clássica da doença, e descreveram que inicialmente os primeiros sinais clínicos foram iguais da EEB clássica, como ansiedade e hiperestesia a sons altos e destacaram que posteriormente bovinos exibiram pouca agressividade e eram inativos indo de acordo com o relato anterior.

No estudo de Balkema-Buschmann (2011a) também foi descrita a sintomatologia clínica dos bovinos infectados com as formas atípicas. Os primeiros sinais clínicos foram perda de peso e deterioração da condição corpórea; além disso, estes animais ficaram afastados do grupo em posições não fisiológicas, e se tornaram posteriormente muito sensíveis a estímulos visuais, acústicos e táteis. Entretanto estes padrões sintomatológicos não eram distinguíveis de casos de bovinos desafiados com a EEB clássica. Finalmente foi observada ataxia leve e posteriormente estes animais não conseguiam ficar em pé.

Em estudo posterior realizado por Konold e colaboradores (2012) com ambas as formas atípicas, notou-se que os animais desenvolviam dois fenótipos clínicos diferentes: uma forma mais nervosa, e outra forma oposta caracterizada por ser mais apática. Concluíram, portanto, que inicialmente os animais apresentavam a forma nervosa da doença, caracterizada pela reação exagerada a estímulos externos, que trazia certa similaridade com sintomas da EEB clássica. Estes sinais clínicos progrediam para uma forma mais apática, sendo a dificuldade para se levantar a principal característica nas duas formas atípicas. O período de incubação da doença foi entre oito e onze meses após a inoculação e a forma apática surgiu somente aos vinte e um meses de inoculação.

A dificuldade de se levantar, principal característica sintomatológica detectada nos bovinos afetados com a EEB atípica, explica a razão pela qual a principal forma de detecção natural de casos ocorre em abates de emergência e em animais caídos (Rich et al., 2007).

2.3. Potencial Risco de Transmissão para Humanos

Até então a EEB era a única doença priônica animal conhecida em que a transmissão para humanos foi possível, causando a forma variante da doença de Creutzfeldt-Jakob (vDCJ). Era necessário, portanto, um entendimento das propriedades de transmissão dessas novas formas atípicas quando confrontadas com a PrP humana (Béringue et al., 2008).

Investigou-se a transmissibilidade da EEB atípica tipo L, inoculando em camundongos transgênicos que expressavam a PrP humana (Tg40) e observou-se que sessenta por cento dos camundongos se tornaram infectados 20 a 22 meses após a inoculação, sendo esta uma taxa de transmissão alta comparada a outros experimentos com a EEB clássica. Observou-se também que, pela primeira vez, houve detecção de acúmulo de PrP^{sc} no baço de camundongos humanizados com uma cepa de EEB e concluíram que para humanos, a EEB tipo L é mais virulenta e provavelmente linfotrópica (Kong et al., 2008).

Outro estudo de inoculação do agente da EEB tipo L em camundongos transgênicos expressando PrP humana (Tg650), comparou a ação dessa variante com o agente da EEB. Concluiu que para a cepa atípica tipo L ocorreu uma taxa de ataque 100%, sem uma significativa barreira de transmissão, diferente do observado para a EEB clássica que mostrou ter certa barreira na transmissão (Béringue et al., 2008).

Outra estratégia de se avaliar o risco de infecção humana com as cepas atípicas, consiste em avaliar a susceptibilidade e o grau de patogenicidade em modelos de primatas não-humanos (Lasmézas et al., 2001; Comoy et al., 2008).

Em um experimento, inocularam por via intracerebral, material da EEB-L, EEB clássica e vDCJ, em um modelo de primata não humano, o macaco cynomolgus (*Macacca fascicularis*), com o objetivo de comparar os padrões clínicos, patológicos e bioquímicos desses agentes patogênicos. Nesse estudo, os animais inoculados com a forma atípica tiveram um menor período de incubação, comparados com os outros grupos e também apresentaram características clínicas, neuropatológicas e bioquímicas diferentes. Na apresentação clínica, os animais apresentaram tremores, mioclonia, desordem cognitiva, mas sem ansiedade ou agressividade e perda de apetite. Já na EEB clássica observou-se ansiedade e agressividade, que evoluiu para uma progressiva dificuldade de locomoção e perda de apetite. Na análise do SNC, a forma atípica revelou lesões espongiiformes no córtex frontal e parietal, que explicariam a perda de cognição e orientação espacial; em contraste, na forma clássica

observaram-se lesões no óbex e no cerebelo que iam de encontro com os sinais clínicos de perda de coordenação motora (Comoy et al., 2008).

Mais tarde, outro estudo com macacos foi realizado com a cepa de casos atípicos encontrados no Japão. Inocularam em dois macacos cynomolgus, com o objetivo de investigar a manifestação da doença e as características da EEB tipo L em comparação com a EEB clássica. O período de incubação para a forma atípica nesses animais foi de 19 e 20 meses, sendo um período menor que o tempo de incubação para forma clássica, descrita em outros estudos, e a duração da doença foi 2/3 menor do que em macacos com EEB clássica, indicando que a forma atípica tipo L é mais virulenta em primatas não humanos (Ono et al., 2011).

Ao contrário do relatado anteriormente por Kong (2008), este estudo demonstrou que não houve depósito de príon de EEB tipo L em tecidos linfoides dos macacos infectados com esta cepa (Ono et al., 2011)

Permanecia, entretanto, a dúvida sobre ser possível a transmissão por via oral da EEB-L. Para isso eram necessários estudos com experimentos utilizando a via oral como via de infecção para uma melhor avaliação da transmissibilidade do príon para humanos (Ono et.al 2011).

Francés e colaboradores (2012) realizaram um estudo onde foi transmitido, oral e intracerebralmente, o príon causador da EEB tipo L em *Microcebus murinus*, outro modelo de primata não humano, onde foi demonstrado ser possível a transmissão do agente da EEB tipo L por via oral neste animal. Foi observado que os animais infectados oralmente tiveram um período de incubação maior e sinais clínicos menos severos que os animais inoculados intracerebralmente com o mesmo agente, com nenhuma evidência de perda da função motora, confirmando claramente o potencial risco de transmissão interespecie pela via oral.

