

ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ И ИММУНОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ / INFECTIOUS DISEASES AND ANIMAL IMMUNOLOGY

DOI: <https://doi.org/10.23649/JAE.2023.34.8>

ПРИОННЫЕ БОЛЕЗНИ ЖИВОТНЫХ: ПУТИ ПЕРЕДАЧИ, РАСПРОСТРАНЕНИЯ И НАКОПЛЕНИЯ ИНФЕКЦИОННОГО ПРИОННОГО БЕЛКА В ЕСТЕСТВЕННОЙ СРЕДЕ ОБИТАНИЯ ЖИВОТНЫХ

Обзор

Вангели С.В.^{1*}, Надточей Г.А.²

¹ ORCID : 0000-0002-3585-1679;

² ORCID : 0000-0003-4295-3400;

^{1,2} Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко РАН, Москва, Российская Федерация

* Корреспондирующий автор (sergeyvangeli[at]mail.ru)

Аннотация

Прионы вызывают фатальные трансмиссивные губкообразные энцефалопатии (ТГЭ) животных и человека. Среди ТГЭ жвачных животных, которые являются источником ценной мясной продукции и важного лекарственного сырья, с экономической и социальной точек зрения являются губкообразная энцефалопатия крупного рогатого скота (ГЭ КРС), скрепи овец (СО) и хроническое истощение оленей (ХИО). Возбудитель, прион, представляет собой неправильно свернутую изоформу нормального клеточного белка приона, который обнаруживается в клетках животных и человека, с более высокой концентрацией в центральной нервной системе. В этом обзоре мы рассмотрим различные естественные пути передачи прионных болезней животных в восприимчивых популяциях, потенциальную роль естественной среды в передаче прионов, включая механизмы и пути проникновения и накопления прионов в окружающей среде.

Ключевые слова: прионы, PrPs, губкообразная энцефалопатия крупного рогатого скота, скрепи овец, хроническая истощающая болезнь оленевых.

ANIMAL PRION DISEASES: PATHWAYS OF TRANSMISSION, SPREAD AND ACCUMULATION OF INFECTIOUS PRION PROTEIN IN THE ANIMAL NATURAL ENVIRONMENT

Review article

Vangeli S.V.^{1*}, Nadtochei G.A.²

¹ ORCID : 0000-0002-3585-1679;

² ORCID : 0000-0003-4295-3400;

^{1,2} All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary Medicine named after K.I. Skryabin and Y. R. Kovalenko of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

* Corresponding author (sergeyvangeli[at]mail.ru)

Abstract

Prions cause fatal transmissible spongiform encephalopathies (TSEs) in animals and humans. Among the ruminant TSEs, which are a source of valuable meat products and important medicinal raw materials, bovine spongiform encephalopathy (BSE), sheep scrapie (SS) and deer chronic exhaustion (DCE) are of economic and social concern. The causative agent, prion, is a misfolded isoform of the normal cellular prion protein, which is found in animal and human cells, with a higher concentration in the central nervous system. In this review, we examine the different natural pathways for transmission of prion diseases in animals in susceptible populations, the potential role of the natural environment in prion transmission, including the mechanisms and pathways of entry and accumulation of prions in the environment.

Keywords: prions, PrPs, bovine spongiform encephalopathy, sheep scrapie, chronic exhaustive reindeer disease.

Введение

Прионные болезни, известные как трансмиссивные губчатые энцефалопатии (ТГЭ), представляют собой группу нейродегенеративных болезней, поражают широкий круг различных видов млекопитающих, в том числе и человека, приводящие к неизбежному летальному исходу и не имеют доступных в настоящее время методов лечения. Характеризуются сходными неврологическими расстройствами, вакуолизацией нейропаренхимы, гибелью нейронов и накоплением инфекционного прионного белка. Заболевания развиваются в результате попадания в организм патогенного белка, который приводит к переходу здорового клеточного прионного белка PrP^C в неправильно свернутую протеазо устойчивую изоформу клеточного прионного белка – приона (PrP^{Sc}) [1]. Как и все патогены, прионы могут передаваться от одного вида к другому. Прионные болезни регистрируют спорадически, однако такие как скрепи овец и коз, трансмиссивная энцефалопатия норок, хроническое истощение оленевых и губкообразная энцефалопатия коров (ГЭ КРС) могут протекать в виде эпизоотий и представлять огромные экономические и социальные проблемы.

Кроме того, губкообразная энцефалопатия крупного рогатого (ГЭ КРС), вызывает болезнь Крейтцфельдта-Якоба (БКЯ) у людей [2], унесшей жизни 228 человек, в основном в Европе и особенно в Соединенном Королевстве. Несмотря на отсутствие зарегистрированных случаев БКЯ с 2016 г., угроза ГЭ КРС для человека остается в виде атипичных типов ГЭ КРС [3] и передачи через промежуточные виды, которые могут не только

передавать заболевание человеку, но и изменять характеристики штамма [4], [5]. Точное количество людей, получивших прион ГЭ КРС через продовольствие и являющихся асимптомными его носителями, неизвестно.

Прионные заболевания известны давно, но только в конце 20 века этиологический агент был охарактеризован, когда была постулирована прионная гипотеза [6]. Было высказано предположение, что скрепи вызывается неправильно свернутой изоформой нормального клеточного прионного белка PrP^C, который обнаруживается на поверхности многих клетках всех высших видов с более высокой концентрацией в ЦНС. Неправильно уложенная форма была первоначально названа устойчивым к протеазе К прионным белком PrP^{Sc}.

