



# Nova tecnologia no combate ao "mal da vaca louca"

Metodologia detecta proteínas na ração e evita a contaminação de animais

Entrevista concedida a  
Maria Fernanda Diniz

O mal da vaca louca, conhecido cientificamente como BSE (sigla em inglês para encefalopatia espongiforme bovina), afeta o cérebro do animal, provocando descontrole motor. As células morrem e o cérebro fica com a aparência de uma esponja.

A vaca passa a agir como se estivesse enlouquecida, o que explica o fato de ser conhecida popularmente como mal da vaca louca. Não há tratamento conhecido para essa doença, que já foi detectada em cerca de 20 países da Europa, atingindo mais de 180 mil cabeças de gado. Ao contrário da maior parte das enfermidades, o mal da vaca louca não é transmitido por fungos, vírus ou bactérias, e sim por proteínas específicas denominadas *prions*.

Essa doença nunca foi detectada no Brasil e a sua entrada, certamente, resultaria em um desastre para o país, que tem na pecuária um de seus principais alicerces econômicos, representando ganhos de mais de R\$ 55 bilhões por ano. Sem falar que o rebanho brasileiro é hoje maior do que a soma dos rebanhos da Argentina, Paraguai e Uruguai. Diante da necessidade urgente de conter a sua disseminação, a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), por meio de uma de suas 40 unidades de pesquisa, a Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, localizada em Brasília, DF, desenvolveu um método para detecção de proteínas de origem animal em rações destinadas a mamíferos, especialmente ruminantes, que tem como objetivo monitorar a qualidade do alimento e evitar a transmissão de doenças causadas por substâncias infecciosas, tais como *prions* transmissores de encefalopatias espongiformes transmissíveis (TSE), principalmente o mal da vaca louca.

O método, desenvolvido pela equipe do pesquisador Carlos Bloch Jr há cerca de três anos, cuja patente foi depositada pela Embrapa em 2002, utiliza aparelhos de última geração denominados espectrômetros de massa, para a detecção das proteínas. Para se ter uma idéia do grau de modernidade e de eficiência desses aparelhos, eles possuem tecnologia comparável à que está sendo usada pelos robôs *Spirit* e *Opportunity* nas pesquisas que estão sendo feitas pela NASA no Planeta Marte, para a detecção de outros tipos de moléculas. De acordo com o pesquisador, esses aparelhos são hipersensíveis, com um limite de detecção altíssimo, de uma parte por milhão, ou seja, se fizermos uma comparação com uma balança na qual fossem colocadas um milhão de pessoas, o espectrômetro de massa seria capaz de detectar a ausência de apenas uma delas.



Para falar sobre essa metodologia e a sua importância para a pesquisa agropecuária brasileira, a revista **Biociência, Ciência & Desenvolvimento** entrevistou o pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Carlos Bloch Jr. Durante a entrevista, ele falou sobre o método desenvolvido por sua equipe e das vantagens que representa sobre os outros métodos utilizados até o momento, além dos rumos dessas pesquisas para o futuro.

**BC&D – Em que consiste o método utilizado pela Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia e há quanto tempo foi desenvolvido?**

**Bloch** – O método começou a ser desenvolvido pela nossa equipe há cerca de três anos, foi aperfeiçoado ao longo de 2001 e em 2002 foi depositada a patente. O objetivo desse método é avaliar a qualidade das rações destinadas a ruminantes e, assim, evitar a transmissão de TSE's (encefalopatias espongiformes transmissíveis), especialmente a encefalopatia espongiforme bovina (BSE), pela detecção de proteínas de origem animal, em particular daquelas provenientes de restos de carcaças de animais abatidos que pudessem ser misturados à ração. O desenvolvimento dessa metodologia compreende três etapas: a primeira e mais trabalhosa é a extração do material protéico para separá-lo, principalmente de lipídeos e dos carboidratos. Em seguida, cada amostra pode ser analisada em dois tipos de espectrômetros de massa simultaneamente, o primeiro analisa em poucos minutos a presença de moléculas de proteína animal, como a mioglobina, cadeias alfa e beta da hemoglobina e proteínas plasmáticas, para dizer se existe ou não algum indício de contaminação. O segundo analisa e quantifica os seus fragmentos (peptídeos) derivados de moléculas inteiras de contaminantes, que podem se formar a partir do ataque de microrganismos e/ou da ação mecânica

durante o processo de fabricação. A terceira etapa é a interpretação dos dados para determinar os níveis de contaminação e a sua origem, ou seja, se as moléculas contaminantes encontradas eram provenientes de bovinos, suínos, eqüinos, ovinos, aves, peixes, etc.

