



II-14585 der Beilagen zu den Stenographischen Protokollen
des Nationalrates XVIII. Gesetzgebungsperiode

BUNDESMINISTERIN

für Gesundheit, Sport und Konsumentenschutz
DR. CHRISTA KRAMMER

A-1031 Wien, Radetzkystraße 2
Telefon: 0222/711 72
Teletex: 322 15 64 BMGSK
DVR: 0649856

GZ 114.140/81-I/D/14/94

6653 /AB

1994-07-26

Herrn
Präsidenten des Nationalrates
Dr. Heinz FISCHER
Parlament
1017 Wien

zu 6768 /J
22. Juni 1994

Die Abgeordneten zum Nationalrat Petrovic, Freundinnen und Freunde haben am 1. Juni 1994 unter der Nr. 6768/J an mich beiliegende schriftliche parlamentarische Anfrage betreffend Rinderwahnsinn BSE; mögliche Gefahr für Mensch, Tier und Umwelt gerichtet.

Diese Anfrage beantworte ich wie folgt:

Zu Frage 1:

Sämtliche Entscheidungen der Kommission betreffend Maßnahmen zum Schutz gegen die Bovine Spongiforme Enzephalopathie (BSE) werden zunächst im Ständigen Veterinärausschuß diskutiert. Durch die Mitgliedschaft Österreichs in der EU bzw. den gegenwärtigen Status als "aktiver Beobachter" ist die Möglichkeit einer Mitwirkung in diesem Gremium an Maßnahmen, die zu einer weiteren Minimierung der Gefahr einer Verbreitung von Krankheitserregern führen, gegeben.

- 2 -

Initiativen, wie insbesondere diejenigen der Bundesrepublik Deutschland, die zu einer weiteren Verschärfung von Maßnahmen hinsichtlich BSE führen, werden die österreichische Unterstützung finden.

Die vor Inkrafttreten des Einfuhrverbotes aus Großbritannien nach Österreich importierten Rinder stehen bereits seit dem Jahre 1990 unter amtstierärztlicher Beobachtung.

Zu Frage 2:

Zur Verhinderung einer allfälligen Weiterverbreitung der BSE mit den genannten Produkten ist die Versendung von Blutserum und fötalem Kälberserum sowie von bestimmten Schlachtprodukten wie Thymusdrüsen, Milz, plazentarem Gewebe, Bauchspeicheldrüsen, Nebennieren, Hoden, Eierstöcken, Hypophysen und anderem lymphoiden Gewebe aus Großbritannien in das Gebiet anderer EU-Mitgliedstaaten verboten sowie die Einfuhr solcher Produkte aus Großbritannien nach Österreich nicht gestattet.

Blut und Blutbestandteile aus anderen Staaten müssen u.a. aus Rindern gewonnen werden, die aus Betrieben stammen, in denen der Verdacht auf Befall mit BSE nicht besteht und auch in den letzten vier Jahren nicht aufgetreten ist.

Nach dem mir zugänglichen Stand der Wissenschaft gibt es keine Hinweise dafür, daß durch die Verfütterung von tierischen Produkten außer Gehirnmaterial eine Übertragung von BSE möglich ist.

- 3 -

Eine Übertragung auf den Menschen durch Aufnahme von Muskelfleisch oder Milch scheint nach dem derzeitigen international anerkannten Stand der Wissenschaft jedenfalls ausgeschlossen zu sein.

Die wissenschaftliche Literatur zur BSE bzw. ihrer Übertragung ist sehr umfangreich. Als erster Überblick darüber sind dieser Anfragebeantwortung ein Artikel der deutschen Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten der Tiere mit ausführlicher Literaturliste sowie eine aktuelle Literaturübersicht zu BSE aus Heft 5/94 der "Berliner Münchner Tierärztlichen Wochenschrift" angeschlossen.

Zu Frage 3:

Hinsichtlich des Imports von Fleischwaren aus dem EU-Raum wird sich Österreich - wie auch die übrigen EU-Mitgliedsstaaten - an den jeweils gültigen EU-Regulativen für den innergemeinschaftlichen Handel mit Fleischerzeugnissen orientieren, wobei es gegenüber Großbritannien besondere Restriktionen gibt; eine Verschärfung dieser Restriktionen ist zu erwarten.

Zu Frage 4:

Aus Gebieten, die innerhalb der Gemeinschaft Verkehrsbeschränkungen hinsichtlich der Verbringung von lebenden Tieren bzw. daraus hergestellten Erzeugnissen unterworfen sind, ist eine Verbringung in andere Gebiete auf legalem Wege nicht möglich. Innerhalb der EU sind die Voraussetzungen für das

- 4 -

Entsprechen einer Sendung zum innergemeinschaftlichen Handelsverkehr gemäß den jeweils gültigen Regulativen durch den Amtstierarzt des Herkunftsbezirkes zu bestätigen.

Zu den Fragen 5 und 6:

Dem Bundesministerium für Gesundheit, Sport und Konsumentenschutz liegt eine taxative Liste von Produkten, die von Rindern stammende Bestandteile enthalten, nicht vor. Solche Bestandteile befinden sich in einer Reihe von Lebensmitteln.

Die Kennzeichnung von Lebensmitteln ist durch die Lebensmittelkennzeichnungsverordnung 1993 - LMKV, BGBl.Nr. 72, grundsätzlich abschließend geregelt (Umsetzung der EG-Etikettierungsrichtlinie 79/112 samt Änderungsrichtlinien).

Gemäß § 4 Z 7 leg. cit. sind die Zutaten (Bestandteile und Zusatzstoffe) grundsätzlich in absteigender Reihenfolge zu deklarieren. Eine zwingende - über die LMKV hinausgehende - rechtliche Regelung, einzelne Zutaten zu spezifizieren bzw. aufzuschlüsseln, ist nicht möglich und im speziellen Fall auch nicht erforderlich.

Eine freiwillige - wahrheitsgemäße - Deklaration, die Aufschluß darüber gibt, daß ein Lebensmittel zB frei von Rinderbestandteilen ist, ist hingegen jederzeit möglich.

Zu den Fragen 7 und 8:

In Österreich unterliegt jedes zur Schlachtung gelangende Rind der Schlachttier- und Fleischuntersuchung. Im Zuge dieser

- 5 -

Untersuchung wird jedes Rind auf Krankheitserscheinungen mit oder ohne Störung des Allgemeinbefindens sowie auf Erscheinungen einer anzeigepflichtigen Krankheit untersucht. Bei Nichtentsprechen wird die Erlaubnis zur Schlachtung nicht erteilt und werden die gemäß Tierseuchengesetz vorgeschriebenen Maßnahmen eingeleitet.

Rinder, die auf Grund zentralnervaler Störungen verendet sind oder getötet wurden, werden gleichfalls einer Untersuchung auf BSE unterzogen.

Zu Frage 9:

Die Kontrolle von Futtermitteln liegt im Vollzugsbereich des Bundesministeriums für Land- und Forstwirtschaft.

Zu den Fragen 10 und 11:

Fötales Kälberserum aus Großbritannien darf weder nach Österreich importiert noch in Österreich verwendet werden.

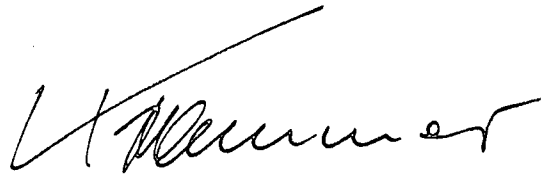
Auch für alle anderen Länder, wo gehäuft BSE-Fälle aufgetreten sind (z.B. Frankreich, Schweiz), werden keine Einfuhrbewilligungen für fötales Kälberserum und Serum von Rindern vergeben.

Die noch gegebene marginale Verwendung von fötalem Kälberserum im Rahmen der Aufbewahrung von Transplantaten wird noch einer kritischen Überprüfung auf ihre Notwendigkeit hin unterzogen werden.

- 6 -

Zu Frage 12:

Wissenschaftlich gesicherte, wesentlich neue Erkenntnisse über BSE sind kurzfristig eher nicht zu erwarten. Auf die Antwort zu Frage 2 wird verwiesen.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'U. Krummer', with a long horizontal stroke extending from the top of the first letter.

BELAGEN

Nr. 676818

1994-06-01

ANFRAGE

der Abgeordneten Petrovic, Freundinnen und Freunde

an die Bundesministerin für Gesundheit, Sport und Konsumentenschutz

betreffend Rinderwahnsinn BSE; mögliche Gefahr für Mensch, Tier und Mitwelt

Alarmierenden Medienberichten zufolge ist trotz des Verbotes der Fütterung von Tiermehl aus Tierkadavern an Wiederkäuer (Kühe) der Rinderwahnsinn im Vormarsch. Ein Zusammenhang mit Todesfällen bei Menschen (Creutzfeld-Jakobs-Syndrom) und bei Haustieren, die mit verseuchtem Dosenfutter gefüttert wurden, wird immer wahrscheinlicher. Als Ursache für das Krankheitsgeschehen werden winzigste Eiweiß-Partikel, sogenannte Prionen, vermutet. Das Krankheitsgeschehen kann auch durch stundenlanges Erhitzen bei sehr hohen Temperaturen nicht unterbunden werden, d.h. die Erreger erweisen sich als resistent gegenüber den herkömmlichen Sterilisierungsverfahren.

