



# **B S E**

**MUDr. Miroslava Zavřelová**

**Mgr. Aleš Peřina, Ph. D.**

**Ústav preventivního lékařství LF MU**

## TSE u zvířat

- **Scrapie** (klusavka, drbavka)
  - onemocnění ovcí a koz
  - 1738: Velká Británie, Francie
- **Transmisibilní encefalopatie norků**
  - 1964: onemocnění norků, chovaných na farmách v USA
  - Krmení masem utracených nebo uhynulých ovcí a koz
- **Chronická kachektizující choroba jelenů a losů**
  - 1967: Severní Amerika

Bovinní spongioformní encefalopatie (BSE) je onemocnění zvířat, které se v přírodě vyskytuje prakticky od nepaměti. Poprvé bylo onemocnění popsáno jako scrapie ovcí a koz, která se u zvířat projevovala neklidem, zvýšeným škrábáním kůže o různé předměty, zmateným chováním a nakonec úhynem zvířat.

Zřejmě zcela nezávisle bylo podobné onemocnění popsáno u divoce žijící vysoké zvěře v oblasti severní Ameriky. Zvýšenou pozornost však onemocnění vyvolalo teprve v 60. letech 20. století, kdy se objevilo u norků chovaných v USA na kožešiny. Onemocnění norků bylo dáváno do souvislosti s krměním norků masem utracených event. uhynulých ovcí a koz. Vlastní podstata onemocnění však nebyla známa.

