

Capitolo 3 - LA BSE COME ZONOSI

Le encefalopatie spongiformi trasmissibili (TSE) sono una famiglia di malattie umane ed animali neurodegenerative fatali, con danni irreversibili al cervello, dovuti alla formazione di vacuoli microscopici e all'accumulo di proteine amiloidi nella materia grigia.

Nell'uomo, la forma più comune di TSE è la cosiddetta malattia di Creutzfeldt-Jakob (MCJ), diffusa in tutto il mondo (Zeidler e Ironside, 2000), con un tasso di incidenza medio annuo di 0.5-1 caso per milione di persone: di solito colpisce individui tra i 55 e i 75 anni d'età. Altre malattie umane sono la malattia di Gerstmann-Straussler-Sheinker (GSS), l'insonnia familiare fatale (FFI) e il kuru (cfr. cap. 1).

I casi di malattia di CJ possono essere casi sporadici, familiari, iatrogeni e dal 1995 è stata definita la "nuova variante di malattia di Creutzfeldt-Jakob" (vCJ).

La tabella successiva mostra la distribuzione in Italia dei casi di malattia di CJD e delle altre encefalopatie spongiformi segnalate al Registro Nazionale dell'Istituto Superiore di Sanità.

Anno	Segnalazioni	Numero di decessi in Italia						Totale
		Sporadici	Iatrogeni	Familiari	vCJ	GSS	FFI	
1993	51	28	0	5	0	1	2	36
1994	62	33	0	5	0	0	1	39
1995	52	27	0	6	0	0	1	34
1996	77	50	0	7	0	0	1	58
1997	139	49	1	12	0	0	1	63
1998	143	57	1	8	0	0	1	67
1999	192	72	0	11	0	0	0	83
2000	177	60	0	14	0	2	3	79
2001	92	13	0	0	0	0	0	13
Totale	985	379	2	68	0	3	10	472

Fonte: Registro MCJ dell'Istituto Superiore di Sanità, aggiornato al 2 maggio 2001

I sintomi principali della malattia di CJ sono la graduale perdita della capacità di pensare, della memoria e il danno progressivo al cervello, sino alla perdita totale della capacità di vedere, parlare o alimentarsi. Anche la funzione motoria è gradualmente persa. Inizialmente si hanno piccoli problemi di deambulazione e in pochi mesi i pazienti perdono la capacità di sedersi o di alzarsi da letto. Spesso i pazienti mostrano un tracciato elettroencefalografico particolare. La malattia è sempre letale entro pochi mesi dall'inizio, con un tempo mediano di 4 mesi e un tempo medio di 7 mesi (WHO, 2000).

La cosiddetta "nuova variante" della malattia di CJD è stata associata alla BSE e presenta alcune differenze sostanziali dalla forma classica: infatti, sono colpiti soggetti più giovani (la media dell'età alla morte è sotto ai 30 anni mentre per la forma classica l'età media è di circa 60 anni) e presenta sintomi psichiatrici all'esordio, come depressione, aggressività e allucinazioni. Non sono presenti le modificazioni elettroencefalografiche tipiche della forma classica e il decorso clinico è un po' più lungo, con una media di 12-15 mesi (Chin, 2000).

Un'altra differenza è il ritrovamento di alti livelli di proteine PrPsc nel sistema

linforeticolare: questo riscontro può indicare che l'infezione avvenga attraverso il canale alimentare, piuttosto che a causa di mutazioni spontanee del gene PrP in cellule somatiche, come nella CJD sporadica, o di mutazioni nella linea germinale, come nella CJD familiare, o ancora attraverso l'inoculazione parenterale, come nella CJD iatrogena (Hill e coll., 1999).

Eziologia delle encefalopatie umane e nuova variante di malattia di Creutzfeldt- Jakob

Inizialmente, le encefalopatie spongiformi erano state attribuite a virus, definiti "virus lenti" (Gajdusek, 1967), ma la mancanza di una risposta infiammatoria e la notevole resistenza alla disinfezione con i metodi convenzionali per i virus, come l'uso di ultravioletti e radiazioni ionizzanti, hanno dimostrato che l'eziologia di queste malattie non era virale (Zeidler e Ironside, 2000). L'agente infettivo sarebbe il cosiddetto "prione" (PRoteinaceous Infectious particle), una proteina che è prodotta dalle cellule dell'ospite, ma ha, nella forma patologica, una diversa conformazione strutturale. L'agente infettivo sarebbe quindi privo di acidi nucleici ma comunque in grado di replicarsi nelle cellule (Prusiner, 1982; Prusiner e Hsiao, 1994; Prusiner, 1998). Le malattie da prione nell'uomo e negli animali (scrapie e encefalopatia spongiforme bovina o BSE) sono dovute all'accumulo di un isomero conformazionale (detto PrP^{Sc}) di una glicoproteina normalmente presente nelle cellule dell'ospite (detta PrP^C) (Clarke e coll., 2001).

Nell'uomo, il gene PRNP che codifica la proteina PrP^C si trova sul braccio corto del cromosoma 20. La proteina matura si localizza sulla membrana cellulare e la sua funzione fisiologica rimane sconosciuta, ma sembra che sia importante nel meccanismo di resistenza cellulare agli stress ossidativi, influenzando l'attività della Rame/Zinco superossido-dismutasi (Brown e Besinger, 1998). Nella malattia, la PrP^C passa da una conformazione ad elica ad una conformazione a foglietti, definita PrP^{Sc}, che è parzialmente insolubile e resistente alla digestione con proteasi K e forma depositi nelle cellule del sistema nervoso.

In base alla teoria dei prioni, una volta prodotta, la forma PrP^{Sc} promuoverebbe la conversione di quantità crescenti di proteina PrP^C nella forma PrP^{Sc}. Così si metterebbe in moto una reazione a catena con la crescente formazione di quantità di proteina normale che è trasformata in proteina patologica (Zeidler e Ironside, 2000).

Questa teoria può spiegare il paradosso centrale della malattia di CJ, cioè di come una patologia possa presentarsi come ereditaria, sporadica e infettiva: nel primo caso, le mutazioni associate alla malattia familiare possono rendere la proteina mutata instabile con una tendenza maggiore a trasformarsi nella forma PrP^{Sc}, geneticamente ereditabile. Nella patologia sporadica, la PrP^{Sc} iniziale necessaria a dare avvio alla conversione della proteina normale può essere prodotta in base ad una mutazione spontanea in una o più cellule, mentre nella forma infettiva della malattia la reazione a catena potrebbe aver avvio dall'inoculazione della PrP^{Sc}.

