

## 2 Literaturüberblick

### 2.1 Geschichte der Bornaschen Krankheit

Die frühesten Berichte über klinische Symptome, die auf die heutige Bornasche Krankheit schließen lassen, reichen bis ins Jahr 1660 zurück (Galiberti 1660). Ein Jahrhundert später wurde in einem Buch von Johann Baptist VON SIND (von Sind 1767, 1781) die Bornasche Krankheit als „Kopfkrankheit“ bezeichnet (Hiepe 1958/1959; Dürrwald und Ludwig 1997). Einige Jahrzehnte später, 1823, trat im Südwesten Deutschlands, auf der Schwäbischen Alb, die „hitze Kopfkrankeheit“ mit hohen Verlusten in der dortigen Pferdezucht auf (Autenrieth 1823)<sup>1</sup>. In den nachfolgenden Jahrzehnten wurde beim Auftreten dieses Krankheitsbildes unter anderem von „halb-acuter Gehirn-Entzündung“ (Wörz 1858) und „subacuter Gehirnentzündung“ (Zanger 1863; Gierer 1870; Friedberger und Fröhner 1896) im Königreich Bayern und Württemberg gesprochen. Es folgten Namensgebungen wie „Encephalitis et Myelitis enzootica equi“, „Encephalomyelitis enzootica“, „epidemische Genickstarre“, „Genickkrampf“, „Hirnwuth“, „Meningitis cerebrospinalis enzootica“, „Meningitis subacuta cerebrospinalis“, „Meningo-encephalomyelitis simplex enzootica equorum“, „Nervenkrankheit“, „Polioencephalomyelitis non purulenta infectiosa“ und „Schlafsucht“. Im Jahre 1879 erschien diese Erkrankung in der sächsischen Region um Zwickau, Plauen und Auerbach und ebenso in abgemilderter Form im sächsischen oberen Vogtland (Dürrwald und Ludwig 1997). Berichten von WALTHER (Walther 1896, 1897, 1899) zufolge, kamen ortsgebundene Krankheitsfälle in der `Amtshauptmannschaft Borna´<sup>2</sup> (siehe auch Abb. 2. 1. 1/2) -einer Region in der Nähe von Leipzig- vor, was daher bald als Endemiegebiet angesehen wurde.

---

<sup>1</sup> Johann Heinrich Ferdinand Autenrieth (1772-1835) gab zusammen mit Christian Reil das „Archiv für Physiologie“, die erste physiologische Zeitschrift überhaupt heraus. A., von naturphilosophischen Ereignissen geprägt, war Professor in Tübingen und leitete dort seit 1805 die Medizinische Klinik der Universität.

<sup>2</sup> Früher sog. unterste staatl. allgem. Verwaltungsbehörde im Freistaat Sachsen, ein dem preußischen Kreis entsprechender Bezirk. Borna, heute Kreisstadt im Bezirk Leipzig, hat ca. 24000 Einwohner



Abbildung 2.1-1 Notgeldschein der Amtshauptmannschaft Borna: Gutschein über 50 Pfennig, Nutzung im Bezirk Amtshauptmannschaft Borna bis zum 31. Dezember 1919, Bezirksverband der Amtshauptmannschaft Borna (Foto: Autor).

Zur Namensgebung trugen Tierärzte wie KOHL (Kohl 1896) und Oberroßarzt<sup>3</sup> a. D. GENSERT (Gensert 1896) bei, die bei Auftreten der Erkrankung von 'Borna'scher Krankheit' sprachen. Auch im Süden von Sachsen-Anhalt und im Nordwesten Thüringens wurde die Krankheit als Borna'sche Krankheit bezeichnet (Dürrwald und Ludwig 1997). Erst im Laufe des 20. Jahrhunderts wurde der Name Borna'sche Krankheit von der Wissenschaft offiziell anerkannt und ins Englische als Borna disease (BD) übernommen (Ludwig et al 1973; Danner und Mayr 1973).

Eine der ersten wissenschaftlichen Arbeiten beschäftigt sich mit dem der klinischen Symptomatik und den angenommenen Ursachen der Borna'schen Krankheit (Siedamgrotzky und Schlegel 1896). Besonders wertvolle Erkenntnisse, gerade im Hinblick auf mögliche Ursachen, gelangen DEXLER (Dexler 1900) sowie JOEST und DEGEN (Joest und Degen 1909, 1911) durch ihre histopathologischen Untersuchungen.



Abbildung 2.1-2 Rückseite eines Notgeldscheins der Amtshauptmannschaft Borna (s. Abb. 2.1-1): Zeigt Burg Gndstein, romanische Wehranlage über dem Tal der Wyhra, gelegen in der Amtshauptmannschaft Borna. Erbaut im frühen 13. Jahrhundert (Foto: Autor).

<sup>3</sup> Dienstgradbezeichnung im früheren deutschen Heer, dem heutigen Dienstgrad Oberstabsveterinär entsprechend.

Zum einen wurden eine interstitielle Meningoencephalomyelitis und zum anderen erstmalig charakteristische intranukleäre Einschlusskörperchen in Neuronen des Hippocampus bei erkrankten Pferden festgestellt. Die als pathognomonisch anzusehenden (Joest und Degen 1911) eosinophilen Einschlusskörperchen in den Ganglienzellen deuten, retrospektiv gesehen, bereits auf eine denkbare Virusätiologie (RNA-Virus) hin. Diese Einschlusskörperchen wurden allerdings aus dem Wissen der damaligen Zeit heraus fälschlicherweise als Chlamydien<sup>4</sup> gewertet.

Auch bei Schafen fand man im Königreich Sachsen die Borna'sche Krankheit gegen Ende des 19. Jahrhunderts (Prietsch 1896; Walther 1899). Die ersten erfolgreichen Übertragungsversuche des Virus von erkrankten Schafen auf Kaninchen und Meerschweinchen, die dann auch wie erkrankte Pferde und Schafe entsprechende Symptome zeigten, wurden in Leipzig von Anton BECK und Hans FROHBÖSE 1926 geschildert (Beck und Frohböse 1926).

Im Jahre 1924 wurde die Krankheit bei Kaninchen experimentell erfolgreich ausgelöst, nachdem diese intracerebral mit Pferdegehirnmaterial, welches von Borna erkrankten Tieren stammte, inokuliert worden waren (Zwick und Seifried 1924, 1925). Damit war der Grundstein für die experimentelle Bearbeitung der Krankheit gelegt. Diese Untersuchungen wurden auf Grund der Häufigkeit des Auftretens der seuchenhaften Gehirn- und Rückenmarksentzündung der Pferde im hessischen Raum von der Gruppe um Wilhelm ZWICK in Gießen durchgeführt. Weitere Experimente folgten, wie z. B. 1926 die Passagierung in Kaninchen und dann die Rückübertragung von ultrafiltriertem Gehirnmaterial auf ein ursprünglich gesundes Pferd, bei dem dann auch wiederum die Borna'sche Krankheit induziert werden konnte (Dürwald und Ludwig 1997). Damit konnte die Virusätiologie gefestigt werden. In den Jahren 1927 und 1928 wurden die Ergebnisse aus den Studien der Gruppe ZWICK veröffentlicht, die erstmalig von so genannten Virus-Stämmen<sup>5</sup> berichten. Dabei handelt es sich um Virus-Stammlinien, gewonnen aus infiziertem Pferdegehirnmaterial, das in Kaninchen passagiert wurde. Daraus ergaben sich Stamm I, II, III, IV und V (Zwick et al. 1927; Zwick et al. 1928). Stamm V diente später als Vakzinationsstamm und wurde länger als ein halbes Jahrhundert zur prophylaktischen Impfung von Pferden und Schafen verwendet (Zwick und Witte 1931, 1932; Zwick 1939). Das vakuumgetrocknete Gehirnmaterial von Stamm V wurde unter Zugabe von Calciumchlorid von den 1930er bis in die 1950er Jahre in Giessen gelagert. Mit diesem Stamm induzierten Ehrhard NITZSCHKE und Harald VON SPROCKHOFF 1955 in

---

<sup>4</sup> Hierbei handelt es sich um ein in der Natur verbreitetes, kokkoides, gram negatives und obligat intrazellulär sich vermehrendes Bakterium, welches als sog. „großes Virus“ - nämlich an der Grenze der Mikroskopierbarkeit mit 200-400nm – zu den Zoonoseerregern zählt und unterschiedlichste Erkrankungen verursacht, oft im Respirationstrakt.

<sup>5</sup> Im Englischen spricht man von sog. „strains“ (Stämme)

Kaninchen und Ratten eine definierte Erkrankung (von Sprockhoff und Nitzschke 1955; Nitzschke 1958). Anzuchtversuche des Virus im bebrüteten Hühnerei als Wachstumsgrundlage und anschließende Übertragung auf Kaninchen mit Stamm V gelangen NITZSCHKE und ROTT (Nitzschke und Rott 1957; Rott und Nitzschke 1958). Ein weiterer Höhepunkt der Erforschung des Bornavirus war die Entdeckung des virusspezifischen komplementbindenden s-Antigens<sup>6</sup> durch VON SPROCKHOFF (von Sprockhoff und Nitzschke 1955; von Sprockhoff 1956). Hanns LUDWIG brachte den kaninchenadaptierten Stamm V 1978 an sein Institut an die FU – Berlin. Von da ab diente er als Referenzstamm und wurde hier weiter an Ratten und Zellkulturen adaptiert (Hirano et al. 1983). 1994 wurde im Labor von LIPKIN in den USA die erste Sequenzierung des Bornavirus mit Erfolg durchgeführt. Die RNA stammte aus gereinigten Virionen von Stamm V, die von BRIESE in das LIPKIN – Labor in den USA eingebracht wurden (Briese et al. 1994).