Erschwerend kommt hinzu, daß die Erkrankung, die sich als Schwammbildung im Gehirn manifestiert, nach der üblichen Schlachtung von Rindern mit dem Bolzenschuß-Gerät und nachfolgendem Blutentzug den Nachweis der Erkrankung schwer bis unmöglich macht. Eine zuverlässige Diagnose kann nur gestellt werden, wenn das Verhalten des lebenden Tieres, insbesondere die Bewegungskoordination vor der Schlachtung, eingehend beobachtet und geprüft wird. Im Frühstadium der Erkrankung ist aber selbst diese Diagnose durch Beobachtung angesichts der langen Inkubationsfristen nicht sicher. Insbesondere bei Jungtieren (Kälbern) bzw. bei anderen fleischliefernden Tieren besteht weiterhin die Möglichkeit einer Gefährdung von Mensch, Tier und Mitwelt. Als weiterer Risikofaktor kommt hinzu, daß Weiterverarbeitungsprodukte aus Knochen und Schlachtabfällen für eine Fülle von Nahrungsmitteln verwendet werden, so etwa Gelatine für Marmeladen und Süßwaren aller Art oder Schlachtabfälle für diverse Aromen. Angesichts der Resistenz der Erreger ist zweifelhaft, ob derartige Produkte tatsächlich sicher sind, insbesondere wenn im Zuge der Erweiterung von Märkten die Verteilungsradien für Produkte immer größer werden.

Die unterfertigten Abgeordneten stellen daher folgende

ANFRAGE:

1. Haben Sie gegenüber den EU-Behörden angezeigt, daß sie nach Ablauf der Übergangsfristen zumindest die selben Vorsichtsmaßnahmen (Importsperrn) ergreifen werden wie der deutsche Gesundheitsminister Seehofer? Wenn nein, wie rechtfertigen Sie dies?

2. Können Sie nach dem heutigen Stand der Wissenschaft im Lichte der aktuellen Verdachtsmomente hinsichtlich der enormen Resistenz der Erreger ausschließen, daß andere tierische Produkte als Tierkörpermehl, etwa Blutprodukte, fötales Kälberserum, Gelatine oder Derivate aus Schlachtabfällen, infektiös sein könnten? Auf welche wissenschaftliche Quellen (bitte genau anführen!) stützt sich Ihre Meinung?
3. Die wissenschaftliche Erforschung des Rinderwahnsinns bzw. seiner Übertragbarkeit auf Mensch und Tier befindet sich erst am Anfang. Angesichts der langen Inkubationszeiten und der Unmöglichkeit einer exakt kausalen Beweisführung ist binnen zwei Jahren kaum mit wesentlichen neuen wissenschaftlichen Erkenntnissen zu rechnen. Wie werden Sie sich in Zukunft hinsichtlich des Imports von Fleischwaren aus dem EU-Raum verhalten?
4. Werden Sie auch im Falle einer weiterhin nicht restlos abgeschlossenen Forschung sicherstellen, daß Fleischwaren und Produkte bzw. Produkte, die tierischer Herkunft sind und möglicherweise gefährlich sein könnten, vom Bundesgebiet ferngehalten werden? Wenn nein, wie rechtfertigen Sie dies?
5. Verfügt das Bundesministerium für Gesundheit über eine taxative Liste von Produkten, die von Rindern stammende Bestandteile (Fleischextrakte, Zubereitungen aus Knorpeln oder Blut, Gelatine bzw. aus Knochen gewonnene Substanzen) beinhalten? Wenn ja, werden Sie dafür Sorge tragen, daß sämtliche Produkte, die Rinderbestandteile enthalten, klar und für den Konsumenten deutlich erkennbar gekennzeichnet werden müssen? Wenn nein, wann werden Sie Veranlassungen zur umfassenden Produktkennzeichnung treffen?
6. Denken Sie an die Schaffung einer Produktkennzeichnung für Waren, die sicher frei von Rinderbestandteilen bzw. möglicherweise kontaminierten tierischen Substanzen sind? Wenn nein, wie rechtfertigen Sie dies als Konsumentenschutz-Ministerin?
7. Welche Gesundheitskontrollen bei Schlachttieren einerseits und bei sämtlichen Rinderprodukten andererseits werden derzeit durchgeführt? Wie groß sind die Stichproben in Relation zur Gesamtheit? Halten Sie die Kontrollmaßnahmen für ausreichend?
8. Werden sämtliche Schlachtrinder vor der Schlachtung auf Verhaltensauffälligkeiten getestet? Wenn nein, wie rechtfertigen Sie dies angesichts der Tatsache, daß nach konventioneller Schlachtung ein Nachweis des Rinderwahnsinns nahezu unmöglich ist?
9. Welche Kontrollen führen Sie durch, um sicherzustellen, daß bei Tierfutter für Wiederkäuer nicht doch Tierkörpermehl zum Einsatz gelangt?
10. Fötales Kälberserum spielt eine wesentliche Rolle in der Gentechnik, in der Transplantationsmedizin und im Zusammenhang mit Zellkulturen. Fötales Kälberserum wird in Österreich praktisch ausschließlich importiert. Welche Tests werden durchgeführt bzw. welche Sicherheitsgarantien für TransplantationspatientInnen etc. können Sie geben, daß dieses Kälberserum von BSE-freien Rindern stammt?

11. Die Gewinnung von fötalem Kälberserum ist nicht nur unsicher im Hinblick auf Krankheiten, sondern auch extrem grausam und ekelerregend. Die unterfertigte Abgeordnete konnte in Erfahrung bringen, daß synthetisch hergestellte Ersatzprodukte zum einen absolut sicher und zum anderen wesentlich besser zur Aufbewahrung von Transplantationsorganen sind. Wie verhält sich die Kostenrelation zwischen fötalem Kälberserum und den sicheren Ersatzprodukten? Warum gelangen sie in Österreich noch immer nicht flächendeckend zum Einsatz?
12. Werden Sie als Gesundheitsministerin demnächst einen Gesamtbericht über den Stand der Forschung und mögliche Gefahren durch BSE sowie über die Verbreitung von tierischen Bestandteilen in Produkten für den menschlichen Verzehr oder Gebrauch erstatten? Wenn nein, warum nicht?

Aus der Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten der
Tiere, Anstaltsteil Tübingen, Deutschland

**Molekularbiologische Grundlagen der übertragbaren
spongiformen Enzephalopathien**

von M. H. Groschup und V. Moennig

Schlüsselwörter: Scrapie, Bovine Spongiforme Enzephalopathie,
Prion, Epidemiologie, Pathogenese,
Diagnostik

Zusammenfassung:

Übertragbare spongiforme Enzephalopathien treten bei Schaf und Ziege (Scrapie), 'Rocky Mountain Elks and Deers' ('chronic wasting disease'), beim Nerz und beim Menschen (Kuru, 'Creutzfeld-Jakob-Krankheit', 'Gerstmann-Sträussler-Scheinker-Syndrom') auf. In Großbritannien führte die unbeabsichtigte Übertragung des Scrapie-Erregers auf das Rind in den frühen achtziger Jahren zu einer heute grassierenden Epidemie mit Verlusten von bisher über 110.000 Tieren. Die Erreger übertragbarer spongiformer Enzephalopathien sind gegenüber physikalischen und chemischen Einflüssen außerordentlich resistent. Sie werden als unkonventionelle Agenzien bezeichnet. Drei Theorien zur Erklärung ihrer Natur werden diskutiert: Die Virus-, die Virino- und die Prion-Theorie. Nach der wissenschaftlich bisher am besten belegten Prion-Theorie stellt eine pathologische Isoform eines körpereigenen Proteins, genannt Prion-Protein oder PrP, das infektiöse Agens dar. Physiologisches und pathologisches PrP unterscheiden sich nur hinsichtlich ihrer dreidimensionalen Struktur. Während der Infektion soll pathologisches PrP körpereigenes PrP mittels eines katalytischen Prozesses zur pathologischen Isoform umformen. Die molekularbiologischen Grundlagen und Mechanismen dieses vermuteten Umformungsprozesses werden besprochen.

Keywords: Scrapie, bovine spongiforme enzephalopathy, prion diseases, epidemiology, pathogenesis, diagnosis
Title: Molecular biology of transmissible spongiform encephalopathies

-2-

Summary:

Transmissible spongiform encephalopathies occur in sheep (scrapie), Rocky Mountain elks and deer (chronic wasting disease), mink and man (Kuru, Creutzfeld-Jacob disease, Gerstmann-Sträussler-Scheinker syndrome). In the early eighties the fortuitous transmission of the scrapie agent to cattle led to a fulminant epidemic in Great Britain with more than 110.000 losses so far. The agents of transmissible spongiform encephalopathies are extremely resistant to physical and chemical influences. Three hypotheses are discussed concerning their actual nature: The virus-, virino- and prion-hypothesis, respectively. According to the prion-hypothesis, the best-documented hypothesis so far, a pathologic isoform of a physiological protein, the prion protein or PrP, represents the infectious agent. Physiological and pathological PrP differ with respect to their three-dimensional structure only. It is postulated that during infection pathological PrP transforms physiological PrP catalytically to the pathological isoform. The molecular basis and mechanisms will be discussed.

