

BSE-Pathogenesestudie und BSE-Situation in Deutschland

Thomas C. METTENLEITER (Insel Riems)

Mitglied der Leopoldina

Mit 8 Abbildungen und 2 Tabellen

Zusammenfassung

Im November 2000 wurde der erste Fall von BSE bei einem in Deutschland geborenen Rind diagnostiziert. Wohl keine Tierseuchenfeststellung der letzten Jahrzehnte hat ähnliche politische und gesellschaftspolitische Auswirkungen nach sich gezogen. Befürchtungen, es könnte in Deutschland zu einer Epidemie ähnlichen Ausmaßes wie im Vereinigten Königreich kommen, haben sich aber nicht bestätigt. Die BSE-Inzidenz in Deutschland betrug in den vergangenen Jahren zwischen 21 und 44 Fällen pro 1 Mio. untersuchter Rinder. Während die BSE-Fallzahlen seit 2001 (125 Fälle) in den Jahren 2002 (106 Fälle) und 2003 (54 Fälle) kontinuierlich zurückgegangen sind, war im Jahr 2004 ein leichter Anstieg (65 Fälle) zu beobachten. Allerdings ist diese Entwicklung nicht auf das Ende 2000/Anfang 2001 eingeführte totale Verfütterungsverbot zurückzuführen, da bei einer durchschnittlichen Inkubationszeit von 60 Monaten erst im Laufe des Jahres 2005 ein damit korrelierter Rückgang der Fallzahlen erwartet werden kann. Bis heute bleiben die Schutzmaßnahmen der Verhinderung von Neuinfektionen (Verfütterungsverbot tierischer Proteine und Fette an lebensmittelliefernde Tiere) sowie des Schutzes des Verbrauchers vor der Exposition mit dem BSE-Erreger (Entfernung spezifischer Risikomaterialien, Schnelltestung) in Kraft. Inwieweit zukünftig eine Lockerung eingeführt werden kann, bleibt vor dem Hintergrund der Entwicklung der BSE-Fallzahlen abzuwarten. Da hinsichtlich der Pathogenese der BSE im Rind und der Verteilung des Erregers im infizierten Tier noch viele Fragen offen sind, wurde am Friedrich-Loeffler-Institut mit einer groß angelegten Studie begonnen. Insgesamt 56 Rinder wurden oral mit BSE-infiziertem Rinderhirn infiziert. Die Tiere werden in einem Sicherheitsstall auf der Insel Riems gehalten und zu definierten Zeitpunkten nach der Infektion zur Probengewinnung getötet. Die Testung der erhaltenen Proben, u. a. auch durch Infektion von transgenen, das bovine Prionprotein überexprimierenden Mäusen, die eine mehr als 10 000-fach erhöhte Empfindlichkeit gegenüber BSE als normale Mäuse zeigen, wird Aufschluß darüber geben, welchen Weg der Erreger nach der oralen Aufnahme bis zur Ausbildung typischer BSE-Symptome durch Zerstörung von Neuronen im zentralen Nervensystem nimmt. Damit wird auch eine gegebenenfalls erweiterte Definition von Risikomaterialien wissenschaftlich begründet. Letztlich dient der Versuch aber auch der Gewinnung von definierten Proben aus der Inkubationszeit vor dem Auftreten klinischer Symptome, eine wesentliche Grundlage für die Entwicklung sensitiverer, gegebenenfalls auch am lebenden Tier anzuwendender Testsysteme.

Abstract

In November 2000 the first case of BSE has been diagnosed in a German-born cow. No identification of an infectious animal disease in the past had such an enormous impact on politics and society as a whole. Worries about a possible epidemic like in the United Kingdom fortunately proved to be unfounded. The mean incidence of BSE in Germany has been between 20 and 44 per 1 million of tested cattle and year. While the cases since 2001 (125 cases) declined in 2002 (106 cases) and 2003 (54 cases), there was a slight increase in 2004 (65 cases). However, this development is not a consequence of the total feed ban introduced at the end

