



VKM Report 2021: 08

Oppdatert kunnskap om det zoonotiske potensialet av skrantesjuka ved håndtering av slakt og konsum av kjøtt

Vitenskapelig uttalelse fra faggruppen for hygiene og smittestoffer i Vitenskapskomiteen for mat og miljø

VKM Report 2021:08

Oppdatert kunnskap om det zoonotiske potensialet av skrantesjuka ved håndtering av slakt og konsum av kjøtt

Vitenskapelig uttalelse fra faggruppen for hygiene og smittestoffer i Vitenskapskomiteen for mat og miljø

01.06.2021

ISBN: 978-82-8259-362-5

ISSN: 2535-4019

Vitenskapskomiteen for mat og miljø (VKM)

Postboks 222 Skøyen

0213 Oslo

Norway

Tel: +47 21 62 28 00

Email: vkm@vkm.no

vkm.no

Cover photo: Olav Strand

Suggested citation: VKM, Tranulis, M., Grahek-Ogden, D., Kapperud, G., Pahnke, J., Skjerdal, T., Aspholm, M., Jore, S., Melby, K.K., Møretrø, T., Nesbakken, T., Robertson, L. (2021).

Title. Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards of the Norwegian Scientific Committee for Food and Environment. VKM Report 2021:08, ISBN: 978-82-8259-362-5, ISSN: 2535-4019. Norwegian Scientific Committee for Food and Environment (VKM), Oslo, Norway.

Oppdatert kunnskap om det zoonotiske potensialet av skrantesjuka ved håndtering av slakt og konsum av kjøtt

Utarbeidelse av vurderingen

Vitenskapskomiteen for mat og miljø (VKM) utnevnte en prosjektgruppe for å svare på oppdrag fra Mattilsynet. Prosjektgruppen besto av ett VKM medlem av faggruppen for hygiene og smittestoffer, to eksterne eksperter og en prosjektleder fra VKMs sekretariat. VKMs faggruppe for hygiene og smittestoffer evaluerte og godkjente den endelige vurderingen utarbeidet av prosjektgruppen.

Forfattere

Medlemmer av prosjektgruppen som har bidratt til å utarbeide vurderingen:
(alfabetisk etter faglig ansvarlig):

Michael A. Tranulis – Faglig ansvarlig for prosjektgruppen. Tilknytning: 1) Norwegian University of Life Sciences

Danica Grahek-Ogden – Prosjektleder, VKM-ansatt. Tilknytning: 1) VKM

Georg Kapperud – medlem av faggruppe for hygiene og smittestoffer i VKM. Tilknytning: 1) VKM, 2) Folkehelseinstituttet, 3) Norges miljø- og biovitenskapelige universitet

Jens Pahnke – Ekstern ekspert i nevropatologi. Tilknytning: 1) Universitetet i Oslo, 2) Oslo Universitetssykehus

Medlemmer av faggruppen for hygiene og smittestoffer som har bidratt til godkjenning av vurdering (alfabetisk foran leder av faggruppen):

Marina Aspholm - medlem av faggruppe for hygiene og smittestoffer i VKM. Tilknytning: 1) VKM, 2) Norges miljø- og biovitenskapelige universitet

Solveig Jore – medlem av faggruppe for hygiene og smittestoffer i VKM. Tilknytning: 1) VKM, 2) Folkehelseinstituttet

Georg Kapperud – medlem av faggruppe for hygiene og smittestoffer i VKM. Tilknytning: 1) VKM, 2) Folkehelseinstituttet, 3) Norges miljø- og biovitenskapelige universitet

Kjetil K. Melby – medlem av faggruppe for hygiene og smittestoffer i VKM. Tilknytning: 1) VKM, 2) Universitet i Oslo, 3) Oslo Universitetssykehus

Trond Møretrø – medlem av faggruppe for hygiene og smittestoffer i VKM. Tilknytning: 1) VKM, 2) Nofima

Truls Nesbakken – medlem av faggruppe for hygiene og smittestoffer i VKM. Tilknytning: 1) VKM, 2) Norges miljø- og biovitenskapelige universitet

Lucy Robertson – medlem av faggruppe for hygiene og smittestoffer i VKM. Tilknytning: 1) VKM, 2) Norges miljø- og biovitenskapelige universitet

Taran Skjerdal – leder av faggruppe for hygiene og smittestoffer i VKM. Tilknytning: 1) VKM, 2) Veterinærinstituttet

Kunngjøring

VKM vil takke høringsekspertene Dr. Mark Zabel, (Prion Research Center, Colorado State University, CO, USA) og Dr. Hermann Schätzl (Faculty of Veterinary Medicine, University of Calgary, Alberta, Canada) for kommentarer og synspunkter på vurderingen. VKM understreker at de to som høringsekspertene ikke er ansvarlige for innholdet i vurderingen.

Kompetanse hos VKM eksperter

Personer som arbeider for VKM, enten som utnevnte medlemmer av komiteen eller som eksterne eksperter, gjør dette i kraft av sin vitenskapelige kompetanse, ikke som representanter for sine arbeidsgivere eller tredjepartsinteresser. Retningslinjer for offentlige tjenester gjelder for alt arbeid utført av VKM.

Innholdsfortegnelse

Summary	6
Sammendrag på norsk	8
Bestilling fra Mattilsynet	10
1 Konklusjoner fra tidligere vurderinger	11
2 Ny litteratur og data	12
2.1 Oppdatering av situasjon i Norge	12
2.1.1 Håndtering av slakt og prøveuttak i feltet	13
2.2 Litteratursøk	13
2.3 Funn i nye studier	14
2.3.1 Studier hvor makakaper er podet med CWD	14
2.3.2 Poding av transgene mus med norske CWD-isolater fra reinsdyr og elg	15
2.3.3 Poding av klatremus med norske CWD-isolater fra reinsdyr og elg	16
2.3.4 Informasjon fra Colorado State University / Prion Research Center	17
3 Usikkerhet	18
4 Konklusjoner (med svar på spørsmål)	19
4.1 Zoonotisk potensial	19
4.2 Direkte eller indirekte eksponering fra dyr	20
4.3 Mattrygghet	20
5 Datamangler	21
6 Referanser	22
6.1 Personlig kontakt	24
7 Vedlegg I	25
8 Vedlegg II	27

Summary

Key words: VKM, (benefit and) risk assessment, Norwegian Scientific Committee for Food and Environment, Norwegian Food Safety Authority, Norwegian Environment Agency, CWD

The Norwegian Food Safety Authority has asked VKM to provide a statement with updated knowledge about the zoonotic potential of chronic wasting disease (CWD) associated with animal slaughter and consumption of meat.

Background

The detection of CWD in a wild reindeer on Hardangervidda is a serious development showing the occurrence of CWD in a new area, and that further spread cannot be excluded. This means that the possibility of people being exposed to the infectious agent has increased. Greater exposure means, in turn, that the probability that the species barrier will be crossed has increased, with the possible development of a new, human prion disease as a very serious consequence.

New knowledge about the zoonotic potential of CWD

Since the last VKM assessment on CWD, new findings have been made from studies in which macaques were inoculated with CWD-infected material from American deer. The results from one of these studies confirm the previous conclusion that CWD can be transmitted after ingestion of CWD-infected meat and after intracerebral inoculation. Another similar study has, to date, given negative results.