## TSE u zvířat

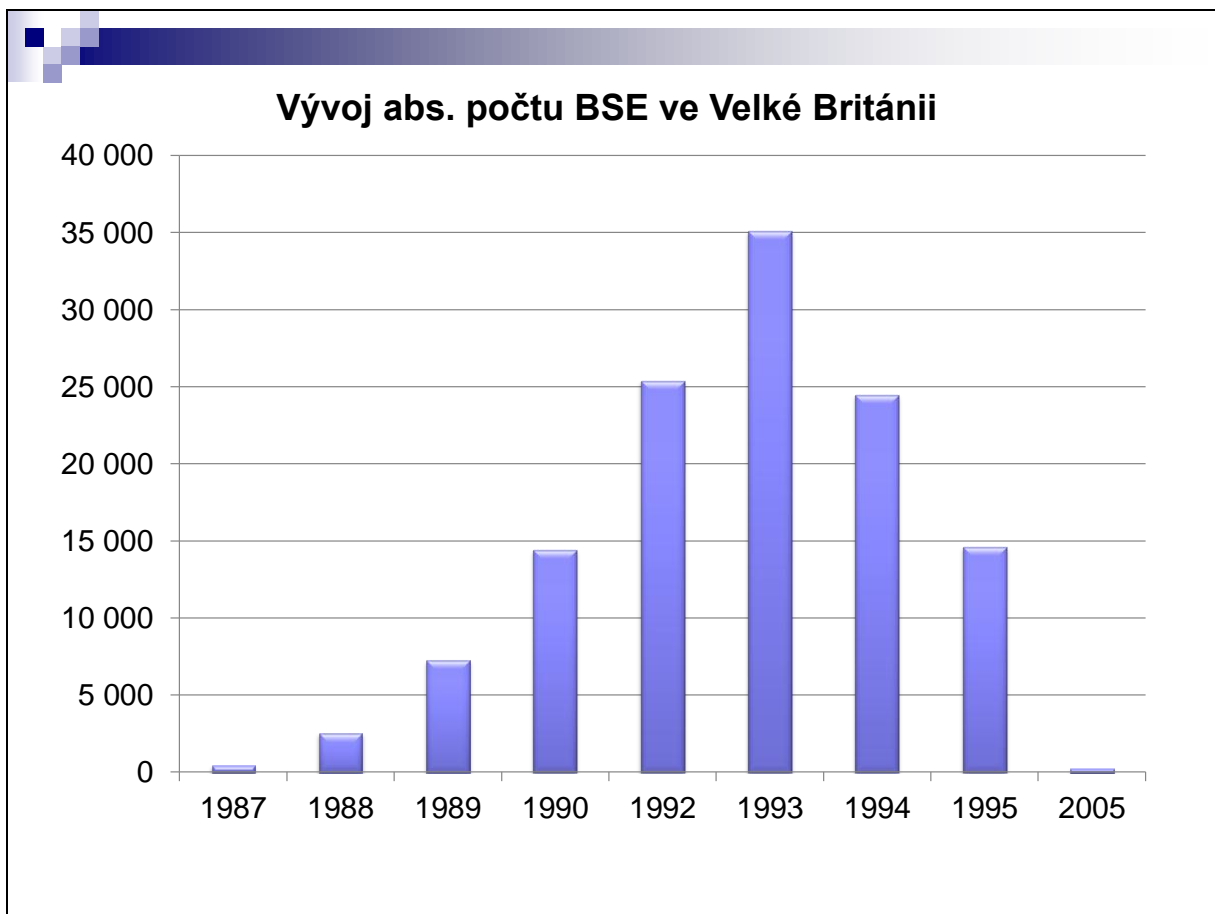
### ■ BSE

- 1986: Velká Británie
- Krmení hovězího dobytka masokostními moučkami

### ■ Felinní spongiformní encefalopatie

- 1990: Anglie
- Masokostní moučka je součástí krmiv pro domácí mazlíčky

Další vzplanutí spongiformních encefalopatií se objevilo na britských ostrovech jako hromadné onemocnění hovězího dobytka, který byl krměn krmivem obohaceným masokostními moučkami. Přibližně ve stejném období se onemocnění objevilo také u domácích koček, jejichž průmyslově vyráběná krmiva (krmiva pro domácí mazlíčky) začala být rovněž obohacována masokostními moučkami.



Pro ilustraci následující graf znázorňuje vývoj počtu případů bovinních spongioformních encefalopatií u hovězího dobytka ve Velké Británii. Zatímco v roce 1987 se objevilo několik desítek případů, o pět let později se počet případů u zvířat vyšplhal až na 35 tis. případů. Bylo tedy zřejmé, že vzplanutí dosud ojedinělých spongioformních encefalopatií je nebývalé.



## Nebezpečí v masokostní moučce?

- Výroba masokostních mouček.
  - Rozemletí bílkovinného a tukového odpadu z jatek (kosti, vnitřnosti, celá těla uhynulých zvířat)
  - Extrakce tuku chem. cestou, využití loje kosmetickým průmyslem
  - Vymývání rozpouštědla fyzikální cestou (pára)

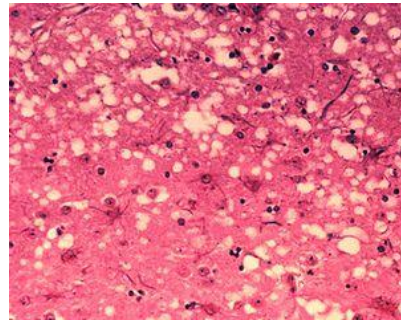
Veškerá pozornost se zaměřila k masokostním moučkám. Masokostní moučka je v podstatě aditivum, které se přidávalo do krmiv pro zvířata. Získává se rozemletím kafilerního odpadu, takže je bohatá na tuk a bílkoviny. Ještě do 70. let 20. století projevoval o tukový podíl zájem kosmetický průmysl. Tuk pro kosmetický průmysl se získával extrakcí chemickou cestou, po extrakci tuku bylo nutné z krmiva zbytky chemických rozpouštědel vymývat párou pod tlakem.

Když v 70. letech 20. století kosmetický průmysl objevil náhradní suroviny, poklesl zájem o extrahovaný kafilerní tuk, což bylo výrobcům masokostních mouček přivítáno. Výroba masokostních mouček se tak zlevnila (odpadla extrakce tuku) a zvýšila se krmná výtěžnost masokostních mouček.

