

FAKTA A OTÁZKY KOLEM BOVINNÍ SPONGIFORMNÍ ENCEFALOPATIE

prof. MVDr. Zdeněk Pospíšil, DrSc.

Ústav infekčních chorob a epizootologie, Fakulta veterinárního lékařství,
Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

Je podán přehled informací o boviní spongiformní encefalopatii, která se v r. 1985 vyskytla u skotu ve Velké Británii a odtud se postupně rozšířila do některých zemí západní Evropy. Onemocnění vyvolávané zvláštními infekčními částicemi – priony – se projevuje změnou chování zvířat, poruchami koordinace pohybu a končí vždy úhynem. V nervových buňkách mozku se nachází vakuolární degenerace, které se využívá v diagnostice. Je zvažováno i případné nebezpečí pro člověka.

Klíčová slova: spongiformní encefalopatie, BSE, CJD, prion, nemoc šílených krav, vakuolární degenerace neuronů.

Současná vzrušená atmosféra kolem nemoci šílených krav, odborně nazývané boviní spongiformní encefalopatie (BSE), přinesla široké veřejnosti řadu nových informací, ale i mnoho dohadů a obav. Nejčastěji se setkávám s otázkou „Co je to vlastně nemoc šílených krav, kde se vzala a jaké je její nebezpečí pro člověka?“

Bovinní spongiformní encefalopatie (BSE) se dostala do popředí zájmu odborné i laické veřejnosti koncem 80. let, kdy se ve Velké Británii začaly objevovat první ucelenější informace o nové, do té doby neznámé nemoci skotu, lidově nazývané „nemoc šílených krav“ (18, 19).

Hlubší studie však ukázaly, že BSE není žádné kvalitativně nové onemocnění, ale že se infekce stejného charakteru ve Velké Británii vyskytovala nejméně od poloviny 18. století u ovcí pod názvem „scrapie“ (10). Nový však byl výskyt tohoto onemocnění u skotu. Do té doby bylo onemocnění s podobnými příznaky pozorováno mimo ovce pouze u norků. A bylo to právě prolomení mezidruhové bariéry z ovcí na skot a jeho vysoká incidence u skotu ve Velké Británii, které vyvolalo opodstatněné obavy a zvýšený zájem odborných kruhů a sdělovacích prostředků. Pozdější informace o výskytu obdobného onemocnění u koček (felinní spongiformní encefalopatie – FSE) zájem ještě posílily (21).

Tato onemocnění byla zařazena do komplexu transmisivních spongiformních encefalopatií na základě společné etiologie, kliniky a patologické morfologie. Onemocnění podobného charakteru se vyskytují i u člověka. Nejpopulárnějším z nich bylo donedávna kuru, postihující kmeny v Papui – Nové Guinei, které praktikovaly rituální kanibalismus (8). Nejvýznamnější je však Creutzfeldt – Jakobova choroba (CJD) (4), způsobující předčasnou demenci a především pak její nová varianta (vCJD) (20), která postihuje lidi daleko mladší (od 19 do 39 let). Dále sem patří i Gerstman-Sträussler-Scheinkerův syndrom a fatální familiární insomnie.

Spongiformní encefalopatie zvířat i lidí jsou charakterizovány dlouhou inkubační dobou, poruchami chování a pohybu a výskytem vakuolární degenerace neuronů mozku a prodloužené míchy, která dává pod mikroskopem tkáni spongiformní vzhled. Onemocnění končí vždy smrtí.

Historie

BSE se poprvé objevila v roce 1985 v jihovýchodní Anglii a během dalšího roku byla popsána ve všech oblastech Velké Británie (19, 5, 16). Do konce roku 2000 tam bylo zaznamenáno 179 441 nemocných zvířat s tím, že nákaza kulminovala na

přelomu roku 1992/93. Od té doby začala incidence onemocnění zásluhou komplexních protinákazových opatření, zavedených v roce 1988, výrazně klesat. V r. 2000 ve Velké Británii onemocnělo na BSE 1312 zvířat.