Experiments have also been performed in which both bank voles and transgenic mice were inoculated with Norwegian CWD isolates derived from reindeer and moose. The conclusions from these studies are:

- CWD prions in reindeer in Norway are different from those in moose in Norway
- Both these prion strains are different from North American CWD isolates, and
- The zoonotic potential of those Norwegian CWD isolates that have been investigated is considered to be low and does not differ significantly from the zoonotic potential of North American CWD isolates.

However, there is some uncertainty associated with these results, and further investigations regarding zoonotic potential have been initiated. The results of these studies also demonstrate that results obtained from investigations on North American CWD isolates cannot necessarily be extrapolated directly to Norwegian conditions, as the Norwegian CWD strains are not the same as the American ones.

Conclusion

Our conclusion, based on the available information, is that the zoonotic potential of the Norwegian CWD variants, associated with animal slaughter and consumption of meat, is very low.

Based on our current knowledge, it cannot be excluded that CWD prions from Norwegian deer may cause disease in humans after exposure during slaughter of infected animals or consumption of meat from infected animals; however, in accordance with our previous conclusions, the risk is considered very low. The precautionary principle indicates that human exposure to CWD prions should be limited as far as possible.

As the species barrier is considered robust, but not absolute, the situation requires constant vigilance, with the intention of reducing the prevalence of CWD in Norwegian cervids and of monitoring the incidence of prion disease in people.

Data gaps

This report notes that reliable data on the incidence of sporadic prion diseases in humans in Norway is lacking. This is because currently no systematic, national autopsy system has been established for rapidly progressive dementia and Creutzfeldt-Jakob disease.

Sammendrag på norsk

Mattilsynet har bedt VKM om å oppdatere kunnskap om det zoonotiske potensialet for at skrantesjuka kan gi sykdom hos mennesker ved håndtering av slakt og konsum av kjøtt.

Bakgrunn

Påvisningen av skrantesjuka hos en villrein på Hardangervidda er en alvorlig utvikling fordi det viser forekomst av sykdommen i et nytt område, og fordi det ikke kan utelukkes at sykdommen er enda mer utbredt. Dette innebærer i så fall økt risiko for at mennesker kan bli eksponert for smittestoffet. Økt eksponering medfører i sin tur større sannsynlighet for at artsbarrieren krysses. En svært alvorlig konsekvens av dette ville være utvikling av en ny, human prionsykdom.

Ny kunnskap om det zoonotiske potensialet

Siden forrige vurdering av skrantesjuka fra VKM, er det gjort nye funn i studier hvor dyr fra apeslekten makaker er podet med skrantesjuka-infisert materiale fra amerikanske hjortedyr. Resultatene fra én av studiene bekrefter tidligere konklusjoner om at skrantesjuka har latt seg overføre etter inntak av infisert kjøtt og etter direkte overføring til hjerne. En annen, tilsvarende studie har foreløpig gitt negativt resultat.

Det er også utført forsøk der transgene mus er podet med norske skrantesjuka-isolater fra reinsdyr og elg. Klatremus er også podet med norske skrantesjuka-isolater fra både reinsdyr og elg. Konklusjonene fra disse studiene er:

- Skrantesjuka-prionene i Norge er ulike mellom reinsdyr og elg
- Skrantesjuka-prionene fra norsk reinsdyr og elg er forskjellige fra nordamerikanske skrantesjuka-isolater
- det zoonotiske potensialet til de undersøkte norske skrantesjuka-isolatene vurderes som lavt og ikke vesentlig forskjellig fra nordamerikanske

Det er imidlertid noe usikkerhet knyttet til disse resultatene, og videre undersøkelser av det zoonotiske potensialet er igangsatt. Undersøkelsene understreker også at resultatene som er oppnådd med nordamerikanske skrantesjuka-isolater ikke nødvendigvis kan overføres direkte til norske forhold, siden de norske skrantesjuka-stammene er forskjellige fra de amerikanske.

Konklusjon

Vår konklusjon, basert på foreliggende informasjon, er at det zoonotiske potensialet til de norske skrantesjuka-variantene er svært lavt, ved håndtering av slakt og konsum av kjøtt.

På bakgrunn av vår nåværende kunnskap kan det ikke utelukkes at skrantesjuka-prioner fra norske hjortedyr kan forårsake sykdom hos mennesker etter håndtering av slakt eller konsum av kjøtt fra infiserte dyr, men risikoen vurderes som svært lav. Dette er i overensstemmelse med våre tidligere konklusjoner. Føre-var-betraktninger tilsier at human eksponering for skrantesjuka-smitte må begrenses i størst mulig grad.

Siden artsbarrieren betraktes som robust, men ikke absolutt, krever situasjonen vedvarende årvåkenhet med tanke på å redusere prevalensen av skrantesjuka hos norske hjortedyr, og overvåke forekomsten av prionsykdom hos mennesker.

Datamangler

Rapporten påpeker at det mangler sikre data om forekomst av sporadiske prionsykdommer hos mennesker i Norge, fordi det i dag ikke er etablert en systematisk, nasjonal obduksjonsvirksomhet for 'raskt progrediert demens' og Creutzfeldt-Jakob sykdom (CJS).

Bestilling fra Mattilsynet

Vi viser til tidligere rapporter og uttalelser fra VKM om CWD. Videre viser vi til oppdrag fra Miljødirektoratet og Mattilsynet datert 8. oktober 2020. I dette oppdraget signaliserte vi at vi ville komme tilbake med flere spørsmål, blant annet om mattrygghet.

Mattilsynet ber VKM gi en uttalelse med oppdatert kunnskap om det zoonotiske potensialet skrantesjuka har ved håndtering av slakt og konsum av kjøtt fra hjortedyr.

1 Konklusjoner fra tidligere vurderinger

På oppdrag fra Mattilsynet og Miljødirektoratet har VKM utarbeidet flere rapporter om ulike aspekter ved skrantesjuka, inkludert matsikkerhet og zoonotisk potensiale. Siden sistnevnte er temaet for denne vurderingen, gjengir vi relevante elementer fra de tidligere VKM-rapportene.

VKM's rapport fra 2016 (VKM, 2016) konkluderer slik:

“CWD as a possible zoonosis and risk for human health

Zoonotic potential

*There are currently **no epidemiological data that link CWD to human prion disease**. Although transmission of CWD to humans has never been known to occur, and data from bioassays and in vitro experiments indicate a species barrier, this possibility cannot be excluded. Taking into account uncertainties regarding the plasticity of the CWD agents and the lack of transmission data from the Norwegian isolates, **this scientific opinion considers the zoonotic risk of CWD to be very low**. Human health risks must be continuously assessed through results from surveillance and characterisation of prion isolates. Any study or research that indicates the possibility of zoonotic transfer must be taken into consideration. At our current stage of knowledge, we recommend that the principal focus is directed towards collecting as much information as possible about the occurrence of CWD in Norwegian cervid populations, both wild and semi-domesticated.*

Direct or indirect exposure from animals

Since any dead cervids or any animal showing symptoms indicative of CWD should be handled by the authorities and their trained staff, the risk to hunters or slaughterhouse staff should be negligible. However, the information must be circulated widely and be available in appropriate languages.

Measures taken when working with dead or diseased cervids should be the responsibility of National authorities. Measures that have been applied in North America during hunting should be re-evaluated when sufficient data are available.

