



FACT SHEET

Botulinum Neurotoxin

Hintergrund

Bereits im 18. Jahrhundert wurde durch den württembergischen Mediziner Justinus Kerner (1786-1862) in ländlichen Gebieten eine Erkrankung beschrieben, die durch den Verzehr von roher oder schlecht verarbeiteter Wurst hervorgerufen wurde. Die Erkrankung wurde als sogenannte Botulus-Vergiftung beschrieben, nach dem lat. Wort botulus = Wurst. Die Betroffenen zeigten leichte bis schwere Muskellähmungen bis hin zum Tod durch Ersticken (Atemlähmung).

Im späten 19. Jahrhundert beschrieb dann der Belgier Emile van Ermengem nach einem verheerenden Vergiftungsfall durch ungekochten Schinken den Organismus und den von ihm produzierten Stoff, das sogenannte Toxin, das hierfür verantwortlich war. Den Organismus nannte van Ermengem *Bacillus botulinus* (später umbenannt in *Clostridium botulinum*). Die durch das Toxin hervorgerufene Erkrankung wurde später umbenannt in Botulismus.

Clostridium botulinum

Botulinum Neurotoxin wird meist von der grampositiven Bakterienart *Clostridium botulinum* produziert. Darüber hinaus wurden zudem einige wenige Stämme der Arten *Clostridium baratii* und *Clostridium butyricum* gefunden, die ebenfalls das Botulinum Neurotoxin produzieren. *C. botulinum* ist ein strikt anaerob lebender Organismus, von ihm gebildete Sporen können jedoch auch unter aeroben Bedingungen überleben und finden sich auf der ganzen Welt im Erdreich bzw. im Sediment von Binnengewässern oder marinen Küstengebieten wieder.

Da die Sporen von *C. botulinum* an vielen Orten zu finden sind können Lebensmittel bereits durch einfachen Kontakt damit kontaminiert werden. Auch ungenügende Hygiene kann dazu führen, dass Sporen oder vegetative Zellen von *C. botulinum* auf oder in Lebensmittel gelangen. Werden die Lebensmittel nur unzureichend konserviert und dann luftdicht verpackt, z.B. bei Wurstkonserven, so kann es zum Wachstum von *C. botulinum* kommen. Produzierte Toxine werden in das umgebende Medium abgegeben und gelangen so in die Lebensmittel. Der Verzehr von nur gering kontaminierten Lebensmitteln kann bereits schwerwiegende Vergiftungssymptome, den sogenannten Botulismus, verursachen.

Botulismus

Bei einer oralen Aufnahme des Toxins, z.B. durch Verzehr von kontaminierten Lebensmitteln, kann es bereits innerhalb weniger Stunden zu ersten Vergiftungssymptomen kommen. Charakteristisch hierfür sind zunehmende Lähmungserscheinungen, beginnend mit den sensitiven Augen- und Zungenmuskeln. Dadurch kommt es zu Beginn zu sogenanntem Doppelt-Sehen und einer zunehmend tauben Zunge und Schwierigkeiten beim Sprechen. Anschliessend sind periphere Muskeln in den Gliedmassen betroffen, wodurch es zu einer schlaffen Lähmung in Armen und Beinen kommt. Von dort wandern die Lähmungen weiter Richtung Körperinneres und befallen zuletzt die Zwerchfellmuskeln und führen damit über Atemlähmung und Kreislaufversagen zum Tod.

Eine Ansteckung ist anders als bei bakteriellen oder viralen Erkrankungen **nicht** möglich. Eine Übertragung erfolgt lediglich durch Verzehr derselben Lebensmittel oder Kontakt mit der Kontaminationsquelle.

Vom klassischen Botulismus unterscheidet man den sogenannten Säuglingsbotulismus, bei dem sich im Verdauungstrakt *C. botulinum* vermehrt und kontinuierlich Toxin an den Körper abgibt. Betroffen hiervon sind Kindern, jünger als 12 Monate, oder immunsupprimierte Erwachsenen. Darüber hinaus findet gibt es noch Wundbotulismus, bei dem (offene) Wunden mit *C. botulinum* infiziert sind und ebenfalls kontinuierlich Toxin produziert wird. Wundbotulismus findet sich vor allem bei intravenös Drogenabhängigen.

