

## DIAGNOSE VAN HET TWEEDE TSE-GEVAL BIJ EEN SCHAAP MET EEN SCRAPIERESISTENT GENOTYPE IN BELGIË

*Diagnosis of the second Belgian TSE case in a sheep with a scrapie resistant genotype*

H. De Bosschere<sup>1</sup>, S. Roels<sup>1</sup>, P. Dechamps<sup>2</sup>, M. De Filette<sup>3</sup>, E. Vanopdenbosch<sup>1</sup>

<sup>1</sup> National Reference Laboratory for Veterinary TSEs,  
Centrum voor Onderzoek in de Diergeneeskunde en Agrochemie (CODA), Departement Biocontrole  
Groeselenberg 99, B-1180 Brussel (Ukkel)

<sup>2</sup> Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen (FAVV),  
WTC III, Simon Bolivarlaan 30, B-1000 Brussel

<sup>3</sup> DMBR, Universiteit Gent - VIB, FVSM Building, Technologiepark 927, B-9052 Gent (Zwijnaarde)

### SAMENVATTING

Scrapieresistentie en -gevoeligheid worden genetisch gecontroleerd. De gevoeligheid bij de ontwikkeling van natuurlijke en experimentele scrapie is voornamelijk gebonden aan polymorfismen in het schapenprionproteïne (PrP) gen op de posities 136 (V-A), 154 (R-H) en 171 (Q-R-H). De allelen VRQ en ARQ zijn verbonden met een hoge gevoeligheid voor scrapie, terwijl de allelen ARR en AHQ verbonden zijn met een lage gevoeligheid voor scrapie. De selectie van scrapieresistente (ARR/ARR) schapen is tegenwoordig één van de belangrijkste doelstellingen van de schapenfokorganisaties.

In verschillende EU-lidstaten raakten gedurende de laatste 2 jaar nieuwe gegevens bekend over TSE-gevallen bij schapen met TSE-resistente genotypen, waaronder de Nor98-stam en andere atypische TSE-gevallen met het ARR-allel. Deze bevindingen kunnen grote gevolgen hebben voor de nationale fokprogramma's in de verschillende EU-lidstaten.

Dit is de beschrijving van het tweede natuurlijk, atypisch TSE-geval bij een schaap met een scrapieresistent genotype (ARR/ARQ) in België. Eerder werd reeds een geval met genotype ARR/ARR gediagnosticeerd. Beide dieren hadden een Nor98-like western blot patroon. Door het continu opduiken van nieuwe, "atypische" TSE-gevallen bij schapen met scrapieresistente genotypen, komen het doel en het nut van de gevestigde fokprogramma's onder grote druk te staan.

### ABSTRACT

Scrapie resistance and susceptibility in sheep are genetically controlled. The occurrence of natural and experimental scrapie has been linked to polymorphisms of the sheep's prion protein (PrP) gene at position 136 (V-A), 154 (R-H) and 171 (Q-R-H). The ovine alleles VRQ and ARQ seem to be related to a higher susceptibility, while the alleles ARR and AHQ coincide with a low susceptibility to scrapie infection. Selection of sheep with scrapie-resistant genotypes (ARR/ARR) is currently one of the most important objectives of the sheep breeding associations. During the last 2 years, however, new data has become available relating to TSE cases in TSE-resistant sheep in several EU member states, including the Nor98 strain and other atypical TSE cases carrying the ARR allele. However, these findings could have major implications for the national breeding programs in several EU member states.

The present paper describes the second natural atypical TSE case in a sheep with a scrapie-resistant genotype (ARR/ARQ) detected via active surveillance in Belgium, in addition to the previously detected ARR/ARR case. The Western Blot pattern of both sheep corresponds with that of the Nor98 strain. The continued appearance of new "atypical" TSE cases in sheep with scrapie-resistant genotypes undermines the purpose and efficacy of the breeding programs.

