

Bovina spongiformna encefalopatija i mlijeko

Mirko JUNG¹⁾, prof. dr. sc., dr. med.,
specijalist mikrobiolog
Polona LAVTAR²⁾, dipl. san. ing.

¹⁾ Thalwil, Zurich, Švicarska

²⁾ Kmetijsko-gozdarska zadruga, Lesce,
Slovenija

Ključne riječi

BSE
mlijeko
prioni
PrP^{Sc}

Key words

BSE
milk
prions
PrP^{Sc}

Primljeno: 2008-07-14

Received: 2008-07-14

Prihvaćeno: 2008-09-15

Accepted: 2008-09-15

Uvod

Opisana je 1987. godine nova progresivna spongiozna encefalopatija goveda (BSE) [1].

Prvi slučaj te bolesti pojavio se u proljeće 1985. godine. Klinička slika razlikovala se od do tada poznatih oboljenja goveda, a podsjećala je na neurološke simptome kod scrapie (svrbljivac) kod ovaca i koza, te nekih drugih preživača (srna u Sjevernoj Americi).

Sličnost scrapie i encefalopatije kuru, koja se javlja u ljudi na Novoj Gvineji opisana je još ranije 1959. godine [2]. Gajdušek i suradnici za to otkriće dobili su Nobelovu

Pregledni članak

Bovina spongiformna encefalopatija (BSE) je prionska bolest goveda, koja se pojavila 1985. godine u Velikoj Britaniji i izazvala veliku epidemiju izrokovanu hranom. Oboljelo je više od milijun životinja.

Bolest se širila izvozom britanskih prehrambenih proizvoda za goveda (mesno i koštano brašno), najviše u europske zemlje, zatim Kanadu, Sjedinjene Američke Države i Japan.

BSE je prenosiva na ljude konzumacijom inficiranog mesa; više od 160 slučajeva ove »varijante« Creutzfeldt-Jacobove bolesti je bila potvrđena u Velikoj Britaniji, 26 u Francuskoj i rijetki slučajevi u drugim zemljama. Konatalna infekcija u potomaka inficiranih goveda se javlja u nekih 10 %. Mlijeko je od ogromne važnosti u ljudskoj prehrani, osobito djece, a infektivnost mlijeka u ovom času još nije sasvim jasna, i premda je malo vjerojatna, ipak najnovija istraživanja pokazuju, da je moguća u određenim uvjetima, i stoga su potrebna dalja istraživanja, te epidemiološke mjere za izolaciju mogućih rizičnih životinja. Za jednu drugu sličnu prionsku bolest, a to je scrapie, infektivnost mlijeka je dokazana.

Situacija na svjetskom tržištu mlijeka je danas kaotična i zahtijevala bi usku suradnju odgovornih političara i ekonomista, uz stručni nadzor veterinaru i liječnika u svijetu i u Hrvatskoj.

Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE) and Milk

Review article

BSE, a prion disease of cattle, started about in 1985 and caused a large food epidemic in Great Britain with over a million of infected animals. The disease has spread, by British foodstuff export, involving most of the European countries, Canada, United States of America and Japan. BSE was transmissible for humans by infected meat consumption; over 160 cases of this »variant« Creutzfeldt-Jacob disease were confirmed in Great Britain, 26 in France and rare cases in many other countries. Connatal infection in cattle occurs in some 10 percent. Milk appears of enormous importance for humans in general, but particularly for children. Its BSE infectivity has not been clear at present as shown by recent studies in another similar prion disease, scrapie. The situation in the world milk market appears actually chaotic requiring a close cooperation between authorities in politic and economy as well as between veterinary and human medical officers studying the situation in Croatia.

nagradu. Dvadesetak godina poslije [3] dokazali su zaraznost moždanog tkiva čovjeka oboljelog od Creutzfeldt-Jacobove bolesti (CJB), inokulirajući intracerebralno kozama moždano tkivo oboljelog čovjeka. Tada su koze oboljele s tipičnom kliničkom slikom scrapie-a.

Prijenos nove BSE na čovjeka su dokazali 1986. godine [4] i nazvali su je varijantom CJB (vCJB). Važno je istaknuti da od prionskih bolesti životinja, za čovjeka je patogena samo BSE.

Za sve oblike prionske bolesti značajan je molekularno-biološki srodan uzročnik PRION, »protein infectiosus«

[5], neosjetljiv na dekontaminaciju nukleinskog materijala, što je jedinstveno u infektivnoj patologiji.