Прионный инфекционный белок PrP^{Sc} можно обнаружить различными методами диагностики: иммуноблоттинг, иммуноферментный анализ, иммуногистохимия которая являются наиболее широко используемыми методами исследования и диагностики [7]. Были разработаны новые методы, такие как циклическая амплификация белков с неправильным сворачиванием (PMCA) и конверсия, индуцированная колебаниями в реальном времени (RT-QuIC). Они заключаются в воспроизведении превращения PrP^C в PrP^{Sc} *in vitro* с использованием PrP^{Sc}, присутствующих в инфицированных образцах. PMCA и RT-QuIC позволили им продвинуться в знаниях о прионных заболеваниях, поскольку они обладают более высокой чувствительностью, чем другие методы [8].

Из всех прионных болезней животных наиболее известна скрепи. Это был прототип для изучения прионных болезней, и он является наиболее распространенным, с наибольшим количеством зарегистрированных новых случаев. Кроме того, хотя доказательств передачи скрепи человеку не было, но все равно представляет потенциальный риск для людей, что было доказано в опытах с заражением скрепи овец приматов и трансгенных мышей, у которых сверх экспрессируется природный PrP^C человека [9], [10]. Помимо гипотетического риска для других видов, распространение скрепи среди мелких жвачных животных создает коммерческие барьеры для овец и коз и продуктов их переработки.

В настоящее время хроническое истощение оленей (ХИО) стал наиболее опасной прионной болезнью животных, поскольку было показано, что он сохраняется у диких животных и распространился на большие территории. В Соединенных Штатах ХИО был ограничен небольшим ареалом в северном Колорадо и южном Вайоминге еще в конце 1990-х годов. По состоянию на январь 2021 года ХИО был зарегистрирован в 339 округах в 26 штатах континентальной части США, а также в трех провинциях Канады и европейских странах Норвегии, Швеции и Финляндии в дополнение к завозным случаям, зарегистрированным в Южной Корее [11]. Кроме того, было высказано предположение, что ХИО может представлять собой зоонозное заболевание и, следовательно, представлять потенциальный риск для здоровья населения [12]. Этому значительному распространению, несомненно, способствовала способность прионов проникать в окружающую среду, сохраняться, накапливаться и, наконец, заражать новых животных. В этом вращающемся постоянно усиливающимся цикле окружающая среда служит переносчиком, облегчающим передачу прионной болезни от одного организма к другому.

В то время как опасности межвидовой передачи и ятрогенных инфекций привлекли большое внимание, механизмы, ответственные за горизонтальную передачу через материалы окружающей среды или медицинские инструменты и процедуры, остаются не до конца изученными. Бессимптомные инкубационные периоды прионных заболеваний могут длиться годами и даже десятилетиями, прежде чем будут наблюдаться клинические признаки [13], [14], тем самым предоставляя возможность для передачи и распространения прионных заболеваний. Это, в сочетании с необычайной устойчивостью прионов [15], позволяет им сохраняться и накапливаться во внешней среде обитания инфицированных животных. Тем самым увеличивая риски распространения и заражения патогенным прионным белком здоровых животных.

Пути проникновения инфекционного прионного белка в окружающую среду

На сегодняшний день наиболее вероятным путем передачи ТГЭ животных, приобретенных естественным путем, является пероральный прием пищи, после чего прионы способны эффективно преодолевать кишечный барьер и проникать в лимфоидные ткани, связанные с кишечником [16], [17]. После перехода в лимфоретикулярные ткани прионы могут проникать в энтеральную нервную систему, а затем попадать в центральную нервную систему, включая головной мозг [18]. После репликации в лимфоидных тканях [19], наблюдается значительное распространение прионов по периферии и выделение прионов через слюну, мочу и фекалии как симптоматических, так и бессимптомных инфицированных оленей [20], [21]. При ХИО выделение инфекционных прионов с экскрементами считается наиболее значительным источником заражения окружающей среды прионами [20], [22], [23].

Предполагается, что распространение прионов в окружающей среде через мочу и фекалии играет важную роль в высокой эффективности горизонтальной передачи ХИО [24]. Из-за длительных инкубационных периодов, характерных для прионных болезней, существует длительная возможность выделения прионов и попадания их в окружающую среду. Более чувствительные тесты для обнаружения инфекционных прионов, в том числе циклическая амплификация белков с неправильным сворачиванием (PMCA) и конверсия, вызванная дрожанием в реальном времени (RT-QuIC), подтвердили присутствие прионов в моче и кале во время течения CWD [25], [26]. Было подсчитано, что в течение болезни инфицированный олень может выделять с фекалиями почти такое же количество прионов, которое накапливается в его мозгу при терминальной стадии болезни [27]. В то время как количество ежедневных фекальных экскрементов значительно колеблется между видами оленей и рационом, а также сезоном [28], считается, что олени производят от 400 до 3000 г фекалий в день [29]. Это соответствует от 0,04 до 15 мкг PrP^{Sc}, выделяемых с фекалиями в день от одного инфицированного животного. В течение года отдельный олень может выделить почти 5,5 мг инфекционного PrP^{Sc} в окружающую среду. Было подсчитано, что в районе, эндемичном по ХИО, в штате Колорадо, около 50% из примерно 420 000 белохвостых оленей, живущих на свободном выпасе, инфицированы ХИО [30]. Инфицированная популяция такого размера может ежедневно выделять более 3г PrP^{Sc} в окружающую среду и в результате чего более 1 кг инфекционного прионного белка каждый год попадает в окружающую среду только с фекалиями, фактически превращая эту среду обитания в резервуар инфекционного PrP^{Sc}.

