

TSE-ERREGER (PRIONEN) IM BODEN: VORKOMMEN UND INFEKTIONSRISIKO

Ergebnisse von Untersuchungen des Fraunhofer Instituts für das Umweltbundesamt

1. Prionen und Erkrankungen

Im Unterschied zu den klassischen infektiösen Erregern (Viren, Bakterien, Pilze, Protozoen oder Würmer), deren Infektiosität auf der Übertragung von Nukleinsäuren beruht, haben die erst 1982 entdeckten „Prionen“ (proteinartige infektiöse Partikel) keinen messbaren Anteil an Nukleinsäuren und sind reine „infektiöse Eiweißmoleküle“. Prionen sind noch nicht in allen biochemischen Einzelheiten erforscht. Natürlich vorkommende Prionproteine (PrP^c) treten vor allem in Nervenzellen auf und sind in dieser Form nicht pathogen. Infektiöse Prionen (PrP^{Sc}) unterscheiden sich von natürlich vorkommenden Formen lediglich in ihrer Proteinfaltung. Diese krankheitsverursachenden Prionen neigen - wegen ihrer veränderten biochemischen und physikalisch-chemischen Eigenschaften - zur Verklumpung und sind gegenüber den üblichen Desinfektionsverfahren - Hitzebehandlung oder Inaktivierung mit Chemikalien - äußerst stabil. Sie sind auch in der Lage, normale Prionproteine (PrP^c) in infektiöse Prionen (PrP^{Sc}) umzuwandeln. Dies geschieht über eine Art Kettenreaktion: Durch die Anlagerung falsch gefalteter Prionproteine wird die Faltung körpereigener Prionproteine in eine pathogene Form verändert, die wiederum weitere Proteine umformen kann.

Prionen-assoziierte Infektionen, wie die Rinderseuche „BSE“ (Bovine spongiforme Enzephalopathie), die Traberkrankheit bei Schafen (Scrapie), der chronische Kräftezerfall (Chronic Wasting Disease; CWD) bei Rotwild oder Kuru, eine durch Kannibalismus übertragbare Prionenerkrankung, führen zu schwammartigen degenerativen Erkrankungen des Gehirns. Die Fachwelt bezeichnet sie deshalb insgesamt auch als TSE (transmissible schwammartige Enzephalopathien).

Nicht jede Prionenkrankheit beruht auf einer Infektion. Beim Menschen tritt zum Beispiel die Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (CJK), eine tödlich verlaufende Erkrankung des zentralen Nervensystems, sporadisch, familiär-vererblich oder iatrogen-bedingt auf. Bei diesen Formen der Erkrankung kommt es ohne Infektion von außen zu einer Fehlfaltung der Prionproteine. Die

sporadische CJK wird bei älteren Menschen statistisch bei etwa einem Fall pro einer Million Einwohner beobachtet. Die von infektiösen BSE Prionen verursachte Variante dieser Erkrankung (vCJK), an der in Großbritannien zwischen 1995 und 2004 etwa 150 Menschen starben, betraf dagegen eher junge Erwachsene. vCJK steht in direktem Zusammenhang mit der Aufnahme von BSE Prionen über die Nahrung. Eine direkte Übertragung der vCJK von Mensch zu Mensch wurde bisher nicht beobachtet. In Deutschland sind bisher keine vCJK-Fälle aufgetreten.

2. Das Forschungsprojekt des Umweltbundesamtes zu TSE-Erregern im Boden

Spätestens nach dem Auftreten der ersten BSE-Fälle bei in Deutschland geborenen Rindern im Jahr 2000 stellte sich im Rahmen des vorsorgenden Bodenschutzes die Frage, ob BSE- und andere TSE-Infektionserreger auch über den Bodenpfad auf Tiere und Menschen übertragbar sind.