BSE se epidemično proširila u Velikoj Britaniji (VB), a oboljelo je i uginulo na stotine tisuća goveda, a više od milijun je eutanazirano i spaljeno da se spriječi širenje epidemije [6].

Simptomi bolesti su neurološki i vrlo su dobro opisani [7] što nije bilo teško zbog istovremene pojave velikog broja oboljelih životinja. Unatoč tome, danas je prepoznavanje neusporedivo teže, naročito u zemljama gdje se javljaju sporadični slučajevi. Veliki problem u dijagnostici pretstavlja duga inkubacija 2–6 godina i više, a za sve to vrijeme životinja je infektivna.

U asimptomatskoj, inkubacionoj fazi dijagnoza nije moguća niti uz pomoć najsuvremenijih molekularno bioloških metoda. Intenzivna epidemiološka istraživanja su ubrzo pokazala da je jedini uzročni faktor, odgovoran za epidemiju, bio identičan u svim dijelovima VB.

Epidemija se širila hranom (food epidemics) za goveda. Hrana za goveda sadržavala je tzv. mesno koštano brašno (MKB), pripremljeno od otpadaka tkiva i kosti zaraženih životinja [8].

Proteini zaklanih BSE inficiranih životinja, pa tako i prionski proteini, sadržani su u MKB, što je dokazano u velikim europskim studijama pomoću najosjetljivijih metoda – prijenos infekta na laboratorijske životinje [9].

Upotreba MKB za hranjenje goveda zabranjena je u VB već 1988. godine, ali nije bio zabranjen izvoz. Britanska vlada je ipak savjetovala kupcima da ne koriste MKB za prehranu goveda [10]. Uspriko toga BSE se proširila na većinu europskih zemalja te Kanadu, Sjedinjene Američke Države i Japan, što se može pripisati britanskom MKB [11].

Sudbina MKB u svijetu ni danas nije jasna i pitanje je što uraditi sa 17 milijuna tona, koje se proizvode u Europi svake godine. Danas postoje brojne metode za dokaz infektivnosti MKB, ali u praksi nije moguće kontrolirati sve serije MKB proizvedene u Europi niti iz tehničkih niti iz financijskih razloga.

Istom 2005. godine. opisan je prvi BSE u koza [12] što je potvrdila i Europska komisija [13]. Stoga je opravdana zabrana MKB za hranu, osim govedu, ovcama i kozama, odnosno za sve preživače.

Drugi način širenja epidemije hranom dokazan je prijenosom scrapie-a u ovaca koje su pasle na pašnjacima gdje su prije boravile bolesne ovce. Naime, dokazano je da patološki prioni (PrP^{Sc}) zakopani u tlu mogu godinama ostati infektivni [14].

Sljedeći je problem bio mogućnost, vertikalnog, konatalnog prijenosa BSE. Istraživanja su trajala više od 7 godina i nakon toga su objavljeni definitivni rezultati [15, 16].

Ispitivali su 301 kravu s dokazanom BSE (A skupina) i 301 klinički zdravu kravu (B skupina). U skupini A obolje-

lo je 14 % teladi, a u skupini B 4,3 %. Rezultati su bili statistički značajni, no nije bilo moguće isključiti genetski ili neki drugi razlog. To su potvrdili i drugi istraživači i danas treba računati s oko 10 % konatalno zaraženih životinja. [17]. Vertikalni prijenos dokazan je i na transgenim miševima [18]. Zato se pojava novih slučajeva BSE može očekivati sljedećih godina. Takav je primjer Slovenija, u kojoj je posljednjih godina registrirano 8 BSE-a.

Opasnost KMB za zarazu BSE-om nije u potpunosti eliminirana. Zabrana upotrebe MKB je općenito još na snazi, a prijedlozi za njeno korištenje u prehrani peradi (hrvatski prijedlog), a lateralni pokusi sa svinjama i peradi hranjenima MKB-om u Njemačkoj i Francuskoj nisu definitivno obrađeni [19, 20]. Zato je totalno spaljivanje MKB još uvijek najbolje rješenje, no ostaje pitanje da li za to imamo dovoljno kapaciteta.

U posljednje su se vrijeme pojavile političke krize s BSE-om, tako je u Južnoj Koreji došlo do masovnih demonstracija protiv uvoza goveda iz SAD-a, zbog dokazane BSE.

