

TSE / SCRAPIE BIJ SCHAPEN: UITBRAAK EN VERSPREIDING DOOR VERKOOP

TSE / scrapie in sheep: an outbreak spread by trade

S. Roels en E. Vanopdenbosch

Centrum voor Onderzoek in Diergeneeskunde en Agrochemie
Departement Biocontrole - Groeselenberg 99, B-1180 Brussel
stroe@var.fgov.be

SAMENVATTING

In dit artikel wordt de verspreiding beschreven van TSE/scrapie uitgaande van een fokkerij van Hampshire Down-schape in België. Nadat de ziekte was vastgesteld bij een aldaar aangekocht dier, werden onderzoeken uitgevoerd op 16 andere bedrijven die eveneens schape aangekocht hadden op dit bedrijf. De helft van deze bedrijven werd positief bevonden. In de primaire haard bleken twee van de 16 onderzochte dieren aangetast. Bij deze schape werd bovendien genotypisch de gevoeligheid nagegaan. Dit vormt een aanzet om dergelijke bepalingen in de toekomst op grote schaal in de TSE/scrapiebestrijding in te zetten.

SUMMARY

An outbreak of TSE / scrapie is described in a flock of Hampshire Down sheep in Belgium. After the diagnosis was confirmed in an animal that had been sold, screening was performed on 16 other farms, that also had bought animals from the farm at issue. Half of these herds proved to be positive. In the primary focus, two sheep were affected. Genotyping for the determination of the sensibility to TSE / scrapie was performed.

INLEIDING

Scrapie is een progressieve, fatale, neurodegeneratieve ziekte bij het schaap en de geit. Ze wordt beschouwd als het archetype van transmissibele spongiforme encefalopathieën (TSE's). De aandoening behoort samen met bovine spongiforme encefalopathie of BSE bij het rund en de ziekte van Creutzfeldt-Jakob (CJZ) bij de mens tot een groep van progressieve spongiforme encefalopathieën die veroorzaakt worden door een niet-conventioneel, overdraagbaar eiwitagens, aangeduid als een prion (proteinaceous infectious particle - PrP^{res}) dat zeer resistent is tegen inactivering door hitte, normale sterilisatie of desinfectieprocessen. Er zijn tevens veronderstellingen dat een bijkomende factor (proteïne X?) nodig zou zijn bij de transformatie naar pathogeen PrP^{res} (Vanopdenbosch en Roels, 2000).

De huidige diagnostieken, elektronen microscopie (Scrapie Associated Fibrils), immunohistochemie en histopathologie, laten enkel een TSE-diagnose toe; er is geen onderscheid tussen BSE en scrapie.

Scrapie is sinds de 18^e eeuw reeds gekend in Europa en kan eerder beschouwd worden als een kuddeprobleem, daar er duidelijke bewijzen zijn van horizontale verspreiding en maternale overdracht. Er is eveneens een zeer sterke relatie tussen de klinische manifestatie van scrapie en het genotype van de schape. Het schape PrP gen produceert een eiwit van 256 aminozuren, elk van deze gecodeerd door drie DNA-baseparen (codon) in het gen. Tenminste vijf variërende allelen werden totnogtoe geïdentificeerd door specificatie van de variatie (polymorfisme) in de aminozuren op codons 136, 154 en 171. Deze vijf allelen zijn weergegeven in Tabel 1. Resultaten bekomen in een aantal studies tonen een belangrijke variatie aan in de verdeling van PrP allelen binnen een ras. Het meest resistente PrP genotype is ARR/ARR. Bepaalde schaperassen vertonen eenvoudige PrP genetische patronen, andere heel complexe en de gevoeligheid voor een bepaald patroon kan variëren naargelang het ras. Hieruit blijkt dat eenzelfde genotype een volledig tegengesteld effect kan hebben op de gevoeligheid voor scrapie volgens het ras

Tabel 1. De vijf gekende allelen in het schapen PrP gen en de daarmee geassocieerde gevoeligheid voor scrapie bij bepaalde schapenrassen.

Allel	Symbol	Gevoeligheid
V ₁₃₆ R ₁₅₄ Q ₁₇₁	PrP VRQ	Hoog
A ₁₃₆ R ₁₅₄ Q ₁₇₁	PrP ARQ	↓
A ₁₃₆ R ₁₅₄ H ₁₇₁	PrP ARH	
A ₁₃₆ H ₁₅₄ Q ₁₇₁	PrP AHQ	
A ₁₃₆ R ₁₅₄ R ₁₇₁	PrP ARR	Laag

Aminozuren op de codons 136, 154 en 171: A = alanine / H = histidine / Q = glutamine / R = arginine / V = valine

(ARQ/ARQ: hoog risico bij Suffolk, resistent bij Cheviot). Bovendien verschilt de gevoeligheid voor scrapie van de gevoeligheid voor BSE: zo ontwikkelde één op zes oraal geïnfecteerde scrapie-resistente Cheviot schapen klinisch BSE (Foster *et al.* 1993). Een voorbeeld van verband tussen genotype en gevoeligheid, zoals gekend bij een beperkt aantal schapenrassen is weergegeven in Tabel 1.