Как и в случае с фекалиями, выделяемая больными животными моча также является важным путем проникновения прионов в окружающую среду. Изначально обнаружению в моче PrP^{Sc} препятствовала чувствительность традиционных методов диагностики, но появление методов амплификации позволило обнаружить прионы в моче [31], [32]. Прионы были обнаружены в моче животных, инфицированных ХИО, уже через 6 месяцев после перорального заражения подопытных оленей [20]. С помощью современного метода диагностики RT-QuIC, были обнаружены патогенные белки в моче примерно 25% оленей, инфицированных ХИО. По аналогии с фекалиями титр прионов в моче относительно низок по сравнению с титром в материале головного мозга. Тем не менее огромный объем мочи, выделяемой ежедневно, компенсирует ее недостаток активности. Взрослый олень может производить примерно 1 литр мочи в день, чего достаточно, чтобы обеспечить смертельную дозу прионов десяткам подопытных мышам [20]. Примечательно, что прионы также были обнаружены в моче пациентов с БКЯ [32]. Способность обнаруживать инфекционный прион в субклинической стадии заболевания, является важным этапом для прижизненной диагностики прионных инфекций.

Как и в фекалиях и моче, прионы скрепи овец обнаруживаются в слюне при бессимптомном течении болезни [33], [34]. Из-за своего рациона травоядные животные производят огромное количество слюны каждый день. Овцы могут производить до 17 литров в день [35], в то время как крупный рогатый скот может производить более 50 литров в день [36]. Хотя вполне вероятно, что некоторое количество слюны остается во время выпаса, большая часть слюны проглатывается, чтобы помочь пищеварению. Распространено мнение, что проглоченные слюнные прионы могут способствовать инфицированию лимфоидных и эпителиальных тканей желудочно-кишечного тракта и, возможно, способствовать периферической репликации [37]. Вполне вероятно, что при проглатывании прионы содержащиеся в слюне в конечном итоге выделяются с фекалиями и, таким образом, вносят дополнительный вклад в горизонтальную передачу инфекции.

Передачи инфекции через дыхательные пути или носовую полость в естественных условиях не наблюдалось, но в опытах на мышках, хомяках и овцах показали, что прионная инфекция может передаваться этим путем [38], [39], [40], [41]. Эти исследования предполагают, что небольшие количества прионов, связанных с почвой, могут вдыхаться и заражать хозяина, когда животное ищет пищу во время пастбищ.

Неповрежденная кожа животных выступает в качестве барьера против передачи прионов, но экспериментальные исследования на мышках и овцах показывают, что повреждения кожи также представляют собой эффективный путь заражения прионами [44], [45]. Поражения слизистой оболочки полости рта и носа аналогичным образом повышают восприимчивость к прионным заболеваниям, скорее всего, за счет повышения эффективности поглощения прионов эпителиальными поверхностями [46]. Даже после смерти инфицированные прионами животные продолжают вносить свой вклад в загрязнение окружающей среды. Когда их трупы разлагаются, прионы выделяются из их тел в окружающую среду и могут оставаться заразными в течение многих лет, что позволяет предположить, что такие туши остаются важными очагами инфекции [47]. Прионы также были обнаружены в скелетных мышцах [48] и в крови животных с симптомами, и без симптомов заболевания [49], [50]. Два экспериментальных исследования на овцах показали, что прионы могут передаваться реципиентам при переливании крови от овец-доноров, инфицированных естественным, скрепи или ГЭ КРС [51], [52]. Кровь, взятые во время доклинической и клинической стадии заболевания, передавали заболевание не менее чем 10% реципиентов переливания. Эти исследования предоставили веские доказательства того, что в периферической крови некоторых людей с доклиническими заболеваниями могут присутствовать на достаточном уровне инфекционный прион для передачи болезни реципиентам при переливании крови.

Кроме того, трупы больных животных, часто поедаются хищниками и падальщиками, что в свою очередь может приводить к заражению этих животных, помимо этого прионный белок может оставаться инфекционным, даже после прохождения через пищеварительные системы ворон [53] и койотов [54], тем самым способствуя распространению прионных болезней, таких как ХИО и скрепи овец.

Накопление инфекционного прионного белка в окружающей среде

Хотя ученые давно подозревали, что прионы выделяются из организма и накапливаются в окружающей среде, объяснить, что именно происходит после их попадания в почву, было труднее. Прионы способны сохраняться в окружающей среде в течение длительного периода времени. Так было установлено, что возбудитель скрепи сохраняется в окружающей среде, оставаясь биодоступным и инфекционным в течение более 16 лет [55]. Было высказано предположение, что прионы могут взаимодействовать с отдельными компонентами окружающей среды, подвергаться воздействию природных явлений, таких как циклы увлажнения и высыхания или замораживания и оттаивания, что может изменить их инфекционность, свойства штаммов и способность пересекать видовые барьеры [56], [57], [58].