L'esistenza di ceppi prionici diversi è difficile da spiegare con il solo presupposto di una proteina come agente infettante, ma studi recenti hanno suggerito che ceppi diversi che producono fenotipi diversi possono essere codificati da proteine prioniche con diverse conformazioni e tipo di glicosilazione. La capacità di una proteina di codificare informazioni fenotipiche ha importanti implicazioni biologiche (Collinge, 2001) (Per maggiori dettagli su questi aspetti si veda il capitolo 2).

In seguito all'emergenza della BSE nel 1986 in Gran Bretagna, si è sentita l'esigenza di verificare la potenziale trasmissione della malattia all'uomo. In base all'esperienza con la scrapie (Brown e coll., 1987) si pensò che tale eventualità fosse remota, dato che non poteva

essere confermata la trasmissione all'uomo per via orale. Comunque, fu considerato ragionevole pensare che, se nell'uomo si fosse sviluppata una malattia, questa dovesse essere simile alla malattia di Creutzfeldt-Jakob. Nel 1990 è stata formata la CJD Surveillance Unit (CJDSU) in Gran Bretagna, in risposta alle raccomandazioni di Tyrrell (Consultative Committee on Research). Lo scopo di questa struttura era di verificare e identificare ogni modifica nelle caratteristiche della malattia di CJ, in senso clinico, patologico o epidemiologico.

Nel 1993 è stato istituito, da parte della Commissione Europea, un comitato internazionale ed è stato avviato un progetto, denominato EUROOCJD, al quale partecipano Australia, Austria, Canada, Francia, Germania, Italia, Paesi Bassi, Slovacchia, Spagna, Svizzera e Gran Bretagna e che ha lo scopo di confrontare i dati dei registri di patologia dei vari Paesi e di individuare un'eventuale epidemia di nuove forme di malattia di CJ. Nel 1998 si sono aggiunte altre nazioni e la sorveglianza epidemiologica si è estesa a Belgio, Danimarca, Finlandia, Grecia, Islanda, Irlanda, Israele, Norvegia e Portogallo. Entrambi i progetti sono coordinati dall'Unità Nazionale di Sorveglianza della CJD di Edimburgo.

Dal 1995, il CJDSU ha cominciato ad identificare casi di malattia che potevano essere collegati alla BSE. Inizialmente si trattò di casi di agricoltori che avevano avuto animali ammalati di BSE nella loro fattoria, sebbene l'analisi non abbia poi supportato un legame con la BSE.

Nel 1995 furono identificati due casi di CJD in giovani. Sviluppare tale malattia in giovane età è un evento estremamente raro e sino a quel momento erano stati identificati solo quattro casi di adolescenti in tutto il mondo (Britton e coll., 1995). Alla fine del 1995 i casi diagnosticati in persone giovani erano diventati tre e, a marzo del 1996, 10.

L'esame neuropatologico del cervello di questi 10 casi ha fornito gli stessi inusuali risultati, con grandi placche amiloidi simili a quelle del kuru, ma atipiche per la forma sporadica di CJD.

Tutti i casi presentavano il genotipo omozigote per la metionina nel codone polimorfo 129 del gene che codifica la proteina PRP. I sintomi clinici inusuali e la neuropatologia hanno suggerito l'emergere di una nuova variante della malattia di CJ (Will e coll., 1996).

Si pensò che la BSE fosse l'origine più verosimile della malattia, poiché l'esposizione all'agente che la provoca aveva avuto la maggiore diffusione nella metà degli anni '80, mentre l'improvviso manifestarsi dei casi nei giovani era in linea con l'ipotesi di un periodo di incubazione della malattia variabile fra i 5 e i 10 anni.

La trasmissione all'uomo della BSE

Barriera fra specie

La trasmissione delle malattie da prioni tra mammiferi è limitata dalla cosiddetta barriera fra specie. Nel primo passaggio fra la specie A e la specie B, tipicamente non tutti gli animali inoculati della specie B sono infettati; quelli che invece lo sono hanno tempi di incubazione più lunghi e variabili rispetto alla trasmissione dei prioni entro la stessa specie, dove tutti gli animali inoculati vengono infettati in un tempo di incubazione breve e simile. Nel secondo passaggio ad altri animali della specie B, i parametri di trasmissibilità sono simili ai parametri della trasmissione entro specie, con tutti, o quasi, gli animali che sviluppano la malattia con periodi di incubazione brevi e simili fra loro.

Gli studi su modelli di trasmissione interspecifica del tipo bovino-topo sono importanti per formulare ipotesi sulla trasmissione bovino-uomo.

Se la barriera interspecie fra bovini e uomo fosse simile a quella fra bovini e topi, l'ordine di grandezza della DL_{50} negli esseri umani dovrebbe essere di dimensione simile a quella riscontrata nei topi. Chiaramente, la speranza è che negli uomini sia molto più grande.

Se poi si assume che la barriera bovino-uomo sia uguale a quella bovino-topo, per estrapolazione si può definire un periodo di incubazione medio per l'uomo di circa 30 anni, con un range fra i 10 anni e un periodo di tempo più lungo di una vita media umana. Tale stima, basata su una serie di studi di trasmissione fra specie diverse effettuati nel corso di diversi anni, suggeriscono cautela nella visione ottimistica della grandezza dell'epidemia, dopo che sono trascorsi solo pochi anni dalla scoperta dei primi casi di nuova variante di malattia di CJ (Scientific Steering Committee, March 2000).

Teoria della trasmissione della BSE all'uomo

Nei bovini con encefalopatia spongiforme i soli tessuti coinvolti e che hanno dimostrato di essere infetti al di fuori del sistema nervoso centrale sono la retina, i gangli trigemini e paraspinali, l'ileo distale e, secondo un'ipotesi non confermata, il midollo osseo. In particolare, i muscoli scheletrici e il latte non contengono infettività rilevabile, come in nessun'altra forma di encefalopatia spongiforme naturale, come il kuru, la malattia di CJ e la scrapie. Quindi, la carne ottenuta dalla muscolatura e il latte, che in virtù del loro grande consumo potrebbero essere i maggiori candidati per la diffusione della malattia all'uomo, sono, in effetti, privi di rischio (Brown, 2001). La raccolta e la lavorazione del latte non coinvolgono alcun passaggio che permette la contaminazione con tessuti infetti: pertanto il latte e i suoi derivati si possono considerare privi di rischio, mentre il procedimento di lavorazione della carne ha alcuni passaggi durante i quali la contaminazione con tessuti nervosi può avvenire. E così la carne e i suoi prodotti rimangono i principali candidati come fonte di infezione per l'uomo (si veda al riguardo quanto riportato al capitolo 2).