## INLEIDING

Scrapie werd voor het eerst beschreven in de 18de eeuw (McGowan, 1922) en is de stamvorm van overdraagbare spongiforme encefalopathieën (TSEs) of prionziekten bij schapen en geiten. Daarnaast zijn er ook nog boviene spongiforme encefalopathie (BSE) bij runderen en de ziekte van Creutzfeldt-Jakob bij mensen (review door Prusiner, 1997). Deze aandoeningen worden gekenmerkt door progressieve, neurodegeneratieve veranderingen in de hersenen (Jeffrey *et al.*, 2002). De pathogenese wordt ingeleid door een omzetting van het normale proteasegevoelige prionproteïne, PrP<sup>c</sup>, in een abnormale partieel proteaseresistente isoform, PrP<sup>res</sup>, die progressief wordt opgeslagen in het centrale zenuwstelsel van aangetaste dieren (Prusiner 1982; Büeler *et al.* 1993).

Meerdere studies hebben aangetoond dat scrapieresistentie en -gevoeligheid genetisch gecontroleerd worden (Hunter, 1997; Jeffrey *et al.*, 2002). De aminozuurvariëaties op positie 136 (valine (V) en alanine (A)), 154 (arginine (R) en histidine (H)) en 171 (glutamine (Q), arginine (R) en histidine (H)) van het schapenprionproteïne hebben invloed op de scrapiegevoeligheid van natuurlijke en experimentele scrapie-infecties (Belt *et al.*, 1995; Hunter, 1997; Jeffrey *et al.*, 2002). Schapen met de allelencombinaties V<sub>136</sub>R<sub>154</sub>Q<sub>171</sub> en A<sub>136</sub>R<sub>154</sub>Q<sub>171</sub> zijn gevoeliger voor de ontwikkeling van scrapie dan dieren met de allelencombinaties A<sub>136</sub>R<sub>154</sub>R<sub>171</sub> en A<sub>136</sub>H<sub>154</sub>Q<sub>171</sub> (Hunter, 1997; EFSA, 2003; Madec *et al.*, 2004). Hierdoor is de selectie van scrapieresistente (ARR/ARR) schapen tegenwoordig één van de belangrijkste doelstellingen van de schapenfokorganisaties (Peelman en Van Poucke, 2003).

Gedurende de laatste 2 jaar werden er echter nieuwe gegevens gepubliceerd over TSE bij schapen met TSE-resistente genotypen zoals twee gevallen van natuurlijke TSE bij ARR/ARR-schapen in Duitsland (Bushmann *et al.*, 2004b), de geslaagde experimentele transmissie van BSE bij ARR/ARR-schapen met een hoge infectiedosis intracerebraal (Houston *et al.*, 2003) en positieve gevallen van TSE bij scrapieresistente schapen in het Verenigd Koninkrijk (EFSA, 2003), die echter niet bevestigd konden worden met de toenmalige klassieke confirmatietesten. Andere recent gepubliceerde studies, (Buschmann *et al.*, 2004a, 2004b; Madec *et al.*, 2004; Orge *et al.*, 2004) beschrijven enkele TSE-positieve schapen in Duitsland, Frankrijk en Portugal die drager waren van het ARR-allel, waaronder een ARR/ARR-schaap in Portugal. Ook bij de Nor98-scrapiestam werden reeds scrapiepositieve schapen met AHQ- en ARR-allelen beschreven (Benestad *et al.*, 2003; Moum *et al.*, 2004).

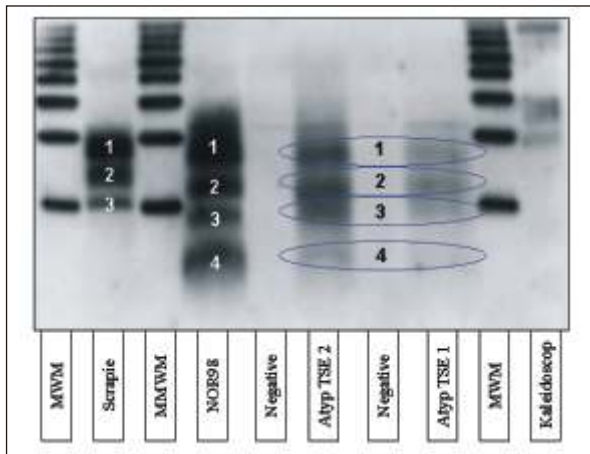
Bij het ontwikkelen van scrapieresistentiefokprogramma's werd ervan uitgegaan dat schapen met het ARR- of ARH-allel ofwel geen scrapie zouden ontwikkelen gedurende hun leven, ofwel dat ze de aandoening pas zouden ontwikkelen na 70 maanden (Andréoletti *et al.*, 2000; van Keulen *et al.*, 1996). Deze bevindingen steunen op de veronderstelling dat scrapiegeïnfecteerde schapen met genetisch scrapieresistente genotypen als gezonde dragers of als slechts licht aangetaste dieren in de populatie kunnen fungeren en die besmetten. De mogelijkheid van een dragerstatus werd reeds verondersteld in bepaalde knaagdiermodellen (Race *et al.*, 2001).

