

# Diagnose der transmissiblen spongiformen Enzephalopathien bei Tieren

C. Botteron

NeuroCenter, Referenzlabor für transmissible spongiforme Enzephalopathien bei Tieren der Universität Bern

## Zusammenfassung

Zur Bestätigung einer TSE (transmissible spongiforme Enzephalopathie)-Diagnose ist eine histopathologische Untersuchung des Zentralnervensystems notwendig. Typische Läsionen sind spongiforme Veränderungen in der grauen Substanz, intraneuronale Vakuolen in bestimmten Hirnstammkernen, Gliose- und Nervenzell-Degeneration. Die Natur der Läsionen ist bei den verschiedenen Tierarten sehr ähnlich. Die Variation im Verteilungsmuster und die Intensität der Veränderungen ist aber unterschiedlich. Zuverlässiger als die Histopathologie ist der immunhistochemische Nachweis von krankheitsspezifischem proteaseresistentem Prion Protein (PrP<sup>Sc</sup>). Die sogenannten Schnelltests ermöglichen, PrP<sup>Sc</sup> in unfixiertem Gewebe nachzuweisen und werden vor allem für das Screening von Risikopopulationen und Schlachttieren angewendet.

**Schlüsselwörter:** TSE – Diagnose – Histopathologie – Immunhistochemie – BSE

## Diagnosis of transmissible spongiform encephalopathies in animals

Histopathological examination of the central nervous system is essential for the confirmation of a TSE diagnosis. Typical lesions are spongiform changes of the grey matter, intraneuronal vacuoles in particular nuclei of the brain stem, gliosis and neuronal degeneration. The nature of the lesions is similar between species. However, the variation in the distribution and severity of the changes is striking.

Even more reliable than histopathology is the detection of disease-specific protease-resistant prion protein (PrP<sup>Sc</sup>) using immunohistochemistry.

The so-called "rapid tests" allow detection of PrP<sup>Sc</sup> in unfixed tissues and are mostly used for the screening of risk populations and slaughtered animals.

**Key words:** TSE – diagnosis – histopathology – immunohistochemistry – BSE

## Einleitung

In der Veterinärmedizin sind transmissible spongiforme Enzephalopathien (TSE) seit Jahrhunderten bekannt. Ein Beispiel ist die Traberkrankheit (Scrapie) bei Schaf und Ziege. Die wirtschaftliche Bedeutung der TSE hat aber seit dem Ausbruch von boviner spongiformer Enzephalopathie (BSE) in Grossbritannien extrem zugenommen (Wells et al., 1987). Das Ausmass des Ausbruchs und der Umstand, dass der BSE-Erreger wohl in Form der neuen Variante der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (vCJD) auch Menschen angesteckt hat, haben sicherlich die TSE in den Vordergrund gerückt (Collinge et al., 1996). Die Wissenschaft ist immer mehr gefordert, neue Tests zu entwickeln und existierende Tests zu verbessern.

Ausser der Histopathologie, beruhen alle zur Verfügung stehenden labordiagnostischen post-mortem Tests für TSE auf dem Nachweis des akkumulierten proteaseresistenten Prion-Proteins (PrP<sup>Sc</sup>) in spezifischen Regionen des Zentralnervensystems (ZNS). Diese infektiösen Proteine sind eine abweichende Form des normalen zellulären Proteins (PrP<sup>C</sup>). Der Unterschied zwischen PrP<sup>Sc</sup> und PrP<sup>C</sup> liegt nicht in der Reihenfolge der Aminosäuren, sondern in der sekundären Konformation. Aufgrund seiner Resistenz gegenüber enzymatischem Abbau kommt es zu einer Akkumulation von PrP<sup>Sc</sup> im Gewebe (McKinley et al., 1983; Oesch et al., 1985; Prusiner, 1996). Methoden zum Nachweis von PrP<sup>Sc</sup> sind Immunhistochemie (IHC), Western blotting und ELISA.

