

BSE e *Scrapie* em Portugal

– Situação atual e oportunidades

A evolução epidemiológica da BSE e do *Scrapie* é apresentada, destacando-se as características e o impacto destas doenças priónicas na saúde animal e na saúde pública. A contribuição essencial do setor produtivo na vigilância e no controlo destas doenças é também abordada.

Leonor Orge, Carla Guedes Machado, João Silva
INIAV, I.P.



Renata Carvalho, Sofia Quintans, Rita Amador
DGAV



Impacto da BSE e *Scrapie* na saúde animal e saúde pública

A Encefalopatia Espongiforme Bovina, vulgarmente conhecida pela “Doença das vacas loucas” (BSE, sigla inglesa para *Bovine Spongiform Encephalopathy*) e o Tremor Epizootico (*Scrapie*, na terminologia inglesa) dos ovinos e caprinos são doenças neurodegenerativas fatais. São doenças de declaração obrigatória que pertencem ao grupo das Encefalopatias Espongiformes Transmissíveis (EETs) que também incluem a Doença de Creutzfeldt-Jakob (DCJ) nos humanos, a doença emaciante crónica dos cervídeos e, mais recentemente, a doença priónica em dromedários, identificada na Argélia (Babelhadj *et al.*, 2018).

Estas doenças têm um período de incubação longo e desenvolvem-se devido a uma alteração de uma proteína existente no organismo, tornando-a resistente à degradação, e que é conhecida como proteína priónica resistente (PrPres) ou prião.

A relação entre a BSE e a variante da doença de Creutzfeldt-Jakob (vDCJ) (Collinge *et al.*, 1996; Hill *et al.*, 1997), tornou-a num problema de Saúde Pública, tendo causado em Portugal dois casos de vDCJ (Machado *et al.*, 2008; Barbot *et al.*, 2010). Já o *scrapie*, endémico nos ovinos e caprinos em muitas partes do mundo, não tem constituído, até à data, um problema de Saúde Pública. No entanto, a morbilidade dos animais afetados provoca graves prejuízos económicos nos efetivos em que ocorre.

O conhecimento da transmissão da BSE ao homem e a constatação da transmissão experimental da BSE aos ovinos e caprinos, clinicamente indistinguível do *scrapie*, exigem um conhecimento da real prevalência do *scrapie* para o diferenciar de uma hipotética transmissão natural de BSE naquelas espécies. É assim fulcral, a vigilância destas doen-

ças nos pequenos ruminantes, continuando em desenvolvimento estudos para avaliar se existe risco para o homem (EFSA, 2015). Atualmente, tal como todos os Estados-

-Membros (EM) da União Europeia (EU), Portugal aplica um Programa de Vigilância, Controlo e Erradicação da BSE e do *scrapie*, que inclui a Vigilância Passiva (investigação

