

Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society

Vol 49, No 3 (1998)



Bovine Spongiform Encephalopathy and Public Health

E. KALDRYMIDOU (Ε. ΚΑΛΔΡΥΜΙΔΟΥ), G. KANAKOUDIS (Γ. ΚΑΝΑΚΟΥΔΗΣ), K. KATSARAS (Κ. ΚΑΤΣΑΡΑΣ), Th. TSANGARIS (Θ. ΤΣΑΓΓΑΡΗΣ), N. PAPAIOANNOU (Ν. ΠΑΠΑΪΩΑΝΝΟΥ)

doi: [10.12681/jhvms.15768](https://doi.org/10.12681/jhvms.15768)

Copyright © 2018, E KALDRYMIDOU, G KANAKOUDIS, K KATSARAS, TH TSANGARIS, N PAPAIOANNOU



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

To cite this article:

KALDRYMIDOU (Ε. ΚΑΛΔΡΥΜΙΔΟΥ) Ε., KANAKOUDIS (Γ. ΚΑΝΑΚΟΥΔΗΣ) G., KATSARAS (Κ. ΚΑΤΣΑΡΑΣ) Κ., TSANGARIS (Θ. ΤΣΑΓΓΑΡΗΣ) Τ., & PAPAIOANNOU (Ν. ΠΑΠΑΪΩΑΝΝΟΥ) Ν. (2018). Bovine Spongiform Encephalopathy and Public Health. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 49(3), 171–181. <https://doi.org/10.12681/jhvms.15768>

Σπογγιόμορφη εγκεφαλοπάθεια των βοοειδών και δημόσια υγεία

Ε.Καλδρυμίδου¹, Γ.Κανακούδης¹, Κ.Κατσάρας², Θ.Τσαγγάρης¹, Ν.Παπαϊωάννου¹.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ. Η σπογγιόμορφη εγκεφαλοπάθεια των βοοειδών είναι μεταδοτική εκφυλιστική νόσος του κεντρικού νευρικού συστήματος και ανήκει σε ομάδα ασθενειών, οι οποίες προσβάλλουν τον άνθρωπο και διάφορα είδη ζώων και έχουν παρόμοια ιστοπαθολογική εικόνα. Ο βλαπτικός παράγοντας της BSE, αλλά και όλων των άλλων σπογγιόμορφων εγκεφαλοπαθειών, δεν έχει πλήρως διευκρινιστεί. Η επικρατέστερη σήμερα άποψη είναι ότι αυτός αποτελείται κυρίως ή και μόνον από μη φυσιολογική πρωτεΐνη, που ονομάστηκε prion. Στις διάφορες παρατηρήσεις ο βλαπτικός παράγοντας γίνεται αντιληπτός με τη μορφή πρωτεϊνικών κυλίνδρων, οι οποίοι αποτελούνται από συγκεντρώσεις ή πολυμερισμένη μορφή του βλαπτικού παράγοντα και ονομάστηκε πρωτεΐνη prion (prion protein - PrP). Αποδείχθηκε ότι υπάρχουν δύο ισομορφές της PrP. Η μία που σημειώνεται ως PrP^C παράγεται από αρκετά κύτταρα του ανθρώπου και των ζώων και αποτελεί κυτταρικό δομικό στοιχείο. Η δεύτερη που σημειώνεται ως PrP^{Sc} παρουσιάζει ιδιαίτερες ιδιότητες, που την καθιστούν παθολογική και υπεύθυνη για τη δημιουργία των σπογγιόμορφων εγκεφαλοπαθειών. Ο αναδιπλασιασμός της PrP^{Sc} φαίνεται ότι διενεργείται στα λυσοσώματα κυττάρων του νευρικού συστήματος και των δενδριτικών, καθώς και λοιπών κυττάρων του δικτυωτού των λεμφοκυτογόνων οργάνων με μετατροπή της PrP^C σε PrP^{Sc}. Όπως φαίνεται η BSE προκλήθηκε στα βοοειδή εξαιτίας της κατανάλωσης από αυτά κρεαταλεύρων και οστεαλεύρων, που προέρχονταν από πρόβατα μολυσμένα από τη scrapie. Αναφορικά με την παθογένεια φαίνεται από πειραματικά δεδομένα ότι αρχικά η PrP^{Sc} εισέρχεται με την τροφή και εγκαθίσταται στα διάφορα λεμφοκυτογόνα όργανα όπου και γίνεται ο πρώτος αναδιπλασιασμός της. Πιστεύεται ότι, από τα λεμφοκυτογόνα όργανα, μεταφέρεται με τα νεύρα στο κεντρικό νευρικό

σύστημα, όπου και δημιουργεί τις χαρακτηριστικές αλλοιώσεις της κεννοτοπιώδους εκφύλισης των νευρικών κυττάρων και τη σπογγίωση, οπότε και εμφανίζεται κλινικά η νόσος. Τα νευρικά συμπτώματα χαρακτηρίζονται κυρίως από αλλαγή στη συμπεριφορά των ζώων και από κινητικές ανωμαλίες. Η διάγνωση της νόσου γίνεται με την παρατήρηση των ιστοπαθολογικών αλλοιώσεων, την ανίχνευση ινιδίων συνδεδεμένων με τη scrapie-SAF και την ανοσοϊστοχημική ανίχνευση των μορίων της PrP^{Sc} σε ιστολογικές τομές ή με ηλεκτροφόρηση (Western blotting test). Η BSE αποδείχθηκε ότι μπορεί να μεταδοθεί σε άλλα ζώα και υπάρχει η πιθανότητα να μεταδίδεται και στον άνθρωπο με την τροφική αλυσίδα. Ύστερα από αυτά και σ' όλο το διάστημα που διέρρευσε, από την εμφάνισή της μέχρι σήμερα, λήφθηκαν μέτρα, τόσο από τη Μ. Βρετανία, όσο και από την ΕΕ για την εκρίζωση της νόσου και την προστασία της δημόσιας υγείας. Τα μέτρα αυτά θα πρέπει να τηρούνται από τις επίσημες αρχές και επιπρόσθετα θα πρέπει να ενημερωθεί ο καταναλωτής για την πιθανή επικινδυνότητα των διαφόρων ζωικών προϊόντων.

Λέξεις ευρετηρίασης: Εγκεφαλοπάθεια, σπογγιόμορφη, σπογγώδης, βοοειδή

ABSTRACT: E. Kaldrymidou, G. Kanakoudis, K. Katsaras, Th. Tsangaris, N. Papaioannou. Bovine Spongiform Encephalopathy and Public Health. *Bulletin of the Hellenic Veterinary Medical Society* 49(3):171-181. Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE) is a transmissible degenerative disease of the central nervous system. It belongs to a group of diseases which affect man and various kinds of animals and they have a similar histopathological appearance. The harmful agent of BSE and all the others spongiform encephalopathies have not been totally clarified. Today according to the predominant opinion this agent is consisted mainly or/and only of an abnormal protein, which is called prion. In various observations the harmful agent appears like proteinaceous cylinders which are consisted of aggregations or polymerised forms of the agent and it is called prion-protein (PrP). It has been proved that there are two isoforms of PrP. The first of them, called PrP^C, is produced from many cells of man and animals and consists a cellular structural element. The second, called PrP^{Sc}, due to its specific properties, it is considered to be pathological and responsible for the spongiform encephalopathies. The replication of PrP^{Sc} seems to take place in the lysosomes of central nervous system cells,

¹ Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής, Τμήμα Κτηνιατρικής, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54 006 Θεσσαλονίκη
² Ομοσπονδιακό Ερευνητικό Ίδρυμα Κρέατος, Κούλμπαχ Γερμανίας

Laboratory of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Aristotle University of Thessaloniki, 54 006 Thessaloniki
Federal Meat Research Institute, Kulbach Germany

Ημερομηνία υποβολής: 09.06.97
Ημερομηνία εγκρίσεως: 11.06.98

dendritic, and other reticular cells of the lymphatic organs through transformation of PrP^C into PrP^{Sc}. It appears BSE caused by feeding meat and bone meals to cattle which were originated from scrapie infected sheep. Referring to the pathogenesis originating from experimental data it seems that initially the PrP^{Sc} enters the body by food and afterwards is settled in various lymphoid organs where the first replication takes place. It is believed that BSE is transmitted through the nerves to the CNS, where it creates the characteristic lesions of vacuolar degeneration of the neurons and finally the spongiosis. Then the clinical signs are expressed. The nervous signs characterised by behavioural alterations of the animals and kinetic abnormalities. The diagnosis of the disease is made by the observation of the histopathological lesions, the detection of Scrapie Associated Fibrils-SAF by EM, the immunohistochemical detection of PrP^{Sc} in histological samples or by electrophoresis (Western blotting test). BSE was proved to be transmissible to other animals and there is a possibility that it could be done to man through the food chain. According to the above in these years, from the appearance of the disease until now, have been taken bans from Great Britain as well as from E.U. for the eradication of the disease and the protection of the public health. These instructions should be followed by the authorities and additionally the consumers ought to be informed for the possible danger of various animal products.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η σπογγιόμορφη εγκεφαλοπάθεια των βοοειδών (Bovine Spongiform Encephalopathy - BSE) αποτελεί νοσολογική οντότητα, που προσβάλλει το κεντρικό νευρικό σύστημά τους. Εμφανίστηκε για πρώτη φορά στη Μ. Βρετανία το 1985^{1,2} και αποτελεί μάλιστα για την κτηνοτροφία της χώρας αυτής.

Εκτός, όμως, από το τεράστιο οικονομικό πρόβλημα, που δημιούργησε, η νόσος αυτή θεωρήθηκε και ύποπτη για πιθανή μετάδοσή της στον άνθρωπο. Τα μέσα μαζικής ενημέρωσης ασχολήθηκαν ιδιαίτερα με τη νόσο στην προσπάθεια ενημέρωσης του κοινού για τους πιθανούς κινδύνους από την κατανάλωση κρέατος, κρεατοσκευασμάτων, αλλά και τη χρήση πολλών βιολογικών προϊόντων, που έχουν ως βάση ιστούς βοοειδών. Επακόλουθο της ενέργειας αυτής ήταν η νέα νόσος των βοοειδών να δημιουργήσει στους καταναλωτές έντονη ανασφάλεια και σε ορισμένες περιπτώσεις πανικό.

ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ

Η σπογγιόμορφη εγκεφαλοπάθεια των βοοειδών έγινε γνωστή, όταν το 1985 κάποιος εκτροφέας γαλακτοπαραγωγών αγελάδων της περιοχής του Kent στη Μ. Βρετανία παρατήρησε αλλαγή στη συμπεριφορά των ζώων του. Αυτά έγιναν επιθετικά και κατέστρεψαν τις αμελκτικές μηχανές. Στη συνέχεια η κατάστασή τους επιδεινώθηκε και παρουσίασαν αστάθεια και υπερδιέγερση, συμπεριφερόμενα ως να είχαν παραφρονήσει (mad cows = τρελλές α-

γελάδες). Τελικά κατέληξαν στο θάνατο.

Ακολούθως, η παθολογική αυτή κατάσταση παρατηρήθηκε και σε άλλες εκτροφές, χωρίς οι Βρετανοί κτηνίατροι να μπορέσουν να την ελέγξουν. Το γεγονός αυτό ανάγκασε το Κεντρικό Κτηνιατρικό Εργαστήριο του Βρετανικού Υπουργείου Γεωργίας στο Weybridge του Surrey να δραστηριοποιηθεί. Οι έρευνες που έγιναν στο παραπάνω εργαστήριο κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η νέα νόσος των βοοειδών ήταν μια μεταδοτική εγκεφαλοπάθεια παρόμοια με την τρομώδη νόσο των αιγών και των προβάτων (scrapie)^{3,4}.

Η τρομώδης νόσος των αιγών και των προβάτων συνοδεύεται από αλλαγή στη συμπεριφορά των ζώων. Αυτά παρουσιάζουν υπεραίσθησία, ανησυχία, μυϊκό τρόμο, αταξία των οπισθίων κυρίως άκρων και τέλος έντονο δερματικό κνησμό, ο οποίος έδωσε και την αγγλική ονομασία στη νόσο (scrapie). Η νόσος αυτή ήταν γνωστή στη Μ. Βρετανία για χρονικό διάστημα 250 περίπου ετών και εξακολουθεί ακόμα και σήμερα να είναι ιδιαίτερα διαδομένη. Θεωρείται πιθανό ότι κάθε τρίτο κοπάδι προβάτων είναι μολυσμένο από τη scrapie. Συνεπώς, ο άνθρωπος στο μεγάλο αυτό χρονικό διάστημα ερχόταν σε επαφή με το βλαπτικό παράγοντα της scrapie, χωρίς όμως να παρατηρηθεί έξαρση των κρουσμάτων παρόμοιας εγκεφαλοπάθειας του ανθρώπου, δηλαδή της νόσου των Creutzfeldt-Jacob.

Στο σημείο αυτό πρέπει να αναφερθεί ότι υπάρχουν εγκεφαλοπάθειες στον άνθρωπο και στα ζώα με παρόμοια ιστοπαθολογική εικόνα και θεωρείται ότι ο αιτιολογικός παράγοντας όλων των παθολογικών καταστάσεων, που περιλαμβάνονται στην ομάδα αυτή, είναι ταυτόσημος. Η scrapie η οποία ήταν από παλιά γνωστή και θεωρούνταν σχετικά ακίνδυνη για τον άνθρωπο αποτέλεσε και αποτελεί το ερευνητικό πρότυπο όλων των γνωστών σπογγιόμορφων εγκεφαλοπαθειών, που αναφέρονται στον πίνακα 1.

Πίνακας 1. Σπογγιόμορφες εγκεφαλοπάθειες

Άνθρωπος	Creutzfeldt - Jacob disease (CJD) Gerstmann - Straeussler - Scheinker disease (CSS) Kuru Fatal Familial Insomnia (FFI)
Ζώα πρόβατα, αίγες βοοειδή	Scrapie Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE)
γάτες	Feline Spongiform Encephalopathy (FSE)
μίνκ	Transmissible Mink Encephalopathy (TME)
ελάφια	Chronic Wasting Disease (CWD)

Μέχρι το 1980 δεν παρατηρήθηκαν κρούσματα BSE παρά το γεγονός ότι ο πληθυσμός των προβάτων στη Μ. Βρετανία αριθμούσε τα τριάντα εκατομμύρια και των βοοειδών τα δέκα εκατομμύρια⁵. Το γεγονός αυτό δηλώνει ότι ο απλός συγχρωτισμός των προβάτων με τα βοοειδή δεν ήταν επαρκής για τη μετάδοση της νόσου.

ΠΡΟΚΛΗΣΗ - ΜΕΤΑΔΟΣΗ ΤΗΣ BSE

Ως πιθανότερη αιτία της προσβολής των βοοειδών από την BSE θεωρήθηκε το γεγονός ότι από το τέλος της δεκαετίας του 1970 ως τις αρχές του 1980 χρησιμοποιήθηκαν στο σιτηρέσιο των βοοειδών κρεατάλευρα και οστεάλευρα, που παρασκευάζονταν από υποπροϊόντα και παραπροϊόντα σφαγίων προβάτων, μολυσμένων από τη scrapie^{2,6}.

Σε ανακοίνωση που έγινε στο 6^ο Πανελλήνιο Κτηνιατρικό Συνέδριο το Νοέμβριο του 1996⁷ αναφέρθηκε από στοιχεία των USDA: APHIS: VS- ότι στη Μ. Βρετανία για το έτος 1989 η παραγωγή των κρεαταλεύρων και οστεαλεύρων στηριζόταν σε ποσοστό 43% σε υπο- και παραπροϊόντα σφαγίων βοοειδών και μόνο σε ποσοστό 14% σε ανάλογα προϊόντα προβάτων. Η παραπάνω διαπίστωση οδηγεί στο συλλογισμό, ότι τα βοοειδή διατρέφονταν περισσότερο με ζωικές πρωτεΐνες βοοειδών παρά προβάτων. Επομένως, ο βλαπτικός παράγοντας αν σε κάποια στιγμή πέρασε από τα πρόβατα στα βοοειδή, στη συνέχεια θα πρέπει να γινόταν ανακύκλωση του προσαρμωμένου στα βοοειδή βλαπτικού παράγοντα. Ακόμα δεν μπορεί να αποκλειστεί το ενδεχόμενο η BSE να υπήρχε sporadικά στα βοοειδή και στη συνέχεια με τη μολυσμένη τροφή να εξαπλώθηκε σ' όλη τη Μ. Βρετανία και σε άλλες χώρες με την εισαγωγή βρετανικών ζωοτροφών και ζώων.

Αναφορικά με την κατανάλωση των κρεαταλεύρων και οστεαλεύρων στη Μ. Βρετανία, σύμφωνα πάντα με την προηγούμενη ανακοίνωση και πριν από την εφαρμογή της απόφασης της 18-7-88 (πίνακας 3), με την οποία απαγορεύτηκε η χορήγηση των προαναφερόμενων αλεύρων στα βοοειδή, τα τελευταία κατανάλωναν το 10-20% της παραγωγής. Τα υπόλοιπα κρεατάλευρα και οστεάλευρα καταναλώνονταν σε ποσοστό 10% από τους σκύλους και τις γάτες, 45% από τα πτηνά, 40% από τους χοίρους και 2% από διάφορα άλλα ζώα.

Πρέπει να σημειωθεί ότι η δυνατότητα μετάδοσης από τα κρεατάλευρα και τα οστεάλευρα συνδέεται με τη μοιραία αλλαγή στην επεξεργασία τους. Στις αρχές της δεκαετίας του 1980, οι βιομηχανίες ζωοτροφών μείωσαν τη θερμοκρασία επεξεργασίας των πρώτων υλών από τους 130°C στους 110°C και σε αρκετές περιπτώσεις στους 80°C. Η τροποποίηση αυτή έγινε πρωτίτως για λόγους συμπίεσης του κόστους παραγωγής και απόδοσης προϊόντος με πρωτεΐνες υψηλότερης βιολογικής αξίας. Η μειωμένη αυτή θερμοκρασία θεωρείται επαρκής για την καταστροφή των σύμμελλων και άλλων βακτηριδίων⁸, όμως αποδείχτηκε

πολύ χαμηλή για την αδρανοποίηση του βλαπτικού παράγοντα της scrapie και των άλλων συναφών εγκεφαλοπαθειών. Παράλληλα οι βιομηχανίες ζωοτροφών έπαυσαν να χρησιμοποιούν οργανικούς διαλύτες για την εκχύλιση του λίπους, με αποτέλεσμα τα επεξεργασμένα με την τροποποιημένη αυτή μέθοδο προϊόντα να περιέχουν το βλαπτικό παράγοντα της scrapie σε μεγάλο βαθμό.

Ο ΒΛΑΠΤΙΚΟΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ

Ο βλαπτικός παράγοντας που προκαλεί την BSE, αλλά και όλες τις σπογγιομορφες εγκεφαλοπάθειες, ακόμα και σήμερα δεν έχει διευκρινιστεί πλήρως. Μια από τις περισσότερο ενδιαφέρουσες προτάσεις, σχετικά με τη φύση του, έγινε προ δεκαπενταετίας από τον S.B. Prusiner (1982)⁹, ο οποίος εισηγήθηκε ότι ο βλαπτικός παράγοντας θα μπορούσε να αποτελείται κυρίως ή και μόνον από μη φυσιολογική πρωτεΐνη. Τον πρωτεϊνικό αυτό παράγοντα ονόμασε «proteinaceous infectious particle - prion».

Η εισήγηση αυτή θεωρήθηκε αιρετική, επειδή η άποψη, που επικρατεί ακόμα και σήμερα, είναι ότι οι φορείς των μεταδοτικών νοσημάτων φέρουν γενετικό υλικό (DNA ή RNA). Πολλοί επιστήμονες θεωρούν ότι και ο αμφιλεγόμενος αυτός βλαπτικός παράγοντας έχει γενετικό υλικό και για το λόγο αυτό αναφέρεται και με άλλες ονομασίες όπως: filamentous virus, slow virus, conventional agent και subviral pathogen^{10,11,12}.