U SAD-u su do sada dokazali samo 3 BSE, a od tih su dva bila uvezena iz Kanade, a porijeklo trećeg nije poznato. Kako SAD uzgaja više stotina milijuna goveda, korejski protest nema pravog razloga, ali je politički manipuliran. Nasuprot tome nitko ne protestira u Europi, iako u nekim zemljama imaju registriranih na tisuće BSE-a, ali i bolesnih ljudi od vCJB, kao rezultat konzumacije inficirane govedine. U Francuskoj je bilo 26 bolesnika od vCJB, a nije bilo moguće povezati s boravkom bolesnika u VB, u kojoj je bilo više od 160 oboljelih.

Mlijeko i prionska infekcija

U vezi s dokazom konatalnih slučajeva infekcije pojavilo se i pitanje mogućnosti zaraženosti mlijeka muznih krava. To je od ogromne važnosti za prehranu ljudi općenito, a posebno za djecu. Rezultati prvog znanstvenog istraživanja na miševima opisani su 1995. godine [21].

Uzorke mlijeka su injicirali mladim miševima R III/FaDK te ih opservirali tijekom 653 dana. Drugoj skupini miševa mlijeko su zamijenili vodom. Neuropatološkim ispitivanjem obje skupine miševa nakon 700 dana nisu nađeni znakovi bolesti.

U drugom istraživanju 132 teleta hranjena su mlijekom krava oboljelih od BSE, no do infekcije teladi nije došlo [22].

Opisana istraživanja govore protiv infektivnosti mlijeka bolesnih krava.

U prvim eksperimentalnim istraživanjima za dokaz PrP^{Sc} laboratorijske metode nisu bile dovoljno osjetljive u usporedbi s današnjim i bilo je premalo istraživanja.

Godine 2002. Scientific Steering Committee/EU Commission svrstao je mlijeko, colostrum i mliječne žljezde u

skupinu 4, što znači da infektivnost nije dokazana [25], no već sljedeće godine M. Clauss je upozorio da zdrave muzne krave hranjene MKB-om mogu prenijeti patološki prion u colostrum i tako inficirati tele [26]. Zbog izvanredno duge inkubacije ta je krava registrirana kao BSE negativna.

Godine 2004. ispitivan je rizik prijenosa infekcije na govedima, zamjenama mlijeka, odnosno, hranom na osnovi purificiranog loja, ali ova metoda je imala mnoge nedostatke i rezultati su nesigurni [27].

U Italiji su istraživali sigurnost mlijeka i mliječnih derivata [28]. U mlijeku, colostrumu i tkivu mliječnih žljezda klinički zdravih životinja nije se dokazala BSE infektivnost. S. J. Everest i suradnici su 2006. godine ispitali muzne krave koje su zarazili s mozgom BSE pozitivnih životinja, a zatim ispitivali mlijeko od prvog tjedna laktacije u desetotjednim intervalima metodom BSE/ELISA i nisu našli PrP^{Sc} u stanicama mlijeka zaraženih krava.

U Njemačkoj su 2005. godine u devet mjeseci otkrili 382 slučaja BSE (od toga u Bavarskoj 123) [30]. Više zaraženih krava, iako ih nisu hranili MKB-om, nađeno je na onim farmama gdje su **MKB-om hranili perad i svinje**.

U Kanadi su 2007. godine našli samo 7 slučajeva BSE [31], od toga samo jedna muzna krava.

Mlijeko prema tome ne bi trebalo biti opasno za čovjeka. Iako je dobro poznato da prionska zaraza je ograničena na centralni živčani i limfatički sustav, posljednjih se godina pokazalo da u goveda koja imaju BSE u koincidenciji s kroničnim nefritisom može doći do urinarne ekskrecije priona [32]. Na taj bi način urin mogao imati važnu ulogu u horizontalnom prijenosu priona. Na to je puno ranije upozorio Narang [33], no u Švicarskoj i VB nisu mu dozvolili pregledavati urine oboljelih životinja. Isto tako se pokazalo da kronična upala limfatičnih organa može utjecati na prirodnu ili jatrogenu transmisiju priona. Moguće je da se slični procesi odvijaju i među uzgajanim životinjama [35].

Istraživanje većeg broja ovaca na scrapie na Sardiniji, pokazalo je da od 818 pregledanih samo njih 7 je imalo klasičan scrapie s PrP^{Sc} u mozgu, limfnim čvorovima i u tonsilama. U 7 oboljelih i 100 zdravih pregledane su mliječne žlezde metodom Western Blot, imunokemije i histoblot. U 4 bolesne životinje s mastitisom našli su PrP^{Sc} u mliječnim žljezdama, u ostalih nisu našli PrP^{Sc}.