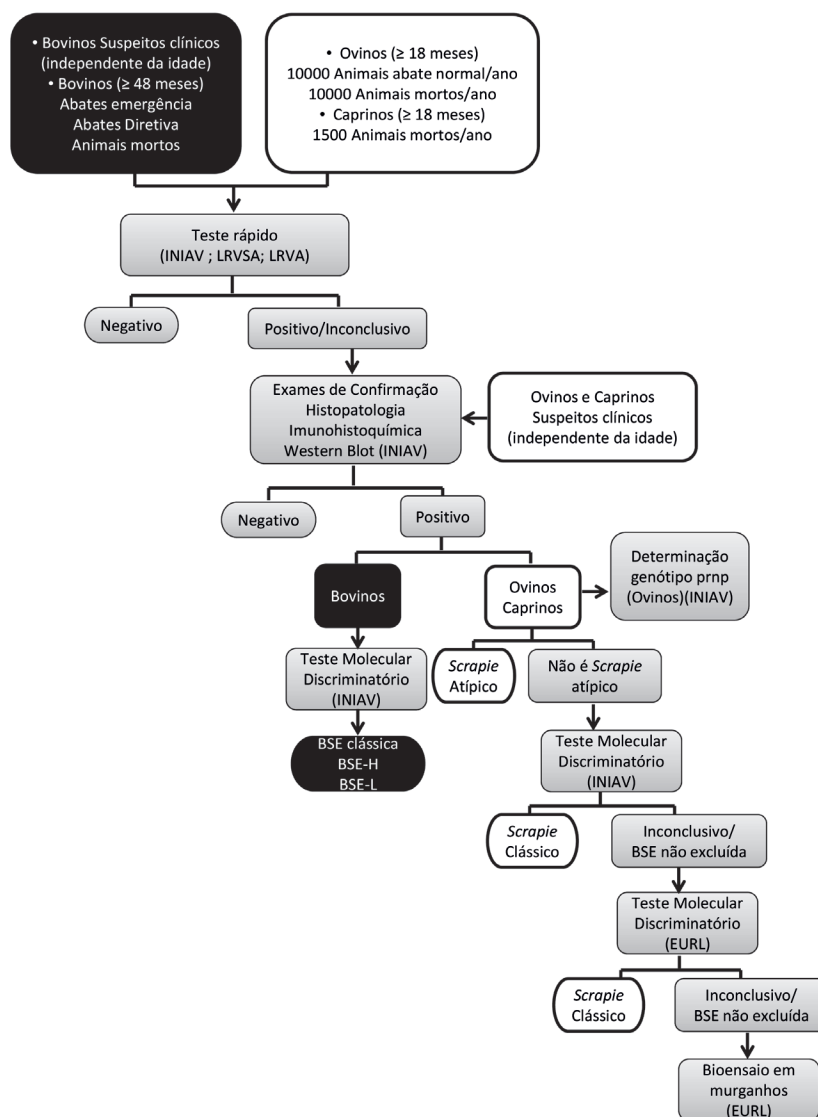


Figura 1 – Procedimento de amostragem e exames para diagnóstico de BSE e *Scrapie* (EURL – Laboratório Europeu de Referência para as EETs)