Почва может играть наибольшую роль в косвенном содействии передаче скрепи овец и ХИО. Точно так же было показано, что инфекционность ГЭ КРС сохраняется в течение 5 лет после захоронения как в песчаной, так и в глинистой почве, и, что наиболее интересно, не наблюдается значительной потери инфекционности за это время [58]. Другие исследователи показали, что определенные свойства почвы могут фактически повышать титр инфекционности. Так, в опытах было продемонстрировано, что прионы, связанные с монтмориллонитом, минералом, найденным в глинистой почве, были не только биодоступными и заразными при пероральном введении, но и экспериментально более заразными, чем несвязанный PrP^{Sc} [59]. В других исследованиях была показана положительная корреляция между содержанием глины в почве в среде обитания отдельных оленей на свободном выгуле и вероятностью их заражения ХИО [60]. Важно отметить, что инфекционный прион ХИО был обнаружен в естественных минеральных лизунцах (почвы, богатые солями и минералами), часто посещаемых оленями, что свидетельствует о том, что такое накопление прионов в почве происходит и в естественных условиях [61]. И наоборот, другие почвы и органические соединения связаны с длительным инкубационным периодом и, по-видимому, могут

негативно влиять на инфекционность прионов [62]. Эти результаты показывают, что взаимосвязь между передачей прионов через почву является более сложной и многомерной, чем первоначально предполагалось.

Длительное сохранение прионов в почве, а также тот факт, что большинство животных, пораженных прионными болезнями, являются травоядными, делают возможным, что трава, растения и другая листва также могут играть роль в распространении инфекционных прионов. Так, в опытах было показано, что корни и листья травянистых растений могут накапливать прионный белок PrP^{Sc} ЦНС, мочи или фекалий, инфицированных ХИО, причем обнаруживали прионы уже через 7 дней после начала эксперимента. Кроме того, прионы, связанные с почвой, могут поглощаться растениями и транспортироваться в надземные части растения [63]. В совокупности эти открытия предполагают, что накопление в окружающей среде и взаимодействие прионов с окружающей средой могут не только играть динамическую роль в распространении и передачи болезни, но также играть решающую роль в изменении таких характеристик, как титр инфекционности, свойства штамма и, что наиболее тревожно, потенциально способствовать заражению других видов животных, преодолевая видовой барьер.

Передача инфекционных прионов через материалы окружающей среды

Значительному распространению инфекционного приона ХИО и скрепи овец, несомненно, способствовала способность прионов проникать в окружающую среду, сохраняться, накапливаться и, наконец, заражать новых животных. В этом вращающемся постоянно усиливающимся цикле окружающая среда служит переносчиком, облегчающим передачу прионной болезни от одного организма к другому [64], [65]. Было обнаружено, что загрязненная прионами почва вызывает заболевание у хомяков при пероральном употреблении через 29 месяцев [65]. Известно, что многие виды жвачных животных, в том числе олени, регулярно потребляют почву [66], [67], что свидетельствует о вероятном естественном пути повторного заражения. Кроме того, было показано, что природные материалы, такие как камни и дерево, искусственные компоненты окружающей среды, включая полипропилен, стекло, цемент и нержавеющую сталь, а также алюминий, эффективно связывают прионы, которые сохраняют способность заражать животных [68]. Так, экспериментов по совместному содержанию хомяков с зараженными материалами было достаточно, чтобы вызвать заболевание у них [68]. Это свидетельствует о том, что даже минимального непрямого контакта с зараженной поверхностью (например, растирание/расчесывание шерсти о поверхность) может быть достаточно для попадания прионов с зараженной поверхности на животного и, в итоге, приводить к заражению. Потенциальная роль материалов окружающей среды как переносчиков инфекционных прионов заслуживает дальнейшего изучения, поскольку весьма вероятно, что популяции оленей и овец в дикой природе постоянно контактируют с такими материалами, как дерево, сталь и цемент и т.д.

Дополнительную озабоченность вызывает возможность того, что прионы могут распространяться по самой окружающей среде. Было обнаружено, что дождевая вода, профильтрованная через такие зараженные почвы, способна вымывать прионы из почвы и потенциально может переносить их на отдаленные участки или даже приводить к загрязнению грунтовых вод [69]. Кроме того, животные, живущие в зараженной среде, могут способствовать распространению прионов в окружающей среде, даже несмотря на то, что некоторые из этих животных, возможно, не способны воспроизводить прионы, а просто могут являться переносчиками инфекционных прионов. Дополнительные исследования, касающиеся возможности передачи прионных болезней животным, через различные компоненты окружающей среды, имеют важное значение для понимания и управления процессами распространения прионных инфекций.

Заключение

Прион как инфекционный агент, состоящий только из белков, определяет, что многие правила, применимые к обычным инфекционным агентам, неприменимы для него. Таким образом, для борьбы с этими опасными агентами необходимо детальное понимание механизмов репликации, передачи, распространения и элиминации прионов. Потенциал прионов вызывать смертельные заболевания, которые могут передаваться через межвидовые барьеры, и их способность мутировать, адаптироваться и развиваться, а также их стойкость и чрезвычайная устойчивость к обеззараживанию делают прионы высоким риском для животных и людей. Прионы могут попадать в естественную среду, где они могут сохраняться, накапливаться и оставаться заразными в течение длительного периода времени.

