

BSE jako zoonoza

MIROSLAW P. POLAK, JAN F. ŻMUDZIŃSKI

Zakład Wirusologii Państwowego Instytutu Weterynaryjnego, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Polak M. P., Żmudziński J. F.

BSE as zoonosis

Summary

This paper reviews current research on links between the appearance of BSE in cattle and variants of Creutzfeldt-Jakob disease in humans. The paper presents scientific evidence which shows that agents causing vCJD and CJD are different while vCJD and BSE agents are identical. The possible risk for humans caused by animal food consumption is presented.

Keywords: BSE, zoonosis, vCJD, CJD.

W marcu 1996 r. Minister Zdrowia Wielkiej Brytanii poinformował Parlament Brytyjski o wystąpieniu nowej postaci choroby Creutzfeldta-Jakoba (CJD), którą określono jako nowy wariant choroby Creutzfeldta-Jakoba (nvCJD) (28). Obecnie to samo schorzenie określane jest coraz częściej jako „wariant CJD” – vCJD. Dotychczas znano postać sporadyczną CJD (ok. 90% przypadków), rodzinną, to jest uwarunkowaną genetycznie (8,5-9%) i postać jatrogenną, to jest przenoszoną za pośrednictwem zabiegów lekarskich (1-1,5% przypadków) (29).

Różnice pomiędzy vCJD i CJD dotyczą:

- geograficznego rozprzestrzenienia: CJD występuje na całym świecie, vCJD stwierdzono prawie wyłącznie w Wielkiej Brytanii (95% przypadków);

- obrazu klinicznego: CJD występuje u ludzi starszych (przeciętny wiek 65 lat), dominuje szybko postępujące otępienie i/lub ataksja; vCJD występuje u ludzi młodych (przeciętny wiek 29 lat), przebieg choroby jest dłuższy, dominują zaburzenia psychiczne (halucynacje, urojenia, depresja), zmiany osobowości, agresja (20, 29, 30).

Dowody naukowe zebrane w ciągu ostatnich lat przez różne zespoły badawcze wskazują, że vCJD u ludzi może wywoływać ten sam czynnik chorobotwórczy, który powoduje gąbczastą encefalopatię bydła (BSE), a jego transmisja na człowieka następuje poprzez spożycie narządów wewnętrznych pochodzących od krów chorych na BSE. Zastanawiającym bowiem jest fakt, że spośród 56 potwierdzonych przypadków vCJD, jakie zarejestrowano do końca marca 2000 r., aż 53 zdiagnozowano w Wielkiej Brytanii (2 przypadki we Francji i 1 w Irlandii) (2, 14, 30). Przyjmując istnienie związku pomiędzy BSE i vCJD zaczęto zastanawiać się nad możliwą skalą zachorowań ludzi. Długo, typowy dla chorób prionowych, okres inkubacji

pozwała jedynie przewidywać zakres oczekiwanej liczby zachorowań. Ghani i wsp. (15) sugerują, że liczba ta może wynieść od 14 000 (jeśli w ciągu najbliższych dwóch lat liczba przypadków vCJD nie przekroczy 30) do 500 000 przypadków przy założeniu, że choroba dotknie osobniki homozygotyczne dla metioniny (kodon 129 genu PrP), które stanowią 40% populacji. Jednakowoż, liczba zachorowań na vCJD wykazuje tendencję spadkową, bowiem w 1998 r. zdiagnozowano 17, a w 1999 r. – 11 przypadków. Statystycy z Wielkiej Brytanii określają całkowitą liczbę przypadków vCJD, jaka może wystąpić, na 100-150, przy czym choroba powinna wygasnąć do 2005 r. (12). Zwraca się jednak uwagę na fakt, że opieranie takich prognoz na związku pomiędzy BSE i vCJD, gdy nie jest on dokładnie poznany, nie pozwala na wyciąganie wiążących wniosków.

