



Berlin, den 24.06.2006

Stellungnahme

Zum Antwortschreiben des Robert Koch Instituts (RKI) auf das Auskunfts- und Akteneinsichtsbegehren der VDW zur Einstellung des Bornavirus-Projekts

In dem oben genannten Auskunftsbegehren der Vereinigung Deutscher Wissenschaftler e.V. (VDW) nach dem Informationsfreiheitsgesetz sind die in der Bornavirus-Forschung über Humaninfektionen wesentlichen Fragen gestellt worden, die vor allem die gesundheitspolitische Dimension dieser besonderen Virusinfektion beleuchten:

1. **Sind Menschen mit Bornavirus infiziert?**
2. **Geht ein Risiko für die psychische Gesundheit von Bornavirus-Infektionen aus in Analogie zum Tier?**
3. **Kann ein relevantes Infektionsrisiko von dem großen Spektrum infizierter Sport- und Haustiere (z.B. Pferd, Katze, Hund) im Sinne einer Zoonose ausgeschlossen werden?**
4. **Kann eine Gefährdung durch Bluttransfusionen, insbesondere Blutplasma, ausgeschlossen werden?**

Die grundsätzlichen Fragen (Nr. 1 und 2) können aufgrund der weltweiten Datenlage bejaht, die speziellen Fragen (Nr. 3 und 4) verneint werden.

Ich vertrete die These, dass das weltweit bereits seit 1985 beforschte Gefahrenpotential durch Bornaviren für die menschliche Gesundheit einen enormen Forschungsbedarf belegt, auch ohne die Pionierarbeit unserer Berliner Arbeitsgruppe explizit ins Feld führen zu müssen. Insoweit bestünde seitens des RKI die Notwendigkeit, eine Bornavirus-Gruppe einzurichten, um dessen gesetzlichen Auftrag nach dem Infektionsschutzgesetz (IfSG) zur Prävention, Erforschung und Bekämpfung von Infektionsgefahren Rechnung zu tragen. Dass stattdessen das Gegenteil geschieht und die bestehende Gruppe aufgelöst wird, obwohl sie seit 10 Jahren unter der Leitung von Frau PD Dr. Liv Bode erfolgreich und mit bemerkenswerten Erstbefunden zur weltweiten Bornavirus-Forschung beitragen konnte, hat nicht nur bei der VDW zur Hinterfragung der Begründung geführt.

Die Antwort des RKI, von Vizepräsident Prof. Burger in Vertretung des Präsidenten (Prof. Kurth) unterschrieben, bleibt allerdings eine Begründung schuldig, die den Grundsätzen der vom RKI institutionell in Anspruch genommenen wissenschaftlichen „Neutralität“ (Seite 2, Absatz 3; RKI-Antwort) genügen würde. Vielmehr ist sowohl in der Darstellung der „Vorgeschichte“, als auch in den Antworten zu den Fragen der VDW, sowie der zitierten Literatur keine amtlicher und wissenschaftlicher Neutralität entsprechende Balance erkennbar, wie im Folgenden belegt wird.

Replik zur Vorgeschichte

Einleitend halte ich einige Hinweise zur Vorgeschichte der Bornavirus-Nachweismethoden für erforderlich. Es versteht sich von selbst, dass bei infektionsbezogener Forschung die Methoden zum Nachweis des betreffenden Erregers oder seiner Bestandteile, möglichst im Blut, von zentraler Bedeutung sind. Über 10 Jahre, von 1985 bis 1995, gab es nur

Antikörperteste auf Immunfluoreszenzbasis (IFT) als indirekten Nachweis einer Bornavirus-Infektion. Diese habe ich selbst zusammen mit Prof. Rott in Giessen aufgebaut. Nach der Entschlüsselung des Bornavirus-Genoms durch zwei amerikanische Forschergruppen (mit Beteiligung meiner Gruppe) in 1994 gelang unserer Berliner Arbeitsgruppe ein Jahr später der Erstdnachweis von Nukleinsäure (RT-PCR-Methode) und Virusprotein (Antigen) in Blutzellen psychiatrischer Patienten (*Bode et al., 1995*). Antikörper mit IFT und Nukleinsäure mit RT-PCR (in weißen Blutzellen) sind weltweit die häufigsten Infektionsmarker und Methoden geblieben, obwohl ihre Aussagekraft und Empfindlichkeit nicht an unsere neuen ELISA-Teste, die fälschlich zum Sündenbock des aktuellen Konflikts gemacht worden sind, heranreichen.

Erst im Jahr 2001 publizierten wir die Entdeckung von Antigenschüben im Blutplasma und die in der Folge im infizierten Individuum entstehenden Antigen-Antikörperkomplexe (sog. CIC; zirkulierende Immunkomplexe) und die Entwicklung der dazugehörigen Testverfahren auf ELISA-Basis (*Bode et al., 2001*). Die Messbarkeit von Antigenen/Immunkomplexen hat zu einem neuen Verständnis der Bornavirus-Infektion beigetragen (bei Mensch und Tier), das Gesundheitsrisiken für eine Minderheit erkennbar macht vor dem Hintergrund einer etwa 30%igen Durchseuchung in der gesunden Bevölkerung.

Bereits in den **Anmerkungen des RKI zur Vorgeschichte** werden eine Reihe unzutreffender Behauptungen aufgestellt, falsche zeitliche und inhaltliche Zuordnungen vorgenommen, sowie der unzutreffende Eindruck einer Polarisierung unserer Gruppe gegenüber der gesamten weltweiten Forschung erweckt:

1. Unzutreffend: ELISA-Teste für Antigen und Immunkomplexe seit 1997 in der Kritik

- Die Teste, denen (zu Unrecht, siehe unten) fehlende Aussagekraft unterstellt wird, gibt es in Gänze erst seit 2001 (siehe oben), nicht seit 1997, wie fälschlich behauptet wird.

