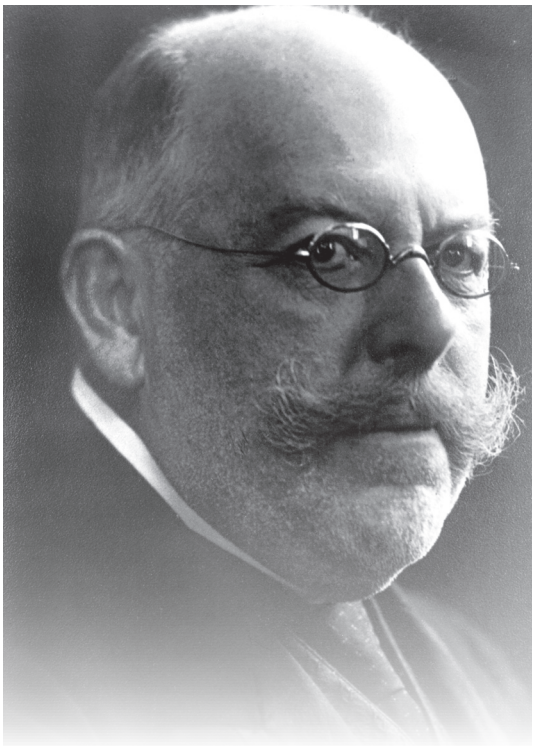
FRIEDRICH-LOEFFLER-INSTITUT
FLI
Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit
Federal Research Institute for Animal Health

FRIEDRICH-LOEFFLER-INSTITUT
Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit

Jahresbericht 2008



Bundesministerium für
Ernährung, Landwirtschaft
und Verbraucherschutz

FRIEDRICH-LOEFFLER-INSTITUT

Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit

Jahresbericht 2008

Bundesministerium für
Ernährung, Landwirtschaft und
Verbraucherschutz

Herausgeber:
Friedrich-Loeffler-Institut, Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit - Der Präsident -
Südufer 10
17493 Greifswald - Insel Riems
Tel.: (038351) 70
Fax: (038351) 7-226; 7-151
E-mail: poststelle@fli.bund.de
Internet: www.fli.bund.de

Präsident:
Prof. Dr. rer. nat. Dr. med. vet. h. c. Th. C. Mettenleiter

Redaktion:
E. Reinking
A. Beidler
Dr. J. Schell (Kap. IV)

Abbildungen, Fotos: Friedrich-Loeffler-Institut soweit nicht anders vermerkt

Insel Riems, Juni 2009

ISSN: 1861-0005

VORWORT

Liebe Kolleginnen und Kollegen,

zum 1. Januar 2008 wuchs das Friedrich-Loeffler-Institut um drei Fachinstitute und Standorte in Niedersachsen. In Braunschweig kam das Institut für Tierernährung dazu, in Celle das Institut für Tierschutz und Tierhaltung und in Mariensee das Institut für Nutztiergenetik. Vor Ihnen liegt nun der erste Jahresbericht des erweiterten FLI. Wir haben uns bemüht, das bewährte Format beizubehalten und die neuen Themenbereiche darin aufzunehmen. Damit werden Sie mit dem Jahresbericht des FLI nunmehr umfassend darüber informiert, was in der Ressortforschung des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz zum Thema „Nutztier“ gearbeitet wird. Eine solche Erweiterung stellt natürlich eine große Herausforderung für alle Beteiligten dar. Nach einem Jahr können wir eine positive Bilanz ziehen - alle Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter haben diese Herausforderung exzellent gemeistert und zum Erfolg des FLI in 2008 beigetragen. Dies dokumentiert auch der Jahresbericht.

Wie in der Vergangenheit, gab es auch im Jahr 2008 viel für das FLI zu tun. Ein Schwerpunkt lag wieder bei der Blauzungenkrankheit, die 2008 ganz im Zeichen der bundesweiten Impfung aller empfänglichen Wiederkäuer stand. Das FLI unterstützte wissenschaftlich eine vom Land Mecklenburg-Vorpommern durchgeführte Feldstudie zu den in Deutschland eingesetzten Impfstoffen, die sich als zuverlässig und gut verträglich für die Tiere erwiesen. Durch die Impfung konnten die Neuinfektionen gegenüber 2007 drastisch gesenkt werden.

Eine fast schon vergessene Tierseuche, die Rindertuberkulose, wurde 2008 in mehreren Bundesländern festgestellt. Auf der positiven Seite ist die Freiheit Deutschlands von terrestrischer Tollwut zu vermerken, die nach einer langjährigen Impfkampagne durch „Schluckimpfung“ der Füchse nunmehr erreicht wurde. Zu den Themen, die nicht nur aus wissenschaftlicher Sicht, sondern auch im Rahmen der Politikberatung und von der Öffentlichkeit gefragt waren, gehörten auch das Klonen von Tieren, die schmerzfreie Kastration von Ferkeln sowie die Auswirkung des Klimawandels auf Infektionskrankheiten, besonders auf Vektor-übertragene Infektionen.