Food safety

*As only meat from healthy animals should be considered fit for human consumption, the risk linked to **consumption of CWD-infected animals should be very low**. This opinion includes meat from the 2016 hunting season and previous seasons.*

Absence of clinical illness does not preclude human exposure, as cervids may harbour and shed the CWD agent for several months prior to onset of their symptoms (Amendment included in the Phase II-report (VKM, 2017b)).

Human exposure through berries, other plant materials, or soil is considered to represent a negligible risk."

I 2017 ble VKM bedt av Mattilsynet om å gi en oppdatering om CWD og zoonotisk risiko etter at foreløpige resultater fra en studie hvor krabbe-makak aper (*Macaca fascicularis*) var smittet med CWD prioner, ble omtalt på en vitenskapelig kongress. Rapporten (VKM, 2017b) konkluderte:

The susceptibility of macaques to CWD after oral challenge with meat derived from CWD positive, preclinical, white-tailed deer reinforces the need for precautionary and pro-active measure to reduce human exposure. At the present stage of knowledge, it cannot be excluded that CWD prions may cause human disease, but the risk appears very low. In conclusion, the zoonotic risk of CWD is still considered to be very low, in accordance with our previous assessments.

I kjølvannet av EFSA's rapport om CWD fra 2017 (Hazards et al., 2017), ble VKM bedt av Mattilsynet om en vurdering om rapporten fra EFSA ga grunnlag for endret vurdering av CWDs zoonotiske potensiale. VKMs kortfattede oppdatering (VKM, 2018) konkluderte slik:

Overall, evaluations of the animal and public health risks associated with CWD, as discussed in the reports from EFSA, correspond well with the assessments from VKM. We are not aware of new information to suggest that the assessments concerning CWD published by VKM should be revised.

The information and statements presented by EFSA (2018) are in accordance with VKM's conclusions regarding the zoonotic potential of CWD, and do not contain new data that make it necessary to change our current and published opinion.

Hence, our conclusions are still applicable, and there is presently no need for any revision.

2 Ny litteratur og data

2.1 Oppdatering av situasjon i Norge

Løpende oppdatering av forekomsten av påviste tilfeller av CWD hos norske hjortedyr, er tilgjengelig på Veterinærinstituttets nettsider <https://www.vetinst.no/overvaking/chronic-wasting-disease-vilt-cwd>.

Påvisningen av CWD hos en villrein på Hardangervidda i september 2020 er en alvorlig utvikling som viser forekomst av CWD i et nytt område, og at videre utbredelse ikke kan utelukkes.

Dette innebærer i så fall økt sannsynlighet for at mennesker kan bli eksponert for smittestoffet. Økt eksponering medfører i sin tur større sannsynlighet for at artsbarrieren

krysses med utvikling av en ny, human prionsykdom som en svært alvorlig konsekvens. Siden artsbarrieren er betraktet som robust, men ikke absolutt, krever situasjonen vedvarende årvåkenhet med tanke på å redusere prevalensen av CWD og overvåke forekomsten av prionsykdom hos mennesker.

2.1.1 Håndtering av slakt og prøveuttak i feltet

Hygieneregelverket ved slakterier er regulert gjennom EØS-avtalen. Dette betyr at det er de samme kravene i Norge som i andre EU-land. Det kan likevel være noe ulik praksis mellom land/områder/slakterier.

Mattilsynet stiller ikke krav om bruk av hansker i forbindelse med kjøttkontroll, heller ikke ved SRM-håndtering (Specified Risk Material) og TSE-prøveuttak (Transmissible spongiform encephalopathies). Det er likevel flere på slaktelinjen som benytter hansker, men det er utfra HMS-krav (Helse, miljø og sikkerhet) eller eventuelle personlige preferanser. De som benytter skjærehansker/vernehansker må ha en plasthanske over, som følge av generelle hygienekrav.

Prøvetakingen i felt omfatter både hjerneprøve og lymfeknuter (primært svelglymfeknuter). I jegerpakken som Veterinærinstituttet sender ut til jegere som skal ta CWD-prøver, er det lagt ved engangshansker. Dette er et ledd i generell hygiene og standardmateriell i forbindelse med innsamlinger.

2.2 Litteratursøk

Et PubMed-søk med søkestrengen angitt nedenfor ble utført 22. april 2021 og resulterte i 252 treff.

(Chronic Wasting Disease[Title/Abstract]) AND (zoono*[Title/Abstract] OR human*[Title/Abstract])

Et utvidet PubMed-søk med søkestrengen angitt nedenfor ble utført 22. april 2021 og resulterte i 462 treff.

(Chronic Wasting Disease[Title/Abstract] OR CWD[Title/Abstract]) AND (zoono*[Title/Abstract] OR human*[Title/Abstract] OR transmission[Title/Abstract])

Artikler publiserte etter 2017 ble vurdert for relevans for spørsmål i bestillingen og 23 artikler var vurdert som relevante.

2.3 Funn i nye studier

2.3.1 Studier hvor makakaper er podet med CWD

I 2014 publiserte Race og medarbeidere en studie (Race et al., 2014) hvor de viste at makakaper (*Macaca fascicularis*) ikke utviklet prionsykdom etter smitte med CWD. Makaker er en primatslekt med 16 arter og arten *Macaca fascicularis* som omtales i denne rapporten kalles på norsk for krabbemakak eller javaape. Vi vil imidlertid i fortsettelsen referere til disse som makaker. Denne studien var ikke avsluttet, men fortsatte med syv aper fram til 2018. Resultatene fra disse, i tillegg til ekstra analyser med svært følsomme metoder, også av arkivmateriale, ble så publisert i 2018 (Race et al., 2018). Her bekrefter og utdyper de resultatene fra 2014, nemlig at poding (både oralt og ved injeksjon i hjernen) med CWD-prioner ikke ga tegn til prionsykdom hos makaker, selv etter 10 års observasjon. De diskuterer imidlertid enkelte uklarheter i resultatene fra noen få av apene, som kan tyde på prionsykdom, men enkelte av funnene er også til stede hos kontrolldyr som ikke er inokulerte. De konkluderer, etter grundig diskusjon, med at de ikke finner grunnlag for å si at noen av apene i deres studie har utviklet prionsykdom, eller tegn på slik sykdom etter podingene.

En annen studie, som først ble ledet av Dr. Stefanie Czub, ble grundig behandlet i VKMs rapport fra 2017 (VKM, 2017a). Preliminære konklusjoner fra studien, omtalt på en vitenskapelig kongress, var:

1. *For the first time it is shown that Macaque monkeys are susceptible to CWD, through both the intracranial and oral route of inoculation.*
2. *CWD inocula were from different species (white tailed deer and wapiti) and analysis of these indicated the presence of different CWD strains/types. The brain pool derived from three cases of CWD in wapiti was shown to be the CWD2 strain. The brain inoculum derived from the clinical case of CWD in white tailed deer was shown to be heterogenic, consisting of two distinct CWD strains, demonstrating the occurrence of [different] CWD strains in a single diseased animal, as has previously been observed also in sheep scrapie (Masujin et al., 2009).*
3. *Incubation periods were relatively short. For comparison: Intracerebral inoculation of classical scrapie (see below) resulted in disease in a macaque after a 10-year incubation period (Comoy et al., 2015). A single oral dose of 5 grams of BSE infected material results in 100 % attack rate in macaques with a median incubation period of 4.7 years (Holznagel et al., 2013).*
4. *Oral challenge of two macaques with meat derived from CWD positive but preclinical white-tailed deer, resulted in prion disease with only marginally longer incubation period than intracranial injection. This experiment was specifically designed to mimic a real-life human exposure to CWD through intake of venison.*

It will take several years for the study to be finalized with all downstream analyses.