## Neuropathologie und Immunhistochemie bei TSE

Der derzeit international verwendete Goldstandard für die Diagnose von TSE sind histopathologische (HE-Färbung) und immunhistochemische Untersuchungen der Prädilektionsstellen im Gehirn. Auf Grund der aufwendigen Fixation und Probenaufbereitung ist ein Ergebnis mit diesen Verfahren aber nicht vor einer Woche zu erwarten. Der Vorteil dieses Verfahrens gegenüber den Schnelltests ist die Möglichkeit, ein breites Spektrum von neurologischen Erkrankungen nachweisen zu können.

**Histopathologische Befunde.** Bei allen TSE sind normalerweise keine makroskopisch sichtbaren Hirnveränderungen festzustellen. Der infektiöse Erreger verursacht keinerlei entzündliche Reaktionen. Die histologischen Läsionen sind bei den verschiedenen Spezies sehr ähnlich. Unterschiede gibt es bei dem Verteilungsmuster der Läsionen oder in der Intensität der Veränderungen. Die typischen (aber nicht obligatorischen) Befunde sind spongiforme Veränderungen in der grauen Substanz, Vorhandensein von intraneuronalen Vakuolen, Nervenzell-Degeneration und Gliose (Summers et al., 1995; Hadlow, 1999). Die Vakuolisierung in der grauen Substanz (auch als Neuropil bezeichnet) ist immer bilateral und häufig symmetrisch. Sie ist für das «schwammartige» oder «spongiforme» Aussehen des Gewebes verantwortlich (Abb.1 und 2). Die Vakuolen sind gut begrenzt und immer optisch leer. Artefakte infolge von Autolyse oder ungenügender Fixation können spongiforme Veränderungen verursachen, die eine Ähnlichkeit zu echter TSE-bedingter Vakuolisierung zeigen. Deshalb sind eine gute Fixation und sorgfältige histologische Techniken essentiell für eine korrekte TSE-Untersuchung. Intraneuronale Vakuolen, wenn vorhanden, sind einfach zu identifizieren (Abb.3). Sie können verschieden gross sein, einzeln oder multipel auftreten, und enthalten in wenigen Fällen geringe Mengen eines bis jetzt unidentifizierten amorphen Materials. Nicht selten sind jedoch unspezifische intraneuronale Vakuolen als Zufallsbefund in gewissen Kerngebieten bei gesunden Tieren oder bei Tieren mit anderen Krankheiten zu sehen. Eine typische Lokalisation bei Rindern ist der Nucleus ruber im Mittelhirn (Guarda und Fatzer, 1995).

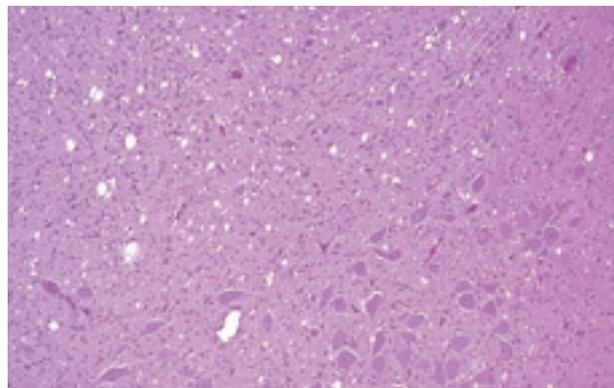


Abbildung 2: Rind mit BSE, Obex-Region, Medulla oblongata, N. tractus solitarius: spongiforme Veränderungen im Neuropil (HE-Färbung).

Das Vorhandensein von degenerierenden oder nekrotischen Nervenzellen hängt vor allem von der Dauer der Krankheit ab. Deshalb ist dieser Aspekt der Veränderungen bei Menschen ausgeprägter als bei Tieren, die normalerweise in früheren Stadien der Erkrankung euthanasiert werden. Die Intensität der Reaktion der Gliazellen, meistens Astrozyten, kann je nach Spezies stark variieren. Bei BSE ist im Gegensatz zu Schaf-Scrapie die Astroglie (Astrozytenhypertrophie) generell nicht ausgeprägt. Gewisse Autoren betrachten die Gliose bei TSE nicht als eine reaktive Veränderung, sondern als eine primäre Läsion (Georgson et al., 1993).