Derzeit werden am FLI drei große Bauprojekte realisiert. Auf der Insel Riems fand am 15. Juli der Baubeginn für den Neubau von Labor- und Stallgebäuden bis zur höchsten Sicherheitsstufe BSL 4 statt; am 30.Oktober war Grundsteinlegung. Oder besser „Grundsteinwasserung“, da das Ostsee-Wetter sich leider von seiner rauen Seite zeigte. Der Baubedarf für den Standort Jena wurde mit den zuständigen Bundesministerien erfolgreich verhandelt. Für die Um- und Neubauten in Mariensee/Mecklenhorst, wo die Institute für Nutztiergenetik, für Tierschutz und Tierhaltung und für Tierernährung zusammengeführt werden sollen, wurde ein Baubedarf formuliert, der sich nun in der Abstimmung mit den Ministerien befindet. Es tut sich also auch in dieser Hinsicht eine Menge am FLI, so dass wir dem 100-jährigen Gründungsjubiläum des Instituts im Oktober nächsten Jahres mit Optimismus entgegen sehen.

Ich hoffe, dass Sie bei der Lektüre des Jahresberichts interessante Informationen und Anregungen bekommen und wünsche Ihnen dabei viel Spaß.

Mit den besten Wünschen

Ihr

Prof. Dr. Dr. h. c. Thomas C. Mettenleiter

Inhaltsverzeichnis

I	**Aufgaben**	**7**
II	**Überblick**	**9**
	Organisation	9
	Die Institute	11
	Beschäftigte	17
	Organigramm	19
III	**Ausgewählte Schwerpunktthemen**	**21**
	Institut für Molekularbiologie Effiziente Universalklonierung von Influenzavirusgenen: Ein neuartiges Werkzeug für Grundlagenforschung und Impfstoffentwicklung	22
	Institut für Virusdiagnostik Feldstudie zur Wirksamkeit von inaktivierten BTV-Impfstoffen	26
	Institut für Infektionsmedizin Molekulare Epidemiologie von IHNV und VHSV	30
	Institut für neue und neuartige Tierseuchenerreger Die Pathogenese der Bovinen Spongiformen Enzephalopathie bei Rindern	35
	Institut für Tierernährung Möglichkeiten und Grenzen der Diagnostik von Intoxikationen des Schweins mit Deoxynivalenol und Zearalenon	42
	Institut für Tierschutz und Tierhaltung Federpicken und Kannibalismus bei Legehennen: Eine Herausforderung für interdisziplinäre Forschung	47
	Institut für bakterielle Infektionen und Zoonosen Zusammenhänge zwischen Zeckenaktivität (*Ixodes ricinus*), durch Zecken übertragenen Krankheitserregern, Klimaentwicklung und weiteren Faktoren	52
	Institut für Molekulare Pathogenese Chlamydieninfektionen beim Hund	57
	Institut für Nutztiergenetik Antibiotikaresistenzforschung – Studien zur Florfenicolresistenz boviner und porziner Atemwegsinfektionserreger	60
	Institut für Immunologie Pathogen-gelenkte Evolution von Immunrezeptorfamilien	65
	Institut für Epidemiologie *Besnoitia besnoiti*: ein exotischer Rinderparasit erstmals in Deutschland nachgewiesen	71
	Arbeitsgruppe Internationale Tiergesundheit Aviäre Influenza in Afrika - Untersuchungen im Rahmen des internationalen Projektes „Epidemiology of Avian Influenza in Africa“ (EPIAAF)	76

IV Laufende Forschungsprojekte 81

1 Viren 82
1.1. DNA-Viren 82
1.1.1 Familie *Herpesviridae* 82
1.1.2 Familie *Alloherpesviridae* 85
1.2 DNA/RNA Revers Transkribierende Viren 85
1.2.1 Familie *Retroviridae* 85
1.3 RNA-Viren 86
1.3.1 Familie *Reoviridae* 86
1.3.2 Familie *Rhabdoviridae* 86
1.3.3 Familie *Paramyxoviridae* 89
1.3.4 Familie *Orthomyxoviridae* 89
1.3.5 Familie *Bunyaviridae* 94
1.3.6 Familie *Picormaviridae* 96
1.3.7 Familie *Flaviviridae* 97
1.3.8 Familie *Togaviridae* 100
1.4 Unbekannte Viren 101

2 Bakterien 101
2.1 Bakterien allgemein 101
2.2 Campylobacter 102
2.3 Chlamydien 102
2.4 Coxiellen 104
2.5 Mykobakterien 104
2.5.1 Paratuberkulose 104
2.5.2 Tuberkulose 106
2.6 Salmonellen 107
2.7 Bakterielle Resistenzforschung 108

3 Parasiten 111
3.1 *Toxoplasma gondii* 111
3.2 *Neospora caninum* 112
3.3 *Echinococcus multilocularis* 112

4 Prionen 113

5 Immunologie und Pathophysiologie 116
5.1 Immunsystem der Fische 116
5.2 Immunsystem des Geflügels 118
5.3 Allgemeine Impfstoffentwicklung und Immuntherapie 118
5.4 Pathophysiologie 119

6 Tierschutz /Tierhaltung 121
6.1 Grundlagen von Anpassungsreaktionen 121
6.2 Bewertungsindikatoren und -verfahren 122
6.3 Verbesserung der Haltung 123

7 Tierernährung 124
7.1 Futtermittelzusatzstoffe 124
7.1.1 Spurenelemente 124
7.1.2 Vitamine 126
7.1.3 Nicht lebensnotwendige Futtermittelzusatzstoffe 127