Pregledano je još jedno stado od 272 ovce, koje se nalazilo udaljeno oko 30 km od prvog. Samo je jedna ovca imala scrapie i mastitis te PrP^{Sc} u mozgu, tonsilama i mliječnim žljezdama. Iz toga slijedi da koincidencija scrapie-a i kronične upale može olakšati depoziciju priona u tkivima koji nisu primarno rizična [36].

U proizvodnji mlijeka je posljednjih godina došlo do velikih promjena. U vrijeme globalizacije je potrošnja mlijeka sve veća, a s tim u vezi porasle su i nabavne cijene mlijeka. U Europskoj uniji nastoje agrarnu politiku reformirati

tako da povise do sada ograničene kvote proizvodnje mlijeka, a do 2015. godine će ograničenje potpuno ukinuti.

Velika potražnja mlijeka i mliječnih proizvoda, pa čak i u siromašnim, nerazvijenim zemljama, dovela je do povećanja cijena gotovo za 50 %.

Vrijednosni papiri proizvođača mlijeka su posljednjih godina porasli za 120 %, a naročito na tržištu Kine, gdje je potrošnja po stanovniku udvostručena. Kina ne može podmiriti svoje potrebe za mlijekom, jer proizvodnja godišnje raste za oko 1 %, a potreba za 2,5–3 %, pa je prisiljena uvoziti mlijeko i mliječne proizvode iz Europe (koja proizvodi oko 214 milijuna tona (mt) godišnje) najviše iz Njemačke i Francuske. Situacija na tržištu mlijeka je u svijetu i Europi kaotična, i to treba biti upozorenje i Hrvatskoj da čuva svoju zdravu mljekarsku industriju. Prodaja mliječne industrije morala bi biti kontrolirana od stručnih i državnih službi.

Zaključak

Na temelju prikazanih istraživanja i današnjih znanja, mlijeko i mliječni proizvodi nisu infektivni za ljude. Ipak, treba biti oprezan s inficiranim kravama koje imaju mastitis. U oko 10 % teladi moguće je vertikalni prijenos BSE-a od inficiranih krava-majki, pa se BSE može u sljedećim godinama očekivati, ali u malom broju.

Literatura

- [1] Wells GA, Scott AC, Johnson CT i sur. A novel progressive spongiform encephalopathy in cattle. *Vet Rec* 1987;121:419–20.
- [2] Hadlow WJ. Scrapie and Kuru. *Lancet* 1959;II:289–90.
- [3] Hadlow WJ, Prusiner SB, Kennedy RC, Race RE. Brain tissue from persons dying of Creutzfeldt-Jakob disease causes scrapie-like encephalopathy in goats. *Ann Neurol* 1980;8:628–32.
- [4] Will RG, Ironside JW, Zeidler M i sur. A new variant of Creutzfeldt-Jakob disease in the UK. *Lancet* 1996;347:921–5.
- [5] Prusiner SB. Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. *Science* 1982;216:136–44.
- [6] Phillips Lord, Chairman of the BSE inquiry, closing statment. *Veterinary Record*, January 1, pages 2–3, 2000. Full details of the inquiry available at www.bse.org.uk
- [7] Konold T, Sivam SK, Ryan J, Gubbins S, Laven R, Howe MJ. Analysis of clinical signs associated with bovine spongiform encephalopathy in casualty slaughter cattle. *Vet J* 2006;171:438–44.
- [8] Wilesmith JW, Wells GA, Cranwell MP, Ryan JB. Bovine spongiform encephalopathy: epidemiological studies. *Vet Rec* 1988;123: 638–44.
- [9] Taylor DM, Woodgate SL, Atkinson MJ. Inactivation of the bovine spongiform encephalopathy agent by rendering procedures. *Vet Rec* 1995;137:605–10.
- [10] Jung M. Infezioni iatrogene da prioni in ospedale e prevenzione. *Aspetti attuali di Igiene ospedaliera*. The University of Rome Tor Vergata, Aula Fleming, Febbraio 2004.