Das Risiko, das von einer mit TSE-Erregern potenziell kontaminierten Umwelt ausgehen kann, war wegen einer schmalen Datenlage schwierig zu bewerten. Voraussetzung für eine tragfähige Bewertung sind unter anderem spezifische Kenntnisse über die Eintragspfade der einzelnen Erreger sowie über die Persistenz der einzelnen Formen dieser infektiösen Biomoleküle im Boden. Der Wissenschaftliche Beirat Bodenschutz beim Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit empfahl deshalb im Jahr 2000 als erweiterte Bodenvorsorge auch Fragen zur Persistenz von Prionen, den Eintrag von TSE-Erregern in Böden und ihre potenziellen Wirkungen auf die Bodenzönose zu erörtern. Es war also zu klären, wie TSE-Erreger in die Böden gelangen können, wie lange sie dort stabil überleben und welches Infektionsrisiko von ihnen ausgeht.

Um die Persistenz infektiöser Biomoleküle in Böden unter realitätsnahen Bedingungen zu untersuchen, führte das Umweltbundesamt im Rahmen des Umweltforschungsplans (UFOPLAN) des Bundesministeriums für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit das Forschungsprojekt „Bewertung des Vorkommens und der Auswirkungen von infektiösen Biomolekülen in Böden unter besonderer Berücksichtigung ihrer Persistenz“ durch. Das Projekt lief von 2001-2007. Auftragnehmer war das Institut für Molekularbiologie und Angewandte Ökologie der Fraunhofer Gesellschaft (FhG-IME) im nordrhein-westfälischen Schmallenberg.

In der ersten Projektphase von August 2001 bis April 2002 bewerteten die Forscherinnen und Forscher die notwendigen Analysemethoden zum Nachweis von Prionen im Boden. Die auf dem Markt erhältlichen Testsysteme - die auf die Routineanalytik der Prionen ausgelegt sind - ließen sich nicht für die spezielle Boden-Analytik einsetzen. Somit etablierten die Auftragnehmer eine Methode zum Nachweis der Hamster-adaptierten Scrapie-Prionen (HaPrP^{Sc}, Stamm 263K), die eine Untersuchung von Bodenproben mit einer Nachweisgrenze der Prionproteine von etwa 100 Picogramm pro Gramm Boden erlaubt (ein Picogramm ist ein Billionstel Gramm). Diese Nachweisgrenze entspricht in etwa 2.000 infektiösen Einheiten.¹

Mit Hilfe dieser Methode führte der Auftragnehmer in einer **zweiten Projektphase** von August 2003 bis Juli 2007 Versuche zum Überleben von Prionen im Boden durch. Dazu wurden mit HaPrP^{Sc} infizierte Gehirne von Hamstern mit Boden gemischt, in Netzsäckchen verpackt und in

¹ Mehrere Forschergruppen arbeiten inzwischen an einer Methode (PMCA) mit höherer Sensitivität, die in Zukunft einen besseren Nachweis von Prionen in der Umwelt ermöglichen wird.

gesicherten Bodensäulen in 20 cm Tiefe in den Boden eingebracht. Die anschließende Beobachtung über einen längeren Zeitraum erfolgte unter natürlichen Witterungsbedingungen. Die vom FhG-IME in Schmallenberg durchgeführten Untersuchungen zeigten, dass die Konzentration pathogener Scrapie-Prionen im Boden zunächst schnell abnahmen, dann aber bis zu 29 Monate auf einem niedrigen Niveau konstant blieben. Nicht pathogene Prionen und natürliche, andere Proteine verschwanden in diesem Zeitraum dagegen vollständig. Dies lässt vermuten, dass sich pathogene Prionen wegen der Bindung an Bodenbestandteile dem mikrobiellen Abbau weitgehend entziehen. Eine Verbreitung der Prionen in benachbarte Bodenschichten erfolgte nicht. Dabei muss man berücksichtigen, dass die Nachweisgrenze der Analysemethoden für die Prionen relativ hoch und eine Verlagerung geringer Mengen an Prionen daher nicht nachweisbar war.