Будущие исследования прионных болезней должны решить некоторые из неотложных нерешенных вопросов в этой области, включая выяснение разнообразия природных штаммов прионов животных и человека, механизма передачи прионов и роли вспомогательных компонентов (материалов окружающей среды), клеточные и молекулярные механизмы, ответственные за изменчивость штаммов и межвидовую передачу PrP^{Sc}, разработка и использование методов высокочувствительного обнаружения прионов и разработка эффективных терапевтических стратегий для этих смертельных заболеваний.

Финансирование

Статья выполнена в рамках Государственного задания №FGUG-2022-009.

Конфликт интересов

Не указан.

Рецензия

Все статьи проходят рецензирование. Но рецензент или автор статьи предпочли не публиковать рецензию к этой статье в открытом доступе. Рецензия может быть предоставлена компетентным органам по запросу.

Funding

The article was carried out within the framework of the State Task No. FGUG-2022-009.

Conflict of Interest

None declared.

Review

All articles are peer-reviewed. But the reviewer or the author of the article chose not to publish a review of this article in the public domain. The review can be provided to the competent authorities upon request.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Prusiner S.B. Molecular Biology of Prion Diseases / S.B. Prusiner // *Science*. — 1991 Jun 14. — 252(5012). — 1515-22. — DOI: 10.1126/science.1675487.
2. Collinge J. A New Variant of Prion Disease / J. Collinge, M. Rossor // *Lancet*. — 1996 Apr. — 347(9006). — 916-7.
3. Hill A.F. The Same Prion Strain Causes vCJD and BSE / A.F. Hill, M. Desbruslais, S. Joiner [et al.] // *Nature*. — 1997. — 389. — 448-450. — DOI: 10.1038/38925.
4. Marín-Moreno A. Radical Change in Zoonotic Abilities of Atypical BSE Prion Strains as Evidenced by Crossing of Sheep Species Barrier in Transgenic Mice / A. Marín-Moreno, A. Huor, J.C. Espinosa [et al.] // *Emerg Infect Dis*. — 2020. — 26. — 1130-1139. — DOI: 10.3201/eid2606.181790.
5. Plinston C. Increased Susceptibility of Human – PrP Transgenic Mice to Bovine Spongiform Encephalopathy Infection Following Passage in Sheep / C. Plinston, P. Hart, A. Chong // *J Virol*. — 2011. — 8. — 1174-1181. — DOI: 10.1128/JVI.01578-10.
6. Prusiner S.B. Novel Proteinaceous Infectious Particles Cause Scrapie / S.B. Prusiner // *Science*. — 1982. — 216(4542). — 136-144.
7. Gavier-Widén D. Diagnosis of Transmissible Spongiform Encephalopathies in Animals: a review / D. Gavier-, M. Widén, J. Stack, T. Baron // *Vet. Diagn. Investig.* — 200. — 17(6). — 509-527.
8. Eraña H. Detection of Pathognomonic Biomarker PrPsc and the Contribution of Cell Free-Amplification Techniques to the Diagnosis of Prion Diseases // H. Eraña, J.M. Charco, E. González-Miranda // *Biomolecules*. — 2020. — 10(3). — 1-44.
9. Cassard H. Evidence for Zoonotic Potential of Ovine Scrapie Prions / H. Cassard, J.M. Torres, C. Lacroix et al. // *Nat. Commun.* — 2014. — 5. — DOI: 10.1038/ncomms6821.
10. Comoy E. Transmission of Scrapie Prions to Primate after an Extended Silent Incubation Period / E. Comoy, J. Mikol, S. Luccantoni-Freire [et al.] // *Sci. Rep.* — 2015. — 5. — 1-11.
11. Centers for Disease Control and Prevention. 2021. Chronic wasting disease. Occurrence. — URL: <https://www.cdc.gov/prions/cwd/occurrence.html> (accessed: 30.05.2023).
12. Hannaoui S. Chronic Wasting Disease: Emerging Prions and Their Potential Risk / S. Hannaoui, H.M. Schatzl, S. Gilch // *PLoS Pathog.* — 2017. — 13(11). — 1-5.
13. Collinge J. Kuru in the 21st Century – an Acquired Human Prion Disease with Very Long Incubation Periods / J. Collinge, J. Whitfield, E. Mc Kintosh [et al.] // *Lancet*. — 2006. — 36. — 2068-2074. — DOI: 10.1016/S0140-6736(06)68930-7. 43.
14. Valleron A.J. Estimation of Epidemic Size and Incubation Time Based on Age Characteristics of vCJD in the United Kingdom // A.J. Valleron, P.Y. Boelle, R. Will [et al.] // *Science*. — 2001. — 294. — 1726-1728. — DOI: 10.1126/science.1066838.
15. Dickinson A.G. Resistance of Scrapie Agent to Decontamination / A.G. Dickinson, D.M. Taylor // *N Engl J Med*. — 1978. — 299. — 1413-1414. — DOI: 10.1056/NEJM197812212992512.
16. Gough K.C. Prion Transmission: Prion Excretion and Occurrence in the Environment / K.C. Gough, B.C. Maddison // *Prion*. — 2010. — 4. — 275-282. — DOI: 10.4161/pri.4.4.13678.
17. Sigurdson C.J. Oral Transmission and Early Lymphoid Tropism of Chronic Wasting PrP Disease PrPres in Mule Deer Fawns (in Mule Deer Fawns (*Odocoileus hemionus*)) / C.J. Sigurdson, E.S. Williams, M.W. Miller // *J Gen Virol*. — 1999. — 80. — 2757-2764. — DOI: 10.1099/0022-1317-80-10-2757.
18. Donaldson D.S. The Gut-Associated Lymphoid Tissues in the Small Intestine, not the Large Intestine, Play a Major Role in Oral Prion Disease Pathogenesis // D.S. Donaldson, K.J. Else, N.A. Mabbott // *J Virol*. — 2015. — 89. — 9532-9547. — DOI: 10.1128/JVI.01544-15.
19. Fox K.A. Patterns of PrPCWD Accumulation during the Course of Chronic Wasting Disease Infection in Orally Inoculated Mule Deer (*Odocoileus hemionus*) / K.A. Fox, J.E. Jewell, E.S. Williams [et al.] // *J Gen Virol*. — 2006. — 87. — 3451-3461. — DOI: 10.1099/vir.0.81999-0.
20. Henderson D.M. Longitudinal Detection of Prion Shedding in Saliva and Urine by Chronic Wasting Disease-Infected Deer by Real-Time Quaking-Induced Conversion / D.M. Henderson, N.D. Denkers, C.E. Hoover [et al.] // *J Virol*. — 2015. — 89. — 9338-9347. — DOI: 10.1128/JVI.01118-15.
21. Zobeley E. Infectivity of Scrapie Prions Bound to a Stainless Steel Surface / E. Zobeley, E. Flechsig, A. Cozzio [et al.] // *Mol Med*. — 1999. — 5. — 240-243. — DOI: 10.1007/BF03402121.
22. Miller M.W. Environmental Sources of Prion Transmission in Mule Deer / M.W. Miller, E.S. Williams, N.T. Hobbs [et al.] // *Emerg Infect Dis*. — 2004. — 10. — 1003-1006. — DOI: 10.3201/eid1006.040010.