Deze bevindingen kunnen grote gevolgen hebben voor de nationale fokprogramma's in verschillende EU-lidstaten. De fokprogramma's hebben tot doel scrapie te eradiceren en het risico op blootstelling van de consument aan TSE te reduceren door de selectie van scrapieresistente genotypen in de nationale kudden.

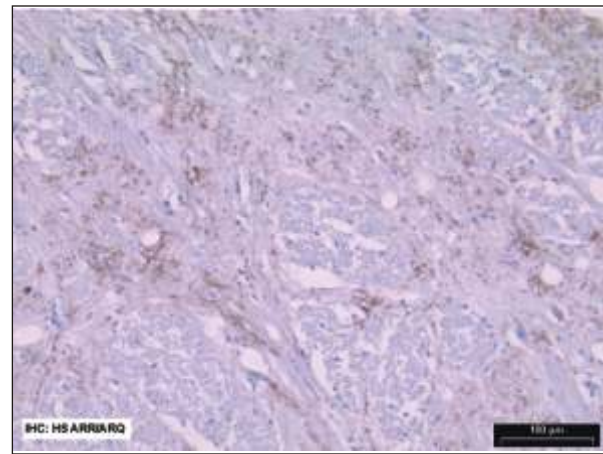
Dit is een beschrijving van het tweede natuurlijk, atypisch TSE-geval bij een schaap met een resistent genotype in België; het eerste beschreven TSE-geval was eveneens atypisch en kwam voor bij een ARR/ARR-schaap (De Bosschere *et al.*, in druk).

## CASUISTIEK

De Bio-Rad TSE-snelle test (Nazareth, Belgium) op de hersenstam (obex was niet herkenbaar) (Jacobs *et al.*, 2004) van een 10 jaar oude "fallen stock" (= gestorven dier, niet geschikt voor consumptie en verwerkt in vilbeluik) ooi (kruising Suffolk-Heidschnucke) gaf meermaals een positief resultaat : 0,902 – 0,886 – 0,878 – 1,092 (afhankelijk van het staal). Over de voorgeschiedenis van dit dier of het bedrijf was niets bekend. Toevallig was er ook een klein stukje cerebellum aanwezig in het staal. Een objectieve, histopathologische beoordeling van de hersenstam en kleine hersenen was onmogelijk, enerzijds door postmortale vacuolisatie en anderzijds door de afwezigheid van de specifieke "target areas" van TSE (t.t.z. obexregio). De western blot (= detection of PrP<sup>sc</sup> proteïne via electrophoretic migration and immunoblotting) (Bio-Rad WB Small Ruminants – sheep and goat, Nazareth, Belgium) was positief. Het bandenpatroon van dit geval (Atyp TSE 2) kwam overeen met dat van de Nor98-stam (Figuur 1), gekenmerkt door een 4<sup>de</sup> band ter hoogte van 12-14 kDa en is duidelijk verschillend van het bandenpatroon van klassieke scrapie (met slechts 3 banden). De SAF-test (= het aantonen van "Scrapie Associated Fibrils" via elektronenmicroscopie) was negatief. Immunohistochemie (IHC) op de hersenstam (Figuur 2) en de kleine hersenen met de polyklonale antistof R524-7 (ID



**Figuur 1.** Western blot patronen van een typische scrapie (lijn 2), gekenmerkt door 3 banden (1-2-3) en een Nor98 (lijn 4), gekenmerkt door 4 banden (1-2-3-4) als referentiepatroon vergeleken met Atyp. TSE 1 (lijn 8) en Atyp TSE 2 (het beschreven geval - lijn 6). Bemerk de gelijkenissen van het bandenpatroon van beide TSE gevallen (blauwe ovaal) met het Nor98 bandenpatroon.