Estudos como esses mostram que a cepa atípica EEB-L possui um perfil mais agressivo de infectividade e um maior potencial zoonótico em relação à EEB clássica, sendo, portanto, importante a manutenção de medidas de mitigação de risco, para impedir a entrada de tecidos infectados na cadeia de alimentação humana (Francés et al.,2012).

Com relação a estudos de transmissão da EEB tipo H em modelos humanos, houve a tentativa de transmissão de EEB-H em camundongos transgênicos expressando a PrP humana, porém não obtiveram resultados (Béringue et al., 2008).

2.4. Distribuição do PrP^{sc} atípico no SNC

Estudos da patogênese da EEB clássica mostraram que ocorre uma grande deposição de proteína priônica PrP^{sc} na região do óbex e tronco encefálico (Wells et al., 2007), porém no primeiro relato de caso da EEB-L, a região do óbex não tinha tanta significância, enquanto que os principais sinais foram encontrados na região do bulbo olfatório e do tálamo (Casalone et al., 2004).

Estudos posteriores mostraram que em bovinos infectados com a EEB atípica tipo L a maior quantidade de PrP^{sc} foi encontrada no córtex, hipocampo e cerebelo, ao contrário do observado nos bovinos infectados com a forma clássica, nos quais foi caracterizada por deposições de PrP^{sc} no tálamo, gânglio basal, óbex, áreas olfatórias e hipocampo. Em ambos os grupos foram observadas pequenas quantidades na medula espinhal, mas não foram detectadas PrP^{sc} em tecidos periféricos, como: linfonodos, baço, timo, fígado, pulmão, nervos periféricos e músculos dos membros (Lombardi et al., 2008).

Experimento conduzido por Iwamaru e colaboradores (2010) avaliou a presença de PrP^{sc} de EEB tipo L no tecido nervoso periférico de bovinos, e concluiu que da mesma forma que na EEB clássica, na fase terminal da doença ocorre uma difusão centrífuga para terminações nervosas.

A distribuição priônica da EEB tipo H foi descrita e também mostrou que nos bovinos inoculados intracerebralmente ocorreu de forma diferente do observado em animais afetados com a EEB clássica. Observou-se uma distribuição no córtex frontal, tálamo e hipotálamo e pouca no tronco encefálico (Okada et al., 2011).

2.5. Infectividade Tecidual

Desde que foi comprovado que a EEB-L possui a capacidade de infectar vários hospedeiros, inclusive primatas, sugere-se que humanos são susceptíveis a essas formas atípicas. Portanto, existe a necessidade de avaliar a presença e infectividade de tecidos periféricos de bovinos infectados com a EEB atípica (Suardi et al., 2012).

Atualmente, é desconhecido se tecidos, além dos definidos para EEB clássica, possuem infectividade para as cepas atípicas L ou H. Por isso, mais estudos de transmissão e análises de casos a campo de EEB atípica são necessários para avaliar se os materiais de risco específico (MRE) já definidos são suficientes para garantir a proteção da saúde pública. Devido a isso, considera-se que as cepas atípicas de EEB possuem um risco similar a EEB clássica (Seuberlich et al., 2010).

De acordo com a OMS (2010), os tecidos bovinos que são considerados de alta infectividade são o encéfalo, dura máter, medula espinhal, nervo óptico, retina, gânglios espinhais e gânglio trigêmeo. No Brasil é estabelecido que os materiais de risco específico de bovinos são o encéfalo, olhos, amígdalas, medula espinhal e parte distal do íleo. Estes materiais, portanto, não podem fazer parte das matérias-primas para a produção de farinha e sebo (Brasil, 2007).

Recentemente, um primeiro estudo para se testar a infectividade tecidual em músculos esqueléticos de bovinos que eram infectados (experimentalmente e naturalmente), foi realizado com a EEB atípica tipo L. Inoculou-se - intraperitonealmente e intracerebralmente - amostras de tecidos musculares em camundongos transgênicos que expressavam a PrP bovina, constatando-se que diferentes músculos esqueléticos (longissimus dorsi, intercostalis e glúteos) provocaram a infecção nos camundongos, enquanto o baço, linfonodos cervicais e rins não tiveram infectividade (Suardi et al., 2012).

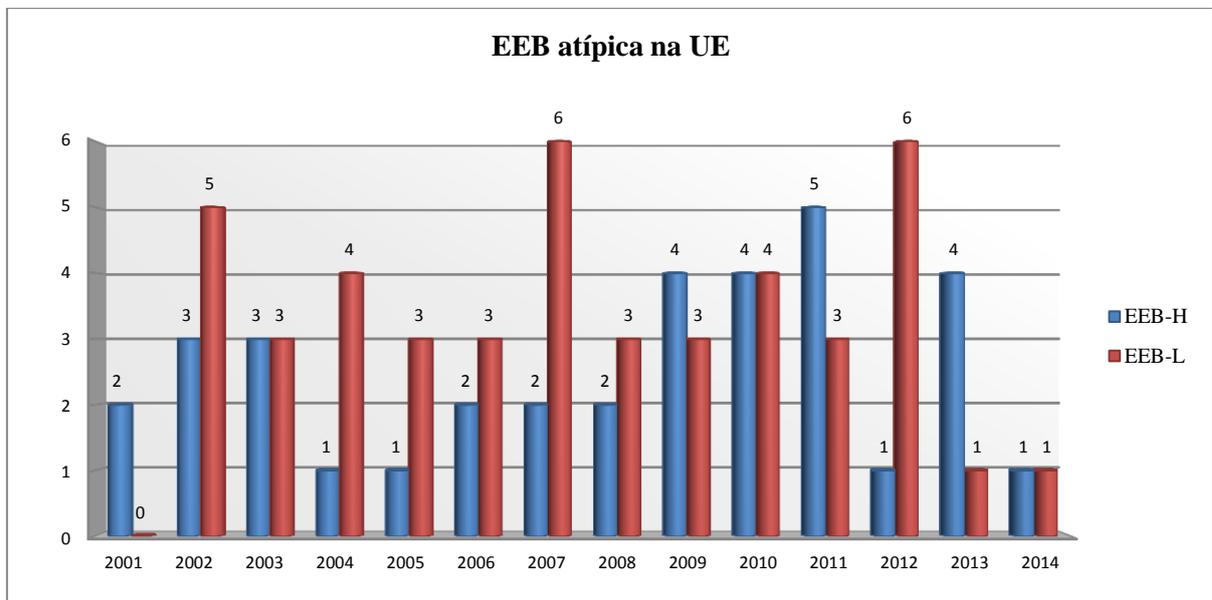
Esse estudo oferece informações sobre o tropismo da EEB-L, e mostra que enquanto as barreiras de transmissões para a EEB clássica são altas na maioria das espécies, a EEB tipo L é facilmente transmitida para uma variedade de mamíferos, incluindo primatas não humanos (Suardi et al., 2012).