Σήμερα, ύστερα από αρκετά πειραματικά και κλινικά δεδομένα, η άποψη του prion ως μολυσματικού παράγοντα κερδίζει έδαφος. Το prion ως οντότητα είναι μέχρι σήμερα κάτι το υποθετικό. Εκείνο όμως που έχουν παρατηρήσει και περιγράψει οι ερευνητές είναι οι «κύλινδροι prions», οι οποίοι παρατηρούνται σε κλάσματα προερχόμενα από εγκεφάλους κρινητών (χάμστερ). Τα κυλινδρικά αυτά σωματίδια τα οποία ανιχνεύτηκαν με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο και ονομάστηκαν ινίδια συνδεδεμένα με τη scrapie (Scrapie Associated Fibrils - SAF), θεωρείται ότι αποτελούνται από συγκεντρώσεις ή πολυμερισμένη μορφή του βλαπτικού παράγοντα, ο οποίος έχει ονομαστεί πρωτεΐνη prion (prion protein - PrP). Τα κυλινδρικά σωματίδια μοιάζουν ως προς τη δομή τους, αλλά και χημικά με το αμυλοειδές^{9,13,14,15}.

Η πρωτεΐνη prion (PrP) παρατηρήθηκε ύστερα από έρευνες, σε κύτταρα πολλών ζώων και στον άνθρωπο και δεν είναι αναγκαστικά παθογόνα. Επομένως, υπάρχει στα κύτταρα ειδικό γονίδιο υπεύθυνο για την παραγωγή της. Ύστερα από τα παραπάνω ευρήματα έπρεπε να γίνει αποδεκτή η ύπαρξη δύο ισομορφών της PrP (Πίνακας 2). Τελικά αποδείχτηκε ότι υπάρχει: α) η κυτταρική prion πρωτεΐνη (cellular PrP ή PrP^C), η οποία ως κυτταρικό δομικό στοιχείο αποδομείται εύκολα από τις πρωτεάσες και β) η παθολογική prion πρωτεΐνη (scrapie PrP ή PrP^{Sc}), η οποία είναι ανθεκτική στα παραπάνω ένζυμα και σε ορι-

Πίνακας 2. Πρωτεΐνες prion

PrP	(prion protein) πρωτεΐνη δομικά και χημικά όμοια με το αμυλοειδές. Διακρίνεται στις παρακάτω δύο ισομορφές.
PrP ^C	(cellular PrP) δομική κυτταρική πρωτεΐνη, η οποία διασπάται εύκολα από τις πρωτεάσες.
PrP ^{Sc}	(scrapie PrP) παθολογική πρωτεΐνη ανθεκτική στις πρωτεάσες και σε ορισμένους χημικούς διαλύτες.

σμένους χημικούς διαλύτες¹⁵. Η αναφορά στη scrapie για τη σήμανση της παθολογικής PrP γίνεται επειδή, όπως προαναφέρθηκε, η νόσος αυτή αποτελεί το ερευνητικό πρότυπο όλων των σπογγιόμορφων εγκεφαλοπαθειών.

Αναφορικά με τις διαφορές των δύο ισομορφών της PrP, αυτές πρέπει να οφείλονται στη διαφορετική στερεοχημική δομή του μορίου τους.

Η PrP^{Sc} παρουσιάζει τα ακόλουθα ιδιαίτερα γνωρίσματα, ορισμένα από τα οποία την καθιστούν βλαπτική:

α) Δεν αναγνωρίζεται από τον οργανισμό ως ξένη πρωτεΐνη και επομένως δεν προκαλεί ανοσολογική αντίδραση^{16,17}.

β) Παρουσιάζει ασυνήθιστη αντοχή στη θερμότητα και στις συνήθεις μεθόδους απολύμανσης¹⁸. Η αντοχή στη θερμότητα μπορεί να εξηγήσει, το λόγο για τον οποίο η BSE εμφανίστηκε στη Μ. Βρετανία, όταν οι θερμοκρασίες επεξεργασίας των κρεαταλεύρων και οστεαλεύρων μειώθηκαν από τους 130°C στους 110°C ή και περισσότερες.

Επισημαίνεται ότι η PrP^{Sc} καταστρέφεται στους 134°C (± 4) υγρής θερμότητας διάρκειας τουλάχιστον 18 λεπτών¹⁹. Επίσης, απολυμαντικά όπως η φορμόλη δεν την επηρεάζουν. Έχει διαπιστωθεί ότι μολυσμένοι ιστοί, που παρέμειναν σε διάλυμα 10% φορμόλης, για διάστημα έξι μηνών, συνέχιζαν να είναι λοιμογόνοι²⁰.

γ) Η υπεριώδης ακτινοβολία και οι ακτίνες X σε αρκετά υψηλές δόσεις δεν μπορούν να την καταστρέψουν²¹.

δ) Η PrP^{Sc} μπορεί να παραμείνει λοιμογόνος στο εξωτερικό περιβάλλον για αρκετές ημέρες²¹.

ε) Οι ιστοί των προσβλημένων βοοειδών αν επεξεργαστούν και δοθούν ως ζωοτροφή σε υγιή βοοειδή ή πρόβατα μπορούν να τα προσβάλουν και να προκαλέσουν νόσο ανάλογη της BSE^{22,23}.

Πώς όμως πρωτοδημογραφήθηκε η PrP^{Sc}; Αυτό είναι ένα ερώτημα που δεν απαντήθηκε ακόμα. Ο S.B. Prusiner¹⁵ αναφέρει ότι υπάρχουν επιστημονικές μαρτυρίες ιδιαίτερα για τη νόσο των Gerstmann-Straeussler-Scheinker, αλλά και για την οικογενειακή κακοήθη αιπνία (Fatal Familial Insomnia) ότι αποτελούν κληρονομικές

παθολογικές καταστάσεις, οι οποίες οφείλονται σε μεταλλάξεις συγκεκριμένων θέσεων του γονιδίου παραγωγής της PrP^C. Αν οι παραπάνω παρατηρήσεις επιβεβαιωθούν και για τις υπόλοιπες νοσολογικές οντότητες της ομάδας των σπογγιόμορφων εγκεφαλοπαθειών οδηγούμαστε στην πρωτοφανή πιθανότητα, ότι δηλαδή ο αιτιολογικός αυτός βλαπτικός παράγοντας μπορεί να προκαλέσει κληρονομικές, αλλά και μεταδοτικές παθήσεις.

ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΤΗΣ BSE

Η παθογένεια της BSE δεν είναι πλήρως γνωστή. Περισσότερες πληροφορίες υπάρχουν για τη scrapie, που η μετάδοσή της θεωρείται ότι μπορεί να γίνει από την εντερική οδό, αλλά και μέσω του πλακούντα από τη μητέρα στο έμβryo.

Στους ποντικούς, σε πειραματική μόλυνση μέσω της εντερικής οδού, ο βλαπτικός παράγοντας διαπιστώθηκε ότι αναδιπλασιάζεται αρχικά, κυρίως στις πλάκες του Peyer και σε μικρότερο βαθμό στο σπλήνα²⁴. Αντίθετα, σε παρεντερική πειραματική μόλυνση ο βλαπτικός παράγοντας διαπιστώθηκε κυρίως στο σπλήνα και ειδικότερα στα δενδριτικά κύτταρα αυτού²⁵, αλλά και στο θύμο αδένος και στο πάγκρεας. Στο στάδιο αυτό της εγκατάστασης και του πρώτου αναδιπλασιασμού του βλαπτικού παράγοντα στα λεμφοκυττογόνα όργανα δεν εκδηλώνεται κλινική νόσος. Από τα λεμφοκυττογόνα όργανα ο βλαπτικός παράγοντας διασπείρεται πιθανόν με τα νεύρα στο νωτιαίο μυελό^{26,27}. Όταν ο βλαπτικός παράγοντας φθάσει στο κεντρικό νευρικό σύστημα διαρρέει κάποια λανθάνουσα περίοδος, η οποία διαφέρει μεταξύ των διαφόρων στελεχών του. Στο χρόνο αυτό υφίσταται εντοπισμένος αναδιπλασιασμός του βλαπτικού παράγοντα με επακόλουθο την ανάπτυξη των κλινικών συμπτωμάτων της νόσου. Η λανθάνουσα περίοδος που διαρρέει μπορεί να κυμαίνεται από μήνες ως και έτη.

Αναφορικά με τον τρόπο αναδιπλασιασμού του βλαπτικού παράγοντα (PrP^{Sc}) ενδοκυτταρικά έχει αναπτυχθεί η ακόλουθη θεωρία, βασιζόμενη σε πειραματικά ευρήματα²⁸. Η PrP^{Sc} πρέπει να εισέρχεται στους νευρώνες και σ' άλλους κυτταρικούς τύπους (δενδριτικά κύτταρα) με κάποια μορφή φαγοκυττάρωσης. Μετά την είσοδό της στο κύτταρο εντοπίζεται σε κυστικές κυτταρικές κατασκευές, οι οποίες εξελίσσονται σε λυσοσώματα. Η PrP^{Sc} επειδή είναι ανθεκτική στα λυτικά ένζυμα δεν καταστρέφεται στις παραπάνω κατασκευές. Στις ίδιες κυστικές κατασκευές καταλήγει για αποδόμηση και η PrP^C, η οποία αποτελεί, όπως προαναφέρθηκε, κυτταρική δομική πρωτεΐνη. Με τον τρόπο αυτό η PrP^C έρχεται σε επαφή με την PrP^{Sc} σ' ένα περιβάλλον, στο οποίο μπορεί να επέλθει πρωτεϊνική μετουσίωση και πρωτεϊνόλυση. Η επαφή πρωτεΐνης με πρωτεΐνη στο ειδικό περιβάλλον των λυσοσωμάτων οδηγεί σε δευτερογενείς αλληλοεπιδράσεις των μορίων τους ως προς τη δομή τους και στη συνέχεια στο σχηματισμό

PrP^{Sc} από την PrP^C^{29,30,31}. Τα λυσοσώματα επομένως πρέπει να δρουν ως «βιοαντιδραστήρες», για τον αναδιπλασιασμό της PrP^{Sc}. Η συνεχής παραγωγή της PrP^{Sc} στα λυσοσώματα προκαλεί τελικά τη ρήξη της λυσοσωματικής μεμβράνης και τη διασπορά της PrP^{Sc} και των λυσοσωματικών ενζύμων στο νευρώνα με αποτέλεσμα την αποδιοργάνωση του κυτταροσκελετού και τελικά την κενотоπιώδη εκφύλιση του. Αργότερα, ο κυτταρικός θάνατος του νευρώνα επιτρέπει την απελευθέρωση της PrP^{Sc} στο εξωκυτταρικό περιβάλλον για να φαγοκυτταρωθεί από άλλα γειτονικά νευρικά κύτταρα με επακόλουθο την επανάληψη της όλης διεργασίας, που προαναφέρθηκε. Το τελικό αποτέλεσμα είναι η παρουσία των ειδικών αλλοιώσεων και η πρόκληση των κλινικών συμπτωμάτων.