I maggiori sospetti si sono appuntati sulla "carne processata meccanicamente", che è una specie di impasto derivato dalle carcasse dalle quali ogni altro tessuto consumabile è stato rimosso manualmente. Pezzi intatti di colonna vertebrale con spina dorsale e gangli paraspinali potrebbero essere stati contenuti nelle carcasse mandate allo spolpo meccanico sino al dicembre del 1995 in Gran Bretagna, quando è stata proibita l'inclusione di queste parti. Questo prodotto veniva definito legalmente "carne" e utilizzato nella maggior parte di prodotti precotti, come hot dog, salsicce, torte di carne, carne in scatola, panini e simili.

Sempre secondo Brown, le altre possibili forme di contaminazione della carne con tessuto nervoso (ad esempio emboli di cervello prodotti dal tipo di macellazione o contaminazione crociata con gli attrezzi di macellazione) scompaiono per importanza in confronto con la contaminazione indotta da tale sistema.

Il fatto più inquietante è la preferenza della variante della malattia CJ per i giovani. Se i prodotti della carne sopra citati fossero il veicolo dell'infezione, sarebbe facile supporre che questo tipo di cibo, popolare e poco costoso, potrebbe essere stato usato in modo spropositato nei cibi dei bambini e degli adolescenti, senza che ora sia disponibile una documentazione di tale fatto. Attualmente non è disponibile la definizione di bias socioeconomici nella distribuzione della variante della CJD. E' invece possibile che sia un caso inusuale, ma non unico, di preferenza di una malattia per un determinato gruppo d'età come risultato di una mescolanza di fattori genetici ed ambientali ancora non compresi (ad esempio non è ancora stato spiegato come mai l'epidemia di influenza del 1918 presentasse

un'inconsueta preferenza per i giovani adulti o del perché l'encefalite equina sia più diffusa fra i molto giovani e gli anziani).

Fino ad ora, la variante della CJD è stata osservata solo in individui omozigoti per la metionina al codone 129 del gene che codifica la proteina PRP; ciò potrebbe indicare che solo il 40% della popolazione è suscettibile a tale malattia, oppure che gli altri genotipi hanno un periodo di incubazione più lungo e che quindi la malattia comparirà negli individui con questi genotipi solo fra molto tempo.

FATTORI GENETICI E AMBIENTALI

I fattori di rischio per la vCJD comprendono una giovane età e, l'omozigosi per la metionina al codone 129 del gene della proteina prionica e la residenza in Gran Bretagna. Tutti i casi di vCJD finora diagnosticati sono omozigoti per la metionina, ma è essenziale continuare la ricerca per verificare se in altre persone colpite dalla infezione esistono genotipi alternativi al codone 129. Tale caratteristica genetica sarebbe in grado di ridurre il periodo di incubazione e la dose minima infettante: gli eterozigoti raramente svilupperebbero la vCJD e comunque dopo un periodo di incubazione assai più lungo (Baron, 2000). Il riscontro della vCJD in Francia in pazienti senza storia di viaggi o spostamenti nel Regno Unito indica che l'esposizione umana alla BSE è avvenuta al di fuori dell'Inghilterra o attraverso forme di BSE indigene o attraverso bovini esportati dalla Gran Bretagna.

Un'altra incertezza riguarda la possibilità di trasmissione laterale per mezzo di strumenti chirurgici o strumenti medici utilizzati per manovre invasive o attraverso la donazione di sangue, tessuti od organi da parte di soggetti che ora sono in fase di incubazione "silente". I possibili rischi derivanti dal sangue hanno già influenzato i movimenti internazionali di sangue e hanno portato alcune nazioni a stabilire restrizioni sui donatori che hanno vissuto per determinati periodi in Gran Bretagna (WHO, 2000) (cfr. paragrafo "Presenza della PrP modificata nel sangue").

TESSUTI DIVERSI DAL SNC

La questione di un rischio potenziale, rappresentato dal sangue di pazienti infetti o affetti dalla vCJD, è stata sollevata quando la PrP-res è stata individuata nelle tonsille, nella milza e linfonodi di tutti i pazienti esaminati, facendo rilevare che questo riscontro è tipico della vCJD e non si ha mai nella CJD sporadica e familiare. Oltre ad offrire un possibile strumento diagnostico, questa scoperta mette in luce il fatto che la vCJD colpisce più sistemi dell'organismo e non solo il SNC (Aguzzi, 1997). Infatti, gli studi sull'accumulo della PrP-res al di fuori del SNC nei casi di vCJD hanno rivelato positività significative nel tessuto linforeticolare, all'interno dei centri germinativi e particolarmente nelle cellule dendritiche follicolari e nei macrofagi (Ironsides e coll., 2000). Questo riscontro si associa alla evidenziazione dell'isoforma associata alla malattia in questi tessuti con l'esame in Western Blot. Recenti studi hanno parimenti confermato che l'isoforma anomala della PrP è presente nel sistema nervoso periferico, compresi i gangli delle radici dorsali ed i gangli trigeminali.

Per contro Ironsides e coll. (2000), nell'intento di individuare un indicatore di stima del contagio nel Regno Unito, hanno ricercato la PrP-res in tonsille ed appendici vermiformi asportate chirurgicamente da soggetti non affetti da disturbi neurologici, d'età compresa tra 10 e 50 anni: sono stati analizzati 3000 campioni senza riscontri di positività.

Se un gran numero di persone è nel periodo di incubazione silente, la diffusione iatrogena potenziale da persona a persona è un pericolo reale. Queste persone apparentemente sane potrebbero subire procedure mediche o chirurgiche come la normale popolazione

(endoscopie, cateterizzazioni vascolari, operazioni e donazioni di sangue e organi). Se, come sospettato, la quantità e la distribuzione dell'agente infettivo nei tessuti delle persone infette da vCJD è maggiore che nelle persone con CJ, l'esposizione degli strumenti medici e chirurgici alla possibile infezione di tessuti interni e il trasferimento di tessuti e organi comincia a diventare un argomento di grande interesse per i possibili pericoli (Brown e coll., 2001).

Altre ipotesi che devono essere ancora sottoposte a sperimentazione e che possono avere a che fare con la giovane età dei casi di nuova variante di CJ sono la maggiore incidenza nei bambini rispetto agli adulti di infezioni o ulcere del nasofaringe, ad esempio le tonsilliti, oppure del tratto più basso dell'intestino, ad esempio le gastroenteriti. C'è evidenza che le TSE possono essere trasmesse attraverso le ferite e le mucose come quelle del tratto intestinale. Un'altra ipotesi è che la via di infezione possano essere le lesioni prodotte dalla crescita dei denti.