3. PANORAMA MUNDIAL DE CASOS DE EEB ATÍPICA

Após o surto epidêmico de EEB no mundo, grandes esforços foram feitos para o controle da doença, especialmente após o reconhecimento de que era uma doença transmissível para humanos, com a ingestão de tecidos infectados. A proibição da FCO na alimentação de ruminantes e a remoção de materiais de risco específico (MRE) foram as principais medidas que fizeram a incidência de EEB cair drasticamente, garantindo também a segurança para a saúde pública (Seuberlich et al., 2010). Outra medida de mitigação de risco foi a adoção, em 2001, de uma vigilância ativa pelos países da União Europeia (Bird et al., 2003), o que possibilitou um melhor diagnóstico da doença, uma avaliação de risco mais acurada dos países e a diferenciação entre as cepas atípicas e clássicas.

De acordo com o relatório da EFSA (European Food Safety Authority), (2014), de 2001 a 2014 foram reportados 80 casos de EEB atípica, sendo 35 de EEB-H e 45 de EEB-L, porém estas notificações somente incluem casos dos países da União Europeia (GRÁFICO 1).

Gráfico 1. Número de casos de EEB atípica reportada pelos membros da EU, por ano, no período de 2001-2014 por tipo (EEB L ou H).

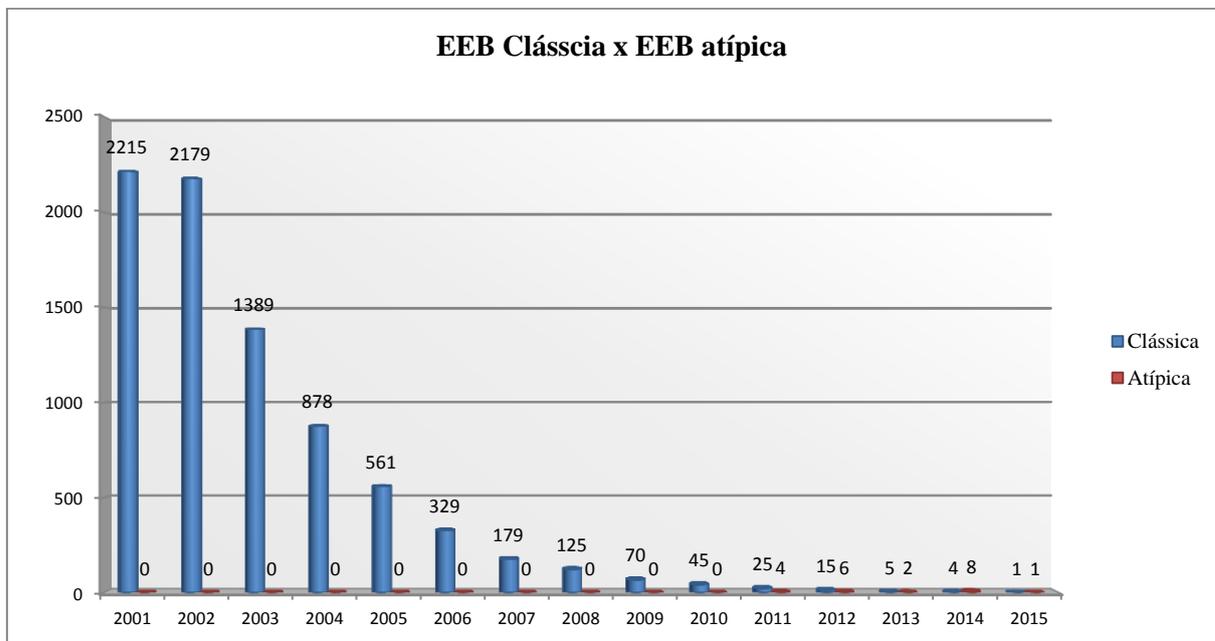


Fonte: Adaptado de European Food Safety Authority (2014)

Somente a partir do ano de 2011, a Organização Mundial de Saúde Animal (OIE), destaca em seu site observações dos casos de EEB que seriam da forma atípica da doença, totalizando 21 casos, incluindo notificações de casos atípicos de países como: Brasil, os EUA, Canadá, Noruega, Romênia e Suíça. Porém, nem todos os dados disponíveis em literatura, estão destacados. Por exemplo, foi descrita a ocorrência de EEB atípica no Japão, onde, desde 2001, 36 casos de EEB em bovinos foram encontrados após um inquérito de aproximadamente dez milhões de bovinos, sendo que desses casos dois foram tipificados como EEB tipo L. (Ono 2011).