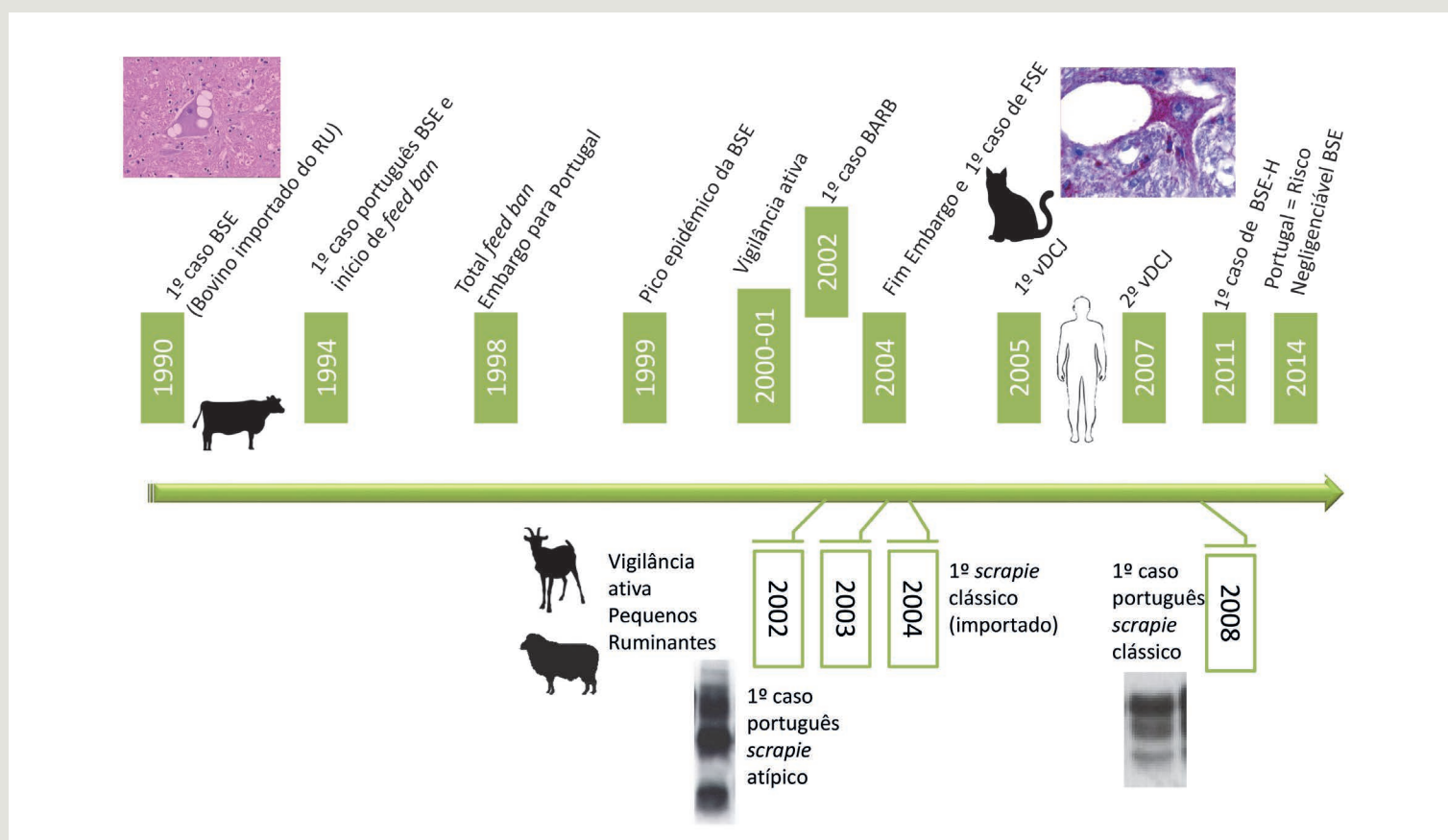


Figura 2 – Evolução das EETs (BSE, Scrapie, FSE e vDCJ) em Portugal

de animais com sinais clínicos neurológicos) e a Vigilância Ativa (colheita de amostras a grupos específicos de animais – animais abatidos de emergência, animais com sinais clínicos de outras doenças que não de EETs na inspeção *ante-mortem*, animais encontrados mortos e animais saudáveis abatidos para consumo) (Figura 1). A componente de erradicação incide nos bovinos e pequenos ruminantes identificados como coabitantes de risco. Este Programa tem sido ajustado de acordo com a evolução epidemiológica das doenças e dos conhecimentos científicos (Reg. CE n.º 999/2001 e suas posteriores alterações). Como não existe um teste laboratorial validado para o diagnóstico em vida, o diagnóstico definitivo destas doenças baseia-se em exames laboratoriais *post-mortem* de amostras do sistema nervoso central. O elevado número de amostras da vigilância ativa exigiu a implementação de uma metodologia analítica mais rápida (os designados “Testes Rápidos”) efetuada em Laboratórios de Estado – INIAV (Oeiras e Vairão), Laboratório Regional de Veterinária e Segurança Alimentar da Madeira (LRVSA-Funchal) e Laboratório Regional de Veterinária dos Açores (LRVA-Angra do Heroísmo) (DGAV, 2018a), todos acreditados de acordo com a NP EN ISO 17025 (Figura 1). Qualquer resultado suspeito tem de ser sistematicamente confirmado no INIAV.

BSE – em que ponto estamos?

Depois da identificação da BSE no Reino Unido (RU) em 1986 (Wells *et al.*, 1987), devido à ingestão pelo gado bovino de rações contendo farinha de carne e osso contaminada com prião, Portugal foi um dos EM mais afetados. O primeiro caso de BSE em Portugal surgiu em 1990, num animal importado do Reino Unido, e, durante os anos seguintes, foram diagnosticados seis novos casos clínicos em animais com a mesma origem. A partir de 1994, quase todos os casos positivos nacionais ocorreram em animais nascidos em Portugal, atribuindo-se a sua infeção ao consumo de ração com farinha de carne e osso contaminada, oriunda do Reino Unido, e/ou pela reciclagem de subprodutos provenientes de bovinos nacionais infetados. Em julho de 1994, perante o número crescente de casos de BSE, foi publicada legislação proibindo a incorporação de farinhas de carne e osso em alimentos compostos para ruminantes (*feedban*) (Portaria 702/94), assim como é decidido o sequestro e o abate de todos os efetivos pertencentes a explorações onde foram detetados casos de BSE. Em 1996, são intensificadas as medidas de combate à BSE, sendo definido um programa de vigilância e erradicação em Portugal, aprovado pela União Europeia. A partir de 1997, foi proibida a utilização de farinha de mamíferos para todas as espécies animais

(revisto por Orge, 2005) (Figura 2). De 1998 a 2004, Portugal foi alvo da imposição de um embargo à exportação de produtos de origem bovina e de bovinos vivos. Entre 1990 e 2017, foram confirmados 1089 casos (651 correspondem a animais suspeitos clínicos e 438 resultam de animais incluídos na vigilância ativa), com o pico epidémico em 1999, não se tendo registado mais casos depois de 2014.