7.2 Mykotoxine 128
7.3 Wachstum und Körperzusammensetzung 130
8 Züchtung und genetische Ressourcen 130
8.1 Monitoring, Charakterisierung und Erhaltung tiergenetischer Ressourcen 130
8.2 Biotechnologie 132
8.3 Molekulare und physiologische Regulation von Wachstum, Reproduktion und Adaptionsmechanismen 138
9 Arbeitsgruppe Internationale Tiergesundheit (AG-ITG) 139
10 Zellbank für Zelllinien in der Veterinärmedizin 140
11 Beteiligung des FLI an nationalen und internationalen Forschungsverbünden und Exzellenznetzwerken 141

V Behördliche Aufgaben 143
1 Aufgaben im Rahmen des Gentechnikrechts 144
2 Referenzlaboratorien 144
3 Rechtliche Grundlagen der Referenzlaboratorien 159
4 Epidemiologische Untersuchungen bei Tierseuchenausbrüchen in Deutschland 162

VI Organisierte Veranstaltungen 163

VII Presse- und Öffentlichkeitsarbeit 167

VIII Kooperationen mit Hochschulen und Mitarbeit in wissenschaftlichen Gremien 169
1 Vorlesungs- und Hochschultätigkeit 170
2 Mitgliedschaft in wissenschaftlichen Gremien 171
3 Mitgliedschaft im Editorial Board von wissenschaftlichen Zeitschriften 174

IX Veröffentlichungen 175
1 Veröffentlichungen des Friedrich-Loeffler-Instituts 175
2 Wissenschaftliche Veröffentlichungen 175
2.1 Veröffentlichungen in referierten Zeitschriften 175
2.2 Veröffentlichungen in nicht referierten Zeitschriften 184
2.3 Buchbeiträge 186
3 Habilitationsschriften, Dissertationen, Diplomarbeiten, Bachelor-Thesis 188
3.1 Habilitationen 188
3.2 Dissertationen 188
3.3 Diplomarbeiten 189
3.4 Bachelor-Thesis 189
4 Vorträge und Poster 189

I. AUFGABEN

Im Mittelpunkt der Arbeiten des Friedrich-Loeffler-Instituts, Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit (FLI), stehen Gesundheit und Wohlbefinden landwirtschaftlicher Nutztiere und der Schutz des Menschen vor Zoonosen, d.h. von Tieren auf den Menschen übertragbaren Infektionen. Das FLI ist eines der vier Bundesforschungsinstitute und selbständige Bundesoberbehörde im Geschäftsbereich des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV). Im Rahmen der Politikberatung erarbeitet das Institut wissenschaftliche Grundlagen, Gutachten und Stellungnahmen als Entscheidungshilfen zu allen Fragen der Tiergesundheit. Rund 950 Beschäftigte, davon etwa 150 Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler auf Planstellen und 150 Beschäftigte auf befristeten Drittmittelstellen, arbeiten in elf Fachinstituten an sieben Standorten. Der Jahreshaushalt beläuft sich ohne Drittmittel auf etwa 40 Millionen Euro.

Seit dem 01.01.2008 gehören das Institut für Tierernährung in Braunschweig, das Institut für Tierschutz und Tierhaltung in Celle sowie das Institut für Nutztiergenetik zum Friedrich-Loeffler-Institut. Diese Institute wurden im Zuge der Neuordnung der Ressortforschung des BEMLV aus der ehemaligen Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft (FAL) ins FLI verlagert.

In den Fachdisziplinen Physiologie, Ethologie, Epidemiologie, Immunologie, Virologie, Bakteriologie und Parasitologie unter Einbeziehung verwandter Wissenschaften forscht das FLI sowohl grundlagen- als auch praxisorientiert. Ziele der Forschungen sind der Schutz vor Infektionskrankheiten durch eine bessere und schnellere Diagnose, die Erarbeitung von Maßnahmen zur Prävention sowie das Schaffen von Grundlagen für moderne Bekämpfungsstrategien bei Tierseuchen und Zoonosen, die Entwicklung tierschutzgerechter Haltungssysteme, der Erhalt der genetischen Vielfalt bei Nutztieren und die effiziente Verwendung von Futtermitteln für die Erzeugung qualitativ hochwertiger Lebensmittel tierischer Herkunft.

Die Aufgaben des FLI bezüglich Tierseuchen und Zoonosen sind in § 4 des **Tierseuchengesetzes**, in § 14 der **Tierimpfstoff-Verordnung** sowie in § 16 Abs. 4 des **Gentechnikgesetzes** festgelegt.

Nach dem **Tierseuchengesetz** (in der Fassung vom 22.06.2004) fungiert das FLI gemeinsam mit dem Paul-Ehrlich-Institut als Zulassungsbehörde für Sera, Impfstoffe, Antigene und Nachweismethoden. Am FLI steht dabei die Zulassung veterinärmedizinischer Infektionsdiagnostika im Vordergrund. Im vergangenen Jahr wurden insgesamt 32 Zulassungen und 266 Chargenprüfungen vorgenommen.

Als zuständige Bundeseinrichtung betreibt das FLI über 50 nationale Referenzlaboratorien für anzeigepflichtige Tierseuchen. Die Referenzlaboratorien sind nach ISO/IEC 17025 akkreditiert. Sie klären Verdachtsfälle ab, beraten die Veterinärbehörden und führen Ringversuche oder ähnliche Maßnahmen zur Qualitätssicherung der Tierseuchendiagnostik in Deutschland durch. Im Rahmen dieser Tätigkeit veröffentlicht das FLI eine Sammlung amtlicher Verfahren zur Probennahme und Untersuchung auf anzeigepflichtige Tierseuchen sowie den Tiergesundheitsjahresbericht.