Einleitung

Übertragbare spongiforme Enzephalopathien bei Mensch und Tier werden durch uns bisher nicht bekannte Erreger verursacht. Sie führen zu schwammartigen Degenerationen des zentralen Nervensystems, mit der Folge, daß das erkrankte Individuum unter nervösen Ausfallserscheinungen bis hin zur Paralyse verendet. Nach heutigem Wissensstand ist das Auftreten übertragbarer spongiformen Enzephalopathien auf bestimmte Spezies beschränkt. Unter bestimmten Umständen können die Erreger aber auch auf andere Spezies übertragen werden und dort ebenfalls zur letalen Erkrankung führen. Drei Faktoren spielen für eine erfolgreiche Infektion eine maßgebliche Rolle:

- die Menge des verabreichten Agens,
- die Applikationsart und
- die Spezies-Barriere.

Die Spezies-Barriere stellt sicherlich den die Übertragung am stärksten limitierenden Faktor dar. Je weiter zwei Spezies phylogenetisch voneinander entfernt sind, desto geringer ist die Wahrscheinlichkeit des "Überspringens" eines Erregers einer übertragbaren spongiformen Enzephalopathie von einer Spezies auf eine andere. Die Spezies-Barriere kann allerdings durch die intrazerebrale Injektion des Erregers bei fast allen Tierarten durchbrochen werden.

Vorkommen

Bisher traten übertragbare spongiforme Enzephalopathien natürlicherweise bei folgenden Spezies auf:

Scrapie der Schafe und Ziegen

Scrapie beim Schaf und der Ziege wurde vor über 250 Jahren erstmals beschrieben. Scrapie kommt heute in weiten Teilen der Welt sporadisch oder endemisch vor. In den letzten Jahren wurden Scrapie-Fälle in Großbritannien, Frankreich, den Niederlanden, Spanien, Portugal, Italien, Irland, Norwegen, Deutschland, Griechenland, Israel, Island, den Vereinigten Staaten und Argentinien bekannt. In Großbritannien ist vermutlich sogar ein Drittel aller Schafherden mit Scrapie infiziert (MORGAN et al., 1990). Der Scrapie-Erreger der Schafe und Ziegen wird vorwiegend perinatal über die Nachgeburt an erwachsene Tiere und neugeborene Lämmer übertragen (FOOTE et al., 1993). Die Tiere erkranken und verenden nach einer durchschnittlichen Inkubationszeit von 3-4 Jahren.

Bovine Spongiforme Enzephalopathie

Seit 1979 werden in britischen Tierkörperbeseitigungsanlagen Tierkadaver unter Bedingungen dekontaminiert, die eine sichere Abtötung der Scrapie-Erreger nicht mehr gewährleisten. In Anlagen, die achtzig Prozent aller in Großbritannien anfallenden Tierkörper bearbeiten, werden bis zum heutigen Tag die notwendigen Erhitzungswerte von 133°C bei 3 bar Dampfdruck über mindestens 20 Minuten nicht erreicht. Darüberhinaus wird vermutet, daß seit 1979 der Wirkungsgrad der Hitzebehandlung durch das Weglassen eines Extraktions-schrittes der Kadaver mit organischen Lösungsmitteln gemindert ist (LAMMING, 1992; WILESMITH et al. 1991). In Folge gelangte in Großbritannien ungenügend inaktiviertes, d.h. mit dem Scrapie-Erreger kontaminiertes Tiermehl in den Handel. Im Vereinigten Königreich wurden Tiermehle zu dieser Zeit als Kraftfutter zur Ergänzung des Grundfutters vorwiegend an Milchvieh und in geringerem Maße an Mastvieh verfüttert. Damit wurden britische Rinder seit Anfang der achtziger Jahre beträchtlichen Dosen des Scrapie-Agens ausgesetzt. Der massive Infektionsdruck auf die Rinder führte zum Überwinden der Speziesbarriere durch das Scrapie-Agens und zur Infektion des Rindes. Nach etwa 5 Jahren Inkubationszeit erkrankten die ersten Tiere an der bovinen spongiformen Enzephalopathie (BSE) (WILESMITH et al., 1991). Aus den Kadavern dieser Rinder wurde wiederum Tierkörpermehl hergestellt, das nun nicht nur mit Scrapie-, sondern in zunehmendem Maße auch mit dem an Rinder adaptierten BSE-Agens kontaminiert war. Diese Verfahrensweise führte bis zur Einführung des Verfütterungs-

- 4 -

verbots für Tiermehle an Wiederkäuer ab Juli 1988 zur massenhaften Infektion der britischen Rinderpopulation (WILESMITH et al., 1992). Bis heute verendeten im Vereinigten Königreich fast 110.000 Rinder an BSE. Wöchentlich kommen derzeit ca. 750 Fälle hinzu (ANONYM, 1993). Etwa 92,5% aller BSE-Fälle ereigneten sich bei Milchvieh, der Rest bei Mastvieh. Bis Herbst 1992 hatten 21,8% aller britischen Rinderbestände mindestens einen BSE-Fall (Stand 1.10.1992). Der prozentuale Anteil der Milchviehherden, in denen BSE aufgetreten ist, beträgt heute in Großbritannien 46%, der der Mastbestände liegt bei 10%. BSE ist vorwiegend eine Einzeltier Erkrankung, das heißt, in betroffenen Herden erkrankten durchschnittlich nur ca. 2,6% der Tiere (ANONYM, 1992). BSE-Fälle wurden außerdem in Nordirland (581 Fälle; Stand 15.1.1993) (HÖRNLIMANN, 1993), auf der Isle of Man, auf den Kanal-Inseln (Guernsey, Jersey) sowie auf den Falkland-Inseln (1 Fall) festgestellt. Die Tiere hatten sich zumeist durch aus England stammendes, kontaminiertes Tierkörpermehl infiziert. Bei dem auf den Falkland-Inseln an BSE erkrankten Rind handelt es sich um ein Tier aus England, das während der langen Inkubationszeit der Erkrankung dorthin verbracht worden war (LAMMING, 1992).

Außerhalb Großbritanniens erkrankten bisher 59 Rinder in Irland (Stand 15.1.1993), 5 Tiere in Frankreich und 44 Tiere in der Schweiz (Stand 1.12.93) (HÖRNLIMANN, 1993) an BSE. Der größte Teil dieser Tiere infizierte sich ebenfalls durch in Großbritannien hergestelltes Tierkörpermehl, bei nur einem kleinen Teil handelte es sich um eingeführte britische Rinder. Ferner erkrankten aus England importierte Rinder im Oman (1990 zwei Tiere) (LAMMING, 1992), in Dänemark (1992 ein Tier), in Portugal (1993 drei Tiere) und in Deutschland (1992 ein Tier).

Seit Juli 1988 ist in Großbritannien die Verfütterung von aus Wiederkäuerprotein hergestelltem Tierkörpermehl an Wiederkäuer verboten. Von dieser Maßnahme erwartet man, daß Tiere, die nach diesem Termin geboren wurden, nicht mehr mit dem infektiösen Agens in Kontakt kommen. Trotz des Verbots erkrankten bisher allerdings 4.853 Rinder an BSE (Stand 29.10.1993) (ANONYM, 1993), die nach diesem Termin geboren wurden. Britische Epidemiologen vermuten, daß diese Tiere durch von britischen Farmern irrtümlicherweise oder unter Mißachtung des Fütterungsverbots verfütteretes Tiermehl und nicht durch eine vertikale oder horizontale Übertragung des Erregers infiziert wurden. Genauere epidemiologische Erhebungen zur Ermittlung der Infektionsursache bei diesen Tieren werden zur Zeit in Großbritannien durchgeführt (DAWSON, 1993).

Übertragbare spongiforme Enzephalopathien bei anderen Tieren
Ausbrüche übertragbarer spongiformer Enzephalopathien bei Nerzen traten in den letzten fünfzig Jahren sporadisch in den Vereinigten Staaten auf. In den USA in Gefangenschaft gehaltene Rocky Mountain Mule Deers und Elks erkrankten seit 1967 sporadisch an der 'chronic wasting disease' (CWD), einer spongiformen Enzephalopathie, die ebenfalls übertragbar ist. Die Frage, ob die Erreger der transmissiblen Enzephalopathie der Nerze und der CWD vom Scrapie- oder BSE-Agens abstammen und wie sie in die Bestände gelangten, wird derzeit kontrovers diskutiert.

Aufgrund der weiten Verbreitung des BSE-Agens in Tiermehlen und dem daraus resultierenden Infektionsdruck kam es in Großbritannien bei Zootieren und Feliden zu Infektionen mit dem BSE-Agens. Erstaunlich war hierbei, daß nur das BSE-Agens nicht aber das ebenfalls im Tiermehl vorkommende Scrapie-Agens die Spezies-Barriere überwand. Bisher verendeten in britischen zoologischen Gärten Nyalas, Gamsböcke sowie Kudu-, Elen- und Oryxantilopen, die sich an BSE-kontaminierten Fleisch- und Knochenmehlen infiziert hatten (LAMMING, 1992). Bei Kudus konnte außerdem in vier Fällen eine vertikale Übertragung von der Mutter auf das Kalb nachgewiesen werden (CUNNINGHAM et al., 1993). Außerdem erkrankten in Großbritannien seit 1990 41 Hauskatzen an feliner spongiformer Enzephalopathie (FSE) (DAWSON, 1993; PEARSON et al., 1992) sowie in zoologische Gärten zwei Geparde und ein Puma (WILLOUGHBY et al., 1992). FSE wurde vor Auftreten der BSE-Epidemie nie beobachtet. Deshalb muß angenommen werden, daß das vom Erreger der Scrapie abstammende BSE-Agens durch den Wirtswechsel neue Eigenschaften erworben hat.