Zwischen 1920 und 1930 lag eine wissenschaftlich sehr kreative Zeit, in der zahlreiche Veröffentlichungen über das Thema Borna'sche Krankheit im Deutschen Sprachraum verfasst und wichtige Betrachtungen zur Krankheit gemacht wurden. So wurde das Virus in Tierversuchen erfolgreich auf Ratten, Meerschweinchen (Ernst und Hahn 1926a), Hühner und Mäuse mittels infizierter Gehirnsuspension übertragen (Nicolau und Galloway 1927). Auch bei Rindern stellten HAHN und ERNST (Ernst und Hahn 1927) eine der Borna'schen Krankheit ähnliche Enzephalitis fest, gefolgt von erfolgreicher Übertragung auf das Kaninchen. Auch ZWICK berichtete 1939 von Bornavirus-Infektionen bei Rindern (Zwick 1939).

Um die Krankheit einzudämmen, versuchte man, eine Impfung zu entwickeln. Dabei stellte sich bei der Anwendung von inaktivierter Gehirnsuspension nicht der gewünschte Erfolg eines Impfschutzes ein, insofern wurden zwei Lebendvirus-Impfstoffe verwendet (Ernst und Hahn 1926a; Zwick und Witte 1931, 1932). ERNST entwickelte in seinem Labor in Schleißheim einen Lebend-Impfstoff aus mit Bornavirus infiziertem Gehirnmaterial erkrankter Pferde, der nach dreimaliger Applikation subkutan in steigender Dosierung einen Impfschutz erzeugen sollte. ZWICK hingegen stellte eine Schutzimpfung, gewonnen aus virushaltigem Gehirnmaterial infizierter Kaninchen her, die nur einmalig den Pferden verabreicht wurde. Auf Grund der einfacheren Durchführung der Impfung, der besseren Zugänglichkeit von Ausgangsmaterial (Gminder 1934) und der verringerten Wahrscheinlichkeit von Verbreitung der infektiösen Anämie der Pferde (Fortner 1948) setzte sich die ZWICK'sche Vakzine, die auf dem Stamm V basierte, durch. 1939 führte ZWICK den mit Chlorkalzium getrockneten

---

<sup>6</sup> Im Englischen: soluble (löslich)

Impfstoff ein. 1960 testeten MÖHLMANN und MAAS den lyophilisierten<sup>7</sup> Bornavirus-Impfstoff (Möhlmann und Maas 1960). Es sollten sich schließlich hierbei keine stärkeren lokalen Impfreaktionen und keine sonstigen Anzeichen einer Erkrankung *post vaccinationem* einstellen. Der Virusimpfstoffgehalt wurde in verschiedenen Impfstoffverdünnungen an Kaninchen getestet (Fechner 1964). Bis 1992 wurde der Impfstamm „Dessau“<sup>8</sup> in den neuen Bundesländern den Pferden an der Vorderbrust subkutan verabreicht. In den alten Bundesländern nahm man Abstand von einer Lebendimpfung gegen BDV generell, da eine Übertragung von BDV und infektiöser Anämie der Pferde nicht ausgeschlossen werden konnte (Danner 1978). Außerdem konnte von verschiedenen Wissenschaftlern in Versuchen nicht eindeutig ein ausreichender Impfschutz oder eine Verminderung der Erkrankungshäufigkeit bestätigt werden (Ziegler 1933; Gminder 1934; Friedrichs 1951; Achtzehn 1955; Rauscher 1959; Möhlmann und Maas 1960; Schulz et al. 1968; Lorenz 1990; Rosner 1990). Nur bei wenigen Pferden konnte eine Antikörperbildung mittels IIFT nachgewiesen werden, die dann aber auch 16 Wochen *post vaccinationem* wieder abgesunken war (Lüthgen 1977). Weitere Versuche einer Belastbarkeit der unter Antikörper stehenden Pferde blieben bis dato aus (Danner 1982).

Latente Infektionen wurden von den Forschern IHLENBURG, BREHMER (Ihlenburg und Brehmer 1964) und MATTHIAS (Matthias 1954) bei Pferden, Schafen und Rindern nach künstlicher Infektion festgestellt, wo also keine klinischen Anzeichen zu erkennen waren.

Katzen und Ziegen wurden nun auch 1966 experimentell erfolgreich von IHLENBURG mit dem Virus infiziert (Ihlenburg 1966), zumal eine natürliche Infektion bei Ziegen schon von SCHULZE (1960) angenommen wurde (Schulze 1960).

In den 60er Jahren des 20. Jahrhunderts sank die Zahl der Pferde, die in der Landwirtschaft genutzt wurden, stark ab, sodaß die Wissenschaft zeitweise das Interesse an der BK verlor.

1968 konnten LUDWIG und PAULSEN am Institut für Hygiene und Infektionskrankheiten in Gießen, wo auch schon Zwick als Forscher tätig war, mittels fluoreszenzserologischem Nachweis, für den homologes Antiserum von Kaninchen verwendet wurde, Bornavirus-spezifisches Antigen in Gehirnabklatschpräparaten und Gefrierschnitten von Kaninchen und Pferd nachweisen (Wagner et al. 1968). Histologisch und auch mit der Komplementbindungsreaktion konnten indes nur wenige Proben als positiv gewertet werden, was für eine höhere Genauigkeit der Immunfluoreszenztechnik spricht.

Die ersten unumstrittenen Versuche BD-Virus auf einer Zellkultur anzuzüchten, gelangen LUDWIG et al. 1973 (Ludwig et al. 1973). Nach Anwachsen von Gewebekulturen aus

---

<sup>7</sup> Lyophilisieren: Konservierungsart, die unter Vakuum bei Minustemperaturen Wasser entzieht und damit den Bakterien die Lebensgrundlage entzieht und chemische Prozesse verlangsamt (Wiesner und Ribbeck 2000).

<sup>8</sup> Trockenimpfstamm aus dem damaligen Asid – Serum – Institut – Dessau, heute Impfstoffwerk Dessau-Tornau GmbH (IDT)

infiziertem Kaninchenammonshorn wurden diese Kulturen mit Affennierenzellen (Green Monkey Kidney – Zellen) kokultiviert. Es konnte nach mehreren Zellpassagen ein Antigenanstieg im Laufe der Inkubation festgestellt werden, der eine Vermehrung des Virus in dieser G 26 – Linie beweist. Hierbei entstand die erste persistent infizierte Zelllinie für BDV. Wie schon von DANNER und MAYR berichtet, konnte auch hier ein großes Wirtsspektrum in Zellkultur nachgewiesen werden. Es zeigte sich, dass einzelne Hühner, Ratten und sogar Spitzhörnchen<sup>9</sup> die Infektion zwar überlebten, aber mit mehr oder minder starken lymphozytären Infiltrationen im zentralen Nervensystem ebenso wie einem signifikanten Antikörpertiter reagierten und das infektiöse Virus weiterhin in sich trugen.

LUDWIG und BECHT (Ludwig und Becht 1977) konnten schon erste Hinweise auf die Dichte des Virus geben, die dann von ZIMMERMANN et al. (Zimmermann et al. 1994a) bestätigt werden konnten. Weiterhin konnten Beweise dafür geliefert werden, dass es sich sehr wahrscheinlich um ein RNA-Virus handelte, bei dem von infizierten Zelllinien ein 44 kDa<sup>10</sup> großes und ein 22 kDa großes Protein gebildet wurde, was mit Antikörpern präzipitierbar war. Wie sich später herausstellte, wurden diese in den Folgejahren als 40/38 kDa und 25 kDa Proteine eingestuft (Ludwig et al. 1988). In der Cerebrospinalflüssigkeit von Pferden konnten Bornavirus - spezifische oligoklonale Antikörper des Typ IgG nachgewiesen werden (Ludwig und Thein 1977), welche einen höheren Titer als im Serum erreichten und damit auf eine lokale Immunantwort im ZNS hinwiesen.

Ebenso konnten LUDWIG et al. im selben Jahr eine signifikant hohe Infektionsrate in der Gehirnflüssigkeit feststellen (Ludwig et al. 1977). KREY und LUDWIG konnten in ihren Experimenten an Augen von BDV - infizierten Kaninchen in der Retina vor Ausbruch der Krankheit schon Virus und Antigen feststellen (Krey und Ludwig 1977). Es entwickelte sich bei allen infizierten Kaninchen eine multifokale Retinopathie, welche wahrscheinlich auf eine Replikation des Virus in den Zellen hinweist (Krey et al. 1979a). Aufbauend auf diesen Befunden konnte die Ausbreitung des Virus über den Nervus opticus aus dem Gehirn nachgewiesen werden, was auf *intra - axonalen* Transport des Virus deutete (Krey et al. 1979b), eine Erkenntnis, die später für die Ratte bestätigt werden konnte (Carbone et al. 1987).

In der Giessener Forschergruppe wurden von NARAYAN (Narayan et al. 1983c), sowie HERZOG und ROTT (Herzog und Rott 1980) Experimente mit dem Feldvirus und dem in Zellkultur veränderten Virus durchgeführt. Das Laborvirus, als Hessen 80 (He – 80)

---

<sup>9</sup> Tupaja; *Tupaia glis*: Diese besitzen eine spitze Schnauze, ein graubräunliches Fell und haben eine Körperlänge von ca. 18 cm. Sie zählen zu den hoch entwickelten Insektenfressern (Insektenfressergebiss), sind aber Allesfresser, weisen Schädelmerkmale von Halbaffen auf und werden für Versuchszwecke in der Medizin benutzt.

<sup>10</sup> kDa: Kilo - Dalton; Dalton: atomare Masseneinheit; Einheit für die Angabe von Teilchenmassen; der 12. Teil der Masse des Kohlenstoffisotops C-12 entspricht 1 Dalton.

bezeichnet, wurde später von de la TORRE in den USA als Stamm He-80 genetisch aufgeschlüsselt (Cubitt et al. 1994a).