A distribuição geográfica dos casos de BSE notificados apresenta algum paralelismo com a concentração dos bovinos leiteiros em Portugal, e apenas o Algarve e a região autónoma da Madeira nunca registaram qualquer caso de BSE. A incidência da doença no país diminuiu ao longo dos últimos anos, como resultado das medidas tomadas pelas autoridades portuguesas, pelo que, em 2004, Portugal foi considerado um país de risco moderado, à semelhança de outros EM, com o consequente levantamento do embargo. Em 2008, Portugal foi reconhecido, pela Organização Mundial de Saúde Animal (OIE), como “País de risco controlado de BSE” e, finalmente, em 2014, obteve o estatuto de segurança mais elevado para esta doença – “País de risco negligenciável de BSE” (DGAV, 2018a).

Em Portugal, para além dos dois casos de vDCJ, foi ainda diagnosticado mais uma EET relacionada com a BSE: um caso de en-

cefalopatia espongiiforme felina (Silva *et al.*, 2006) (Figura 2).

Os casos de BSE, relacionados com a ingestão de rações com farinhas de carne e osso contaminadas, apresentam características neuropatológicas e bioquímicas uniformes (Orge *et al.*, 2000), designando-se esta forma de BSE clássica (BSE-C). Todavia, em 2004, surgem em bovinos com idade superior a 8 anos duas formas diferentes de BSE, que foram designadas de BSE atípica – BSE-H (BSE *high*) (Biacabe *et al.*, 2003) e BSE-L (BSE *low*) (Casalone *et al.*, 2004) e que apresentam perfis lesional e bioquímico do prião diferentes das da BSE-C. Estes resultados sugerem a ocorrência de modificações fenotípicas após infecção pelo agente da BSE ou a existência de outras origens para as doenças priónicas nos bovinos (forma espontânea ou infecção com outro agente, por ex. o do *scrapie*). Em Portugal, até à data, apenas sete casos de BSE-H foram identificados (EFSA, 2017a). No quadro 1, estão resumidos os sinais clínicos que poderão ser observados em bovinos, bem como o diagnóstico diferencial.

Não são conhecidas as causas do aparecimento de casos de BSE-C após a interdição total de farinhas de carne e osso nos alimentos compostos para animais em 2001 na UE – os BARBs (*Born After Reinforced/Real Ban*) (um total de 60 em vários EM, dois dos quais em Portugal) (EFSA, 2017a). A exposição a farinhas de carne e osso contaminadas continua a não poder ser excluída (EFSA, 2017b). A consequência imediata da ocorrência destes BARBs será o prolongamento da epidemia da BSE-C.

Estes factos sustentam a prossecução efetiva do Plano de Vigilância e Controlo para acompanhar a evolução da doença, manter uma vigilância ativa e, assim, obter mais informação para a investigação necessária.

Scrapie clássico versus Scrapie atípico

A ocorrência do *scrapie* clássico está associada a vários fatores individuais (genótipo da proteína priónica, idade, raça) e de rebanho (maneio, criação de borregos, transumância). O genótipo é expresso através dos ácidos aminados existentes nas posições 136, 154 e 171 da proteína priónica. Se o ovino recebe a mesma informação dos seus progenitores, diz-se que é homozigótico (ex. ARR/ARR), mas se é diferente diz-se heterozigótico (ex. ARR/ARQ) (Quadro 2). O genótipo também influencia a suscetibilidade dos caprinos ao *scrapie*, mas não está tão bem esclarecido e estabelecido como nos ovinos. A doença parece ser transmitida da ovelha para o borrego, antes e/ou após o parto.