Die Transmissiblen Spongiformen Enzephalopathien des Menschen
Creutzfeld-Jacob Disease (CJD), Gerstmann-Sträussler-Scheinker-Syndrom (GSS) und Kuru sind die beim Menschen bekannten spongiformen Enzephalopathien. Die Ätiologie einiger dieser Erkrankungen ist inzwischen zumindest teilweise aufgeklärt. Die Infektion mit Kuru-Agens geschah bei Eingeborenen des Fore-Stammes auf Papua-Neuguinea durch die orale Aufnahme des Erregers, während ritueller Begräbniszeremonien (BROWN und GAJDUSEK, 1991). Rund fünf Prozent aller CJD-Fälle lassen sich auf eine parenterale Infektion mit CJD-Agens zurückführen (BROWN et al., 1987). Bei familiär gehäuft auftretenden GSS- und CJD-Fällen wurden verschiedene Mutationen im Erbgut gefunden, die eine Prädisposition für die Erkrankung darstellen (KRETZSCHMAR et al., 1992a; MYAZONO et al., 1992). Achtzig Prozent aller CJD-Erkrankungen treten allerdings spontan auf. Einige Wissenschaftler vermuten deshalb eine In-

- 6 -

fektion bisher unbekannten Ursprungs als Auslöser für diese Fälle. In epidemiologischen Untersuchungen konnte jedoch zwischen der Erkrankung beim Tier und beim Menschen kein Zusammenhang nachgewiesen werden. In Großbritannien und Frankreich, wo Scrapie schon seit über 250 Jahren endemisch auftritt, ist die Inzidenz an CJD genauso hoch wie in Australien, wo Scrapie seit 1945 nicht mehr vorkommt. In Frankreich kommen CJD-Fälle weder in Berufsgruppen mit intensivem Kontakt zu Schafen (Schafhirten, Fleischer) noch in der ländlichen Bevölkerung häufiger vor als in der Gesamtpopulation. CJD-Erkrankungen von Personen, die nachweislich nie Schaffleisch zu sich genommen haben, wurden ebenso berichtet wie der Fall einer Vegetarierin, die an CJD erkrankte (BROWN et al., 1987; BROWN u. CAJDOUSEK, 1991).

Physikalische, chemische und biologische Eigenschaften der unkonventionellen Agentien

Die Natur der Erreger spongiformer Enzephalopathien gibt nach wie vor Rätsel auf. Daß es sich um wahrhaft "unkonventionelle" Erreger handelt, zeigt ein Blick auf die ausgesprochen hohe Tenazität der Erreger, zu der es keine Parallele gibt (Tab. 1).

Der Erreger der Scrapie wurde als Prototyp aller anderen übertragbaren spongiformen Enzephalopathien bisher am eingehendsten untersucht und charakterisiert. Scrapie-Agens läßt sich für Untersuchungen nur im Versuchstier in ausreichenden Mengen vermehren. Gehirnmateriale infizierter Schafe enthält 10^6 Mäuse-infektiöse Einheiten (MIE) pro Gramm, das von Ziegen bis zu 10^7 MIE/g, während Hamster- und Mäusegehirne bis zu 10^{10} MIE/g enthalten können (HADLOW et al., 1979, 1980, 1982). Dagegen läßt sich Scrapie-Agens in der Pheochromocytom-Zelle PC-12 und der murinen Neoblastom-Zelle N2a nur zu Titern von bis zu 10^4 MIE vermehren. Durch die Untersuchungen an 'in vitro' infizierten Zellkulturen kann allerdings geklärt werden, wo in der Zelle die durch den Erreger ausgelösten pathologischen Prozesse stattfinden (BORCHELT et al., 1992).

Theorien zur Natur des infektiösen Agens

Seit Jahren werden bezüglich der Erreger der übertragbaren spongiformen Enzephalopathien drei Theorien kontrovers diskutiert:

Tabelle 1: Einfluß von chemischen und physikalischen Behandlungsschritten auf Scrapie-Agens (CHATIGNY u. PRUSINER, 1979; KIMBERLIN et al., 1983; ASHER et al., 1986).

Behandlung	Reduktion der Infektiosität (log 10)
<i>Chemische Einflüsse:</i>	
1 M NaOH	>6-7
Phenol-Extraktion	>6
100% Ameisensäure	>6
20% Na-Hypochlorid (entspr. 2% freiem Chlor)	>6
1 M KSCN oder NaSCN	5.7
8 M Harnstoff	>5
0.5% Na-Hypochlorid	4
0.01 M Na-Metaperjodat	4
1% SDS	2
3.7% Formaldehyd	2
2% Triton X-100	<1
5% Na-Deoxycholat	<1
1% N-Lauroyl-Sarkosin	<1
100% Ethanol	<1
100% Chloroform	<1
<i>Physikalische Einflüsse:</i>	
Autoklavieren 121°C/ 1h	>6-7
100°C/ 1h	3-4
80°C/ 1h	<1
Sterilisation 160°C/ 1h	>6
Bestrahlung: UV-Strahlen	hohe Resistenz
Ionisierende Strahlen	hohe Resistenz
<i>Enzymatische Behandlung:</i>	
Proteasen (Proteinase K, Ficin, Papain, Pronase, Trypsin)	<2
Glykosidase	<1
Nucleasen DNase	<1
RNase	<1
Lipase	<1

1. Die Virus-Theorie

Verfechter der Virus-Theorie glauben, daß der Erreger, bestehend aus Nukleinsäure und einer viruseigenen Proteinhülle auf einen empfänglichen Wirt trifft und selektiv an einen Rezeptor auf der Zelloberfläche bindet. Von diesem Rezeptor sollen in verschiedenen Geweben unterschiedliche Formen existieren. Vom Scrapie- und TME-Agens sind zahlreiche Stämme bekannt, die sich hinsichtlich ihrer Inkubationszeiten, der Lokalisation der von ihnen induzierten pathohistologischen Veränderungen und ihrer Klinik unterscheiden. Die Virus-Theorie versucht, die Existenz dieser Stämme durch vermutete bevorzugte Affinitäten zu bestimmten Rezeptorformen in verschiedenen Geweben zu erklären. Nach der Adsorption soll das Virus vermutlich zusammen mit dem Rezeptor in die Zelle aufgenommen werden und nach Jahren über die Nervenbahnen ins ZNS gelangen. Dort soll es zur Replikation der eigenen Nukleinsäure und der Translation der viruskodierten Proteine kommen. Daneben soll

die Infektion zur Bildung von Amyloid und von sogenannten 'Scrapie-associated fibrils' (SAFs) führen, die aus aggregiertem Prion-Protein bestehen und den Zelltod verursachen.

2. Die Virino-Theorie

Anhänger der Virino-Theorie glauben an eine prinzipiell ähnlich verlaufende Pathogenese. Allerdings nehmen sie an, daß die hypothetische virale Nukleinsäure nicht von viruseigenem, sondern von einem in seinen Eigenschaften veränderten zellulären Protein, dem Prion-Protein, umgeben ist. Dieses Protein wird als Amyloid oder SAFs in der pathologisch veränderten Zelle abgelagert. Damit bestünde der eigentliche Erreger lediglich aus einer nackten Nukleinsäure, die von zellulärem Protein umgeben und geschützt ist.

3. Die Prion-Theorie

Weder für die die Virus- noch für die Virino-Theorie gibt es wissenschaftlich fundierte Belege. Allerdings entsprechen beide Hypothesen am ehesten dem uns geläufigen Bild eines Infektionserregers und des dazugehörigen Pathogenitätsmechanismus. Die Prion-Theorie unterscheidet sich demgegenüber grundlegend, weil hier vom infektiösen Charakter eines Proteins ausgegangen wird.

Molekularbiologische Grundlagen der Erkrankung

Schon früh konnte gezeigt werden, daß sich bei der Aufreinigung des infektiösen Agens der übertragbaren spongiformen Enzephalopathien aus dem Gehirn erkrankter Menschen und Tiere eine Isoform eines zellulären Proteins, des sogenannten

- 9 -

Prion-Protein (PrP^{Sc}), zusammen mit der Infektiosität anreichert (HILMERT u. DIRINGER, 1984). Zelluläres PrP (PrP^{C}) ist ein membranständiges, Proteasen-sensitives Protein bisher unbekannter Funktion. Es wird in der Zelle ribosomal synthetisiert, im Golgi-Apparat modifiziert und auf die Zelloberfläche als 41-35 kDa großes Protein ausgeschleust (PRUSINER, 1991). Welche Funktion es dort erfüllt, ist bis heute unklar. Die Tatsache, daß es möglich ist, transgene $\text{PrP}^{0/0}$ - 'Knock-out' Mäuse herzustellen und zu vermehren, die keine körperlichen oder kognitiven Defizienzen gegenüber normalen Mäusen aufweisen, deutet darauf hin, daß PrP im gesunden Organismus entweder keine Funktion hat oder eine Funktion besitzt, die von anderen Proteinen oder Mechanismen im Körper übernommen werden kann (BUELER et al., 1992).