# TSE

## Transmisibilní spongioformní encefalopatie

- Vzácné neurovegetativní onemocnění zvířat a lidí



Histologický řez šedou kůrou mozkovou: bílá místa jsou odumřelé okrsky tkáně.

Společným znakem všech dosud popsaných spongioformních encefalopatií u zvířat byla vakuolární degenerace mozkové tkáně, jak je znázorněno na obrázku (histologický řez postiženou šedou kůrou mozkovou).

## Prion není virus

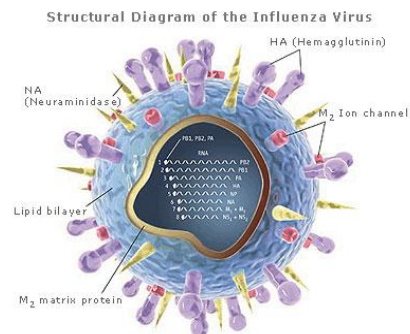
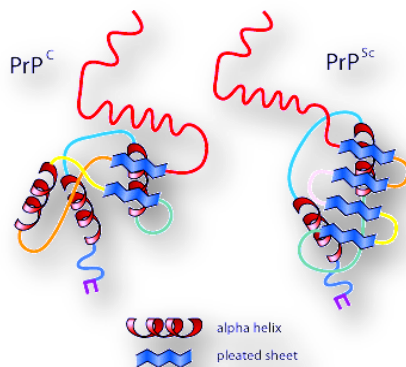


Illustration: Chris Bickel/Science. Reprinted with permission from Science Vol. 312, page 380 (21 April 2006) © 2006 by AAAS

Najdete rozdíly?

Dosavadní zkušenosti vzbuzovaly podezření, že BSE má charakter infekčního onemocnění (podezřelé byly masokostní moučky), ovšem nebyla známa vlastní podstata agens. Dosud se totiž předpokládalo, že nejmenší infekceschopnou částicí je virus. Později byla vyslovena tzv. prionová teorie, podle které k vyvolání specifického onemocnění může dojít i po inokulaci určitého typu bílkoviny do hostitelského organismu.

## Prionová teorie

1. Normální prionový protein PrP<sup>c</sup> (celulární)
2. gen kódující PrP<sup>c</sup> na 20. chromozomu
3. PrP<sup>c</sup> produkován nervovými buňkami
  - Pravděpodobně dlouhodobá paměť, odpočinek, spánek
4. Změna prostorové struktury (příčiny?)
5. „Zrod“ PrP<sup>sc</sup> (scrapie)
6. Odolnost vůči enzymatickým procesům

Nobelova cena: 1976 (Gajdusek, Blumberg), 1997 (Stanley Prusiner), ... ..

Byl objeven protein (PrP), který je i za normálních okolností syntetizován neurony a v mozku odpovídá za navození stavu relaxace. Z dosud nezjištěných příčin však tento normální, celulární protein mění svoji prostorovou strukturu, takže v domovských neuronech i uvnitř neuronů hostitelského organismu vyvolává vakuolové degenerace. Podstatou vakuolových degenerací je fakt, že pozměněný protein již odolává působení enzymů buňky, které mají nadbytečný protein za normálních okolností odbourávat.



## Glykosil-fosfatidyl-inositol (GPI)

- 2008: vědci v Curychu a Mnichově uměle syntetizovali sekvenci aminokyselin, která v experimentu vyvolala změny podobné BSE. Klíčem je GPI:
  - GPI je součástí PrP<sup>sc</sup> (nikoliv PrP<sup>c</sup>)
  - GPI umožňuje ukotvit priony na povrchu buněk svého hostitele



Ein Schlüssel gegen BSE? DLG-Mitteilung, 2008, č. 12, s. 8, [www.bezpecnostpotravin.cz](http://www.bezpecnostpotravin.cz)

Prionová teorie byla potvrzena teprve v roce 2008, když byla vědeckým týmem uměle syntetizována sekvence aminokyselin, která po inokulaci do hostitelského organismu vyvolala podobné změny v mozku, jaké byly pozorovány u různých forem TSE u zvířat.