2. Unzutreffend: Beteiligung von Bornaviren an mentalen Störungen generell kontrovers

- Die Hinweise zur Rolle der Bornavirus-Infektion bei psychiatrischen Störungen entstammen der weltweiten Forschung (ca. 160 Publikationen) und basieren auf mehrheitlich erhöhter Häufigkeit (Prävalenz) positiver Befunde bei Patienten im Vergleich zu Gesunden, unabhängig von der eingesetzten Methodik. Es stimmt also nicht, dass die Hypothese einer Beteiligung der Bornaviren nur von unserer Gruppe vertreten wird und generell kontrovers ist, wie das RKI glauben machen will und damit die Daten anderer Arbeitsgruppen ignoriert.

3. Unzutreffend: Ringversuche durchgeführt zur Prüfung unserer Teste

- Besonders gravierend ist die falsche Behauptung, die Ringversuche seien zur Evaluierung der Teste unserer Arbeitsgruppe durchgeführt worden. Diese Evaluierung wurde ganz im Gegenteil trotz entsprechender Vorstöße unsererseits immer wieder abgelehnt. Vielmehr wurden im Rahmen der Ressortforschung des Bundesministeriums für Gesundheit (BMG) seit 1996 bis 2002 drei Ringversuche mit allen in der Bornavirus-Forschung tätigen Gruppen in Deutschland durchgeführt, wobei IFT-Antikörperteste und Nukleinsäurenachweise verglichen wurden. Die Einbeziehung insbesondere der Immunkomplex- (CIC) Teste in diese Ringversuche, zuletzt von Frau Dr. Bode im Rahmen einer Podiumsdiskussion in Tübingen im Frühjahr 2004 vorgeschlagen, wurde bis heute nicht realisiert.
- Für eine neue Initiative, die von mir am 20.06.2006 kommuniziert wurde, haben Ärzte im parlamentarischen Ausschuss für Gesundheit ihre Unterstützung zugesagt. Dieser **neue Ringversuch-Vorschlag** (erstellt zusammen mit Frau Dr. Bode) ist hervorragend geeignet, die Fähigkeit unseres Antikörpers zur spezifischen Immunkomplexbindung im ELISA mit der des im RKI- Gutachten verwendeten „Prüfantikörpers“ direkt in einem großen Praxistest unabhängiger Laboratorien vergleichen zu lassen. Damit kann ein unangemessener Richtungsstreit objektiv und schnell geklärt und dem Vorsorgeprinzip gegenüber

infektionsbedingten Risiken Rechnung getragen werden, anstatt die Forschung zu liquidieren.

- Bemerkenswert ist in diesem Kontext, dass der RKI- Leitung Ergebnisse von Frau Dr. Bodes Gruppe bereits vor Jahresende 2005 vorlagen, die identische Eigenschaften beider Antikörper in einem solchen Vergleichstest belegen (siehe auch *Flower and Ludwig, [2006]*). Trotzdem wurde und wird bis heute an der mit diesem Experiment bereits widerlegten Behauptung (zur Rechtfertigung der Beendigung eines erfolgreichen Forschungsprojekts) festgehalten, unser Antikörper sei unspezifisch.

4. Unzutreffend: keine Reproduzierbarkeit unserer Tests durch andere Gruppen

- Ebenso gravierend wie falsch ist die Behauptung, dass die Befunde unserer Berliner Arbeitsgruppe nicht durch andere Gruppen reproduzierbar gewesen wären. In einem im Jahr 2000 von Frau Dr. Bode am RKI organisierten Workshop, an dem Repräsentanten der Forschergruppen aus Freiburg, Tübingen, Leipzig und Langen (Paul-Ehrlich-Institut) teilgenommen hatten, wurde die gute Reproduzierbarkeit und Robustheit unserer zu diesem Zeitpunkt existierenden Antigen- und Antikörperteste (ELISA) bestätigt. Eine weitere Evaluierung in den Heimatlabors, zu der Testreagenzien von uns verschickt worden waren, wurde leider von den deutschen Forschergruppen nicht aufgegriffen (Ausnahme Teilnehmer aus Leipzig).
- Die Reproduzierbarkeit der ELISA-Tests inklusive des hinzugekommenen Immunkomplex- (CIC)-Tests wurde im sogenannten Doppelblindverfahren mit jeweils über 1000 Proben durch Kooperationspartner vor allem in Australien (University of Sydney) und Italien (Università La Sapienza, Rom) voll umfänglich bestätigt. Die Tests werden dort zu epidemiologischen Untersuchungen zur Verbreitung der Bornaviren in diesen Ländern und zu klinischen Studien eingesetzt. Dies hat aufgrund einheitlicher Methodik direkt vergleichbare Häufigkeitsdaten über Bornavirus-Infektionen in anderen Kontinenten bzw. Ländern gegenüber Deutschland erbracht, die nun erstmalig eine belastbare Basis zur Einschätzung der Prävalenz der Bornavirus-Infektionen darstellen. So wurden z.B. in Australien bei Blutspendern ebenfalls 30% mit positivem Immunkomplex- (CIC)-Test gefunden wie zuvor von uns in Deutschland, jedoch praktisch keine positiven australischen Pferdebestände (< 1%) gegenüber einer starken Durchseuchung (Mittelwert 60%) der deutschen Pferdepopulation (*Flower and Ludwig, 2006; Bode et al., 2001; Kamhieh et al., 2006; Dieckhöfer et al., 2004*).

5. Unzutreffend: Validierungsforderung ab Amtszeit jetziger RKI- Leitung (ab 1997)

- Die Behauptung, dass es bereits ab 1997, seit Beginn der Amtszeit der derzeitigen Institutsleitung des RKI, um die „Validierung des Nachweisverfahrens“ ging (Seite 2, Absatz 2; RKI- Antwort), ist falsch, da das komplette Testverfahren erst ab 2001 existierte.
- Die Bornavirus-Forschung ist auch nicht „trotz zunehmender Bedenken“ (Seite 1, letzter Absatz; RKI- Antwort) fortgeführt worden, sondern wurde 1998 als eigenes Projekt wegen guter Publikationen im Zuge der Neuorganisation des RKI aufgrund der Wissenschaftsrats-Beurteilung eingerichtet.