Demgegenüber liegt PrP^{Sc} als endosomal abgelagerte fibrilläre Struktur vor. Das Protein besitzt eine partielle Proteinase K-Resistenz, das heißt, das Enzym spaltet lediglich das erste Drittel der N-terminal-gelegenen Aminosäurekette ab. Nach der Proteasebehandlung verbleibt also ein Proteinfragment von 30-27 kDa, das gegenüber einer weiteren Behandlung hochresistent ist (PRUSINER, 1991). Der Nachweis dieses Proteinase K-resistenten Proteins in Gehirnextrakten verdächtiger Menschen und Tiere mittels Westernblot oder mittels der Elektronenmikroskopie (hier: SAF-Nachweis) besitzt diagnostische Bedeutung. Infektionsversuche mit $\text{PrP}^{0/0}$ - 'Knock-out' Mäusen ergaben, daß das PrP-Gen sowohl für den Ausbruch der Erkrankung als auch für die Vermehrung des Erregers erforderlich ist (BUELER et al., 1993). Da es sich bei dem PrP um ein körpereigenes zelluläres Protein handelt, werden bei der Infektion keine Antikörper gebildet. Damit ist eine herkömmliche Sero-diagnostik nicht möglich.

Nach der Prion-Theorie von S. Prusiner stellt die Modifikation von PrP^{C} zu PrP^{Sc} das Schlüsselereignis für die Vermehrung des infektiösen Agens dar. In der Vergangenheit wurden deshalb sowohl die pathologisch veränderte Isoform als auch die zelluläre Form eingehenden Untersuchungen unterzogen.

Aufbau des zellulären Prion-Proteins (PrP^{C})

Das PrP-Gen liegt im Genom des Menschen und des Hamsters jeweils nur als Einzelkopie vor und setzt sich aus zwei Exons mit einem eingeschobenen Intron zusammen. Der offene Leserahmen des PrP^{C} -Proteins umfaßt je nach Spezies, ca. 750 Nucleotide und befindet sich beim Hamster am 5'-Ende des zweiten Exons. Die bisher sequenzierten PrP-Gene verschiedener Spezies kodieren für 256 (Schaf, Nerz), 256 bzw. 264

- 10 -

(Rind), 254 (Maus, Hamster) oder 253 (Mensch) Aminosäuren. PrP^C kann bei fast allen bisher untersuchten Säugetierspezies als glykosyliertes Protein mit Molekulargewichten zwischen 30-40 kDa nachgewiesen werden. Die aus den Basensequenzen abgeleiteten Aminosäuresequenzen des PrP^C der bisher sequenzierten Spezies zeigen, daß es sich bei dem PrP um ein zwischen den Spezies in weiten Bereichen hochkonserviertes Protein handelt (KRETZSCHMAR et al., 1992b).

Vom PrP^C-Precursor des Hamsters wird posttranslational das N-terminale Signal-Peptid (22 Aminosäuren) abgespalten. Die letzten 20 C-terminalen Aminosäuren werden durch einen mittels Ethanolamin an die Aminosäure Serin (aa 231) gebundenen Glycosyl-Phosphatidyl-Inositol- (GPI) Anker ersetzt. Diese Ankersequenz kann in sechs verschiedenen Arten glykosyliert sein, wobei N-Acetylneuraminsäure und Mannose die Hauptbestandteile der Seitenkette bilden. PrP ist zweimal über Asparagin (aa 181 und aa 197) mit N-Acetyl-Glucosamin, Galaktose und Sialinsäure-haltigen Zuckerresten N-glykosyliert. Doppelt glykosyliertes PrP besitzt ein Molekulargewicht von 35-41 kDa, einfach glykosyliertes eines von 30 kDa, während das nicht glykosylierte PrP ca. 25 kDa groß ist. Als weitere posttranslationale Modifikation ist bekannt, daß die Cysteine bei aa 177 und aa 212 durch eine Disulfid-Brücke miteinander verbunden werden (PRUSINER, 1991).

Die Aminosäurekette des prozessierten PrP^C beim Hamster besteht aus charakteristischen Bereichen: N-terminal befinden sich zwei Hexapeptid- (aa 23- aa 39) und fünf Octa-'Repeats' (aa 40-90), die von einer Region mit hoher Aminosäurevariabilität (aa 90-105) bei allen bisher sequenzierten Spezies gefolgt wird. Im Anschluß folgt eine Alanin-reiche Sequenz (aa 105-120), die sich in 'in vitro' Studien als neurotoxisch erwies.

Wir konnten zeigen, daß Aminosäureaustausche in der Region mit hoher Variabilität erheblichen Einfluß auf die Konformation von PrP^C verschiedener Spezies besitzen (GROSCHUP u. PFAFF, 1993).

Aufbau der pathologischen Isoform des Prion-Proteins (PrP^{Sc})
Trotz vieler experimenteller Ansätze konnte bisher kein Unterschied zwischen PrP^C und PrP^{Sc} gefunden werden. Beide Formen besitzen gleiche Aminosäuresequenzen und die N-glykosidisch angehängten Zuckerketten und GPI-Ankersequenzen zeigen ähnliche massenspektrometrische Profile. Untersuchungen mittels Fourier-Transform-Infrarot-Spektrometrie zeigten, daß die abnormale Isoform vorwiegend aus β -Faltblatt-Strukturen

- 11 -

aufgebaut ist, während PrP^C vor allem aus α -Helices besteht. Man vermutet heute, daß dies durch eine Konformationsänderung im Bereich der Alanin-reichen Sequenz induziert wird (CARR, 1993; KINGMANN, 1993).

Sequenzen im N- und C-terminalen Bereichen sind bei der Umformung von PrP^C zu PrP^{Sc} vermutlich nicht beteiligt, da die Transfektion permanent Scrapie-infizierter muriner Neuroblastom-Zellen mit Plasmiden, die für ein Hamster PrP kodierten, dem diese Bereiche fehlten, trotzdem zur Bildung partiell Proteinase-K resistenten PrP^{Sc}s führte. Ob so "verkrüppeltes" PrP^{Sc} infektiös für Tiere ist, muß in weiteren Untersuchungen geklärt werden. Bei diesen Versuchen wurde die 'de novo' Synthese von Hamster PrP^{Sc} durch die Verwendung eines nur mit Hamster PrP reagierenden monoklonalen Antikörpers nachgewiesen, der mit einem Epitop bei aa 120-126 reagiert (SCOTT et al., 1993).

Forschungsprojekte der Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten zu den übertragbaren spongiformen Enzephalopathien

In der Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten (BFAV) wird die Frage der konformationspezifischen Unterschiede zwischen der zellulären und der pathologischen Isoform des PrP des Schafes untersucht. Strukturelle Veränderungen lassen sich mittels moderner physikalischer Methoden (Massenspektrometrie, röntgenkristallographische Untersuchungen oder 'Fourier-transform-infrared-spectrometry') oder mittels der immunochemischen Charakterisierung von Proteinen nachweisen. Bei dem in der BFAV begangenen Weg der immunochemischen Charakterisierung von PrP wird die Zugänglichkeit von Epitopen im Protein für spezifisch gegen die entsprechenden Aminosäuresequenzen gerichtete Antikörper untersucht. Epitope auf der Oberfläche des Proteins werden vom Antikörper detektiert, während die im Inneren verborgenen nicht mit ihm reagieren. Sollten zwischen der zellulären und der pathologischen Isoform strukturelle Unterschiede bestehen, so müßten sich die Antikörper-Bindungsmuster beider Isoformen an genau lokalisierbaren Stellen unterscheiden.

Zu diesem Zweck wurden Antiseren von Kaninchen und Hühnern gegen bisher 21 synthetische Peptide hergestellt, die Aminosäureteilsequenzen des gesamten Prion-Proteins des Schafes entsprechen. Erste Ergebnisse aus diesen Arbeiten zeigen, daß Unterschiede in der Konformation zwischen den mittels SDS-

- 12 -

PAGE aufgetrennten und auf Nitrozellulose übertragenen PrP-Isoformen bestehen.

Mit Hilfe der Anti-Peptidseren können außerdem Struktur und Antigenität zellulärer PrPs des Schafes mit denen anderer Spezies verglichen werden. Ziel dieser Untersuchungen soll es sein, Aufschlüsse über die mögliche Höhe der sogenannten Spezies-Barriere zu diesen Spezies zu erhalten. Neuere Untersuchungen mit transgenen Mäusen haben gezeigt, daß die Ähnlichkeiten in der Primär-, Sekundär- und Tertiärstruktur des PrP aus dem Inokulat im Vergleich zum PrP des Wirtes die Vermehrung des infektiösen Agens beeinflusst. Man vermutet eine homophile Interaktion, die zwischen beiden stattfindet (SCOTT et al., 1993). In der BFAV wurde zelluläres PrP von Rind, Schaf, Ziege, Schwein, Mensch, Hund, Katze, Hamster, Maus, Meerschwein, Kaninchen und Nerz chromatographisch partiell gereinigt und mit den unterschiedlichen Anti-Peptidseren auf ihre Bindungsfähigkeit getestet. Anhand der erhaltenen unterschiedlichen Reaktionsmuster konnten inzwischen Aussagen über antigenetische und strukturelle Verwandtschaftsgrade zwischen den PrPs dieser Spezies gemacht werden. Beispielsweise zeigt PrP vom Kaninchen nur geringe antigenetische und strukturelle Ähnlichkeit zu ovinem PrP; dieser Befund befindet sich in Übereinstimmung mit der Tatsache, daß das Kaninchen mit Scrapie-Agens nicht infizierbar ist.