Od r. 1991 přicházely zprávy o ojedinělém výskytu BSE i z jiných zemí západní Evropy a výjimečně z dalších částí světa. Zpočátku se jednalo o skot importovaný z Velké Británie, později bylo onemocnění diagnostikováno i u zvířat narozených v zemi výskytu. Do konce r. 2000 byl vyšší počet případů zjištěn v Portugalsku (503), Švýcarsku (366), Francii (248), Německu (20) a Belgii (19). U nás nebylo onemocnění BSE doposud zaznamenáno ani prokázáno.

Etiologie

V současné době se za původce BSE považují priony (13, 14, 15, 17). Termínem „prion“ se rozumí infekční patogenní bílkovina se zvláštní molekulární strukturou a doposud neznámými mechanismy replikace a patogenese. Priony se od virů odlišují zejména tím, že nevyvolávají imunitní odezvu a že v infekčních částicích nebyla zjištěna žádná nukleová kyselina. Jedinou jejich známou komponentou je prionový protein (PrP).

Původce se vyznačuje vysokou rezistencí k běžně používaným postupům dezinfekce a sterilizace. Teplotu 121°C přežívá 1 hodinu, teplotu 240°C 1 minutu (1). Formalinová fixace tkáně tepelnou rezistencí ještě zvyšuje. Rovněž většina dezinfekčních prostředků je při běžně používaných koncentracích neúčinná. Snížení infekitivity lze dosáhnout při použití 2 % hypochloridů působících po dobu 24 h nebo 4 % NaOH po dobu 1 h.

Patogeneze

Infekční agens se do organismu dostává perorální cestou. Bylo zjištěno, že isoforma prionového proteinu se tvoří v mozku všech savců, avšak za normálních podmínek je tento protein odbouráván proteázou K. Při onemocnění se prionový protein nerozkládá a následkem jeho hromadění je degenerace nervových buněk.

Při laboratorních vyšetřeních a v biologických pokusech na vnímavých myších a dalších zvířatech bylo prokázáno, že se agens vyvolávající BSE nachází především v mozku, prodloužené míše a míše do úrovně 1. až 2. krčního obratle. Ojedinělé zprávy referují o průkazu prionů i v mandlích, thymu, slezině, střevech a jejich mízních uzlinách, kostní dřeni a sítnici.

Výzkumy rovněž ukázaly, že u spongiformních encefalopatií lidí i zvířat je velmi vyhraněna geneticky podmíněná vnímavost k infekci. Scrapie byla zjištěna v 90 % u homozygotů, kte-

ří měli na kodonu 171 kombinaci aminokyselin glutamin/glutamin. Sporadická forma CJD se vyskytovala v 68 % případech u homozygotů s kombinací aminokyselin methionin/methionin na 129. kodonu. U nové varianty CJD bylo toto uspořádání zjištěno u prvních 42 případů ve 100 % (7,9).

Epizootologie

K BSE je vnímavý skot všech plemen, i když převážná část případů byla zaznamenána u mléčného skotu, zejména holštýnského plemene. Podrobná epizootologická šetření ukázala, že zdrojem infekce BSE u skotu bylo zkrmování masokostních mouček, obsahujících infekční materiál z ovčí nemocných scrapie. Začátek zkrmování těchto koncentrátů živočišné bílkoviny skotu s cílem zvýšení jeho produkce spadá do přelomu roku 1981/82. Nástup onemocnění v letech 1985/86 odpovídá později zjištěné inkubační době.

Předpokládá se, že prostřednictvím masokostní moučky se do populace skotu mohl dostat původce scrapie, který odolal kafilernímu zpracování biologického odpadu. V dalších letech se pak toto vysoce rezistentní agens šířilo v chovech skotu zkrmováním bílkovinných koncentrátů zpracovaných rovněž ze skotu uhynulého na BSE. Po odhalení těchto zdrojů a cest šíření byl v roce 1988 vydán přísný zákaz zkrmování masokostních mouček přežvýkavcům, což mělo na přelomu roku 1992/93 za následek výrazný pokles incidence onemocnění a dalo by se říci, že BSE ve Velké Británii v současné době pomalu odeznívá.