Ansvar for denne langvarige undersøkelse ble overtatt av professor Hermann Schätzl, og han har i epost til oss (11. mai 2021) bekreftet at resultatene fra denne studien nå er i siste fase før publisering. Han skriver (sitat): *"Overall take home message is that the zoonotic potential of CWD is real, and that the species barrier to humans is not absolute and likely can be crossed. This does not prove that CWD can infect or has infected humans, but it is prudent to continue to be very concerned about the risk of human exposition, and to have measures in place to effectively contain CWD in cervid populations and to reduce human exposition to CWD."* (se Vedlegg I).

Han bekrefter med andre ord det som var konklusjonen i 2017, nemlig at CWD har latt seg overføre til makaker, både etter oral (via mage-tarmkanalen) og intracerebral inokulasjon. Og at overføring også skjedde etter inntak av CWD-infisert kjøtt. Vi har ikke tilgang til ytterligere informasjon fra denne studien og har derfor ikke grunnlag for å endre vår konklusjon fra 2017, som avsluttet slik:

The susceptibility of macaques to CWD after oral challenge with meat derived from CWD positive, preclinical, white-tailed deer reinforces the need for precautionary and pro-active measures to reduce human exposure. At the present stage of knowledge, it cannot be excluded that CWD prions may cause human disease, but the risk appears very low.

In conclusion, the zoonotic risk of CWD is still considered to be very low, in accordance with our previous assessments.

Resultatene fra podinger hos makaker tillegges stor vekt fordi de har vist seg å være mottakelig for flere prion-smittestoff man vet rammer menneske, som fra sporadisk CJD, variant CJD og BSE-prioner fra storfe (Brown et al., 1994; Herzog et al., 2005; Piccardo et al., 2012). Alle disse gir prionsykdom hos makakaper etter relativt kort inkubasjonstid, med andre ord effektiv overføring. Makaker har også vist seg mottakelige for klassisk skrapesjuka, men da først etter svært lang (10 år) inkubasjonstid (Comoy et al., 2015).

2.3.2 Poding av transgene mus med norske CWD-isolater fra reinsdyr og elg

Ved siden av studier hos aper, er transgene (Tg) mus som uttrykker menneskets prionproteingen (*PRNP*) den mest relevante og kraftigste modellen for å undersøke det zoonotiske potensialet til et prion (Hazards et al., 2019). Grunnen til dette er at når musene uttrykker menneskets *PRNP*, så er den vesentligste komponenten av artsbarrieren fjernet. For ytterligere å øke musenes følsomhet for prioner med zoonotisk potensial, er disse muselinjene ofte laget slik at de overuttrykker genet.

I 2021 ble den første studien hvor slike «humaniserte» Tg-mus var podet med CWD-smitte fra reinsdyr og elg i Norge publisert (Wadsworth et al., 2021). I denne studien ble to ulike muselinjer benyttet (129MM Tg35c og 129VV Tg152c) som begge overuttrykker human *PRNP*, henholdsvis 2x for Tg35c og 6x for Tg152c. Betegnelsene 129MM og 129VV angir at muselinjene er homozygote for enten metionin (M) eller valin (V) ved posisjon 129, hvor det

forekommer naturlig variasjon hos menneske. Muselinjene representerer dermed de to homozygote variantene ved posisjon 129. Tidligere undersøkelser har vist at begge disse muselinjene er følsomme for BSE-prioner, men ikke følsomme for CWD fra mulhjort (Sandberg et al., 2010). Maksimal levetid for muselinjene er om lag 700 dager.

I studien ble grupper av 20 mus av hver av de to linjene podet i hjernen (intracerebralt) med CWD-prioner (30 µl med 1% våtvekt hjernehomogenat) fra ett reinsdyr fra Nordfjella og to elger, også fra Norge. I tillegg ble mus podet med kontrollmateriale fra reinsdyr og elg med negativ CWD-test. Resultatet av undersøkelsene var at ingen av musene utviklet prionsykdom, selv etter 700 dagers inkubasjonstid. For å undersøke om det forelå subklinisk prionsykdom hos enkelte av musene, ble hjernen undersøkt med immunhistokjemi som er en følsom metode for å påvise PrP^{Sc}, og det ble foretatt fosfotungsten-presipitering (NaPTA) fra hjernehomogenat, som er en effektiv metode for å oppkonsentrere små mengder PrP^{Sc}. Begge disse tilleggsundersøkelsene ga negativt resultat.

Forfatterne konkluderer med at det zoonotiske potensialet til de undersøkte norske CWD-isolatene må være lavt og ikke vesentlig forskjellig fra nordamerikanske. De påpeker imidlertid følgende begrensninger ved undersøkelsen:

A) De har ikke gjort såkalte sekundærpodinger, som må gjøres for å undersøke om det kan ha bygd seg opp prionsmitte ved første podedeforsøk, uten at det har ført til prionsykdom. Fenomenet med subklinisk prioninfeksjon er velkjent (Hill & Collinge, 2003) og diskutert i en tidligere VKM-rapport (VKM, 2018). Sekundærpodinger er igangsatt.

B) I tillegg uttrykker de brukte muselinjene lave nivåer av *PRNP* i milten, som er et lymfoid organ av betydning for utvikling av prionsykdom (Beringue et al., 2012). For å undersøke om noen av norske CWD-isolatene kan krysse artsbarrieren via perifere lymfoide organer som milten, må andre muselinjer med normalt eller forhøyet uttrykk av *PRNP* i milten podes. Slike podedeforsøk er igangsatt, men foreløpig ikke publisert.

C) Det er, spesielt hos reinsdyr, stor variasjon i *PRNP*-genet (Guere et al., 2020), hvor dyr med ulik *PRNP*-genotype har testet positivt for CWD. Siden kun ett reinsdyr inngikk i studien til Wadsworth og medarbeidere (Wadsworth et al., 2021), påpeker de at ytterligere podedeforsøk med hjernevev fra flere av tilfellene både hos reinsdyr og elg bør gjennomføres.

Til tross for nevnte begrensninger, er hovedresultatet av denne undersøkelsen meget positivt. De finner ingen tegn til øket zoonotisk risiko for noen av de undersøkte, norske CWD-isolatene.

2.3.3 Poding av klatremus med norske CWD-isolater fra reinsdyr og elg

Klatremus (*Myodes glareolus*) er kjent for å være følsomme for en rekke ulike prioner (Watts et al., 2014) og derfor mye brukt i prionforskning, spesielt for å sammenligne ulike prionstammer/varianter. I 2020 publiserte Nonno og medarbeidere resultatene av de første

poddeforsøkene hvor klatremus var podet med CWD-isolater fra reinsdyr og elg fra Norge (Nonno et al., 2020) .

Resultatene er interessante viser at CWD-prionene i Norge er ulike mellom reinsdyr og elg, og at begge disse er forskjellige fra nordamerikanske CWD-isolater. I tillegg viser de at det blant de norske tilfellene av CWD hos elg, foreligger noe variasjon mellom CWD-isolatene. De podet klatremus med CWD-prioner fra tre elger og to reinsdyr fra Norge og sammenlignet resultatene fra disse med tilsvarende podinger med CWD-prioner fra elg, hvithalehjort og wapitihjort fra Canada.