Ainda de acordo com a OIE, observa-se uma queda acentuada do número de casos clássicos e em contrapartida, um surgimento dos casos atípicos. Várias linhas de evidências levam à hipótese que estas variantes atípicas ocorrem esporadicamente em um nível constante, com baixa prevalência (cerca de um caso por milhão de animais testados) e possui uma distribuição mundial, que inclui países que são livres da EEB clássica (Seuberlich et al., 2010). (GRÁFICO 2)

Gráfico 2. Número de casos de EEB clássica e atípica reportado pela OIE no período de 2001-2015.



Fonte: Adaptado de OIE (2015)

Sala e colaboradores (2012) desenvolveram o primeiro estudo epidemiológico em busca de fatores de risco individuais para a EEB atípica na França. Até aquele momento pouco mais de 60 casos de EEB atípica tinham sido detectados no mundo, e cerca de um terço teria ocorrido na França. Nesse país, 12 casos foram de EEB tipo L e 11 casos de EEB tipo H, no período 2001 a 2009. A prevalência da EEB atípica foi de 0,20 para o tipo L e 0,18 para o tipo H, para cada 100.000 animais testados; já a prevalência da EEB clássica, neste mesmo período, foi de 2,81 para 100.000 animais. Porém, comparado com a prevalência da EEB clássica, a prevalência da EEB atípica pode ter sido subestimada devido aos testes de rotina para EEB serem direcionados à EEB clássica, na qual as regiões cerebrais de deposição do PrP não são a mesma dos animais afetados com as formas atípicas (Casalone et al., 2004; Biacabe et al., 2008).

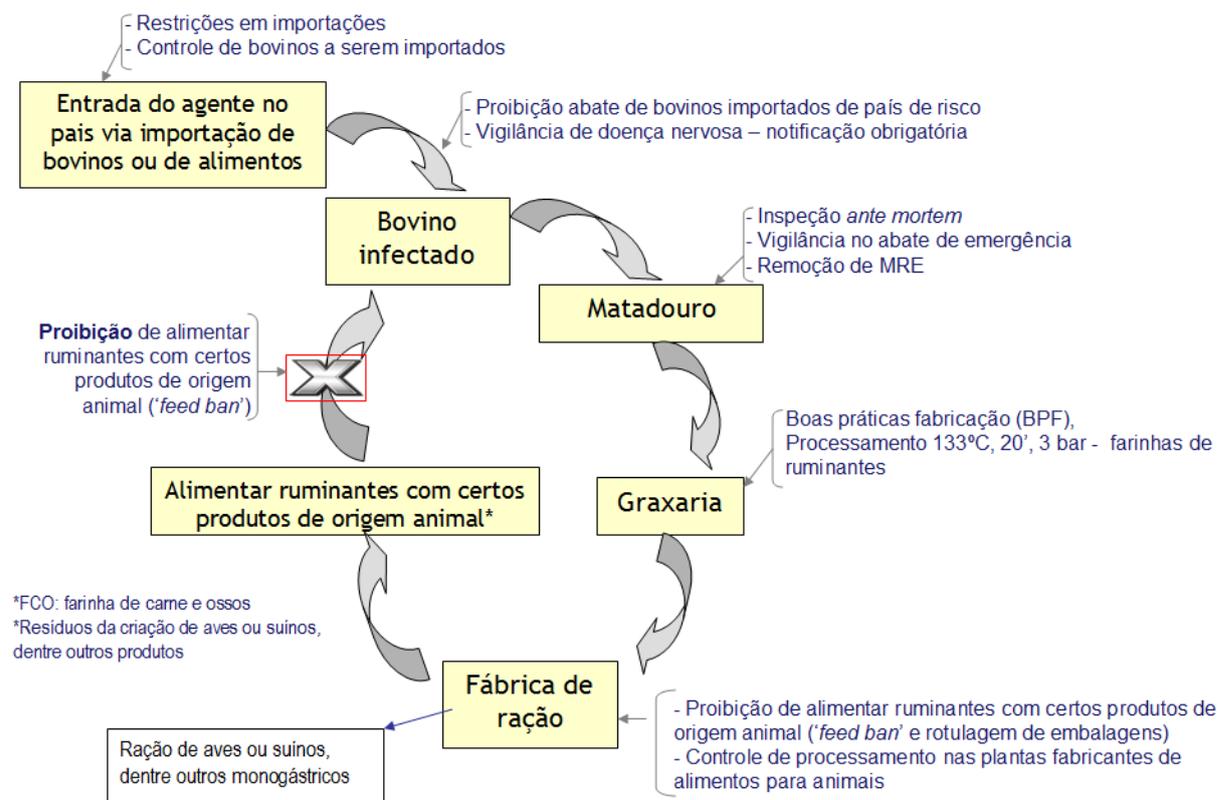
Todos os casos de EEB atípica na França ocorreram em bovinos com mais de oito anos de idade, sendo este o único fator de risco individual encontrado para a EEB tipo L, mostrado pela análise espacial e pelo modelo de regressão. Apesar da idade de bovinos acometidos com a EEB tipo H não ser significativamente diferente, não se pode ter o mesmo resultado para esta variante (Sala et al., 2012).

