

# BSE-Diagnostik in Österreich

M. DÜNSER

## Einleitung

Seit 1.1.2001 werden in Mitgliedstaaten der Europäischen Union (EU) Untersuchungen hinsichtlich BSE mit sogenannten „Schnelltestsystemen“ durchgeführt. In Österreich wird der Prionics®-Check, ein Immunoblot eingesetzt. Der Prionics®-Check ermöglicht die raschere Abklärung von BSE-Verdachtsfällen, die Diagnostik im Schlachtprozess zur Erkennung und Eliminierung subklinischer BSE-Tiere sowie ein Monitoring bei der Abklärung epidemiologischer Fragestellungen.

## BSE

Als im Jahr 1986 erstmals eine neuartige neurologische Erkrankung bei Rindern in Großbritannien beobachtet wurde, war die Tragweite dieser Entdeckung zum damaligen Zeitpunkt noch nicht abschätzbar. Die bisher bei Rindern noch nie beobachteten histologischen Veränderungen bestanden aus einprägsamen spongiformen (schwammartigen) Läsionen im Zentralnervensystem (ZNS) in Verbindung mit Astrogliose. Im Gegensatz zu den bisher beim Rind bekannten zentralnervalen Erkrankungen fehlten typische immunologische Reaktionen bzw. entzündliche Veränderungen. Man erkannte sofort Ähnlichkeiten zur Scrapie, einer schon seit längerer Zeit bekannten Transmissiblen Spongiformen Enzephalopathie (TSE) bei Schafen und Ziegen.

Aufgrund epidemiologischer Erkenntnisse wird heute davon ausgegangen, daß Entstehung und Verbreitung der BSE auf die Veränderungen der Bedingungen in der britischen Tierkörperbeseitigung bzw. -verwertung zurückzuführen sind. Das Zusammentreffen mehrerer Faktoren wie die hohe Scrapie-Inzidenz, die Verfütterung von Tierkörpermehl an Wiederkäuer sowie die Reduktion der Verfahrenswirksamkeit bei der Herstellung der Tierkörpermehle werden dafür verantwortlich gemacht.

In der Folge dürfte es über infektiöses Tiermehl zum Überspringen der Speciesbarriere gekommen sein, wodurch „Rinder-adaptierte Scrapie-Erreger“ verfüttert wurden. Da auch BSE-erkrankte Tiere wiederum zu Tierkörpermehl verarbeitet und verfüttert wurden, gelangten BSE-Erreger auch direkt in die Nahrungskette der Rinder.

## Gefahr für den Menschen?

Gerade die Frage des Zusammenhanges der BSE mit der sogenannten neuen Variante der Creutzfeldt-Jakob Erkrankung (vCJD) des Menschen hat der gesamten TSE Problematik eine neue Wendung gegeben. Als Ende 1995 erstmals in Großbritannien gehäuft und später auch in Frankreich neuartige Formen der CJD, einer sonst nur bei 50-75-Jährigen tödlich verlaufenden neurodegenerativen Erkrankung plötzlich bei Teenagern auftraten, wurde eine Verbindung zur BSE vermutet.

## Prione, die infektiösen Proteine

In bestimmten Gehirnarealen TSE-erkrankter Tiere lagern sich große Mengen fibrillärer Komplexe ab, die aus einer Anhäufung von Proteinkomplexen bestehen. Diese Proteine werden als sogenannte Prion-Proteine bezeichnet (Proteinaceous Infectious Particles: PrP).

Verschiedene Gewebe prioneninfizierter Tiere enthalten eine pathologisch veränderte Form des Prion-Proteins.

Die veränderte, krankheitsassoziierte Form des Prion-Proteins wird als PrP<sup>Sc</sup> (Scrapie-spezifische Isoform des PrP) bzw. PrP<sup>BSE</sup> (BSE-spezifische Isoform des PrP) bezeichnet, die normale Isoform des PrP wird PrP<sup>C</sup> (die zelluläre Form des PrP) genannt. Der Begriff PrP<sup>Sc</sup> hat sich weitläufig als Synonym für alle pathologischen PrP eingebürgert.

Mittels spektroskopischer Messungen konnten morphologische Veränderungen

bei dem normalen PrP und dem PrP<sup>Sc</sup> festgestellt werden.

Während das PrP größtenteils eine sogenannte a-helikale Struktur aufweist, besitzt das PrP<sup>Sc</sup> einen größeren Anteil an b-Faltblattstruktur. Mit dieser spezifischen Tertiärstruktur ist das PrP<sup>Sc</sup> im Gegensatz zu PrP<sup>C</sup> extrem hitze-, säure- und strahlenstabil und akkumuliert in unlöslicher Form zu Amyloidfibrillen, die als SAF (Scrapie Associated Fibrils) bezeichnet werden.

Zellen, an deren Oberfläche sich die PrP<sup>Sc</sup>-Moleküle befinden, zeigen einschneidende Veränderungen der Ionenhomöostase und gehen unter Vakuolisierung im Sinne einer spongösen Dystrophie zugrunde. Entzündungszeichen bzw. Immunreaktionen fehlen, da PrP<sup>Sc</sup> als Isoform des PrP<sup>C</sup> nicht als Fremdprotein erkannt wird.