Therapie

Ein Heilmittel gegen Botulismus existiert bisher nicht, da das Toxin einmal in der Nervenzelle angekommen nicht mehr inaktiviert werden kann. Jedoch kann Toxin, das noch in der Blutbahn zirkuliert über Gabe von Antiserum (Antikörper) inaktiviert werden. Im Falle fortgeschrittener Intoxikation und Lähmung kann künstliche Beatmung für bis zu 6 Monaten nötig sein bis die betroffenen Nervenzellen neue Synapsen gebildet haben.

Früher wurde Laborpersonal, das mit Botulinum Neurotoxin arbeitete mit inaktiviertem Toxin geimpft. Heute wird mit Hinblick auf Resistenz gegenüber einer eventuell späteren klinischen Behandlungen mit dem Toxin davon abgeraten.

Aufbau/Struktur

Das Botulinum Neurotoxin ist ein proteinogenes Toxin und wird von *C. botulinum* als eine einzelne Peptidkette synthetisiert, dann aber im Zytoplasma noch in zwei Ketten gespalten, die sogenannte schwere Kette (HC = Heavy Chain) mit einem Molekulargewicht von ca. 100kDa und der leichten Kette (LC = Light Chain) mit ca. 50kDa, die über eine Disulfidbrücke verbunden sind (Bild 1).

Die schwere Kette besitzt zwei Domänen. Diese vermitteln die spezifische Bindung an die motorische Endplatte von cholinergen Nervenzellen sowie die Translokation des Toxins ins innere der Zelle. Die leichte Kette ist eine zinkabhängige Endoprotease, die in den Nervenzellen spezifisch sogenannte SNARE-Proteine der motorischen Endplatte schneiden und damit die Reizweiterleitung an den Muskel unterbinden.

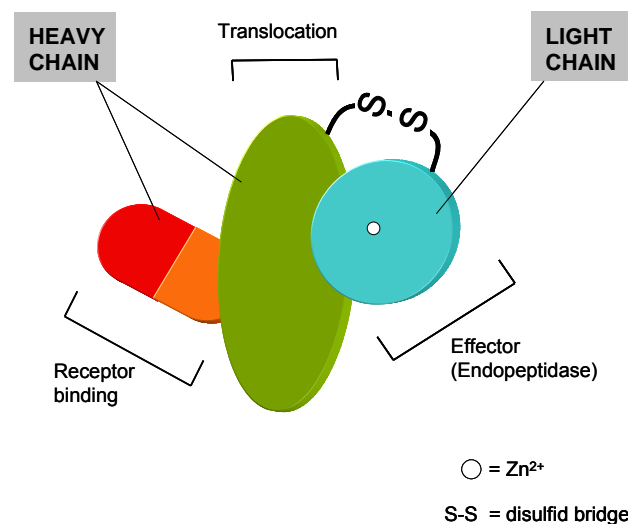


Bild 1: Schematische Darstellung der Struktur von Botulinum Neurotoxinen

Insgesamt unterscheidet man 7 unterschiedliche Botulinum Neurotoxin Serotypen, alphabetisch benannt Typ A-G. Zudem kennt man von jedem Serotyp diverse Subtypen, wie z.B. A1-A4. Diese Sero- und Subtypen werden von unterschiedlichen *C. botulinum*-Stämmen produziert. Die Serotypen unterscheiden sich sowohl in der Aminosäuresequenz (bis ca. 30% Unterschied) als auch in der Wirkungsweise. So schneiden Typ A und E das SNARE-Protein SNAP-25, Typ B, D, F und G Synaptobrevin, auch bekannt als VAMP und Typ C1 schneidet Syntaxin und SNAP-25. Die Subtypen zeigen ebenfalls zum Teil grosse Unterschiede in der Aminosäuresequenz (bis ca. 16%).

Humanen Botulismus verursachen die Typen A, B, E und F. Dabei findet sich in den meisten Fällen eine Intoxikation mit Toxin des Typs A.