23. Denkers N.D. Very Low Oral Exposure to Prions of Brain or Saliva Origin Can Transmit Chronic Wasting Disease / N.D. Denkers, C.E. Hoover, K.A. Davenport // *PLoS One*. — 2020. — 15. — e0237410. — DOI: 10.1371/journal.pone.0237410.
24. Miller M.W. Dynamics of Prion Disease Transmission in Mule Deer / M.W. Miller, N. Thompson Hobbs, S.J. Tavener // *Ecol Appl*. — 2006. — 16. — 2208–2214. 10.1890/1051-0761(2006)016[2208:DOPDTI]2.0.CO;2.
25. Cheng Y.C. Early and Non-Invasive Detection of Chronic Wasting Disease Prions in Elk Feces by Real-Time Quaking Induced Conversion / Y.C. Cheng, S. Hannaoui, T.R. John [et al.] // *PLoS One*. — 2016. — 11. — e0166187. — DOI: 10.1371/journal.pone.0166187.
26. Pritzkow S. Grass Plants Bind, Retain, Uptake, and Transport Infectious Prions / S. Pritzkow, R. Morales, F. Moda [et al.] // *Cell Rep*. — 2015. — 11. — 1168–1175. — DOI: 10.1016/j.celrep.2015.04.036.
27. Tamgüney G. Asymptomatic Deer Excrete Infectious Prions in Faeces / G. Tamgüney, M.W. Miller, L.L. Wolfe [et al.] // *Nature*. — 2009. — 46. — 529–532. — DOI: 10.1038/nature08289.
28. Rogers L.L. Seasonal Changes in Defecation Rates of Free-Ranging White-Tailed Deer / L.L. Rogers // *J Wildl Manage*. — 1987. — 51. — 330–333. — DOI: 10.2307/3801011.
29. Iii W.J.A. Seasonal Estimates of Masses of Mule Deer Fecal Pellets and Pellet Groups / W.J.A. Iii, A.W. Alldredge // *J Wildl Manage*. — 1980. — 44. — 750. — DOI: 10.2307/3808034.
30. Rivera N.A. Chronic Wasting Disease in Cervids: Prevalence, Impact and Management Strategie / N.A. Rivera, A.L. Brandt, J.E. Novakofski [et al.] // *Vet Med (Auckl)*. — 2019. — 10. — 123–139. — DOI: 10.2147/VMRR.S197404.
31. Haley N.J. Detection of Sub-Clinical CWD Infection in Conventional Test-Negative Deer Long after Oral Exposure to Urine and Feces from CWD+ Deer / N.J. Haley, C.K. Mathiason, M.D. Zabel // *PLoS One*. — 2009. — 4. — e7990. — DOI: 10.1371/journal.pone.0007990.
32. Moda F. Prions in the Urine of Patients with Variant Creutzfeldt-Jakob Disease / F. Moda, P. Gambetti, [et al.] // *N Engl J Med*. — 2014. — 371. — 530–539. — DOI: 10.1056/NEJMoa1404401.
33. Davenport K.A. Assessment of Chronic Wasting Disease Prion Shedding in Deer Saliva with Occupancy Modeling / K.A. Davenport, B.A. Mosher, B.M. Brost, [et al.] // *J Clin Microbiol*. — 2018. — 56. — e01243-17. — DOI: 10.1128/JCM.01243-17.
34. Henderson D.M. Rapid Antemortem Detection of CWD Prions in Deer Saliva / D.M. Henderson, M. Manca, N. J. Haley [et al.] // *PLoS One*. — 2013. — 8. — e74377. — DOI: 10.1371/journal.pone.0074377.
35. Robbins C.T. Adaptation of Ruminants to Browse and Grass Diets: are Anatomical-Based Browser-Grazer Interpretations Valid? / C.T. Robbins, D.E. Spalinger, W. van Hoven // *Oecologia*. — 1995. — 103. — 208–213. — DOI: 10.1007/BF00329082.