**Immunhistochemie (IHC).** Ein typisches Merkmal der TSE ist die Anhäufung von proteaseresistentem Prion-Protein (PrP<sup>Sc</sup>), auch als «scrapie-associated

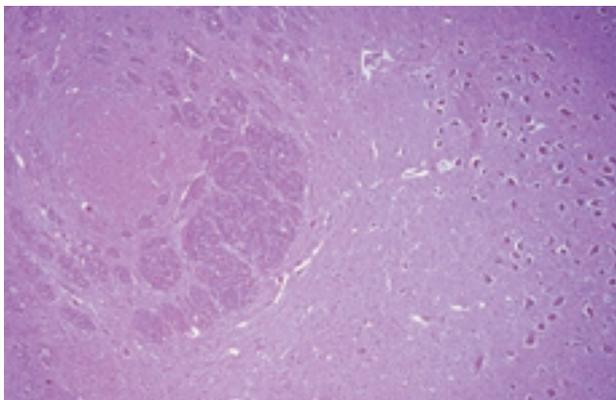


Abbildung 1: Gesundes Rind, Obex-Region, Medulla oblongata: keine spongiforme Veränderungen (HE-Färbung).

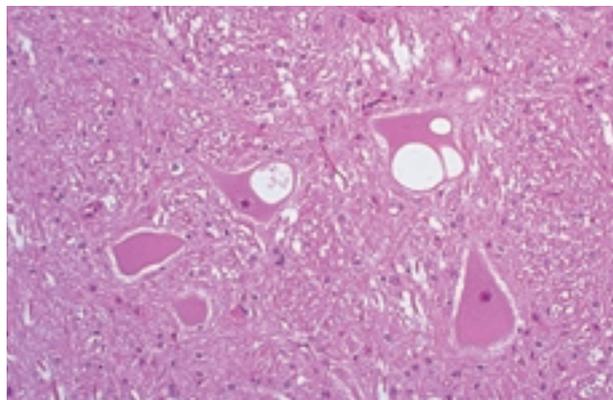


Abbildung 3: Rind mit BSE, Hirnstamm: intraneuronale Vakuolen im N. vestibularis lateralis (HE-Färbung).

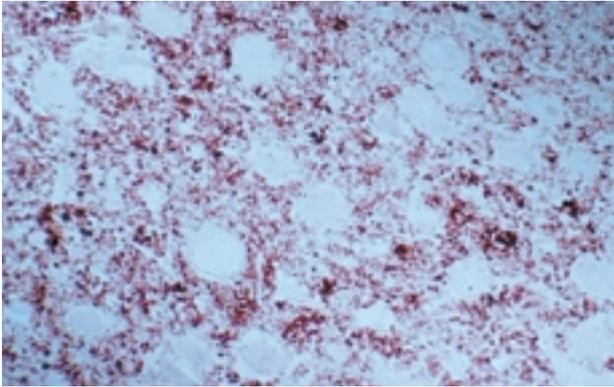


Abbildung 4: Rind mit BSE, Obex-Region, Medulla oblongata: immunhistochemische Darstellung von akkumuliertem PrP<sup>Sc</sup>.

fibrils» (SAFs) bezeichnet. Diese SAFs können isoliert und mittels Elektronenmikroskopie untersucht werden. Diese Methoden sind aber für eine Routine-Diagnostik nicht geeignet (Hope et al., 1988). Bei gewissen Formen von TSE bilden SAFs dichte Aggregate («Plaques»), welche die physikalischen Eigenschaften von Amyloid haben und deshalb mit Spezialfärbung (Kongo Rot) nachgewiesen werden können. Diese Plaques kommen bei BSE und Scrapie aber sehr selten vor (Wells et al., 1991; Hadlow, 1999).