CASUISTIEK

Bedrijfshistoriek en anamnese

In het voorjaar van 1999 werd een fokkerij met Hampshire Down schapen positief bevonden voor TSE /scrapie bij een controle op TSE van een verkocht dier. Het schaap vertoonde verdachte neurologische symptomen die compatibel waren met TSE. Na onderzoek van de hersenen van dit dier werd TSE vastgesteld. De regeling voor afslachting van de rest van de kudde was hier niet van toepassing, omdat de eigenaar van het aangetaste dier verder geen schapen bezat. Uit diepgaander onderzoek bleek het schaap echter aangekocht te zijn op een befaamde fokkerij. De dieren van deze primaire haard werden alle afgeslacht, evenals de reeds verkochte dieren.

De hersenen van alle schapen boven 12 maanden van de primaire haard werden gecontroleerd op aanwezigheid van TSE en erfelijke gevoeligheid voor scrapie (aan de hand van de genotypering via het bloed). Van de reeds verkochte dieren werd enkel een controle op TSE uitgevoerd.

Onderzoeksmethoden

De controle op TSE gebeurde door histopathologisch onderzoek van de hersenstam gecombineerd met de immunohistochemische detectie van PrP^{res} ter hoogte van de hersenstam (Vanopdenbosch *et al.* 1998) en de tonsillen (Roels *et al.* 1999). De genotypering werd uitgevoerd op ongestolde bloedstalen genomen bij de slachting van dieren afkomstig van de primaire haard (Belt *et al.* 1995).

Resultaten

Acht dieren uit de primaire haard vertoonden het genotype ARQ / ARR. Zeven waren homozygoot ARQ / ARQ en één enkel ARR / ARR. Immunohistochemisch kon TSE aangetoond worden in de tonsillen van één ARQ / ARQ-dier en bij een ARQ / ARR-dier waren zowel de tonsillen als de Peyserse platen en de obex (hersenstam) positief. De overige 14 dieren waren negatief.

In de screening werden 16 contactbedrijven geïdentificeerd die dieren gekocht hadden uit de primaire haard. Van deze 16 werden er 8 positief bevonden; de overige acht bleken negatief voor TSE (Tabel 2).

DISCUSSIE

De hier beschreven uitbraak van scrapie bij schapen illustreert een aantal epidemiologische en praktische aspecten van deze ziekte evenals de gevaren van een verzuim van het aangeven van deze aandoening. Het geeft eveneens een indicatie van de mogelijke genotypen bij de Hampshire Down populatie in België en dit in het kader van de gevoeligheid voor scrapie.

Er dient opgemerkt dat de primaire haard gedetecteerd kon worden via de controle van een verkocht en aangetast schaap. Na diepgaander onderzoek van de primaire haard bleek dat er in het verleden al minimaal 2 schapen met symptomen pathognomonisch voor scrapie gesignaleerd werden. Deze werden echter steeds aan andere oorzaken toegeschreven. Dit illustreert dat het gehele passieve bewakingssysteem, waarbij alleen klinisch verdachte dieren worden on-

Tabel 2. Resultaten van het immunohistochemisch en histopathologisch scrapieonderzoek op de contactbedrijven (CB) met positief bevonden dieren.

Bedrijf	Aantal onderzochte dieren	Aantal positieve dieren	Immuno-histochemische positiviteit tonsillen	Immuno histochemische positiviteit obex (hersenstam)	Histopathologische Letsels (vacuolisatie) hersenstam
CB 1	2	1	+	-	-
CB 2	2	1	+	+	-
CB 3	5	2	+	+	-
CB 4	1	1	+	+	-
CB 5	1	1	+	+	+
CB 6	1	1	+	+	+
CB 7	1	1	+	-	-
CB 8 (*)	1	1	+	+	+

(*) Eerste gedetecteerde geval waardoor de gehele screening op gang is gebracht

derzocht, valt of staat bij de zwakste schakel en dat indien de personen te velde geen verdachte dieren insturen voor controle, er ook geen scrapiegevallen gedetecteerd kunnen worden. Het heeft grotere gevolgen daar er bij TSE / scrapie-uitbraken steeds meerdere dieren aangetast zijn, in tegenstelling tot BSE bij het rund. Deze uitbraak illustreert tegelijkertijd het gevaar van aangifteverzuim en het belang van de drastische afslachting van de gehele kudde bij een uitbraak van klinische scrapie. Door het niet detecteren van het positieve bedrijf was er een verspreiding van al dan niet klinisch besmette dieren, waardoor heel wat contactbedrijven besmet werden. Daar de

aankopen van zeer recente datum waren, werden op deze contactbedrijven enkel de aangekochte dieren afkomstig van de positieve kudde afgeslacht en gecontroleerd. De bedrijven met positieve dieren werden eveneens onder regelmatige controle geplaatst.