## Klinický obraz TSE u zvířat

- Neklid, podrážděnost, strach
- Poruchy koordinace pohybu, slabost zadních končetin, záchvaty kopání a zívání, nutkavé hrabání jednou nohou, napadání jiných kusů, zvýšené škrábání (ovce, kozy)
- Snížení dojivosti, neklid při dojení
- Hubnutí, spavost, trvalé ulehnutí, ochrnutí
- **Ale: chybí teplota a další příznaky zánětu!**

Jelikož pozměněný scrapiový protein není typickým patogenním činitelem, jako např. prvok, bakterie nebo virus, v klinickém obrazu postižených zvířat chyběly známky zánětu, které jinak provázejí standardní průběh většiny dosud známých infekcí.

## TSE u lidí

### ■ Creutzfeldt – Jacobova nemoc

- Sporadická f., iatrogenní f.
- 1920, 1921, ...

### ■ GSS syndrom

- 1936: Gerstmann-Straussler-Scheinkerův sy, poruchy jemné motoriky

### ■ Kuru

- 1957: kanibalské praktiky domorodých kmenů, Nová Guinea

### ■ FFI (fatální familiární insomnie)

Transmisibilní spongioformní encefalopatie byly známy také u lidí, dávno před objevením BSE. Nejrozšířenější byla Creutzfeld-Jacobova nemoc, která se dosud vyskytovala sporadicky a takto byla poprvé popsána už kolem roku 1920. Obdobnou patofyziologií se vyznačuje také GSS syndrom nebo fatální familiární insomnie.

V roce 1957 byly dokonce objeveny praktiky domorodého kmene kanibalů na ostrovech Nové Guinei, kde k běžným rituálům patřilo pozření mozku poraženého bojovníka. Nemoc kuru se vyskytovala pouze u bojovníků jako spasmus žvýkacích svalů („syndrom smějícího se muže“). Experimentálně se podařilo obdobným mechanismem nemoc kuru přenést na šimpanze.

## Klinické příznaky TSE u lidí

### ■ Kuru

- Etnikum Fore v Nové Guinei
- Rituální kanibalismus
- Třes, psychické poruchy, syndrom „smějícího se muže“ (spasmus žvýkacích svalů)
- Dlouhá inkubační doba
  - I když ještě pravá příčina nebyla známa, nástup příznaků po dlouhém časovém odstupu od rituálu
- Onemocnění se podařilo experimentálně vyvolat u šimpanze

## Klinické příznaky TSE u lidí

### ■ Fatální familiární insomnie

1. Nespavost
  2. Změny osobnosti (úzkosti, halucinace)
  3. Spánková deprivace
  4. Vyčerpání organismu
  5. Kóma, smrt
- Dědičnost

## Klinické příznaky TSE u lidí

- **Creutzfeldt – Jacobova nemoc**
  - Sporadická nebo familiární forma
  - Degenerativní onemocnění CNS
  - Výskyt u osob ve vyšším věku
  - Změny chování, poruchy (krátkodobé) paměti, dezorientace v čase a prostoru, apatie
- 1996: nová varianta CJD (vCJD)

V roce 1996 se ve Velké Británii poprvé objevilo onemocnění, které bylo svoji symptomatologií velmi podobné klasické Creutzfeld-Jacobově nemoci, ovšem mělo určité odlišné znaky. Nově vzniklé onemocnění bylo označeno jako nová varianta Creutzfeld-Jacobovy nemoci (vCJD).