Danach folgten Untersuchungen mit zwölf syrischen Hamstern zur Infektiosität der im Boden verbliebenen Prionen: Die Forscher mischten dem Futter der Hamster geringe Mengen an kontaminiertem Boden bei. Auch hier zeigte sich, dass die Infektiosität der HaPrP^{Sc}-Prionen, selbst nach langer Verweilzeit im Boden - hier bis zu 29 Monate, erhalten bleibt. 162 Tage nach Verfütterung des kontaminierten Bodens wiesen alle zwölf Hamster typische Symptome einer Scrapie-Infektion auf. Eine im Juli 2007 publizierte Studie von Johnson et al. kam zu ähnlichen Ergebnissen und zeigte, dass die Bindung infektiöser Prionen an bestimmte Bodenpartikel die Infektiosität der Prionen wesentlich erhöhte. Auch die Verfütterung wässriger Extrakte der kontaminierten Bodenproben führte bei vier der zwölf Hamster zur Erkrankung mit Scrapie.

Dies zeigt: Auch Bodenextrakte, die mit infektiösen Prion-Proteinen kontaminiert sind, können über einen längeren Zeitraum infektiöse Prionen enthalten. Der Nachweis infektiöser Prionen über den Versuch mit den syrischen Hamstern war sensitiver als der analytische Nachweis im Boden, da bei der Verfütterung der infizierten Bodenextrakte Prionen in Konzentrationen unter der Nachweisgrenze bereits Infektionen bei den Tieren ausgelöst.

Das Friedrich-Löffler-Institut (Insel Riems) und das Robert-Koch Institut (Berlin) haben die Forschungsergebnisse des F²raunhofer-Instituts einer Qualitätskontrolle unterzogen und bestätigt. Erste Ergebnisse der TSE-Studie wurden im Mai 2007 in der Fachzeitschrift *PLoS One* veröffentlicht (Seidel et al., 2007).

Im November 2007 erfolgte die Präsentation der Ergebnisse im Rahmen des internationalen Workshops „Prions in soil - Persistence, Infectivity, Detection Methods, Bioavailability, Consequences -“ in Berlin. Die Konkretisierung weiteren Forschungsbedarfs war auch Thema auf diesem Workshop.

3. Bewertung der Ergebnisse hinsichtlich des Risikos für Mensch und Tier

Die Ergebnisse bestätigen erstens vorangegangene Untersuchungen zum Überleben von Prionproteinen in Böden über einen längeren Zeitraum. Zweitens zeigen sie zum ersten Mal, dass im Boden verbliebene Prionen nach Aufnahme durch das Maul - hier bei Hamstern - immer noch infektiös sind. Für den vorsorgenden Bodenschutz ist das Wissen über die Persistenz der pathogenen Erreger von großer Relevanz, um potentielle Eintragspfade zu regulieren.

² <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0000435>.

Das Risikopotenzial einer Übertragung infektiöser Prionen über den Bodenpfad ist nach Meinung der Experten aufgrund der Vielfalt spezies-spezifischer TSE-Erreger (Scrapie-Prionen bei Schafen, BSE-Prionen bei Rindern, CWD-Prionen bei Wildtieren etc.) und ihrer Unterschiede in der Freisetzung in die Umwelt differenziert zu betrachten:

Scrapie-Erreger: Die mit Hamster-adaptierten Scrapie-Prionen durchgeführten Untersuchungen lassen darauf schließen, dass Scrapie-Prionen nach Aufbringung auf sowie Einbringung in Böden über einen längeren Zeitraum infektiös bleiben können. Die Ergebnisse anderer Untersuchungen zeigten, dass Scrapie-Prionen gegenüber einer Inaktivierung durch ionisierende und ultraviolette Strahlung sehr resistent sind. Beobachtungen, dass sich Schafe immer wieder auf Weiden infizieren, auf denen zuvor Scrapie-infizierte Schafe weideten, stützen die Annahme einer nachhaltigen Gefährdung von Schafen durch Scrapie-kontaminierte Böden. Seit 1990 sind in Deutschland bisher 158 Scrapie-Fälle aufgetreten. Die Erkrankung tritt am häufigsten in Großbritannien und Zypern mit hunderten Fällen pro Jahr auf. Die gewonnenen Erkenntnisse über die Bioverfügbarkeit der Erreger in Böden werden dazu beitragen einer Ausbreitung von Scrapie auf dem Feld entgegen zu wirken. **Es gibt bisher keine Hinweise darauf, dass Scrapie-Erreger auf den Menschen übertragbar sind. Eine Gefährdung des Menschen ist daher nicht gegeben.**

