

ANKE WIETHÖLTER, KAI FRÖLICH, VOLKER STEFANSKI, Berlin

Prionkrankheiten beim Muffelwild in Deutschland

Schlagworte/key words: Mufflon, Prionen, TSE, Vorkommen, Genotyp, Risikobewertung, Deutschland

Einleitung

Das Muffelwild (*Ovis gmelini musimon*) ist eine in vielen europäischen Ländern verbreitete Wildschafunterart, wobei Deutschland wohl nach Tschechien den weltweit zweitgrößten frei lebenden Bestand mit ca. 20.600 Tieren besitzt. In Deutschland existieren rund 200 einzelne Muffelwildbestände, die überwiegend im 20. Jahrhundert aus Korsika und Sardinien sowie aus Zoos und Tiergärten eingebürgert wurden (PIEGERT und ULOTH, 2005).

Der Kontakt zu Hausschafen ist durch eine gemeinsame Nutzung des Habitats gegeben und stellt keinen Einzelfall dar (BORRMANN 1996). Seit dem natürlichen Vorkommen von Prionkrankheiten bei Mufflons in England (WOOD et al., 1992) und der Entdeckung der gleichen empfänglichen Gene beim Mufflon wie beim Hausschaf (SEO et al., 2001), muss davon ausgegangen werden, dass Muffelwild grundsätzlich für Prionkrankheiten empfänglich und eine Übertragung von infizierten Hausschafen möglich ist. Ziel dieser Studie war daher zu klären, (1) ob Prionkrankheiten bei Mufflons in Deutschland vorkommen und (2) welche genetische Empfänglichkeit die Population aufweist.

Prionkrankheiten

Auslöser dieser fatalen neurodegenerativen Erkrankungen sind der Hypothese nach Prionen (**proteinaceous infectious particles**), die allein als nukleinsäurefreies infektiöses Agens fungieren (PRUSINER 1982). Vereinfacht dargestellt wandelt sich dabei normales zelluläres Prionprotein (PrP^C) in die krankheitsassoziierte Form (PrP^{Sc}) um und lagert sich unlöslich im Gehirn ab. Diese Umwandlung und die folgende Kettenreaktion wird durch PrP^{Sc} initiiert, wobei die Entstehung von PrP^{Sc} als Auslöser auf verschiedenen Wegen möglich ist: zum einen spontan oder durch einen genetischen Fehler, zum anderen durch Ansteckung, d. h. Zuführung von PrP^{Sc} von außen.

Prionkrankheiten werden aufgrund ihrer Übertragbarkeit und der schwammartigen Veränderungen des Gehirns bei betroffenen Individuen auch als Transmissible Spongiforme Enzephalopathien (TSEs) bezeichnet. Sie kommen sowohl beim Menschen als auch bei Säugetieren vor, z.B. als Bovine Spongiforme Enzephalopathie (BSE) bei Rindern, Chronic Wasting Disease (CWD) bei nordamerikanischen Hirschen, Transmissible Mink Enzephalopathie (TME) bei Nerzen und Feline Spongiforme Enzephalopathie (FSE) bei Haus- und Großkatzen.

Bei kleinen Wiederkäuern kann TSE in Form von Scrapie und BSE auftreten, wobei BSE, abgesehen von einem Fall bei einer Ziege, bislang nur experimentell induziert wurde. Scrapie ist eine altbekannte Schafkrankheit. Schon aus dem 18. Jahrhundert finden sich erste Beschreibungen der Symptome und der Übertragbarkeit (LEOPOLDT 1759).

Die Namen für diese Erkrankung, Scrapie (engl. to scrape – kratzen) und Trab bzw. Traberkrankheit, leiten sich von den Hauptsymptomen wie Juckreiz und einem verändertem Gangbild ab. Darüber hinaus treten Verhaltensstörungen (Nervosität, Apathie, Absonderung von der Herde), Sensibilitätsstörungen (Lärmempfindlichkeit), sowie Haltungs- und Bewegungsstörungen (Ataxie, Tremor, Kreisbewegungen, Festliegen) auf. Bei den erkrankten Mufflons in England wurden Sensibilitätsstörungen, Ataxie, Tremor des Hauptes, Blindheit und Abmagerung, aber kein Juckreiz beobachtet (WOOD et al., 1992). Häufig wurde Kreuzlähme bei Mufflons mit TSEs in Verbindung gebracht, allerdings konnte dies nicht bestätigt werden (HARDT et al., 2003). Differentialdiagnostisch gesehen kommen für alle Symptome der Scrapie auch andere Schafkrankheiten wie Visna, Louping Ill, Listeriose, Aujeszkysche Krankheit oder Ektoparasiten in Betracht. Eine routinemäßige Diagnostik ist bislang nur *post mortem* an Gehirn- und Lymphknotengewebe mittels Schnelltests nach ELISA- oder Western Blot-Prinzip oder histologischer Untersuchung möglich.