E' stata ipotizzata anche la via iatrogena, per mezzo di vaccini preparati in colture cellulari contenenti costituenti bovine (BSE inquiry report, 2000).

Per quanto riguarda la preparazione di vaccini, anche quando non abbiano componenti bovine, va comunque considerato che il siero di vitello fetale o la sieralbumina bovina o, meno comunemente, cervello e milza di bovini potrebbero essere stati utilizzati in fase di produzione, come arricchimento per i terreni di coltura cellulare. In Gran Bretagna sono state verificate le modalità di produzione dei vaccini alla fine degli anni '80: gli stock di prodotto che potevano essere ritenuti a rischio di contagio sono stati sostituiti e sono state eseguite sperimentazioni per valutare l'effettiva capacità dei vaccini di essere fonte di contagio. Tali ricerche hanno dato risultati negativi, anche se alcuni dubbi permangono (BSE inquiry report, 2000).

La replicazione prima della neuroinvasione

Alcune precisazioni meritano il significato e le funzioni delle cellule dendritiche follicolari agli effetti della patogenesi ed anche della trasmissibilità delle encefalopatie spongiformi. Le più recenti ricerche hanno dimostrato (Bruce, 2001) che la replicazione e l'accumulo degli agenti infettanti dentro il tessuto linfoide dipende dalla presenza di cellule dendritiche follicolari mature che esprimano la PrP. Una delle maggiori funzioni delle cellule dendritiche follicolari (FDC) è quella di catturare e trattenere gli antigeni nativi in forma di immunocomplessi e di presentarli alle cellule B nel processo di formazione del centro germinativo (Aguzzi, 2001). Elevati livelli di PrP sono presenti sulle FDC nel topo non infetto, facendo ipotizzare che la PrP possa giocare un ruolo nella funzione di cattura. Dopo l'infezione con la scrapie, forme abnormi di PrP si accumulano tra i prolungamenti contorti e strettamente contigui delle cellule dendritiche follicolari, esattamente presso i siti della ritenzione protratta degli immunocomplessi. Questi reperti indicano che i prioni sono sintetizzati nelle FDC mature (che a loro volta sono correlate alle cellule B mature) e sono trasferiti ai linfociti splenici che sono in intimo contatto con le FDC stesse. Il blocco o un rallentamento della maturazione delle FDC attraverso ad es. l'inoculazione di una linfotossina, impedisce l'accumulo dei prioni nella milza e ritarda di molto la neuroinvasione (Weismann, 2001).

La replicazione degli agenti delle TSE al di fuori del SNC, in una fase che precede la neuroinvasione, ha un significato ed un'importanza considerevole anche ai fini profilattici ed eventualmente terapeutici di queste infezioni. Come già precisato, tale processo si sviluppa principalmente nella milza e linfonodi della maggior parte degli animali sperimentalmente o naturalmente infetti. In questi organi linfatici l'infettività può raggiungere titoli elevati in una

fase relativamente precoce, anche nei modelli sperimentali che implicano una barriera di specie. La replicazione extraneurale si è rivelata determinante agli effetti dello sviluppo della infezione del SNC in animali di laboratorio nei modelli sperimentali.

In conclusione si può pertanto affermare che la vCJD è la sola malattia umana da prioni in cui l'isoforma anormale della PrP è presente al di fuori del SNC e che la distribuzione di questa proteina è simile a quella rilevata nei modelli sperimentali di scrapie a seguito della esposizione orale all'agente trasmissibile. Secondo Antoine e coll. (2000) i linfociti periferici e le cellule linfoidi delle amigdale, ma non gli eritrociti ed i granulociti, presentano la PrPc sulla loro superficie: in quantità minore sui linfociti tonsillari (sia B sia T), maggiore sui linfociti periferici. Tale caratteristica si inverte in vitro: infatti, i linfociti tonsillari sono in grado di manifestare elevate quantità di PrPc sulla loro superficie quando posti in coltura. Gli Autori ritengono inoltre che la quantità della PrPc sulle superfici delle cellule linfoidi possa essere influenzata dalla migrazione attraverso i capillari (diapedesi) oppure attraverso i contatti tra cellule. Ovviamente l'accumulo della PrP anormale nei tessuti al di fuori del SNC ha implicazioni per una possibile trasmissione iatrogena attraverso pratiche chirurgiche (strumenti chirurgici contaminati) e attraverso il sangue, forse per il trasporto della PrP da parte dei linfociti (linfociti B ?). Perciò diversi Paesi hanno applicato misure precauzionali: selezione dei donatori di sangue in base a criteri geografici o alla storia medico/familiare, leucodeplezione nelle donazioni di sangue, nanofiltrazione dei derivati del plasma quando possibile.

Presenza della proteina modificata nel sangue

Risulta indispensabile, ai fini diagnostici "in vita", la valutazione della presenza della proteina prionica -nella sua espressione normale e patologica- nel sangue e nei suoi componenti. Questo tipo di analisi, prima di proiettare eventuali future possibilità diagnostiche, ha anche l'intrinseco scopo di rilevare l'infettività del sangue intero, dei suoi componenti e dei prodotti a base di sangue utilizzati in ematologia.

Gli studi fino ad ora effettuati hanno necessariamente correlato le conoscenze acquisite sulla Scrapie e altre TSE (CJD, GSS...) alla BSE e soprattutto alla vCJD. Rimanendo incerto il ruolo del sangue nella trasmissione delle TSE si sono operati tentativi di valutare l'infettività nel sangue di animali infettati sperimentalmente o naturalmente (Brown, 2001), i cui risultati sono riportati in tabella 1. In generale, dai modelli sperimentali, si evince che il sangue può essere infettivo sia nella fase di incubazione, sia nella fase con sintomi clinici; al contrario l'agente infettivo non è mai stato isolato dal sangue di animali infettati naturalmente dalla malattia

Il fatto che i linfociti B possono essere coinvolti (senza però essere fonte di infezione) nella trasmissione della scrapie ed il ritrovamento di proteina prionica anormale (PrPsc) in tonsille, milza ed intestino cieco di persone affette da vCJD, ha indotto a rimuovere i leucociti – leucodeplezione o deleucocitazione (con rimozione anche delle piastrine) - dal sangue e dai suoi prodotti utilizzati a scopo trasfusionale, anche se dati recenti indicano che la presenza di proteina prionica in cellule B a bassi livelli, non è prerequisito per trasferire l'infezione dai siti periferici al cervello. Sperimentalmente, poi, si è anche accertato che durante la leucodeplezione non avviene alcuna frammentazione delle cellule che potrebbe ridurre il beneficio. Inoltre dati attendibili da studi epidemiologici e ricerche effettuate su animali ammalati suggeriscono che nel sangue esiste comunque un basso titolo di proteina prionica (Prowse e coll., 1999).