36. Maekawa M. Chewing Activity, Saliva Production, and Ruminal pH of Primiparous and Multiparous Lactating Dairy Cows / M. Maekawa, K.A. Beauchemin, D.A. Christensen // *J Dairy Sci*. — 2002. — 85. — 1176–1182. — DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(02)74180-5.
37. Tamgüney G. Salivary Prions in Sheep and Deer / G. Tamgüney, J.A. Richt, A.N. Hamir [et al.] // *Prion*. — 2012. — 6. — 52–61. — DOI: 10.4161/pri.6.1.16984.
38. Kincaid A.E. The Nasal Cavity is a Route for Prion Infection in Hamsters / A.E. Kincaid, J.C. Bartz // *J. Virol*. — 2007. — 81. — 4482–4491. — DOI: 10.1128/JVI.02649-06.
39. Hamir A.N. Experimental Transmission of US Scrapie Agent by Nasal, Peritoneal, and Conjunctival Routes to Genetically Susceptible Sheep / A.N. Hamir, R.A. Kunkle, J.A. Richt // *Vet. Pathol*. — 2008. — 45. — 7–11. — DOI: 10.1354/vp.45-1-7.
40. Bessen R.A. Role of the Lymphoreticular System in Prion Neuroinvasion from the Oral and Nasal Mucosa / R.A. Bessen, S. Martinka, J. Kelly [et al.] // *J. Virol*. — 2009. — 83. — 6435–6445. — DOI: 10.1128/JVI.00018-09.
41. Denkers N.D. Aerosol and Nasal Transmission of Chronic Wasting Disease in Cervidized Mice / N.D. Denkers, D.M. Seelig, G.C. Telling [et al.] // *J. Gen. Virol*. — 2010. — 91. — 1651–1658. — DOI: 10.1099/vir.0.017335-0.
42. Haybaeck J. Aerosols Transmit Prions to Immunocompetent and Immunodeficient Mice / J. Haybaeck, M. Heikenwalder, B. Klevenz [et al.] // *PLoS Pathog*. — 2011. — 7. — e1001257. — DOI: 10.1371/journal.ppat.1001257.
43. Kincaid A.E. Specificity, Size and Frequency of Spaces that Characterize the Mechanism of Bulk Transepithelial Transport of Prions in the Nasal Cavities of Hamsters and Mice / A.E. Kincaid, J.I. Ayers, J.C. Bartz // *J. Virol*. — 2016. — 90. — 8293–8301. — DOI: 10.1128/JVI.01103-16.
44. Taylor D.M. Scrapie Infection Can Be Established Readily through Skin Scarification in Immunocompetent but not Immunodeficient Mice / D.M. Taylor, I. McConnell, H. J. Fraser // *Gen. Virol*. — 1996. — 77. — 1595–1599. — DOI: 10.1099/0022-1317-77-7-1595.
45. Gossner A. Role of Lymph-Borne Cells in the Early Stages of Scrapie Agent Dissemination from the Skin / A. Gossner, N. Hunter, J. Hopkins // *Vet. Immunol. Immunopathol*. — 2005. — 109. — 267–278. — DOI: 10.1016/j.vetimm.2005.08.021.
46. Crowell J. Lesion of the Olfactory Epithelium Accelerates Prion Neuroinvasion and Disease onset when Prion Replication is Restricted to Neurons / J. Crowell, J.A. Wiley, R.A. Bessen // *PLoS ONE*. — 2015. — 10:e0119863. — DOI: 10.1371/journal.pone.0119863.
47. Miller M.W. Environmental Sources of Prion Transmission in Mule Deer / M.W. Miller, E.S. Williams, N.T. Hobbs, L.L. Wolfe // *Emerg Infect Dis*. — 2004. — 10. — 1003–1006. — DOI: 10.3201/eid1006.040010.
48. Angers R.C. Prions in Skeletal Muscles of Deer with Chronic Wasting Disease / R.C. Angers, S.R. Browning, T.S. Seward [et al.] // *Science*. — 2006. — 311. — 1117. — DOI: 10.1126/science.1122864.