Według Scientific Steering Committee (SSC), organu doradczego w sprawach pasażowalnych gąbczastych encefalopatii (TSEs) Unii Europejskiej, istnieje kilka dowodów potwierdzających fakt, że czynnik wywołujący vCJD u ludzi i BSE u bydła jest identyczny (3):

- wystąpienie choroby vCJD w kraju o wysokim ryzyku ekspozycji ludzi na czynnik wywołujący BSE (26). BSE pojawiła się w Wielkiej Brytanii, jak się przypuszcza, pomiędzy 1980 a 1985 rokiem. Opisano ją po raz pierwszy w 1986 r. W szczytowym okresie epizootii, w latach 1992-1993 rejestrowano 3000 przypadków miesięcznie. Do 1 listopada ubiegłego roku zanotowano łącznie w Wielkiej Brytanii 175 838 potwierdzonych przypadków BSE. 98% przypadków dotyczyło bydła w wieku powyżej 3 roku życia. Jak się szacuje do łańcucha pokarmowego człowieka mogło dostać się od 50 000 do 1 170 000 zwierząt zakażonych czynnikiem BSE (10, 16);

– taki sam, jak w przypadku vCJD obraz zmian klinicznych oraz histopatologicznych u małp oraz lemurów po inokulacji czynnika wywołującego BSE. W 1996 r. Lasmezias i wsp. (21) zakazili domózgowo ekstraktami mózgowia krów chorych na BSE 3 małpy z rodziny makakowatych. Klinicznie zaobserwowano u małp objawy uszkodzenia mózdzku (zaburzenia równowagi), ale także objawy nietypowe, jak żarłoczność. U zakażonych zwierząt stwierdzono zmiany histopatologiczne, a mianowicie złoży amyloidu w postaci blaszek (skupiska patologicznie zmienionego białka PrP) identyczne ze zmianami występującymi u ludzi chorych na vCJD. W 1999 r. Bons i wsp. (6) opisali udaną próbę eksperymentalnego zakażenia lemurów czynnikiem wywołującym BSE. Badania te potwierdziły możliwość doustnego zakażenia się naczelnymi czynnikiem BSE, co praktycznie stanowi silną sugestię za możliwością transmisji tego czynnika na ludzi z następnym pojawieniem się vCJD. Dwa młode lemury otrzymały doustnie po 0,5 g mózgowia krowy chorej na BSE, co odpowiada dawce 500 g tkanki mózgowej przyjętej przez człowieka o wadze 70 kg. Obserwacja zwierząt trwała 5 miesięcy. Po tym okresie zwierzęta poddano eutanazji, a obecność białka PrP^{BSE} określono metodą immunohistochemiczną. Objawów klinicznych choroby nie zaobserwowano, ale potwierdzono transmisję zakażenia. Obecność patologicznego białka PrP wykazano w migdałkach, przewodzie pokarmowym, węzłach chłonnych krezkowych oraz w śledzionie. Ponadto PrP^{BSE} wykryto w zwojach grzbietowych i brzusznych nerwów czuciowych szynowego odcinka rdzenia kręgowego. Podobne wyniki testów laboratoryjnych uzyskano u 2 lemurów hodowanych we francuskich ogrodach zoologicznych, u których stwierdzono objawy kliniczne choroby oraz u 18 lemurów nie wykazujących żadnych objawów klinicznych choroby. Zwierzęta te otrzymywały karmę wyprodukowaną w Wielkiej Brytanii zawierającą białko zwierzęce. Jak się przypuszcza tą właśnie drogą przeniesiony został czynnik zakaźny;

– identyczne profile glikozylacji białka PrP^{vCJD} i PrP^{BSE} oraz odmienne w przypadku PrP^{CJD} i PrP^{vCJD} (10, 18). Hill i wsp. (18) oceniali wielkość fragmentów białka PrP^{vCJD} i PrP^{BSE} po trawieniu proteazą oraz współczynnik występowania form dwu- mono- oraz nieglikozylowanych. Ten tzw. profil glikozylacji (liczba reszt cukrowych w cząsteczce białka PrP) wydaje się być cechą stałą nawet po transmisji międzygatunkowej;

– identyczne okresy inkubacji choroby oraz identyczne profile zmian histopatologicznych w mózgowiu myszy zakażanych czynnikiem BSE oraz vCJD (8). Profile zmian histopatologicznych uzyskiwano w wyniku liczenia ognisk wakuolizacji w 9 rejonach mózgowia, przedstawiając je w postaci wykresu. Stwierdzono, że czynnik wywołujący vCJD pochodzący z 3 różnych przypadków klinicznych jest identyczny; różni się on od czynników wywołujących inne postaci CJD i jest identyczny z czynnikiem wywołującym