**Figuur 2.** Immunohistochemie van de hersenstam met de monoklonale antistof 2G11 (Institut Pourquier, Montpellier, Frankrijk). Bemerk de bruine neerslag (= PrP<sup>sc</sup> => positieve reactie).

DLO, Lelystad, Nederland) en de monoklonale antistof 2G11 (Institut Pourquier, Montpellier, Frankrijk) toonden een matige tot sterke bruine neerslag respectievelijk ter hoogte van de hersenstam en de kleine hersenen (coupes met de antistof 2G11 reageerden iets sterker dan deze met antistof R524-7). Daarentegen kleurden coupes van de hersenstam negatief en coupes van de kleine hersenen lichtjes positief met de monoklonale antistof 12F10 (SPI BIO, Massy Cedex, Frankrijk). IHC van het lymfoïd weefsel (milt, tonsillen en mandibulaire lymfeknopen) waren negatief. Het genotype van het schaap was ARR/ARQ (herhaaldelijk geanalyseerd met “denaturizing gradient gel electrophoresis” (Bossers *et al.*, 1996) en RT-PCR (Renard *et al.*, accepted) op het hersenweefsel en bloed voor de codons 136, 154 en 171. De analyse van een bijkomend codon, namelijk 141, dat geassocieerd wordt met polymorfisme bij de Nor98-gevallen, gaf Leucine/Leucine. De rest van de kudde (n= 3) werd opgeruimd en gescreend voor TSE. De Bio-Rad TSE-snelle test van de 3 schapen was negatief. De histopathologie van de hersenen (obex, pons, middenhersenen, cerebrum en cerebellum) was negatief, alsook IHC van de obex, tonsillen en mandibulaire lymfeknopen van de drie andere schapen. De genotypen waren tweemaal ARQ/AHQ en eenmaal ARR/ ARQ.

## DISCUSSIE

De fokprogramma's die momenteel gevolgd worden, steunen op het feit dat schapen met scrapieresis-

tente genotypen resistent zijn tegen scrapie-infectie, maar deze veronderstelling gaat niet meer op met de recente bevindingen in Europa (Anonymous, 2004; Buschmann *et al.*, 2004a, 2004b; Orge *et al.*, 2004; Moum *et al.*, 2004) (EFSA, 2003; Baylis en McIntyre, 2004) (Tabel 1). De geslaagde experimentele transmissie van BSE na intracerebrale inoculatie bij ARR/ARR-schapen toont aan dat deze dieren geen absolute resistentie tegen TSE-besmetting vertonen. Er is echter nog geen abnormaal PrP gedetecteerd in het lymfoïd weefsel van een ARR/ARR-schaap. Dit kan een indicatie zijn dat deze schapen waarschijnlijk geen excretie van infectieus materiaal vertonen (Buschmann *et al.*, 2004b; EFSA, 2003), hetgeen het risico op horizontale scrapietransmissie binnen een kudde sterk reduceert (Buschmann *et al.*, 2004b). Dit gegeven kan verklaren dat in deze studies steeds slechts 1 positief dier werd gevonden in een positieve haard. Er werd aangenomen dat schapen met het ARR- of ARH-allel ofwel geen scrapie ontwikkelen, ofwel pas op hoge leeftijd scrapie ontwikkelen (Andréoletti *et al.*, 2000 ; van Keulen *et al.*, 1996). Het schaap dat in deze studie beschreven werd, was 10 jaar oud, terwijl klassieke scrapie reeds op veel jongere leeftijd optreedt. Daarentegen wordt de Nor98-stam vaak beschreven bij oudere dieren (Benestad *et al.*, 2003). Het is echter niet geweten waaraan het dier gestorven is (“fallen stock”), evenmin of het symptomen vertoonde (bijvoorbeeld ataxie).