6. Unzutreffend und unangemessen: Vorwürfe (a) wegen „Doppelblindstudie“ und (b) Proteinsequenzen aus Blut mit MALDI

(a) Doppelblindstudie

- Der Publikation der „Doppelblindstudie“ gingen zwei offene Therapiestudien voraus (*Ferszt et al., 1999; Dietrich et al., 2000*), die beide gleichermaßen bei etwa 70% der infizierten depressiven Patienten eine signifikante Besserung ihrer Symptome nach 12wöchiger Behandlung mit dem gut verträglichen und seit über 30 Jahren (für andere Indikationen) zugelassenen Medikament Amantadin festgestellt hatten.

- Dass Bornavirus-Antigene als Ausdruck einer aktiven Gehirninfection auch (zeitweise) im Liquor von Patienten mit wiederkehrenden Depressionen auftreten können, hatten wir zuvor schon 1998 gezeigt (*Deuschle et al., 1998*). Insoweit gab es, unabhängig von dem Fortgang der Doppelblindstudie, seit dem Nukleinsäure-Nachweis in Patienten-Blutzellen (*Bode et al., 1995*) kontinuierliche Hinweise von uns und anderen Forschergruppen, die eine Beteiligung dieser Viren an psychiatrischen Störungen wahrscheinlicher macht („korrelative Evidenz“) als ihr Fehlen.
- Die erwähnte Doppelblindstudie bezeichnet eine Placebo-kontrollierte und bezüglich Vorbereitung, Durchführung, Messparametern sowie statistischer Auswertung aufwendige klinisch-virologische Therapiestudie, die gemeinsam mit Psychiatern der Medizinischen Hochschule Hannover (MHH) durchgeführt worden ist. Untersucht wurden die Effekte einer antiviralen Amantadinbehandlung im Vergleich zu einem Scheinmedikament (Placebo) bei akut depressiven Patienten mit definierter Klinik (unipolare oder bipolare Depression) und in mindestens zwei Folgeproben (vor Studienbeginn) nachgewiesenem Bornavirus-Infektionsstatus. Infolge einer jahrelangen Nachbeobachtungsphase zur Nachhaltigkeit der Behandlungseffekte und äußerst zeitraubenden multivariaten statistischen Auswertungen, die klinische und virologische Daten vernetzen, sowie nicht zuletzt personeller Engpässe hat sich die Publikation verzögert. Tatsache ist aber, dass eine vorläufige Manuskriptfassung, mit Belegen für den hochsignifikanten Nutzen von Amantadin vs. Placebo für die Patienten, der RKI-Leitung im März 2005 vorgelegt wurde.

(b) Proteinsequenzen mit MALDI

- Zur Einordnung der Forderung nach Aufreinigung von Virusproteinen (Antigenen) aus Blutplasma für eine Proteinsequenzierung über massenspektrometrische Spezialverfahren (z.B. MALDI-ToF-MS) muss vorausgeschickt werden, dass dies aufgrund der enormen technischen Schwierigkeiten bisher für keine Virusinfektion gezeigt worden ist, jedoch ungeachtet dessen als Spezifitätsbeweis für unsere Bornavirus-Teste seit 2002 verlangt wird. Frau Dr. Bode hat sich in ihrem Forschungsprojekt dennoch dieser Herausforderung mit Bravour gestellt. Eine Vielzahl biochemischer Aufreinigungsmethoden wurde auf Eignung geprüft bzw. optimiert, mit dem Ziel, die in deutlich weniger als einem Millionstel Gramm pro Milliliter Plasma zu erwartenden Virusproteine zu separieren von den in 1000-10000fach höherer Menge vorliegenden Humanproteinen, bzw. im Fall der Immunkomplexe (CIC) die Virusproteine außerdem von gebundenen Antikörpern zu befreien.
- Die besten Proteomic-Experten (FU Berlin, Universität Straßburg, ETH Zürich) konnten im Verlauf für die aufwendige Präparatanalyse gewonnen werden, jedoch reichten die apparativen Leistungsgrenzen in Berlin und später auch Straßburg nicht aus, so dass im Herbst 2005 nur die weltweit führende, methodisch und apparativ vielseitigste Expertengruppe an der ETH Zürich in Frage kam.
- Es ist unzutreffend, wenn die RKI-Leitung behauptet, dass bisher kein massenspektrometrisch gewonnener Antigensequenz-Nachweis vorläge, der die Spezifität der Fang-Antikörper im ELISA-Test beweise. Der Nachweis ist gelungen aus gereinigtem N-Protein (eins der beiden Hauptantigene) von zwei humanen Bornavirus-Isolaten (Zellkultur-Überstand), im Sommer 2004 in Straßburg und jetzt Anfang 2006 in Zürich, wobei unabhängig unterschiedliche Präparationen und Analyseverfahren (LC-MS/MS und ESI) zum Einsatz kamen. Die Straßburger Antigensequenzen sind dem RKI seit Februar 2005 bekannt. Eine ausführliche Dokumentation wurde der RKI-Leitung im Dezember 2005 vorgelegt.
- Es ist zwar zutreffend, dass der Antigensequenz-Nachweis aus Plasma noch aussteht, jedoch gibt es durch ein in 2005 in der AG Bode optimiertes Stufenverfahren (erst Abtrennung der CIC, dann Antigenisolierung durch Mikro-Immunitätspräzipitation und Quantifizierung im Vergleich zu rekombinantem Antigen) bereits

geeignete Gel- und Blotsignale aus Patientenplasma, die den „Fingerprint“ in Zürich ermöglichen werden.

- Die RKI- Leitung hat mit der Schließung des Bornavirus-Projekts zum 31.12.2005 die Weiterarbeit an dieser technische Höchstanforderungen stellenden Frage sehr erschwert. Dank räumlicher und apparativer Unterstützung von Kollegen und Finanzierung von Reagenzien durch die Arbeitsgruppe der ETH Zürich konnten die Experimente wieder aufgenommen werden. Insgesamt zeugen die Vorwürfe des RKI nicht nur von kompletter Verkennung der objektiven Schwierigkeiten des Versuchs sowie Ignoranz gegenüber den bisherigen Leistungen der eigenen Mitarbeiter, sondern muten vollends absurd an angesichts der fehlenden Unterstützung und überaus dürftigen personellen Ausstattung der AG Bode.