Die Immunhistochemie (Abb. 4 und 5) erlaubt den Nachweis von PrP<sup>Sc</sup> in gewöhnlichem Formalinfixiertem, Paraffin-eingebettetem Gewebe (Graber et al., 1995). Heutzutage sind mehrere polyklonale oder monoklonale Antikörper erhältlich, die spezifisch PrP erkennen. Diese Antikörper erkennen ein oder mehrere Epitope des normalen zellulären PrP (PrP<sup>C</sup>). Deshalb ist eine Vorbehandlung mit Protease notwendig, um das normale PrP<sup>C</sup> zu eliminieren. Das proteaseresistente PrP<sup>Sc</sup> erscheint dann als fibrilläres und granuläres Material in Neuropil, zwischen Nervenzellen und entlang der Axone («Perlenschnur») und kann dann mikroskopisch erkannt werden (Abb. 5). Die IHC ist eine

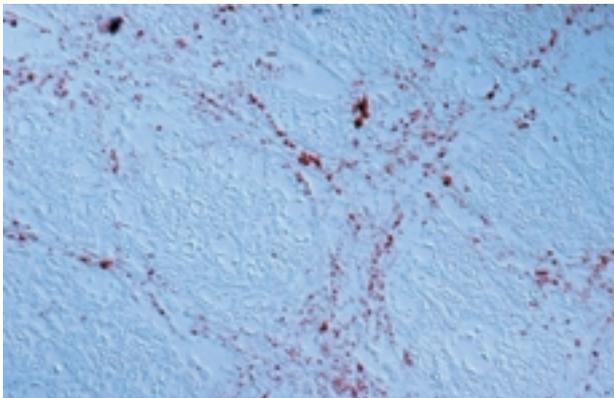


Abbildung 5: Rind mit BSE, Obex-Region, Medulla oblongata: immunhistochemische Darstellung von akkumuliertem PrP<sup>Sc</sup> entlang der Axone.

empfindlichere Methode als die Histopathologie, da zumindest bei experimenteller BSE, PrP<sup>Sc</sup> immunhistochemisch früher als spongiforme Veränderungen nachgewiesen werden können (Wells et al., 1998).

## Besonderheiten von einigen TSE bei Tieren

### Bovine spongiforme Enzephalopathie (BSE)

Bei BSE sind die histologischen Befunde zwischen einzelnen Tieren ziemlich konstant (Wells et al., 1989). Prädilektionsstellen für spongiforme Veränderungen befinden sich bei BSE im Hirnstamm, besonders in der Obex-Region (Medulla oblongata). Regelmässig betroffen sind der Nucleus tractus solitarii, der Nucleus des Tractus spinalis des Trigeminus und die unteren Olivenkerne. Intra-neuronale Vakuolen sind am häufigsten im N. vagus dorsalis, im N. vestibularis lateralis und in der Formatio reticularis zu finden. In einer Studie wurde bei mehr als 57% von BSE-positiven Tieren eine Nervenzell-Degeneration festgestellt. Interessant ist die Beobachtung, dass es keine positive Korrelation zwischen dem Ausmass der degenerativen Veränderungen und Akkumulation von PrP<sup>Sc</sup> gibt (Fatzer et al., 1995). Wie schon erwähnt, ist die Gliose bei BSE-erkrankten Rindern generell nicht charakteristisch. Amyloid-Plaques sind extrem selten festzustellen (Wells et al., 1991). Immunhistochemisch nachweisbare PrP<sup>Sc</sup>-Akkumulationen sind wie für spongiforme Veränderungen hauptsächlich im Neuropil der Medulla oblongata zu sehen. Da das neuropathologische Verteilungsmuster bei BSE-Rindern ziemlich uniform bleibt, ist die postmortem Untersuchung an einem Schnitt in Höhe der Medulla oblongata normalerweise ausreichend, um eine BSE-Diagnose zu stellen.