BSE-Erreger: Im Unterschied zur Gefährdung der Schafe durch Scrapie-Erreger gibt es bisher keine Hinweise darauf, dass die Rinderseuche BSE über den Umweltpfad verbreitet wird. Vermutlich sind die deutlichen Unterschiede in den Eintragspfaden von Scrapie- und BSE-Prionen in die Umwelt dafür verantwortlich. Während Fäkalien Scrapie-infizierter Schafe sowie Blutverluste und Placenten beim Lammen infizierter Schafe auf der Weide die Haupteintragspfade von Scrapie-Erregern in die Umwelt sind, spielt dies bei Rindern keine Rolle. Es gibt bisher keine Hinweise darauf, dass Rinder infektiöse BSE-Erreger über den Darm oder die Placenta ausscheiden. Vergrabene Kadaver infizierter Rinder (wie beispielsweise in Großbritannien und Südkorea in großem Maßstab vorgenommen), können, sofern die Erreger im Boden stabil bleiben, ein potenzielles Risiko darstellen. Dies erfordert eine fundierte Risikoabschätzung.

Das internationale Normengremium ISO TC 190 „Soil Quality“ hat eine neue Arbeitsgruppe gegründet für die Ausarbeitung einer Norm zum Thema „Guidance of burial of animal carcass due to epidemic“. In Deutschland erfolgte keine Entsorgung BSE-infizierter Tierkadaver durch Vergraben im Boden.

Durch die bisher ergriffenen Maßnahmen zur Eindämmung der Rinderseuche BSE ist die Zahl BSE-infizierter Rinder in den letzten Jahren drastisch zurückgegangen. Nachdem im Jahr 2002 insgesamt 106 bestätigte Fälle von BSE in Deutschland auftraten, waren es im Jahr 2007 nur noch 4 Fälle. In Großbritannien, das im Jahr 1992 über 36.000 Fälle an BSE gemeldet hatte, ist die Zahl infizierter Rinder im Jahr 2007 auf 53 zurückgegangen. Auch in England gibt es bisher keine Hinweise für die Verbreitung von BSE über den Umweltpfad. In Deutschland bestand zu keiner Zeit ein ähnlich hohes Risiko wie in Großbritannien. Eine Gefährdung der Bevölkerung durch Versickerungswasser, Grundwasser oder Trinkwasser ist ebenfalls nicht zu erwarten, da in Trinkwasserschutzgebieten weder eine Tierhaltung noch die Ausbringung von Gülle oder Klärschlamm zulässig ist. Aufgrund restriktiver Schutzmaßnahmen und des zu vernachlässigenden Eintrags von BSE-Erregern in die Umwelt betrachten Experten die Gefahr einer Infektion von Tieren oder des Menschen mit BSE-Erregern über die Umwelt nach gegenwärtigem Kenntnisstand in Deutschland als nicht relevant.