1998 wurden in Norwegen Fälle von Scrapie entdeckt, die eine abweichende Klinik, Pathologie und Epidemiologie aufwiesen (BENESTAD et al., 2003). Seitdem wird Scrapie in die klassische bzw. typische sowie die atypische Form unterteilt. Bei atypischer Scrapie sind die Schafe meist klinisch unauffällig. Zu den Symptomen zählen Ängstlichkeit, Ataxie und Abmagerung. Es erkranken i. d. R. Tiere, die älter als 5 Jahre sind, und oft ist in der Herde nur ein Tier betroffen (BENESTAD et al., 2008). Vor diesem Hintergrund entstand die Hypothese, dass atypische Scrapie sporadischen Ursprungs ist und nur eingeschränkt oder gar nicht auf natürlichem Weg übertragen werden kann.

Klassische Scrapie dagegen ist sicher übertragbar, wobei vor allem die maternale Übertragung im Vordergrund steht. Durch direkten Kontakt

mit Nachgeburten, Milch und Ausscheidungen ist eine Infektion möglich. Da Prionen eine hohe Tenazität aufweisen und im Boden bis zu drei Jahre infektiös bleiben (BROWN und GAJDUSEK 1991), ist eine Infektion auch auf indirektem Weg möglich. In Island z.B. wurde durch ein altes kontaminiertes Stallgebäude noch nach 16 Jahren ein Scrapie-Neuausbruch verursacht (GEORGSSON et al., 2006).

Die Empfänglichkeit für Scrapie bei Schafen ist genetisch durch Polymorphismen des Prionprotein-Gens (PRNP) determiniert. Dabei sind vor allem die Codons 136, 154 und 171 mit folgenden Aminosäuren von Interesse: Alanin (A) oder Valin (V) an Stelle 136, Arginin (R) oder Histidin (H) an Stelle 154 und Glutamin (Q), Histidin oder Arginin an Stelle 171. Daraus lassen sich die fünf weltweit häufigsten Haplotypen (ARQ, ARR, AHQ, VRQ, ARH) ableiten (BELT et al., 1995), wengleich darüber hinaus noch weitere Polymorphismen bekannt sind. ARQ wird als der Wildtyp angesehen und ist bei archaischen Schafrassen häufig zu finden.

Das Allel VRQ ist mit hoher, das Allel ARR dagegen mit niedriger Empfänglichkeit für klassische Scrapie verbunden (BELT et al., 1995). Bei Schafrassen, in denen das Allel VRQ nicht vorkommt, haben jedoch Tiere des Genotyps ARQ/ARQ das höchste Scrapie-Risiko. Mit atypischer Scrapie sind dagegen die Allele AHQ, ARR und ARQ assoziiert (BENESTAD et al., 2008). Ferner wiesen ARQ/ARQ-Schafe bei experimentellen BSE-Infektionen die kürzeste Inkubationszeit auf (Houston et al., 2003).

Bei einem Vergleich der Sequenzen des PRNP von Schafen mit zwei Mufflons aus Japan wurden große Homologien deutlich (SEO et al., 2001). Unbekannt war bislang, ob und in welcher Häufigkeit Muffelwild in Deutschland einen Genotyp aufweist, der es für TSE besonders empfänglich macht.

Eigene Untersuchungen

Um zu klären, ob TSE bei Mufflons in Deutschland vorkommt, wurde ein Screening durchgeführt. Allerdings war es nicht flächendeckend angelegt, sondern konzentrierte sich auf Gebiete, in denen die Wahrscheinlichkeit TSE bei Mufflons zu entdecken als höher eingeschätzt

wurde. Die Einteilung der Untersuchungsgebiete erfolgte auf Kreisebene unter Berücksichtigung folgender Kriterien: (1) das Vorkommen von Scrapie-Neuausbrüchen bei Hausschafen, (2) die Muffelwildstrecke pro km² als Indikator für die Größe des Muffelwildbestandes und (3) die Hausschafbestände pro km² zur Abschätzung der Schafdichte. Untersucht wurden frei lebende Mufflons, sowohl erlegtes Wild als auch Fallwild, in den Jagdjahren 2006 / 07 und 2007 / 08. Der Hauptteil der Proben fiel jeweils in der Jagdsaison (August bis Januar) an. Schafshäupter wurden meist per Kurierdienst an das Institut gesandt, bei Widdern und auf großen Jagden erfolgte eine Beprobung vor Ort. Um sowohl klassische als auch atypische Scrapie diagnostizieren zu können wurden i. d. R. von jedem Tier der Hirnstamm, das Kleinhirn und die retropharyngealen Lymphknoten entnommen. Diese Proben wurden mit dem IDEXX HerdChek BSE – Scrapie Antigen Test Kit EIA® im Rahmen einer Kooperation von dem akkreditierten Labor des Berliner Institutes für Lebensmittel, Arzneimittel und Tierseuchen (ILAT) untersucht. Bei diesem enzymgekoppelten Immunadsorptionstest bindet ein Polymer selektiv an PrP^{Sc}, welches dann durch monoklonale Antikörper, gerichtet auf konservierte Bereiche des Prionproteins, detektiert wird. Die Durchführung erfolgte nach dem Standardprotokoll des Herstellers. Alle drei Gewebeproben eines Tieres wurden separat getestet.