Nei modelli murini l'infettività della scrapie e della CJD sembra legata alla frazione leucocitaria, incluse le piastrine (Prowse e coll., 1999). Questi studi su modelli di roditori

evidenziano che la trasmissione della scrapie dalla periferia ai siti centrali (neuroinvasione) coinvolge i linfociti B, che prendono contatto con le porzioni terminali dei nervi della milza (Brown, 2000) e/o le cellule follicolari dendritiche; durante questo periodo il plasma ed i leucociti (comprese le piastrine) mostrano bassi livelli di infettività (Prowse e coll., 1999). A causa poi di una stretta associazione tra cellule follicolari dendritiche e linfociti negli organi linfatici (es. tonsille) è stato ipotizzato che le cellule linfoidi migranti nel sangue possano ospitare e trasmettere prioni infetti (Starke e coll., 2000).

Non esistendo ancora metodi che rilevano la proteina prionica anormale nel sangue, si sono utilizzati metodi per la ricerca di proteina prionica normale. Attraverso i test DELFIA e citometria a flusso di molecole, utilizzando modelli di roditori per scrapie e CJD si è dimostrato che, per i 2/3, la PrPc nel sangue è associata alle piastrine, per 1/3 al plasma mentre solo una piccola quantità è associata ai leucociti mononucleati ed una minima, e talora completamente assente, porzione è associata ai globuli rossi, agli eosinofili, ai neutrofili, ai leucociti polimorfonucleati ed alla frazione Cohn del sangue – parte proteica - (Prowse e coll., 1999; McGregor, 2000; Barclay, 2000; Brown, 2001). Sembra poi che la PrPsc sia più aggregata e più idrofobica della PrPc (proteina solubile) e quindi è probabile che la sua rimozione sia maggiore (Prowse e coll., 1999).

Tabella 1

SPECIE		INOCULO*	VIA DI INOCULAZIONE	POSITIVI/ TOTALE DONATORI	REFERENCE
DONATORE	ANALISI				
Scrapie (naturale)					
capra	topino	coagulo/siero	i.c.	0/3	1980
pecora	topino	coagulo/siero	i.c.	0/18	1982
BSE (naturale)					
bovino	topino	coagulo/siero	i.c. + i.p.	0/2	1984
		buffy coat	i.c. + i.p.	0/2	1999
Scrapie (sperimentale)					
capra	capra	sangue intero	i.c.	0/14	1962
topino	topino	sangue intero	i.c.	0/39	1967
capra	topino	coagulo	i.c. o s.c.	0/20	1974
pecora	topino	siero	i.c.	1/1	1965
ratto	ratto	siero	i.c.	1/1 (pool)	1967
topino	topino	siero	i.c.	1/1 (pool)	1967
topino	topino	sangue intero	i.c.	3/13	1969
hamster	hamster	sangue intero	i.c.	0/9	1984
hamster	hamster	estratto sangue	i.c.	5/5 (pools)	1984
hamster	hamster	estratto sangue	i.c.	10/11 (pools)	1989
hamster	hamster §	tutti comp.sangue	i.c.	1/1 (pool)	2000
		sangue intero	i.c.	31/124	2000
		sangue intero	i.v.	3/108	2000
BSE (sperimentale)					
bovino	topino	buffy coat	i.c. + i.p.	0/11 (pools)	2000
	bovino§	buffy coat	i.c.	0/4 (pools)	2000
topino	topino	plasma	i.c.	4/48	2000
pecora	pecora §	sangue intero	i.v.	1/19	2000

* in vari studi le analisi sono state condotte su una serie di campioni ottenuto sia in fase di incubazione sia in fase clinica della malattia

§ in fase di attuazione

i.c. intracerebrale, i.p. intraperitoneale, s.c. sottocutanea, i.v. intravenoso.

Inoltre, la proteina prionica normale è espressa diversamente sulla superficie delle cellule del sangue dell'uomo, della pecora e di altri animali da esperimento (Holada, 2000). La PrPc nei globuli rossi ed in altre cellule non riesce a propagare l'infezione o a trasferire la PrPsc a cellule adatte a trasmetterla, in quanto gli eritrociti e le piastrine superano di un gran numero i leucociti responsabili della trasmissione di alcune TSE: grazie alla competizione nel legare la PrPsc, questa è quindi costretta in un fondo cieco che ne previene la diffusione (Holada, 2000).

Su modelli sperimentali (topino) infettati con GSSD (Gertsman-Straussler-Scheinker Disease) si è evidenziato che la maggiore infettività è presente nel buffy coat (strato leucocitario-piastrinico) più che nel plasma (Turner, 2000). Al contrario, studi preliminari hanno dimostrato che in hamster infettati da scrapie i globuli rossi e le piastrine hanno minore infettività del plasma.

Nella vCJD un accumulo abnorme di PrP è stato dimostrato nelle cellule dendritiche follicolari linfoidi periferiche, mentre sono poche le osservazioni relative alla presenza, al titolo, alla distribuzione ed alla durata della PrPsc o all'infettività del sangue periferico dei pazienti con sintomatologia, anche se per quanto riguarda l'infettività sembra che, in generale, sia più elevata nei leucociti rispetto al plasma o alle piastrine (Turner, 2000).

La questione è molto dibattuta; infatti, alcuni ritengono che nella vCJD molta dell'infettività del sangue sia legata al buffy coat (che può contenere livelli 30 volte superiori di piastrine rispetto alle cellule bianche – questo dipende dalla velocità di centrifugazione utilizzata nella preparazione, poiché le piastrine sono più leggere dei globuli bianchi -); altri invece ritengono che essa sia legata solo alle cellule bianche (Starke, 2000).

Infine, Fischer e coll. (2000) hanno scoperto attività nel sangue umano e murino che legano la PrPsc, ma non la PrPc, all'infettività identificando il plasminogeno, una proproteasi implicata nella tossicità neuronale, quale proteina legata alla PrPsc. Secondo questi studi il plasminogeno rappresenterebbe il primo fattore endogeno discriminante tra proteina prionica normale e patologica; quest'inaspettata proprietà potrà essere studiata per scopi diagnostici.