ΚΛΙΝΙΚΑ ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ ΤΗΣ BSE - ΧΡΟΝΙΚΗ ΕΜΦΑΝΙΣΗ ΑΥΤΩΝ

Στα αρχικά στάδια της κλινικής νόσου παρατηρείται αλλαγή στη συμπεριφορά των ζώων. Αυτά γίνονται ευερέθιστα, ανήσυχα, κακότροπα - χτυπούν τα άλλα ζώα, που τα πλησιάζουν - ή είναι τελείως απαθή. Κρατούν την κεφαλή χαμηλά, τρίζουν τα δόντια τους και μερικά από αυτά σκάπτουν το έδαφος ή λείχουν συνεχώς τους μηκήρες τους. Ακόμα τρομάζουν εύκολα με το θόρυβο ή την επαφή. Με την πρόοδο της νόσου ακολουθεί ταλάντευση κατά το βάδισμα εξαιτίας ασυνέργειας των οπισθίων, κυρίως, άκρων. Η ανωμαλία στο βάδισμα γίνεται περισσότερο ευδιάκριτη, όταν τα ζώα αναγκαστούν να τρέξουν σε ανοικτό χώρο. Προοδευτικά παρατηρείται ελάττωση της γαλακτοπαραγωγής, απώλεια βάρους, απώλεια της επαφής με το περιβάλλον μέχρι φρενιτίδας και επιθετικότητα. Τα λακτίσματα και η νευρικότητα κατά την άμελη είναι από τα συχνότερα συμπτώματα. Σε προχωρημένα στάδια της νόσου τα ολισθήματα και οι πτώσεις του ζώου είναι συχνότερες, εξαιτίας της αδυναμίας στήριξης και τελικά παρατηρείται αδυναμία ανέγερσης και κατάκλιση του ζώου^{3,32,33}.

Αναφορικά με τη διάρκεια της νόσου, αυτή κυμαίνεται από 2 εβδομάδες ως 6 μήνες. Τα ζώα που κυρίως προσβάλλονται είναι οι ενήλικες αγελάδες ηλικίας 3-11 ετών και η μεγαλύτερη συχνότητα παρατηρείται σε ζώα ηλικίας 3-5 ετών³⁴.

ΙΣΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΛΛΟΙΩΣΕΙΣ ΤΗΣ BSE

Οι ιστοπαθολογικές μεταβολές συνίστανται σε αμφοτερόπλευρες, συμμετρικές εκφυλιστικές αλλοιώσεις, που χαρακτηρίζονται από την παρουσία κενотоπιώδους εκφύλισης των νευρώνων με αποτέλεσμα τη σπογγίωση των περιοχών που φέρουν τις αλλοιώσεις. Αυτές εντοπίζονται κυρίως σε πυρήνες του στελέχους του εγκεφάλου *ώλα* και στα ραχιαία κέρατα του νωτιαίου μυελού^{3,35,38}.

Στο νευροπύλημα παρατηρούνται εμφανώς ωοειδείς και σφαιρικές κύστεις ή μικροκοιλότητες, οι οποίες σε ε-

λάχιστες περιπτώσεις παρουσιάζουν ακανόνιστο σχήμα και έχουν δυσδιάκριτη θυριδωτή εμφάνιση.

Το περιβάλλον των προσβλημένων νευρώνων φέρει ευμεγέθεις, καλά σχηματισμένες, ενδοκυτοπλασματικές κύστεις. Οι κύστεις αυτές προκαλούν έντονη διάταση των νευρώνων και είναι μονήρεις ή πολλαπλές. Αυτές συνήθως είναι κενές περιεχομένου (κενοτόπια), ενώ σε αρκετές περιπτώσεις υπάρχει ελάχιστο υλικό κατά κανόνα στην περιφέρειά τους. Το περιεχόμενο αυτό παραμένει άχρουν και διαυγές σε ιστολογικές τομές, που χρωματίζονται για την ανίχνευση γλυκογόνου και σε τομές ψύξεως, που χρωματίζονται για την ανίχνευση λιπιδίων. Κοκκία λιποφουσκίνης παρατηρούνται στο κυτόπλασμα των προσβλημένων, αλλά και των άθικτων νευρώνων. Επιπρόσθετα, εντοπίζονται σποραδικά μονήρεις νεκρωμένοι νευρώνες και νευρωνοφαγίες. Η γλοιώση που παρατηρείται μερικές φορές είναι μέτριου βαθμού και οι περιαγγειακές διηθήσεις από μονοπύρηνα κύτταρα αποτελούν ασταθές εύρημα.

Στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο οι κύστεις (κενοτόπια) που παρατηρούνταν στα σώματα των νευρώνων, αλλά και στις αποφυάδες τους, φαίνεται να ορίζονται από κυτοπλασματική μεμβράνη. Εντός αυτών υπάρχουν άφθονες συσπειρωμένες μεμβράνες (μυελινικές εικόνες), κυστίδια, δευτερογενείς κύστεις και ινιδιακής φύσης υλικό. Πολυάριθμα υπερτροφικά αστροκύτταρα συνοδεύουν τους εκφυλισμένους νευρώνες³⁹.

Σε άλλες σπογγιόμορφες εγκεφαλοπάθειες έχει παρατηρηθεί εκτός των παραπάνω αλλοιώσεων και ο σχηματισμός πλακών αμυλοειδούς περιφερικά των αγγείων⁴⁰.

ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΤΗΣ BSE ΚΑΙ ΤΩΝ ΑΛΛΩΝ ΣΠΟΓΓΙΟΜΟΡΦΩΝ ΕΓΚΕΦΑΛΟΠΑΘΕΙΩΝ

Η διάγνωση της BSE δεν μπορεί να στηριχτεί στα κλινικά συμπτώματα. Επίσης μέχρι πρόσφατα δεν υπήρχε και κάποια άλλη διαγνωστική μέθοδος, που να εφαρμόζεται σε ζωντανά ζώα. Όπως προαναφέρθηκε η PrP^{Sc} δεν αναγνωρίζεται ως ξένη πρωτεΐνη από τον οργανισμό και για το λόγο αυτό δεν υπάρχει κάποια αναγνωρίσιμη αντίδρασή του.

Η μόνη ασφαλής διάγνωση της νόσου γινόταν μέχρι πρόσφατα με την πιστοποίηση των ειδικών ιστοπαθολογικών αλλοιώσεων, που παρατηρούνταν στο κεντρικό νευρικό σύστημα. Επιπρόσθετα η ανίχνευση με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο ειδικών πρωτεϊνικών ινιδίων που συνδέονται με τη νόσο, φερόμενα ως SAF, αποτελούσε επιβεβαίωση της διάγνωσης, όταν αυτή ήταν θετική.

Τα ειδικά πρωτεϊνικά ινίδια (SAF), τα οποία παρατηρούνται σ' όλες τις σπογγιόμορφες εγκεφαλοπάθειες αποτελούν τους επονομαζόμενους πρωτεϊνικούς κυλίνδρους της PrP^{Sc}¹⁵. Τα ινίδια αυτά μπορούν να παρατηρηθούν στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο με αρνητική χρώση⁴¹⁻⁴³. Η διεργασία απομόνωσής τους γίνεται, χονδρικά,

ως ακολούθως: Ο προσβλημένος εγκέφαλος λειοτροβείται σε διάλυμα 10% N-laugoysarcosine pH 7,4. Ακολουθούν επαναλαμβανόμενες φυγοκεντρήσεις στο παραπάνω και σε άλλα διαλύματα για την κάθαρση του υλικού και ακολούθως το υλικό επωάζεται στους 37°C με την προσθήκη πρωτεΐνης K. Τέλος, στο υλικό που απομένει γίνεται αρνητική χρώση για την παρατήρησή του στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο.

Τα τελευταία χρόνια αναπτύχθηκαν νεότερες τεχνικές ανίχνευσης της PrP στηριζόμενες σε σημασμένα πολυκλωνικά και ειδικότερα μονοκλωνικά αντισώματα, τα οποία αντιδρούν με την PrP και την κάνουν ορατή (μέθοδος οξειδάσης αντιυπεροξειδάσης). Οι παραπάνω τεχνικές εφαρμόστηκαν σε τομές ιστοπαθολογικών παρασκευασμάτων και σε μικρές ποσότητες μολυσμένου νευρικού ιστού ύστερα από ηλεκτροφόρηση. Πρέπει να σημειωθεί ότι σε ιστολογικές τομές δεν είναι δυνατή η αντιδιαστολή της PrP^C από την PrP^{SC}. Επομένως η διαφορά είναι μόνον ποσοτική, επειδή το προσβλημένο κύτταρο πρέπει να έχει μεγάλα ποσά της PrP^{SC} και συνεπώς καθιλώνει περισσότερο τη χρωστική από ένα υγιές⁴⁴. Η τεχνική αυτή εφαρμόστηκε με επιτυχία στην ανίχνευση της PrP εκτός του νευρικού συστήματος και σε λεμφοκυτογόνους ιστούς σε πρόβατα με scrapie, για τη μελέτη της παθογένειας της νόσου, αλλά και στην προσπάθεια ανεύρεσης διαγνωστικής μεθόδου σε ζωντανά ζώα^{45,46}. Σύμφωνα με τους συγγραφείς⁴⁶ διαπιστώθηκε ότι η PrP στις αμυγδαλές βρισκόταν πάντα σε υψηλά επίπεδα, ενώ δεν ανιχνεύτηκε PrP σε λεμφοκυτογόνους ιστούς προβάτων που δεν παρουσίαζαν συμπτώματα της scrapie.