of 2000/beginning of 2001, since at an average incubation period of ca. 60 months a correlated decrease in BSE cases can only be expected in late 2005. Until today the protection measures to inhibit new infections (total feed ban) and to avoid exposure of humans (elimination of specified risk material and rapid testing) remain in effect. Whether in the future these measures can be less stringent will depend on the future development of the number of cases. Since the pathogenesis of BSE in cattle and the distribution of the infectious agent in the infected animal is still not clear, at the Friedrich-Loeffler-Institut a large scale study has been started. A total of 56 calves were orally challenged with BSE-infected cattle brain stem. The animals are being kept in a biosafe facility on the Isle of Riems and sacrificed at defined time points after infection for sample acquisition. Samples will then be tested by various assays including infection of transgenic mice overexpressing cattle prion protein. These animals are at least 10 000-fold more susceptible than normal mice and do not exhibit a species-barrier towards BSE. These studies will show how infectivity is distributed in the body after oral infection and before finally reaching the central nervous system. This may then also necessitate a revision of the definition of specified risk material. Finally, this experiment also serves to acquire samples from animals within the incubation period to help in the development of more sensitive tests, perhaps even those to be performed on live animals.

1. BSE in Deutschland

Die bovine spongiforme Enzephalopathie (BSE) gehört zur Gruppe der transmissiblen spongiformen Enzephalopathien, die bei Mensch und Tier degenerative Erkrankungen des Zentralnervensystems verursachen. Sie wurde erstmals 1985 im Vereinigten Königreich (UK) beschrieben. Anfänglich nur als Tierseuche wahrgenommen, wurde BSE 1996 als zoonotische Infektion erkannt, die auch den Menschen befallen kann und hier zur varianten Form der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (vCJD) führt (GROSCUP und METTENLEITER 1997, METTENLEITER 1998). Seit 1996 sind weltweit mehr als 150 Menschen an vCJD gestorben, die überwiegende Mehrzahl davon im Vereinigten Königreich.

Nachdem in Deutschland bereits 1992 ein erster Fall von BSE bei einem importierten Rind entdeckt worden war, wurden in den Folgejahren weitere einzelne BSE-Fälle bei eingeführten Rindern bemerkt. Erst im November 2000 kam es aber zum Erstdnachweis von BSE in einem in Deutschland geborenen Rind (*FLI-Jahresbericht* 2001). Die darauf folgenden Auswirkungen auf politischer und gesellschaftspolitischer Ebene waren enorm. Da als wichtigster Übertragungsweg des Erregers die Verfütterung von tierischen Produkten (Fleisch-Knochen-Mehl, tierische Fette) gilt, die pathogenes Prionprotein enthalten, wurde ein totales Verfütterungsverbot von Tiermehl und tierischen Fetten an lebensmittelliefernde Tiere EU-weit eingeführt. Außerdem wurden die eigentlich nur als Screening-Tests gedachten sogenannten ›Schnelltests‹ flächendeckend zur Testung aller Rinder über 24 Monate (EU-weit Schlachttiere über 30 Monate, Risikotiere über 24 Monate) eingeführt. Die Entfernung von spezifizierten Risikomaterialien, d. h. Gewebe von Rindern, in dem der BSE-Erreger nachweisbar ist, erfolgte bereits seit Mitte 2000 (ECKERT et al. 2001, METTENLEITER et al. 2002).

Nachdem nunmehr fast fünf Jahre vergangen sind, kann eine erste Bilanz gezogen werden. Das Ausmaß der BSE-Infektionen in Deutschland liegt mit bisher 381 nachgewiesenen Fällen (Stand 22. 7. 2005, siehe Tab. 1) deutlich unterhalb der epidemischen Zahlen im Vereinigten Königreich und auch einiger anderer europäischer Länder. Obwohl die Wirkung des Ende 2000/Anfang 2001 eingeführten totalen Verfütterungsverbots auf Grund der langen Inkubationszeit von BSE (ca. 60 Monate) erst mit einer entsprechenden Verzögerung Ende 2005/Anfang 2006 sichtbar wird, gingen die BSE-