Heutzutage wird in vielen Gruppen mit dem Standardgenom, aus der ZWICK'schen Vakzine (Stamm V), als Referenzstamm gearbeitet (Briese et al. 1994).

DANNER und MAYR stellten die ersten erfolgreichen Ultrafiltrationsversuche an, nach denen das Virus eine Größe von 80 - 100 nm besitzen sollte (Danner und Mayr 1979). Dies konnte 1994 in der Gruppe um LUDWIG in Berlin bestätigt werden (Zimmermann et al. 1994a).

Die Einführung der Fluoreszenz-Antikörpermessung revolutionierte die BDV - Forschung. In der Münchner Gruppe wurden Versuche (Danner 1982) mit natürlich und experimentell infizierten Kaninchen durchgeführt, bei denen die Bildung von Serumantikörpern gegen das Borna - Virus nachgewiesen wurde (Danner et al. 1978b). Ebenso fanden Forscher in der Schweiz Antikörper im Serum von Kaninchen (Metzler et al. 1979).

LUDWIG et al. gelang es, Oberflächenproteine an Bornavirus infizierten Zellen mittels Antikörper aus der CSF<sup>11</sup> natürlich infizierter Pferde nachzuweisen (Ludwig et al. 1984). 1976 konnten LUDWIG und KOPROWSKI (unpubliziert) BDV-spezifische Antikörper bei psychisch erkrankten Menschen feststellen (Ludwig et al. 1988). Diese Befunde, die auf eine Infektion des Menschen hindeuten, wurden dann von der Arbeitsgruppe ROTT in detaillierten Untersuchungen bestätigt (Rott et al. 1985).

Unter der Institusleitung von Hanns LUDWIG wurden im Institut für Virologie in Berlin immunsupprimierte Kaninchen mit Bornavirus infiziert (Gierend und Ludwig 1981). Die Kaninchen zeigten nur schwache klinische Symptome, starben aber dennoch. Neuropathologisch zeigten sich kaum parenchymale und perivaskuläre Infiltrate und es zeigte sich nur eine reduzierte multifokale Retinopathie (Krey et al. 1981). Auf der Arbeit von NITZSCHKE (Nitzschke 1963) aufbauend, führten NARAYAN et al. ähnliche Versuche mit immunsupprimierten Ratten durch (Narayan et al. 1983a; Narayan et al. 1983b, c). Auch HIRANO et al. nutzten Ratten als Versuchstiere (Hirano et al. 1983; Narayan et al. 1983a), welche sich als geeignet für die Erforschung der persistenten und toleranten BDV – Infektion erwiesen.

Eine weitere Standardisierung gelang mit der Einführung des Zell - ELISA<sup>12</sup> – Tests (Pauli und Ludwig 1985), welche Virusneutralisationsmessungen zuließen (Ludwig et al. 1993).

Die Passagierung des Stammes V in Ratten führte dazu, dass erstmalig auch die Übertragung des BDV auf Mäuse gelang (Kao et al. 1984). Es stellte sich heraus, dass die Virulenz mit dieser Passagierung deutlich gegenüber Ratten gesteigert werden konnte (Kao 1985).

---

<sup>11</sup> CSF: Cerebrospinalflüssigkeit

<sup>12</sup> Enzyme-linked immunosorbent assay

In der Berliner Arbeitsgruppe um LUDWIG wurden das 14,5 kDa Protein (Schädler et al. 1985) und das Matrixprotein gp17 dargestellt; dieses spielt eine wichtige Rolle in der BDV – Infektion (Stoyloff et al. 1994). Ferner wurde ebenfalls das Nucleoprotein (N) von der Berliner Arbeitsgruppe erstmals näher charakterisiert (Ludwig et al. 1988). Monoklonale Antikörper gegen das N – und P - Protein konnten in der Berliner - und Giessener Gruppe unabhängig voneinander gewonnen werden (Thiedemann et al. 1992; Ludwig et al. 1993). Einen Durchbruch stellten Untersuchungen von LIPKIN dar, als 1990 die ersten cDNA-Klone von einer BDV-infizierten Ratte isoliert und charakterisiert werden konnten (Lipkin et al. 1990). Im Jahre 1994 konnte dann durch vorbereitende Arbeiten in Berlin (Pauli und Ludwig 1985) in LIPKINs Labor das genetische Material des BD – Virion<sup>13</sup> entschlüsselt werden (Briese et al. 1994). Es zeigte sich, dass BDV eine umhüllte, einzelsträngige und nicht segmentierte RNA negativer Polarität besitzt (Zimmermann et al. 1994a). Im selben Jahr wurde von Stamm He - 80 durch de la TORRE und Kollegen ebenfalls die genetische Sequenz ermittelt (Cubitt et al. 1994a; Cubitt et al. 1994b).

BDV ähnelt vom Aufbau den Viren der Familien Filoviridae<sup>14</sup>, Paramyxoviridae<sup>15</sup> und Rhabdoviridae<sup>16</sup> und wurde deshalb in die Ordnung der Mononegavirales, Familie Bornaviridae, eingegliedert (de la Torre et al. 2000).

BDV wurde auch bei Katzen festgestellt, die an der Nervenerkrankung „staggering disease“<sup>17</sup> leiden (Lundgren et al. 1993; Lundgren et al. 1995; Kokorsch 1997).

Neueren Erkenntnissen zu folge (Bode et al. 1994a) stellt sich die BK auch in einer „atypischen Form“ dar, bei der Auffälligkeiten in der Peripherie auftreten, wie z. B. rezidivierende Koliken und chronische Abmagerung.

Ursprünglich galt BDV als klassisches Tiervirus, doch auch beim Menschen wurde bei psychisch Kranken eine BDV – Infektion festgestellt (Bode et al. 1993; Bode 1995). In 1996 konnte eine sehr große Ähnlichkeit zwischen dem tierischen und menschlichen BDV festgestellt werden (Bode et al. 1996; de la Torre et al. 1996).

## 2.2 Ätiologie

Das BDV gehört zur Virusfamilie der *Bornaviridae* in der Ordnung der Mononegavirales (de la Torre et al. 2000). Es ist der bisher einzige Vertreter in dieser Familie. Weitere verwandte

---

<sup>13</sup> Virion: Komplettes, reifes Viruspartikel in Form eines Nukleokapsids (Kapsid und Nukleinsäure) mit oder ohne Lipoproteinhülle.

<sup>14</sup> Beispiele von Krankheiten deren Erreger aus dieser Familie stammen: Louping ill Krankheit, Bovine Virus Diarrhoe

<sup>15</sup> Beispiele von Krankheiten deren Erreger aus dieser Familie stammen: Masern, Staupe, Newcastle - Krankheit

<sup>16</sup> Beispiel einer Krankheit deren Erreger aus dieser Familie stammt: Tollwut

<sup>17</sup> Entzündliche Erkrankung des ZNS bei der Katze



Familien sind *Filoviridae*, *Paramyxoviridae* und *Rhabdoviridae*. BDV ist ein nicht-segmentiertes, einzel- und negativsträngiges, eingehülltes Virus mit einer Größe von 8,9 kb<sup>18</sup> (de la Torre et al. 2000). Gegenüber Hitze, Lösungsmittel, UV-Bestrahlung und Säure verhält es sich labil (Zwick 1939; Danner und Mayr 1979; Ludwig et al. 1988). Es weist keine besondere Resistenz auf und ähnelt in diesen Eigenschaften anderen verwandten Familien (Bode und Ludwig 2003b). BDV besitzt ein sehr breites Spektrum an empfänglichen Zellen, so z. B. Rattennervengliazellen, Schweine-, Rinder- und Katzenepithelzellen, Pferdefibroblastenzellen und auch menschliche Nervenzellen (Ludwig und Bode 2000). Weder der Wildtyp noch passagierte Laborvirusstämme induzieren einen zytopathogenen<sup>19</sup> Effekt. Dies führte dazu, die Immunfluoreszenztechnik anzuwenden, die es ermöglichte, BDV trotzdem in Zellkulturen sichtbar zu machen (Ludwig et al. 1973). Eine empfindlichere und neuere Methode stellt heutzutage das Mittel der Wahl in der Diagnostik dar, nämlich der Nachweis und die Quantifizierung von BDV-Komponenten über den ELISA (Ludwig und Bode 2000, Bode und Ludwig 2003a).

Freigesetzte infektiöse Partikel banden bei 1,22 g ml<sup>-1</sup> in CsCl. Sie zeigen 90 nm große eingehüllte Viren und auch 60 nm große ikosaedrische Partikel, die möglicherweise defekte Virusstrukturen oder Nukleokapside darstellen (Zimmermann et al. 1994a). Ähnliche eingehüllte Strukturen des BDV wurden auch von einer japanischen Gruppe anhand von Schnittpräparaten infizierter Zellen gezeigt (Kohno et al. 1999).

Eine Besonderheit von BDV ist es, sich ausschließlich im Kern der befallenen Wirtszelle zu replizieren. RNA und mRNA befinden sich zur Transkription und Replikation im Kern (Gosztanyi und Ludwig 1995).