4. PROGRAMA NACIONAL DE PREVENÇÃO E VIGILÂNCIA DA EEB (PNEEB)

A Instrução Normativa nº 44, de 17 de dezembro de 2013, institui o Programa Nacional de Prevenção e Vigilância da Encefalopatia Espongiforme Bovina – PNEEB, que possui como principais objetivos, evitar a entrada do agente da EEB no território nacional, aplicar medidas de mitigação de risco para evitar uma reciclagem e difusão do agente no país, e manter um sistema de vigilância para detecção de animais infectados por encefalopatias espongiformes transmissíveis. O PNEEB é composto por subprogramas que atuam em pontos críticos da cadeia epidemiológica da EEB. O primeiro subprograma atua controle da importação e monitoramento de bovinos importados, que visa a prevenção da entrada do agente da EEB; o segundo subprograma atua no controle em estabelecimentos de abate de ruminantes, aplicando medidas como a remoção de materiais de risco específico da carcaça dos ruminantes e realizando a vigilância das EEB em ruminantes; o terceiro subprograma atua no âmbito de estabelecimentos processadores de resíduos de origem animal; o quarto subprograma estabelece normas para o controle da produção de alimentos para ruminantes em estabelecimentos que os fabriquem e de produtos veterinários para uso em ruminantes,

mediante a inspeção e fiscalização dos estabelecimentos e o controle da produção; o quinto subprograma atua no controle de alimentos para ruminantes em estabelecimentos de criação de ruminantes, mediante procedimentos de inspeção e fiscalização que visam prevenir a contaminação de alimentos destinados a esses animais com produtos de origem animal proibidos; o sexto é o subprograma de vigilância das EET, que age por meio de notificações e investigações das doenças nervosas em ruminantes e realização de testes para diagnóstico em populações específicas de animais; o sétimo é o subprograma de controle e avaliação, que atua no gerenciamento do programa, por meio de consolidação de dados relativos aos outros subprogramas, acompanhamento da execução e avaliação dos procedimentos estabelecidos, também na elaboração das metas e indicadores do PNEEB, e de um Plano de Contingência para aplicação imediata numa eventual introdução de enfermidade no país, além do estabelecimento de critérios para identificação de áreas de risco para EEB. (BRASIL, 2014)

Figura 1. Cadeia epidemiológica da EEB e as medidas de controle em cada ponto crítico da cadeia



Fonte: DSA (2014)

4.1. Casos Brasileiros De EEB Atípica

O primeiro caso de EEB detectado no Brasil teve início em 18 de dezembro de 2010, em um bovino de corte de aproximadamente 13 anos, em de Sertanópolis, no estado do Paraná. O animal apresentou rigidez dos membros e decúbito permanente, vindo a óbito no dia seguinte. O Serviço Veterinário Oficial (SVO) foi informado e procedeu-se a coleta de material como recomendado pelo protocolo nacional para vigilância das doenças do sistema nervoso central de bovinos. O exame resultou negativo para raiva, e conseqüentemente a amostra foi enviada para análise de encefalopatia espongiiforme bovina, porém em 11 de abril de 2011, por exame histopatológico resultou negativo para EEB. Posteriormente enviada para o laboratório de referência nacional para EEB, o Laboratório Nacional Agropecuário (Lanagro- PE), a amostra mostrou-se positiva para EEB pelo teste de imuno-histoquímica e obteve-se a confirmação de positividade no laboratório de referência da OIE para EEB, em Weybridge, Reino Unido, em 15 de junho de 2012. Entretanto o caso apresentou características incomuns de EEB clássica: o animal tinha idade avançada, foi criado num sistema extensivo a pasto e teve um curso clínico agudo até a morte em menos de 24 horas. Tais características sugeriram tratar-se de um caso atípico. Para identificação e melhor caracterização do agente, foi feito o exame de Western-Blotting, contudo não se obteve um resultado conclusivo pela má qualidade da amostra e o histórico indeterminado de fixação, mas apresentou características de ser uma EEB atípica tipo H (OIE, 2013).

Esse primeiro caso de EEB ocorrido no Brasil, teve uma repercussão negativa devido ao longo período entre a ocorrência do caso e o diagnóstico oficial, colocou-se em cheque o sistema de vigilância para EEB e a logística de investigação e diagnóstico de casos suspeitos. A revista Food Safety News, especializada em notícias sobre segurança alimentar, declarou que o Brasil escondeu o caso de EEB por dois anos a fim de evitar problemas no mercado internacional, destacou também que o diretor de saúde animal dos EUA declarou que países em desenvolvimento não possuem a mesma capacidade de controle da doença (Flynn, 2012). Mercados consumidores suspenderam suas importações do Brasil, países como Japão, China, África do Sul, Arábia Saudita e Egito, vetaram a carne brasileira. Posteriormente a comissão técnica da OIE, declarou que o caso ocorrido no Brasil não implicou em risco à saúde pública e animal do país e de seus parceiros comerciais, e manteve o Brasil na lista de países com risco insignificante, o nível mais baixo de risco para a EEB.

O segundo caso teve início em 14 de abril de 2014, em um bovino de 12 anos que foi destinado ao abate de emergência por estar caído ao chegar no abatedouro, em Porto Esperidião, Mato Grosso. Conforme protocolo do sistema de vigilância para síndromes nervosas em ruminantes, foi feita a colheita de material e na análise laboratorial da amostra do animal e conclui que se tratava de um caso de EEB. Posteriormente em Weybridge foi realizada a tipificação do agente, sendo considerado um caso de EEB-H. Na análise epidemiológica foi observado que o animal foi criado num sistema de produção extensiva, com aptidão para carne. Foi avaliado que nenhum produto deste animal entrou na cadeia alimentar humana e foram identificados 49 animais categorizados como “coorte”, que não apresentavam sintomatologia clínica; estes animais foram abatidos e testados, mas todos resultaram negativo para EEB (OIE, 2014).

5. DISCUSSÃO

A vigilância da EEB reúne o conjunto de ações que possibilita conhecer a distribuição e a tendência dessa doença e de seus fatores de risco para a população.

A partir de novos métodos de diagnóstico da EEB, como os testes rápidos e o Western Blotting, foi possível implementar uma vigilância ativa de EEB na União Europeia em 2001, que possibilitou a detecção de mais 5000 casos de EEB e o reconhecimento das formas atípica (Jacobs et al 2007).

O Código Sanitário para os Animais Terrestre da OIE, documento que estabelece diretrizes das normas de comércio internacional de bovinos, esta sendo rediscutida com o objetivo de se fazer uma distinção entre as formas clássica e atípica da doença.