Auf internationaler Ebene führt das FLI Referenzlaboratorien der Weltorganisation für Tiergesundheit (OIE) für Aviäre Influenza, Enzootische Rinderleukose, Newcastle Disease, Bovine Herpesvirus 1-Infektion, Brucellose, Chlamydiose, Rotz und Tollwut. Weiterhin ist das FLI „Collaborating Centre for Zoonoses in Europe“ des OIE und führt ein „Collaborating Centre“ der Weltgesundheitsorganisation (WHO) für Tollwut.

Nach der **Tierimpfstoff-Verordnung** (in der Fassung vom 22.06.2004) ist das FLI Zulassungsstelle für Mittel gegen eine Reihe von Tierseuchen, darunter Maul- und Klauenseuche, Schweinepest und Lungenseuche der Rinder. Außerdem fungiert das FLI als Zulassungsstelle für veterinärmedizinische Testsera, Testantigene und Testallergene, ausgenommen Tuberkuline.

Nach dem **Gentechnikgesetz** (in der Fassung vom 21.12.2004) ist das FLI Einvernehmensbehörde bei Verfahren zur Freisetzung bzw. zum Inverkehrbringen von gentechnisch veränderten Tieren sowie von gentechnisch veränderten Mikroorganismen, die an Tieren angewendet werden sollen. Im Zusammenhang mit dieser Aufgabe ist das FLI auch beratend bei der Fortschreibung des Gentechnikrechtes sowie allgemeinen Fragen der biologischen Sicherheit tätig.

II. ÜBERBLICK

Organisation

Hauptsitz Insel Riems

Friedrich-Loeffler-Institut
Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit
Südufer 10
17493 Greifswald-Insel Riems
Tel.: (038351) 7-0
Fax: (038351) 7-219, 7-151, 7-226

Institut für Molekularbiologie
Institut für Virusdiagnostik
Institut für Infektionsmedizin
Institut für neue und neuartige Tierseuchenerreger

Leitung: Präsident und Professor Prof. Dr. rer. nat. Dr. vet. med. h. c. Th. C. Mettenleiter
Vertreter im Amt: Direktor und Professor PD Dr. med. vet. F.J. Conraths
Persönlicher Referent des Präsidenten: Wiss. Oberrat PD Dr. Dr. med. vet. Th. W. Vahlenkamp
Forschungsreferent: Dr. rer. nat. J. Schell
Referentin für Presse- und Öffentlichkeitsarbeit: E. Reinking
Verwaltungsleiter: Ltd. Regierungsdirektor D. Nobis

Standort Braunschweig

Friedrich-Loeffler-Institut
Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit
Bundesallee 50
38116 Braunschweig
Tel.: (0531) 596-3102
Fax: (0531) 596-3199, -3299

Institut für Tierernährung

Örtl. admin. Vertreter des Präsidenten: Direktor und Professor Prof. Dr. med. vet. G. Flachowsky

Standort Celle

Friedrich-Loeffler-Institut
Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit
Dörnbergerstraße 25 + 27
29223 Celle
Tel.: (05141) 3846-0
Fax: (05141) 3846-117

Institut für Tierschutz und Tierhaltung

Örtl. admin. Vertreter des Präsidenten: Direktor und Professor Dr. rer. nat. L. Schrader

Standort Jena

Friedrich-Loeffler-Institut
Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit
Naumburger Str. 96a
07743 Jena
Tel.: (03641) 804-0
Fax: (03641) 804-228, 804-350

Institut für bakterielle Infektionen und Zoonosen
Institut für molekulare Pathogenese

Örtl. admin. Vertreter des Präsidenten: Direktor und Professor PD Dr. med. vet. H. Neubauer
Örtl. Verwaltungsleiter: T. Honnef

Standort Mariensee

Friedrich-Loeffler-Institut
Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit
Höltystraße 10
31535 Neustadt
Tel.: (05034) 871-0
Fax: (05034) 871-143

Institut für Nutztiergenetik

Örtl. admin. Vertreter des Präsidenten: Prof. Dr. med. vet. H. Niemann

Standort Tübingen

Friedrich-Loeffler-Institut
Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit
Paul-Ehrlich-Str. 28
72076 Tübingen
Tel.: (07071) 967-0
Fax: (07071) 967-105, 967-303, 967-305

Institut für Immunologie

Örtl. admin. Vertreter des Präsidenten: Direktor und Professor Prof. Dr. med. vet. L. Stitz
Örtl. Verwaltungsleiter: Regierungsamtmann K. Heberle

Standort Wusterhausen

Friedrich-Loeffler-Institut
Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit
Seestr. 55
16868 Wusterhausen
Tel.: (033979) 80-0
Fax: (033979) 80-200, 80-222

Institut für Epidemiologie

Örtl. admin. Vertreter des Präsidenten: Direktor und Professor PD Dr. med. vet. F.J. Conraths
Örtl. Verwaltungsleiterin: Regierungsamtfrau B. Krause

Die Institute

Institut für Molekularbiologie (IMB)