Zur gleichen Zeit wie das Toxin werden auch so genannte NAPs (**N**eurotoxin **A**ssociated **P**roteins) gebildet. Diese bilden zusammen mit dem Toxin einen Komplex, der dem Toxin eine höhere Thermo- und Säurestabilität verleiht, was bei der Magen-Darm-Passage des Toxins von Bedeutung ist. Zudem wird vermutet, dass die Komplexproteine beim Übergang vom Verdauungstrakt in den Blutkreislauf eine Rolle spielen. Mit diesen NAPs besitzt der gesamte Toxinkomplex eine Größe von 650-900 kDa.

Wirkmechanismus

Das Botulinum Neurotoxin gelangt über die Verdauung kontaminierter Lebensmittel im Darm in den Blutkreislauf und von dort zu cholinergen Nervenzellen, die für die Reizübertragung auf Muskelzellen verantwortlich sind. An den Synapsen der motorischen Endplatte bindet das Toxin über die Bindedomäne der schweren Kette an zwei spezifische Oberflächenrezeptoren und gelangt anschliessend über Endozytose, vermittelt durch die Translokationsdomäne der Schwere Kette, in das Zytoplasma. Dort entfaltet die Endoproteinasedomäne der Leichten Kette ihre Wirkung und spaltet spezifisch Proteine des sogenannten SNARE-Komplexes. Dadurch wird die Fusion von synaptischen Vesikeln, die den Neurotransmitter Acetylcholin enthalten, mit der Plasmamembran der motorischen Endplatte verhindert. Wegen der fehlenden Ausschüttung des Neurotransmitters in den synaptischen Spalt wird die Reizweiterleitung zwischen Nervenzelle und Muskelzelle unterbrochen (Bild 2).

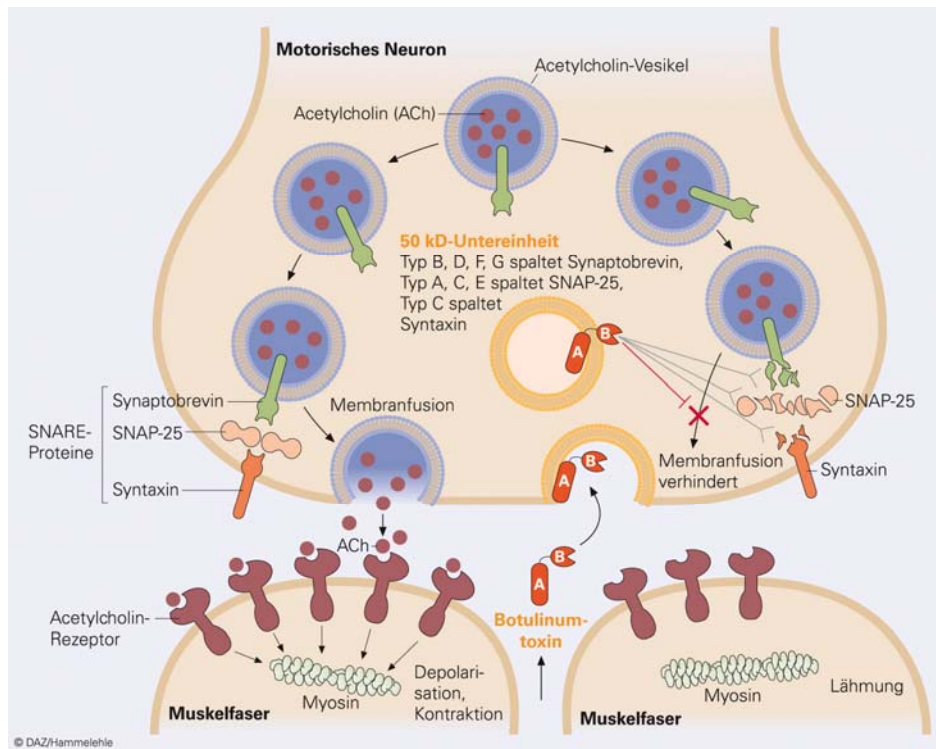


Bild 2: Darstellung des Wirkungsmechanismus von Botulinum Neurotoxinen

Toxizität

Botulinum Neurotoxin gilt als das stärkste in der Natur vorkommende Gift. Seine orale Toxizität übersteigt mit ca. 1µg/Person die des Pflanzengiftes Rizin um das 1000fache und ist auch um ein vielfaches giftiger als der C-Kampfstoff VX. Bei inhalativer Aufnahme liegt die Toxizität noch um einiges höher.