Et overraskende funn var at kun én av til sammen 21 klatremus som ble podet med materiale fra de to norske CWD-positive reinsdyrene, utviklet sykdom, og det først etter svært lang inkubasjonstid (> 700 dager). Dette var overraskende fordi klatremus i denne og andre studier har vist seg følsomme for CWD. Ingen av de 14 klatremusene som ble podet med materiale fra ett av de norske reinsdyrene (R-NO2), utviklet sykdom. Den lave følsomheten til klatremusene skyldes ifølge forfatterne ikke lave nivåer av PrP^{Sc} i prøvematerialet.

Sekundær og tertiær poding med materiale fra den ene positive klatremusen etter poding med reinsdyr-CWD, ga imidlertid mye kortere inkubasjonstid (105 dager) og anslag hos alle de podede klatremusene, noe som tyder på tilpasning til den nye verten, slik som forventet.

Resultatene etter poding av klatremus med CWD-prioner fra norske elger, ga et mere forventet resultat. Nesten alle klatremusene (38 av 40) ble syke, og inkubasjonstiden ble kortere ved sekundær og tertiær poding.

Forfatterne gjennomførte videre undersøkelser av hjernens skadeprofil samt analyser av PrP^{Sc} med Western blots. Slik analyse av prion-isolater inngår i bestemmelsen av prionstammer og er beskrevet grundig i tidligere VKM rapport (VKM, 2017b).

2.3.4 Informasjon fra Colorado State University / Prion Research Center

Prion Research Center (CSU, CO, USA) ved dr Zabel (se 6.1) ble kontaktet av prosjektgruppen.

Zabel er en anerkjent ekspert på CWD og andre prionsykdommer. Han arbeidet sammen med ett av prosjektgruppens medlemmer (Pahnke) ved NRPE (Nationales Referenzzentrum für Prionenerkrankungen, UniversitätsSpital Zürich, Sveits). Han ble spurt om det fra prionforskningscenteret han leder forelå upubliserte resultater av relevans for denne vurderingen. Han bekreftet at slike resultater ikke foreligger.

Han ble informert om de nye, upubliserte resultatene fra Schätzl-studie (se Vedlegg I) med påvist sekundær overføring til mus-modell fra primærinfiserte makaker. Zabel konstaterer at de kjente CWD-varianter i Norge er biologisk annerledes enn de fra Nord-Amerika. Overføring av nordamerikanske erfaringer til norske forhold, vil derfor begrenses noe. Han

sier at det zoonotiske potensialet må revurderes etter bekreftet sekundær transmisjon til mus, spesielt dersom det er humaniserte musemodeller. Han mener at slik sekundær transmisjon gir grunn til bekymring når det gjelder det zoonotiske potensialet.

3 Usikkerhet

Siden forrige VKM-vurdering er det gjort nye funn i studier hvor makaker er podet med CWD (2.3.1), transgene mus er podet med norske CWD-isolater fra reinsdyr og elg (2.3.2) og klatremus podet med norske CWD-isolater fra reinsdyr og elg (2.3.3). Konklusjonene fra disse studier viser at:

- CWD-prionene i Norge er ulike mellom reinsdyr og elg,
- begge av disse er forskjellige fra nordamerikanske CWD-isolater og
- det zoonotiske potensialet til de undersøkte norske CWD-isolatene vurderes som lavt og ikke vesentlig forskjellig fra nordamerikanske.

Usikkerheter i denne rapporten dreier dermed seg om to hovedelementer som er tett knyttet til hverandre:

- a) de nye studiene har, som omtalt, visse begrensninger for eksempel i antall undersøkte CWD-isolater og omfanget av analyser, og
- b) de nye funnene viser at CWD i Norge er forårsaket av andre prionstammer enn det man kjenner fra Nord-Amerika.

Dette gjør at kunnskap om disse ikke nødvendigvis kan overføres direkte til norske forhold, men gir ikke grunnlag for å hevde at denne vil oppføre seg annerledes enn nordamerikanske isolater. Det er altså fortsatt slik at modeller og kunnskap fra Nord-Amerika, sammen med den relevante kunnskapen vi opparbeider oss i Norge, gir det beste grunnlaget for framtidig håndtering av skrantesyke.

Videre undersøkelser av det mulige zoonotiske potensialet til norske og svenske CWD-isolater er igangsatt og vil pågå i flere år framover.

Det er i tidligere VKM-rapporter omtalt at prioner, selv om de kan være fysiokjemisk robuste, er dynamiske strukturer med evne til å endre egenskaper etter påvirkning av en rekke faktorer i vertsdyr eller det eksterne miljøet.

For en grundig oppdatering og diskusjon av disse fenomenene viser vi til (Bartz, 2021). Relevante spørsmål kan være: Hvorfor spres prionene til perifere vev og skilles ut hos reinsdyr, mens de hos elg ser ut til å holde seg i sentralnervesystemet? Kan sykdommen vi ser hos elg endres og bli mere lik den hos reinsdyr? Svarene på disse spørsmålene foreligger ikke i dag, men enhver endring av et prions egenskaper vil også utløse nye spørsmål og usikkerheter knyttet til det zoonotiske potensialet.

Erfaringer med klassisk BSE, som hos storfe (hovedverten) i hovedsak var lokalisert til sentralnervesystemet, var at smittestoffet etter poding hos sau fikk en stor utbredelse i perifere organer (Bellworthy et al., 2005). Noe lignende så man ved vCJD som oppstod etter smitte med BSE hos menneske, hvor smittestoffet ble påvist i mange perifere lymfoide organer (Gill et al., 2013).

Siden det er påvist prionstamme-variasjon blant de få undersøkte isolatene fra Norske elger med CWD, viser dette at situasjonen er kompleks og at de foreløpige resultatene, selv om de er positive, må tolkes varsomt. Det skal også bemerkes at det kun foreligger resultater fra poding hos humaniserte Tg-mus (Tg35c og Tg152c) fra ett tilfelle av CWD hos reinsdyr. Det er påvist betydelig variasjon i *PRNP*-genet hos reinsdyr, og dyr med ulike *PRNP*-varianter var blant dyrene med positiv CWD-test. Siden dyrets *PRNP*-genetikk er en av de faktorene hos vertedyret som kan påvirke et prions egenskaper, bør flere isolater fra reinsdyr undersøkes. Vi er kjent med at slike undersøkelser er igangsatt.

Poddeforsøk hos gnagere (klatremus, Tg-mus osv.) gjøres ved å injisere smitte direkte i hjernen (intracerebral inokulasjon, i.c.). Dette er den mest følsomme testen på overførbarhet og også den mest reproduserbare og standardiserte metoden. En mer naturlig smittevei ville være gjennom oral poding og det er benyttet i noen studier hos større dyr som sau og makaker. Slike studier kan gi spesielt verdifull informasjon om den perifere fasen av prion replikasjon, som kan foregå før eventuell invasjon av CNS. I de fleste tilfeller er imidlertid hensikten å studere overføringspotensialet og noen av egenskapene til et prion-isolat og for slike studier er i.c. metoden best egnet.