Zwei verschiedene BDV – Stämme konnten ursprünglich aus Pferden isoliert werden, der Stamm V und He-80. Diese Stämme haben ein fast identisches virales Genom mit sechs ORFs<sup>20</sup>, welche die viralen Proteine kodieren. Vom 3´Ende kodieren ORF I und ORF II das Nucleoprotein (N, 38/40 kDa) und das Phosphoprotein (P, 24 kDa), ORF X1 kodiert das p10-Protein (X, 10 kDa), ORF III kodiert das Matrix-Glycoprotein (M, 17 kDa), ORF IV kodiert das Glycoprotein (G, 94 kDa) und ORF V kodiert die Large-Polymerase (L, 190 kDa) (de la Torre et al. 2000). Besonders im ORF I für das Gen p40 (als Translationsprodukt: Nucleoprotein) und im ORF II für das Gen p24 (als Translationsprodukt: Phosphoprotein) bestehen die wenigen signifikanten Unterschiede zwischen den Sequenzen der einzelnen Stämme (Bode und Ludwig 2001). Es wurde festgestellt, dass sich die Sequenzen untersuchter Pferde, Esel und Schafe untereinander nicht mehr als die Sequenzen verschiedener Pferde

---

<sup>18</sup> Kilobasen

<sup>19</sup> Zellschädigend

<sup>20</sup> ORF: Open Reading Frame, offenes Leseraster: Teil einer DNA/RNA-Sequenz zwischen einem Transkriptions/-lationssignal und einem Terminationscodon der potentiell in eine Peptidsequenz übersetzt werden kann.

unterschieden (Binz et al. 1994). Von einer Wiener Arbeitsgruppe konnte ein neuer Stamm (No-98) von einem mit neurologischen Symptomen eingeschlaferten Pferd isoliert werden, der sich in der Nukleinsäuresequenz um 15% von dem Referenzstamm unterscheidet. Die meisten Proteine zeigten allerdings kaum Veränderungen, doch das X-Protein unterscheidet sich zu 19% von dem des Referenzstamms (Nowotny et al. 2000). Es sind erhebliche Zweifel angebracht, ob es sich hier möglicherweise um einen unbedeutenden Zufallsbefund oder eine Kontaminate handelt, da die NOWOTNY-Gruppe nicht reproduzierbare Ergebnisse publiziert hat. In jedem Falle handelt es sich nicht um einen BDV-Subtyp (Ludwig, pers. Mtlg.).

Die Translationsprodukte N und P der mRNAs sammeln sich vorrangig im Zellkern der Wirtszellen und später im Zytoplasma (Briese et al. 1994). In dissoziierter Form liegt das p24-Polypeptid aus Gehirn- und Zellkulturzellen meist in der Form des 60 kDa-Polypeptids vor (Ludwig et al. 1988) und bildet zusammen mit dem p 40 das so genannte s-Antigen in der Bornavirus-Infektion (Ludwig und Bode 2000). Diese Polypeptide stellen die Hauptantigene für die humorale Abwehr des Wirts dar, wie bereits 1950 aufgedeckt (von Sprockhoff 1956; Nitzschke 1963).

Die Glycoproteine in BDV-infizierten Zellen und das Virion spielen im Infektionsgeschehen eine weniger wichtige Rolle als bei anderen Mononegavirales (Bode und Ludwig 2001). Das M- und G-Protein besteht aus zwei hydrophoben Anteilen, die an die Membran gebunden sind. Das G-Protein ist weder im Nucleoplasma noch im Cytoplasma nachzuweisen, es befindet sich hauptsächlich in der Kernhülle und mit geringem Anteil auch in der Cytoplasmahülle. Im Gegensatz dazu wurde das M-Protein im Nucleoplasma, Cytoplasma und in der Cytoplasmamembran festgestellt. Es ist möglich, dass der Carbohydratanteil des M-Proteins an der Anheftung des Virus an die Wirtszelle beteiligt ist (Gonzalez-Dunia et al. 1997). Im Experiment wirkten Antikörper speziell gegen diesen Carbohydratanteil infektionsverringend und konnten damit zur Neutralisation beitragen (Stoyloff et al. 1998). Die Nukleinsäure des Virus ist nicht polyadenyliert<sup>21</sup>. Monoklonale Antikörper gegen ein Glycoprotein von BDV konnten eine Zellfusion des Virus verhindern (Furrer et al. 2004).

An den 3' und 5' Enden des Genoms befinden sich extrazistronische<sup>22</sup> Sequenzen.

Der ORF V kodiert die L-Polymerase, welche eine hohe Ähnlichkeit zu denen der anderen verwandten mononegavirales - Virusfamilien aufweist (de la Torre et al. 2000). Die Proteine N und P spielen im Gegensatz zum M- und P-Protein eine entscheidende Rolle als wichtige Immunkomponenten im BDV-Infektionsgeschehen (Ludwig und Bode 2000). N und P Proteinkomplex führen zu einer starken, jedoch das Virus nicht neutralisierenden Abwehr des Wirtsorganismus (Ludwig et al. 1988; Ludwig und Bode 2000). Das N-Protein wird in der

---

<sup>21</sup> Polyadenylierung: Posttranskriptionales Hinzufügen einer Sequenz von Adenin-Nucleotiden an das 3' Ende der meisten eucaryontischen mRNAs.

<sup>22</sup> Nicht kodierende Sequenzen

frühen Phase des Infektionszyklus exprimiert und umkleidet die RNA, ist also am RNP<sup>23</sup> des Virus beteiligt (Pyper und Gartner 1997).

### 2.3 Natürliche Borna-Virus-Infektionen und Epizootologie

Viele Vertreter der Mononegavirales, wie auch das Bornavirus, sind Erreger bedeutender Tier- und Humankrankheiten (Bode 1999). Auf Grund der großen Homologie von BDV-Genomen wird angenommen, dass dieses Virus einen langen Evolutionsprozess durchlaufen hat und somit viel Zeit hatte, sich langsam an verschiedene Spezies, wie an das Pferd oder auch an den Menschen anzupassen (Ludwig und Bode 2000). Im Infektionsgeschehen muss streng zwischen Infektion und Krankheit unterschieden werden (Dieckhöfer et al. 2004b).

Natürliche Borna-Virus-Infektionen treten weltweit auf, von Europa über Nordamerika, Asien bis hin in den mittleren Osten bei Haus- und Nutztieren wie Pferden (Brugère-Picoux et al. 2000; Galabru et al. 2000; Taniyama et al. 2001; Hagiwara et al. 2002; Inoue et al. 2002; Weissenböck et al. 2002; Yilmaz et al. 2002; Dieckhöfer et al. 2004b), Schafen (Vahlenkamp et al. 2002), Rindern (Matthias 1954; Bode et al. 1994b; Hagiwara et al. 1996), Ziegen, Hunden (Weissenböck et al. 1998a), Katzen (Lundgren et al. 1995; Hübner et al. 2001), Kaninchen (Metzler et al. 1978), Ratten (Kao 1985) und Straußen (Malkinson et al. 1993), sowie Zoo- (Schüppel et al. 1994; Rott und Becht 1995) und Wildtieren (Degiorgis et al. 2000; Berg et al. 2001; Dauphin et al. 2001) auf. Kein Beweis für eine endemische BDV-Infektion konnte dagegen in Australien gefunden werden (Kamhieh et al. 2005).

Die klassische BK bei Pferden und Schafen scheint auf einige Regionen in der Schweiz (Metzler et al. 1976; Metzler et al. 1979), Österreich (Suchy et al. 1997; Weissenböck et al. 1998b; Nowotny et al. 2000) und Deutschland beschränkt zu sein (Schmidt 1912; Zwick und Seifried 1924; Beck und Frohböse 1926; Ludwig et al. 1985), wird allerdings nach neuerer Sichtung verteilt auf ganz Deutschland gesehen Ludwig und Bode 2000; Dieckhöfer et al. 2004b).

Wie in der o. g. Literatur beschrieben, zählen zu den Endemiegebieten der BK beim Pferd in Deutschland Teile Baden-Württembergs, Bayerns, Hessens, Sachsens, Sachsen-Anhalts und Thüringens. Es soll eine saisonale Häufung der BK-Fälle geben, die in den Frühjahrs- und Sommermonaten des Jahresrhythmus ihren Höhepunkt finden (Zwick 1939; Ludwig et al. 1985).

Ausgeschieden wird das Virus bei experimentell infizierten Kaninchen und Pferden über die Speicheldrüsen (Ernst und Hahn 1926b; Zwick et al. 1926), über Nasenschleim (Zwick et al. 1927; Richt et al. 1993; Herzog et al. 1994), über Harn und Milch (Zwick et al. 1932). Mittels

---

<sup>23</sup> Ribonucleoproteine: zellulärer RNA-Protein-Komplex unterschiedlicher Größe und Funktion

RT-PCR konnte auch noch weiterhin in Speichel, Nasen und sogar auch Konjunktivalflüssigkeit BDV-RNA nachgewiesen werden (Richt et al. 1993; Herzog et al. 1994). Eine Übertragung konnte nur bei wenigen gesunden Versuchstieren nach Kontakt mit BDV-infizierten Versuchstieren beobachtet werden (Zwick et al. 1927; Czech-Schmidt 1993). Eine intrauterine Übertragung konnte am Beispiel der Ratte aufgezeigt werden. Dabei wurde in einigen Embryonen und Neugeborenen persistent infizierter Ratten BDV im Gehirn nachgewiesen. Eine vertikale Übertragung beim Pferd von der Stute auf den Fötus konnte erstmals von einer japanischen Gruppe beschrieben werden (Hagiwara et al. 2000) und ist von der Berliner Arbeitsgruppe bestätigt worden (Steinbach, Ludwig, pers. Mtlg.).

In einigen Tierexperimenten wurde versucht, die BK durch Blutübertragung auszulösen. Hierbei wurde an die mögliche Übertragbarkeit durch stechende Insekten gedacht. Dabei wurde Blut von künstlich infizierten Kaninchen, bornakranken Pferden und Schafen auf gesunde Kaninchen, Pferde und Schafe i. c. oder i. v. übertragen. Es konnte keine BK ausgelöst oder Virus im Blut festgestellt werden (Lohr 1910; Zwick et al. 1927; Zwick et al. 1932). Mit Hilfe von stechenden Insekten versuchte ZIERER, eine Übertragung auf Versuchstiere zu provozieren, jedoch ohne Erfolg (Zierer 1939). Gleichermaßen zeigen Zeckenversuche, dass offensichtlich keine Übertragung über Zecken stattfindet (Schindler 2004). Eine abschließende Beurteilung des genauen Übertragungsweges steht allerdings noch aus (Bode und Ludwig 2003b).