Fallzahlen von 2001 bis 2003 um etwa die Hälfte zurück. Die Gründe hierfür sind unbekannt, liegen aber im Infektionsgeschehen in den 1990er Jahren begründet. Dies gilt auch für den leichten Anstieg der Zahlen im Jahr 2004 (*FLI-Jahresbericht* 2005). Die Altersverteilung der BSE-positiv getesteten Tiere spiegelt im wesentlichen die mittlere Inkubationszeit wieder, wobei von einer Infektion in den ersten Lebensmonaten ausgegangen wird (Abb. 1). Insgesamt ist festzustellen, daß etwas weniger als die Hälfte der BSE-Fälle bei Tieren diagnostiziert wird, die normal geschlachtet wurden. Allerdings ist in dieser Gruppe die Inzidenz, d. h. die Zahl an BSE-Fällen pro 1 Mio. getesteter Tiere, am geringsten. Im Gegensatz dazu ist die Inzidenz bei den verendeten Tieren hoch, wobei auch diese Tiergruppe zu etwas weniger als der Hälfte der entdeckten BSE-Fälle beiträgt. Die höchste Inzidenz, aber gleichzeitig auch nur wenige BSE-Fälle insgesamt, zeigt die Gruppe der klinisch auffälligen Tiere. Auch bei den Tieren der Geburts- und Fütterungskohorte sind die Inzidenzen gegenüber der Gesamtpopulation deutlich erhöht (Tab. 2).

Tab. 1 BSE in Deutschland November 2000–Juli 2005

Jahr	Anzahl BSE-positiver Befunde	Anzahl Schnelltests	BSE-Inzidenz pro 1 Mio. untersuchter Rinder und Jahr
2000	7		
2001	125	2 869 176	43,57
2002	106	3 030 542	34,98
2003	54	2 591 253	20,84
2004	65	2 532 504	25,67
2005 (Stand 22. 7.)	24		
Summe (Stand 22. 7. 2005)	381		

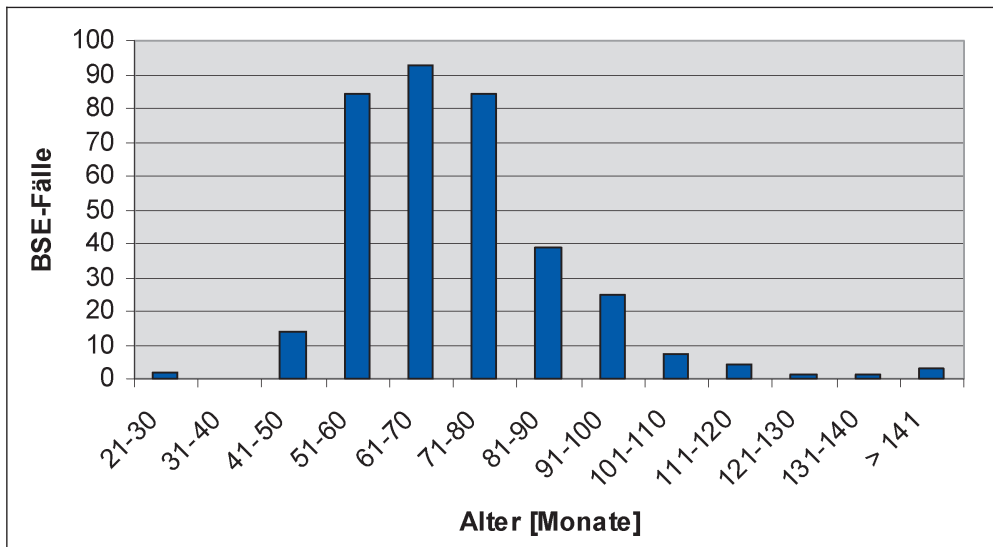


Abb. 1 Altersverteilung der bis zum 31. 12. 2004 amtlich festgestellten BSE-Fälle (n = 357).