## CJN vs. vCJN

Charakteristika	CJN	vCJN
Průměrný věk nemocných v době propuknutí nemoci	68 r.	28 r.
Trvání nemoci (od začátku klinických příznaků)	4 – 5 měs.	13 – 14 měs.
Neurologická symptomatologie	Časná	Pozdní
Změny na EEG	Často přítomny	Často chybí
Imunohistochemická analýza tkáňového moku	Občasné akumulace částic	Převažuje akumulace částic
Detekce prionu v tkáňovém moku	Nesnadná	Snadná

vCJN, v porovnání s klasickou formou Creutzfeld-Jacobovy nemoci, se od začátku projevovala odlišnostmi, které shrnuje tabulka. vCJN postihuje především mladé osoby, má poněkud odlišný a pomalejší průběh a odlišují se také laboratorní výsledky specializovaných vyšetření (EEG, imunologická vyšetření). Anamnestickými a epidemiologickými metodami bylo prokázáno, že osoby, které utrpěly vCJN konzumovaly tradiční britskou lahůdku – hovězí mozeček.

## Možnosti přenosu TSE u lidí

### CJD

- Získání změněné bílkoviny prionu od jiné osoby
  - Rituální kanibalismus („kuru“)
  - Iatrogenní přenos (transplantace rohovek, transplantace dura mater, získávání růstových hormonů, kontaminace instrumentária, transfuze)

Priony odolávají nízkoteplotním dekontaminačním režimům (chemická sterilizace, vyšší stupeň dezinfekce, var)

Používá se u termolabilního lékařského instrumentaria, dosud stačilo k prevenci běžných infekcí (vč. HIV/AIDS)

### vCJD

- Konzumace rizikové potraviny
  - Stravovací zvyklosti mladších ročníků?
- Hovězí tkáň, ve kterých byly priony prokázány
  - Mozek, mícha, oko, střevo, brzlík
- Hovězí tkáň, ve kterých priony dosud prokázány nebyly
  - Maso, mléko

vCJD je klinickou manifestací přenosu BSE na člověka

Obdobně jako v případě přenosu BSE masokostní moučkou, byla vyslovena teorie, že i klasická forma CJD může být přenosná ve vzácných případech interhumánně. Interhumánní přenos připadá do úvahy např. při použití neurochirgického instrumentária, na kterém byly zbytky proteinu (prionu) po předchozím ošetření osoby trpící CJD. Pravděpodobnější však byla možnost přenosu hormonálními přípravky získanými z hypofýz zemřelých osob, příp. cestou transplantací oční rohovky nebo dura mater. Náhlý vzestup počtu onemocnění vCJD ovšem nemohl odpovídat frekvenci rizikových terapeutických zákroků. Vše tedy směřovalo ke konzumaci rizikových hovězích produktů.

## Preventivní opatření proti BSE

- Opatření závazná pro EU
  - 1988: povinné hlášení výskytu BSE
  - 1989: zákaz importu živého skotu z Velké Británie
  - 1990: stanovení podmínek bezpečné likvidace hovězího odpadu
  - 1991: zákaz zkrmování masokostních mouček přežvýkavcům

Když se potvrdil určitý přenositelný charakter vCJD, bylo nutné co nejrychleji přijmout určitá represivní opatření směřující k okamžitému přerušení expozičních cest směřujících od hovězích produktů k člověku. Dále bylo zapotřebí zastavit další šíření BSE u hovězího dobytka prostřednictvím masokostních mouček.



## Preventivní opatření proti BSE

### ■ Opatření závazná pro EU

- 1996: zpřísnění parametrů zpracování kafilerního odpadu (V ČR platí nepřetržitě od r. 1962)
  - Teplota více než 133 st. C
  - Čas 20 min.
  - Tlak 3 bary (= 2,961 atm.)
  - Velikost částic 50 mm
- 2001: zavedení rychlých testů – SVÚ
  - Všechna zvířata (skot) z normální porážky starší 30 měs.
  - Všechna zvířata (skot) se sanitární porážky starší 24 měs.
  - Zvířata s klin. příznaky nervového onem. starší 20 měs.
  - Náhodně vybraná uhynulá zvířata starší 24 měs.