BSE. Ponadto w nawiązaniu do badań Collinge'a i wsp. (11) zauważono, że wzorzec glikozylacji typowy dla PrP^{BSE} występuje także w doświadczalnej postaci scrapie oraz śmiertelnej rodzinnej bezsenności u ludzi (Fatal Familial Insomnia – FFI). Dlatego też, pomimo istnienia dużego podobieństwa, wysuwanie wniosków na temat związku między różnymi czynnikami TSEs na podstawie ich profili glikozylacji jest zbyt ryzykowne. Zagrożenie dla zdrowia człowieka czynnikiem wywołującym BSE w produktach pochodzenia zwierzęcego wiąże się z trzema niewiadomymi (3):

– rozmieszczeniem czynnika zakaźnego w tuszy zwierzęcia – 64,1% lokalizuje się w mózgowiu, 25,6% w rdzeniu kręgowym, 2,6% w zwoju nerwu trójdzielnego, 3,8% w zwojach grzbietowych nerwów czuciowych oraz 3,3% w dystalnym odcinku jelita biodrowego (3). Dodatkowo, na podstawie badań nad scrapie przyjmuje się, że istnieje niewielki stopień zakaźności w śledzionie (0,3%) oraz gałkach ocznych (0,04%). Obserwacje szwajcarskie oraz brytyjskie wskazują, że częstotliwość występowania czynnika BSE jest większa u zwierząt padłych (15/6000 zwierząt zbadanych) lub poddanych ubojowi z konieczności (5/2900) niż u zwierząt zdrowych poddawanych ubojowi w celach konsumpcyjnych (3/6000). Także rozkład czynnika zakaźnego w organizmie krowy chorej na BSE zmienia się w czasie. We wczesnej fazie inkubacji choroby czynnik ten stwierdza się w jelitach cienkich, zaś w fazie końcowej w ośrodkowym układzie nerwowym;

– skutecznością procesu inaktywacji czynnika chorobotwórczego – według Taylora (25) jedynym skutecznym sposobem pełnej inaktywacji czynnika zakaźnego są silne roztwory podchlorynu sodu lub gorące roztwory wodorotlenku sodu;

– wykorzystaniem surowców pochodzących od bydła do produkcji żywności, kosmetyków, leków.

Ten ostatni problem dotyczy głównie żelatyny stosowanej powszechnie w przemyśle spożywczym (4). Żelatyna definiowana jest jako mieszanina polipeptydów uzyskanych w wyniku częściowej hydrolizy kolagenu zawartego w kościach i skórze. Proces technologiczny obejmuje odtłuszczenie, zakwaszenie, ługowanie, płukanie, filtrację, wymianę jonową oraz sterylizację. Złożoność procesu technologicznego oraz wiele zmiennych związanych z produkcją żelatyny (kraj pochodzenia surowca, rodzaj surowca, technologia produkcji żelatyny) nie pozwalają na jednoznaczne stwierdzenie, czy żelatyna jest bezpieczna do spożycia. Dodatkowo wyniki ostatnich badań wskazują na obecność czynnika BSE w szpiku kostnym chorych zwierząt (27). Uznaje się, że żelatyna wyprodukowana ze skór jest produktem bezpiecznym.

Pomimo niskiej liczby stwierdzonych dotychczas przypadków vCJD, niepokojące są następujące fakty:

– istnieje podejrzenie transmisji vCJD z matki na płód – potwierdzają to wstępne badania matki chorej

na vCJD oraz jej 4 miesięcznej córki (dodatkowe dwa przypadki są obecnie analizowane) (22);

- aktualnie 12 osób podejrzanych o zachorowanie na vCJD hospitalizowanych jest w Anglii (w tym jedno dziecko w wieku 13 lat), a u trzech osób zmarłych wykonuje się badania potwierdzające vCJD (5);

- nieznana jest długość okresu inkubacji w przypadku vCJD (zakłada się, że może trwać 6-30 lat, a nawet przekraczać przeciętną długość życia człowieka) (10, 30);

- nieznana jest minimalna dawka zakaźna jak również wpływ wielokrotnego spożywania materiału o niskiej zawartości czynnika PrP^{BSE} (3);