Tab. 2 Untersuchungen auf BSE im Jahr 2001–2004 (Daten: BMVEL, adaptiert)

	Anzahl untersuchter Rinder 2004 (2003, 2002, 2001)	BSE-positiv 2004 (2003, 2002, 2001)	Anteil an den BSE-positiven Fällen [%] 2004 (2003, 2002, 2001)	BSE-Inzidenz pro 1 000 000 untersuchter Rinder 2004 (2003, 2002, 2001)
Verendete Rinder	226 685 (242 664) (251 177) ()	23 (20) (44) (53)	35,38 (37,04) (41,51) (42,40)	101,46 (82,40) (175,18) ()
Not-/krank geschlachtete Rinder	9807 (9187) (8435) ()	3 (0) (6) (12)	4,62 (0,00) (5,66) (9,60)	305,90 (0,00) (711,32) ()
Rinder mit klinischen BSE-Erscheinungen	44 (48) (59) ()	0 (1) (4) (6)	0,00 (1,85) (3,77) (4,80)	0,00 (20 833,33) (67 796,61) ()
Gesund geschlachtete Rinder	2 292 714 (2 337 239) (2 767 958) ()	34 (23) (42) (38)	52,31 (42,59) (39,62) (30,40)	14,83 (9,84) (15,17) ()
Im Rahmen der BSE- Ausmerzung getötete Rinder	1312 (1127) (2626) ()	2 (1) (3) (4)	3,08 (1,85) (2,83) (3,20)	1524,39 (887,31) (1142,42) ()
Verdachtsfälle zur Bestätigung durch Laboruntersuchungen	1942 (988) (287) ()	3 (9) (7) (12)	4,62 (16,67) (6,60) (9,60)	1544,80 (9109,31) (24 390,24) ()

Mehr als 80 % der bisher erkannten BSE-Fälle entfiel auf Tiere der Geburtsjahrgänge 1995 und 1996 (Abb. 2). Eine genaue Analyse zeigt, daß nach einer ersten Infektionswelle in den Jahren 1995/1996 ab 1999 eine zweite, jedoch in der Intensität offenbar deutlich geringere Infektionswelle folgte, die im Jahre 2000 fort dauerte (Abb. 3). Obwohl nach dem Erlaß des totalen Verfütterungsverbots die bekannten Eintrittspforten des Erregers in die Rinderpopulation eigentlich geschlossen sein sollten, wurden, wie auch im Vereinigten Königreich schon beobachtet, auch noch BSE-Fälle bei Tieren diagnostiziert, die nach dem Verfütterungsverbot (BARB = *born after the reinforced ban*) geboren wurden (bis zum 22. 7. 2005 zwei Fälle; Tiere geboren am 27. 3. bzw. am 28. 5. 2001). Möglicherweise gehen diese Fälle auf widerrechtliche Verfütterung letzter Tiermehl- oder Tierfettreserven zurück.

Regional folgt die Zahl der BSE-Fälle der Dichte der Rinderpopulation. Dies gilt auch für eine anfänglich zu beobachtende Häufung von BSE-Fällen insbesondere im Nordwesten und im Süden Deutschlands. Statistische Untersuchungen ergaben aller-

dings, daß bis auf wenige Ausnahmen auf Kreisebene keine nachweisbaren Unterschiede im BSE-Risiko zu belegen waren (Abb. 4, *FLI-BSE-Bericht* 2005).