7. Kommentar zur „Glaubwürdigkeit“ und „Gefährdung der Neutralität“ des RKI

- Das Ausmaß der unkorrekten Behauptungen in der RKI- Antwort zur Vorgeschichte des Konflikts (siehe oben) lassen nur den Schluss zu, dass die in Anspruch genommene „Neutralität“ durch die RKI- Leitung selbst aus der Balance geraten ist. Wären nämlich die Daten der AG Bode zuzüglich der Ergebnisse der Weltliteratur einer objektiven Prüfung unterzogen worden, hätte es nicht zu Fehlinterpretationen der „internen“ RKI- Studie kommen können (Seite 4, Absatz 3, RKI- Antwort).
- Bei objektiver Wertung der identischen Reaktivität von Prüf-Antikörper (Bo18, interne Studie) und angeblich unspezifischem Antikörper (W1, unsere Teste) im ELISA hätte sofort ein Qualität- sichernder Ringversuch vom RKI propagiert werden können, der eine Klärung und Akzeptanz auf breiter Basis bedeuten würde. Stattdessen wurde das Projekt geschlossen und die potentiellen Gesundheitsrisiken durch Bornaviren für nicht existent erklärt.

Replik zu den Antworten des RKI auf die Fragen der VDW

Zur Antwort auf Frage 1 (Gefahr für menschliche Gesundheit?)

- Das RKI räumt ein, dass Bornavirus ein Krankheitserreger bei Tieren ist. Damit wird wenigstens eine der auf den RKI- Internetseiten seit 01.03.2006 im Kontext der Einstellung des Bornavirus-Projekts offiziell verbreiteten Behauptungen korrigiert, auch die Tierinfektion sei diagnostisch nicht verlässlich belegt.
- Eine Gefahr für die menschliche Gesundheit durch Bornaviren wird vom RKI mit der Begründung in Abrede gestellt, ein großer Teil entsprechender Publikationen basiere auf dem „umstrittenen Testsystem der Arbeitsgruppe Bode/Ludwig“. Diese Argumentation entspricht jedoch nicht der Wahrheit. Von den 166 Publikationen über Humaninfektionen (update Mai 2006) beruhen nur 8,5% auf unserem Testsystem. Der Anteil unserer Gruppe beträgt 24% inkl. Übersichtsartikel. Wie bereits in Kommentar 2 zur Vorgeschichte angemerkt, unternimmt die RKI- Leitung hier erneut den Versuch, die potentiellen Gesundheitsrisiken durch Bornaviren dadurch zu marginalisieren, dass die überwiegend diese Risiken bejahende Weltliteratur schlicht ignoriert wird.

Zur Antwort auf Frage 2 (von Tieren ausgehende Infektionsgefahr?)

- Die Frage der Infektionsrisiken durch Tiere, d.h. des Zoonosepotentials, stellt sich bei Erregern mit breitem Wirtsspektrum, das zudem, wie bei Bornavirus, eng mit Menschen lebende Sport- und Haustiere (Pferd, Katzen, Hunde) einschließt, in besonderem Maße. Selbst wenn es bislang überhaupt keine Daten weder von uns noch anderen gäbe, müsste das zoonotische Risiko von Bornavirus daher nach Maßgabe des im Infektionsschutzgesetz (IfSG) festgeschriebenen Vorsorgeprinzips ernst genommen und erforscht werden.
- Bornavirus ist bekanntlich ein entwicklungsgeschichtlich sehr altes Virus, das einen bei Menschen gegenüber anderen Säugetierarten kaum veränderten Teil des Gehirns („limbisches System“) befällt. Insoweit ist in Analogie zu Tieren ein