- nadal nie został poznany do końca czynnik etiologiczny chorób prionowych;

- brak jest jednoznacznej wykładni warunków zapewniających pełną inaktywację czynnika zakaźnego, nawet stosowanie zalecanych parametrów (133°C przy ciśnieniu 3 atm. przez okres 20 minut) nie prowadzi do całkowitej inaktywacji czynnika zakaźnego, gdy materiał wyjściowy zawiera wysoką koncentrację tego czynnika (3);

- wszystkie dotychczasowe przypadki vCJD wystąpiły u osób homozygotycznych dla metioniny w kodonie 129 genu PrP (30); francuskie badania jatrogennych przypadków CJD wykazały związek kodonu 129 z długością okresu inkubacji choroby; najkrótszy okres obserwowano u homozygot metioniny, dłuższy dla homozygot waliny i najdłuższy dla heterozygot metionina/walina (13). Istnieje prawdopodobieństwo, że nowe przypadki vCJD nie będące homozygotami dla metioniny w pozycji 129 pojawią się w ciągu najbliższych lat.

Problem transmisji chorób prionowych drogą krwi wiąże się z obecnością czynnika zakaźnego scrapie owiec oraz vCJD ludzi w układzie limfatycznym i wykazaną istotną funkcją limfocytów B w rozwoju klinicznej postaci eksperymentalnej scrapie u myszy (19). Badania wykazały, że podanie krwi od ludzi chorych na CJD myszom nie prowadziło do rozwoju choroby (24). Inne badania wykazały, że czynnik wywołujący CJD jest obecny we krwi i chociaż jego miano jest niskie, stwarza potencjalną możliwość transmisji choroby przez transfuzję krwi (17). Jednakże z danych epidemiologicznych wynika, że nawet jeśli zjawisko to występuje, to jest ono niezwykle rzadkie. Nigdy nie stwierdzono obecności czynnika zakaźnego TSE we krwi w przypadku scrapie u owiec i kóz oraz BSE u bydła i to zarówno w warunkach naturalnych jak i eksperymentalnych (7).

Możliwość przypadkowej obecności czynnika zakaźnego BSE w tuszach ubijanego bydła opisali Anil i wsp. (1). Ubój bydła z użyciem pneumatycznych pitoletów ubojowych może prowadzić do przedostawania się tkanki nerwowej OUN do krwi żyłnej, a kilkunastominutowa praca serca po uboju, pozwala na migrację takiego materiału po całym organizmie. U 4 spośród 5 krów ubijanych w rzeźni z użyciem takich narzę-

dzi wykryto obecność wielu fragmentów tkanki nerwowej mózgowia we krwi żyły jarmowej.

Dodatkowe argumenty przemawiające za transmisją czynnika BSE na człowieka i z tym związanym pojawieniem się vCJD przedstawili Scott i wsp. (23). Badania te prowadzone były na transgenicznych myszach, których gen PrP zastąpiono genem bydlęcym. Wykazały one pełną wrażliwość zwierząt na zakażenie czynnikiem wywołującym vCJD. Ponadto czynnik chorobotwórczy PrP^{vCJD} nie różnił się od PrP^{BSE} izolowanego od bydła na BSE, bowiem w wielokrotnych pasażach czynnika wywołującego vCJD oraz BSE na myszach, autorzy udowodnili, że są one jedakowe. Zarówno okres inkubacji choroby jak i objawy kliniczne były niemal identyczne. Badania histopatologiczne wykazały taki sam rozkład zmian gąbczastych w mózgowiu podobnie jak identyczną lokalizację blaszek amyloidowych oraz rozmieszczenie patologicznego PrP. Pasaże czynnika BSE oraz vCJD na myszach nie wpływały również na formę glikozylacji tych białek.