**“O grande avanço propiciado por essa metodologia é o fato de poder detectar as proteínas inteiras ou fragmentos delas com uma precisão de uma parte por milhão (PPM).”**

**BC&D – Qual é a vantagem da espectrometria de massa sobre os outros métodos utilizados para o controle dessas doenças?**

**Bloch** – A espectrometria de massa é um método muito mais sensível, rápido e seguro para se diagnosticar a presença desse tipo de molécula. Não é à toa que você encontra espectrômetros de massa espalhados por locais e em atividades que até bem pouco tempo atrás não se poderia imaginar. Só para citar alguns exemplos, encontram-se hoje espectrômetros de massa nos aeroportos, nos correios, nos esportes, nos tanques e aviões de guerra, sem falar nas missões espaciais. São esses equipamentos que produzem, com mais rapidez e eficiência, respostas sobre a presença ou não de explosivos, material de guerra química ou biológica. Atualmente, são utilizados três métodos para monitorar a qualidade dos alimentos dos ruminantes: o primeiro é o de microscopia ótica, que se baseia na procura de fragmentos de pele, ossos etc. na ração; o segundo é o método ELISA, que utiliza anticorpos para detectar as proteínas alvo; e o terceiro e mais novo é o método PCR, que detecta o DNA das proteínas por meio de um *primer* (um tipo de gene marcador). Todos esses métodos apresentam li-

mitações da mesma natureza, ou seja, não detectam diretamente a presença de proteína. O primeiro, e mais utilizado ainda hoje na União Européia é também o mais falho de todos, já que a microscopia ótica não permite a detecção de proteínas. O método ELISA tem como fator limitante o fato de utilizar anticorpos específicos para determinadas classes de proteínas, o que impede a identificação de outros grupos; e o terceiro, o de PCR, esbarra no problema do DNA ser fragmentado depois do processo de industrialização, tornando difícil a sua amplificação para a análise. Logo, a espectrometria de massa aparece como o método mais preciso para a detecção direta e não indireta de proteínas. O grande avanço propiciado por essa metodologia é o fato de poder detectar as proteínas inteiras ou fragmentos delas com uma precisão de uma parte por milhão (PPM). O que isso significa? Se fizermos uma analogia com uma balança na qual são colocadas um milhão de pessoas, o espectrômetro é capaz de detectar a ausência de apenas uma delas. E os níveis de detecção estão sendo melhorados cada vez mais. Os últimos espectrômetros lançados já têm poder de menos de uma parte por milhão, ou seja, menos de uma pessoa, se continuarmos a seguir aquela analogia, e tudo isso com muita rapidez e eficiência automatizáveis. A parte mais demorada desse processo é a primeira etapa, na qual é feita a extração do material a ser analisado. Essa etapa pode demorar de 36 a 72 horas, mas é comum a todos os outros métodos. Em suma, ao que tudo indica, essa metodologia é o que existe hoje de mais moderno e seguro para monitorar a qualidade dos alimentos oferecidos aos ruminantes e, logo, controlar a disseminação das encefalopatias espongiformes transmissíveis, ou TSE's, como são conhecidas.

**BC&D – As TSE's, entre as quais a mais nociva é a BSE (encefalopatia espongiforme bovina), ou mal da vaca louca, re-**

**presentam uma ameaça não apenas para os animais como também para os seres humanos. Como se dá a contaminação e qual o tratamento existente hoje para essas doenças?**

**Bloch** – As encefalopatias espongiformes transmissíveis, ou TSE's, são doenças progressivas e letais que afetam o sistema nervoso central e se caracterizam por alterações anatômicas localizadas no cérebro. Essas alterações são um tipo de lesão histológica, constituídas de vacúolos e depósitos protéicos. As TSE's podem resultar de infecções espontâneas, transmissão hereditária ou exposição a materiais contaminados. As TSE's incluem: a BSE, conhecida popularmente como “mal da vaca louca”; a *scrapie*, ou paraplexia enzoótica dos ovinos, que afeta ovinos e caprinos em muitos países há mais de 200 anos; e a doença de Creutzfeldt-Jakob (CJD) que afeta seres humanos, principalmente com mais de 50 anos de idade. Essa doença tem distribuição mundial, com incidência anual de aproximadamente um caso por milhão e ocorre de três formas: esporádica (responsável por 85 a 90% dos casos), familiar (associada a mutações genéticas, representa 5 a 10% dos casos) e iatrogênica, ou seja, por contaminação, (responsável por menos de 5% dos casos). Logo, em humanos, a chance de desenvolver a doença por contaminação é de menos de 5%. Nos outros 95% dos casos, a doença se desenvolve naturalmente. Em ovinos e bovinos, os principais sintomas são agressividade e falta de coordenação motora. Em humanos, os principais sintomas são: mioclonia – contração muscular brusca e breve – e demência. Não existe tratamento conhecido para a BSE, portanto, a única forma de combatê-la é evitando a contaminação. Cerca de 125 casos foram registrados no mundo em humanos, segundo os Centros de Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos, e na Europa, aproximadamente 100 pessoas morreram em função dessa doença. Mas, para os ani-

mais, a situação é bem mais séria, visto que já foi detectada em mais de 20 países da Europa, atingindo mais de 180 mil cabeças de gado.