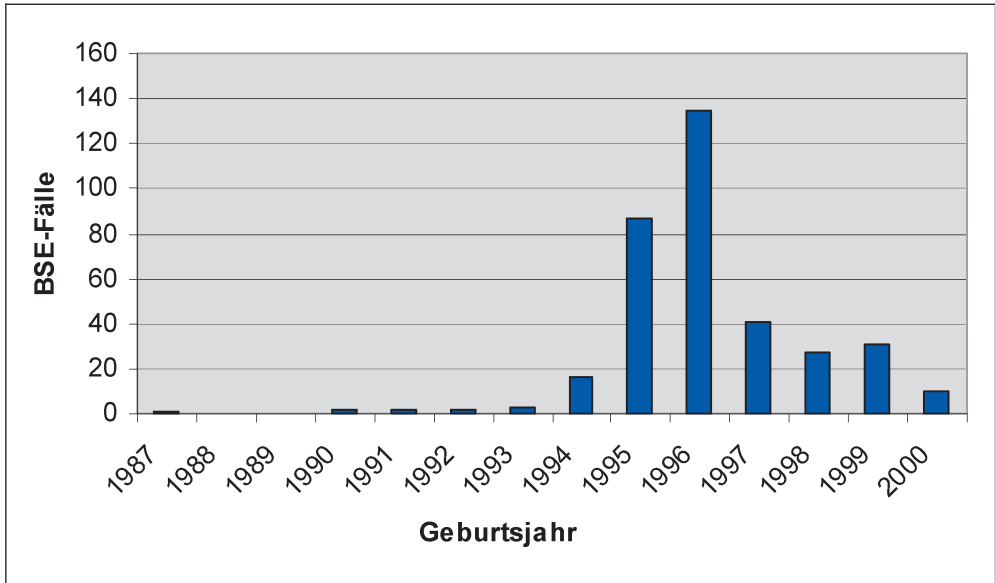


Abb. 2 Verteilung der bis zum 31. 12. 2004 amtlich festgestellten BSE-Fälle auf die Geburtsjahrgänge ($n = 357$).

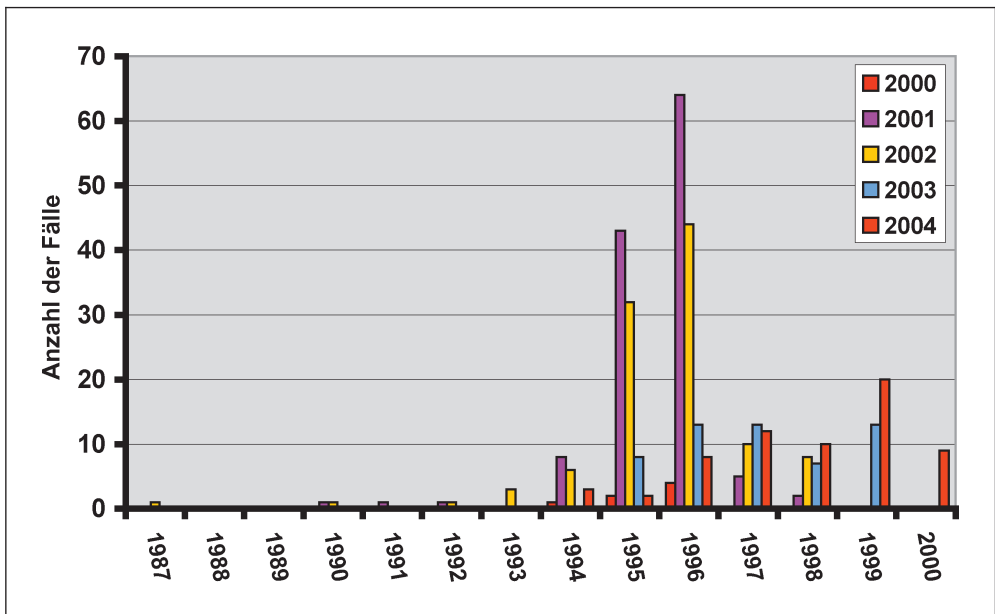


Abb. 3 Geburtsjahrgänge nach Jahr der BSE-Feststellung.