4 Konklusjoner (med svar på spørsmål)

4.1 Zoonotisk potensial

Det er siden 2017 publisert to studier hvor potensialet for overføring av norske CWD-isolater fra reinsdyr og elg er analysert med bruk av klatremus (Nonno et al., 2020) og to humaniserte Tg-mus modeller (Wadsworth et al., 2021). Resultatene hos klatremus gir ikke direkte informasjon om det zoonotiske potensialet, men viser at de norske CWD-isolatene er ulike innbyrdes (mellom reinsdyr og elg) og fra nordamerikanske isolater. På grunn av disse forskjellene, er kartlegging av det zoonotiske potensialet med bruk av humaniserte Tg-mus, spesielt viktig. Slike analyser har Wadsworth og medarbeidere gjennomført, og de konkluderer med at det zoonotiske potensialet til de norske CWD-isolatene ikke er vesensforskjellig fra nordamerikanske, og derfor lavt. Forfatterne påpeker enkelte begrensninger ved studien og videre undersøkelser pågår.

Vi omtaler også to omfattende forsøk hvor makaker er podet med CWD-isolater fra Nord-Amerika. Den ene studien er publisert (Race et al., 2018), mens den andre er under publisering. Vi har gjennom kontakt med Dr. Hermann Schätzl fått noe informasjon om resultatene i sistnevnte studie (se Vedlegg I).

Resultatene fra disse to studiene kan virke motstridende siden Race og medarbeidere konkluderte med at CWD ikke lar seg overføre til makaker, mens Schätzl og medarbeidere dokumenterer slik overføring. Det kan være flere forklaringer på de motstridende resultatene, men diskusjon av disse må avvente endelig publisering.

Vår vurdering er at overføringsbarrieren for CWD-isolater til makaker er sterk, men ikke absolutt. Det er et forventet resultat, som ikke utløser endringer i vår vurdering av den zoonotiske risiko CWD utgjør.

Vår konklusjon, basert på foreliggende informasjon, er at det zoonotiske potensialet til de nylig oppdagede variantene av CWD i Norge er svært lavt (for forklaring av grad se Vedlegg II).

Flere studier av norske CWD-isolater pågår, og resultater fra disse vil være gjenstand for nye vurderinger av mulige mattrygghets-utfordringer knyttet til forekomst av CWD hos norske hjortedyr.

4.2 Direkte eller indirekte eksponering fra dyr

Hygieneregelverket ved slakterier er regulert gjennom EØS-avtalen. Dette betyr at det er de samme kravene i Norge som i andre EU-land. Det kan likevel være noe ulik praksis mellom land/områder/slakterier.

Mattilsynet stiller ikke krav om bruk av hansker i forbindelse med kjøttkontroll, heller ikke ved SRM-håndtering og TSE-prøveuttak. Det er likevel flere på slaktelinjen som benytter hansker, men det er utfra HMS-krav eller eventuelle personlige preferanser. De som benytter skjærehansker/vernehansker må ha en plasthanske over, som følge av generelle hygienekrav.

Prøvetakingen i felt omfatter både hjerneprøve og lymfeknuter (primært svelglymfeknuter). I jegerpakken som Veterinærinstituttet sender ut til jegere som skal ta CWD-prøver, er det lagt ved engangshansker. Dette er et ledd i generell hygiene og standardmateriell i forbindelse med innsamlinger.

Det er ikke grunnlag i hverken eldre eller nyere litteratur som tilsier forsterkede krav til beskyttelse av jegere eller andre i forbindelse med uttak av vev fra norske hjortedyr for CWD-test.

4.3 Mattrygghet

De nye resultatene angående eksponering av makaker, bekrefter tidligere konklusjoner om at CWD har latt seg overføre etter inntak av CWD-infisert kjøtt fra amerikanske hjortedyr. En annen, tilsvarende studie har foreløpig gitt negativt resultat (avsnitt 2.3.1). Forsøkene med poding av transgene mus og klatremus med CWD-infisert materiale fra norske rein og elg

tyder på at det zoonotiske potensialet av de norske CWD-variantene som er undersøkt, er lavt (avsnitt 2.3.2 og 2.3.3). Det er visse begrensninger knyttet til undersøkelsene med humaniserte Tg-mus og videre analyser pågår.

På bakgrunn av vår nåværende kunnskap kan det ikke utelukkes at CWD-prioner fra norske hjortedyr kan forårsake sykdom hos folk etter konsum av kjøtt fra infiserte dyr, men risikoen vurderes som svært lav. Dette er i overensstemmelse med våre tidligere konklusjoner. Situasjonen krever årvåkenhet, med minimal eksponering gjennom konsum som en viktig forholdsregel etter føre-var prinsippet.

5 Datamangler

Det mangler sikre data om forekomst av sporadiske prionsykdommer hos mennesker i Norge, bla. Creutzfeldt-Jakob sykdom (CJS).

Obduksjon med hjerneuttak fra pasienter med *raskt progrediert demens* har de senere årene blitt stadig sjeldnere ved flere patologiavdelinger i Norge. Grunnene til dette kan være CJS-smitteangst blant tekniske ansatte og at obduksjonsfasilitetene ikke er tilstrekkelig egnet.

I dag er det ingen systematisk obduksjonsvirksomhet i Norge for 'raskt progrediert demens' og Creutzfeldt-Jakob sykdom (CJS). Pasientregister for smittsomme sykdommer (MSIS, FHI) er avhengig av meldinger fra patologer og klinikere.

Den Nevropatologiske seksjonen ved Rikshospitalet i Oslo gjennomfører rutinemessig hjerneundersøkelser av sporadisk tilsendte hjerner med spørsmål om rask progrediert demens. Det lyktes ikke å sette i verk en rutine obduksjonsvirksomhet (P3 lab og sikker obduksjonslokale) med hjerneuttak (Avdeling for patologi ved Oslo Universitetssykehus, OUS) til tross for økt behov og stor nasjonal interesse for å avklare dødsårsak ved rask progrediert demens. Innmeldte behov (1-5/måned) for hjerneobduksjon med ønske om avklaring for CJS fra sykehus over hele landet må derfor avslås.

Data om prionsykdom hos mennesker i Norge mangler også fordi det ikke finnes noen sentral registrering av alle dødsfall med diagnose '**raskt progrediert demens**' hos jegere, skogsarbeidere og personer i miljøer som kan ha vært i kontakt med CWD infisert vev (for eksempel slaktere).

For å skaffe slike data er det viktig med nasjonal obduksjonsvirksomhet med nevropatologisk hjerneundersøkelser for klinisk diagnose 'raskt progrediert demens' og CJS og sentralt registrer av pasienter med rask progrediert demens med obligatorisk nevropatologisk hjerneundersøkelse etter død.