Ακριβέστερη φαίνεται ότι είναι η τεχνική του υβριδισμού κατά Western με τη χρήση αντισωμάτων. Με τη μέθοδο αυτή η ποσότητα του προσβλημένου ιστού που απαιτείται είναι πολύ μικρή 10-20 mg. Ο ιστός τοποθετείται σε ρυθμιστικό διάλυμα, ομοιογενοποιείται και ακολουθεί καθαρισμός με φυγοκέντρηση, επώαση με την προσθήκη πρωτεΐνης K επί μία ώρα στους 37°C, διακοπή της επίδρασης της πρωτεΐνης K με την προσθήκη Pefabloc, εμφάνιση σε ειδικά ρυθμιστικά διαλύματα, βρασμός, φυγοκέντρηση και ηλεκτροφόρηση. Σ' όλη την παραπάνω διαδικασία, η κυτταρική PrP (PrP^C) διασπάται και απομακρύνεται, ενώ παραμένει η παθολογική PrP (PrP^{SC}) ως ανθεκτικότερη στις πρωτεάσες. Με την ηλεκτροφόρηση πολυακρυλαμίδης η PrP^{SC} εμφανίζεται σε συγκεκριμένες ζώνες. Ακολουθεί μεταφορά των ζωνών αυτών σε μεμβράνη νιτροκυτταρίνης και πάνω σ' αυτήν εφαρμόζεται η μέθοδος της υπεροξειδάσης- αντιυπεροξειδάσης για τη σήμανση της PrP^{SC}⁴⁷.

Με τη μέθοδο αυτή και σε σύγκριση με άλλες γνωστές πρωτεΐνες είναι δυνατό να εκτιμηθεί το μοριακό βάρος της PrP^{SC} και οι διαφορές ή οι ομοιότητες, που υπάρχουν μεταξύ των PrP^{SC} των διαφόρων νοσημάτων, της ομάδας των σπογγιόμορφων εγκεφαλοπαθειών ή παραλλαγών τους^{48,49}.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΜΕΤΑΔΟΣΗ ΤΗΣ BSE ΣΤΑ ΒΟΟΕΙΔΗ ΚΑΙ ΑΛΛΑ ΕΙΔΗ ΖΩΩΝ

Η BSE μεταδόθηκε πειραματικά σε βοοειδή με ενδοεγκεφαλική έγχυση εναιωρήματος μολυσμένου εγκεφάλου και σε ποντικούς με βρώση μεγάλης ποσότητας μολυσμένων ιστών^{50,53}. Πειραματική μόλυνση επιτεύχθηκε και στους χοίρους, αλλά μόνον ύστερα από τη χορήγηση υψηλών λοιμογόνων δόσεων, που χορηγήθηκαν, ταυτόχρονα, από πολλές οδούς μόλυνσης⁵⁴. Σπογγιόμορφες εγκεφαλοπάθειες παρόμοιες με την BSE παρατηρήθηκαν σε ζώα των ζωολογικών κήπων (αντιλόπες), όταν διατράφηκαν με ζωοτροφές, που περιείχαν κρεατάλευρα και οστεάλευρα, προερχόμενα από μολυσμένα μηρυκαστικά^{55,57}. Η ίδια παθολογική κατάσταση παρατηρήθηκε και στις γάτες^{58,59}.

Ακόμα η BSE μεταδόθηκε στους πιθήκους και στα πρόβατα^{22,23}. Η τελευταία περίπτωση της μετάδοσης της BSE στα πρόβατα θεωρήθηκε ιδιαίτερα ανησυχητική, εξαιτίας της πιθανότητας της προσβολής πολλών κοπαδιών από την BSE στη Μ. Βρετανία αλλά και σε άλλες χώρες, η οποία εκλαμβάνεται ως scrapie.

Επιπρόσθετα, θα πρέπει να αναφερθεί ότι διάφορα είδη ζώων, τα οποία έρχονται σε επαφή με το βλαπτικό παράγοντα της BSE και δεν αναπτύσσουν τη νόσο, είναι δυνατό να λειτουργήσουν ως αποθήκες του βλαπτικού παράγοντα. Η κατανάλωση ιστών των παραπάνω ζώων θα μπορούσε να μεταδώσει την BSE σε άλλους οργανισμούς⁶⁰.

ΣΥΝΤΟΜΗ ΑΝΑΦΟΡΑ ΣΤΙΣ ΣΠΟΓΓΙΟΜΟΡΦΕΣ ΕΓΚΕΦΑΛΟΠΑΘΕΙΕΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ

Η νόσος των Creutzfeldt-Jacob (CJD) θεωρείται νόσος των ηλικιωμένων ατόμων, έχει παγκόσμια διασπορά και γίνεται αντιληπτή εξαιτίας των κινητικών ανωμαλιών και της άνοιας που προξενεί^{13,15}. Πιστεύεται ότι η παθολογική αυτή κατάσταση, που εμφανίζεται σε ποσοστό περίπου 1 περιστατικό ανά εκατομμύριο πληθυσμού το έτος, οφείλεται κατά ένα ποσοστό 10-15% σε κληρονομικούς παράγοντες. Επιπρόσθετα, η νόσος αυτή μπορεί να μεταδοθεί με τη μεταμόσχευση κερατοειδούς χιτώνα, με τη χορήγηση ανθρώπινης αυξητικής ορμόνης, με την αποκατάσταση του τυμπάνου του ωτός από τμήμα σκληρής μήνιγγας και με ανεπαρκώς αποστειρωμένα νευροχειρουργικά εργαλεία και ηλεκτρόδια^{1,61}.

Υπάρχουν μαρτυρίες σχετικά υψηλού ποσοστού προσβολής από την CJD (30 περιπτώσεις ανά εκατομμύριο πληθυσμού το έτος) σε κλειστούς πληθυσμούς (Εβραίοι με Λιβυκή καταγωγή), που στις ιδιαίτερες γαστρονομικές τους προτιμήσεις περιλαμβάνεται το κεντρικό νευρικό σύστημα των αιγών και των προβάτων¹. Επίσης, υψηλό ποσοστό (500 περιστατικά ανά εκατομμύριο πληθυσμού το έτος) παρατηρήθηκε σε περιοχές της Σλοβακίας και Ουγγαρίας^{61,62}.

Η νόσος των Gerstmann-Straeussler-Scheinker (GSS)

εμφανίζεται με αταξία και άλλα συμπτώματα, οφειλόμενα σε αλλοιώσεις της παρεγκεφαλίδας, ενώ στην οικογενειακή κακοήθη αιπνία (Fatal Familial Insomnia) παρατηρείται άνοια, η οποία ακολουθείται από αιπνία. Οι δύο αυτές παθολογικές καταστάσεις αφορούν συνήθως μεσήλικους και σύμφωνα με τον Prusiner¹⁵, φαίνεται ότι οφείλονται κατ' εξοχήν σε γενετικούς παράγοντες.

Η νόσος Kuru εντοπίστηκε στους ορεισίβιους ιθαγενείς των νήσων Παπούα της Νέας Γουίνεας και χαρακτηριζόταν από αταξία και άνοια⁶³. Η ενδημική αυτή νόσος φαίνεται ότι οφειλόταν στον τελετουργικό κανιβαλισμό, στον οποίο επιδίδονταν κυρίως οι γυναίκες και τα παιδιά, τρώγοντας τους εγκεφάλους των νεκρών. Η Kuru σήμερα έχει σχεδόν εξαφανιστεί, επειδή εγκαταλείφθηκε το έθιμο.

ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ ΚΑΙ ΠΙΘΑΝΟΙ ΚΙΝΔΥΝΟΙ ΑΠΟ ΤΗΝ BSE

Από την εμφάνιση της σπογγιομορφης εγκεφαλοπάθειας των βοοειδών το 1985 και τη διαπίστωση ότι αυτή μεταδόθηκε στα βοοειδή με την τροφική αλυσίδα, υπήρχε και υπάρχει διάχυτη ανησυχία στους επιστημονικούς κύκλους ότι η νόσος αυτή θα μπορούσε να προσβάλει και τον άνθρωπο.

Η περισσότερη αισιόδοξη άποψη δέχεται ότι η πιθανότητα αυτή είναι πολύ μικρή και στηρίζεται στο γεγονός ότι: α) η scrapie των αιγών και των προβάτων υπάρχει σε αρκετές περιοχές του πλανήτη μερικές εκατονταετίες και τα ποσοστά των σπογγιομορφων εγκεφαλοπαθειών στον άνθρωπο είναι στις περιοχές αυτές όμοια με εκείνα των περιοχών, όπου η scrapie απουσιάζει. β) Οι σπογγιομορφες εγκεφαλοπάθειες δεν αποτελούν επαγγελματικές νόσους των ανθρώπων που ασχολούνται με τα ζώα και το κρέας τους^{46,64}.

Την αξιοπιστία της αισιόδοξης αυτής άποψης έρχεται να μετριάσει η παρατήρηση ότι, σε πληθυσμούς που καταναλώνουν το κεντρικό νευρικό σύστημα των αιγών και των προβάτων (Εβραίοι της Λιβύης), το ποσοστό της CJD είναι σχετικά υψηλό. Ακόμα θα πρέπει να αναφερθεί ότι τα τελευταία χρόνια πέθαναν από CJD δύο κτηνοτρόφοι, που στις αγέλες τους είχαν ζώα προσβλημένα από την BSE. Το παραπάνω γεγονός δεν συνδέθηκε με κανένα τρόπο με την BSE, αλλά η κατάσταση απαιτεί παρακολούθηση¹⁵.