Eine weitere Besonderheit stellt die geringe Infektiösität der BDV-Proben dar (Ludwig et al. 1988).

Die Ausbreitung im Körper ist noch ungeklärt, doch konnte *in vivo* von GOSZTONYI und LUDWIG eine axonale Ausbreitung von RNPs festgestellt werden (Gosztonyi et al. 1993; Gosztonyi und Ludwig 1995). Dass RNPs eine wichtige Rolle in der Infektion spielen, wurde auch von einer japanischen Gruppe vermutet (Nakamura et al. 2000). Der Transport von infektiösen Partikeln geschieht ferner auch über die Blutbahn in weißen Blutzellen (Bode et al. 1994c). 1996 konnten BODE et al. aus humanen und equinen PBMCs<sup>24</sup> das Borna-Virus isolieren (Bode et al. 1994c; Bode et al. 1996) und damit einen entscheidenden Infektionsnachweis außerhalb des Gehirns erbringen. Eine virämische Verteilung ist also möglich. Diese Erkenntnis wurde in Studien genutzt, um in PBMCs z. B. das BDV-p24-Gen zu ermitteln (Nakamura et al. 1995; Bahmani et al. 1996).

Die bisher äußerst gefürchtete Pferdekrankheit, die bei Ausbruch klassischer Symptome mit einer Mortalitätsstatistikrate von mehr als 90% einhergehen kann tritt heutzutage verhältnismäßig selten auf. In der ersten Hälfte des 20. Jahrhunderts erschien sie in Sachsen noch mit einer Inzidenz von bis zu 0,8% in einer sehr viel größeren Pferdepopulation von 150.000 Tieren, als sie in der letzten Hälfte des vorherigen Jahrhunderts mit einer

---

<sup>24</sup> Periphere mononukleäre Blutzellen: Blutmonozyten

durchschnittlichen Inzidenz von nur 0,01% bei einer wesentlich geringeren Pferdedichte von nur 20000 Pferden beobachtet wurde (Dürwald und Ludwig 1997). Bessere Haltungsbedingungen und auch die Nutzungsänderung vom Arbeitstier zum Hobbytier könnten dazu beigetragen haben, dass die BK im klinischen Sinne auch in den ehemals klassischen Verbreitungsgebieten (Zwick 1939) (Sachsen, Sachsen-Anhalt, Thüringen, Hessen, Baden-Württemberg und Bayern) stark rückläufig ist (Bode 1999).

Bei einer so hohen Mortalitätsrate, wie sie seiner Zeit angenommen wurde, müsste eine sporadisch auftretende Infektionskrankheit grundsätzlich von selbst verschwinden. Symptomlose, latente Infektionen konnten auf Grund der ausschließlichen *Post-mortem*-Untersuchungsweise bei natürlich infizierten Pferden nicht gefunden werden (Bode 1999). Studien aus verschiedenen Instituten ergaben eine Seropositivprävalenz der Antikörper zwischen 6% (Dürwald und Ludwig 1997) bei klinisch unauffälligen Pferden, 30-40% bei Beständen, in denen früher BK schon einmal aufgetreten ist (Herzog et al. 1994; Bode und Ludwig 1997), wie auch eine 30%-Rate bei gesunden Vollblütern aus Gestüten. Seroprävalenzen bei gesunden Pferden wurden unter anderem schon mittels Immunfluoreszenztest in den USA (27,3%) (Kao et al. 1993), in Frankreich (8,3%) (Brugère-Picoux et al. 2000), in Island (0%) (Bode 1999; Lüscho 2000) und in Österreich (<5%) (Weissenböck et al. 1998b) nachgewiesen. Mittels Western – Blot wurden Antikörperprävalenzen bei Pferden aus dem Iran (bis 18%) (Bahmani et al. 1996) und auch Japan (26%) (Nakamura et al. 1995) ermittelt.

Sehr schwere, protrahierte Krankheitsverläufe der BK mit parallelem Antigenanstieg in den PBMCs können sich von allein bessern und latent weiter bestehen, bei denen keine AG, wohl aber AK als Zeichen einer solchen nachzuweisen sind (Bode 1999).

Bei Pferden mit progredienter BK waren *post mortem* AG in PBMCs von 100 % zu finden und nur 42,9 % der Pferde zeigten sich seropositiv. In gesunden Beständen sind aktivierte Infektionen (AG-positiv) prozentual deutlich geringer als die der seropositiven Tiere (Bode 1999).

## 2.4 Tiermodelle und Pathogenese

Im Tierversuch können eine Vielzahl von Tierarten mit BDV infiziert werden. Nur in wenigen von diesen Versuchen wurde eine experimentelle Infektion mit nahezu ähnlichen Virusisolaten durchgeführt, wie sie bei natürlicher Infektion vorkommen (Zwick 1939; Nitzschke 1963; Hirano et al. 1983; Bode et al. 1996). So wurden hohe Dosen stark adaptierter Virusstämme auf unnatürlichem Wege (intracerebral) den Versuchstieren verabreicht (Bode und Ludwig 2001). Die experimentellen Untersuchungen führten zu einer persistenten Infektion des zentralen Nervensystems bei Hamstern, Ratten und Hühnern.

Einige Passagephasen des Laborstammes wurden in Tiere verschiedenen Alters verimpft, mit der Folge, unterschiedlichste klinische Symptombilder abwechselnder Intensität zu provozieren (Ludwig et al. 1985; Ludwig et al. 1988; Gosztonyi und Ludwig 1995). Es wurde herausgefunden, dass eine humorale, nicht neutralisierende Abwehr vorrangig ist und gegen das s-Antigen gerichtet ist. Erst später traten auch neutralisierende Antikörper bei Mäusen, Ratten und auch insbesondere bei Hühnern auf (Ludwig et al. 1993). Neutralisierende Antikörper können eine Infektionsausbreitung im Körper verhindern und tragen dazu bei, dass das Tier überlebt (Gosztonyi und Ludwig 1995; Stitz et al. 1998). Experimentelle Infektionen von Tieren wurden in den letzten 50 Jahren durchgeführt, obgleich nur die Kaninchen- und Rattenversuche mit neuen, nicht adaptierten BDV-Isolaten für die klinischen und neuropathologischen Eigenschaften von Interesse sind (Bode und Ludwig 2001).

Adulte infizierte Ratten leiden unter den typischen Symptomen, wobei die Krankheit phasenhaft verläuft. In der akuten Phase, in der die meisten sterben, entwickeln die Ratten Ataxie, Sensibilitätsstörung und Aggressivität. Die Ratten, die diese Phase überstanden, leben in der chronischen Phase der Krankheit kümmernd in Teilnahmslosigkeit ohne Pflegeverhalten weiter. Einige Tiere erblinden (Narayan et al. 1983c) oder entwickeln eine chronische Fettleibigkeit (Gosztonyi und Ludwig 1995; Ludwig und Bode 2000).

Bei neugeborenen infizierten Ratten bildet sich eine Infektion in allen Organen aus, wobei, klinisch gesehen, die Krankheit inapparent verläuft, also eine Immuntoleranz ausgebildet wird. Diese persistent infizierten Ratten können noch Jahre symptomfrei trotz nachweislich hoher Virustiter im Gehirn leben (Hirano et al. 1983; Kao 1985). Erstaunlich sind die nachweislichen Lerndefizite dieser immuntoleranten Ratten (Dittrich et al. 1989).

Goldhamster (Anzil et al. 1973), Baumhörnchen (Ludwig et al. 1973) und Eintagsküken (Gosztonyi et al. 1983) zeigten auch eine persistente Infektion, bei denen teilweise – vor allem aber bei *Tupaia glis* – Störungen im Sozialverhalten und in der Brutpflege zu beobachten waren (Sprankel et al. 1978).

Bei einer Temperatur von 39°C wird die Virusvermehrung rapide eingeschränkt. Dies könnte auch die geringe Empfänglichkeit bei der Maus<sup>25</sup> erklären (Danner et al. 1978a), wie sie auch schon früher erkannt wurde (Nicolau und Galloway 1927).

Mit mehreren Passagen in der Ratte konnten allerdings persistente Infektionen in der Maus ausgelöst werden (Kao et al. 1984).

Pathogenese und Übertragungswege sind indes noch nicht hinreichend geklärt.

---

<sup>25</sup> Körpertemperatur von 38-39,5°C

## 2.5 Neuropathologie und Histologie

Die Bornasche Krankheit wird aus neuropathologischer Sicht auch als nichteitrig Polioencephalomyelitis<sup>26</sup> enzootica<sup>27</sup> equorum eingestuft. Richtiger wäre die Bezeichnung Panenzephalitis<sup>28</sup>, da auch Bereiche unterhalb der corticalen Gebiete berührt sein können. Allerdings sind vor allem die graue Substanz der cerebralen Hemisphären und der Hirnstamm von Veränderungen betroffen (Gosztanyi und Ludwig 1995). Vom Mesenzephalon<sup>29</sup> sind die graue Substanz mit dem Nucleus oculomotorius<sup>30</sup>, die Substantia nigra<sup>31</sup> und die Lamina quadrigemina<sup>32</sup> von den Veränderungen berührt. Im Dienzephalon<sup>33</sup> sind Teile des Hypothalamus<sup>34</sup> und Thalamus<sup>35</sup> betroffen. Im Cortex cerebri<sup>36</sup> sind Hippocampus<sup>37</sup>, Gyrus olfactorius<sup>38</sup> und Bulbus olfactorius<sup>39</sup> betroffen. Folgende Regel gilt: Die Entzündung nimmt von den oberen lateralen Hirnsegmenten zu den medio- und laterobasalen corticalen Regionen und dem Gyrus cinguli<sup>40</sup> stark zu. Die Entzündungsreaktion lässt vom Hirnstamm nach caudal zum Mesenzephalon nach (Gosztanyi und Ludwig 1995). SCHMIDT und ZWICK berichteten auch von einer einhergehenden Amblyopie<sup>41</sup> und von schwarzem Star<sup>42</sup> bei Pferden (Schmidt 1912; Zwick 1939). WALTHER stellte ferner eine nichteitrig, lymphozytäre Infiltration der Retina fest und konnte Veränderungen der Neurone und auch eine Degeneration des Sehnerven im Zuge der BK erkennen (Walther 1952).