Zur Bestimmung der genetischen Empfänglichkeit wurde eine Genotypisierung des PRNP bei einer repräsentativen Anzahl von Mufflons durchgeführt. Dazu wurden alle Tiere aus dem Screening ihrem Erlegungsort nach geographisch geordnet. Anschließend wurde aus jedem Gebiet je nach Größe und räumlicher Ausdehnung eine bestimmte Anzahl von Mufflons zufällig ausgewählt. Als Ausgangsmaterial diente für die TSE-Untersuchung entnommenes Gehirngewebe. Die Extraktion der genomischen DNA erfolgte aus 20-25 mg Gewebe mit einem handelsüblichen Kit nach Herstellerangaben. Mittels PCR wurde ein 862 Basenbaa (bp) langes DNA-Fragment, das den Leserahmen des Prionproteins enthielt, amplifiziert und anschließend aufgereinigt. Die Sequenzierung dieses PCR-Produktes erfolgte nach der Kettenabbruchmethode. Dazu wurden fluoreszierende

Didesoxyribonukleosidtriphosphate (ddNTP's) eingesetzt. Wenn diese von der Polymerase eingebaut werden, findet ein Kettenabbruch statt. Das Ergebnis sind unterschiedlich lange DNA-Fragmente deren letzte Base jeweils fluoreszenzmarkiert ist. Durch anschließende Elektrophorese wurden die DNA-Fragmente ihrer Größe nach aufgetrennt. Die unterschiedlichen Fluoreszenzen wurden detektiert und so konnte sukzessiv die Basenreihenfolge bestimmt werden.

Schlussfolgerungen

Diese Studie stellt die bislang größte Untersuchung zu Prionkrankheiten beim Muffelwild dar. Über 2.400 Gewebeproben aus 38 Landkreisen und einem Stadtstaat konnten im Screening untersucht werden. Alle relevanten Altersklassen (> 18 Monate) waren vertreten. Erste vorläufige Tendenzen lassen den Schluss zu, dass ein gehäuftes Auftreten von TSE beim Muffelwild gegenwärtig ausgeschlossen werden kann.

Insgesamt wurde von über 200 Mufflons die genomische DNA isoliert und die proteincodierende Sequenz amplifiziert. Von allen Tieren konnten die Prionprotein-Genotypen zweifelsfrei bestimmt werden und deuten auf eine geringe genetische Resistenz gegenüber klassischer Scrapie hin.

Um dauerhaft einen gesunden Wildbestand zu gewährleisten sollte bei Stücken mit Auffälligkeiten wie Störung der Koordination, gesteigerter Schreckhaftigkeit, Blindheit oder Abmagerung unbedingt eine Untersuchung auf Scrapie erfolgen. Dazu wird das Haupt benötigt, wobei eine Entnahme des Hirnstamms durch das Hinterhauptsloch ohne Beschädigung der Trophäe erfolgen kann. Um eine hohe Sensitivität der Untersuchung zu gewährleisten, sollten – wie in dieser Studie geschehen – alle drei Gewebeproben entnommen und ein geeigneter Schnelltest verwandt werden.

Zusammenfassung

Prionen werden als Auslöser der Transmissiblen Spongiformen Enzephalopathien (TSEs) angesehen. Fälle von Scrapie bei Mufflons in Eng-

land und gleiche Prionprotein-Gensequenzen bei Schaf und Mufflons deuten daraufhin, dass Muffelwild grundsätzlich für TSEs empfänglich ist. Um das Vorkommen von Prionkrankheiten beim Muffelwild in Deutschland zu untersuchen, wurden ein Populationscreening sowie eine Genotypisierung des Prionproteingens (PRNP) durchgeführt. Ersten Tendenzen nach kann ein gehäuftes Auftreten von TSE beim Muffelwild gegenwärtig ausgeschlossen werden.

Summary

Prion diseases of European Mouflon in Germany

Proteinaceous infectious particles (prions) are supposed to be the causative agents of prion diseases also known as transmissible spongiform encephalopathies (TSEs).