Das **Institut für Molekularbiologie** führt molekulare Analysen tierpathogener Viren durch und forscht an der Aufklärung der Interaktionen zwischen Virus und Wirtszelle auf molekularer Ebene. Schwerpunkte bilden animale Herpesviren (Pseudorabiesvirus, Bovines Herpesvirus 1, Virus der infektiösen Laryngotracheitis, Koi-Herpesvirus), Rhabdoviren (Tollwut- und Tollwut-verwandte Viren), Orthomyxoviren (Influenza) sowie Paramyxoviren (Newcastle Disease Virus). Mittels molekularvirologischer und zellbiologischer Techniken werden Untersuchungen zur funktionellen Charakterisierung viraler Genprodukte sowie zur Interaktion mit zellulären Proteinen durchgeführt. Die gezielte Herstellung spezifischer Virusmutanten durch gentechnische Methoden (Klonierung kompletter viraler Genome als bakterielle artifizielle Chromosomen, BAC; reverse Genetik von RNA Viren inklusive aviärer Influenzaviren) bildet dabei die Grundlage. Am Institut ist eine Proteomanalyseplattform mit 2-D-Gelelektrophorese und Massenspektrometrie (MALDI-TOF/TOF) sowie eine Live-Cell Imaging Plattform zur Beobachtung virologisch-zellbiologischer Prozesse in Echtzeit etabliert.

Leitung: Präsident und Professor Prof. Dr. Dr. h. c. Th.C. Mettenleiter

Vertretung: Direktor und Professor Dr. G. Keil

Wissenschaftliche Mitarbeiter:
PD Dr. S. Finke, Wiss. Oberrat Dr. W. Fuchs, Wiss. Oberrat Dr. A. Karger, Wiss. Oberrätin Dr. B. Klupp, Dr. I. Reimann, Wiss. Oberrätin Dr. A. Römer-Oberdörfer, Dr. J. Stech, Wiss. Oberrat PD Dr. Dr. T.W. Vahlenkamp, Dr. J. Veits, Dr. S. Weber

Drittmittelbeschäftigte:
S. Böttcher, J. Bogs, D. Deckers, G. Gac, S. Gohrbandt, C. Höhle, J. Hundt, M. Krautwald, A. Kreibich, J. Kuhn, T. Leege, K. Michael, B. Möhl, F. Müller, J. Orbanz, S. Pavlova, K. Ramp, D. Schröer, M. Skiba, O. Stech, E. Topfstedt

Institut für Virusdiagnostik (IVD)

Das **Institut für Virusdiagnostik** bearbeitet veterinärmedizinisch bedeutsame Viruserkrankungen bei Nutztieren vorrangig aus diagnostischer und differenzialdiagnostischer Sicht. Besonderes Augenmerk liegt dabei auf anzeigepflichtigen Tierseuchen. Im Institut werden daher eine Reihe Nationaler Referenzlaboratorien geführt, u.a. für Klassische Schweinepest, Geflügelpest, Newcastle Disease, Infektionen mit Bovinem Herpesvirus Typ 1, Infektiöse Anämie der Einhufer, Teschener Krankheit, Maul- und Klauenseuche, Vesikuläre Schweinekrankheit, Afrikanische Schweinepest und Bovine Virusdiarrhoe/Mucosal Disease. Hinzu kommen Referenzlabore für exotische Tierseuchen, wie die Pest der Kleinen Wiederkäuer, Lumpy-Skin-Krankheit, Rinderpest oder Affenpocken. Die Laboratorien für Geflügelpest, Newcastle Disease und BHV-1 sind zudem als Referenzstellen der Weltorganisation für Tiergesundheit (OIE) anerkannt. Im Institut werden Verfahren für die Diagnose virusbedingter Tierkrankheiten erarbeitet, verbessert und validiert, Zulassungsuntersuchungen von Diagnostika entsprechend Tierseuchengesetz vorgenommen sowie kommerziell nicht verfügbare Labordiagnostika entwickelt und bereitgestellt. Außerdem betreibt das IVD Prophylaxe- und Pathogeneseforschung bei ausgewählten Erregern, beispielsweise für Schweinepest, Maul- und Klauenseuche sowie Aviäre Influenza. Der im Institut etablierten Virusbank obliegt die Sammlung, Charakterisierung und Pflege von authentischen Virusstämmen und homologen Antiseren. Die Herstellung monoklonaler Antikörper bildet einen zusätzlichen Arbeitsbereich.

Leitung: Direktor und Professor PD Dr. M. Beer

Vertretung: Direktor und Professor Dr. H. Schirrmeier

Wissenschaftliche Mitarbeiter:
Wiss. Oberrat Dr. M. Dauber, Wiss. Direktor Dr. K.R. Depner, Wiss. Oberrat PD Dr. C. Grund, Wiss. Direktor Dr. B. Haas, Wiss. Direktor PD Dr. T. Harder, Wiss. Rat Dr. B. Hoffmann, Dr. P. König, E. Starick, H.-G. Strebelow

Drittmittelbeschäftigte:
Dr. S. Blome, K. Brehm, M. Eschbaumer, Dr. S. Fereidouni, Dr. M. Durban, Dr. A. Gall, R. Häuslaigner, Dr. D. Höper, Dr. D. Kalthoff, U. Kraatz, Dr. K. Kühn, I. Leifer, T. Letzel, D. Matthes, K. Mischkale, I. Müller, Dr. A. Postel, J. Rosin, Dr. M. Rudolf, R. Wäckerlin, A. Wegelt, J. Zemke

Institut für Infektionsmedizin (IMED)