49. Concha-Marambio L. Preclinical Detection of Prions in the Blood of Nonhuman Primates Infected with Variant Creutzfeldt-Jakob Disease / L. Concha-Marambio, A.M. Chacon, C. Soto // *Emerg Infect Dis.* — 2020. — 26. — 34–43. — DOI: 10.3201/eid2601.181423.
50. Thorne L. In Vitro Amplification of PrP^{Sc} Derived from the Brain and Blood of Sheep Infected with Scrapie / L. Thorne, L.A. Terry // *J Gen Virol.* — 2008. — 89. — 3177–3184. — DOI: 10.1099/vir.0.2008/004226-0.
51. Houston F. Transmission of BSE by Blood Transfusion in Sheep / F. Houston, J.D. Foster, A. Chong [et al.] // *Lancet.* — 2020. — 356. — 99. — DOI: 10.1016/S0140-6736(00)02719-7.
52. Hunter N. Transmission of Prion Diseases by Blood Transfusion / N. Hunter, J. Foster, A. Chong [et al.] // *Gen. Virol.* — 2002. — 83. — 2897–2905. — DOI: 10.1099/0022-1317-83-11-2897.
53. Ver Cauteren K.C. Prion Remains Infectious after Passage through Digestive System of American Crows (*Corvus brachyrhynchos*) / K.C. Ver Cauteren, J.L. Pilon, P.B. Nash [et al.] // *PLoS One.* — 2012. — 7. — e45774. — DOI: 10.1371/journal.pone.0045774.
54. Nichols T.A. CWD Prions Remain Infectious after Passage through the Digestive System of Coyotes (*Canis latrans*) / T.A. Nichols, J.W. Fischer, T.R. Spraker // *Prion.* — 2015. — 9. — 367–375. — DOI: 10.1080/19336896.2015.1086061.
55. Georgsson G. Infectious Agent of Sheep Scrapie May Persist in the Environment for at Least 16 Years / G. Georgsson, S. Sigurdarson, P. Brown // *J Gen Virol.* — 2006. — 87. — 3737–3740. — DOI: 10.1099/vir.0.82011-0.
56. Holec S.A.M. Alteration of Prion Strain Emergence by Nonhost Factors / S.A.M. Holec, Q. Yuan, J.C. Bartz // *mSphere.* — 2019. — 4. — e00630-19. — DOI: 10.1128/mSphere.00630-19.
57. Yuan Q. Mitigation of Prion Infectivity and Conversion Capacity by a Simulated Natural Process – Repeated Cycles of Drying and Wetting / Q. Yuan, T. Eckland, G. Telling [et al.] // *PLoS Pathog.* — 2015. — 11. — e1004638. — DOI: 10.1371/journal.ppat.1004638.
58. Somerville R.A. BSE Infectivity Survives Burial for Five Years with Only Limited Spread / R.A. Somerville, K. Fernie, A. Smith // *Arch Virol.* — 2019. — 164. — 1135–1145. — DOI: 10.1007/s00705-019-04154-8.
59. Johnson C.J. Oral Transmissibility of Prion Disease is Enhanced by Binding to Soil Particles / C.J. Johnson, J.A. Pedersen, R.J. Chappell, D. McKenzie [et al.] // *PLoS Pathog.* — 2007. — 3. — e93. — DOI: 10.1371/journal.ppat.0030093.
60. David Walter W. Soil Clay Content Underlies Prion Infection Odds / W. David Walter, D.P. Walsh, M.L. Farnsworth [et al.] // *Nat Commun.* — 2011. — 2. — 200. — DOI: 10.1038/ncomms1203.
61. Plummer I.H. Mineral Licks as Environmental Reservoirs of Chronic Wasting Disease Prions / I.H. Plummer, C.J. Johnson, A.R. Chesney [et al.] // *PLoS One.* — 2018. — 13. — e0196745. — DOI: 10.1371/journal.pone.0196745.
62. Kuznetsova A. Soil Humic Acids Degrade CWD Prions and Reduce Infectivity / A. Kuznetsova, C. Cullingham, D. McKenzie, J.M. Aiken // *PLoS Pathog.* — 2018. — 14. — e1007414. — DOI: 10.1371/journal.ppat.1007414.
63. Pritzkow S. Grass Plants Bind, Retain, Uptake, and Transport Infectious Prions / S. Pritzkow, R. Morales, F. Moda, U. Khan // *Cell Rep.* — 2015. — 11. — 1168–1175. — DOI: 10.1016/j.celrep.2015.04.036.
64. Johnson C.J. Oral Transmissibility of Prion Disease is Enhanced by Binding to Soil Particles / C.J. Johnson, J.A. Pedersen, R.J. Chappell [et al.] // *PLoS Pathog.* — 2007. — 3. — e93. — DOI: 10.1371/journal.ppat.0030093.
65. Seidel B. Scrapie Agent (strain 263K) Can Transmit Disease via the Oral Route after Persistence in Soil over Years / B. Seidel, A. Thomzig, A. Buschmann [et al.] // *PLoS One.* — 2007. — 2. — e435. — DOI: 10.1371/journal.pone.0000435.
66. Beyer W.N. Estimates of Soil Ingestion by Wildlife / W.N. Beyer, E.E. Connor, S. Gerould // *J Wildl Manag.* — 1994. — 58. — 375–382. — DOI: 10.2307/3809405.
67. Weeks H.P. Adaptations of White-Tailed Deer to Naturally Occurring Sodium Deficiencies / H.P. Weeks, C.M. Kirkpatrick. — 1976. // *J Wildl Manage.* — 40. — 610. — DOI: 10.2307/3800555.
68. Pritzkow S. Efficient Prion Disease Transmission through Common Environmental Materials / S. Pritzkow, R. Morales, A. Lyon [et al.] // *J Biol Chem.* — 2018. — 293. — 3363–3373. — DOI: 10.1074/jbc.M117.810747.
69. Nichols T.A. Detection of Protease-Resistant Cervid Prion Protein in Water from a CWD-endemic Area / T.A. Nichols, B. Pulford, A.C. Wyckoff [et al.] // *Prion.* — 2009. — 3. — 171–183. — DOI: 10.4161/pri.3.3.9819.