Eine weitere wesentliche Entdeckung war schließlich die unterschiedliche Proteinaseresistenz von PrP<sup>Sc</sup> und PrP<sup>BSE</sup> gegenüber dem normalen PrP. Nach der Behandlung mit ProteinaseK wird die normale Form des PrP zerstört, während PrP<sup>Sc</sup> und PrP<sup>BSE</sup> von ihrer ursprünglichen Größe von 32-35kD auf 27-30kD reduziert werden.

Das nach dem ProteinaseK-Verdau verbleibende PrP<sup>Sc</sup>- bzw. PrP<sup>BSE</sup>-Fragment wird PrP27-30 genannt.

## Diagnostik

Da zum gegenwärtigen Zeitpunkt keine Methode verfügbar ist, BSE *in vivo* nachzuweisen und die klinische Untersuchung lediglich eine Verdachtsdiagnose erlaubt, erfolgt der diagnostische Nachweis mittels verschiedener Verfahren im ZNS geschlachteter bzw. verendeter Tiere.

## Neuropathologische Diagnostik

Als wesentlichstes Kriterium der pathomorphologischen Untersuchung gelten

**Autor:** Dipl. Tzt. Dr. Michael DÜNSER, Bundesanstalt für vet. med. Untersuchungen Linz, Kudlichstraße 27, A-4021 LINZ



die spongiformen (schwammartigen) Veränderungen, die durch eine Vakuolisierung des Neuropils (Gehirnparenchyms) sowie der Neuronen hervorgerufen werden. Die Beurteilung von Schnittpräparaten kann allerdings erst im klinischen Stadium zur definitiven BSE-Diagnose eingesetzt werden.

### **Immunhistochemie**

An pathohistologischen Schnittpräparaten können PrP<sup>Sc</sup> in definierten Gehirnabschnitten mittels spezifischer Antikörper *in situ* lokalisiert und angesprochen werden. Da dieses sensitive und spezifische Verfahren mehrere Tage bis zur Befundung benötigt, lässt es sich für Screeningprogramme nur sehr beschränkt einsetzen.

### **Infektionsversuch**

Die sensitivste diagnostische Methode zum Nachweis der BSE besteht im Nachweis der Infektiosität im Tierversuch. Dabei wird eine bestimmte Menge an infektiösem Material meist intracerebral an Labortiere appliziert.

Aufgrund der langen Inkubationszeit (bei BSE 300-400 Tage) bleiben solche

Übertragungsversuche auf Forschungsexperimente beschränkt.

### **Schnelltestsysteme**

Um größere Untersuchungszahlen in einem angemessenen Zeitraum bewältigen zu können, finden auf diesem diagnostischen Gebiet derzeit erhebliche Entwicklungsarbeiten statt. Unterschiedliche Nachweistechiken wie ELISA-, Immunfluoreszenz- oder Immunoblot-Techniken sollen die Forderungen nach einem sensitiven, spezifischen, robusten und praktikablen Testsystem erfüllen.

### **Schlußfolgerung**

Bei Einschätzung des Risikos für den Konsumenten lassen sich zwei Phasen unterscheiden:

Die frühe Phase reicht vom ersten Auftreten der BSE bis hin zum Verbot bestimmter Risikomaterialien in Großbritannien Ende 1989. Hochrechnungen gehen davon aus, daß in dieser Zeit etwa 440.000 bis 580.000 BSE-infizierte Rinder in die Nahrungskette des Menschen gelangt sind. Die zweite Phase, von Ende 1989 bis hin zum Auftreten der vCJD, ist gekennzeichnet vom allmählichen

Wirksamwerden der Verbraucherschutzmaßnahmen und einem somit geringeren, jedoch nicht vollkommen ausschließbaren Vorkommen von Risikomaterialien in der Nahrungskette.

Mit der Entfernung und Vernichtung potentieller Risikomaterialien, wie Gehirn und Rückenmark sowie der Einführung flächendeckender BSE-Untersuchungen bei Schlachtrindern, wurden weitere wesentliche Maßnahmen für den Verbraucherschutz ergriffen. Die Einsatzmöglichkeiten der verfügbaren diagnostischen Testsysteme werden durch verschiedene Faktoren eingeschränkt: einerseits durch die fehlende Nachweismöglichkeit am lebenden Tier, andererseits durch die derzeit unzureichende Test-Sensitivität zur Erfassung früher Infektionsstadien, wodurch der Einsatz auf ältere Tiere (über 24-30 Monate) beschränkt bleibt.

Trotz der bestehenden diagnostischen Lücke konnten in manchen EU-Mitgliedstaaten bereits BSE-infizierte Tiere durch dieses Screening erkannt und aus der Nahrungsmittelkette genommen werden, da wegen der langen Inkubationszeit der BSE von ca. 5 Jahren die kritische Altersgruppe mit den verfügbaren Testverfahren erfasst wird.