QUADRO 1 – PRINCIPAIS SINAIS CLÍNICOS RELEVANTES NA BSE E O DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL A CONSIDERAR

BSE clássica	BSE-L	BSE-H	Diagnóstico diferencial
Alterações de comportamento: excitação, hiperestesia ao ruído e ao toque, depressão, apatia, nervosismo, atitudes repetitivas, medo, agressividade Alterações motoras: alterações de posicionamento da cabeça, tremores, quedas, decúbito, paralisias Sinais inespecíficos: diminuição do apetite, da produção de leite, perda de peso	Apatia Dificuldade em levantar-se	Nervosismo Agressividade	Listeriose Cetose Hipomagnesiemia Raiva Doença de Aujeszky Meningoencefalite (Herpesvírus bovino) Intoxicação (Chumbo, sal/privação de água) Encefalopatia hepática Tumores Sistema nervoso central Polioencefalomalácia

Existe também transmissão horizontal, provavelmente através de placentas infetadas que contaminam as pastagens e as instalações, em virtude da elevada resistência do prião (revisto por Orge, 2005). É, por isso, uma doença difícil de erradicar, sendo muito importante a rápida identificação e notificação de sinais clínicos (Vigilância passiva) para diagnóstico e, em caso positivo, implementação das medidas de controlo.

Até 2002 não tinha sido identificado qualquer caso de *scrapie* em Portugal, mas em 2003, no contexto da aplicação do plano de vigilância ativa, foram detetados os primeiros casos de *scrapie* em ovinos (Figuras 1 e 2) (Orge *et al.*, 2004). Estes casos não apresentavam o perfil de *scrapie* clássico, mas sim um perfil diferente, que tinha sido identificado pela primeira vez na Noruega, em 1998, designado de *scrapie* atípico NOR98 (Benestad *et al.*, 2003). Os primeiros casos de *scrapie* clássico foram detetados em Por-

tugal em 2008 (Figura 2) (Orge *et al.*, 2010). Até dezembro de 2017, confirmaram-se 660 casos de *scrapie* atípico, distribuídos por todo o continente e Açores e 32 de *scrapie* clássico, identificados em focos no Centro do país (Figura 3).

No quadro 2, comparam-se as características das duas formas da doença. Relativamente à transmissão do *scrapie* atípico, ainda não é conhecida, mas é possível que seja uma doença espontânea ou fracamente transmitida entre animais.

A confirmação de um caso de *scrapie* clássico num efetivo pode conduzir ao abate sanitário total do efetivo ou pelo abate parcial com eliminação apenas dos animais geneticamente suscetíveis, mantendo os animais geneticamente resistentes à doença. Esta decisão é determinada pelos Serviços Oficiais da DGAV com base na avaliação epidemiológica do caso. Se for confirmado um caso de *scrapie* atípico, o efetivo ficará sob vigi-

QUADRO 2 – PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS DO SCRAPIE CLÁSSICO E DO SCRAPIE ATÍPICO

	Scrapie Clássico	Scrapie Atípico (NOR98)
Ocorrência	Pequenos ruminantes entre 2 e 5 anos de idade Vários animais afetados no rebanho Associado a movimentação animal	Pequenos ruminantes com idade superior a 5 anos (média 6,5 anos) Um ou dois animais afetados por rebanho Movimentação animal não é considerado factor de risco
Suscetibilidade genética (ovinos)	5 tipos de genótipos: 1 – ARR/ARR – mais resistentes 2 – ARR/AHQ, ARR/ARH, ARR/ARQ – resistentes 3 – AHQ/AHQ, AHQ/ARH, AHQ/ARQ, ARH/ARH, ARH/ARQ, ARQ/ARQ – pouco suscetíveis 4 – ARR/VRQ – suscetíveis 5 – AHQ/VRQ, ARH, VRQ, ARQ/VRQ, VRQ/VRQ – muito suscetíveis	Vários genótipos, incluindo genótipos raramente associados com <i>scrapie</i> clássico AHQ/XXX, AFRQ/XXX – mais suscetíveis
Sinais Clínicos	Alterações de comportamento: isolamento, nervosismo; apatia; olhar fixo Alterações motoras: alterações da marcha com incoordenação e movimentos exagerados, da postura, tremores, dificuldade em levantar-se e decúbito permanente Prurido Resposta ao toque e à fricção ao longo da coluna vertebral com movimentos da cabeça, lábios e língua Sinais inespecíficos: perda da qualidade do pelo; perda de condição corporal	Alterações de comportamento: isolamento, nervosismo; apatia; olhar fixo Alterações motoras: alterações da marcha com incoordenação, tremores Sinais inespecíficos: perda de condição corporal
Diagnóstico diferencial	Listeriose, <i>Maedi-Visna</i> , <i>Cenurose</i> , <i>Oestrus ovis</i> , Polioencefalomalácia, hipomagnesiemia, toxemia da gestação, má nutrição, parasitismo, sarna	