CWD-Erreger: Über die Persistenz von Prionen, die Chronic Wasting Disease (CWD) bei Hirschen hervorrufen sind keine gesicherten Daten vorhanden. CWD trat bisher nur bei Rotwild in Nordamerika und Korea auf, wobei in diesen Ländern ein deutlicher Anstieg an Neuinfektionen zu verzeichnen ist. Eine mögliche Übertragung über die Umwelt durch Ausscheidungen infizierter Tiere ist wahrscheinlich. Eine Übertragung von CWD auf den Menschen trat bisher nicht auf. Es gibt aber zu wenig Daten, um eine Übertragung generell auszuschließen. In Deutschland sind bisher keine CWD-Fälle bei Tieren aufgetreten. Experten halten es für möglich, dass CWD mit Tieren oder tierischen Produkten nach Deutschland eingeschleppt wird. Im Sinne eines vorsorgenden Verbraucherschutzes untersuchen nationale und internationale Arbeitsgruppen das Verhalten von CWD in der Umwelt und eine mögliche Anpassung dieses Erregers an andere Wirte.

Glossar

BSE: Bovine Spongiforme Enzephalopathie (engl. "bovine spongiform encephalopathy"). Rinderkrankheit, landläufig "Rinderwahnsinn" genannt. Schwammartige Hirnerkrankung, die mit zentralnervösen Störungen einhergeht und tödlich endet. BSE trat 1985 erstmals in Großbritannien auf und wird durch die infektiöse, fehlgefaltete Form eines körpereigenen Proteins, dem Prion-Protein PrP^{Sc}, verursacht. Die Wissenschaft geht heute davon aus, dass BSE auf den Menschen übertragbar ist und eine neue Variante der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (vCJK) auslösen kann.

CJK: Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (engl. "Creutzfeldt Jakob Disease, CJD"). Durch Prionen verursachte schwammartige Hirnerkrankung beim Menschen, die die beiden deutschen Mediziner Creutzfeldt und Jakob in den 20er Jahren erstmals bei älteren Menschen mit Demenz beschrieben haben. Neuronen verklumpen im Gehirn, so dass dieses löchrig wird wie ein Schwamm. Eine Heilung ist bislang unmöglich. CJK tritt in verschiedenen Formen auf (sporadisch, vererblich, iatrogen), ist sehr selten und lässt sich erst nach dem Tod mit Sicherheit diagnostizieren. Pro Jahr tritt weltweit ein Fall pro eine Million Menschen auf. Aufsehen erregt jedoch eine neue Variante der Krankheit (vCJK), die erstmals Mitte der 90er Jahre in Großbritannien auftrat und einen Zusammenhang mit BSE aufweist.

vCJK: ist eine neue „Variante“ der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (engl. "vCJD"). Diese tödlich verlaufende Krankheit betrifft im Gegensatz zur klassischen CJK überwiegend junge Patienten. Epidemiologische und experimentelle Beobachtungen sprechen dafür, dass die vCJD ihren Ursprung in der BSE hat.

CWD: Eine durch Prionen verursachte chronisch zehrende Krankheit (engl. "chronic wasting disease") bei Wildtieren (vorwiegend Elche und Hirsche). Das Vorkommen dieser Erkrankung ist zur Zeit noch auf die USA und Korea beschränkt.

Encephalopathie: Sammelbegriff für nicht-entzündliche Erkrankungen oder Schädigungen des Gehirns.

FhG-IME: Fraunhofer Gesellschaft, Institut für Molekularbiologie und Angewandte Ökologie, Schmallenberg. Forschungsnehmer des BSE/TSE-UFOPLAN Projekts.

iatrogen: durch medizinische Behandlung hervorgerufen.

Kuru: eine epidemisch übertragbare Prionenerkrankung des Menschen, ähnlich BSE oder der Creutzfeld-Jacob-Krankheit. Nur beschrieben in Papua-Neuguinea und durch rituelle kannibalistische Praktiken, die inzwischen verboten sind, verursacht. Inzwischen ist die Erkrankung fast verschwunden.

Nukleinsäuren: Nukleinsäuren sind aus einzelnen Bausteinen (Nukleotide) aufgebaute Makromoleküle. Die genetische Information von Organismen wird in Form von Desoxyribonukleinsäure (DNA) und Ribonukleinsäure (RNA) kodiert.

pathogen: eine Krankheit verursachend.

