

EVIDENZIAMENTO DELLA PROTEINA PRIONICA NELLA SCRAPIE DELLE CAPRE

N.Pozzato, M.T. Capucchio, V. Di Marco¹, F. Montesi², F. Guarda e B. Biolatti³
Università di Torino; Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia; Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie; Università di Padova

Introduzione

La scrapie è storicamente una patologia progressiva ad andamento subacuto-cronico ed inesorabilmente fatale che colpisce le pecore e le capre. In realtà i caprini sono generalmente refrattari alla malattia e solo occasionalmente ne vengono colpiti. In Italia, però, abbiamo notato negli ultimi due anni un notevole incremento di questi casi, fatto abbastanza singolare, forse dovuto a una maggior sensibilizzazione sulle patologie da prioni avvenuta in seguito allo scoppio della bomba BSE. Questo ci ha spinti a sperimentare sulla specie caprina i metodi diagnostici abitualmente utilizzati nello studio delle altre encefalopatie spongiformi trasmissibili: lo studio istopatologico ed immunoistochimico del sistema nervoso centrale, la determinazione della presenza di SAF (fibrille associate alla scrapie) e la tecnica di western blot.

Materiali e metodi

Sono stati raccolti campioni di midollo allungato da capre di età compresa tra i 2 e i 4 anni con sintomatologia nervosa ascrivibile a scrapie. Una porzione è stata congelata a -80°C ed il resto fissato in formalina tamponata al 10% e ed incluso in paraffina per effettuare lo studio istopatologico ed immunoistochimico secondo il protocollo di Capucchio et al.(1).

500 mg di tessuto congelato sono stati processati per la purificazione della PrP^{Sc} secondo il protocollo di Hilmert e Diringer modificato (2) e successiva evidenziazione delle SAF mediante M.E. a 35-40000x. Alcuni campioni sono pure stati sottoposti al Western Blot previa purificazione mediante la tecnica di Beekes et al.(3) modificata. Per questo studio sono stati utilizzati anticorpi policlonali anti-PrP bovina ricombinante.

Risultati e discussione

Per quanto riguarda la sintomatologia clinica, gli animali studiati presentavano sintomi ascrivibili alla scrapie: prurito più o meno intenso, presenza di aree alopeciche ed erosioni lungo la linea del dorso e sulla regione della groppa, tremori muscolari ed incoordinazione dei movimenti.

Lo studio istologico ha dimostrato la presenza di lesioni di tipo spongiforme caratterizzate da non frequenti vacuolizzazioni intraneuronali, lieve spongiosi, astrocitosi e gliosi. Allo studio immunostochimico è stata dimostrata la presenza di modiche quantità di PrP^{Sc} dopo trattamento del tessuto con autoclave e proteinasi K. La ricerca delle SAF ha dimostrato la presenza di fibrille simili a quelle dimostrate nella specie ovina e bovina anche se in minore quantità. Lo studio mediante western blot ha dimostrato la presenza, dopo purificazione e trattamento con proteinasi K, delle caratteristiche tre bande di cui la maggiore di circa 27 KDaltons. Questo studio preliminare dimostra che nella scrapie caprina si possono applicare le metodiche utilizzate nella diagnosi delle altre encefalopatie spongiformi. Ulteriori studi saranno comunque necessari per comparare le varie tecniche messe a punto in modo da definire la sensibilità delle stesse nella diagnosi di questa patologia.

Bibliografia

- 1) CAPUCCHIO M.T., GUARDA F., ISAIA M.C., CARACAPPA S., DI MARCO V. "Natural occurrence of scrapie in goats in Italy" (1998) Vet Rec in press
- 2) POZZATO N., DE LAS HERAS M., y GARCIA DE JALÓN J.A. "Diagnostico del scrapie mediante identificacion de fibrillas asociadas al Scrapie (SAF)" (1996) Med Vet 13: 345-348
- 3) BEEKES M., BALDHAUF E., CASSENS S., DIRINGER H., KEYES P., SCOTT A.C., WELLS G.A.H., BROWN P., GIBBS C.J. and GAJDUSEK D.C. " Western blot mapping of disease specific amyloid in various animals species and humans with trasmissible spongiform encephalopathies using a high yield purification method" (1995) J Gen Vir 76, 10: 2567-2576