- gleichartiges Krankheitspotential (komplexe Verhaltens- und Gemütsstörungen) sehr viel wahrscheinlicher, als dass nur Tiere, nicht aber Menschen krank werden können. Ungeachtet dessen zieht es das RKI vor, Bornavirus im Vergleich zu anderen Zoonose-Erregern in die Kategorie ‚weniger wichtig‘ einzuordnen.
- Die Frage des Infektionsrisikos für Menschen über infizierte Tiere lässt das RKI unbeantwortet. Im ersten Antwortteil wird stattdessen (an der Frage vorbei) ein erneuter methodischer Exkurs bemüht, der auch Nukleinsäurenachweise in Humanproben in Zweifel ziehen soll, obwohl nach unserem Erstbeleg vor gut 10 Jahren (*Bode et al., 1995*) die Mehrheit der Studien, besonders in Japan, neben Antikörpern auf dem Nachweis genetischen Materials des Virus in Blutzellen basieren.
 - Nach der bisher zu Tage getretenen Einseitigkeit, mit der das RKI die Datenlage insgesamt bewertet hat, nimmt es kaum Wunder, dass nun die längst überwundene „Kontaminationsdebatte“ wieder belebt wurde, wonach wegen geringer prozentualer Sequenzunterschiede eine Verunreinigung mit Laborviren unterstellt wird. Diese Unterstellung benötigt keine Beweise. Sie lebt schlicht von dem Umstand, dass das entwicklungsgeschichtlich alte Bornavirus ein extrem konserviertes Erbgut besitzt, d.h. eine große Ähnlichkeit in den Genomsequenzen verschiedener Bornaviren bestehen. Das bislang einzige, nachweislich unechte Humanisolat der Tübinger Gruppe (Rattenvirus-Kontaminante) blieb in der RKI-Antwort bezeichnenderweise unerwähnt. Die Ursprungspublikation (*Planz et al., 1999*) wurde erst vier Jahre später korrigiert (*Planz et al., 2003*). Dagegen konnte die Authentizität unserer Bornavirus-Isolate aus Patientenblutzellen aufgrund biologischer Unterschiede (Zellkultur und Tierversuch) und der Tatsache zwar weniger aber ungewöhnlicher Mutationen gegenüber Tierviren bewiesen werden (*Bode et al., 1996; De la Torre et al., 1996*).
 - Die zitierte Literatur (*Lieb and Staeheli, 2001; Hofer et al., 2006*) stammt von den bereits im Abschnitt ‚Vorgeschichte‘ vom RKI als „Fachwelt“ herangezogenen Freiburger Forschern, die auch vehement die Spezifität unserer ELISA-Teste bezweifeln, jedoch bisher nicht zu Ringversuchen unter Einbeziehung dieser Teste bereit waren. Bemerkenswert ist, dass diese als besonders kritisch geltende Forschergruppe keine Probleme zu sehen scheint, komplett konträre Befunde über humane Antikörper nacheinander zu publizieren („Low avidity...“, *Allmang et al., 2000*; „high avidity...“, *Billich et al., 2002*), um dann bei negativen Nukleinsäurebefunden (*Hofer et al., 2006*) einseitig nur die interpretatorisch genehme (längst selbst widerlegte) Arbeit (*Allmang et al., 2000*; Human-Antikörper zweifelhaft) zu zitieren.
 - Die völlig aus der Balance geratene Literaturbewertung, die sich die RKI- Leitung bedauerlicherweise zu eigen gemacht hat, stellt die Tatsachen regelrecht auf den Kopf, wenn die negativen Ergebnisse einiger weniger Gruppen zur Neubelebung von Kontroversen benutzt und als „Korrektur“ der gesamten Datenlage hochstilisiert werden.
 - In diesem Kontext werden sogar längst aus der aktiven Bornavirus-Arbeit ausgeschiedene Forscher vom RKI zitiert (*Dürwald et al., 2006*), die neuerdings auf der Basis der in Genbanken öffentlich zugänglichen Sequenzdaten allerlei unbewiesene epidemiologische Theorien aufgestellt haben. Zusätzlich wurden dafür nicht nur Unterlagen, von denen Hr. Dr. Dürwald aus seiner früheren Tätigkeit in meinem Institut Kenntnis hatte, ohne jegliche Quellenangabe verwendet. Die Autoren beteiligten sich auch an der Kontaminationsdebatte mit der absurden Behauptung, die australischen Bornavirus-Sequenzen seien vermutlich Kontaminationen mit Laborstamm V, obwohl dort nie mit diesem Stamm umgegangen wurde. Es ist leider symptomatisch für die einseitige Literaturlauswahl des RKI, dass spekulative Behauptungen zitiert wurden, jedoch die entlarvende Gegendarstellung (*Flower and Kamhieh, 2006*) unerwähnt blieb. Die ersten australischen Nukleinsäuredaten basieren auf der kompletten Sequenzierung eines Bornavirus-Gens (ORF II, p24), nicht nur eines kurzen und

damit wenig aussagekräftigen Fragments (211 Basenpaare; *Dürwald et al. [2006]*). Die phylogenetische Analyse der australischen Sequenzen ordnet diese in eine eigene Untergruppe ein, unabhängig von publizierten Sequenzen anderer Herkunft (siehe Stammbaum in *Flower and Kamhieh [2006]*). Wer diese eindeutigen Gegenbelege für die zitierten Behauptungen von *Dürwald et al. [2006]* unerwähnt lässt, nimmt eine Verfälschung der Datenlage in Kauf, die einer fairen wissenschaftlichen Auseinandersetzung entgegensteht.

Zur Antwort auf Frage 3 (Gefährdung durch Blut?)

- Das RKI verneint eine Gefährdung durch Bluttransfusion. Als erstes Argument werden erneut fehlende Hinweise auf Bornavirus als Krankheitserreger bei verschiedenen Patientengruppen ins Feld geführt. Das Argument ist nicht stichhaltig und steht im Widerspruch zur Weltliteratur der letzten 20 Jahre, wie bereits im Kommentar zur Antwort auf Frage 1 ausgeführt. Jedenfalls kann das mehrheitlich erhöhte Vorkommen von Bornavirus-Infektionsmarkern bei psychiatrischen Patienten gegenüber Gesunden kaum erklärt werden, ohne die Möglichkeit einer Krankheitsbeteiligung der Infektion einzuräumen. Erhöhte Prävalenz wurde bei unterschiedlichen Krankheitsbildern gefunden (u.a. Depressionen, Zwangserkrankungen, dem chronischen Müdigkeitssyndrom, bestimmten Schizophrenieformen), was in Analogie mit dem großen klinischen Spektrum von Verhaltensauffälligkeiten und kognitiven Störungen bei Tieren konform gehen würde.
- Das zweite Argument versucht eine Gefährdung durch infizierte gesunde Blutspender dadurch zu entkräften, dass ein hoher Durchseuchungsgrad (nach unseren und australischen Daten 30% [*Bode et al., 2001, Flower and Ludwig, 2006*]) gegen die Annahme spräche, dass Bornavirus pathogen ist. Eine solche Argumentation offenbart ein erstaunliches Maß an infektiologischer Fehlbeurteilung. Danach müssten menschliche Herpesviren mit einer Prävalenz bis zu 90% (z.B. EBV) oder das Magenbakterium *Helicobacter pylori* mit einer Durchseuchung von 60% ebenfalls nicht pathogen sein. Das Gegenteil ist der Fall. Bekanntlich gilt für diese Erreger (wie für Bornavirus) das Prinzip erhöhter Gesundheitsrisiken für eine Minderheit der Infizierten, die z.B. infolge geschwächter Immunabwehr klinisch auffällig werden können, während die Mehrheit der Infizierten gesundheitlich unbehelligt bleibt.
- Unsere und unabhängig erhobene australische Daten (*Bode et al., 2001; Flower and Ludwig, 2006*) weisen übereinstimmend auf eine Durchseuchung mit Bornavirus bei Blutspendern von 30% hin aufgrund positiver Immunkomplex-(CIC) Befunde. Bis zu 5% erwiesen sich als zusätzlich positiv für „freies“ Virusantigen, was auf eine akute Aktivierungsphase hinweist. Mindestens 1% der Spender war hoch mit Antigen im Plasma belastet.
- Im Jahr 2000 hatten wir bei hoch Immunkomplex- und Antigen-positiven Patienten erstmalig Viruserbmaterial im Blutplasma mit RT-PCR nachweisen können, jedoch damals noch nicht bei Blutspendern (*Bode et al., 2001*). Die Nachweisbarkeit von genetischem Material eines RNA-Virus im Plasma setzt die Präsenz von sogenannten „RNPs“ (Ribonukleoproteinkomplexen; RNA plus gebundenes Virusprotein) voraus, die infektiös sind. Intakte RNA ohne Proteinschutz wird im Plasma rasch zerstört.
- Im Oktober 2002 wurden im Auftrag der RKI- Leitung 50 zufällige Spenderplasmen mit unseren ELISA-Testen untersucht, um hochreaktive Proben zu selektieren für eine externe Begutachtung (siehe auch Seite 4, Absatz 2, RKI-Antwort). Dabei wurde eine hoch Antigen-positive Plasmaprobe identifiziert (eine von 50= 2%), in der erstmalig mit einer im Rahmen unserer Kooperation verbesserten RT-PCR auch Bornavirus-Nukleinsäure nachgewiesen werden konnte, bestätigt durch Sequenzierung. Trotz dieses alarmierenden Befundes einer mit potentiell infektiösem Bornavirusmaterial kontaminierten Plasmaspende, über den Frau Dr. Bode die RKI- Leitung umgehend schriftlich informiert hatte,