6 Referanser

- Bartz, J. C. (2021). Environmental and host factors that contribute to prion strain evolution. *Acta Neuropathol.* doi:10.1007/s00401-021-02310-6
- Bellworthy, S. J., Hawkins, S. A., Green, R. B., Blamire, I., Dexter, G., Dexter, I., . . . Simmons, M. M. (2005). Tissue distribution of bovine spongiform encephalopathy infectivity in Romney sheep up to the onset of clinical disease after oral challenge. *Vet Rec*, *156*(7), 197-202. doi:10.1136/vr.156.7.197
- Beringue, V., Herzog, L., Jaumain, E., Reine, F., Sibille, P., Le Dur, A., . . . Laude, H. (2012). Facilitated cross-species transmission of prions in extraneural tissue. *Science*, *335*(6067), 472-475. doi:10.1126/science.1215659
- Brown, P., Gibbs, C. J., Jr., Rodgers-Johnson, P., Asher, D. M., Sulima, M. P., Bacote, A., . . . Gajdusek, D. C. (1994). Human spongiform encephalopathy: the National Institutes of Health series of 300 cases of experimentally transmitted disease. *Ann Neurol*, *35*(5), 513-529. doi:10.1002/ana.410350504
- Comoy, E. E., Mikol, J., Luccantoni-Freire, S., Correia, E., Lescoutra-Etcheagaray, N., Durand, V., . . . Deslys, J. P. (2015). Transmission of scrapie prions to primate after an extended silent incubation period. *Sci Rep*, *5*, 11573. doi:10.1038/srep11573
- Gill, O. N., Spencer, Y., Richard-Loendt, A., Kelly, C., Dabaghian, R., Boyes, L., . . . Brandner, S. (2013). Prevalent abnormal prion protein in human appendixes after bovine spongiform encephalopathy epizootic: large scale survey. *BMJ*, *347*, f5675. doi:10.1136/bmj.f5675
- Guere, M. E., Vage, J., Tharaldsen, H., Benestad, S. L., Vikoren, T., Madslie, K., . . . Tranulis, M. A. (2020). Chronic wasting disease associated with prion protein gene (PRNP) variation in Norwegian wild reindeer (*Rangifer tarandus*). *Prion*, *14*(1), 1-10. doi:10.1080/19336896.2019.1702446
- Hazards, E. P. o. B., Koutsoumanis, K., Allende, A., Alvarez-Ordóñez, A., Bolton, D., Bover-Cid, S., . . . Simmons, M. M. (2019). Update on chronic wasting disease (CWD) III. *EFSA J*, *17*(11), e05863. doi:10.2903/j.efsa.2019.5863
- Hazards, E. P. o. B., Ricci, A., Allende, A., Bolton, D., Chemaly, M., Davies, R., . . . Simmons, M. (2017). Chronic wasting disease (CWD) in cervids. *EFSA J*, *15*(1), e04667. doi:10.2903/j.efsa.2017.4667
- Herzog, C., Riviere, J., Lescoutra-Etcheagaray, N., Charbonnier, A., Leblanc, V., Sales, N., . . . Lasmezas, C. I. (2005). PrPTSE distribution in a primate model of variant, sporadic, and iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease. *J Virol*, *79*(22), 14339-14345. doi:10.1128/JVI.79.22.14339-14345.2005
- Hill, A. F., & Collinge, J. (2003). Subclinical prion infection. *Trends Microbiol*, *11*(12), 578-584. doi:10.1016/j.tim.2003.10.007

- Holznapel, E., Yutzy, B., Schulz-Schaeffer, W., Kruij, C., Hahmann, U., Bierke, P., . . . Loewer, J. (2013). Foodborne transmission of bovine spongiform encephalopathy to nonhuman primates. *Emerg Infect Dis*, *19*(5), 712-720. doi:10.3201/eid1905.120274
- Masujin, K., Shu, Y., Okada, H., Matsuura, Y., Iwamaru, Y., Imamura, M., . . . Yokoyama, T. (2009). Isolation of two distinct prion strains from a scrapie-affected sheep. *Arch Virol*, *154*(12), 1929-1932. doi:10.1007/s00705-009-0534-2
- Nonno, R., Di Bari, M. A., Pirisinu, L., D'Agostino, C., Vanni, I., Chiappini, B., . . . Agrimi, U. (2020). Studies in bank voles reveal strain differences between chronic wasting disease prions from Norway and North America. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *117*(49), 31417-31426. doi:10.1073/pnas.2013237117
- OIE. (2004). *Handbook on import risk analysis for animals and animal products*. Paris, France: World Organisation for Animal Health.
- Piccardo, P., Cervenak, J., Yakovleva, O., Gregori, L., Pomeroy, K., Cook, A., . . . Asher, D. M. (2012). Squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*) infected with the agent of bovine spongiform encephalopathy develop tau pathology. *J Comp Pathol*, *147*(1), 84-93. doi:10.1016/j.jcpa.2011.09.004
- Race, B., Meade-White, K. D., Phillips, K., Striebel, J., Race, R., & Chesebro, B. (2014). Chronic wasting disease agents in nonhuman primates. *Emerg Infect Dis*, *20*(5), 833-837. doi:10.3201/eid2005.130778
- Race, B., Williams, K., Orru, C. D., Hughson, A. G., Lubke, L., & Chesebro, B. (2018). Lack of Transmission of Chronic Wasting Disease to *Cynomolgus* Macaques. *J Virol*, *92*(14). doi:10.1128/JVI.00550-18
- Sandberg, M. K., Al-Doujaily, H., Sigurdson, C. J., Glatzel, M., O'Malley, C., Powell, C., . . . Collinge, J. (2010). Chronic wasting disease prions are not transmissible to transgenic mice overexpressing human prion protein. *J Gen Virol*, *91*(Pt 10), 2651-2657. doi:10.1099/vir.0.024380-0
- VKM. (2016). CWD in Norway. Opinion of the Panel on biological hazards, ISBN: 978-82-8259-216-1, Oslo, Norway.
- VKM. (2017a). CWD – update statement, ISBN: 978-82-8259-283-3, Oslo, Norway. .
- VKM. (2017b). CWD in Norway – a state of emergency for the future of cervids (Phase II). Opinion of the panel on Biological Hazards, ISBN: 978-82-8259-266-6, Oslo, Norway.
- VKM. (2018). CWD - statement 2018.
- Wadsworth, J. D. F., Joiner, S., Linehan, J. M., Jack, K., Al-Doujaily, H., Costa, H., . . . Collinge, J. (2021). Humanised transgenic mice are resistant to chronic wasting disease prions from Norwegian reindeer and moose. *J Infect Dis*. doi:10.1093/infdis/jiab033

Watts, J. C., Giles, K., Patel, S., Oehler, A., DeArmond, S. J., & Prusiner, S. B. (2014). Evidence that bank vole PrP is a universal acceptor for prions. *PLoS Pathog*, *10*(4), e1003990. doi:10.1371/journal.ppat.1003990

6.1 Personlig kontakt

For å innhente flere synspunkter og utvide diskusjonsgrunnlag, ble forskere med lang erfaring innen CWD kontaktet. Disse var:

Dr Mark Zabel, Ass.-Director / Ass.-Professor, Prion Research Center, Colorado State University, CO, USA

Dr Hermann Schätzl, Faculty of Veterinary Medicine, University of Calgary, Alberta, Canada

7 Vedlegg I

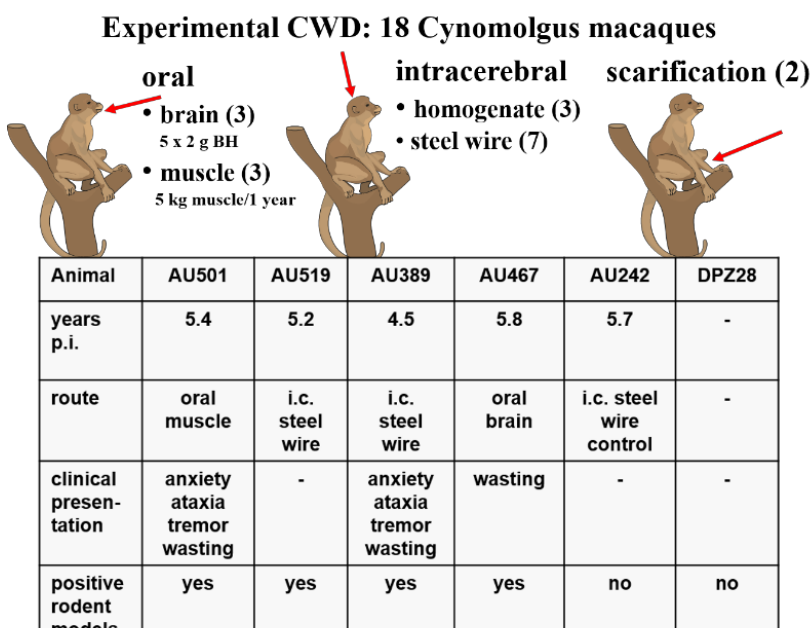
Report by Hermann Schätzl for Dr. Michael Tranulis (May 10, 2021).