Während in peripheren und viszerale Nerven ähnliche Veränderungen wie im zentralen Nervensystem gefunden wurden (Matthias 1953), konnten in den viszerale<sup>43</sup> Organen keine pathologischen Veränderungen festgestellt werden (Gosztanyi und Ludwig 1995).

Klassisch lässt sich das Virus in erster Linie in den Neuronen des limbischen Systems nachweisen (Krey et al. 1979b; Ludwig et al. 1985), in denen Einschlusskörperchen

<sup>26</sup> Entzündung der grauen Hirnsubstanz und der Rückenmarks

<sup>27</sup> Infektionskrankheit, permanenter Aktivität, bei Tieren, die in einem begrenzten Territorium begrenzt auftritt (geringe Tendenz zur Ausbreitung, Krankheitshäufigkeit niedrig)

<sup>28</sup> Also eine das ganze Gehirn betreffende Entzündung

<sup>29</sup> Mittelhirn

<sup>30</sup> Parasympathisches Kerngebiet des III. Hirnnerven: N. oculomotorius

<sup>31</sup> Zuständig für unwillkürliche Motorik

<sup>32</sup> Vierhügelplatte: Mittelhirndach, mit Hör- und Sehbahnen gekoppelt

<sup>33</sup> Zwischenhirn

<sup>34</sup> Zuständig für autonome Funktionen e.g. Temperatur, Kreislauf, Hunger u.a.m.

<sup>35</sup> Auch Sehhügel genannt; größte graue Masse des Zwischenhirns

<sup>36</sup> Großhirnrinde

<sup>37</sup> Empfänger optischer, akustischer, taktiler und viszeraler Impulse

<sup>38</sup> Riechwindung: Teil des Riechhirns

<sup>39</sup> Riechkolben

<sup>40</sup> Großhirnrinde

<sup>41</sup> Sehschwäche

<sup>42</sup> Klinischer Sammelbegriff für den funktionellen Zustand völliger Blindheit ohne äußerlich erkennbare Ursachen.

<sup>43</sup> Visceralis: Zu den Eingeweiden gehörend

auftreten, die pathognomonisch<sup>44</sup> für die Krankheit anzusehen sind (Joest und Degen 1909). Ein Virus-spezifisches Antigen scheint an diesen Einschlüssen beteiligt zu sein. Das limbische System ist, entwicklungsgeschichtlich gesehen, eine der ältesten Gehirnregionen bei den Säugetieren und steuert Funktionen wie die Stimmung, das Verhalten und das Gedächtnis (Ludwig und Bode 1997).

Intrazellulär konnten Borna-Virusantigene bevorzugt im Zellkern nachgewiesen werden, sowohl über das ganze Nucleoplasma verteilt, als auch in abgegrenzten Bezirken (Joest-Degensche Einschlüsse). Vergesellschaftet damit fand man auch teilweise schwache Antigenpräsenz im Cytoplasma. Trotz Fehlen der Kerneinschlusskörperchen konnte Antigen festgestellt werden, somit ist der Nachweis von Einschlusskörperchen nur im positiven Fall diagnostisch verwertbar (Danner und Mayr 1973).

Gewöhnlich degenerieren die betroffenen Nervenzellen, in deren Umkreis sich eine Entzündungsreaktion ausbildet, nur wenig, sie bleiben morphologisch intakt. Es kann allerdings zu nekrotischen Veränderungen kommen, wenn die Entzündungsherde die neuronale Nährstoffversorgung zu stark behindern. Diese Entzündungen sind an Venolen häufig anzutreffen. Hier sammeln sich die perivaskulär erkennbaren Infiltrationen von Entzündungszellen wie Lymphozyten, Monozyten und wenige Plasmazellen (Joest und Degen 1911; Seifried und Spatz 1930; Seifried 1931). Monozyten und Mikrogliazellen sind am häufigsten anzutreffen. Nicht selten entwickelt sich parallel eine leichte Leptomeningitis (Gosztonyi und Ludwig 1995). Neben Neuronen zeigten sich bei Studien an verschiedenen Tieren auch Astrozyten<sup>45</sup> und Oligodendrozyten<sup>46</sup> als infiziert (Ludwig et al. 1985; Gosztonyi und Ludwig 1995; Stitz et al. 1995). Eine Interaktion zwischen einem Neurotransmitterrezeptor und einem BDV-Protein dürfte an der Penetration des Virus beteiligt sein und somit die Neuronen angreifbar machen (Gosztonyi und Ludwig 2001).

Mehrfach konnten trotz inflammatorischer Infiltrate im Gehirn bei natürlich und experimentell infizierten Tieren zu Lebzeiten keine prägnanten BK-typischen Symptome festgestellt werden. Andererseits konnte auch bei fatalen BK-Verläufen *post mortem* die Inflammation im Gehirn fehlen (Bode 1999, Nitzschke und Ludwig, pers. Mtlg.).

## 2.6 Klinisches Bild der Bornaschen Krankheit

Nach GALIBERTI (1660) führte VON SIND erste klinische Beschreibungen (von Sind 1767, 1781) folgendermaßen aus:

---

<sup>44</sup> Krankheitsbezeichnend, für eine Krankheit kennzeichnend

<sup>45</sup> Zur Makroglia gehörende Gliazellen; stoffwechselaktive Elemente des Netzhautneuronensystems mit Phagozytoseeigenschaften

<sup>46</sup> Oligodendrogliazellen: kleine Gliazellen bilden die Mark- oder Myelinscheide der zentralnervösen Nervenfasern.



„Die äußerlichen Kennzeichen dieser Krankheit bestehen darin: Das Pferd ist anfänglich traurig und versagt sein Futter; es lässt den Kopf und die Ohren hängen, hat Hitze und Schleim im Maul, trübe und wässrige Augen; wancket im Gehirn hin und her, als ob es schwindlich wäre; wird darauf ungeduldig, legt sich öfters nieder und steht wieder auf, drückt den Kopf gegen die Mauer oder schlägt solchen gegen den Bahren oder die Krippen dergestalt, dass es sich beschädiget; springt auch wohl in die Reifen und zeigt alsdann ein heftiges Bauchschlagen und Aufsperrn der Nasen; endlich fället es in convulsive Bewegungen, woran es meistens das Leben lässt...“.

KOHL beschrieb 1896 die BK beim Pferd als eine plötzlich auftretende, ohne Vorboten oder aber als eine mit Magen-Darm-Katarrh einhergehende Krankheit. Frühsymptome seien häufiges Gähnen, erhöhte Rektaltemperatur, Lichtscheue, tränende Augen, ikterische Kopfschleimhäute und beeinträchtigte Verdauung. Einige Tage später stellt sich ein bekümmertes Zustand des Patienten ein: Depressive Erscheinung mit gesenktem Kopf und unnatürlicher Stellung, ein schlafsüchtiger Zustand mit Phasen von Erregung und Unruhe, ungerichteter stolpernde Bewegung, bis die Tiere umfallen. Die Kau- und Schlingmuskulatur ist gelähmt, so dass eine Wasser- und Futteraufnahme meist nicht mehr möglich sind. Abhängig hiervon ist auch die vereinzelt vorkommende Heilung, die sich bis zu sechs Monaten hinziehen kann. In der Regel tritt der Tod nach 14 Tagen ein (Kohl 1896).

Auch SIEDAMGORTZKY und SCHLEGEL beobachteten im selben Jahr ähnliche Frühsymptome, zusätzlich aber auch Schüttelfrost. In der Hauptphase der Erkrankung fielen zusätzlich noch Sensibilitätsstörungen (von Hyper- bis Anästhesie), ein heißer Schädel respektive Genick, Gleichgewichtsstörungen, Kreis- oder Zeigerbewegungen, fibrilläre Zuckungen der Halsmuskulatur und bei tonischen Krämpfen eine gestreckte Kopfhaltung auf. Auch hier wird eine ähnliche Krankheitsdauer von etwa zwei bis drei Wochen angegeben, bei der sich die Symptome in ihrer Intensität in vier bis acht Tagen steigern und nur selten zurückbilden.

Langanhaltendes - Stunden bis Tage dauerndes - Niesen sah Fambach als Vorboten der Krankheit an (Fambach 1899).

SCHMIDT bezeichnet Mattigkeit, Schlafsucht und Appetitlosigkeit als Anfangssymptomatik. Später traten dann auch Schlingstörungen mit Verdauungsproblemen und Koliken sowie Ikterus auf. Bei der Mehrzahl der Patienten stellte er Bewegungsauffälligkeiten wie taumelnden Gang, Schwanken in der Nachhand und Zwangsbewegungen fest. Muskelkrämpfe einschließlich Zähneknirschen spielten bei über 80% der Pferde eine Rolle. Knapp die Hälfte zeigten Genickstarre; bei über der Hälfte wurde leichtes Fieber festgestellt (Schmidt 1912).

GOERTTLER und VÖHRINGER (Goerttler und Vöhringer 1954) fanden zusätzlich bei mehr als der Hälfte der erkrankten Hengste und Wallache eine Peniserektion und sprachen sich

gegen das von anderer Seite als zwangsläufig angesehene und einhergehende Symptom wie Zähneknirschen aus; Fieberfreiheit könne kein Gegenbeweis für die BK sein (Goerttler und Vöhringer 1948).

Im fortgeschrittenen Krankheitsstadium kann es auch zu verzögerter Pupillenreaktion und Amaurose kommen (Müller und Fritsch 1955).