Υπάρχει η άποψη ότι όταν κάποιος λοιμογόνος παράγοντας αλλάξει ξενιστή, δηλαδή υπερπηδήσει τον ειδικό φραγμό μεταξύ των ειδών, αυτός μεταβάλλει τις ιδιότητές του και μπορεί να μολύνει περισσότερα είδη ξενιστών⁶⁵. Η άποψη αυτή είναι ιδιαίτερα απαισιόδοξη και θεωρεί ότι ο προκείμενος βλαπτικός παράγοντας (PrP^{Sc}), μετά την προσαρμογή του στα βοοειδή, θα μπορούσε να είναι λοιμογόνος και για τον άνθρωπο^{48,51,66-69}.

Τι είναι όμως ο ειδικός φραγμός μεταξύ των ειδών;

Στην προκείμενη περίπτωση ο φραγμός αυτός μεταφράζεται βιολογικά στο βαθμό ομοιότητας ή μη της ακολουθίας των αμινοξέων της PrP των διαφόρων ειδών¹⁵. Έχει αποδειχθεί ότι η PrP του προβάτου διαφέρει σε επτά (7) θέσεις από εκείνη των βοοειδών. Η PrP των βοοειδών διαφέρει σε περισσότερες από τριάντα (30) θέσεις από εκείνη του ανθρώπου. Επομένως, θεωρητικά είναι ευκολότερη η υπερπήδηση του φραγμού και η μετάδοση του βλαπτικού παράγοντα από τα πρόβατα στα βοοειδή, από ό,τι από τα βοοειδή στον άνθρωπο. Υπάρχει, όμως, πάντα ο προβληματισμός ότι είναι δυνατό συγκεκριμένα τμήματα του μορίου της PrP να είναι περισσότερο σημαντικά για το σπάσιμο του ειδικού φραγμού μεταξύ των ειδών, από ότι άλλα τμήματα της ακολουθίας των αμινοξέων της PrP. Στην περίπτωση που υπάρχει ομοιότητα σ' αυτά τα κρίσιμα τμήματα, μπορεί θεωρητικά να είναι ευκολότερη η μετάδοση του βλαπτικού παράγοντα, δηλαδή η μετατροπή της PrP^C σε PrP^{Sc}, έστω και αν στο σύνολό της η ακολουθία των αμινοξέων της PrP διαφέρει σημαντικά¹⁵.

Όλα τα παραπάνω αποτελούν θεωρητικούς προβληματισμούς, οι οποίοι όμως ενισχύονται από αρκετά πειραματικά δεδομένα.

Με τις γνώσεις που σωρεύτηκαν πάνω στο πρόβλημα της BSE στο διάστημα που διέρρευσε από την εμφάνισή της μέχρι σήμερα και ομολογουμένως με την παράκαμψη πολλών αντιρρήσεων των επίσημων αρχών της Μ. Βρετανίας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης, λήφθηκαν ορισμένα μέτρα για τον εντοπισμό του προβλήματος, τον περιορισμό του και την κατά το δυνατό καλύτερη προστασία των καταναλωτών. Τα μέτρα αυτά αναγράφονται στον πίνακα 3.

Αναφορικά με τη διαδρομή της νόσου και τα μέτρα που λήφθηκαν μπορούμε να επισημάνουμε ότι η Μ. Βρετανία μετά το χαρακτηρισμό της νόσου ως ανεξάρτητης νοσολογικής οντότητας (1986), τον εντοπισμό των κρουσμάτων αυτής σε πολλές αγέλες και σε διάφορες περιοχές της χώρας, καθώς και την ενοχοποίηση των κρεαταλεύρων και οστεαλεύρων για τη μετάδοσή της, προέβη στην υποχρεωτική δήλωση της νόσου (21-6-88). Επίσης απαγόρευσε τη χορήγηση των παραπάνω αλεύρων στη διατροφή των βοοειδών (18-7-88). Παράλληλα, για να γίνει πρακτικά εφικτή η δήλωση και η απόσυρση των προσβλημένων βοοειδών, θεσπίστηκε αποζημίωση ίση με το 50% της αξίας των ζώων. Το μέτρο αυτό ήταν ανεπαρκές και έτσι η αποζημίωση ανήλθε στο 100% της αξίας των ζώων (14-2-90).

Στο χρονικό αυτό διάστημα δημιουργήθηκε ένα τεράστιο δίκτυο σ' όλη τη χώρα, ώστε οι εγκεφαλοι των ύποπτων ζώων να φθάνουν με ασφάλεια στο Κεντρικό Κτηνιατρικό Εργαστήριο του Βρετανικού Υπουργείου Γεωργίας στο Weybridge του Surrey, όπου και γινόταν η διάγνωση της νόσου. Παράλληλα, στο παραπάνω εργαστήριο και αλλού, διενεργήθηκε έρευνα πάνω στη BSE και προς διάφορες κατευθύνσεις.

Πίνακας 3. Προφυλακτικά μέτρα κατά της BSE

Χρονολογία	Επίσημη Αρχή	Εντοπισμός - Καταπολέμηση - Προφύλαξη
1981/82	Μ. Βρετανία	Η πιθανή έναρξη της μόλυνσης με τα κρεατάλευρα και τα οστεοάλευρα.
1985	»	Πρωτοεμφάνιση της νόσου.
1986	»	Διάγνωση της νόσου.
21/6/1988	»	Υποχρεωτική δήλωση της νόσου.
18/7/1988	»	Απαγόρευση χορήγησης κρεαταλεύρων- οστεαλεύρων στα βοοειδή και αποξημίωση των δηλούμενων θετικών για την BSE ζώων στο 50% της αξίας τους.
13/11/1989	»	Απαγόρευση της χρήσης παραπροϊόντων σφάγιων βοοειδών για την παραγωγή εδώδιμων προϊόντων.
14/2/1990	»	Αποξημίωση των δηλούμενων θετικών για BSE ζώων στο 100% της αξίας τους.
10/9/1990	»	Απαγόρευση χορήγησης κρεαταλεύρων και οστεαλεύρων από μηρυκαστικά στους χοίρους και στα πτηνά.
10/7/1991	Ευρωπαϊκή Ένωση	Εισήγηση για την απαγόρευση της εξαγωγής από τη Μ. Βρετανία παραπροϊόντων σφάγιων βοοειδών στις χώρες της ΕΕ.
7/7/1994	»	Εισήγηση για την απαγόρευση της χορήγησης στα βοοειδή κρεαταλεύρων και οστεαλεύρων που προέρχονται από σφάγια και νεκρά μηρυκαστικά.
29/7/1994	»	Εισήγηση για την απομάκρυνση των νεύρων και των λεμφαδένων από το αποστεωμένο κρέας των βοοειδών της Μ. Βρετανίας που εξάγεται σε χώρες της ΕΕ.
20/3/1996	SEAC*	Υπέβαλε έκθεση στη Βρετανική Κυβέρνηση, στην οποία βεβαιώνεται η πιθανότητα μετάδοσης της BSE στον άνθρωπο.
22/3/1996	Ευρωπαϊκή Ένωση	Εισήγηση για την απαγόρευση της εξαγωγής από τη Μ. Βρετανία βοοειδών και προϊόντων τους.
22/7/1996	»	Πρόταση για εισήγηση αναφορικά με την απομάκρυνση και καταστροφή της κεφαλής σφάγιων προβάτων και αιγών.

*(Spongiform Encephalopathy Advisory Committee-SEAC = Συμβουλευτική Επιτροπή για τις Σπογγιόμορφες Εγκεφαλοπάθειες)

Ο βλαπτικός παράγοντας της BSE και άλλων σπογγιόμορφων εγκεφαλοπαθειών διαπιστώθηκε εκτός από το κεντρικό νευρικό σύστημα και πριν από τη μόλυνσή του, σε λεμφοκυτογόνα όργανα, τα οποία θεωρήθηκαν ως η πρώτη εντόπιση στον προσβλημένο οργανισμό. Αποτέλεσμα αυτού ήταν η απαγόρευση της χρήσης των παραπροϊόντων των σφάγιων βοοειδών στην παραγωγή εδώδιμων προϊόντων (13-11-89).

Άλλες ερευνητικές προσπάθειες κατέδειξαν ότι η BSE μπορεί να μεταδοθεί πειραματικά σε άλλα είδη ζώων. Ακόμα θεωρήθηκε πιθανό ότι ζώα που λαμβάνουν μολυσμένα από την BSE κρεατάλευρα και οστεάλευρα και δεν νοσούν, ίσως αποτελούν αποθήκες του βλαπτικού παράγοντα, ο οποίος μπορεί να προσβάλει άλλα είδη και τον άνθρωπο. Ύστερα από τα παραπάνω, απαγορεύτηκε στη Μ. Βρετανία η χορήγηση των αλεύρων που αναφέρθηκαν στους χοίρους και στα πτηνά (10-9-90).