### Scrapie (Traberkrankheit)

Bei der Schaf-Scrapie hat die Rasse des Tieres, im Gegensatz zu BSE, einen Einfluss auf die neuropathologischen Befunde (Summers et al., 1995). Bei Scrapie sind mehrere verschiedene Prionenstämme bekannt. Im Allgemeinen sind Verteilung und Ausdehnung der ZNS-Läsionen von Prionenstamm und Genotyp der Tiere abhängig (Goldmann et al., 1994; Billinis et al., 2002). Spongiforme Veränderungen sind am häufigsten im Thalamus und in den Stammkernen zu finden, das heisst mehr rostral als bei BSE. Nervenzell-Degeneration und Gliose sind meistens ausgeprägt, im Gegensatz zu Amyloid-Plaques, die selten vorkommen (Zlotnic, 1962).

### Feline spongiforme Enzephalopathie (FSE)

FSE wurde erstmals 1990 in England beschrieben (Wyatt et al., 1990). In der Schweiz wurde bisher ein FSE-Fall im Jahr 2001 diagnostiziert (Demierre et al., 2002). Obwohl die biologischen Eigenschaften des FSE-Erregers identisch mit dem BSE-Erreger sind, zeigen sich die histopathologischen Befunde ausgedehnter als bei BSE und können sich cranial bis zur Grosshirnrinde erstrecken. Prädispositionsstellen der spongiformen Veränderungen befinden sich im Thalamus (besonders N. geniculatum medialis) und in den Stammkernen (Ryder et al., 2001). Beim schweizerischen FSE-Fall war eine deutliche Gliose in der veränderten grauen Substanz festzustellen.

### Chronic wasting disease (CWD)

Verteilungsmuster und Grad der ZNS-Läsionen bei CWD sind denen bei Scrapie und BSE sehr ähnlich (Williams und Young, 1993). Eine Besonderheit von CWD ist das Vorhandensein von sogenannten «florid plaques», vor allem in der Medulla oblongata und in den Stammkernen. Diese Plaques bestehen aus Amyloidablagerungen mit darum herum liegenden spongiformen Vakuolen und sind auch ein typisches Merkmal der Variante der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit beim Menschen (Will et al., 1996; Liberski et al., 2001).

### Schnelltests

Die definitive Diagnose für BSE in der Schweiz stützt sich derzeit auf Resultate der immunhistochemischen Untersuchung. Da dieses Verfahren jedoch zwischen ein und zwei Wochen dauert, wird als erster Schritt ein Schnelltest durchgeführt (Abb. 6). Mit Western Blot («Prionics Check») oder

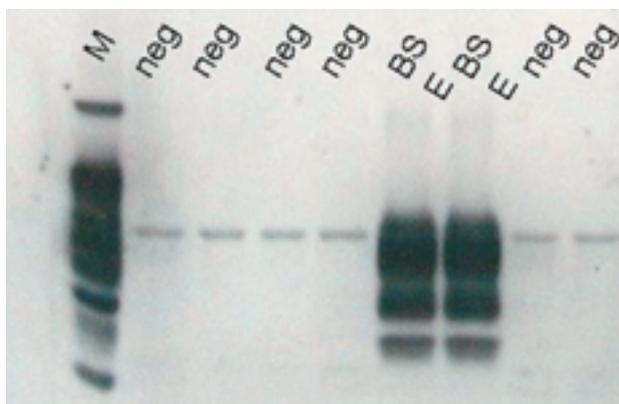


Abbildung 6: Western blot. Nachweis von proteaseresistentem PrP<sup>Sc</sup> bei einem positiven Rind. Proben werden immer doppelt getestet. M, Marker; neg, BSE negativ.