Die o. g. vielfältigen Symptome sind häufig allerdings nicht eindeutig ausgeprägt und erschweren somit die Stellung einer eindeutigen Diagnose (Ludwig et al. 1985). Die Inkubationszeit wird mit drei Tagen bis zu 12 Monaten angegeben (Siedamgrotzky und Schlegel 1896), wobei sie im Mittel jedoch vier Wochen beträgt (Zwick 1939). Bei klinisch inapparenten Verlaufsformen sind aber auch Inkubationszeiten von mehreren Jahren möglich (Ihlenburg und Brehmer 1964; Ludwig et al. 1985; Lange et al. 1987). Dies heißt, dass sowohl für die BDV – Infektion wie auch die BK eine genaue Infektionszeit angegeben werden kann (Ludwig und Bode 2000).

## 2.7 Diagnostische Verfahren und Differentialdiagnosen

Bis in die 90iger Jahre des 20. Jahrhunderts kamen folgende Verfahren in der BDV-Diagnostik zur Anwendung: *post mortem*, histologischer Nachweis der Einschlußkörperchen in den Neuronen des Ammonshorns und perivaskulärer Infiltrate (Joest und Degen 1909); *post mortem*, weitere immunhistologische Verfahren zum Antigennachweis (Wagner et al. 1968; Gosztonyi und Ludwig 1984; Ludwig et al. 1988) und In-situ-Hybridisierungstechniken (Gosztonyi und Ludwig 1995), um aus Gehirnschnitten genetisches Material des Virus zu detektieren; *post mortem*, Virusanzucht aus Gehirnmaterial in Zellkulturen (Gosztonyi und Ludwig 1984, 1995; Herzog und Rott 1980); *intra vitam*, mit immunoelektrophoretischen Techniken zum Nachweis von AK im Liquor (Ludwig et al. 1977); *intra vitam*, Nachweis von Serumantikörpern mittels Komplementbindungsreaktion (von Sprockhoff 1954; Fechner 1955); *intra vitam*, serologischer Nachweis von AK mittels indirekter Fluoreszenz (Danner et al. 1978b; Lange et al. 1987; Bode et al. 1994a), mittels Western-Blot- (Ludwig et al. 1988) und ELISA- sowie immunoelektrophoretischen Techniken (Ludwig und Thein 1977; Bode et al. 1990; Briese et al. 1995); *intra vitam*, Nachweis von Virusantigenen in PBMCs mittels Durchflußzytometrie und Fluoreszenzanalyse (FACS<sup>47</sup>) (Steinbach 1994); Nachweis von Virusantigen in PBMCs und im Knochenmark speziell bei Ratten mittels RT-PCR-EIA<sup>48</sup> (Sierra-Honigmann et al. 1993).

Vorrangig basierte die Diagnostik bislang nur auf Antikörpertesten im Serum oder Plasma sowie auf dem Nukleinsäurenachweis in weißen Blutzellen (Bode und Ludwig 2003b; Ikuta et

---

<sup>47</sup> Fluorescence activated cell sorting

<sup>48</sup> reverse transcription-polymerization chain reaction-enzyme immunosorbent assay (RT-PCR-EIA)

al. 2002). Heutzutage wird nur noch eine 10 ml Citratblutprobe benötigt, um darin AK, AG und Immunkomplexe zu messen und hiermit eine Aussage über eine Aktivierung oder Latenz der BDV-Infektion im Zusammenhang mit dem klinischen Bild zu ermitteln. Diese spezielle ELISA - Technik ist in den Berliner Arbeitsgruppen von BODE und LUDWIG entwickelt worden und kann als einzige Untersuchung auch noch Immunkomplexiter messen. Dies ist ein bedeutender Marker, um eine Aussage zu Aktivität und Alter der Infektion zu machen (Bode et al. 2001). Eine weitere gängige Methode besteht darin, Virusproteine (Zell-Antigen) sowie Virusnukleinsäure aus dem Blut (Bode et al. 2001) und Gehirn (Lundgren et al. 1995) mit der PCR-Technik zu bestimmen (Ikuta et al. 2002). Ein Überblick über die BDV-Diagnostik ist in Abb. 2.7-1 in Form eines Flussdiagramms wiedergegeben.

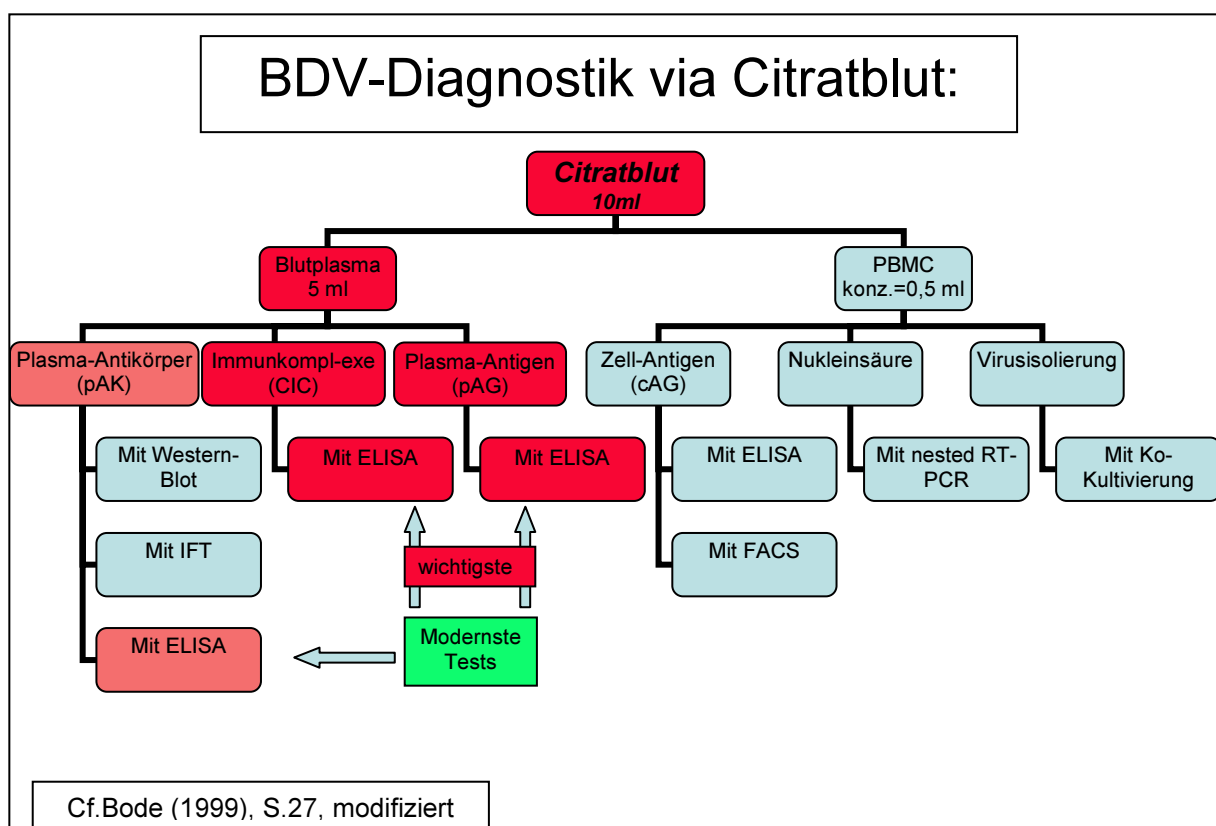


Abbildung 2.7-1

Zur genaueren Einschätzung und Bewertung der verschiedenen Tests, also etwa Aussagen über Spezifität, Sensitivität, Infektion, Krankheit, quantitatives Merkmal und Anwendungskomfort sei auf einen umfassenden Übersichtsartikel aus 2003 (Bode und Ludwig 2003a) verwiesen.

Differentialdiagnostisch muss die BK von anderen viralen, bakteriellen und toxischen (z. B. hepato-cerebrale Störungen, Intoxikation nach Obstipation) Enzephalitiden oder Erkrankungen, die solche vortäuschen, abgegrenzt werden. Tollwut, equines Herpes Virus 1 (EHV-1) - Infektion, Tetanus, Botulismus und posttraumatische Störungen von Hirn und Rückenmark sind hier insbesondere zu erwähnen. Auch andere Erkrankungen wie Lyssa,

Listeriose, akute Leptospirose, Erkrankungen aufgrund raumfordernder Prozesse in Gehirn und Hirnhäuten (z. B. Cholesteatome, Druse mit metastatischen Abszessen im Gehirn), Meningitiden (z. B. nach Druse und Beschälseuche), Hydrocephalus internus, Hirnanämie und –hyperämie (z. B. nach größerem Blutverlust, Herzerkrankungen), Hirnstörungen infolge Sonnenstich und Hitzschlag sowie Krankheiten, die mit erheblicher Störung der Motilität einhergehen (z. B. Hufrehe, Myoglobinuria paralytica, hereditäre Ataxie und Überanstrengung), ansteckende Blutarmut der Pferde und Epilepsie müssen ausgeschlossen werden (Hiepe 1958/1959).

## **2.8 Therapeutische Ansätze der BK in früherer Zeit und heutiger Stand der Therapeutik**

Wie schon im Abschnitt Geschichte 2. 1 erwähnt, versuchte man seit dem frühen 20. Jahrhundert dem Krankheitsbild der BK durch eine prophylaktische Lebendimpfung beizukommen (Zwick 1939; Möhlmann und Maas 1960; Fechner 1964); dies allerdings mit uneinheitlichen Ergebnissen (zur Übersicht siehe auch Dürrwald und Ludwig, 1997).