Im **Institut für Infektionsmedizin** (IMED) steht angewandte Forschung zur Ätiologie und Pathogenese viral, bakteriell und multifaktoriell bedingter Krankheiten bei Nutztieren im Mittelpunkt. Ziele der Arbeiten sind die Entwicklung immunprophylaktischer Maßnahmen und die Ausarbeitung von Bekämpfungsstrategien. Bei der Aufklärung von Erreger-Wirtstier-Beziehungen, d.h. dem Infektions- und Krankheitsablauf im Tier, setzt das Institut virologische, bakteriologische, molekularbiologische und immunologische Methoden ein. Nach tierexperimentellen

Studien kommen zudem pathomorphologische und molekularbiologische Methoden in Verbindung mit der elektronenmikroskopischen Analyse von Ultrastrukturen zum Einsatz. Arbeitsschwerpunkte bilden die Diagnostik und Bekämpfung von virusbedingten Fischkrankheiten, die Immunologie von Nutzfischen sowie Entomologie und Faktorenkrankheiten. In Zusammenarbeit mit anderen Instituten des FLI führt das IMED Studien zur molekularen Diagnostik und Pathogenese der Klassischen Geflügelpest und Newcastle Disease unter besonderer Berücksichtigung des hämorrhagischen Syndroms, zur Immunpathologie boviner Retrovirusinfektionen und zur Neuropathologie animaler Herpesviren durch. Multifaktoriell bedingte Infektionskrankheiten (Faktorenkrankheiten) werden beim Schwein sowie bei Nutzfischen untersucht. Das IMED betreibt eine Zellbank, die relevante Zelllinien für die veterinärmedizinische Forschung und Diagnostik entwickelt, charakterisiert und für das FLI sowie für andere nationale und internationale Institutionen bereitstellt. Es führt die Nationalen Referenzlaboratorien für verschiedene virusbedingte Fischkrankheiten (Infektiöse Hämatopoetische Nekrose, Virale Hämorrhagische Septikämie der Salmoniden, Infektiöse Anämie der Lachse, Koi-Herpesvirusinfektion der Karpfen) sowie für die exotischen Fischseuchen Epizootische Hämatopoetische Nekrose und Epizootisches Ulzeratives Syndrom und die Nationalen Referenzlabore für Muschel- und Krebstierkrankheiten.

Leitung: Direktor und Professor Dr. V. Kaden

Vertretung: Direktor und Professor Prof. Dr. J.P. Teifke

Wissenschaftliche Mitarbeiter:
Wiss. Oberrat Dr. S.M. Bergmann, Dr. U. Blohm, Wiss. Oberrat Dr. D. Fichtner, Wiss. Oberrat Dr. U. Fischer, Wiss. Direktor Dr. H. Granzow, PD Dr. H. Kampen, Dr. B. Köllner, G. Kotterba, Wiss. Oberrätin Dr. E. Lange, M. Lenk, U. Polster, Dr. R. Riebe, Wiss. Oberrätin Dr. H. Schütze

Drittmittelbeschäftigte:
C. Winkler, S. Ohlemeyer, M. Riechardt, D. Schrudde, Dr. F. Takizawa, S. Wowro, P. Kotterba

Institut für neue und neuartige Tierseuchenerreger (INNT)

Das **Institut für neue und neuartige Tierseuchenerreger** entwickelt neue Nachweismethoden für Prion-Erreger (BSE, Scrapie) und zur Differenzierung von Prion-Stämmen. Es führt experimentelle BSE-Pathogenesestudien mit Rindern und kleinen Wiederkäuern durch und betreibt die nationale BSE-Probenbank. Außerdem entwickelte das Institut transgene Mausmodelle zur Analyse der Übertragbarkeit dieser Erreger über Speziesgrenzen hinweg sowie zur Bedeutung der Glykosylierung des Prion-Proteins. Die bei der Prion-Umfaltung beteiligten Bereiche des Prion-Proteins werden in Scrapie-infizierten Zellkulturen und zellfreien Systemen untersucht. Neben diesen neuartigen Tierseuchenerregern bearbeitet das INNT schwerpunktmäßig virale Zoonosen. Die Laborarbeiten hierfür erfordern teilweise höhere Sicherheitsstufen (L3, L4), die derzeit am FLI nicht oder nur eingeschränkt zur Verfügung stehen. Daher konzentrieren sich die Forschungsarbeiten derzeit vorrangig auf die Etablierung diagnostischer Nachweisverfahren (*real-time* RT-PCR, Microarray-Technologie) sowie serologische und antigenetische Nachweistechniken. Im INNT werden die Aufgaben der Nationalen Referenzlaboratorien für BSE, Scrapie, viral-bedingte Pferdeenzephalomyelitiden, West-Nile-Viren, Japanische Enzephalitis-Viren, virale Pferdeenzephalomyelitiden (Alphaviren), Bunyaviren (hier: Hantaviren), Rift-Valley-Fieber-Viren, Krim-Kongo-Hämorrhagische-Fieber-Viren, Filoviren und Henipaviren wahrgenommen. Das INNT betreibt den Geschäftsstellenstandort „Tiermedizin“ der Nationalen Zoonoseplattform, das Netzwerk „Nagetier-übertragene Pathogene“ sowie eine Technologie-Plattform zur Erstellung transgener Mäuse mit zugehöriger SPF-Haltung.