**BC&D – Então a BSE tem se disseminado de forma rápida, especialmente na Europa. Como se dá a contaminação?**

**Bloch** – A natureza do agente infeccioso da BSE, assim como das outras TSE's, é ainda motivo de controvérsia. Acredita-se que as partículas infecciosas responsáveis pela BSE são predominantemente proteínas específicas denominadas *prions*, que são compostas, em quase a sua totalidade, de uma glicoproteína de conformação anormal, que se prende à superfície externa das células. Em outras palavras, a teoria mais aceita hoje afirma que o agente infeccioso, *prion*, é derivado de uma proteína da membrana celular, que sofre uma mutação e forma um tipo insolúvel e patogênico de *prion*. Ainda hoje não está totalmente esclarecido o mecanismo pelo qual essa proteína anormal produz as alterações patológicas no cérebro dos animais ou indivíduos afetados.

**BC&D – Desde que foi diagnosticada pela primeira vez no mundo, como se deu a evolução da BSE ao longo dos anos?**

**Bloch** – Os primeiros casos de BSE foram diagnosticados no Reino Unido, em 1986. No final de 1987, o Departamento de Epidemiologia do Laboratório Veterinário Central daquele país concluiu que a disseminação da doença entre os bovinos ocorria mediante o consumo de farinha de carne e ossos, obtida a partir de carcaças de animais contaminados e incorporada à ração oferecida aos bovinos. Essa teoria foi plenamente confirmada, já que a proibição do uso daquele produto na alimentação de ruminantes teve efeito claro, resultando em redução significativa no aparecimento de

novos casos de BSE. Foram levantadas outras possibilidades de contaminação, como por exemplo, a transmissão vertical da vaca para o bezerro. Mas, o que se sabe de fato é que a epidemia do “mal da vaca louca” não teria acontecido se não houvesse disseminação por meio da farinha de carne e ossos. Diante disso, pode-se dizer que se um bovino contaminado for introduzido num país ou região onde não existe BSE, como é o caso do Brasil, só poderá ocorrer uma epidemia se a carcaça desse animal for utilizada para produzir farinha destinada à alimentação de ruminantes porque isso gera um sistema de disseminação e amplificação do agente infeccioso na população animal. Após o início da epidemia no Reino Unido, surgiu a teoria de que os primeiros casos de BSE teriam resultado da utilização de carcaças de ovinos contaminados com *scrapie* na alimentação de bovinos e que uma mudança no processo industrial de produção de farinha de carne e ossos teria diminuído a probabilidade de inativação do agente infeccioso. Entretanto, foram surgindo evidências de que a BSE e a *scrapie* são doenças diferentes, embora pertencentes ao mesmo grupo. Uma das evidências foi obtida a partir da inoculação experimental de *scrapie* em bovinos, que resultou em uma doença diferente da BSE. Além disso, a BSE mantém as suas características durante toda a epidemia, mesmo quando é transmitida a outra espécie animal, ao contrário da *scrapie*. Sem falar que essa doença não pode contaminar seres humanos, como é o caso da BSE. Na verdade, o ponto em comum entre as TSE's é a elevada resistência a tratamentos físico-químicos de esterilização.

**BC&D – Mas há indícios de que a doença possa ter surgido antes de 1986, não é verdade?**

**Bloch** – Alguns relatórios técnicos mais recentes indicam que os

casos de BSE diagnosticados a partir de 1986 não teriam sido os primeiros casos da doença que, provavelmente, já existia no Reino Unido anteriormente. Alguns veterinários britânicos alegam ter visto casos semelhantes antes de 1986 que, na época, foram diagnosticados como doenças metabólicas comuns em vacas de alta produção. Mas não há comprovação científica sobre essas evidências.