Po vlně prvních represivních opatření následovalo přijetí specifických preventivních opatření, jako bylo znovuzavedení autoklávování masokostních mouček a nově také testování každého potenciálně rizikového poraženého kusu dobytka.

## Preventivní opatření proti BSE

### ■ Povinné značení hovězího masa

- Země narození zvířete a země porážky zvířete (je-li údaj totožný, uvede se slovem „Původ...“)
- Registrační číslo závodu (jatká i bourárna)
- Registrační číslo zvířete
- Slovo: „mladý skot“, „mladý býk“, „býk“, „volek“, „jalovice“, „kráva“

Studie výboru BIOHAZ/EFSA (2010) konstatuje, že nebylo prokázáno, že by bovinní spongiformní encefalopatie (BSE) a další formy spongiformních encefalopatií zjištěných u malých přežvýkavců (např. scrapie) byly přenosné na lidi

Každé kus hovězího masa v tržní síti musí být označen místem původu a také údajem, zda se jedná o maso z mladého zvířete (mladší než 30 měsíců) nebo ze zvířete staršího a tedy potenciálně rizikového. Vědecký výbor pro hodnocení biologických rizik při Evropském úřadu pro bezpečnost potravin (BIOHAZ/EFSA) na základě vědeckých zjištění konstatoval, že zvířata mladší 30 měsíců nejsou rizikem (neuplynula doba potřebná k syntéze pozměněného, scrapiového proteinu).

## Represivní opatření proti BSE

tzn. při pozitivním záchytu

- zákaz přesunu dobytka
- utracení „vrstevníků“ a potomstva
- likvidace v asanačním podniku Chotýčany (JČ kraj) - specifikovaný rizikový materiál

V případě, že povinné testy prokáží výskyt BSE, přistupuje se k likvidaci všech vrstevníků a potomstva. Opatření má preventivní charakter a jeho důvodem je tzv. předběžná opatrnost. V současné době vědecké poznání problematiky BSE nedosáhlo ještě takového stupně, aby byly spolehlivě poznány všechny možnosti přenosu. Prvořadá je v tomto případě absolutní ochrana zdraví člověka-spotřebitele.

## Incidence BSE

tzn. záchyt pozitivních vzorků u skotu

 UK: 700 pozitivních/10 tisíc vyšetření

 ČR: 0,28 pozitivních/10 tisíc vyšetření

□ 2001 až 2010

■ 1 556 678 vyšetřených ks dobytka

■ 30 pozitivních případů

Jak vyplývá z dostupných údajů, záchyt pozitivních výsledků při povinných postmortálních testech zvířat jsou velmi vzácné, ale nikoliv nulové. BSE si tedy zaslouží přiměřenou pozornost, která se projevuje ve specifických veterinárních opatřeních, která se projevila jak velice účinná.

## Incidence lidských onemocnění odhad

- CJN                    1 případ/1 000 000 obyvatel
  - vCJN v ČR dosud nediodnostikována
- GSS sy                1 případ/2 000 000 obyvatel
- kuru                    vyhasíná

## Co přinesla BSE?

- Nový náhled na infekci
  - Infekce nemusí být způsobena jen taxonomicky zařazeným původcem (bakterie, virus), ale také vnesením cizí bílkoviny, která z dosud nezjištěných získala nové vlastnosti
- Přerušování/ukončení snah o zvýšení užitkovosti dobytka „za každou cenu“
- Změny ve strategii dozoru nad obchodem se živočišnými produkty
- Ověření významu preventivních i represivních opatření v praxi, protože...

... výskyt pozitivních záchytů BSE u vyšetřovaných kusů dobytka se meziročně snižuje.