Seuberlich e colaboradores (2010), entretanto, destacaram que até então não foi encontrado nenhum caso que possa indicar um vínculo epidemiológico entre uma cepa atípica e uma encefalopatia espongiiforme transmissível em humanos, mas que se medidas de mitigação não forem tomadas, estas formas podem representar um permanente risco para futuras epidemias. Portanto, diante dos estudos iniciais da EEB atípica, algumas diferenças entre a EEB clássica devem ser consideradas numa nova estratégia de vigilância para EEB.

Na vigilância de EEB clássica, estabeleceu-se uma pontuação para bovinos, de acordo com categorias de maior ou menor risco de detecção da doença. Bovinos com suspeita clínica

recebem a maior pontuação, seguido pelos animais caídos ou encaminhados ao abate de emergência, depois pelos animais encontrados mortos (fallen stock) e a menor pontuação é dada aos bovinos destinados ao abate de rotina (OIE, 2015). Entretanto, Konold e colaboradores (2012) abordam que os casos atípicos estão sendo mais diagnosticados em animais encontrados mortos (fallen stock), e em animais caídos que são encaminhados para o abate de emergência, sugerindo que, pela sintomatologia clínica mais apática, seria difícil detectar estes animais na categoria de bovinos com sinais clínicos, a qual possui maior pontuação da OIE num sistema de vigilância de EEB.

De fato, dos casos atípicos da União Europeia de 2001 a 2014, 59% foram detectados de animais encontrados mortos (fallen stock), 38% em abates de rotina e 4% em abates de emergência (EFSA, 2014).

A idade é outro fator levado em conta na pontuação das categorias, e a faixa etária com maior pontuação para EEB clássica é a de 4-7 anos, pela maior prevalência de animais infectados com estas idades, no entanto, excetuando-se poucos casos, a grande maioria dos casos atípicos relatados foi de animais com mais de oito anos. No estudo de Sala e colaboradores (2012), com os casos atípicos franceses, a média foi de 12 anos, variando de 8 a 18 anos.

Observa-se que houve uma nítida eficiência das medidas de mitigação de risco para EEB clássica, mas quando se sugere que as cepas atípicas possuem caráter esporádico e sem tendência geográfica, a manutenção de um sistema de vigilância se torna necessário.

Os primeiros casos detectados EEB atípica ocorreram em bovinos nascidos antes da proibição da alimentação de ruminantes com proteína animal. Isto gerava uma dúvida se realmente estas formas seriam esporádicas ou se eram originadas de uma possível contaminação alimentar.

Seuberlich e outros (2010) destacaram que até aquele momento não tinha sido detectada EEB atípica em animais nascidos depois da proibição de alimentação de ruminantes com proteína de origem animal. Porém Guldemann e colaboradores (2012) descreveram a ocorrência de um caso após a proibição de alimentação de bovinos com proteína de origem animal (feed ban), propondo que a etiologia não estava ligada à ingestão de FCO contaminada. Por isso é importante destacar que, mesmo após uma possível erradicação da EEB clássica, certo nível de vigilância para EETs tem que ser mantido, considerando que se

as formas atípicas tiverem um caráter espontâneo, a sua erradicação seria difícil (Seuberlich et al., 2010).

Ficou evidenciado, portanto, que ocorre uma progressiva diminuição dos casos de EEB clássica, ano após ano, e um surgimento dos casos atípicos, devendo haver medidas de mitigação de risco para EEB, direcionadas às formas atípicas, considerando estes fatores citados.

6. CONCLUSÃO

A epidemia de EEB no passado trouxe grandes perdas econômicas, principalmente na Europa, afetando o mercado da pecuária. O risco para humanos, que poderiam desenvolver uma doença incurável a partir do consumo de um alimento contaminado fez cair a credibilidade da população na inocuidade da carne bovina.

Como consequência de um programa de prevenção específico para EEB que incluía a proibição da alimentação de ruminantes com produtos de origem animal, remoção de material de risco específico, vigilância epidemiológica e controle de importação de animais e de subprodutos de origem animal, houve uma drástica diminuição da prevalência de EEB clássica no mundo. A implementação de novos métodos de diagnósticos para a doença, possibilitou também a identificação das duas variantes atípicas (L e H).

Características como a ocorrência esporádica e espontânea dessas variantes levaram a novos indícios da origem da EEB, além disso, alguns modelos experimentais mostraram a capacidade dessas cepas atípicas adquirirem características da cepa clássica, reforçando a ideia de que existe uma relação, ainda não totalmente elucidada, entre as formas da Encefalopatia Espongiforme Bovina.

Medidas de mitigação de risco direcionadas às formas atípicas devem ser consideradas, visto que ocorre uma mudança do padrão de ocorrência da doença. Novos casos atípicos e cada vez menos casos clássicos é uma tendência que se observa em países que tiveram o surto da doença clássica. Casos esporádicos da doença também vêm surgindo em países que nunca tinham relatado a forma clássica, como os casos ocorridos no Brasil.