Ein weiterer Schwerpunkt der BFAV auf diesem Gebiet ist die Durchführung der diagnostischen Untersuchung bei begründeten BSE- und Scrapie-Verdachtsfällen in Deutschland. In einem vom Bundesministerium für Landwirtschaft, Ernährung und Forsten geförderten Projekt wurde hierzu in den Jahren 1992 und 1993 der Immunoblot etabliert und hinsichtlich seiner Sensitivität optimiert. Ausgehend von den hierbei gemachten Erfahrungen sind wir nun bestrebt, ein einfaches, routinemäßig durchführbares Verfahren zur postmortalen Schnelldiagnostik am Schlachthof zu entwickeln.

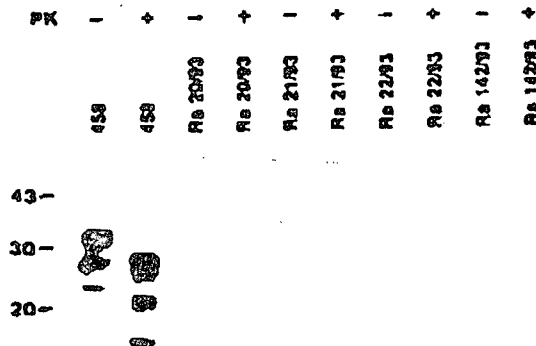
Ausblick

Die zukünftigen Forschungsarbeiten auf dem Gebiet spongiformer Enzephalopathien werden bestimmt von drei unterschiedlichen Fragenkomplexen:

1. Klärung der Natur der Erreger übertragbarer spongiformer Enzephalopathien und der pathogenetischen Vorgänge.
2. Etablierung einer 'intra vitam' Labordiagnose.
3. Klärung des Wirtsspektrums der Erreger unter besonderer Berücksichtigung einer Gefährdung des Menschen durch den Verzehr kontaminierter Lebensmittel.

- 13 -

Angesichts der ungewöhnlichen Eigenschaften der Erreger und der z.T. berechtigten Unruhe in der Bevölkerung ist es erforderlich, zielgerichtete Forschungsanstrengungen zu unternehmen. Gentechnische Methoden wie z.B. die Verwendung transgener Tiere werden dabei eine wichtige Rolle spielen.



As: Ra 2

Abbildung 1: Der diagnostische Nachweis BSE-assoziierten Prion-Proteins mittels Immunoblot bei BSE-Verdachtsfällen in Deutschland. Extrakte der Stammhirnproben der BSE-Verdachtsfälle Ra 20/93, Ra 21/93 und 142/93 wurden mittels Detergentien lysiert und mittels fraktioneller Ultrazentrifugation partiell gereinigt. Nach einer SDS-Polyacrylamidgel-Elektrophorese wurden die auf Nitrozellulose übertragenen Proteine mit spezifisch gegen bovines PrP gerichtetem Anti-Peptidserum auf Anwesenheit pathologischen Prion-Proteins (PrP^{BSE}) untersucht. PrP^{BSE} in der mitgeführten positiven Kontrollprobe eines in Großbritannien klinisch an BSE erkrankten Rindes färbt sich deutlich positiv, während in allen Verdachtsproben PrP^{BSE} nicht nachweisbar ist. Zur Überprüfung der Proteasen-Resistenz der Banden des pathologischen Proteins wurden alle Proben zusätzlich mit Proteinase K behandelt. Proteinase K degradiert zelluläres PrP vollständig, PrP^{BSE} aber nur partiell, wie deutlich an der Verringerung des Molekulargewichts der Bande der Kontrollprobe 458 zu ersehen ist.

Literatur

ASHER, D.M., GIBBS, C.J., GAJDUSEK, D.C. (1986): Slow viral infections: safe handling of the agents of subacute spongiform encephalopathies. In: Laboratory safety: Principles and practices. Miller, B.M. (Ed.). American Society for microbiology, S. 59-71.

ANONYM (1992): EG-Dokument VI/6568/92.EN. Bovine spongiform encephalopathy in the United Kingdom - a progress report to the EC's standing veterinary committee.

- 14 -

ANONYM (1993): BSE - further evidence of a decline in new cases. Vet. Rec. 132, 584.

BORCHELT, D.R., TARABOULOS, A., PRUSINER, S.B. (1992): Evidence for synthesis of scrapie prion proteins in the endocytic pathway. J. Biol. Chem. 267, 16188-16199.

BROWN, P. CATHALA, F., RAUBERTAS, R.F., GAJDUSEK, D.C., CASTAIGNE, P. (1987): The epidemiology of Creutzfeld-Jacob disease. Neurology 37, 895-904.

BROWN, P., GAJDUSEK, D.C. (1991): The human spongiform encephalopathies: Kuru, Creutzfeld-Jacob disease, and the Gerstmann-Sträussler-Scheinker syndrome. In: Current Topics in Microbiology and Immunology 172, Springer-Verlag Berlin-Heidelberg, S. 1-20.

BUELER, H., FISCHER, M., LANG, Y., BLUETHMANN, H., LIPP, H.-P., DeARMOND, S.J., PRUSINER, S.B., AGUET, M., WEISSMANN, C. (1992): Normal development and behaviour of mice lacking the neuronal cell-surface PrP. Nature 356, 577-582.

BUELER, H., AGUZZI, A., SAILER, A., GREINER, R.A., AUTENRIED, P., AGUET, M., WEISSMANN, C. (1993): Mice devoid of PrP are resistant to scrapie. Cell 73, 1339-1347.

CARR, K. (1993): A question of conformation. Nature 365, 386.

CHATIGNY, M.A., PRUSINER, S.B. (1979): Biohazards and risk assessment of laboratory studies on the agents causing the spongiform encephalopathies. In: Slow transmissible diseases of the nervous system. Vol. 2. Eds.: Prusiner, S.B., Hadlow, W.J.. Academic Press New York-London-Sydney-Toronto-San Francisco, S. 491-514.

CUNNINGHAM, A.A., WELLS, G.A.H., SCOTT, A.C., KIRKWOOD, J.K., BARNETT, J.E.F. (1993): Transmissible spongiform encephalopathy in a greater Kudu. Vet. Rec. 132, 68.

DAWSON, M., WELLS, G.A.H., PARKER, B.N.J., SCOTT, A.C. (1991): Transmission studies of BSE in cattle, hamsters, pigs and domestic fowl. In Subacute Spongiform Encephalopathies pp 25-32. Herausgeber R. Bradley, M. Savey & B. Marchant. Kommission der Europäischen Gemeinschaft. Kluwer Academic Press, The Netherlands.

DAWSON, M. (1993): Central Veterinary Laboratories, Weybridge, Großbritannien, persönliche Mitteilung.

- 15 -

POOTE, W.F., CLARK, W., MACIULIS, A., CALL, J.W., HOURRIGAN, J., EVANS, C., MARSHALL, M.R., DE CAMP, M. (1993): Prevention of scrapie transmission in sheep using embryo transfer. Am. J. Vet. Res. 54, 1863-1868.

GROSCHUP, M.H., PFAFF, E. (1993): Studies on a species-specific epitope in murine, ovine and bovine prion protein. J. Gen. Virol. 74, 1451-1456.

HADLOW, W.J., RACE, R.E., KENNEDY, R.C., EKLUND, C.M. (1979): Natural infection of the sheep with scrapie virus. In: S.B. Prusiner and W.J. Hadlow (eds.). Slow transmissible diseases of the nervous system. Vol. 2. Academic Press, New York, S. 331-356.

HADLOW, W.J., KENNEDY, R.C., RACE, R.E., EKLUND, C.M. (1980): Virologic and neurohistologic findings in dairy goats affected with natural scrapie. Vet. Pathol. 17, 187-199.

HADLOW, W.J., KENNEDY, R.C., RACE, R.E. (1982): Natural infection of Suffolk sheep with scrapie virus. J. Inf. Dis. 146, 657-664.

HILMERT, H., DIRINGER, H. (1984): A rapid and efficient method to enrich SAF-protein from scrapie brains of hamsters. Bioscience Reports 4, 165-170.

HÖRNLIMANN, B. (1993): Bundesamt für Veterinärwesen Bern, persönliche Mitteilung.

KIMBERLIN, R.H., WALKER, C.A., MILLSON, G.C., TAYLOR, D.M., ROBERTSON, P.A., TOMLINSON, A.H., DICKINSON, A.G. (1983): Disinfection studies with two strains of mouse-passaged scrapie agent. J. Neurol. Sci. 59, 355-369.

KINGMAN, S. (1993): Neurobiology - London Meeting explores the ins and outs of prions. Science 262, 180-181.

KRETZSCHMAR, H.A., KUFER, P., RIETHMÜLLER, G., DeARMOND, S.J., PRUSINER, S.B., SCHIFFER, D. (1992a): Prion protein mutation at codon 102 in an Italian family with Gerstmann-Sträussler-Scheinker syndrome. Neurology 42, 809-810.

KRETZSCHMAR, H.A., NEUMANN, M., RIETHMÜLLER, G., PRUSINER, S.B. (1992b): Molecular cloning of a mink prion protein. J. Gen. Virol. 73, 2757-2761.