blieb ihre Empfehlung unbeachtet, den Spender vorsorglich sperren zu lassen und die Entwicklung seiner RNA- und antigenämischen Phase zu kontrollieren. Es mutet schon befremdend an, wenn die Leitung des RKI den Ausschluss von Blutspenden durch „schlechte Teste“ allgemein als „verantwortungslos“ bezeichnet, jedoch nicht dem konkret begründeten Verdacht bei einer Plasmaprobe nachgeht, die mit mehreren Verfahren als hoch belastet aufgefallen ist (Antigen-, Immunkomplex-, Antikörper- und RNA-positiv) in einem Panel negativer oder gering belasteter Zufallsproben.

- Es wäre ein Leichtes, Deutschland-, Europa- oder sogar weltweit mehrere tausend Plasmaspender mit dem Immunkomplex- (CIC) ELISA zu testen und hoch positive Proben intensiv mit allen verfügbaren Methoden weiter zu untersuchen, um diese überaus wichtige Frage mit belastbaren Zahlen abzuklären. Stattdessen zieht es das RKI vor, die einzige Gruppe mit großer Erfahrung (Basis 30.000 untersuchte Proben) am eigenen Institut aufzulösen.
- Die negativen Nukleinsäure-Ergebnisse der RKI- internen Studie mit ELISA-reaktivem Plasma (*Wolff et al., 2006*) sind nicht stichhaltig:
 - o zum einen, weil auf der Basis von 4 Proben (nur eine davon neben Immunkomplexen mit hohem Antigengehalt) keine gesicherten Negativaussagen, d.h. Fehlen von RNA, machbar sind (*Flower and Ludwig, 2006*);
 - o zum anderen, weil ein negativer Test mit 3 Jahre gelagertem Plasma den zuvor bei uns (in 2002) mit frischem Material der Spende erzielten RNA-Nachweis nicht widerlegt.

Zur Antwort auf Frage 4 (Verlautbarung des RKI zur Projektschließung)

In der abschließenden Rechtfertigung der Entscheidung, das Bornavirus-Projekt zu beenden, argumentiert die RKI- Leitung – wie in der Vorgeschichte – erneut mit einer Reihe unzutreffender Behauptungen.

1. Unzutreffend: keine Bestätigung durch unabhängige Studien, fehlendes Referenzmaterial

- Im Kommentar 4 zur Vorgeschichte wurde bereits im Detail ausgeführt, dass unsere Befunde sehr wohl von „fachlich ausgewiesenen Arbeitsgruppen“ bestätigt worden sind, wobei die zahlenmäßig umfänglichsten Studien an Universitäten in Australien (Prof. Flower und Mitarbeiter, Sydney) und Italien (Prof. Patti und Mitarbeiter, Rom) durchgeführt wurden. Die Ergebnisse liegen dem RKI in Forschungsberichten vor.
- Im Inland wurde im Rahmen eines Workshops am RKI im Jahr 2000 unter Einbeziehung der konkurrierenden Arbeitsgruppen die Reproduzierbarkeit der Teste mit anonymisierten Proben gezeigt. Eine weitere Evaluierung scheiterte am Desinteresse derjenigen Arbeitsgruppen (insbesondere aus Freiburg und Tübingen), die andererseits über Jahre mit ständiger Kritik und unbewiesenen Zweifeln den Eindruck andauernder Kontroversen in der Bornavirus-Forschung aufrecht zu erhalten suchten (siehe auch „Kontaminationsdebatte“ unter Kommentar zur Antwort auf Frage 2). Entgegen den Behauptungen des RKI wurden Testmaterialien zur weiteren Evaluierung angeboten bzw. zur Verfügung gestellt, jedoch von den Arbeitsgruppen (Ausnahme Leipzig) nicht verwendet.

2. Unzulängliche und nicht beweiskräftige externe und interne Studien

- Die bei einer externen Firma in Auftrag gegebene Untersuchung wurde mit einer einzigen Plasmaprobe durchgeführt, nämlich der im Oktober 2002 identifizierten Probe eines hoch Antigen-positiven Blutspenders (siehe Kommentar zur Antwort auf Frage 3). Ein großes Volumen der Probe sollte über eine sogenannte Affinitätsmatrix, die mit unseren monoklonalen Antikörpern bestückt war, aufgetrennt werden. Die Antikörper hatte ich für diesen Versuch zur Verfügung gestellt. Die an die Antikörper-Matrix gebundenen Bestandteile sollten anschließend abgelöst (eluiert) und die Proteine mit Gel-Elektrophorese sowie mit als spezifisch geltenden Prüfantikörpern (u.a. Bo18, siehe Kommentar 3,

Vorgeschichte) im Blotverfahren getestet werden. Die Untersuchungsergebnisse, die im Oktober 2003 von der Firma vorgelegt worden sind, waren in Durchführung, Dokumentation und Interpretation fehlerhaft, wie in einer detaillierten Stellungnahme von Frau Dr. Bode aufgezeigt werden konnte, so dass keine verlässlichen Schlussfolgerungen möglich waren.