Buschman *et al.* (2004a) suggereren dat er tegenwoordig tenminste drie verschillende scrapiefenotypen

**Tabel 1. Totaal aantal atypische gevallen in verschillende Europese lidstaten met bemerkingen betreffende Nor98 - en ARR-homozygote gevallen.**

EU-lidstaat	Aantal atypische gevallen	Opmerking bij de gevallen
Frankrijk	47	5 ARR/ARR
Verenigd Koninkrijk	87	14 ARR/ARR
Duitsland	42	50% TSE-gevallen 4 ARR/ARR
Portugal	25	Alle Nor98-like 4ARR/ARR
Zweden	6	Alle Nor98-like
Ierland	4	Alle Nor98-like 3 met klinische symptomen)
België	3	3 Nor98-like (1 ARR/ARR , 1 ARR/ARQ en 1 ARQ/ARQ)
Noorwegen	28	> 90%: Nor98 1 ARR/ARR

**Tabel 2. Polymorfismen van codon 141 bij de Belgische Nor98 gevallen.**

Genotype van codon 136, 154 en 171	Genotype van codon 141	Referentie
ARQ/ARQ	Fenylalanine / Leucine	De Bosschere <i>et al.</i> , 2004
ARR/ARR	Leucine / Leucine	De Bosschere <i>et al.</i> , in druk
ARR/ARQ	Leucine / Leucine	Het beschreven geval

bestaan binnen de Europese schapenpopulatie, dit wil zeggen "typische of klassieke" scrapie en twee atypische fenotypen (namelijk de Nor98stam en enkele scrapiegevallen met meer scrapieresistente genotypen).

Het is zeer belangrijk dat de aanwezigheid van TSE bij schapen met TSE-resistente genotypen onder natuurlijke omstandigheden geëvalueerd wordt door actieve opsporing en genotypering binnen de EU-populaties. Een constante toename van genetische resistentie tegen TSE's kan de incidentie van de klinische zieke TSE-gevallen doen afnemen, maar deze TSE-resistente dieren kunnen TSE-dragers blijven (subklinische ge-

vallen), de ziekte overdragen zonder symptomen te ontwikkelen of gevoelig zijn voor nieuwe, nog onbekende TSE-stammen (EFSA, 2003; Baylis en McIntyre, 2004). Doordat het ARR-haplotype binnen de Europese schapenpopulaties sterk aan het toenemen is, bestaat het gevaar dat de epidemiologie van een stam met een tropisme voor ARR-haplotypen erger is dan hetgeen ervaren werd in het verleden (Baylis en McIntyre, 2004). Als transmissiestudies aantonen dat de PrP<sup>res</sup>-deposities in die gevallen inderdaad infectieus zijn –in sommige preliminaire studies werd aangetoond dat dit zo is- en dat het mogelijk is dat deze infecties zich hori-

zontaal kunnen verspreiden onder natuurlijke omstandigheden, dan worden de schapengenotypering op grote schaal en de scrapieresistente fokprogramma's, die werden geïntroduceerd in verschillende EU-lidstaten gedurende de laatste 5 jaar, door deze bevindingen in vraag gesteld (Baylis en McIntyre, 2004; Buschmann *et al.*, 2004b). Een grondige herevaluatie van deze surveillanceprogramma's is nodig, als enkel obex of hersenstam wordt aanbevolen in de huidige actieve epidemiesurveillanceprogramma's, aangezien schapen met atypische TSE- of met meer TSE-resistente genotypen vroeger mogelijk niet gediagnosticeerd werden. Van deze atypische TSE-gevallen is geweten dat ze een duidelijkere histopathologie en IHC-reactie vertonen in andere regio's van de hersenen dan de obex (bijvoorbeeld in de kleine hersenen) (Buschmann *et al.*, 2004b), zoals bijvoorbeeld bij de Nor98-stam (Benestad *et al.*, 2003). In ons geval was de IHC-kleuring van de hersenstam lichter dan deze van de kleine hersenen met de oviene 2G11 en de polyklonale R524-7 antistof, zoals beschreven bij de Nor98 (Benestad *et al.*, 2003). Buschmann *et al.* (2004a) beschreven ook dat deze atypische TSE-gevallen die met de huidige, EU-erkende snelle testen gedetecteerd worden, aanleiding kunnen geven tot valsnegatieve resultaten, en dat de actuele cijfers van atypische TSE-gevallen en de prevalentie ervan onderschat worden.

Nor98-gevallen kunnen nog verder gekarakteriseerd worden aan de hand van polymorfismen ter hoogte van codon 141 (Leucine/Fenylalanine) met een voorlopig nog onbekende significantie ten opzichte van scrapie (Moum *et al.*, 2005) (Tabel 2).