PROSPETTIVE

Si sta osservando un significativo incremento temporale del numero annuale di morti per vCJD nel Regno Unito a partire dal 1995 (Will e coll., 1996), con un raddoppio stimato approssimativamente ogni 3 anni (Will, 2001). Le predizioni a lungo termine sul numero totale di casi di vCJD, elaborate su modelli matematici, non hanno tenuto conto della possibilità di una trasmissione secondaria, iatrogena, della malattia, attraverso le trasfusioni di sangue o di emoderivati, i trapianti di tessuti o d'organi o gli strumenti chirurgici contaminati. Al momento non vi è un'evidenza di trasmissione interumana della vCJD attraverso queste vie, come sembrerebbe dagli studi retrospettivi sui prodotti e derivati ematici ed i loro effetti, ma i prevedibilmente molto lunghi periodi d'incubazione legati a questa via periferica d'infezione fanno ritenere che dovranno trascorrere molti anni, prima che si possa escludere una trasmissione secondaria.

La malattia di Creutzfeldt-Jakob nei gruppi a rischio

Esistono ancora incertezze sui casi che si sono sviluppati in agricoltori, nelle mogli di agricoltori e in diversi macellatori. E' probabile che gli agricoltori possano essere esposti ad un rischio maggiore rispetto alla popolazione generale (Cousens e coll., 1997).

Sembra improbabile che il maggior numero di casi osservati negli agricoltori sia

dovuto ad un aumento dell'attenzione nel rilevare la malattia di CJ in questo particolare gruppo a rischio, visto che in altri gruppi a rischio, come i veterinari e i macellai, non è stato osservato un aumento nel numero di casi (BSE inquiry report, 2000).

La malattia di CJ negli agricoltori appare simile alla forma classica della malattia stessa, sia per età all'insorgenza sia per i pattern di glicosilazione della proteina PRP, sia per la tipizzazione del ceppo prionico negli esperimenti sui topi. Alcuni agricoltori sono risultati eterozigoti per il codone 129 (metionina/valina) e il loro sistema reticolo-linfocitario (LRS) non presentava gli alti livelli di PrPsc trovati, invece, nei casi di nuova variante. L'omozigosi per la metionina potrebbe essere un fattore predisponente allo sviluppo precoce della malattia, mentre gli individui con omozigosi per la valina o eterozigosi svilupperebbero la malattia con tempi di incubazione più lunghi. Rimane la remota possibilità che il fenotipo espresso da una persona più anziana che contrae la CJD attraverso la BSE sia diverso dal fenotipo espresso da una persona più giovane. Per quest'ultima il fenotipo sarebbe la nuova variante, mentre per gli anziani la forma classica di CJD (Cousens e coll., 1997).

Previsioni sulla dimensione dell'epidemia nell'uomo

Il numero complessivo di casi di vCJD ad agosto 2001 è pari a 106 nel Regno Unito, 3 in Francia, 1 in Irlanda ed uno (sospetto) a Hong Kong.

Il paziente irlandese è vissuto per alcuni anni in Gran Bretagna, mentre nessuno dei pazienti francesi vi è mai vissuto o l'ha mai visitata; pertanto la loro infezione ha preso avvio da carne o prodotti della carne importati da tale Stato (il 5-10% della carne consumata in Francia proviene dalla Gran Bretagna), oppure da bovini affetti da BSE in Francia.

Recentemente si è accertato che il numero di nuovi casi subisce un incremento del 23% annuo (periodo 1994-2000), mentre le morti aumentano del 33% ogni anno (periodo 1995-2000) (Andrews e coll., 2000). Infatti i casi osservati anno dopo anno a partire dal 1995 sono stati 3, 10, 10, 18, 15, 28 e, nel primo semestre 2001, 18. Di una certa rilevanza, nel valutare le possibili dimensioni dell'epidemia nell'uomo, è l'osservazione che tutti i casi per i quali sono disponibili dati di tipo genetico (87 al 31 gennaio 2001 sui 93 casi allora identificati) sono omozigoti al codone 129 del gene della proteina prionica (National CJD Surv. Unit, 2000).

I tentativi di stimare l'ampiezza della possibile epidemia di vCJD sono stati ostacolati dal gran numero di variabili associate alla malattia, come la dose infettante, la via di trasmissione, il periodo di incubazione, la suscettibilità genetica e la barriera fra specie, ma soprattutto dal fatto che la dimensione di questi fattori rimane sconosciuta. Le stime sullo sviluppo futuro dell'epidemia predicono numeri di casi diversi, che vanno dai 100 casi a diversi milioni di individui, in base alle variabili prese in considerazione, anche se le ultime previsioni, che si basano sull'incidenza annuale dell'epidemia in Gran Bretagna sino al 1999, risultano un po' più ottimistiche delle stime effettuate in passato.

Diversamente dall'epidemia di BSE, la diffusione della vCJD ha mostrato solo una modesta crescita nei primi 6 anni e il numero dei casi con esordio nel 2000 rimane inferiore al numero totale dell'anno precedente, sebbene sia probabile che ulteriori casi siano identificati nei prossimi mesi. Tale differenza può essere dovuta al fatto che negli uomini non è avvenuto il "riciclo" di tessuti infetti e così l'epidemia si evolverà in modo più lento rispetto ai bovini; oppure, la differenza può risiedere nel fatto che una dose infettante più bassa non possa superare l'effetto combinato della barriera di specie e della comparativamente inefficiente modalità di infezione.

I modelli matematici hanno il merito di favorire l'identificazione dei fattori coinvolti, la valutazione di quali rivestano la maggior rilevanza, la formazione di uno schema logico attorno al quale organizzarli. I tentativi di definire su base scientifica le possibili dimensioni che un'eventuale epidemia potrebbe avere forniscono un solo messaggio comune, relativo all'elevato grado di incertezza di fronte al quale ci si trova al momento attuale e alla necessità di ragionare in termini di range potenziali di casi (scenari) e non su inaffidabili stime puntuali (Donnelly e coll., 1999).

I modelli matematici inizialmente indicavano un range variabile tra poco meno di un centinaio e decine di migliaia di vittime (Cousens e coll., 1997). In particolare, per tempi d'incubazione pari a 10 anni (il primo caso di vCJD è stato diagnosticato nel 1996), il numero complessivo previsto di casi di vCJD variava tra 75 e 213 casi, mentre nel caso di tempi d'incubazione pari a 25 anni i casi previsti erano stimati tra i 200 e gli 80.000. Stime più recenti, riferite al 40% della popolazione generale inglese che possiede il genotipo considerato maggiormente suscettibile (omozigote per metionina al codone 129 del gene della PrP), attribuivano all'epidemia un limite massimo di circa 3.000 casi per tempi d'incubazione compresi tra i 20 e i 30 anni, che si ridurrebbero a circa 650 se i tempi d'incubazione della malattia fossero inferiori a 20 anni (Ghani e coll., 2000).