Důležitým poznatkem pro boj proti BSE byla skutečnost, že nebyl prokázán přímý přenos infekce kontaktem, ani vertikální přenos z matky na potomstvo, při transferu embryí, spermatem a pod. Výskyt BSE nemá souvislost s přítomností ovčí na farmě. Pro BSE je charakteristické, že nepostihuje všechna zvířata na farmě, ale naopak jen jednotlivé kusy. V 65 % onemocní jen 1 až 2 zvířata ve stádě a jen velmi zřídka onemocní více než 3 kusy. Nejčastěji bývají postižena zvířata ve věku 4 až 5 roků s hraničními hodnotami 22 měsíců až 15 roků. Vyhodnocením nemocnosti ve Velké Británii koncem r. 2000 bylo zjištěno, že 98 % pozitivních zvířat bylo starších 40 měsíců.

BSE nebyla nikdy prokázána u prasat ani drůbeže a ke klinickému onemocnění u nich nedošlo ani po experimentálním zkrmování infikovaných mozků. Pouze intracerebrální infekce vyvolala morfologické změny v nervových buňkách u jednoho z 6 infikovaných prasat.

Z ostatních zvířat bylo onemocnění podobné BSE zaznamenáno u několika druhů zvířat především v ZOO. Onemocnění nebylo pozorováno ani u psů.

Klinické příznaky

Inkubační doba je velmi dlouhá a pohybuje se v rozmezí od 2 do 8 roků s průměrem 3–6 roků. Začátky onemocnění bývají nevýrazné a projevují se nejčastěji změnou chování zvířete. Postižené kusy jsou neklidné, lekávé, s pocity strachu a předrážděnosti. Často narušují běžný režim ve stáji – napadají jiná zvířata, odmítají vstoupit do dojírny, někdy mívají záchvaty kopání, zívání a pod. Brzy nastupují poruchy koordinace a slabosti zadních končetin. Nemocné krávy stojí často s nízko skloněnou hlavou, uši směřují kaudálně a krk je nata-

žen. Při chůzi bývá pozorováno vysoké našlapování a ataxie pánevních končetin.

Nervové onemocnění je doprovázeno všeobecnými klinickými příznaky, jako jsou ztráta tělesné kondice, snižování živé hmotnosti a pokles doживosti. Ke konci onemocnění může ataxie zachvátit i přední končetiny, zvířata upadnou a těžko vstávají.

Délka onemocnění se pohybuje v rozmezí od 2 týdnů do 6 i více měsíců, průměrně však 1–2 měsíce a končí vždy smrtí.

Patologická morfologie

Makroskopické změny nejsou u BSE v mozku ani v jiných orgánech nemocných zvířat pozorovány.

Charakteristické jsou však histopatologické změny zjišťované v centrálním nervovém systému. Nejdůležitějším diagnostickým nálezem je bilaterální symetrická vakuolární degenerace neuronů v diencefalonu, mozkovém kmeni a v prodloužené míše, dávající postižené nervové tkáni spongiformní vzhled. Mozková kůra nebývá příliš postižena.

Diagnostika

Předběžné stanovení diagnózy je založeno na posouzení klinických příznaků onemocnění, původu, stáří a druhu zvířete včetně způsobu jeho výživy, počtu nemocných zvířat ve stádě, délky inkubační doby a dalších epizootologických souvislostí.

Donedávna bylo pro stanovení diagnózy rozhodující zjištění vakuolární degenerace neuronů při histopatologickém vyšetření mozku a prodloužené míchy či průkaz fibril elektronovým mikroskopem.

V poslední době byly vyvinuty nové metody imunohistochemické (imunoperoxidázový test), imunoenzymatické (ELISA) a hlavně dnes široce používaná imunologická metoda na základě Western blotu (5, 11, 12). V soupravě PRIONICS – CHECK se v ní využívá poznatku, že bílkovina prionu je rezistentní k proteázám. Materiál z vyšetřovaného mozku se tedy štěpí proteázami a případná bílkovina prionu, která štěpení odolá, se prokáže monoklonálními protilátkami.

Sérologické vyšetření na průkaz antigenu ani protilátek není možné, neboť původce BSE nevyvolává v hostitelském organismu protilátkovou odpověď.

Doposud není k dispozici ani žádná diagnostická metoda in vivo, i když vyšetření cerebrospinálního likvoru dává v některých případech shodné výsledky s následným postmortálním vyšetřením.