Meer en meer worden TSE-gevallen beschreven bij schapen met scrapieresistente genotypen in meerdere EU-lidstaten. Voor België is dit reeds het tweede atypische TSE-geval bij schapen met een scrapieresistent genotype. Het eerste geval was een ARR-homozygoot dier (De Bosschere *et al.*, in druk). Beide dieren vertoonden een Nor98-like western blot patroon. Daarnaast werd er in België al eerder een Nor98-geval (De Bosschere *et al.*, 2004) beschreven.

#### DANKBETUIGING

Het personeel van het departement Biocontrole (J. De Sloovere, S. Durand, A. Chama, P. Van Muylem en R. Geeroms) wordt bedankt voor zijn technische assistentie.

#### REFERENTIES

- Andréoletti O., Berthon P., Marc D., Sarradin P., Grosclaude J., van Keulen L., Schelcher F., Elsen J.-M., Lantier F. (2000). Early accumulation of PrP<sup>Sc</sup> in gut-associated lymphoid and nervous tissues of susceptible sheep from a Romanov flock with natural scrapie. *Journal of General Virology* 81, 3115 -3126.
- Anonymous (2004). Reports on the monitoring and testing of ruminants for the presence of transmissible spongiform encephalopathy (TSE) in the EU in 2003, including the result of the survey of prion protein genotypes in sheep. Rep. 04-D-420525. *European Commission Health & Consumer Protection Directorate-General*, Brussels, 2004.
- Baylis M., McIntyre M. K. (2004). Scrapie control under new strain. *Nature* 432, 810 – 811.
- Belt P. B., Muileman I. H., Schreuder B. E., Bos-de Ruijter J., Gielkens A. L., Smits M. A. (1995). Identification of five allelic variants of the sheep PrP gene and their association with natural scrapie. *Journal of General Virology* 76, 509 – 517.
- Benestad, S., Sarradin, P., Thu, B., Schonheit, J., Tranulis, M., Bratberg, B. (2003). Cases of scrapie with unusual features in Norway and designation of a new type, Nor98. *The Veterinary Record* 153, 202 – 208.
- Bossers A., Schreuder B. E. C., Muileman I. H., Belt P. B. G. M., Smits M. A. (1996). PrP genotype contributes to determining survival times of sheep with natural scrapie. *Journal of General Virology* 77, 2669 – 2673.
- Bueler H., Aguzzi A., Sailer A., Greiner R. A., Autenried P., Aguët M., Weissmann C. (1993). Mice devoid of PrP are resistant to scrapie. *Cell* 73, 1339 – 1347.
- Buschmann A., Biacabe A.-G., Ziegler U., Benesik A., Madec J.-Y., Erhardt G., Lühken G., Baron T., Groschup M. H. (2004a). Atypical scrapie cases in Germany and France are identified by discrepant reaction patterns on BSE rapid tests. *Journal of Virological Methods* 117, 27 – 36.
- Buschmann A., Lühken G., Schultz J., Erhardt G., Groschup M. H. (2004b). Neuronal accumulation of abnormal prion protein in sheep carrying a scrapie-resistant genotype (PrP<sup>ARR/ARR</sup>). *Journal of General Virology* 85, 2727 – 2733.
- De Bosschere H., Roels S., Vanopdenbosch E., Benestad S. (2004). Scrapie case similar to Nor98 diagnosed in Belgium via active surveillance. *The Veterinary Record* 155, 707 – 708.
- De Bosschere H., Roels S., Dechamps P., Vandenopdenbosch E. (2005). TSE detected in a Belgian ARR-homozygous sheep via active surveillance. *The Veterinary Journal*, in druk.
- EFSA (2003). Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards on a request from the Commission related on the interpretation of results of EU surveillance of transmissible spongiform encephalopathies (TSEs) in ovine and caprine animals, culling strategies for TSEs in small ruminants and the TSE-related safety of certain small ruminant products. *The EFSA Journal* 12, 1-6.
- Houston F., Goldmann W., Chong A., Jeffrey M., González L., Foster J., Parnham D., Hunter N. (2003). BSE