A report of scrapie in European mouflon from England and references of identical prion protein gene (PNRP) sequences in mouflon and sheep indicate that mouflon are susceptible to TSE. The aim of this study was to examine the risk of the occurrence of prion diseases in mouflon in Germany, including a population screening for prion diseases and genotyping of PRNP. First results indicate that frequent occurrence of TSE in the German mouflon population can be excluded.

Danksagung

Allen Jagdausübungsberechtigten, Förstern, Präparatoren und Wildhändlern sei ganz herzlich gedankt für die Einsendung bzw. Überlassung der Häupter und der Bereitschaft zur Mitarbeit. Ohne sie wäre die gesamte Studie nicht durchführbar gewesen. Den Landesministerien, Jagdbehörden, Jagdverbänden, Landesuntersuchungsämtern und Wildforschungsstellen gilt unser Dank für gewährte die Unterstützung. Die Förderung des Vorhabens erfolgte aus Mitteln des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV) über die Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE).

Literatur

- BELT, P.B.; MUILEMAN, I.H.; SCHREUDER, B.E.; BOS-DE RUIJTER, J.; GIELKENS, A.L.; SMITS, M.A. (1995): Identification of five allelic variants of the sheep PrP gene and their association with natural scrapie. – *J. Gen. Virol.* **76**: 509–517.
- BENESTAD, S.L.; ARSAC, J.N.; GOLDMANN, W.; NÖREMARK, M. (2008): Atypical/Nor98 scrapie: properties of the agent, genetics, and epidemiology. – *Vet. Res.* **39**: 19.
- BENESTAD, S.L.; SARRADIN, P.; THU, B.; SCHÖNHEIT, J.; TRANULIS, M.A.; BRATBERG, B. (2003): Cases of scrapie with unusual features in Norway and designation of a new type, Nor98. – *Vet. Rec.* **153**: 202–208.
- BORRMANN, K. (1996): Muffelwidder auf Abwegen. – *Unser Jagd* **10/96**: 40–41.
- BROWN, P. & GAJDUSEK, D.C. (1991): Survival of scrapie virus after 3 years' interment. – *Lancet* **337**: 269–270.
- GEORGGSSON, G.; SIGURDARSON, S.; BROWN, P. (2006): Infectious agent of sheep scrapie may persist in the environment for at least 16 years. – *J. Gen. Virol.* **87**: 3737–3740.
- HARDT, M.; RINGELMANN, K.; LÜCKER, E. (2003): Fallbericht über die „Kreuzlähme“ beim Muffelwild. – *Beitr. Jagd- u. Wildforsch.* **28**: 357–360.
- HOUSTON, F.; GOLDMANN, W.; CHONG, A.; JEFFREY, M.; GONZALEZ, L.; KOSTER, J.; PARNHAM, D.; HUNTER, N. (2003): BSE in sheep bred for resistance to infection. – *Nature* **423**: 498.
- LEOPOLDT, J.G. (1759): Der Trab ist auch eine Krankheit der Schaafe, und ist ansteckend. Von denen mancherlen Krankheiten des Schaafeviehes. – In: GÜNTHERN, C.F.: Nützliche und auf die Erfahrung gegründete Einleitung zu der Landwirtschaft. Fünf Theile. Berlin und Glogau.
- PIEGERT, H. & ULOTH, W. (2005): Der europäische Mufflon. 2. Auflage, Hamburg.
- PRUSINER, S.B. (1982): Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. – *Science* **216**: 136–144.
- SEO, S.W.; HARA, K.; KUBOSAKI, A.; NASU, Y.; NISHIMURA, T.; SAEKI, K.; MATSUMOTO, Y.; ENDO, H.; ONODERA, T. (2001): Comparative analysis of the prion protein open reading frame nucleotide sequences of two wild ruminants, the mouflon and golden takin. – *Intervirology* **44**: 359–363.
- WOOD, J.L.; LUND, L.J.; DONE, S.H. (1992): The natural occurrence of scrapie in mouflon. – *Vet. Rec.* **130**: 25–27.

Anschrift der federführenden Verfasserin:

ANKE WIETHÖLTER
Leibniz-Institut für Zoo- und Wildtierforschung (IZW)
FG Wildtierkrankheiten
Alfred-Kowalke-Str. 17
D-10315 Berlin
E-Mail: wiethoelter@izw-berlin.de

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Beiträge zur Jagd- und Wildforschung](#)

Jahr/Year: 2009

Band/Volume: [34](#)

Autor(en)/Author(s): Wiethölter Anke, Stefanski Volker

Artikel/Article: [Prionkrankheiten beim Muffelwild in Deutschland 423-426](#)