W przypadku tkanki mięśniowej dotychczas nie stwierdzono obecności czynnika zakaźnego nawet w materiale od zwierząt doświadczalnych zakażonych parenteralnie (9). Także mleko (według SSC) uważa się za bezpieczne. Jednakże istnieje zakaz spożywania mleka od krów chorych lub podejrzanych o BSE (z wyjątkiem skarmiania nim cieląt urodzonych przez te krowy). Taylor i wsp. (26) opisali próbę eksperymentalnego zakażenia myszy mlekiem od krów chorych na BSE. Zwierzęta otrzymywały mleko doustnie oraz w iniekcji domózgowej (20 000 razy wyższa skuteczność zakażenia w stosunku do drogi doustnej) oraz dootrzewnowej. Obserwacja zakażonych myszy trwała przez 2 lata. W żadnym przypadku nie stwierdzono objawów klinicznych choroby ani typowych zmian neuropatologicznych. Ilość mleka wypitego przez 1 mysz odpowiadała 0,5 l mleka spożywanego codziennie przez okres 7 lat przez osobę ważącą 70 kg.

Podsumowanie

Liczne obecnie dowody naukowe wskazują, że pojawienie się vCJD u ludzi wiąże się bezpośrednio z wystąpieniem BSE u bydła, a do transmisji zakażenia doszło drogą pokarmową. Pomimo tego, że skala zachorowań u ludzi maleje, brak jednoznacznej odpowiedzi na takie pytania jak: długość okresu inkubacji vCJD, wielkość minimalnej dawki zakaźnej czy też wpływ wielokrotnego spożywania materiału o niskiej zawartości czynnika PrP^{BSE} na rozwój choroby, nie pozwalają na jednoznaczne stwierdzenie, że zagrożenie ze strony vCJD zniknęło całkowicie, a liczba zachorowań wkrótce spadnie do zera.

Piśmiennictwo

1. Anil M. H., Love S., Williams S., Shand A., McKinstry J. L., Helps C. R., Waterman-Pearson A., Seghatchian J., Harbour D. A.: Potential contamination of beef carcasses with brain tissue at slaughter. *Vet. Rec.* 1999, 145, 460-462.