A manutenção da proibição da alimentação de bovinos com subprodutos de origem animal e a remoção do material de risco específico são as principais medidas de mitigação de risco que devem ser mantidas, mesmo após uma suposta erradicação da EEB clássica, porém, com relação aos materiais de risco específico, ainda é necessário um maior embasamento científico para julgar se a atual lista é adequada para a redução da infectividade de tecidos das carcaças bovinas, infectadas com agentes da EEB atípica.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BALKEMA-BUSCHMANN, A, et al. Experimental challenge of cattle with german atypical BSE isolates. **Journal of Toxicology and Environmental Health**, v. 74, p. 103-109, 2011b.
2. BALKEMA-BUSCHMANN, A. et al. Pathogenesis of classical and atypical BSE in cattle. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 102, p. 112-117, 2011a.
3. BALKEMA-BUSCHMANN, A. et al. Atypical BSE in German – Proof of transmissibility and biochemical characterization. **Veterinary Microbiology**, v. 117, p. 103-116, 2006.
4. BARON, T. et al. Phenotypic similarity of transmissible mink encephalopathy in cattle and L-type bovine spongiform encephalopathy in a mouse model. **Emerg Infect Dis**, v. 13, p. 1887–1894, 2007.
5. BARON, T. et al. Emergence of classical BSE strain properties during serial passages of H-BSE in wild type mice. **PLoS ONE**, v. 6, p. 1-8, 2011.
6. BASLER, K. et al. Scrapie and cellular PrP isoforms are encoded by the same chromosomal gene. **Cell** v.46, p. 417–428, 1986.
7. BÉRINGUE, V. et al. Isolation from cattle of a prion strain distinct from that causing bovine spongiform encephalopathy. **PLoS Pathogens**, v.2, p. 956-963, 2006.
8. BÉRINGUE, V. et al. A Bovine Prion acquires an Epidemic Bovine Spongiform Encephalopathy Strain-Like phenotype on Interspecies Transmission. **The Journal of Neuroscience**, v. 27, p. 6965-6971, 2007.
9. BÉRINGUE, V. et al. Transmission of atypical bovine prions to mice transgenic for human prion protein. **Emerging Infectious Diseases**, v. 14, n. 12, p. 1898-1901, 2008.

10. BIACABE, A.G. et al. Distinct molecular phenotypes in bovine prion diseases. **EMBO Rep**, v. 5, n. 1, p. 110-115, 2004.
11. BIACABE, A.G. et al. Atypical Bovine Spongiform Encephalopathies, France, 2001-2007. **Emerging Infectious Diseases**, v. 14, n. 2, p. 298-300, 2008.
12. BIRD, S.M. European Union's rapid TSE testing in adult cattle and sheep: implementation and results in 2001 and 2002. **Statistical Methods in Medical Research**, v. 12, p. 261-278, 2003.
13. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Memo Circular CGI/DIPOA n° 001/2007, Diretrizes para a remoção, segregação e destinação dos materiais especificados de risco (MER) para encefalopatia espongiforme bovina (EEB), 2007.
14. BRASIL. Instrução Normativa n. 44, de 17 de Setembro de 2013. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 18 de set. 2013. Seção 1, p.1.
15. BRUCE, M.E., et al. Transmissions to mice indicate that “new variant” CJD is caused by BSE agent. **Nature**, v. 389, p. 498-501, 1997.
16. CAPOBIANCO, R. et al. Conversion of the BASE prion protein into the BSE strain: the origin of BSE? **PLoS Pathogens**, v. 3, p. 01-08, 2007.
17. CASALONE, C. et al. Identification of a second bovine amyloidotic spongiform encephalopathy: molecular similarities with sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 101, p. 3065-3070, 2004.
18. COLCHESTER, A.C.F.; COLCHESTER, N.T.H. The origin of bovine spongiform encephalopathy: the human prion disease hypothesis. **Lancet**, v. 366, p. 856-861, 2005.

19. CUTLIP, R.C. et al. Resistance of cattle to scrapie by the oral route. **Can J Vet Res**, v.65, p. 131–32, 2001.
20. COMOY, E.E. et al. Atypical BSE (BASE) transmitted from asymptomatic aging cattle to a primate. **PLoS ONE**, v. 3, p. 1-8, 2008.
21. CUTLIP, R.C. et al. Intracerebral transmission of scrapie to cattle. **J Infect Dis**, v.169, p. 814–20, 1994.
22. DONNELLY, C.A. et al. Implications of BSE infection screening data for the scale of the British BSE epidemic and current European infection levels. **Proceeding of Royal Society**, v. 269, p. 2179-2190, 2002.
23. DUDAS, S. et al. Molecular, biochemical and genetic characteristics of BSE in Canada. **PLoS ONE**, v. 5, p. 1-8, 2010.
24. EDDY, R.G. Origin of BSE. **Vet. Rec.** 137, 648, 1995.
25. EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (EFSA), 2014. Protocol for further laboratory investigations into the distribution of infectivity of Atypical BSE. **EFSA Journal** 2014; v.12, 55pp. doi:10.2903/j.efsa.2014.3798. Disponível em: www.efsa.europa.eu/efsajournal, acessado em: 13/05/2015.
26. EUROPEAN COMMUNITIES. 2001. Rules for the prevention, control and eradication of certain transmissible spongiform encephalopathies (and amendments). European Parliament and the Council of the European Union, regulation (EC) no. 999/2001. Off. J. Eur. Communities, 31 May 2001. /LexUriServ/site/en/oj/2001/l_147/l_14720010531en00010040.pdf., acessado em 13/05/2015.
27. FLYNN, D; Brazil Kept Mad Cow Secret for Two Years. **Food Safety News**, Seattle, Dez de 2012. Disponível em <http://www.foodsafetynews.com/2012/12/boys-from-brazil-kept-mad-cow-secret-for-two-years/#.VaMD-_m4SUI> . Acesso em 12/07/2015.

28. FRANCÉS, M.N; et al. Oral Transmission of L-Type Bovine Spongiform Encephalopathy in Primate Model. **Emerging Infectious Diseases**, v. 18, n. 1, p.142-145, 2012.
29. FUKUDA, S. et al. Intraspecies transmission of L-type-like bovine spongiform encephalopathy detected in Japan. **Microbiology and Immunology**, v. 53, p. 704-707, 2009.
30. GULDIMANN, C.et al. Atypical H-type Bovine Spongiform Encephalopathy in a cow born after the reinforced feed ban on meat-and-bone meal in Europe. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 50, p. 4171-4174, 2012.
31. HILL, A.F. et al. The same prion strain causes vCJD and BSE. **Nature**, v. 389, p. 448-450, 1997.
32. IWAMARU, Y. et al. Accumulation of L-type bovine prions in peripheral nerve tissues. **Emerging Infectious Diseases**, v. 16, n. 7, p. 1151-1154, 2010.
33. JACOBS, J.G. et al. Molecular discrimination of atypical bovine spongiform encephalopathy strains from a geographical region spanning a wide area in Europe. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 45, p. 1821-1827, 2007.
34. KONG, Q. et al. Evaluation of the human transmission risk of an atypical bovine spongiform encephalopathy prion strain. **Journal of Virology**, v. 82, n. 7, 3697-3701, 2008.
35. KONOLD, T. et al.: Experimental H-type and L-type bovine spongiform encephalopathy in cattle: observation of two clinical syndromes and diagnostic challenges. **Veterinary Research**, v. 8, p. 22-33, 2012.
36. LASMÉZAS, G.I. et al. Adaptation of the bovine spongiform encephalopathy agent to primates and comparison with Creutzfeldt-Jakob disease: implications