- 16 -

LAMMING, E. (1992): The report of the expert group on animal feedingstuffs. HMSO publications, London, ISBN 0 11 242936 X.

MORGAN, K.L., NICHOLAS, K., HALL, A.P. (1990): A questionnaire survey of the prevalence of scrapie in sheep in Britain. Vet. Rec. 127, 373-376.

MYAZONO, M., KITAMOTO, T., DOH-UHRA, K., IWAKI, T., TATEISHI, J. (1992): Creutzfeld-Jacob disease with codon 129 polymorphism (valine): a comparative study of patients with codon 102 point mutation or without mutations. Acta Neuropath. 84, 349-354.

PEARSON, G.R., WYATT, J.M., GRUFFYDD-JONES, T.J., HOPE, J., CHONG, A., HIGGINS, R.J., SCOTT, A.C., WELLS, G.A.H. (1992): Feline spongiform encephalopathy: fibril and PrP studies. Vet. Rec. 131, 307-310.

PRUSINER, S.B. (1991): Novel properties and biology of scrapie prions. In: Current Topics in Microbiology and Immunology, 172, Springer-Verlag Berlin-Heidelberg, S. 233-257.

SCOTT, M., GROTH, D., FOSTER, D., TORCHIA, M., YANG, S.-L., DEARMOND, S.J., PRUSINER, S.B. (1993): Propagation of prions with artificial properties in transgenic mice expressing chimeric PrP genes. Cell 73, 979-988.

WILESMITH, J.W., RYAN, J.B.M., ATKINSON, M.J. (1991): Bovine spongiform encephalopathy: epidemiological studies on the origin. Vet. Rec. 128, 199-203.

WILESMITH, J.W., RYAN, J.B.M., HUESTON, W.D. (1992): Bovine spongiform encephalopathy: case control studies of calf feeding practices and meat and bone meal inclusion in proprietary concentrates. Res. Vet. Sci. 52, 325-331.

WILLOUGHBY, K., KELLY, D.F., LYON, D.G., WELLS, G.A.H. (1992): Spongiform Encephalopathy in a captive puma. Vet. Rec. 131, 431-434.

Anschrift der Verfasser:

Dr. med. vet. Martin H. Groschup, Univ. Prof. Dr. med. vet. Volker Moennig, Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten der Tiere, Paul-Ehrlich-Str. 28, D-72076 Tübingen, Tel. 7071/603-325 FAX 7071/603-201

Bestimmte Mäuse und Tierrückstände Wochenblatt. 1994

BMTW Blatt 5

173

(1914-1980) und D. Manz - behandelt. Im Jahre 1984 ging diese Institution im Staatlichen Medizinal-, Lebensmittel- und Veterinäruntersuchungsamt Mittelhessen auf. Die Schrift ist besonders allen im öffentlichen Veterinärwesen und in Institutionen für Nahrungsmittelkunde tätigen Tierärzten sowie darüber hinaus den an der Geschichte der Tiermedizin Interessierten zu empfehlen. Wille, Gießen

Veterinär-Vorschriften in Bayern. Begründet von A. Wolff, fortgeführt von K. M. Zrenner. Verlagsgruppe Jchle-Rehm, München/Berlin. Loseblattsammlung. 46. Ergänzungslieferung. Rechtsstand: 17. 2. 1993. 604 S. DM 98,-. Gesamtwerk: 2212 S. in 3 Ordnern. DM 164,-.

Der Verlag teilt mit, daß mit der vorliegenden Ergänzung die endgültige Neugliederung der Sammlung mit vielfältigen Umstellungen abgeschlossen ist. Hierauf beruht die diesmal besonders umfangreiche Nachlieferung, deren Einordnung nicht immer ganz leicht ist. Die Übersichtlichkeit des Gesamtwerkes scheint aber weitgehend wiederhergestellt zu sein. Die Ergänzung berücksichtigt zahlreiche wichtige Gesetzesänderungen (Tierseuchengesetz, Tierschutzgesetz, Tierzuchtgesetz, Fleischhygienegesetz, Geflügelfleischhygienegesetz, LMBG u. a. m.), andere Vorschriften wurden neu aufgenommen (Binnenmarkt-Tierseuchenschutzverordnung - hierdurch sind mehrere alte Vorschriften aufgehoben -, Verordnung über Leistungsprüfungen und Zuchtwertfeststellung bei Pferden, Verordnung über Lehrgänge nach dem Tierzuchtgesetz, Kälberhaltungsverordnung u. a.). Die Sammlung der Veterinärvorschriften ist das geblieben, was sie immer war: ein unentbehrlicher Helfer für beamtete und praktizierende Tierärzte beim Auffinden und Anwenden des geltenden Rechts, leider derzeit vorwiegend noch nur für Bayern.

Schlegel, Barsinghausen

Referate

Redigiert von Prof. Dr. W. BISPING, Hannover

Die ausgewählten Referate sind als Hinweis zum Studium der interessierten Originalliteratur gedacht.

Schriftleitung und Verlag haften nicht für die Richtigkeit mitgeteilter Angaben.

Bovine Spongiforme Enzephalopathie (BSE)

Straub, O. C. (1993): Die gegenwärtige Situation der Bovinen Spongiformen Enzephalopathie (BSE) im Vereinigten Königreich. Tierärztl. Umschau 48, 256-257. - Der Autor zitiert aus einem Bericht, den das britische Landwirtschaftsministerium in Brüssel vorgelegt hat. Danach sind bis zum 28. 2. 1993 86556 Fälle an BSE in 23915 Beständen aufgetreten. Der Prozentsatz betroffener Milchviehherden betrug 41,9%, bei Fleischviehbeständen 8,1%. Aufgrund von Tierversuchen kommt der Erreger nur im Gehirn und im Liquor vor, bei der Traberkrankheit hingegen auch in anderen Organen. Die Ansteckung erfolgt zweifelsfrei durch Verfütterung von Wiederkäuerproteinen (Tiermehl). Für eine maternale Übertragung gibt es keine Hinweise, ebenso nicht für eine horizontale Übertragung. Bei Katzen wurden 38 Fälle von spongiformer Enzephalopathie nachgewiesen, hierbei handelt es sich um den BSE-Erreger und nicht um jenen der Traberkrankheit. Für den Verbraucher wird festgestellt, daß die getroffenen Maßnahmen ausreichend erscheinen, daß von Fleisch- und Wurstwaren keine Übertragungsgefahr ausgeht.

Bisping, Hannover

Willem Smith, J. W., J. R. M. Ryan, and W. D. Houston (1992): Bovine spongiform encephalopathy: case-control studies of calf feeding practices and meat and bonemeal inclusion in proprietary concentrates. Res. Vet. Sci. 52, 325-331. - Es wird angenommen, daß die Ausbreitung des Erregers der BSE in Großbritannien durch Verfütterung von Fleisch- und Knochenmehl erfolgte, die mit dem Erreger der Traberkrankheit kontaminiert waren. Um diese Hypothese zu unterstützen, wurden sicher infizierte und nicht infizierte Bestände hinsichtlich ihrer Fütterungspraxis miteinander verglichen. In diesem Versuch wurden Rinder berücksichtigt, die in den Jahren 1983/84 geboren wurden. Statistisch signifikant konnte gezeigt werden, daß die Verfütterung von Konzentraten aus Fleisch- und Knochenmehl ein entscheidender Risikofaktor für das Auftreten der BSE darstellt. Somit wird durch diese Untersuchungen die Hypothese unterstützt, daß die BSE Folge der Verfütterung von Fleisch- und Knochenmehl ist, die ein „scrapie-like“ Agens enthalten.

Bisping, Hannover

Middleton, D. J., and R. M. Barlow (1993): Failure to transmit bovine spongiform encephalopathy to mice by feeding them with extra neural tissues of affected cattle. (Keine Übertragung der bovinen spongiformen Enzephalopathie auf Mäuse durch Verfütterung von extraneuralem Gewebe erkrankter Rinder). Vet. Rec. 132, 545-547. - Von vier klinischen Fällen mit boviner spongiformer Enzephalopathie (BSE) wurden Homogenisate von Gehirn und fünf verschiedenen extraneuralen Geweben hergestellt und an C 57B1 und/oder CRH Mäuse verfüttert. Die Erkrankung konnte nur auf die C 57B1 Mäuse übertragen werden, denen Gehirnmateriale verfüttert wurde. Intracerebrale Passage von Milz- und Rückenmarkshomogenisaten dieser Gruppe von Mäusen 12 und 18 Monate nach der Infektion in C 57B1 Mäusen resultierte in einer reduzierten Inkubationsperiode. Bei entsprechender Passage mit Material der anderen Gruppen konnte innerhalb einer verlängerten Beobachtungszeit von 42 Monaten kein Anzeichen einer Infektion nachgewiesen werden. Diese Resultate deuten an, daß die Wahrscheinlichkeit einer Infektion des Menschen als Folge des Verzehrs von anderem als neuralem Rindergewebe als gering einzuschätzen ist.