2. Anon.: strona internetowa brytyjskiego wydziału zdrowia: <http://www.doh.gov.uk/cjd/cjd1.htm>
3. Anon.: opinia SSC nt. zagrożenia człowieka czynnikiem BSE zawartym w pożywieniu: http://europa.eu.int/comm/dg24/health/sc/ssc/out67_en.pdf
4. Anon.: raport SSC o żelazynie: http://europa.eu.int/comm/dg24/health/sc/ssc/out34_en.pdf
5. Anon.: strona informacji prasowych rządu brytyjskiego – Wydział Zdrowia, 17.03.2000: <http://pipe.cta.gov.uk/coi/coipress.nsf?Open>.
6. *Bons N., Mestre-Frances N., Belli P., Cathala E., Gajdusek D. C., Brown P.*: Natural and experimental oral infection of nonhuman primates by bovine spongiform encephalopathy agents. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999, 96, 4046-4051.
7. *Bradley R.*: BSE Transmission studies with particular reference to blood. *Dev. Biol. Stand.* 1999, 99, 35-40.
8. *Bruce M. E., Will R. G., Ironside J. W., McConnell I., Drummond D., Suttie A., McCordle L., Chree A., Hope J., Birkett C., Cousens S., Fraser H., Bostock C. J.*: Transmissions to mice indicate that new variant CJD is caused by the BSE agent. *Nature* 1997, 389, 498-501.
9. *Collee J. G., Bradley R.*: BSE: a decade on – par 2. *Lancet* 1997, 349, 715-721.
10. *Collinge J.*: Variant Creutzfeldt-Jakob disease. *Lancet* 1999, 354, 317-323.
11. *Collinge J., Sidle K. C., Meads J., Ironside J., Hill A. F.*: Molecular analysis of prion strain variation and the aetiology of new variant CJD. *Nature* 1996, 383, 685-690.
12. *Cookson C.*: CJD: experts divided as death toll falls by a third. *World News/UK section in Financial Times* 2000, February 8.
13. *Deslys J. P., Jaegly A., d'Aignaux J. H., Mouthon F., de Villemeur T. B., Dormont D.*: Genotype at codon 129 and susceptibility to Creutzfeldt-Jakob disease. *Lancet* 1998, 351, 1251.
14. *Deslys J. P., Lasmézas C. I., Streichenberger N., Hill A., Collinge J., Dormont D., Kopp N.*: New variant Creutzfeldt-Jakob disease in France. *Lancet* 1997, 349, 30-31.
15. *Ghani A. C., Donnelly C. A., Ferguson N. M., Anderson R. M.*: Assessment of the prevalence of vCJD through testing tonsils and appendices for abnormal prion protein. *Proc. R. Soc. Lond. B* 2000, 267, 23-29.
16. *Hallberg O.*: Estimating human BSE numbers. <http://home7.swipnet.se/~w-78067/MadCow.html>.
17. *Heye N., Hensen S., Muller N.*: Creutzfeldt-Jakob disease and blood transfusion. *Lancet* 1994, 343, 298-99.
18. *Hill A. F., Desbruslais M., Joiner S., Sidle K. C., Gowland I., Collinge J., Doey L. J., Lantos P.*: The same prion strain causes vCJD and BSE. *Nature* 1997, 389, 448-450.
19. *Klein M. A., Frigg R., Flechsig E., Raebler A. J., Kalinke U., Bluethmann H., Bootz F., Suter M., Zinkernagel R. M., Aguzzi A.*: A crucial role for B cells in neuroinvasive scrapie. *Nature* 1997, 390, 687-690.
20. *Kinght R.*: The relationship between new variant Creutzfeldt-Jakob disease and bovine spongiform encephalopathy. *Vox Sang.* 1999, 76, 203-208.
21. *Lasmézas C. I., Deslys J. P., Demalmay R., Adjou K. T., Lamoury F., Dormont D., Robain O., Ironside J., Hauw J. J.*: BSE transmission to macaques. *Nature* 1996, 381, 743-744.
22. *Leake J.*: Can CJD be passed from mother to child? *Sunday Times* 200, 5 March.
23. *Scott M. R., Will R., Ironside J., Nguyen H. O. B., Tremblay P., DeArmond S. J., Prusiner S. B.*: Compelling transgenic evidence for transmission of bovine spongiform encephalopathy prions to humans. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 1999, 96, 15137-15142.
24. *Tateishi J.*: Transmission of Creutzfeldt-Jakob disease from human blood and urine into mice. *Lancet* 1985, 2, 1074.
25. *Taylor D. M.*: Inactivation of transmissible degenerative encephalopathy agents: areview. *Vet. J.* 2000, 159, 10-17.
26. *Taylor D. M., Ferguson C. E., Bostock C. J., Dawson M.*: Absence of disease in mice receiving milk from cows with bovine spongiform encephalopathy. *Vet. Rec.* 136, 592.
27. *Wells G. A., Hawkins S. A., Green R. B., Spencer Y. I., Dexter L., Dawson M.*: Limited detection of sternal bone marrow infectivity in the clinical phase of experimental bovine spongiform encephalopathy (BSE). *Vet. Rec.* 1999, 144, 292-294.
28. *Will R. G., Ironside J. W., Zeidler M., Cousens S. N., Estibeiro K., Alperovitch A., Poser S., Pocchiari M., Hofman A., Smith P. G.*: A new variant of Creutzfeldt-Jakob disease in the UK. *Lancet* 1996, 347, 921-925.
29. *Will R. G.*: Prion related disorders. *J. Roy. Coll. Phys. Lond.* 1999, 33, 311-315.
30. *Zeidler M., Ironside J. W.*: The new variant of Creutzfeldt-Jakob disease. *Rev. Sci. Off. Int. Epiz.* 2000, 19, 98-120.

Adres autora: dr Miroslaw Polak, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy;
e-mail: polak@piwet.pulawy.pl

NOWE WYDANIE – wg stanu prawnego na dzień 1. 01. 2001 r.

prof. Edmund K. Prost i współpracownicy
**POLSKIE PRZEPISY
SANITARNO-WETERYNARYJNE**

Tom I. Obrót, ubój i badanie san.-wet. zwierząt rzeźnych
i mięsa oraz normalizacja

Tom II. Nadzór sanitarny nad produkcją i obrotem
żywności zwierzęcego pochodzenia

Objętość ok. 550 stron, cena obu tomów 40,- zł

Zamówienia (pismo lub fax) przesyłane na adres:
„Medycyna Weterynaryjna”, – Redakcja, ul. Akademicka 12;
20-033 Lublin, tel./fax (081) 53 329 12

– z podaniem nazwy instytucji lub osoby zamawiającej, adresu
oraz liczby zamawianych egzemplarzy.