A – alanina; R – arginina; H – histidina; G – glutamina; V – valina; F – fenilalanina (codão 141)

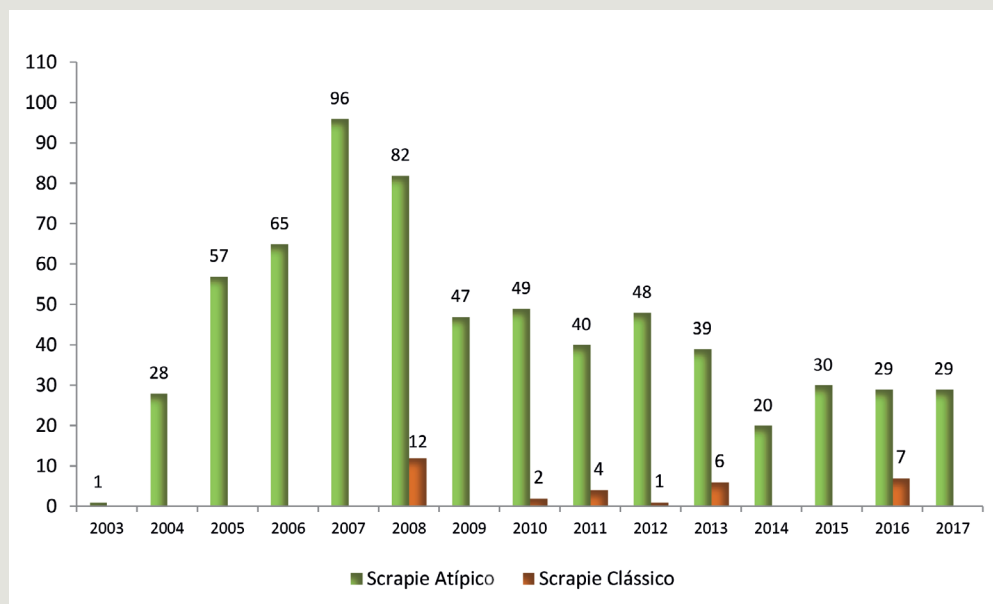


Figura 3 – Evolução do número de focos de *Scrapie* identificados em Portugal

lância intensiva durante dois anos – todos os animais encontrados mortos na exploração ou abatidos para consumo, com mais de 18 meses de idade, terão de ser testados para despiste de *scrapie*; também é proibido exportar animais destes efetivos mesmo para abate noutro país (DGAV, 2018b).

Oportunidades

As medidas implementadas no controlo da BSE e o reconhecimento internacional obtido consagram Portugal como um país que oferece garantias acrescidas relativamente à segurança sanitária do consumo de carne produzida no Território Nacional (DGAV, 2018a). Este estatuto abriu as portas à internacionalização da comercialização de bovinos e seus produtos. Só uma vigilância ativa reforçada com uma vigilância passiva responsável poderá manter este estatuto, evitando retrocessos conducentes a elevadas despesas no controlo desta zoonose.

As políticas internacionais valorizam economicamente os efetivos livres de *scrapie* clássico. Assim, o Regulamento Comunitário n.º 630/2013, que alterou o Regulamento n.º 999/2001, determina que apenas será possível a saída de animais vivos com destino a reprodução, para trocas intracomunitárias e exportação, a partir de explorações classificadas de acordo com o seu estatuto de risco relativamente ao *scrapie* clássico. Foi definido um regime de classificação das explorações de pequenos ruminantes relativamente ao *scrapie* clássico em risco negligenciável, risco controlado, risco indeterminado, exploração em sequestro ou exploração em vigilância. Todos os requisitos e procedimentos estão indicados no “Manual de Classificação Sanitária de

Explorações para o Tremor Epizootico/ *Scrapie*” elaborado pela DGAV. Atualmente, existem 13 explorações classificadas como Risco Controlado relativamente ao *scrapie* clássico na base de dados PISA.net (DGAV, 2018b).

A identificação animal com registos rastreáveis de entrada e de saída de ovinos e caprinos na exploração, a testagem para o *scrapie* clássico em animais com idade superior a 18 meses, assim como preferência para ovinos resistentes ARR/ARR são condições fundamentais para alinhar nesta certificação. A atribuição da classificação é da responsabilidade das Direções de Serviços de Alimentação e Veterinária Regionais e resulta da avaliação do cumprimento dos requisitos constantes no Manual.