Kirpal, Hannover

Willem Smith, J. W., and J. R. M. Ryan (1993): Bovine spongiform encephalopathy: Observations on the incidence during 1992. (Bovine spongiforme Enzephalopathie: Untersuchungen zum Auftreten 1992). Vet. Rec. 132, 300-301. - Davon ausgehend, daß die bovine spongiforme Enzephalopathie (BSE) beim Rind durch Futtermittel aus Rinderprotein übertragen wird, wurde im Juli 1988 in Großbritannien ein Verbot der Anwendung entsprechender Futtermittel erlassen. Die Analyse der Daten von Herden mit Tieren eigener Züchtung, bei denen die genauen Geburtsdaten verfügbar waren, zeigten den Erfolg der eingeleiteten Maßnahmen. Eine fortschreitende Reduzierung im Auftreten der BSE in Altersabhängigkeit war für 1991 in der Klasse der zweijährigen Rinder und für 1992 bei einem bestehenden geringfügigen Auftreten in dieser Altersgruppe in der Altersklasse der dreijährigen im Vergleich mit den vorhergehenden Jahren zu verzeichnen.

Kirpal, Hannover

Baker, H. F., R. M. Ridley, and G. A. H. Wells (1993): Experimental transmission of BSE and scrapie to the common marmoset. (Experimentelle Übertragung von BSE und Scrapie auf Seidenäffchen). Vet. Rec. 132, 403-406. - In einem Übertragungsversuch an jungen männlichen Seidenäffchen

wurde intracerebral und intraperitoneal zwei Tieren Gehirnhomogenisat einer Kuh mit boviner spongiformer Enzephalopathie (BSE) und zwei Tieren Gehirnhomogenisat eines Schafes mit Scrapie injiziert. Neurologische Symptome traten bei den mit Scrapiematerial injizierten Tieren nach 38 bzw. 42 Monaten, bei den mit BSE-Material injizierten Tieren nach 46 bzw. 47 Monaten auf. Bei der postmortalen Untersuchung der Gehirne zeigte sich spongiforme Enzephalopathie in den basalen Nuclei und im Diencephalon bei allen Tieren und zusätzliche Beteiligung der cerebralen Cortex bei den Tieren, denen Scrapiematerial übertragen wurde. Aufgrund des Experimentes kann das Wirtsspektrum für experimentelle BSE um eine Primatenspecies erweitert werden.

Kirpal, Hannover

Parasitologie

Fisher, M. A., D. E. Jacobs, M. J. Hutchinson, and E. M. Abbott (1993): Efficacy of fenbendazole and piperazine against developing stages of *Toxocara* and *Toxascaris* in dogs. Vet. Rec. 132, 473–475. – Die Applikation von 50 mg/kg/Tag Fenbendazol an 3 aufeinanderfolgenden Tagen reduzierte die Anzahl von Dritt- und Viertlarven von *Toxocara canis* um 94,0%, von *Toxocara leonina* bei Hunden um 92,4%. Im Gegensatz dazu war der Effekt von 100 mg/kg Piperazin nur gering. Pränatal mit *Toxocara canis* infizierte Welpen sollten im Alter von 2 Wochen einer Fenbendazol-Kur unterworfen werden.

Boch, München

Preinsberger, H. (1992): Zur Brauchbarkeit und Standardisierung des Larvenentwicklungstests bei equinen Strongyliden. Vet. med. Diss., Universität Wien. – Der bei ovinen Trichostrongyliden angewandte Larvenentwicklungstest wurde an equine Strongyliden adaptiert. Dabei wurden die Gewebekulturflaschen durch eine Gewebekulturplatte mit 24 Vertiefungen ersetzt. Um exaktere Mittelwerte zu erzielen, wurden die Replikationen von 2 auf 4 erhöht und die Konzentrationsstufen von 7 auf 5 vermindert. Es stellte sich heraus, daß nach 7tägiger Bebrütung bei 25 °C der Larvenentwicklungstest etwa 4x empfindlicher ist als der Larvenschlüpftest. Der *E. coli*-Stamm Crooke's erwies sich als bester, gleichzeitig kostengünstigster Futterkeim. Der Test ist aufgrund des verminderten Material- und Zeitaufwandes für den Einsatz im praktischen Routinebetrieb sehr geeignet.

Boch, München

Möbius, G. (1993): Epidemiologische Untersuchungen zum *C. bovis*- und *T. saginata*-Befall in den ost- und westdeutschen Ländern. Dtsch. tierärztl. Wschr. 100, 110–114. – Während in den alten Bundesländern die Zystizerkose beim Rind sehr gering war, schwankte in den ehemaligen Bezirken Ostdeutschlands der *Cysticercus bovis*-Befall zwischen 3,5 und 6,9%. Es wird angenommen, daß der Anstieg der Zystizerkose in den Jahren 1974 bis 1987 mit der zunehmenden Verregnung häuslicher Abwässer erklärbar ist. Es werden deshalb in den neuen Bundesländern eine langfristige Verbesserung der Abwasserreinigung, das Verbot der Ausbringung bedenklicher Klär- und Abwässerschlämme sowie eine intensive Aufklärung der Bevölkerung über den Infektionsweg von *Taenia saginata* gefordert.

Boch, München

Silva Correia (1992): Feldversuch zur Beurteilung der Wirkung eines slow release Bolus (Wirkstoff Fenbendazol) gegen Trichostrongyliden und *Dictyocaulus viviparus* geweideter Junggrinder. Diss. Vet. Med. Univ. Wien. – Im 1. Versuch er-

hielten erstsömmerige Kälber den Bolus zu Weidebeginn verabreicht und wurden getrennt von der Kontrollgruppe geweidet. Die Versuchstiere hatten am Ende der Weidesaison wesentlich höhere Gewichte als die unbehandelte Gruppe. In einem weiteren Versuch wirkte sich die Boluseingabe zu Weidebeginn gegen starke Trichostrongyliden-Infektionen im Frühjahr besonders günstig aus, bei einer späteren Applikation waren die Kälber vor allem gegen einen *Dictyocaulus viviparus*-Befall geschützt. Auch hier hatten beide Versuchsgruppen deutlich höhere Gewichtszunahmen als die Kontrolltiere auf derselben Weide.

Boch, München

Rehbein, St., W. Haupt, R. Schmäschke und H. Rosigkeit (1993): Zur Wirksamkeit von IVOMEC® Four-on gegenüber Lungen- und Magendarm-Würmern bei Damwild im Gehege. Z. Jagdwiss. 39, 1–14. – An 24 natürlich infizierten Damhirschen (9–15 Monate alt) wurde die anthelmintische Wirkung von dermal applizierten Ivermectin (0,5 mg/kg) überprüft. Wurde Ivermectin im Abstand von 6 Wochen verabreicht, erfolgte keine Ausscheidung von *Dictyocaulus*-Larven und *Capillaria*-Eiern. Erfolgte die zweite Applikation erst 12 Wochen später, ließen sich bei einigen Stück Wild *Capillaria*-Eier nachweisen. Insgesamt waren keine signifikanten Unterschiede der Wurmzahlen bei der Sektion festzustellen. Die Ergebnisse der Sektionen und Kontrollwägungen deuten daraufhin, daß ein geringgradiger Helminthenbefall keinen Einfluß auf Körpermasseentwicklung und Schlachtausbeute bei Damwild hat.

Boch, München

Salmonellen in Eiern

Reglich, K. und K. Fehlhaber (1992): Experimentelle Untersuchungen zum Verhalten von *Salmonella enteritidis* in Eiklar. Arch. Lebensmittelhyg. 43, 101–104. – In-vitro-Versuche zum Verhalten von 10 *S. enteritidis*-Stämmen in Eiklar tagfrischer Eier zeigten die Möglichkeit des Persistierens der Erreger bei 10, 20 und 30 °C über 21 d auf. 5 von 10 Stämmen waren bei 10 °C und einem Anfangskeimgehalt von 10^2 bis 10^3 /ml nach 21 d nicht mehr anzüchtbar. Unter dem Einfluß höherer Temperaturen kann im Eiklar eine Vermehrung von *S. enteritidis* zwar verzögert, aber nicht unterdrückt werden. Bei 20 °C kam es zu einer allmählichen Vermehrung auf etwa 10^6 und bei 30 °C auf etwa 10^8 Keime/ml. Im Eiklar aus Eiern, die 4 Wochen ungekühlt gelagert wurden, erwiesen sich die vermehrungshemmenden Eigenschaften gegenüber *S. enteritidis* als deutlich beeinträchtigt. Mit der Präsenz von *S. enteritidis* im Eiklar über längere Lagerungszeiten steigt die Gefahr einer Dotterbesiedlung und die damit verbundenen Möglichkeit ungehemmter Entwicklung der Keime im Dotter.

Bisping, Hannover

Fehlhaber, K. und P. Btaun (1993): Untersuchungen zum Eindringen von *Salmonella enteritidis* aus dem Eiklar in das Dotter von Hühnereiern und zur Hitzeinaktivierung beim Kochen und Braten. Arch. Lebensmittelhyg. 44, 59–63. – Es wurde das Eiklar von 303 tagfrischen Eiern mit unterschiedlich großen Keimzahlen von *S. enteritidis*, Phagtyp 4, kontaminiert. Es konnte gezeigt werden, daß die Salmonellen während einer Lagerung bis zu 4 Wochen und bei unterschiedlichen Temperaturen aus dem Eiklar in das Dotter gelangen können. Dies geschieht desto häufiger, je höher die Keimzahl ist. Bei kühler Lagerung und geringer Kontaminationsdosis im Eiklar ist die Dotterbesiedlung ein relativ seltenes Ereignis. Sollte jedoch aus lebensmittelhygienischer Sicht nicht unterschätzt werden. Beim