- [11] Taylor DM, Woodgate SL. Bovine spongiform encephalopathy: the causal role of ruminant-derived protein in cattle diets. *Rev Sci Tech* 1997;16:187–98.
- [12] Brugère-Picoux J, Adjou K, Brugère H. Update on transmissible spongiform subacute encephalopathies (TSSE). *Bull Acad Natl Med* 2005;189:389–98.
- [13] No authors. BSE agent in goat tissue: first known naturally occurring case confirmed. *Euro Surveill* 2005;10:E050203.1.
- [14] Brown P. Auch beerdigt bleiben die Erreger quicklebendig. *Medical Tribune* 1991: Jun 21.
- [15] Wilesmith JW. Creutzfeldt-Jakob disease and bovine spongiform encephalopathy. Cohort study of cows is in progress. *BMJ* 1996;312:843.
- [16] Wilesmith JW, Wells GA, Ryan JB, Gavier-Widen D, Simmons MM. A cohort study to examine maternally-associated risk factors for bovine spongiform encephalopathy. *Vet Rec* 1997;141:239–43.
- [17] Raeber AJ, Oesch B. Diagnostics for TSE agents. *Dev Biol (Basel)* 2006;123:313–23.
- [18] Castilla J, Brun A, Díaz-San Segundo F i sur. Vertical transmission of bovine spongiform encephalopathy prions evaluated in a transgenic mouse model. *J Virol* 2005;79:8665–8.
- [19] Pottgiesser C, Ovelhey A, Ziller M, Kramer M, Selhorst T, Conraths FJ. Potential risk factors associated with bovine spongiform encephalopathy in cattle from Schleswig-Holstein, Germany. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health* 2006;53:306–11.
- [20] Abrial D, Calavas D, Jarrige N, Ducrot C. Poultry, pig and the risk of BSE following the feed ban in France—a spatial analysis. *Vet Res* 2005;36:615–28.
- [21] Taylor DM, Ferguson CE, Bostock CJ, Dawson M. Absence of disease in mice receiving milk from cows with bovine spongiform encephalopathy. *Vet Rec* 1995;136:592.
- [22] Wilesmith JW, Ryan JB. Absence of BSE in the offspring of pedigree suckler cows affected by BSE in Great Britain. *Vet Rec* 1997;141:250–1.
- [23] Wadsworth JD, Joiner S, Hill AF, Campbell TA, Desbruslais M, Luthert PJ, Collinge J. Tissue distribution of protease resistant prion protein in variant Creutzfeldt-Jakob disease using a highly sensitive immunoblotting assay. *Lancet* 2001;358:171–80.
- [24] Domingo JL. Lack of experimental studies on human transmission of BSE in relation with the consumption of specified risk materials (SRM): the case of the milk. *Prev Med* 2002;34:655–6.
- [25] Heeschen WH. BSE: milk and risk potential? *Dtsch Tierarztl Wochenschr* 2002;109:350–3.
- [26] Clauss M. Do cows fed BSE-infected meat and bone meal in the colostrum-producing stage pass on infectious BSE agent to their calves? *Med Hypotheses* 2003;61:439–43.
- [27] Paisley LG, Hostrup-Pedersen J. A quantitative assessment of the risk of transmission of bovine spongiform encephalopathy by tallow-based calf milk-replacer. *Prev Vet Med* 2004;63:135–49.
- [28] Vetrugno V. Safety of milk and milk derivatives in relation to BSE: the lactoferrin example. *Biometals* 2004;17:353–6.
- [29] Everest SJ, Thorne LT, Hawthorn JA i sur. No abnormal prion protein detected in the milk of cattle infected with the bovine spongiform encephalopathy agent. *J Gen Virol* 2006;87(Pt 8):2433–41.
- [30] Clauss M, Sauter-Louis C, Chaheer E i sur. Investigations of the potential risk factors associated with cases of bovine spongiform encephalopathy in Bavaria, Germany. *Vet Rec* 2006;158: 509–13.
- [31] Tyschenko MG. Bovine spongiform encephalopathy and the safety of milk from Canadian dairy cattle. *Vet Rec* 2007;160:215–8.
- [32] Seeger H, Heikenwalder M, Zeller N i sur. Coincident scrapie infection and nephritis lead to urinary prion excretion. *Science* 2005;310:324–6.
- [33] Narang H. Rinderwahn. *Neue Revue* 1996: No. 9, 22.02.
- [34] Heikenwalder M, Zeller N, Seeger H i sur. Chronic lymphocytic inflammation specifies the organ tropism of prions. *Science* 2005;307:1107–10.
- [35] Ligios C, Sigurdson CJ, Santucci C i sur. PrPSc in mammary glands of sheep affected by scrapie and mastitis. *Nat Med* 2005;11:1137–8.
- [36] Aguzzi A. Prion diseases of humans and farm animals: epidemiology, genetics, and pathogenesis. *J Neurochem* 2006;97:1726–39.