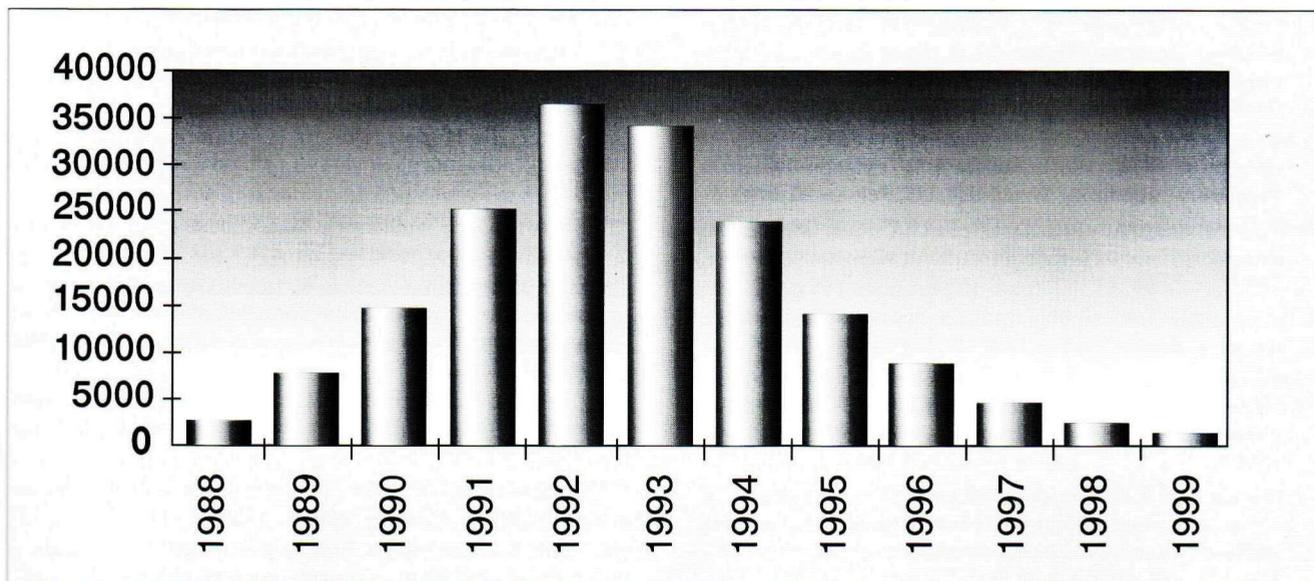
Τα κρούσματα της BSE παρουσίασαν ανοδική πορεία, όπως άλλωστε αναμενόταν, εξαιτίας της χρόνιας διάρροιας της (πίνακας 4).

Η Ευρωπαϊκή Ένωση μέσω της Επιστημονικής Κτηνιατρικής Επιτροπής εισηγήθηκε την απαγόρευση της εξαγωγής από τη Μ. Βρετανία παραπροϊόντων βοοειδών στις χώρες της ΕΕ (10-7-91) και έτσι ευθυγραμμίστηκε με

προηγούμενη απόφαση της Μ. Βρετανίας να μη χρησιμοποιούνται τα παραπροϊόντα αυτά για την παρασκευή εδώδιμων προϊόντων.

Στα επόμενα χρόνια αυξήθηκε η ανησυχία για την πιθανή μετάδοση της BSE στον άνθρωπο. Η Ευρωπαϊκή Ένωση εισηγήθηκε την απαγόρευση της χορήγησης στα βοοειδή της Κοινότητας προϊόντων από νεκρά ή σφάγια μηρυκαστικών (7-7-94). Ακόμα, για μεγαλύτερη προστασία των καταναλωτών, εισηγήθηκε την απομάκρυνση των νεύρων και των λεμφαδένων από το αποστεωμένο κρέας των βοοειδών της Μ. Βρετανίας που εισάγονταν στις χώρες της ΕΕ (29-7-94).

Η ανησυχία όμως των επιστημόνων, αλλά και του καταναλωτικού κοινού, κορυφώθηκε, όταν έγινε γνωστό ότι στη Μ. Βρετανία παρατηρήθηκε μια νέα παραλλαγή της νόσου των Creutzfeldt - Jacob σε νεαρά άτομα⁷⁰. Τα έτη 1994 και 1995 απεβίωσαν από την παραπάνω νόσο 10 και περισσότερα άτομα, νεότερα των 45 ετών, ύστερα από μακροχρόνια νόσο, που διαρκούσε μέχρι και 2 έτη. Η συμπτωματολογία της νέας νόσου διέφερε από την κλασική CJD, στην οποία δεσπόζουν οι κινητικές ανωμαλίες. Στην προκειμένη περίπτωση παρατηρήθηκαν βαριές ψυχικές διαταραχές, όπως εκρήξεις οργής, παραισθήσεις και παράνοια.

Πίνακας 4. Βεβαιωμένες περιπτώσεις BSE ανά έτος και προβλέψεις για τα έτη 1996-1999.

*Από το πρόγραμμα εκρίζωσης της BSE στη Μ. Βρετανία.

Ιστοπαθολογικά διαπιστώθηκαν οι χαρακτηριστικές αλλοιώσεις, που παρατηρούνται σ' όλες τις σπογγιόμορφες εγκεφαλοπάθειες.

Μελέτες μοριακής ανάλυσης με τη μέθοδο του υβριδισμού κατά Western με αντισώματα έδειξαν ότι η PrP^{Sc}, που παρατηρήθηκε στα νεαρά αυτά άτομα, ομοιάζε με την PrP^{Sc}, που προέρχεται από βοοειδή με BSE, όταν αυτή μεταφέρεται σε ποντικούς, γάτες και πιθήκους^{48,49}. Όπως αναφέρεται στις παραπάνω εργασίες, οι ασθενείς αυτοί δεν εκτέθηκαν, με κάποιο ιατρογενή τρόπο, στην PrP^{Sc} και συμπεραίνουν ότι θα πρέπει να μολύνθηκαν από μολυσμένους με την BSE ιστούς βοοειδών, πριν από την απαγόρευση τηςσιμοποίησης των παραπροϊόντων των βοοειδών στη διατροφή (13-11-89).

Πρέπει να σημειωθεί ότι εξαιτίας της εμφάνισης της νέας αυτής παραλλαγής της CJD η Βρετανική Συμβουλευτική Επιτροπή για τις Σπογγιόμορφες Εγκεφαλοπάθειες (Spongiform Encephalopathy Advisory Committee - SEAC) υπέβαλε στη Βρετανική Κυβέρνηση έκθεση, στην οποία βεβαιώνεται η πιθανότητα μετάδοσης της BSE στον άνθρωπο (20-3-96).

Κατόπιν των παραπάνω η Ευρωπαϊκή Ένωση εισηγήθηκε την απαγόρευση της εξαγωγής από τη Μ. Βρετανία βοοειδών και προϊόντων τους (22-3-96).

Με την έκθεση της SEAC υποχώρησαν αρκετές αντιρρήσεις σχετικές με τον υπαρκτό κίνδυνο από την BSE. Επιπρόσθετα, επειδή η BSE, όπως αποδείχτηκε, μπορεί να μεταδοθεί σε άλλα ζώα και ιδιαίτερα στα πρόβατα και

στις αίγες²³, υπάρχει το ενδεχόμενο αρκετά από τα πρόβατα της Μ. Βρετανίας και άλλων χωρών να είναι προσβλημένα από BSE, η οποία εκλαμβάνεται ως scrapie. Στα πλαίσια αυτά, για την καλύτερη προστασία των καταναλωτών, η Ευρωπαϊκή Ένωση προτιμάται να εισηγηθεί την απομάκρυνση και καταστροφή της κεφαλής των σφάγιων των προβάτων και των αιγών (22-7-96). Η Μ. Βρετανία αποφάσισε (24-7-96) να εφαρμόσει αμέσως το παραπάνω μέτρο. Παρόμοιο μέτρο έχει εφαρμοστεί από αρκετούς μήνες στη Γαλλία και γρήγορα θα πρέπει να εφαρμοστεί και σε όλες τις χώρες της ΕΕ.