This short overview describes the recent and still unpublished findings from the CWD non-human primate study started at the German Primate Research Center in Goettingen, Germany, in 2009. Study design and interim results were already discussed by Dr. Stefanie Czub in the VKM Report 2017: 26 (CWD – update statement). In the meantime, initial findings of prion infection in CWD-challenged macaques were validated by a variety of read-out tests, including bioassay in three different rodent models. The results from four CWD-inoculated macaques (Figure 7-1.) are the basis for a peer-reviewed manuscript that is close to submission. **Overall conclusion from this study is that CWD can productively infect macaques, indicating that the species barrier for CWD to infect humans is very likely not absolute.**

Consortium members: Dr. H. Schätzl, University of Calgary, lead-PI; Dr. S. Czub, CFIA Lethbridge, former lead-PI; Dr. C. Stahl-Hennig, German Primate Center Göttingen; Dr. M. Beekes, Robert-Koch-Institute Berlin; Dr. W. Schulz-Schaeffer, University of Homburg; Dr. Sabine Gilch, University of Calgary (affiliated member: Dr. C. Soto, University of Texas).

Major conceptual differences to published NIH Rocky Mountain Laboratories (RML) study: Focus on oral route (muscle meat, up to 5 kg over 1 year), mimicking most likely exposure to humans, higher amounts of infectivity used, different routes of inoculation, and a wider variety of CWD isolates.

Findings in macaques: In the meantime, all 18 monkeys were euthanized, with incubation times from 5.4 to 10 years.



Some monkeys showed signs of clinical prion disease, although very discrete, and the majority of monkeys were without typical clinical signs. Pathological and immunohistochemical examinations showed low level PrP^{Sc} deposition and vacuolation, mainly in brain stem and spinal cord. PrP^{Sc} detection in immunoblot was negative. Low level activity in prion conversion assays (RT-QuIC and

Figure 7-1. The results from four CWD-inoculated macaques.

PMCA), done in various laboratories. **Overall, mostly "atypical" prion disease manifestation, with low-level prion infectivity in read-outs.**

Findings in transgenic mice (Calgary labs): Various monkey tissues (different brain and spinal cord regions, spleen) were intracerebrally inoculated into two lines of transgenic mice: a) TgElk mice, expressing elk prion protein (PrP), as original host species, and TgHu mice, expressing human PrP, to test the species barrier to humans directly. In first passage experiments, 7 clinical sick TgElk and 6 clinical sick TgHu mice were obtained, usually with a low attack rate (i.e., 1/5 inoculated mice). Materials were found positive from all 4 tested monkeys (12 materials in total), and analysis of several pre-clinical mice showed also signs of prion infection. Taken together, clinical disease was found with low attack rate, prion pathology was mainly in brain stem and spinal cord, no PrP^{Sc} in immunoblot, and low-level activity in prion conversion assays (mainly spinal cord, sometimes spleen). **Similar to finding in macaques, prion disease manifestation was mostly "atypical", with signs of low-level prion infectivity in read-outs.**

Findings in bank voles (Calgary labs): Bank voles are considered almost 'universal' acceptors for prions that also preserve prion strain characteristics very well. In the labs in

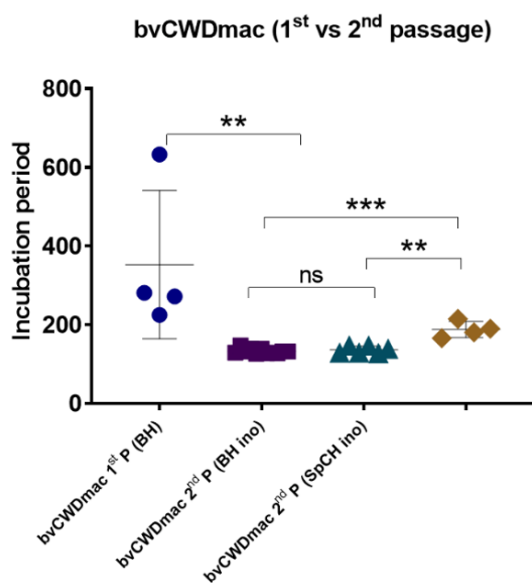


Figure 7-2. The results from bank vole study.

Calgary, materials from 2 TgElk mice from mouse passage 2 were further passaged into bank voles. Bank voles were coming down with clinical prion disease with a high attack rate (4/6, incubation times between 300 and 600 days), and with 100% attack rate in the next passage (125 days incubation time) (Figure 7-2). In bank voles, there was reversion and stabilization to a 'normal' prion disease manifestation, with a high attack rate, high prion conversion activity, and clear PrP^{Sc} signals in immunoblot. Signature of PrP^{Sc} was different from that of other prion strains in bank voles, excluding a potential laboratory contamination. Spinal cord (SpCH) as inoculum was as effective as brain material (BH) in bank vole bioassays, spleen was negative, and other materials were also highly infectious (**Fig. 2**).

In addition, also materials from TgHu mice tested positive in bank voles, providing an additional proof of evidence that CWD can cross the species barrier to human PrP. **Taken together, passaging into bank voles resulted in a dramatic change in disease manifestation, with high attack rate, bona fide PrP^{Sc} signature, and reversion to a typical disease manifestation, although likely with a different tissue tropism.**

The question remains whether these different disease manifestations tell us how CWD in humans might look like and what we have to watch for. Findings in this study are that macaques, considered the best model for zoonotic potential of prions, were productively infected, also upon oral challenge. Disease manifestation was mostly atypical in macaques and transgenic mouse models, but there was low dose "prion infectivity" all the time. Passaging into bank voles resulted in reversion to full blown prion disease, with certain changes in tissue tropism. This might be indicative of how human CWD (clinical vs. subclinical/occult) might look like. Overall take-home message is that the zoonotic potential of CWD is real, and that the species barrier to humans is not absolute and likely can be crossed. This does not prove that CWD can infect or has infected humans, but it is prudent to continue to be very concerned about the risk of human exposition, and to have measures in place to effectively contain CWD in cervid populations and to reduce human exposition to CWD.

8 Vedlegg II

Table 8-1. Terminologi brukt for vurdering av eksponering og risiko (OIE, 2004)

Grade	Explanation
Negligible	So rare that it does not merit consideration
Very low	Very rare, but cannot be excluded
Low	Rare, but does occur
Medium	Occurs regularly
High	Occurs often
Very high	Event almost certainly occurs