ELISA («Platelia», Bio-Rad) kann man ein erstes, vorläufiges Resultat in einem Tag erhalten (Schaller et al., 1999). Diese Schnelltests werden zur Zeit europaweit für das Screening von Risikopopulationen und Schlachttieren angewendet. Ist der Test positiv, muss dieses Resultat vom Referenzlabor (NeuroCenter) mittels Histopathologie und IHC bestätigt werden. Die Schnelltests sind aber, wie schon angesprochen, für die Diagnose von neurologischen Krankheiten, die als Differentialdiagnose für BSE in Frage kommen würden, unbrauchbar (Heim et al., 1997). Um dennoch einen Überblick über das Vorkommen anderer neurologischer Erkrankungen beim Rind zu bekommen, muss der ganze Kopf von klinischen BSE-Verdachtsfällen zur Abklärung direkt an das NeuroCenter geschickt werden. Eine Hälfte des Hirns wird hier sofort in Formalin gelegt, die andere Hälfte wird nach der Entnahme von einem Stück Hirnstamm (Obexregion) eingefroren, um mit diesem Stück mittels ELISA ein weiteres provisorisches Ergebnis zu erhalten. Unabhängig vom Resultat wird das Formalin-fixierte Gewebe weiter für Histologie und IHC bearbeitet.

Bis jetzt sind Schnelltests nur beim Rind offiziell validiert.

### Schlussfolgerungen

Leider existieren bei BSE noch keine diagnostischen Möglichkeiten für ante mortem Untersuchungen, um eine klinische BSE-Diagnose zu bestätigen oder um subklinische Fälle auffinden zu können. Eine zusätzliche Schwierigkeit bei der TSE Diagnostik ist die lange Inkubationszeit der Krankheit und die Tatsache, dass die Menge von akkumuliertem PrP<sup>Sc</sup> erst ungefähr 6 Monate vor dem Erscheinen der klinischen Symptome über die Detektionsschwelle steigt. Bei Scrapie ist es aber denkbar, für die Routine-Diagnostik einen ante mortem Test zu etablieren, da sich PrP<sup>Sc</sup> bei dieser Krankheit auch ausserhalb des ZNS akkumuliert, nämlich in lymphoiden Organen, wie z.B. Milz, Lymphknoten und Tonsillen (van Keulen et al., 1996). Eine BSE-Infektion kann durch eine intrazerebrale oder intraperitoneale Inokulation von Mäusen mit ZNS-Gewebe von einem BSE-erkrankten Rind nachgewiesen werden (Fraser und Foster, 1994). Eine Übertragung von BSE durch Verfüttern von infiziertem Material auf Mäuse ist auch möglich (Barlow und Middleton, 1990), doch wegen der langen Inkubationszeit (> 292 Tage) für die Routine-Diagnostik jedoch nicht geeignet. Der Bedarf für empfindliche und zuverlässige BSE-Tests, die am lebenden Tier durchgeführt werden können, ist sehr hoch. Darum

wurde versucht, verschiedene Marker der Krankheit im Liquor cerebrospinalis, im Blut oder im Urin nachzuweisen (Jackman und Everest, 1994; Robey et al, 1998; Green et al., 1999; Riond et

al., 1999). Obwohl die Forschungsergebnisse teilweise vielversprechend sind, ist bisher kein ante mortem-Test für die Routine-Diagnostik von BSE anwendbar.