Em relação aos caprinos, como o gene da proteína priónica apresenta uma enorme variabilidade entre raças, não é possível extrapolar os dados referentes às populações autóctones de um país para outras áreas geográficas. O estudo da diversidade deste gene nas raças caprinas autóctones portuguesas, bem como na população caprina em geral, é pertinente para definir o risco de *scrapie* nesta espécie.

A classificação das explorações relativamente ao *scrapie* clássico poderá ser uma mais-valia na promoção da comercialização das raças portuguesas. A classificação de áreas do território nacional e mesmo a classificação do território nacional na sua totalidade poderá ser equacionada no futuro.

Agradecimentos

Aos Investigadores aposentados Alexandre Galo e M. Azevedo Ramos (LNIV, atual INIAV) por terem encetado o estudo e o diagnóstico destas doenças em Portugal e a todos

os colegas que integraram o Gabinete da BSE da DGAV, nomeadamente às Dras. M. José Marques Pinto, Luísa Ramalho, Ana Oliveira, Vanessa Luz, Cirila Almeida, por todo o empenho no controlo destas doenças. Ainda a todos os colegas envolvidos nos Planos de Vigilância, Controlo e Erradicação da BSE e do *scrapie*, e que, anonimamente, recolheram, com o maior rigor, os troncos cerebrais nos matadouros e nas Unidades de Tratamento de Subprodutos, contribuindo em muito para a identificação e conhecimento destas doenças no nosso país, fundamentais no cumprimento rigoroso destes Planos.

As silhuetas incluídas na figura 2 foram projetadas por Freepik.

Bibliografia

- Babelhadj *et al.*, (2018) *Emerging Infectious Diseases* **24** (6):1028–1035 DOI: <https://doi.org/10.3201/eid2406.172007>.
- Barbot *et al.*, (2010) *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **81**:112–115. doi:10.1136/jnnp.2009.164293.
- Benestad *et al.*, (2003) *The Veterinary Record*, **153**: 202–208.
- Biacabe *et al.*, (2003) *EMBO reports*, **5**:110–115.
- Casalone *et al.*, (2004) *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **101**(9): 3065–3070.
- Collinge *et al.*, (1996) *Nature* **383**:685–690.
- DGAV, (2018a) EEB/BSE em Portugal <https://www.dgv.min-agricultura.pt/portal/page/portal/DGV/generico?s?generico=222604&cboui=222604>. Acedido a 20 de maio de 2018.
- DGAV, (2018b) Tremor epizootico (*Scrapie*) <https://www.dgv.min-agricultura.pt/portal/page/portal/DGV/genericos?actualmenu=242561&generico=222838&cboui=222838>. Acedido a 20 de maio de 2018.
- EFSA, (2015) *EFSA Journal* **13**(8):4197. doi:10.2903/j.efsa.2015.4197.
- EFSA, (2017a) *EFSA Journal* **15**(11):5069. doi: 10.2903/j.efsa.2017.5069.
- EFSA, (2017b) *EFSA Journal* **15**(7):4885 doi: 10.2903/j.efsa.2017.4885.
- Hill *et al.*, (1997) *Nature* **389**(6650):448–450.
- Machado *et al.*, (2008) *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **79**:180–182. doi:10.1136/jnnp.2007.128389.
- Orge, (2005) Caracterização da estirpe de BSE em Portugal e Estudo da susceptibilidade genética dos ovinos ao *scrapie* (Tese de doutoramento não publicada). UTAD, Portugal.
- Orge *et al.*, (2000) *Veterinary Record* **147**:486–488.
- Orge *et al.*, (2004) *Journal of General Virology* **85**: 3487–3491 DOI 10.1099/vir.0.80246-0.
- Orge *et al.*, (2010) *Journal of General Virology* **91**: 1646–1650 DOI 10.1099/vir.0.018879-0.
- Portaria 702/94 de 28 de julho <https://dre.pt/applicacao/conteudo/231750>. Acedido a 20 de maio de 2018.
- Reg. CE n.º 999/2001 e todas as suas posteriores alterações.
- Silva *et al.*, (2006) PRION 2006 Abstract Book, Poster Session-Diagnosis [DIA45]:392, 2006.
- Wells *et al.*, (1987) *The Veterinary Record*, **121**:419–420.