Een dergelijke situatie zou in het kader van de mogelijkheid van BSE bij schapen en het atypisch verloop van dergelijke gevallen een bijkomend gevaar kunnen opleveren voor de volksgezondheid. Tot nu toe is geen enkel "natuurlijk" geval van BSE bij het schaap bekend, maar het onderscheid maken tussen scrapie- en BSE-stammen is een uiterst omslachtige procedure (Vanopdenbosch en Roels 2000). Men is

nu volop aan het werken aan gebruiksvriendelijkere en snellere testen om deze differentiatie te kunnen maken.

Het risico dat BSE voorkomt bij schapen en de daaraan gekoppelde maatregelen (scenario's) om het gevaar voor de volksgezondheid en de verspreiding van BSE binnen de schapenpopulatie te verminderen, worden beschreven in een recent rapport van de TSE/BSE ad hoc groep van het Scientific Steering Committee, goedgekeurd door de Europese commissie op 8-9 februari 2001. Het rapport kan worden gearchiveerd op de website : [HTTP://EUROPA.EU.INT//COMM/FOOD/FS/SC/SCF/INDEX_EN.HTML](http://EUROPA.EU.INT//COMM/FOOD/FS/SC/SCF/INDEX_EN.HTML) onder de titel : "Pre-emptive risk assessment should BSE in small ruminants be found under domestic conditions".

Wat de genotypering van de Hampshire Down betreft, is bekend dat de predominante allelen bij deze schapensoort voornamelijk ARQ en ARR zijn. Ze komen overeen met deze van de Suffolk (Dawson *et al.* 1998). Het enige dier met ARR homozygoot genotype, gekend voor een lage gevoeligheid voor scrapie, was negatief in alle weefsels. De ARR heterozygoten waren zeer variabel wat de expressie van PrP^{res} betrof. Eén dier met ARQ/ARR genotype was zelfs positief voor het resistent PrP in zowel de obex, de tonsillen als de Peyerse platen, terwijl andere schapen van hetzelfde genotype negatief waren. Van de gevoelige genotypen ARQ/ARQ was er één die positief was in de tonsillen en dus bestempeld kon worden als een preklinisch geval, terwijl de andere negatief bleken.

Deze bevindingen kunnen dus wijzen op het feit dat echte resistentie eerder te associëren is met een homozygotie voor een resistent genotype en dat heterozygotie geen duidelijke garanties kan geven.

Om echter een beter inzicht te verwerven in de problematiek van de genotypen in de verschillende rassen van de Belgische schapenpopulatie, zijn we sinds 1 januari 2001 met een DG6-project (S-5971) gestart om de specifieke technologie van het genotyperen in ons laboratorium te introduceren. Eenmaal deze techniek op punt gesteld is, zouden we kunnen overgaan tot grootschalige genotypering met het doel om de situatie van de aanwezige rassen in België in kaart te brengen.

REFERENTIES

- Belt P.B.G.M., Muileman I.H., Schreuder B.E.C., Bos-de Ruijter J., Gielkens A.L.J., Smits M.A. (1995). Identification of five allelic variants of the sheep PrP gene and their association with natural scrapie. *Journal of General Virology* 76, 509-517.
- Dawson M., Hoinville L.J., Hosie B.D., Hunter N. (1998). Guidance on the use of PrP genotyping as an aid to the control of clinical scrapie. *The Veterinary Record* 142, 623-625.
- Foster J.D., Hope J., Fraser H. (1993). Transmission of bovine spongiform encephalopathy to sheep and goats. *The Veterinary Record* 133, 339-41.
- Roels S., Vanopdenbosch E., Langeveld J.P.M., Schreuder B.E.C. (1999). Immunohistochemical evaluation of tonsillar tissue for preclinical screening of scrapie based on surveillance in Belgium. *The Veterinary Record* 145, 524-525.
- Vanopdenbosch E., Dechamps P., Dufey J., Roels S., Mullier P., Hallet L., Brochier B., Costy F., Charlier G., Pastoret, P.P. (1998). Le premier cas d'encéphalopathie spongiforme bovine diagnostiqué en Belgique. *Annales de Médecine Vétérinaire* 142, 111-118.
- Vanopdenbosch E., Roels S. (2000). BSE en variant CJZ: Nieuwe inzichten en achtergrondinformatie. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 69, 371-376.