Diferenciální diagnostika

Jelikož žádné výše popsané klinické příznaky nejsou patologické, přicházejí v diferenciální diagnostice v úvahu některé choroby s podobnými projevy: Aujeszkého choroba, listerióza, vzteklna, abnormality v CNS (abscesy, traumata, parazitární infekce nebo neoplazie), renální či hepatální encefalopatie, metabolické poruchy a otravy.

Prevence

Léčba spongiformních encefalopatií neexistuje. Základním principem jakýchkoliv protinákazových opatření je ochrana před zavlečením jak na území státu, tak do jednotlivých chovů.

Aby se zabránilo šíření BSE z Velké Británie, přijala naše republika, stejně jako celá Evropská unie, již v r. 1992 a v dalších letech řadu opatření, jejichž podstatou je zákaz zkrmování masokostních mouček přežvýkavcům, zákaz dovozu živého skotu, masa, spermatu, embryí a dalších biologických materiálů ze všech zemí s výskytem BSE. Tato opatření jsou dostatečně známá i z řady relací ve sdělovacích prostředcích.

Nezastupitelnou roli v ochraně před BSE musí také sehrát primární diagnostika. Tu provádí soukromý veterinární lékař v chovu s cílem vyloučit ostatní nákazy s podobnými klinickými příznaky, jak je uvedeno výše. Dále je nutno za velmi důležité považovat provádění klinické prohlídky skotu na jatkách před poražením. Každé podezření z nákazy musí být laboratorně došetřeno v referenční laboratoři pro BSE.

V současné době je na BSE vyšetřován veškerý uhynulý dospělý skot, nutně poražený skot s nervovými příznaky a skot u něhož nervové příznaky neustoupily ani po 14denní léčbě. Počítá se také s vyšetřením průměrného vzorku několika tisíc poraženého skotu staršího 30 měsíců.

V případě stanovení pozitivní diagnózy musí být kadáver neškodně zlikvidován. Nejvhodnějším způsobem je spálení, i když je možné i zakopání. K běžné prevenci patří zpracování kadáveru a živočišných odpadů v kafileriiích. Nezbytným předpokladem je však dodržení teploty 133°C při tlaku 3 barů alespoň po dobu 20 minut a velikost částic nesmí přesahovat 50 mm (Zákon 286/1999 Sb.).

Složité jsou také postupy dezaktivace; té lze dosáhnout následujícími postupy (11):

- autoklávování přehřátou parou 134°C 2 cykly po 1 h, event. 1 h po předchozí chemické dekontaminaci v 1N NaOH. Dekontaminace v 1N NaOH 1–2 h,
- 5% roztok chloranu sodného, nejméně 2 h,
- var ve 3% roztoku natr. dodecylsulfátu 3 min. s následným autoklávováním déle než 1h při 120°C,
- reziduální materiály a kontaminované plochy se dezaktivují 5% roztokem chlornanu sodného po dobu 3 h.

Literatura

1. Anonym: Report of the working party on bovine spongiform encephalopathy. Dept Health Min Agri Fisch Food, Great Britain, Feb. 1989; 35s.
2. Belay ED, Potter ME, Schonberger LB: Relationship between TSE in animals and humans. In: Transmissible Spongiform Encephalopathies in the United States. CAST, 2000: 20–21.
3. Brown P: The Risk of BSE (Mad Cow Disease) to Human. JAMA, 1997; 278: 1008–1011.
4. Brown P, Gajdusek DC. The human spongiform encephalopathies : Kuru, Creutzfeldt – Jacob disease, and the Gerstmann – Sträussler – Scheinker syndrome. In: Current Topics in Microbiology and Immunology , Springer – Verlag Berlin 1991; 172: 1–20.
5. Braun U.: BSE und andere spongiforme Enzephalopathien. Parey, Berlin, 1998, 151 s.
6. Collinge J, Sidle KCL, Meads J et al: Molecular analysis of prion strain variation and the aetiology of „new variant“ CJD. Nature, 1996; 383: 685–689.
7. Feiden V. Vortrag: Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung, Kuru und BSE. 34. Sympos IAP, Bonn, 1998.
8. Gajdusek, CD.: Subacute spongiform encephalopathies caused by unconventional viruses. In: Maramorosch, K.: Subviral pathogens of plants and animals: Viroids and Prions. Acad Press, Orlando, 1985: 483–544.
9. Goldfarb LG, Brown P, Mc Combie WR et al: Transmissible familial CJD associated with five, seven and eight extra octapeptide coding repeats in the PrNP gene. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1991: 10926–30.