- in sheep bred for resistance to infection. *Nature* 423, 498.
- Hunter N. (1997). PrP genetics in sheep and the implications for scrapie and BSE. *Trends in Microbiology* 5, 331–334.
- Jacobs C., Gabriel A., Simoens P. (2004). Correcte staalname bij herkauwers in het kader van het BSE/TSE-onderzoek. Studiedag BSE (6 oktober), Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent., Merelbeke, België.
- Jeffrey M., Begara-McGorum I., Clark S., Martin S., Clark J., Chaplin M., Gonzalez L. (2002). Occurrence and distribution of infection-specific PrP in tissues of clinical scrapie cases and cull sheep from scrapie-affected farms in Shetland. *Journal of Comparative Pathology* 127, 264–273.
- Madec J.-Y., Simon S., Lezmi S., Bencsik A., Grassi J., Baron T. (2004). Abnormal prion protein in genetically resistant sheep from a scrapie-infected flock. *Journal of General Virology* 85, 3483–3486.
- McGowan J. P. (1922). Scrapie in sheep. *Journal of Agriculture* 5, 365–375.
- Moum T., Olsaker I., Hopp P., Moldal T., Valheim M., Moum T., Benestad S. L. (2004). *Journal of General Virology* doi:10.1099/vir.0.80437-0.
- Orge L., Galo A., Machado C., Lima C., Ochoa C., Silva J., Ramos M., Simas J.-P. (2004). Identification of putative atypical scrapie in sheep in Portugal. *Journal of General Virology* 85, 3487–3491.
- Peelman L. J., Van Poucke M. (2003). Een eerste bepaling van de PRNP-genotypenfrequenties bij de voornaamste schapenrassen in België. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 72, 20–26.
- Prusiner S. B. (1982). Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. *Science* 216, 136–144.
- Prusiner S. B. (1997). Molecular biology of prion diseases. *Science* 252, 1515–1522.
- Race R., Raines A., Raymond G. J., Caughey B., Chesebro B. (2001). Long-term subclinical carrier state precedes scrapie replication and adaptation in a resistant species: analogies to bovine spongiform encephalopathy and variant Creutzfeldt-Jakob disease in humans. *Journal of Virology* 75, 10106–10112.
- Renard C, Fontaine S, Cuvelier P, Mullender C, Roels S. (accepted). Mise en evidences des polymorphismes du gene de la protéine prion dans le cadre de la détection d'animaux résistants à la tremblante par la techniques de reaction de polyérotation en chaine en temps reel pour deux exploitations belges déclarées positives aux encéphalopathies spongiformes transmissibles. *Annales de Médecine Vétérinaires*.
- Van Keulen L. J., Schreuder B. E., Meloen R. H., Mooij-Harkes G, Vromans M. E., Langeveld J. P. (1996). Immunohistochemical detection of prion in lymphoid tissues of sheep with natural scrapie. *Journal of Clinical Microbiology* 34, 1228–1231.

## Uit het verleden

### OPIUM VOOR HET (WERK)VOLK

#### Een veterinaire farmacoloog gaat zijn boekje te buiten

Destijds werd er in de geneeskunde en blijkbaar ook in de diergeneeskunde nogal losjes omgesprongen met opiumderivaten. Zo bestond er een Paregorisch Elixir (*paregoricus*: verlichtend) op basis van 60% alcohol dat naast kamfer, benzoëzuur en anijsessence ook 0,5% opiumtinctuur bevatte.

In een Frans farmacologisch werk (P. Cagny. *Précis de Thérapeutique Vétérinaire*, Parijs 1892, p. 172) lezen we dat het een goed preparaat was, veel gebruikt in Engeland en aan te bevelen in de diergeneeskunde. Het was een kalmerend expectorans waarvan de werkzaamheid en de snelle werking erg geapprecieerd werden. Dr. Cagny raadde het aan tijdens de oogst bij werklieden die vooral in grote hitte dikwijls te kampen hadden met intestinale problemen. “En”, voegt de auteur eraan toe, “zonder mij op het humane terrein te willen begeven, meen ik toch te mogen zeggen dat het elixir succesvol was op de hoeven waar het op mijn aanbeveling gebruikt werd”.

Wie ooit de eindeloze korenvelden in Noord-Frankrijk gezien heeft, die destijds helemaal met de zeis moesten gemaaid worden, zal er geen seconde aan twifelen.

L. Devriese