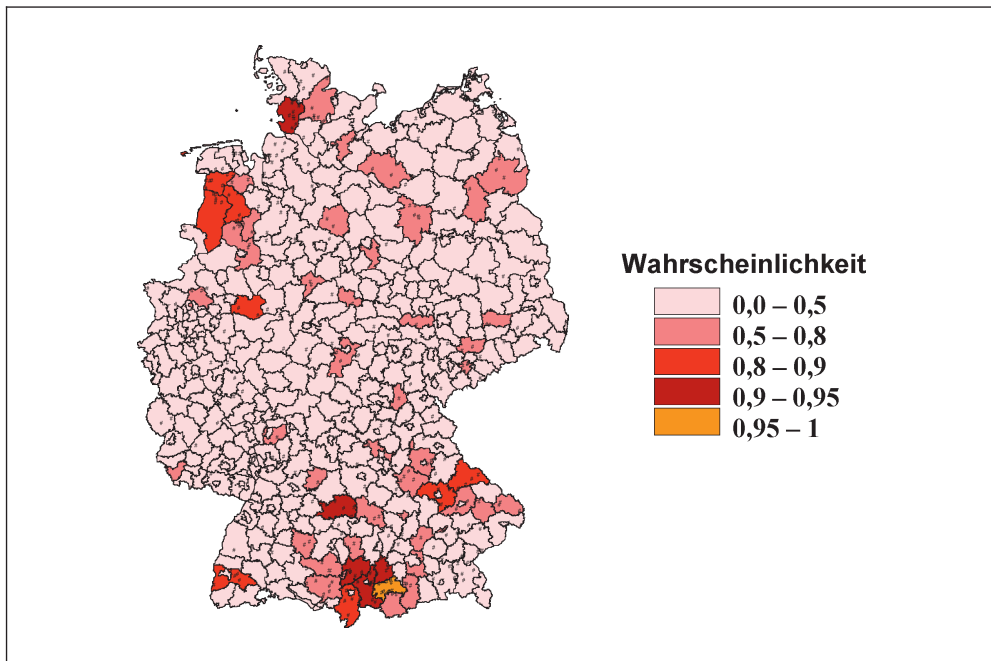


Abb. 4 Räumliche Verteilung der BSE-Fälle (26. 11. 2000 bis 31. 12. 2004) und die Wahrscheinlichkeit dafür, daß sich die Inzidenz eines Kreises signifikant von der durchschnittlichen Inzidenz in Deutschland unterscheidet, basierend auf einem Bayesschen Modell.

2. BSE-Pathogenesestudie am Friedrich-Loeffler-Institut

An der Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten der Tiere (heute: Friedrich-Loeffler-Institut, FLI) war bereits 1992 ein nationales Referenzlabor für TSE der Wiederkäuer errichtet worden. Auf dieser Basis entstand zum 1. Januar 2001 das Institut für neue und neuartige Tierseuchenerreger, das sich unter der Leitung von PD Dr. GROSCHUP schwerpunktmäßig mit der Erforschung der BSE der Rinder und der Scrapie der Schafe und Ziegen befaßt. Nach der Erstdiagnose von BSE bei einem einheimischen Rind wurden in einem gemeinsam vom Bundesministerium für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft und dem Bundesministerium für Bildung und Forschung geförderten Forschungsvorhaben im Rahmen der deutschen TSE-Plattform auf der Insel Riems nach dem Umbau einer Werkstatthalle zu einem Sicherheitsstall (Abb. 5) 56 Rinder experimentell oral mit BSE infiziert. Hierfür wurden von britischen Kollegen mehr als 5 kg Hirnstammmaterial von BSE-erkrankten Rindern zur Verfügung gestellt. Die zum Zeitpunkt der Infektion Anfang 2003 ca. 4 Monate alten Tiere entstammten einer ökologisch gehaltenen Mutterkuhherde. Zur Infektion wurden pro Tier 100 g Hirnstammhomogenat in Zuckerlösung mittels einer Knopfkanüle auf den Zungengrund aufgetragen und von den Tieren problemlos abgeschluckt (Abb. 6). Die Infektion erfolgte in speziell dafür vorgesehenen kleinen Infektionsboxen von 12 m², worin die Tiere in Gruppen zu je 5 für eine Woche nach der Infektion gehalten wurden. Die gesamte Einstreu wurde da-



Abb. 5 Der BSE-Sicherheitsstall: Freilaufstall mit Freßplätzen, Liegeplätzen mit Gummimatten und Spaltenboden.



Abb. 6 Orale Infektion mittels Knopfkanüle.

nach verbrannt, der Raum desinfiziert. Danach wurden die Tiere in den Laufstall (306 m²) verbracht, der auch über einen überdachten, mit Fliegenschutz versehenen Auslauf (142 m²) verfügt. Der Dung der Tiere wird in einer thermischen Abwasserdesinfektionsanlage (Abb. 6) für 4 h bei 136 °C inaktiviert, bevor er in der betriebseigenen Kläranlage gereinigt wird. Von den Tieren werden in regelmäßigen Abständen Urin-, Blut- und Liquorproben entnommen. Zu verschiedenen, vorab definierten Zeitpunkten nach der Infektion werden einzelne Tiere sowie Kontrolltiere, denen eine entsprechende Men-



Abb. 7 Die Abwasserdesinfektionsanlage im BSE-Stall: Autoklavenbehälter (Hintergrund) und Wärmetauscher (Vordergrund).