Nebezpečí pro člověka

Podobnost klinických příznaků a charakter mikroskopických změn pozorovaných u spongiformních encefalopatií zvířat a lidí vyvolala přirozené obavy z ohrožení zdraví člověka (3). Proto byl ve Velké Británii brzy po vzniku onemocnění vydán příkaz ke konfiskaci mozku a míchy od veškerého skotu staršího 6 měsíců. Jelikož některé práce ukázaly, že priony se mohou ojediněle vyskytovat i v lymfatických orgánech, konfiskují se také mandle, brzlík, slezina a střeva, včetně mezenterálních mizních uzlin.

Priony, původci BSE, však nebyly žádnými testy prokázány v samotné svalovině (mase) a mléce. Rovněž po zkrmování masa a mléka se u žádného druhu zvířat nevyvinuly sebemenší příznaky onemocnění, ani mikroskopické změny v mozku. Proto se převážná část odborníků domnívá, že konzumace masa a mléka je z hlediska možného přenosu BSE na člověka bezpečná. Ve svých úvahách se opírají i o historické poznatky, které uvádějí výskyt podobné spongiformní encefalopatie u ovcí – scrapie (ve Velké Británii už před více než 250 lety), přičemž výskyt sporadické CJD zdaleka nedosahoval „patologické normy“, tj. jeden nemocný na 1 milion obyvatel.

První vážné signály o nebezpečí přenosu BSE na člověka se datují z r. 1996, kdy se ve Velké Británii objevila tzv. „nová varianta Creutzfeldt – Jakobovy nemoci“ (vCJD), která oproti sporadické CJD postihuje lidi mladší, nejčastěji ve věku 19–39 roků (2, 20).

Kromě epidemiologických souvislostí svědčí o určitém nebezpečí BSE pro člověka i výsledky molekulární analýzy původce vCJD. Ty poukázaly na odlišnost kmenové charakteristiky BSE od klasických typů CJD, původce vCJD však připomíná vlastnosti původce BSE (6).

I když současná hysterie veřejnosti i sdělovacích prostředků naznačuje alarmující situaci, nebyl doposud podán jednoznačný důkaz o přímém přenosu BSE na člověka. Nebezpečí však nebylo ani jednoznačně vyvráceno.

10. Kimberlin RH. Scrapie: How much do we really understand? Neuropathol Applied Neurobiol 1986; 12: 131–147.
11. Koďoušek R.: Aktuální problémy prionových nemocí subakutní spongiformní encefalopatie lidí a zvířat (neurální „antropo- a zooprionózy). Acta Medica suppl, 1999; 42: 25–49.
12. Miller JM.: Transmissible Spongiform Encephalopathy Diagnostics. In: Transmissible Spongiform Encephalopathies in the United States. CAST, 2000: 9–12.
13. Prusiner, SB.: Prions – structure, biology and Diseases: In: Maramorosch, K.: Subviral pathogens of plants and animals: Viroids and Prions. Acad Press, Orlando, 1985: 337–392.
14. Prusiner, SB. The Prion Diseases. Scientific American Jan. 1995; 30–37.
15. Štorchová Z.: Priony. Vesmír 1998: 15–19.
16. Taylor DM.: Bovine Spongiform Encephalopathy – the beginning of the end? Brit. vet. J. 1996: 501–518.
17. Van der Valk P.: Prion Diseases: what will be next? J. Clin. Pathol. 1998: 265–269.
18. Wells GAH, Scott AC, Johnson CT, Gunning RF, Hancock RD, Jeffrey M, Dawson M, Bradley R. A novel progressive spongiform encephalopathy in cattle. Vet. Rec. 1987; 121: 419–420.
19. Wilesmith JW, Ryan JBM, Atkinson MJ. Bovine spongiform encephalopathy: epidemiological studies on the origin. Vet. Rec. 1991; 128: 199–203.
20. Will RG, Ironside JW, Zeidler M et al.: A new variant of CJD in the U.K. Lancet 1996; 347: 921–925.
21. Wyatt JM, Pearson GR, Smerdon T, et al. Spongiform encephalopathy in a cat. Vet. Rec. 1990; 126: 513.