## Literatur

- Barlow R.M., Middleton D.J.: Dietary transmission of ovine spongiform encephalopathy to mice. *Vet. Rec.* 1990, 126: 111–112.
- Billinis C., Panagiotidis C.H., Psychas V., Argyroudis S., Nicolaou A., Leontides S., Papadopoulos O., Sklaviadis T.: Prion protein gene polymorphisms in natural goat scrapie. *J. Gen. Virol.* 2002, 83: 713–721.
- Collinge J., Sidle K.C.L., Meads J., Ironside J., Hill A.F.: Molecular analysis of prion stain variation and the aetiology of “new variant” CJD. *Nature* 1996, 383: 685–690.
- Demierre S., Botteron C., Cizinauskas S., Doherr M.G., Fatzler R., Berthelin-Baker C., Jaggy A.: Feline spongiforme Enzephalopathie: erster klinischer Fall in der Schweiz. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 2002, 144: 550–557.
- Fatzler R., Graber H. U., Meyer R. K., Cardozo C., Vandeveldelde M., Zurbriggen A.: Neuronal degeneration in brain stem nuclei in bovine spongiform encephalopathy. *J. Vet. Med. A.* 1995, 43: 23–29.
- Fraser H., Foster J.D.: Transmission to mice, sheep and goats and bioassay of bovine tissues. In: A consultation on BSE with the Scientific Veterinary Committee of the Commission of the European Communities held in Brussels, Belgium, 14–15 September 1993. Eds. R. Bradley und B Marchant, Document VI/4131/94-EN. European Commission Agriculture, Brussels, Belgium, 1994, 145–159.
- Georgsson G., Gisladdottir E., Arnadottir S.: Quantitative assessment of astrocytic response in natural scrapie of sheep. *J. Comp. Pathol.* 1993, 108: 229–240.
- Goldmann W., Hunter N., Smith G., Foster J., Hope J.: PrP genotype and agent effects in scrapie: change in allelic interaction with different isolates of agent in sheep, a natural host of scrapie. *J. Gen. Virol.* 1994, 75: 989–995.
- Graber H. U., Meyer R.K., Fatzler R., Vandeveldelde M., Zurbriggen A.: In situ hybridization and immunohistochemistry for prion protein (PrP) in bovine spongiform encephalopathy (BSE). *J. Vet. Med. A.* 1995, 42: 453–459.
- Green A.J.E., Jackman R., Marshall T.A., Thompson E.J.: Increased S-100b in the cerebrospinal fluid of some cattle with bovine spongiform encephalopathy. *Vet. Rec.* 1999, 145: 107–109.
- Guarda E., Fatzler R.: Investigations concerning the occurrence of BSE in Italy by means of brains of normally slaughtered cattle with special consideration of non specific neuronal vacuoles. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 1995, 137: 101–103.
- Hadlow W.J.: Reflections on the transmissible spongiform encephalopathies. *Vet. Pathol.* 1999, 36: 523–529.
- Heim D., Fatzler R., Hörnlimann B., Vandeveldelde M.: Häufigkeit neurologischer Erkrankungen beim Rind. *Schweiz. Arch. Tierheilkd.* 1997, 139: 354–362.
- Hope J., Reekie L.J., Hunter N., Multhaup G., Beyreuther K., White H., Scott A.C., Stack M.J., Dawson M., Wells G. A.: Fibrils from brains of cows with new cattle disease contain scrapie-associated protein. *Nature* 1988, 336: 390–392.
- Jackman R., Everest S.J.: Further development of the electrochemical analysis of urine from cows with BSE. In: Transmissible Spongiform Encephalopathies. A consultation on BSE with the Scientific Veterinary Committee of the Commission of the European Communities held in Brussels, Belgium, 14–15 September 1993. Eds. R. Bradley und B Marchant, Document VI/4131/94-EN. European Commission Agriculture, Brussels, Belgium, 1994, 369–376.
- Liberski P.P., Guiroy D.C., Williams E.S., Walis A., Budka H.: Deposition patterns of disease-associated prion protein in captive mule deer brains with chronic wasting disease. *Acta Neuropathol.* 2001, 102: 496–500.
- McKinley M.P., Bolton D.C., Prusiner S.B.: A protease-resistant protein is a structural component of the scrapie prion. *Cell* 1983, 35: 57–62.
- Oesch B., Westaway D., Walchi M., McKinley M.P., Kent S.B.H., Aebersold R., Barry R.A., Tempst P., Teplow D.B., Hood L.E., Prusiner S.B., Weissmann C.: A cellular gene encodes scrapie PrP27–30 protein. *Cell* 1985, 40: 735–746.
- Prusiner S.B.: Human prion diseases and neurodegeneration. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 1996, 207: 1–17.
- Riond J.-L., Hartmann P., Joller-Jemelka H.I., Braun U.: S-100 and bovine spongiform encephalopathy. *Vet. Rec.*, 1999, 145: 114–115.
- Robey W.G., Jackson R., Walter R.L., Brackett C.A., Harrington C.A., Killian W.R.: Use of cerebrospinal fluid levels of 14-3-3 in predicting neurodegeneration in confirmed BSE symptomatic cattle. *Vet. Rec.* 1998, 143: 50–51.
- Ryder S.J., Wells G.A.H., Bradshaw J.M., Pearson G.R.: Inconsistent detection of PrP in extraneural tissues of cats with feline spongiform encephalopathy. *Vet. Rec.* 2001, 148: 437–441.
- Schaller O., Fatzler R., Stack M., Clark J., Cooley W., Biffiger K., Egli S., Doherr M., Vandeveldelde M., Heim D., Oesch B., Moser M.: Validation of a Western immunoblotting procedure for bovine PrP<sup>Sc</sup> detection and its use as a rapid surveillance method for the diagnosis of bovine spongiform encephalopathy (BSE). *Acta Neuropathol.* 1999, 98: 437–443.