- from human health. **Proceeding of National Academy of Science of United States of America**, v. 98, p. 4142-4147, 2001.
37. LOMBARDI, G. et al. Intraspecies transmission of BSE induces clinical dullness and amyotrophic changes. **PLoS Pathogens**, v. 4, p.1-10, 2008.
38. OKADA, H. et al. Experimental H-type bovine spongiform encephalopathy characterized by plaques and glial- and stellate-type prion protein deposits. **Veterinary Research**, v.42, p. 79-89, 2011.
39. ONO, F. et al. Atypical L-type bovine spongiform encephalopathy (L-BSE) transmission to Cynomolgus Macaques, a non-human primate. **Japanese Journal of Infectious diseases**, v. 64, p. 81-84, 2011.
40. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS). **Bovine Spongiform Encephalopathy**. Disponível em: <<http://www.who.int/zoonoses/diseases/bse/en/>>. Acesso em: 29/04/2015.
41. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE ANIMAL (OIE). **BSE portal. 2015a**. Disponível em: <http://www.oie.int/animal-health-in-the-world/bse-portal/about-esb/>. Acesso em : 13/05/2015a.
42. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE ANIMAL (OIE). **BSE situation in the world and annual incidence rate. 2015b**. Disponível em: <http://www.oie.int/animal-health-in-the-world/bse-specific-data/>. Acesso em : 13/05/2015b.
43. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE ANIMAL (OIE) (2013). **Wahid interface**. Disponível em http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/reportarchive. Acesso em:15/06/2015c.
44. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE ANIMAL (OIE) (2014). **Wahid interface**.. Disponível em

http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/reportarchive.
Acesso em:15/06/2015d.

45. PAN, K M. et al. Conversion of α -Helices into β -Sheets Features in the Formation of the Scrapie Prion Proteins". **Proc Natl Acad Sci U S A**. v.90, p. 10962–10966, 1993.
46. PRIOLA SA, VORBERG I. Identification of possible animal origins of prion disease in human beings. **Lancet**; v.363, p. 2013–2014, 2004.
47. PRUSINER, S.B. Prions. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 95, p. 13363–13383, 1998.
48. RICHT, J.A. et al. Identification and characterization of two bovine spongiform encephalopathy cases diagnosed in the United States. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 19, p. 142-154, 2007.
49. SAFAR, J. et al. Conformational transitions, dissociation and unfolding of scrapie amyloid (prion) protein. **J Biol Chem**. v.265, p. 20276–20284, 1993.
50. SALA, C. et al. Individual factors associated with L- and H-type Bovine Spongiform Encephalopathy in France. **BMC Veterinary Research**, v. 8, p. 74-79, 2012.
51. SCOTT, M.R. et al. Compelling transgenic evidence for transmission of bovine spongiform encephalopathy prions to humans. **Proc Natl Acad Sci USA**; v.96, p. 15137–151342, 1999.
52. SEUBERLICH, T. et al. Spongiform Encephalopathy in a miniature zebu. **Emerging Infectious Diseases**, v. 12, n. 12, p. 1950-1953, 2006.
53. SEUBERLICH, T. et al. Atypical Transmissible Spongiform Encephalopathies in Ruminants: A challenge for Disease Surveillance and Control. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 22, p.823-842, 2010.

54. SHANKAR, S.K.; SATISHCHANDRA, P. Did BSE in UK originate from Indian subcontinent? **Lancet**, v. 366, p. 790-91, 2005.
55. SMITH, P.; BRADLEY, R. Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE) and its epidemiology. **British Medical Bulletin**, v. 66, p. 185-198, 2003.
56. SUARDI, S. et al. Infectivity in skeletal muscle of cattle with atypical bovine spongiform encephalopathy. **Plos One**, v.7, Issue 2, p.1-7, 2012.
57. TAYLOR, D.M. et al. Effect of rendering procedures on the scrapie agent. **Veterinary Record**, v. 141, p. 643-649, 1997.
58. TORRES, J.M. et al. Classical bovine spongiform encephalopathy by transmission of H-type prion in homologous prion protein context. **Emerging Infectious Diseases**, v. 17, n. 9, p. 1636-1644, 2011.
59. WELLS, G.A.H. et al. A novel progressive spongiform encephalopathy in cattle. **Veterinary Record**, v. 121, p. 419-420, 1987.
60. WELLS, G.A.H.; WILESMITH, J.W. The neuropathology and epidemiology of bovine spongiform encephalopathy. **Brain Pathology**, v. 5, p. 91-103, 1995.
61. WELLS, G.A.H. et al. Bovine spongiform encephalopathy: the effect of oral exposure dose on attack rate and incubation period in cattle. **Journal of General Virology**, v. 88, p. 1363-1373, 2007.
62. WILESMITH, J.W. et al. Bovine spongiform encephalopathy: epidemiological studies. **Veterinary Record**, v. 123, p. 638-644, 1988.
63. WILESMITH, J.W.; RYAN, J.B.M.; ATKINSON, M.J. Bovine spongiform encephalopathy: epidemiological studies of the origin. **Veterinary Record**, v. 128, p. 199-203, 1991.

64. WILL, R.G. et al. A new variant of Creutzfeldt-Jakob disease in UK. **Lancet**, v. 347, p. 921-925, 1996.