Come già accennato, tali stime devono comunque essere valutate con cautela. Innanzi tutto, sono state ottenute a partire da un numero estremamente esiguo di casi. Ad esempio nel primo dei lavori citati le stime sono state ottenute quando i casi confermati erano solo 14 e nel secondo lavoro si faceva ancora riferimento a dati fermi al 1999 quando la progressione del numero di nuovi casi era in apparente contrazione (tendenza smentita durante gli ultimi due anni). Inoltre i modelli sono stati costruiti a partire da assunzioni necessariamente arbitrarie relative alle modalità secondo le quali sarebbe avvenuta l'esposizione della popolazione umana alla BSE. Combinando in modo differente i fattori considerati è stato possibile costruire scenari alternativi e suscettibili di ulteriore revisione a mano a mano che si renderanno disponibili informazioni sulla biologia della malattia e sul numero di casi insorgenti nell'immediato futuro (Cervena'kova' e coll., 1998).

ESPOSIZIONE DELLA POPOLAZIONE

L'esposizione alla BSE ad esempio dipende dal numero di casi di malattia nella popolazione bovina, da quanto essi siano stati sottostimati, dal tempo intercorso dal momento in cui gli organi a rischio furono esclusi dalle catene alimentari e dall'efficacia pratica di questi provvedimenti (variabile da un teorico 100% a percentuali decisamente inferiori).

TEMPI DI INCUBAZIONE

I casi stimati tendono ad essere più numerosi nel caso di tempi di incubazione più lunghi e soggetti ad un minor grado di variabilità; inoltre ampie variazioni dipendono dalle differenti distribuzioni teoriche (esempio lognormale, Weibull, gamma) in grado di descrivere come la lunghezza del tempo di incubazione possa variare nei differenti pazienti: la distribuzione teorica dei tempi di incubazione caratteristica per la BSE andrà ad influenzare il numero di infezioni previste rispetto ai casi di malattia osservati.

La stima del tempo di esposizione caratteristico della vCJD può essere derivato o per analogia da quanto noto per il Kuru o per i casi di CJD di origine iatrogena, oppure dallo studio diretto dei casi di vCJD osservati. Per quanto riguarda il Kuru, lo studio dell'epidemia verificatasi in Papua Nuova Guinea ha suggerito che i tempi d'incubazione possano raggiungere in alcuni casi anche i 30 anni d'incubazione (Cousens e coll., 1997). Inoltre, è stato osservato che i tempi d'incubazione nel Kuru sarebbero tendenzialmente inferiori nei

soggetti omozigoti al codone 129 (DNV Technica, 1997): ciò rafforzerebbe l'ipotesi che anche soggetti eterozigoti siano suscettibili alla vCJD, manifestando però i segni della malattia dopo un periodo d'incubazione più lungo. Per quanto riguarda invece la CJD iatrogena, utilizzando modelli matematici applicati a 55 casi insorti tra 1.361 persone cui era stato somministrato l'ormone della crescita, è stato calcolato che la durata media era pari a 9-10 anni, con valori di massimi di 15-16 anni nel 95% dei casi (DNV Technica, 1997). Come per il Kuru, l'omozigosi al codone 129 era associata a tempi di incubazione più brevi.

Una stima ottenuta invece in modo diretto da casi di vCJD deriva dallo studio di un'aggregazione spaziale (cluster) di casi di malattia osservati nel Leicestershire (UK). La presenza del cluster è stata riconosciuta in modo definitivo e confermata statisticamente nel luglio 2000 quando a tre casi, descritti precedentemente fino all'autunno del 1998, se ne aggiunsero altri due. Dalle informazioni raccolte risultò che nel periodo tra il 1980 e il 1991 tutti i 5 soggetti colpiti dalla malattia erano vissuti in un'area (la *Wreake and Soar Valley*) compresa in un raggio di 5 chilometri. Sulla base delle informazioni raccolte per questo episodio è stata formulata l'ipotesi che alcune pratiche allora in uso (legate alla manipolazione diretta degli encefali animali e alla toelettatura manuale delle carcasse) avrebbero potuto determinare la contaminazione delle carni con l'agente responsabile della trasmissione della BSE. Dallo studio è emerso che le famiglie di 4 dei 5 casi si approvvigionavano di carne da due dei macellai operanti nella zona durante gli anni '80 (uno in attività fino al 1982, l'altro ancora fino al 1989): nel caso delle famiglie dei malati di vCJD l'acquisto da un macellaio che operava direttamente sui cervelli dei capi venduti (con conseguente potenziale contaminazione del resto della carcassa) era 15 volte più probabile rispetto a quanto accadeva per le famiglie dei controlli. Questo tipo di esposizione, cessata entro la fine del 1982 per tutti i casi tranne che per quello in cui essa si è protratta fino al 1989, potrebbe rappresentare la spiegazione dell'insorgenza della malattia per almeno 4 dei 5 casi studiati. Dal momento che il primo dei malati manifestò i sintomi della malattia nel 1996, ciò significa che il periodo di incubazione per questo caso dovrebbe essere compreso tra i 14 e i 16 anni. Nel caso del soggetto che utilizzava il macellaio in attività fino al 1989 e che ha presentato i primi sintomi di malattia nel 1999, il periodo minimo di incubazione ipotizzabile sarebbe pari a 10 anni (Bryant e coll., 2001).

Una certa preoccupazione ha invece destato l'osservazione di un caso verificatosi in un soggetto deceduto a causa della malattia a 74 anni (National CJD Surveillance Unit, 2000).

Ulteriori fattori di variazione della durata dell'incubazione che andranno approfonditi riguardano l'effetto esercitato dalla dose infettante e quello relativo all'età del soggetto al momento dell'infezione (Cervena'kova' e coll., 1998).

Indagini sui fattori di rischio

A partire dal 1990 nel Regno Unito sono stati avviati due studi caso-controllo sulla CJD per l'identificazione dei possibili fattori di rischio coinvolti (National CJD Surveillance Unit, 2000). Parte di questo lavoro è poi stato diretto allo studio della vCJD. Gli studi tuttora in corso e che via via coinvolgeranno nuovi soggetti, prevedono che i parenti dei pazienti con sospetto di malattia siano intervistati utilizzando un questionario per la raccolta di informazioni relative a residenza, occupazione, abitudini alimentari e storia medico-sanitaria.

Nel primo studio sono state confrontate le esposizioni di 25 casi e 53 controlli scelti all'interno della stessa comunità; nel secondo invece il confronto si riferisce a 60 casi e 60 controlli selezionati all'interno dello stesso ospedale.