Abb. 8 Das Sektionsteam in Schutzkleidung.

ge Hirnstammmaterial BSE-unverdächtiger Tiere appliziert wurde, getötet und Organproben entnommen. Eine erfolgreiche Infektion der Tiere wurde kürzlich durch den Nachweis von proteaseresistentem Prionprotein in den Peyerschen Platten der infizierten Tiere bestätigt. Pro Sektion, die ca. 6–8 h dauert, werden von den Sektionsteams (Abb. 8) mehr als 1000 Einzelproben aus allen Körperbereichen entnommen und in der BSE-Probenbank am FLI gelagert. Diese umfaßt derzeit ca. 130 000 Proben von den deutschen BSE-Fällen, Kohortentieren und aus der Pathogenesestudie. Diese Proben werden auf Anfrage und nach Befürwortung durch ein wissenschaftliches Expertengremium wissenschaftlich arbeitenden Gruppen zur Verfügung gestellt. Bisher wurden hierfür mehr als 6000 Einzelproben abgegeben (*FLI-Jahresbericht 2005*).

Die Laufzeit des Versuchs ist bis 2008 terminiert, wobei die genaue Dauer auch vom Eintreten der ersten BSE-assoziierten Symptome abhängt. Bisher zeigt keines der Tiere eine entsprechende Symptomatik, obwohl sie ständig unter intensiver Beobachtung und Kontrolle ihrer Reaktion gegenüber externen Reizen stehen. (Anmerkung: Bis zum jetzigen Zeitpunkt, 13. 4. 2006, sind bereits bei einigen Tieren BSE-typische Symptome aufgetreten.)

Dank

Ich bedanke mich bei den Kolleginnen und Kollegen des Instituts für neue und neuartige Tierseuchenerreger (Leitung: PD Dr. Martin GROSCHUP) und des Instituts für Epidemiologie (Leitung: PD Dr. Franz Josef CONRATHS) für die engagierte Mitarbeit im Rahmen der BSE-Forschung des FLI und den Autoren des BSE-Berichts des FLI, allen voran Frau Dr. Ch. POTTGIESSER, für die Bereitstellung der entsprechenden Daten und Abbildungen.

Literatur

- ECKERT, J., CONRATHS, F.-J., METTENLEITER, T. C., GROSCHUP, M. H., und HIEPE, T.: Fragen und Antworten zum Rinderwahnsinn (BSE). *Naturwiss. Rdsch.* 54/5, 1–7 (2001)
- FLI-BSE-Bericht 2005: Friedrich-Loeffler-Institut* (Ed.): *Vierter Bericht zur BSE-Situation in der Bundesrepublik Deutschland* (Berichtszeitraum 2004) 2005
- FLI-Jahresberichte: Friedrich-Loeffler-Institut* (Ed.): *Jahresberichte. 2001–2005*
- GROSCHUP, M., und METTENLEITER, T. C.: Prionen – Proteine auf Abwegen? *ForschungsReport BML II/1997*, 20–23 (1997)
- METTENLEITER, T. C.: Viren und Prionen in Nahrungsketten. *Nova Acta Leopoldina NF Bd. 79*, Nr. 309, 91–97 (1998)
- METTENLEITER, T. C.: Überleben von Viren und Prionen in Wirtszellen. *Nova Acta Leopoldina NF Bd. 83*, Nr. 316, 117–131 (2000)
- METTENLEITER, T. C., GROSCHUP, M., und KRAMER, M.: BSE in Deutschland: ein update. *Naturwiss. Rdsch.* 55/2, 1–3 (2002)

Prof. Dr. Thomas C. METTENLEITER
Friedrich-Loeffler-Institut
Boddenblick 5a
17498 Insel Riems
Bundesrepublik Deutschland
Tel.: +49 3 83 51 71 02
Fax: +49 3 83 51 71 51
E-Mail: Thomas.Mettenleiter@fli.bund.de