- Die spätere RKI-intern durchgeführte Untersuchung wurde von uns begrüßt und von der AG Bode tatkräftig unterstützt mit der ELISA-Testung von fast 200 Spenderplasmen und methodischen Diskussionen. Um so bedauerlicher ist, dass diese zwar qualitativ bessere aber von der Empfindlichkeit nicht ausreichende Untersuchung, deren Ergebnisse im Oktober 2005 in Form von Datenblättern vorlagen, fehlinterpretiert wurde als „Beweis“ für die mangelnde Spezifität unserer ELISA-Teste. Obwohl in einer ausführlichen Stellungnahme der AG Bode methodische Probleme aufgezeigt und Nachweisgrenzen als nicht ausreichend berechnet wurden, basierte die RKI- Leitung weit reichende Entscheidungen (Schließung des Bornavirus-Projekts) wesentlich auf dieser kleinen Studie mit mangelnder Beweiskraft. Die dazugehörige Publikation ist auf einen 2-seitigen „Letter to the Editor“ zusammengeschrumpft (*Wolff et al., 2006*), wird aber unbeschadet der Tatsache, dass nur 4 Proben analysiert wurden, als ausreichender Beleg dafür angesehen, dass unsere Teste unspezifisch seien und Bornavirus nicht humanpathogen sei.
- In derselben Zeitschrift (*Journal of Clinical Virology; JCV*) wurde gerade eine Antwort von Prof. Flower (Australien) und mir auf diesen „Letter“ des RKI zur Publikation angenommen, die in Kürze parallel zum obigen Letter in der Online-Version von JCV erscheinen wird (*Flower and Ludwig, 2006*). Unsere Antwort weist nicht nur auf eine bei *Wolff et al. (2006)* fehlende, für die Aussagekraft entscheidende Kontrolle der real bei deren Versuch erreichbaren Nachweisgrenze hin. Diese wäre über definierte Mengen von rekombinantem Virusprotein, die in eine negative Plasmaprobe zum Nachbilden der echten Versuchssituation eingemischt werden („Spiken“ der Probe), quantifizierbar gewesen. Wir zeigen außerdem Ergebnisse eines Pilotexperiments, die der RKI-Leitung von der AG Bode noch in 2005 vorgelegt worden sind. Diese Resultate belegen im direkten ELISA-Vergleich unmissverständlich, dass der als spezifisch von *Wolff et al. (2006)* bezeichnete Prüfantikörper (Bo18) und der als unspezifisch gescholtene, in unseren Testen verwendete Antikörper (W1) identisch sind in ihrer Fähigkeit, die Präsenz oder das Fehlen von Bornavirus-Antigen und -Immunkomplexen in Human-, Pferde- und Kaninchenplasma anzuzeigen (**Fig. 1** in *Flower and Ludwig [2006]*).
- Dieses von der RKI- Leitung ohne Angabe von Gründen bisher ignorierte Experiment hat nun zur Unterstützung durch Ärzte im Parlamentarischen Ausschuss für Gesundheit für einen Qualität- sichernden Ringversuch geführt, wie eingangs kurz im Kommentar 3 zur Vorgeschichte erwähnt. Der detaillierte Ringversuchsvorschlag (erstellt zusammen mit Frau Dr. Bode), der die Prüfung von 100 Proben durch 10 Laboratorien unter Einschluss der konkurrierenden Gruppen vorsieht, ist meiner Überzeugung nach bestens geeignet, endlich eine objektive Abklärung der Testspezifität herbeizuführen, die den Kriterien einer konsensfähigen Qualitätssicherung im Diagnostikbereich genügt.

Abschließend möchte ich meiner Hoffnung Ausdruck verleihen, die Verantwortlichen in BMG und RKI mögen sich dieser neuen Initiative nicht verschließen und die Chance zur Korrektur bisher einseitiger Einschätzungen nutzen. Für die sofortige Umsetzbarkeit ist dringend erforderlich, dass der Bornavirus-Arbeitsgruppe am RKI (zeitlich befristet für die Vorbereitung und Dauer des Ringversuchs) die notwendige experimentelle Mitarbeit in früherer räumlicher und personeller Konstellation ermöglicht wird.

Ich teile mit den zahlreichen Kooperationspartnern des Projekts Bornavirus-Infektionen die Überzeugung, dass unterschiedliche Auffassungen in der Wissenschaft einen offenen fairen

Diskurs benötigen und jedenfalls nicht dadurch geklärt werden können, dass die Forschung eingestellt wird. Dies gilt in besonderem Maß bei gesundheitlich potentiell relevanten Erregern wie Bornavirus.

Die von der RKI- Leitung auf die berechtigten Fragen der VDW gegebenen Antworten konnten nicht überzeugen infolge zahlreicher korrekturbedürftiger Behauptungen. Es ist sicher kein Zufall, dass die vom RKI zum Kardinalargument erhobene Kritik an der Spezifität unserer Tests vom Wissenschaftsrat in seinem Bericht von 2005 zur Evaluierung des RKI nicht der Erwähnung für nötig befunden wird.

Die im Konflikt um die Bornavirus-Forschung am RKI meiner Kenntnis nach wesentlichen Unterlagen schließen deutlich mehr Dokumente ein, als der VDW vom RKI angeboten wurden (Liste wird gesondert zugestellt). Die in der **Anlage benannten und als PDF beigefügten Unterlagen** werden zusammen mit meiner obigen ausführlichen Stellungnahme hoffentlich bei den politischen Entscheidungsträgern zur umfassenden Rehabilitierung der zu Unrecht diskriminierten Bornavirus-Gruppe am RKI beitragen und zur Fortsetzung einer gesundheitlich bedeutsamen Forschungsrichtung im Sinne des Infektionsschutzgesetzes (IfSG) führen.