Συμπερασματικά, θα πρέπει να λεχθεί ότι υπάρχουν πλέον βάσιμες ενδείξεις ότι η μετάδοση της BSE στον άνθρωπο είναι εφικτή με την τροφική αλυσίδα και ίσως με τη χρησιμοποίηση άλλων προϊόντων, τα οποία περιέχουν συστατικά που θα μπορούσε να προέρχονται από μολυσμένα μηρυκαστικά (καλλυντικά, σαπούνια, φάρμακα κλπ.). Για το λόγο αυτό και για όσο καιρό ο βλαπτικός παράγοντας PrP^{Sc} δεν μπορεί να αδρανοποιηθεί, ώστε να καταστεί ακίνδυνος, θα πρέπει να τηρούνται από τις επίσημες αρχές τα προφυλακτικά μέτρα, που αναφέρονται στον πίνακα 3 και αναπτύχθηκαν αμέσως παραπάνω. Επιπρόσθετα, θα πρέπει να ενημερωθούν οι καταναλωτές για το βαθμό επικινδυνότητας των διαφόρων ιστών των σφάγιων των μηρυκαστικών. Οι ιστοί και ειδικότερα τα όργανα, που θα μπορούσαν να είναι επικίνδυνα για τον καταναλωτή είναι: ο εγκέφαλος, ο νωτιαίος μυελός, οι οφθαλμοί, το έντερο, τα λεμφογάγγλια, ο σπλήνας, και ο θύμος αδένας. Το κρέας, και το γάλα θεωρούνται ασφαλέστερα τρόφιμα.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Southwood R, Epstenn MA, Martin WB, et al. Report of the Working Party of Bovine Spongiform Encephalopathy. Department of Health Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, UK, 1989
2. Bradley R. Introduction to pathology procedures. Ανακοινώθηκε στο E.C. Workshop on BSE diagnosis, Central Veterinary Laboratory, Weybridge, UK, July 16-20, 1990
3. Wells G, Scott A, Johnson C, et al. A novel progressive spongiform encephalopathy in cattle. Vet Rec 1987, 121: 419-420
4. Morgan KL. Bovine spongiform encephalopathy: time to take scrapie seriously. Vet Rec 1988, 122: 445-446
5. Walker KD, Hueston WD, Scott Hurd H, et al. Comparison of bovine spongiform encephalopathy risk factors in the United States and Great Britain JAVMA 1991, 199: 1554-1561
6. Kimberlin RH. Strategies for the control and prevention of bovine spongiform encephalopathy (BSE) and for minimising any risks to public health. Ανακοινώθηκε στο Meeting of the Scientific Veterinary Committee, January 8th, 1990
7. Παπαδόπουλος Ο. Σπογγώδης εγκεφαλοπάθεια των βοοειδών (BSE) νεότερα δεδομένα για την επιδημιολογία της νόσου. Ανακοινώθηκε στο 7ο Πανελλήνιο Κτηνιατρικό Συνέδριο 28η Νοεμβ.-1η Δεκεμβ. 1996
8. Anonymous. Animal salmonellosis. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. Annual Report 1985
9. Prusiner BS. Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. Science 1982, 216: 136
10. Rohwer RG. Scrapie infectious agent is virus-like in size and susceptability to inactivation. Nature 1984a, 308: 658-662
11. Kimberlin RH. Scrapie agent: prions or virions? Nature 1982, 297: 107-108
12. Kimberlin RH, Walker CA, Millson GC, et al. Disinfection studies with two strains of mouse passaged scrapie agent. J Neurol Sci 1983, 59: 355-369
13. Prusiner BS, Dearmoud SJ. Biology of disease: Prions causing nervous system degeneration Lab Invest 1987, 56: 349-363
14. Prusiner BS. Molecular biology of prion disease. Science 1991, 252: 1515-1522
15. Prusiner BS. The prion diseases. Scientific American 1995, p. 30-37
16. Pattison IH. Fifty years with scrapie: A personal reminiscence. Vet Rec 1988, 123: 661-666
17. Carp RI, Merz PA, Kascsak RJ, et al. Nature of the scrapie agent: current status of facts and hypotheses. J Gen Virol 1985, 66: 1357-1368
18. Meyer RK, Mckinley MP, Bowmam KA, et al. Separation and properties of cellular and scrapie prion proteins. Proc Nath Acad Sci USA 1986, 83: 2310
19. Advisory Committee on Dengerous Pathogens. Slow virus infections of the central nervous system (Appendix). Am. Sc. Microbiology, 1986
20. Mould DL, Dawson AM, Smith W. Scrapie in mice: stability of the agent to various suspending media, pH and solvent extraction Res Vet Sci 1965, 6: 151-154
21. Bellinger-Kawahara C, Cleaver J, Diener T, et al. Purified scrapie prions resist inactivation by UV radiation. J Virol 1987, 61: 159-166
22. Anonymous. Bovine spongiform encephalopathy in Great Britain. UK Progress report Nov. 1994. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food
23. Foster JD, Hope J, Frasert H. Transmission of bovine spongiform encephalopathy to sheep and goats. Vet Rec 1993, 133: 339-341.
24. Kimberlin RH, Walker CA. Pathogenesis of scrapie in mice after intragastric infection. Virus Res 1989, 12: 213-220
25. McBride PA, Eikelenboom, P, Kraal G, et al. PrP protein is associated with follicular dendritic cells of spleens and lymph nodes in uninfected and scrapie-infected mice. J Pathol 1992, 168: 413-418
26. Kimberlin RH, Walker CA. Pathogenesis of mouse scrapie: evidence for neural spread of infection to the CNS. J Gen Virol 1980, 51: 183-187
27. Kimberlin RH, Walker CA. The role of the spleen in the neuroinvasion of scrapie in mice. Virus Res 1989, 12: 201-212
28. Laszlo L, Lowe J, Self T, et al. Lysosomes as key organelles in the pathogenesis of prion encephalopathies. J Pathol 1992, 166: 333-341
29. Weissmann CA. A. "unified theory" of prion propagation. Nature 1991, 349: 569-571
30. Brown P, Goldfarb LG, Gajdsek DC. The new biology of spongiform encephalopathy: infectious amyloidosis with a genetic twist. Lanset 1991, 337: 1019-1022
31. Cohen FE, Pan KM, Huang Z, et al. Structural clues to prion replication. Science 1994, 264: 530-531
32. Scott PR, Aldridge BM, Holmes LA, et al. Bovine spongiform encephalopathy in an adult British Friesian cow. Vet Rec 1988, 123: 373-374
33. Wilesmith JW, Wells GAH, Granwill MP, et al. Bovine spongiform encephalopathy: epidemiological studies. Vet Rec 1988, 123: 638-644
34. Anonymous. Duration of illness and age of affected animals. Report of the working party on bovine spongiform encephalopathy. Feb. 1989, Ministry of Agriculture, Fisheries and Food
35. Wells GAH. Neuropathology of BSE. Ανακοινώθηκε στο E.C. Workshop on BSE diagnosis, Central Veterinary Laboratory Weybridge, UK, July 16-20, 1990
36. Wells GAH, Hancock RD, Coodey WA, et al. Bovine spongiform encephalopathy: diagnostic significance of vacuolar changes in selected nuclei of the medulla oblongata. Vet Rec 1989, 125: 521-524
37. Jeffrey M. Fixation, neuroanatomy, artefacts and differential diagnosis of spongiform change in the central nervous system. Ανακοινώθηκε στο E.C. Work shop on BSE diagnosis, Central Veterinary Laboratory, Weybridge, UK, July 16-20, 1990
38. Καλδρυμίδου - Κουταλιανού Ε. Σπογγιόμορφη εγκεφαλοπάθεια των βοοειδών. ΔΕΚΕ 1991, 42: 187-190
39. Liberski PP. Ultrastructural neuropathologic features of bovine spongiform encephalopathy. JAVMA 1990, 196: 1982
40. Gilmour JS, Bruce ME, Mackellar A. Cerebrovascular amyloidosis in scrapie-affected sheep. Neuropathol Appl Neurobiol 1985, 11: 173-183

41. Merz PA, Somerville RA, Wisniewski HM. Abnormal fibrils from scrapie-infected brain. *Acta Neuropathologica (Berl)* 1981, 54: 63-74
42. Gibson PH, Somerville RA, Fraser H, et al. Scrapie associated fibrils in the diagnosis of scrapie in sheep. *Vet Rec* 1987, 120: 123-127
43. Scott AC, Done SH, Venables C, et al. Detection of scrapie-associated fibrils as an aid to the diagnosis of natural sheep scrapie. *Vet Rec* 1987, 120: 280-281
44. Miller JM, Jenny AL, Taylor WD, et al. Immunohistochemical detection of prion protein in sheep with scrapie. *J Vet Diagn Invest* 1993, 5: 309-316
45. Ikegami Y, Ito M, Isomura H, et al. Pre-clinical and clinical diagnosis of scrapie by detection of PrP protein in tissues of sheep. *Vet Rec* 1991, 128: 271-275
46. Keulen LJM, Schreuder BEC, Melen RH, et al. Immunohistochemical detection of prion protein in lymphoid tissues of sheep with natural scrapie. *J Clin Microb* 1996, 34: 1228-1231
47. Katz JB, Pedersen JC, Jenny AL, et al. Assessment of western immunoblotting for the confirmatory diagnosis of ovine scrapie and bovine spongiform encephalopathy (BSE). *J Vet Diagn Invest* 1992, 4: 447-449
48. Collinge J, Sidle KCL, Meads J, et al. Molecular analysis of prion strain variation and the aetiology of "new variant" CJD. *Nature* 1996, 383: 685-690
49. Aguzzi A, and Weissman C. A suspicious signature. *Nature* 1996, 383: 666-667
50. Anonymous. BSE transmission experiments in cattle and mice. Feb. 1990, Ministry of Agriculture, Fisheries and Food
51. Dawson M, Wells GAH, Parker BNJ. Preliminary evidence of the experimental transmissibility of bovine spongiform encephalopathy to cattle. *Vet Rec* 1990, 126: 112-113
52. Barlow RM, Middleton DJ. Dietary transmission of bovine spongiform encephalopathy to mice. *Vet Rec* 1990, 126: 111-112
53. Fraser H, McConnell I, Wells GAH, et al. Transmission of bovine spongiform encephalopathy to mice. *Vet Rec* 1988, 123: 472
54. Storts RW. Central nervous system (scrapie). In *Special Veterinary Pathology* 2nd ed, Mosby New York, 1995: 376-378
55. Jeffrey M, Wells GAH. Spongiform encephalopathy in a Nyala (*Tragelaphus angasi*) *Vet Pathol* 1988, 25: 398-399
56. Fleetwood A, Furley CW. Spongiform encephalopathy in an eland. *Vet Rec* 1990, 126: 408-409
57. Kirkwood JK, Wells GAH, Wilesmith JW, et al. Spongiform encephalopathy in an arabian oryx (*Oryx leucoryx*) and a greater Kudu (*Tragelaphus strepsiceros*) *Vet Rec* 1990, 127: 418-420
58. Leggett MM, Dukes J, Pirie HM. A spongiform encephalopathy in a cat. *Vet Rec* 1990, 127: 586-588
59. Wyatt JM, Pearson GR, Smerdon TN, et al. Naturally occurring scrapie-like spongiform encephalopathy in five domestic cats. *Vet Rec* 1991, 129: 233-236
60. Anonymous. The transmission of bovine spongiform encephalopathy. Feb 1989, Ministry of Agriculture, Fisheries and Food
61. Taylor DM. Bovine spongiform encephalopathy and human health. *Vet Rec* 1989, 125: 413-415
62. Goldfarb LG, Mitroua E, Brown P, et al. Mutation in codon 200 of scrapie amyloid protein gene in two clusters of Creutzfeldt-Jakob disease in Slovakia. *Lancet* 1990, 336: 515-525
63. Gajdusek DC, Zigas V. Degenerative disease of the central nervous system in New Guinea. The endemic occurrence of "Kuru" in the native population. *N Engl J Med* 1957, 257: 974-978
64. Mathew SW, Will RG. Creutzfeldt-Jakob disease in a lifelong vegetarian. *Lancet* 1981, 2: 237
65. Gibbs CJ, Gajdusek DC. Experimental subacute spongiform virus encephalopathies in primates and other laboratory animals. *Science* 1973, 182: 67-68
66. Andrews AH. Bovine spongiform encephalopathy. Letter. *Vet Rec* 1990, 226: 608
67. Brooks S. Bovine spongiform encephalopathy. Letter. *Vet Rec* 1990, 126: 608
68. Gibson PH. Bovine spongiform encephalopathy. Letter. *Vet Rec* 1990, 126: 608
69. Reilly WJ, Cartwright J. Bovine spongiform encephalopathy. *Vet Rec* 1990, 127: 114
70. Will RG, Ironside JW, Zeidler M, et al. A new variant of Creutzfeldt - Jakob Disease in the UK. *Lancet* 1996, 347: 921-925