Leitung: Direktor und Professor Prof. Dr. M.H. Groschup

Vertretung: Direktor und Professor Dr. A. Buschmann

Wissenschaftliche Mitarbeiter:
Dr. M. Eiden, Dr. Ch. Hoffmann, Dr. M. Keller, PD Dr. R. Ulrich, Dr. U. Ziegler

Drittmittelbeschäftigte:
M. Angermann, Dr. A. Brenn, T. Büchner, I. Dworog, M. Franz, S. Freyse, M. Kaatz, M. Kloos, F. Leidel, M. Mertens, E. Ortega-Soto, J. Proft, M. Schlegel, K. Schmidt, D. Seidowski, B. Strohmeier, W. Wohlfromm, A. Vina-Rodriguez

Institut für Tierernährung

Das **Institut für Tierernährung** forscht auf den Gebieten Ernährungsphysiologie, Futtermittelkunde und Tierfütterung. Im Mittelpunkt der Arbeiten steht die effektive Umwandlung von Futterinhaltsstoffen in qualitativ hochwertige Lebensmittel tierischer Herkunft oder andere Leistungen von Tieren. Hierbei werden sowohl

ökologische und ökonomische Aspekte als auch die Tiergesundheit berücksichtigt. Im Bereich Stoffwechsel und Nährstoffbedarf werden die Umsetzungen im Verdauungstrakt der Nutztiere untersucht, besonders das Vormagensystem der Wiederkäuer. Weitere Themen sind die Regulation der Futter- und Wasseraufnahme, die artgerechte Ernährung von Nutztieren sowie Ableitungen zum Energie- und Nährstoffbedarf verschiedener Tierarten. Das Institut untersucht und bewertet außerdem neuartige Futtermittel, wie z.B. aus gentechnisch veränderten Pflanzen, sowie den Einsatz von Futterzusatzstoffen. In den letzten Jahren gewinnt die mögliche Belastung von Futtermitteln und aus ihnen erzeugten Lebensmitteln mit Mykotoxinen, Schwermetallen und Halogenverbindungen zunehmend an Bedeutung. Bei den Mykotoxinen spielen vor allem Arten der Gattung *Fusarium* eine Rolle, die Getreidepflanzen bereits auf dem Feld befallen und deren Toxine mit kontaminiertem Getreide in die Futtermittel- und Nahrungsmittelkette gelangen können. Hierzu führt das Institut für Tierernährung bei Wiederkäuern, Schweinen und Geflügel Untersuchungen durch, um die Wirkmechanismen aufzuklären, Möglichkeiten der Dekontamination von belasteten Getreidepartien aufzuzeigen und kritische Konzentrationen im Futter abzuschätzen. Hinzu kommt die Analytik der Toxine sowie deren Metaboliten in Lebensmitteln tierischen Ursprungs („carry over“). Möglichkeiten zur Reduzierung der Emissionen bei der Erzeugung von Lebensmitteln tierischer Herkunft stellen einen weiteren Forschungsschwerpunkt des Institutes dar.

Leitung*:* Direktor und Professor Prof. Dr. G. Flachowsky

Vertretung: Wiss. Rat Dr. U. Meyer

Wissenschaftliche Mitarbeiter:
Dr. A. Berk, Wiss. Oberrat Prof. Dr. S. Dänicke, Dr. S. Döll, Dr. S. Hachenberg, Wiss. Oberrätin PD Dr. I. Halle, Dr. L. Hüther, Dr. P. Lebzien, Dr. M. Spolders, Wiss. Oberrätin Dr. H. Valenta

Drittmittelbeschäftigte:
B. Brosig, K. Franke, J. Pappritz, V. Ragaller, A.S. Röttger, D. Rohweder, D. v. Soosten

Institut für Tierschutz und Tierhaltung

Das **Institut für Tierschutz und Tierhaltung** führt grundlagen- und anwendungsorientierte Forschungsprojekte zur Bewertung und Weiterentwicklung tiergerechter Haltungssysteme sowie zu Transport, Betäubung und Tötung landwirtschaftlicher Nutztiere durch. Die Forschungen basieren auf der Erkenntnis, dass sich die aktuelle Anpassungsfähigkeit von Individuen an ihre Haltung aus der stammesgeschichtlichen Anpassung an den jeweiligen Lebensraum ableitet. Unterschiede in der Anpassungsfähigkeit werden dabei durch die genetische Variabilität und individuelle Erfahrungen verursacht. In die Forschung werden zudem ökonomische Aspekte, Managementaspekte wie die Bestandshygiene sowie durch die Tierhaltung verursachte Umweltbelastungen einbezogen, um Konflikte zwischen Ökonomie, Tier- und Umweltschutz zu vermeiden. Tierschutzrelevante Probleme in der Haltung sind nur zu verstehen, wenn die Mechanismen, durch die die Anpassungsreaktionen der Tiere vermittelt werden, bekannt sind. Hierbei bilden motivationale und kognitive, stressphysiologische und immunologische sowie molekulare Steuerungsmechanismen des Verhaltens einen Schwerpunkt. Als Faktoren, die die Anpassungsreaktionen der Tiere an die Haltungsbedingungen festlegen oder modifizieren, werden insbesondere Reifungsprozesse, genetische Faktoren, Ernährung und Gesundheitsstatus der Tiere berücksichtigt. Ausgehend von den Anpassungsmechanismen lassen sich Indikatoren für eine objektive Erfassung der Auswirkungen von Haltungssystemen ableiten. Für praxistaugliche Umsetzung sind hierbei Indikatoren wichtig, die sich experimentell wiederholen und validieren lassen. Dazu gehören Verhaltensänderungen und –störungen, Stressreaktionen, Störungen des Immunsystems und veränderte Genaktivitäten, pathologische Merkmale sowie Morbidität und Mortalität. Weiterhin sollten Bewertungsverfahren möglichst wenig Aufwand erfordern und wenig störanfällig sein. Bewertungsindikatoren und -verfahren bilden auch die Werkzeuge, um Verbesserungen in der tiergerechten Haltung von Nutztieren zu entwickeln und zu prüfen. In enger Zusammenarbeit mit der Praxis werden hierbei potentiell problematische Haltungsfaktoren identifiziert und untersucht. Daraus resultieren Maßnahmen, die negative Auswirkungen der Haltung reduzieren oder vermeiden, z.B. durch veränderte Haltungseinrichtungen, Fütterung, Tier-Mensch-Interaktionen sowie verbesserte Transportbedingungen, Betäubungs- sowie Schlachtverfahren.