Zitierte Literatur:

1. Allmang, U., Hofer, M., Herzog, S., Bechter, K., Staeheli, P. (2001). - Low avidity of human serum antibodies for Borna disease virus antigens questions their diagnostic value, *Mol. Psychiatry*, **6**, 329-333.
2. Billich, C., Sauder, C., Frank, R., Herzog, S., Bechter, K., Takahashi, K., Peters, H., Staeheli, P., Schwemmle, M. (2002). - High-avidity human serum antibodies recognizing linear epitopes of Borna disease virus proteins. *Biol. Psychiatry*, **51**, 979-987.
3. Bode, L., Zimmermann, W., Ferszt, R., Steinbach, F., Ludwig, H. (1995). - Borna disease virus genome transcribed and expressed in psychiatric patients. *Nature Med.*, **1**, 232-236.
4. Bode, L., Dürrwald, R., Rantam, F.A., Ferszt, R., Ludwig, H. (1996). - First isolates of infectious human Borna disease virus from patients with mood disorders. *Mol. Psychiatry*, **1**, 200-212.
5. Bode, L., Reckwald, P., Severus, W.E., Stoyloff, R., Ferszt, R., Dietrich, D.E., Ludwig, H. (2001). - Borna disease virus-specific circulating immune complexes, antigenemia, and free antibodies – the key marker triplet determining infection and prevailing in severe mood disorders. *Mol. Psychiatry*, **6**, 481-491.
6. De la Torre, J.C., Bode, L., Dürrwald, R., Cubitt, B., Ludwig, H. (1996). - Sequence characterization of human Borna disease virus. *Virus Res.*, **44**, 33-44.
7. Deuschle, M., Bode, L., Heuser, I., Schmider, J., Ludwig, H. (1998). - Borna disease virus proteins in cerebrospinal fluid of patients with recurrent depression and multiple sclerosis. *Lancet*, **352**, 1828-1829.
8. Dieckhöfer, R., Bode, L., Ludwig, H., Kiefer, M., Reckwald, P., Rupp, A. (2004). Bornavirus (BDV) beim Pferd – Klinik, Diagnostik und Therapie bei einem lokalen Infektionsgeschehen im Saarland und tierseuchenrechtliche Betrachtungen. *Tierärztl. Umschau*, **59**, 619-632.
9. Dietrich, D. E., Bode, L., Spannhuth, C. W., Lau, T., Huber, T. J., Brodhun, B., Ludwig, H., Emrich, H. M. (2000). - Amantadine in depressive patients with Borna disease virus (BDV) infection: an open trial. *Bipolar Disorders*, **2**, 65-70.
10. Dürrwald, R., Kolodziejek, J., Muluneh, A., Herzog, S., Nowotny, N. (2006). - Epidemiological pattern of classical Borna disease and regional genetic clustering of Borna disease viruses towards the existence of to-date unknown endemic reservoir host populations. *Microbes Infect.*, **8**, 917-929.
11. Ferszt, R., Kühl, K.-P., Bode, L., Severus, E. W. Winzer, B., Berghöfer, A., Beelitz, G., Brodhun, B., Müller-Oerlinghausen, B., Ludwig, H. (1999). - Amantadine Revisited: An open trial of amantadine sulfate treatment in chronically depressed patients with Borna disease virus infection. *Pharmacopsychiatry*, **32**, 142-147.
12. Flower, R., Kamhieh, S. (2006). - Letter to the Editor refuting "Epidemiological pattern of classical Borna disease and regional genetic clustering of borna disease viruses towards the existence of to-date unknown endemic reservoir host populations" by Ralf Dürrwald, Jolanta Kolodziejek, Aemero Muluneh, Sibylle Herzog and Norbert Nowotny, *Microbes and Infection* **8** (2006) 917-929. *Microbes Infect.*, **8**, 1419-1420.

13. Flower, R., Ludwig, H. (2006). - Presence of Borna disease virus (BDV)-specific structural components in human blood plasma. *J. Clin. Virol.*, in press.
14. Hofer, M.J., Schindler, A.R., Ehrensperger, F., Staeheli, P., Pagenstecher, A. (2006). – Absence of Borna disease virus in the CNS of epilepsy patients. *J. Clin. Virol.*, **36**, 84-85.
15. Kamhieh, S., Hodgson, J., Bode, L., Ludwig, H., Ward, C. Flower, R.L. (2006). – No evidence of endemic Borna disease virus infection in Australian horses in contrast with endemic infection in other continents. *Arch. Virol.*, **151**, 709-719.
16. Lieb, K., Staeheli, P. (2001). - Borna disease virus - does it infect humans and cause psychiatric disorders? *J. Clin. Virol.*, **21**, 119-127.
17. Planz, O., Rentzsch, C., Batra, A., Winkler, T., Büttner, M., Rziha, H.-J., Stitz, L. (1999). – Pathogenesis of Borna disease virus: granulocyte fractions of psychiatric patients harbor infectious virus in the absence of antiviral antibodies. *J. Virol.*, **73**, 6251-6256.
18. Planz, O., Rziha, H.-J., Stitz, L. (2003). – Genetic relationship of Borna disease virus isolates, *Virus Genes*, **26**, 25-30.
19. Wolff, T., Heins, G., Pauli, G., Burger, R., Kurth, R. (2006). - Failure to detect Borna disease virus antigen and RNA in human blood. *J. Clin. Virol.*, in press.

Als eigene Datei (PDF) ist die mehrfach erwähnte **Weltliteratur zu Humaninfektionen** mit Bornavirus (update Mai 2006) beigelegt.

Berlin, den 24.06.2006

Dr. Hanns Ludwig
(Univ.-Prof. für Virologie, FU Berlin)