Fino ad ora sono emerse soltanto differenze, anche se non statisticamente significative, nel regime alimentare dei casi rispetto ai controlli. Non sono state osservate invece differenze nel caso di procedure mediche subite o di potenziali esposizioni occupazionali.

Informazioni su occupazione per 24 casi di vCJD, confrontati con 53 controlli appartenenti alla stessa comunità

Tipo di occupazione	% di casi (n=24)	% controlli dalla stessa comunità (n=53)	Odds ratio
Medica/ paramedica/ infermieristica/ dentistica	4	13	non calcolabile
Laboratori di sperimentazione animale	0	0	non calcolabile
Laboratori farmaceutici	0	6	non calcolabile
Altri laboratori di ricerca	0	2	non calcolabile
Zootecnica/ medicina veterinaria	8	0	non calcolabile
Industria della carne	8	6	1.3
Industria alimentare	33	28	1.1
Altre con il coinvolgimento di prodotti animali	4	4	1.3

Occupazione di 60 casi vCJD confrontati con 60 controlli ospedalieri

Tipo di occupazione	% di casi (n=60)	% controlli ospedalieri (n=53)	Odds ratio
Medica/ paramedica/ infermieristica/ dentistica	5	13	0.4
Laboratori di sperimentazione animale	0	0	non calcolabile
Laboratori farmaceutici	0	0	non calcolabile
Altri laboratori di ricerca	0	0	non calcolabile
Zootecnica/ medicina veterinaria	5	7	0.8
Industria della carne	5	13	0.4
Industria alimentare	25	21	1.3
Altre con il coinvolgimento di prodotti animali	3	5	0.3

L'ESPOSIZIONE A FATTORI DI TIPO MEDICO.

Tale esposizione è stata vagliata solo per i casi con controlli provenienti dalla stessa comunità per evitare di incorrere in bias da selezione, possibili quando i controlli sono di tipo ospedaliero. Nessuna delle varie procedure medico-chirurgiche considerate (operazioni neurologiche, dell'occhio, dell'orecchio, ortopediche, addominali, per l'asportazione delle tonsille o dell'appendice, altre) sembra al momento determinare un aumento statisticamente significativo del rischio. Ciò vale anche per le trasfusioni sanguigne, anche se in proporzione sono risultate più frequenti tra i malati (3 su 25 tra casi contro 3 su 53 tra i controlli).

L'ESPOSIZIONE OCCUPAZIONALE.

Per la valutazione dell'impatto dell'occupazione esercitata sul rischio di ammalarsi di vCJD (o anche della forma sporadica) oltre allo svolgimento dello studio caso-controllo è stata condotta un'analisi degli andamenti della mortalità per encefalopatie spongiformi in categorie lavorative a rischio.

Nelle tabelle sono contenute le informazioni relative a tipologie di occupazione ritenute a maggior rischio nello studio caso-controllo. Per nessuno dei settori considerati è stato riscontrato un aumento del rischio statisticamente significativo (nella tabella Odd Ratio superiori ad 1 indicherebbero un aumento - inferiori ad 1 una diminuzione - del rischio legato al tipo di occupazione svolta; gli intervalli di confidenza che comprendono l'unità indicano che l'associazione osservata non è statisticamente significativa).

Per verificare se tra i lavoratori esposti all'encefalopatia spongiforme bovina (allevatori, veterinari, macellatori e macellai) si fosse verificato un eccesso di mortalità dovuta a demenze di vario tipo (incluse le encefalopatie spongiformi umane) è stata studiata la popolazione deceduta tra i 20 e i 74 anni in Inghilterra e Galles nel periodo tra il 1979 e il 1996 (complessivamente 4.145.898 casi di morte) (Aylin e coll., 1999). Dallo studio è emerso che non si sono verificati casi di CJD in veterinari, macellatori e macellai mentre i casi tra gli allevatori sono stati sull'intero periodo solo 12, senza che fosse evidente una tendenza all'aumentare nel corso degli anni. I risultati dello studio, anche in questo caso, sembrano essere rassicuranti, anche se devono essere considerati con cautela, perché si riferiscono ai dati ad oggi a disposizione e potrebbero essere influenzati dalla lunghezza del tempo d'incubazione (Alpérovitch, 1999).

In uno studio recente si è tentato di valutare il rischio ambientale legato agli impianti coinvolti nella trasformazione o nello smaltimento dei rifiuti d'origine animale (Cousens e coll., 1999). E' stata verificata la possibile relazione tra la distribuzione geografica degli impianti di colatura e quella di 26 casi di vCJD: dai risultati non emerge evidenza che i casi tendenzialmente vivessero più vicini agli impianti rispetto al resto della popolazione. In generale è stata invece dimostrata un'incidenza superiore della malattia non ancora spiegabile nel nord rispetto al sud della Gran Bretagna (National CJD Surveillance Unit, 2000).

In conclusione gli unici fattori di rischio accertati al momento rimangono l'età, la residenza nel Regno Unito e l'omozigosi al codone 129 della proteina prionica. Solo il proseguimento degli studi in corso riuscirà a verificare il ruolo di altri fattori di rischio.

L'ESPOSIZIONE DI TIPO ALIMENTARE.

Dai risultati di questi studi emerge che ancora mancano prove convincenti di un'associazione con la dieta. Quando il confronto è avvenuto con controlli dalla stessa comunità, l'analisi dei consumi di vari prodotti carnei non ha suggerito alcun ruolo nell'insorgere della malattia. Dal confronto invece con controlli ospedalieri emerge che una proporzione statisticamente superiore di casi consumava alimenti tipo "burger". Inoltre i casi consumavano con maggior frequenza sia "manzo" sia alimenti di tipo "burger" tra gli oltre 14 tipi diversi di prodotti carnei presi in considerazione. Nei casi inoltre era segnalato un consumo leggermente più frequente (anche se non statisticamente significativo) di alimenti che con una certa probabilità prevedevano tra gli ingredienti carni ottenute meccanicamente (MRM). I risultati vanno comunque valutati con cautela dato l'elevato numero di confronti eseguiti e quindi la possibilità di osservazioni statisticamente significative legate al solo effetto del caso.

I risultati, già descritti, ottenuti dallo studio del cluster del Leicestershire non sono incompatibili con quelli appena presentati (Bryant e coll., 2001). Infatti, nel caso del cluster l'attenzione è stata focalizzata sulle circostanze di preparazione delle carni piuttosto che su singoli item alimentari: l'ipotesi andrebbe ora verificata su scala nazionale.