PMCA: Nachweismethode für Prionen (engl. "protein misfolding cyclic amplification"). Die in Proben vorhandenen Prionen werden mit Hilfe dieser Technik "*in vitro*" in relativ kurzer Zeit exponentiell vervielfacht und damit besser nachweisbar.

Prionen: Proteinähnliche, infektiöse Teilchen (engl. "proteinaceous infectious particles"). Prionen sind Erreger, die vorwiegend aus Protein bestehen und für ihre Infektiosität keine Nukleinsäure benötigen (Prion-Hypothese). Durch Änderungen der Struktur des Prion-Proteins kommt es zu Ablagerungen im Gehirn mit einhergehender Zerstörung des Gewebes. Bei einer TSE-Erkrankung liegen Prionen somit in zwei verschiedenen Formen vor, in der natürlichen zellulären Form (PrP^{C}) sowie einer krankheitsauslösenden Form (PrP^{Sc}).

PrP^{C} : in Zellen („cells“) natürlich vorkommende, nicht infektiöse Isoform des Prion-Proteins. Die natürliche Funktion dieses leicht durch das Enzym Proteinase K abbaubare Protein ist nicht genau bekannt. Neueste Ergebnisse weisen darauf hin, dass Prionproteine für Nervenzellen eine wichtige Schutzfunktion ausüben.

PrP^{Sc} : pathologische, infektiöse Isoform des Prions; tritt ausschliesslich in infizierten Individuen auf und unterscheidet sich nur in der Struktur (Konformation) von PrP^{C} . PrP^{Sc} ist aufgrund seiner Konformation vor dem enzymatischen Abbau durch Proteinase K geschützt ist. Infiziert ein PrP^{Sc} eine entsprechende Zelle, so katalysiert es die Umwandlung normaler Prion-Proteine (PrP^{C}) in ihre pathologischen Formen (PrP^{Sc}). Das Synonym PrP^{Sc} (für: „Scrapie-Prion-Protein“) wird für alle TSE-Formen verwendet.

HaPrP^{Sc}: Scrapie-Prionen, die an Hamster adaptiert wurden (z.B. Stamm 263) und diese infizieren können.

Scrapie: ist eine seit etwa 200 Jahren bekannte durch Prionen verursachte und langsam tödlich verlaufende Erkrankung des Gehirns bei Schafen und Ziegen. Der Name Scrapie stammt daher, dass die erkrankten Tiere häufig unter einem starken Juckreiz leiden und sich ihr Fell abkratzen bzw. abscheuern (engl. "to scrape": schaben, verkratzen). Scrapie wird in deutsch auch "Traberkrankheit" genannt, da der Gang der erkrankten Tiere schwankend trabend wird. Eine Übertragung auf den Menschen erfolgte bisher nicht

TSE: Sammelbegriff für die durch verschiedene Prionen verursachten übertragbaren schwammförmigen Erkrankungen des Gehirns (engl. "transmissible spongiform

encephalopathies“) mit charakteristischen „Löchern“ im Gehirn und fortschreitendem geistigen Verfall. Zu TSE zählen: BSE bei Rindern, Scrapie bei Schafen, CWD bei Wildtieren sowie beim Menschen die vCJK-Erkrankung, Kuru und das Gerstmann-Sträussler-Scheinker Syndrom (GSS).

UFOPLAN: Umweltforschungsplan des Bundesministeriums für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit.

Westernblot: Verfahren zum Nachweis spezifischer Proteine in einem Proteingemisch. Die Proteine werden durch Gelelektrophorese aufgetrennt, auf eine Membran übertragen und mit spezifischen Antikörpern nachgewiesen.

Kontakt

Umweltbundesamt

Fachgebiet II 1.4 - Mikrobiologie, Parasitologie
Dr. Hans-Christoph Selinka

Corrensplatz 1
14195 Berlin-Dahlem

Telefon: 030/ 8903-1303

E-Mail: hans-christoph.selinka@uba.de