Da das Toxin im Komplex stabiler ist, gilt dieses generell als toxischer, zudem unterscheiden sich Sero- und Subtypen ebenfalls in ihrer Toxizität.

Nachweis

Die Verifikation einer Vergiftung erfolgt standardmässig über den letalen Maustest (DIN 10'102). Bei klinischen Proben (Serum- oder Stuhlproben) kann Botulismus diagnostiziert werden, wenn die Toxizität der Probe durch Zugabe von Antitoxin aufgehoben wird (Neutralisationstest). Die Proben werden verdünnt in Gelatine-Phosphat-Puffer und zu 100-1000µl in Mäuse (ca. 20g) injiziert und bei Anwesenheit von Botulinum Neurotoxin die charakteristischen Symptome beobachtet. Die LD₅₀¹ liegt z.B. bei Botulinum Neurotoxin Typ A bei ca. 5-20pg/Maus.

¹ LD₅₀ (engl. *lethal dose*) bezeichnet in diesem Fall die Menge an Toxin, die vollständig verabreicht 50% einer Gruppe von Versuchstieren tötet.. Der LD₅₀-Wert ist eine Möglichkeit die akute Toxizität einer Probe zu quantifizieren.

Weitere Standardmethoden sind Immunoassays gegen das Toxin oder andere funktionelle Tests, wie die Messung der Endoproteinaseaktivität der leichten Kette über Detektion des Endprodukts z.B. mit Hilfe der Massenspektrometrie.

Botulinum Neurotoxin als B-Kampfstoff

Botulinum Neurotoxin wurde unter anderem vom Irak und der ehemaligen Sowjetunion in grossen Mengen hergestellt. Auch haben Terrorgruppen wie die Aum-Sekte versucht in den Besitz des Toxins zu gelangen. Ein massiver Einsatz als B-Kampfstoff ist bisher noch nicht erfolgt.

Botulinum Neurotoxin wird jedoch als potentes Mittel für mögliche B-Terroranschläge betrachtet. Dabei wird vor allem eine Kontamination von Lebensmitteln mit dem Toxin befürchtet. In dieser Hinsicht gab es bereits einige kleinere Vorfälle, jedoch liess sich keiner mit einer terroristischen Gruppierung in Verbindung bringen.

Generell ist die Beschaffung und Aufzucht eines toxinproduzierenden *C. botulinum*-Stammes sowie die Gewinnung des Toxins schwierig.

Weitere Informationen im Internet

<http://de.wikipedia.org/wiki/Botulismus>

<http://medsana.ch/krankheiten/botulismus.html>

<http://www.abc-waffen.de/bio/botulismus.html>

http://www.rki.de/clin_091/nn_196658/DE/Content/InfAZ/B/Botulismus/Botulismus.html?__nnn=true

http://www.cdc.gov/nczved/dfbmd/disease_listing/botulism_gi.html

<http://www.cdc.gov/doc.do/id/0900f3ec8027202b>

<http://www.bt.cdc.gov/agent/botulism/factsheet.asp>

<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/botulism.html>

<http://www.emedicine.com/emerg/topic64.htm>

<http://www.emedicine.com/MED/topic238.htm>

<http://www.hpa.org.uk/webw/HPAweb&Page&HPAwebAutoListName/Page/1191942152226>

http://www.ama-assn.org/ama1/pub/upload/mm/36/2004_food_botulism.pdf

<http://healthlink.mcw.edu/article/954986455.html>

http://www.erie.psu.edu/seagrant/publications/fs/Botulism_12-2003.pdf

<http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/botulism.pdf>

<http://www.health.state.nm.us/pdf/BotulismAdvisory.pdf>

LABOR SPIEZ, 01.09.2008