- Summers B.A., Cummings J.F., de Lahunta A.:* Scrapie and the transmissible encephalopathies. In: *Veterinary neuropathology*. Mosby-Year Book, Inc. 1995, 136–141.
- van Keulen L.J.M., Schreuder B.E.C., Meloen R.H., Mooij-Harkes G., Vromans M.E.W., Langeveld J.P.M.:* Immunohistochemical detection of prion protein in lymphoid tissues of sheep with natural scrapie. *J. Clin. Microbiol.* 1996, 34: 1228–1231.
- Wells G.A.H., Scott A. C., Johnson C.T., Gunning R. F., Hancock R. D., Jeffrey M., Dawson M., Bradley R.:* A novel progressive spongiform encephalopathy in cattle. *Vet. Rec.* 1987, 121: 419–420.
- Wells G.A.H., Hancock R.D., Cooley W.A., Richards M.S., Higgins R.J., David G.P.:* Bovine spongiform encephalopathy: Diagnostic significance of vacuolar changes in selected nuclei of the medulla oblongata. *Vet. Rec.* 1989, 125: 521–524.
- Wells G.A.H., Wilesmith J.W., McGill I.S.:* Bovine spongiform encephalopathy: A neuropathological perspective. *Brain Pathol.* 1991, 1: 69–78.
- Wells G.A.H., Hawkins S.A.C., Green R.B., Austin A.R., Dexter I., Spencer Y.I., Chaplin M.J., Stack M.J., Dawson M.:* Preliminary observations on the pathogenesis of experimental bovine spongiform encephalopathy (BSE): an update. *Vet. Rec.* 1998, 142: 103–106.
- Will R.G., Ironside J.W., Zeidler M., Cousens S.N., Estibeiro K., Alperovitch A., Poser S., Pocchiari M., Hofman A., Smith P.G.:* A new variant of Creutzfeldt-Jakob disease in the UK. *Lancet* 1996, 347: 921–925.
- Williams E.S., Young S.:* Neuropathology of chronic wasting disease of mule deer (*Odocoileus hemionus*) and elk (*Cervus elaphus nelsoni*). *Vet. Pathol.* 1993, 30: 36–45.
- Wyatt J.M., Pearson G.R., Smerdon T.N., Gruffydd-Jones T.J., Wells G.A.H.:* Spongiform encephalopathy in a cat. *Vet. Rec.* 1990, 126: 513.
- Zlotnik I.:* The pathology of scrapie: a comparative study of lesions in the brain of sheep and goats. *Acta Neuropathol.* (Berlin) 1962, 1(suppl): 61–70.

---

#### Korrespondenzadresse

Dr. Catherine Botteron, NeuroCenter, Departement für klinische Veterinärmedizin  
Bremgartenstrasse 109a, CH-3012 Bern, Fax: 031 631 25 38, E-Mail: catherine.botteron@itn.unibe.ch

*Manuskripteingang: 30. August 2002*

*In vorliegender Form angenommen: 20. September 2002*