**BC&D – Então a causa mais provável para a transmissão da BSE em bovinos está mesmo na mudança no processo de fabricação de farinha de carne e ossos, que tornou possível a reciclagem do agente infeccioso?**

**Bloch** – Essa, sem dúvida, é a causa mais provável para a transmissão dessa doença, o que tem representado um prejuízo para os produtores em escala mundial, já que as rações à base de farinha de osso, sangue e carne vinham sendo largamente recomendadas e usadas na alimentação de animais, como uma fonte de proteína, devido à presença de aminoácidos essenciais, minerais e vitamina B12. Além disso, essa forma de aproveitamento é uma maneira eficaz de reciclar os subprodutos proveniente do abate, evitando custos econômicos e ambientais adicionais. No entanto, como os materiais à base de osso e carnes de animais mamíferos presentes em dietas para ruminantes foram considerados a provável causa da BSE em bovinos, o seu uso foi proibido na Comunidade Européia, nos EUA e também no Brasil. Diante das vantagens desse tipo de alimentação para os bovinos, várias têm sido as tentativas de cessar a transmissão das TSE's, em particular da BSE. Alguns trabalhos têm sido direcionados para a inativação das partículas infecciosas, favorecendo, assim, o aproveitamento dos resíduos do abate. Outros têm visado eliminar a possibilidade da transmissão pela detecção de proteínas animais nas rações e a sua rejeição no caso de

teste positivo. Ambas as formas fazem uso de procedimentos analíticos para garantir a ausência de agentes causadores das TSE's na alimentação animal. Dentre esses procedimentos, estão os que eu já descrevi na questão anterior, ou seja, a microscopia ótica, o método ELISA e as análises de DNA por PCR. A complexidade e especificidade das biomoléculas têm dificultado em muito a aplicação das técnicas freqüentemente utilizadas para a identificação e caracterização de compostos inorgânicos e orgânicos nas rações. Esse fato vem motivando o desenvolvimento de técnicas analíticas cada vez mais sofisticadas e eficientes, com ênfase na precisão requerida pela moderna biotecnologia. Dessa forma, chegamos hoje aos espectrômetros de massa que, como eu também já mencionei antes, são o que há de mais moderno e preciso para a detecção de proteínas nas rações de ruminantes.

**BC&D – E quais são os passos daqui pra frente, já existe alguma parceria para repasse dessa tecnologia à iniciativa privada? Existe alguma demanda do governo brasileiro para que essa tecnologia se torne obrigatória, de modo a evitar a entrada do “mal da vaca louca” no Brasil?**

**Bloch** – Creio firmemente que antes de nos preocuparmos com qualquer tipo de avanço tecnológico e sua comercialização, como é o caso desse método, devemos vê-lo como uma ferramenta de trabalho. Ela só poderá servir ao seu propósito e alcançar sua plenitude de uso se houver a visão clara do objetivo final que queremos atingir. Ou seja, se o nosso objetivo final for o lucro imediato, puro e simples para satisfazer acionistas, balanças de pagamentos e manutenção dos mesmos paradigmas de produção vigentes há décadas, essa tecnologia terá um impacto modesto e servirá somente nos momentos de crise, como o que estamos vivendo hoje, caso contrário cairá no esquecimento, como de

fato ela se encontrava, até o surgimento da BSE nos Estados Unidos. Contudo, se tomarmos a decisão de priorizar a vida, a qualidade e a sanidade dos alimentos que chegam às mesas dessa geração e das próximas, essa tecnologia com certeza será de grande utilidade, não somente no processo de identificação de contaminantes intencionais ou acidentais, mas poderá didaticamente demonstrar internamente e para o exterior que esse país possui tecnologia de alto nível para responder a problemas mundiais imediatos, bem como para oferecer alternativas mais inteligentes e com visão de perspectiva para um setor tão importante como o do agronegócio. No que diz respeito aos aspectos legais dessa tecnologia, ela já está patenteada e pronta para ser licenciada à iniciativa privada. Estamos aguardando propostas de empresas interessadas em utilizá-la. Quanto ao governo brasileiro, a Embrapa e o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) estão em entendimento para discutir a melhor forma de implementá-la e, assim, dar um grande passo para reduzir ainda mais a possibilidade da presença de proteínas animais nas rações. Provavelmente, será por meio de uma portaria que obrigue as empresas a testarem seus produtos. A nossa equipe da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia tem plenas condições de atender a essas demandas. Serão necessárias apenas algumas adaptações nos laboratórios de espectrometria de massa, de forma a torná-los mais aptos a prestar serviços – visto que hoje são laboratórios de pesquisa – além da contratação de pessoal especializado. Nós já atendemos a uma demanda do MAPA para análise de 800 amostras e, dessas, grande parte continha proteínas animais. No final do mês de fevereiro, teremos uma nova reunião com a equipe do Ministério para fechar essa questão. 

*O e-mail do Professor Carlos Bloch Júnior é: [cbloch@cenargen.embrapa.br](mailto:cbloch@cenargen.embrapa.br)*