Ferner stellte sich die Frage nach einer wirksamen Behandlung der BK. So wird über Therapieversuche mit Sulfonamiden (Goerttler und Vöhringer 1948, 1954) bis hin zu solchen mit Hexamethylentetramin (Hexamin) (von Ostertag 1924) auch in Kombination mit Wassergabe per Magenschlundsonde (Achtzehn 1955) berichtet. Durch VON OSTERTAG (1924) initiiert, wurde in Württemberg zeitweise sogar eine gesetzliche Verpflichtung zur Behandlung mit Hexamin eingeführt. Bei mittelschweren bis schweren Pferden wurde empfohlen, 20g Hexamin in destilliertem oder abgekochtem Wasser gelöst täglich ein- bis zweimal, je nach Stärke der Krankheit, in die Blutbahn oder unter die Haut zu verabreichen, mit wechselndem Erfolg. In der Berliner Arbeitsgruppe von BODE und LUDWIG wurden in den 90iger Jahren *in vitro* - Versuche mit Hexamin durchgeführt. Es gelang erstmals, eine Hemmwirkung gegen BDV nachzuweisen (Bode und Stoyloff, unpubliziert), jedoch wurde kritisch gesehen, dass mit obiger Methode eine ausreichend hohe Wirkstoffkonzentration im Blut erreicht werden könnte (Bode 1999).

Ein verwandtes Präparat des Hexamins aus der gleichen Stoffgruppe der zyklischen Amine, der Wirkstoff Amantadin, erwies sich jedoch *in vitro* mit einem Humanisolat und *in vivo* bei einer depressiven Patientin als virostatisch und damit erfolgreich. Dieses im humanmedizinischen Bereich lange bekannte Arzneimittel erreichte eine sehr viel stärkere Infektionshemmung (ID<sub>50</sub>) bei einer viel geringeren Stoffkonzentration als Hexamin (Bode et al. 1997). Herauszuheben ist nicht nur der Hemmeffekt *in vitro*, sondern auch die erfolgreiche Inhibition humaner und equiner BDV-Isolate in Zellkultur (*in vitro* - Assays), bei denen der Virustiter im Gegensatz zu Versuchen mit Laborviren dosisabhängig signifikant

reduziert werden konnte (Bode et al. 1997; Bode et al. 2000; Bode und Ludwig 2003a). Daraufhin erfolgten erste präliminäre Behandlungsversuche an todkranken Pferden, die bei weit fortgeschrittener neurologischer Symptomatik in Einzelfällen zu spektakulärer Besserung führten (Thein, Bode, Ludwig, unpubliziert). Eine weniger stark ausgeprägte Symptomatik beim Pferd ließ hoffen, dass nach Amantadinbehandlung vollständige Symptomfreiheit erzielt werden könnte, ohne dass Nebenwirkungen zu befürchten wären (Bode 1999). An einer Reihe von Beispielen wurde erst kürzlich gezeigt, wie durchschlagend erfolgreich die Therapie mit Amantadin sich auf die BDV-assoziierte klinische Symptomatik bei Pferden auswirken kann (Dieckhöfer et al. 2004b).

## 2.9 Gesetzliche Grundlagen<sup>49</sup>

Um die Jahrhundertwende gab es konträre Auffassungen darüber, ob die BK unter das Seuchengesetz fallen sollte oder nicht (Gensert 1896; Schumm 1896; Siedamgrotzky und Schlegel 1896). Schließlich trat indes im gleichen Jahre das Gesetz der Anzeigepflicht für die Gehirn- und Rückenmarksentzündung der Pferde für die Königliche Provinz Sachsen in Kraft. Daran knüpfte im Jahre 1900 eine Verordnung zur Gewährung von Entschädigungen für betroffene Tierbesitzer an.

Im übrigen Deutschen Reich führten auch andere Provinzen wie der Freistaat Württemberg (1922) und der Volksstaat Hessen (1924) die Anzeigepflicht bei Pferden mit dieser Tierseuche ein.

In der ehemaligen Deutschen Demokratischen Republik wurde 1951 die Anzeigepflicht für die BK eingeführt. 1953 konnten Besitzer eines infolge Bornascher Krankheit mit Zustimmung des Kreistierarztes notgeschlachteten Pferdes nach erbrachter histologischer Beweisführung staatlich entschädigt werden.

Auch heute existieren noch Entschädigungsrichtlinien der Tierseuchenkassen bezüglich der BK für Baden-Württemberg, Bayern, Hessen, Sachsen-Anhalt und Thüringen.

Die BK ist für die heutige Bundesrepublik Deutschland, und zwar für den Westteil seit 1981, meldepflichtig. Andererseits besteht Anzeigepflicht für alle Formen der Pferdeenzephalomyelitis. Der Meldepflicht unterliegt die „ansteckende Gehirn-Rückenmarksentzündung der Einhufer“, unter die in juristischer Hinsicht Pferde und auch Schafe fallen. Andererseits wird das Bornavirus in der Tierseuchenerreger-Einfuhrverordnung zu den Tierseuchenerregern gezählt; laut dieser Verordnung löst das Virus die „seuchenhafte Gehirn-Rückenmarkentzündung der Pferde (Bornasche Krankheit)“ aus.

---

<sup>49</sup> Cf. Dieckhöfer, Bode et al. (2004b), 628ff.

Erläuterungen der heutigen gesetzlichen Auffassung der Bornaschen Krankheit finden sich von GEISLER et al. im Standardwerk „Lose-Blatt-Sammlung“ Tierseuchenrecht in Deutschland und Europa (o.J.). Dort wird das auslösende Virus als nicht klassifiziert eingestuft und erklärt, dass im Zuge der Krankheit, die 10-14 Tage, selten länger als 4-6 Wochen dauert, eine 80-90%ige Letalität auftritt. Die Diagnose wird durch histologische Untersuchung des Gehirns gestellt und durch den Erregernachweis (auch Antigen) nach Verimpfung auf Zellkulturen oder auch intracerebraler Verimpfung in Kaninchen sichergestellt. Eine Virusidentifikation erfolgt durch Immunfluoreszenz oder den Nachweis von komplementbindendem Antigen im Gehirn des beimpften Versuchstieres mit spezifischem Immuns Serum. Weiter heißt es dort, dass serologisch Antikörper im Liquor cerebrospinalis mit indirekter Immunfluoreszenz nachweisbar sind. Eine spezifische Therapie sei nicht gegeben.

Bis zum Ende des Jahres 2001 war der Pferdekauf in den §§ 481 bis 493 des BGB in Verbindung mit der sog. "Kaiserlichen Verordnung betreffend die Hauptmängel und Gewährsfristen beim Viehhandel vom 27. 03. 1899" geregelt. Einem dieser wenigen Hauptmängel<sup>50</sup>, nämlich Dummkoller, konnte die Bornasche Krankheit aus forensischer Sicht zugerechnet werden.<sup>51</sup> In diesem Fall stand dem Käufer Gewährleistungsanspruch zu.<sup>52</sup>

---

<sup>50</sup> Rotz, Dummkoller, Dämpfungkeit, Kehlkopfpfeifen, periodische Augenentzündung und Koppen

<sup>51</sup> Cf. Eugen Fröhner's Lehrbuch der Tierheilkunde, Kleinpaul und Dobberstein, Verlagsbuchhandlung von Richard Schoetz, Berlin, 1948, S.39 ff.

<sup>52</sup> Seit 01.01.2002 greift die Modernisierung des Schuldrechtes (als Vorgabe der EU), insofern gibt es sog. „Haupt- oder Nebenmängel“ nicht mehr. Der Verkäufer hat nun gem. § 433 Abs. 1 Satz 2 BGB die Verpflichtung, dem Käufer eine mängelfreie Sache zu verschaffen.

### 3 Problemstellung

Die Borna'sche Krankheit (BK) wird schon seit langer Zeit und in den letzten Jahren immer umfassender beforscht (Ludwig und Bode 2000). Einschätzungen zur Verbreitung der Infektion konnten bisher meist nur auf Grundlage von Verdachtsdiagnosen und von *Post-mortem* - Diagnosen gestellt werden (Achtzehn 1955) oder aber durch den Umstand, dass nur Antikörper im Blut nachgewiesen wurden. Diese Tests waren entweder wegen der zu ungenauen Testeigenschaften (mangelnde Spezifität und Sensitivität), wegen mangelnder Aussagekraft oder wegen zu geringer Probenanzahl bisher nicht repräsentativ für eine deutschlandweite Beurteilung der Infektion. Die in den letzten Jahren erarbeiteten Testverfahren der Berliner Arbeitsgruppe für die Werte von pAG, CIC und pAK, mithin der drei Bornavirus-spezifischen Blutparameter (Bode und Ludwig 2003a), versprechen eine höchst sensitive Methodik, die bereits bei einer großen Anzahl an Tieren durchgeführt wurde. In den vorliegenden Untersuchungen soll nun ein Überblick über die Verbreitung der latenten und auch der aktivierten BDV-Infektion, d.h., mit Nachweis von pAG und CIC im Blut in den einzelnen Bundesländern Deutschlands, gegeben werden. Des Weiteren, so war das Ziel dieser Studie, sollte das jahreszeitlich verschieden gehäufte Auftreten der BK durch eigene Untersuchungen mittels ELISA und Anamneseangaben vom jeweiligen Tierarzt oder Pferdebesitzer überprüft und jahreszeitlich mit den ausgewerteten modernen Blutparametern in Bezug gesetzt werden. In die Überprüfung sollten auch Geschlecht, Alter (Achtzehn 1951) und Rasse der Pferde als eventuelle Prädisposition mit eingeschlossen werden.

Anhand von Beispielen sollte die Wirksamkeit von Amantadin als bisher alternativlose Therapie eingesetzt, überprüft und auch im Hinblick verschiedentlich geäußelter kontroverser Meinungen neu bewertet werden.

Nicht zuletzt sollten bestehende Gesetzestexte aufgrund dieser Forschungsergebnisse erörtert und gegebenenfalls durch Neuerungsvorschläge redigiert werden.