Leitung: Direktor und Professor Dr. L. Schrader

Vertretung: Dr. M. Marahrens

Wissenschaftliche Mitarbeiter:
Wiss. Rat z.A. Dr. J. Berk, Dr. B. Bünger, Wiss. Rat Dr. G. Heil, Dr. J. Kjaer, Wiss. Oberrat C. Otto, Wiss. Oberrat Dr. Loc Phi van, Dr. S. Petow, Dr. F.-D. Zerbe

Drittmittelbeschäftigte:
J. Dannenbrink, Dr. B. Scholz, K. Steinkamp, T. Pickel, N. Kleinschmidt, A.H. Truar

Institut für bakterielle Infektionen und Zoonosen (IBIZ)

Das **Institut für bakterielle Infektionen und Zoonosen** forscht zur Ätiologie, Pathogenese und Epidemiologie vorwiegend bakteriell bedingter Infektionskrankheiten von Nutz-, Heim- und Wildtieren. Ein bedeutender Teil der Arbeiten ist auf Krankheiten und Krankheitserreger ausgerichtet, die vom Tier auf den Menschen übertragen werden können (Zoonosen). Die Ergebnisse dieser Arbeiten fließen in die Entwicklung und Optimierung diagnostischer Verfahren sowie die Erarbeitung von Bekämpfungsstrategien ein. Im Mittelpunkt der Forschungsarbeiten stehen durch Salmonellen, Campylobacter, Brucellen, Clostridien, Francisellen, Burkholderien und Mycoplasmen bedingte Infektionen. Unabhängig vom jeweiligen Erreger werden schwerpunktmäßig Untersuchungen zur Erregerprävalenz durchgeführt, Übertragungswege und –mechanismen charakterisiert, Fragen der Erregerpersistenz bearbeitet, Infektionsketten und epidemiologische Zusammenhänge mit Hilfe klassischer und molekularer Methoden aufgedeckt, die zoonotische Bedeutung bestimmter Erreger ermittelt, Infektionsmodelle etabliert und therapeutische Möglichkeiten im Tiermodell geprüft. Das IBIZ führt die Nationalen Referenzlaboratorien für Brucellose, Campylobacteriose, Tularämie, kontagiöse equine Metritis, Milzbrand, Rauschbrand, Vibrionenseuche der Rinder, Rotz, Salmonellose der Rinder und durch Zecken übertragene Krankheiten. Die Laboratorien für Brucellose und Rotz sind zudem als Referenzlabore der Weltorganisation für Tiergesundheit (OIE) anerkannt.

Leitung: Direktor und Professor PD Dr. H. Neubauer

Vertretung: PD Dr. H. Tomaso

Wissenschaftliche Mitarbeiter:
Dr. M. Elschner, Dr. I. Hänel, Dr. M. Heller, Wiss. Oberrat Dr. H. Hotzel, Dr. C. Klaus, Dr. F. Melzer, Dr. U. Methner, Dr. W. Müller, Dr. P. Otto, Dr. A. Raßbach, Dr. C. Seyboldt, PD Dr. J. Süss

Drittmittelbeschäftigte:
Dr. M. Dietzsch, J. Dlabola, Dr. M. Lange, Dr. B. Pauly, Dr. N. Rammler, Dr. G. Schmoock, Dr. C. Schnee

Institut für molekulare Pathogenese (IMP)

Durch Mykobakterien und Chlamydien verursachte Infektionen stehen im Mittelpunkt der im **Institut für molekulare Pathogenese** durchgeführten Forschungsarbeiten. Schwerpunkte bilden Untersuchungen zu Wechselwirkungen zwischen Infektionserregern und Wirtsorganismen bei der Entstehung und Verbreitung verschiedener bakteriell bedingter Infektionskrankheiten der Tiere und ausgewählter Zoonosen. Im Institut werden hierbei Fragen der Immunologie, Pathologie/Histologie und klinischen Physiologie/Pathophysiologie tierexperimentell bearbeitet sowie durch *In-vitro*-Untersuchungen zu Erreger-Wirt-Interaktionen ergänzt. Die Ergebnisse bilden die Grundlage für die Erarbeitung verbesserter Strategien zur Diagnostik, Prophylaxe und effektiven Bekämpfung von Infektionskrankheiten bei Tieren sowie zum Schutze des Menschen.
Das IMP führt die Nationalen Referenzlaboratorien für Tuberkulose beim Rind, Paratuberkulose, Psittakose sowie Beschälseuche. Das Labor für Psittakose ist zudem als Referenzstelle der Weltorganisation für Tiergesundheit (OIE) anerkannt.

Leitung: PD Dr. P. Reinhold, PhD (komm. Leitung)

Vertretung: Dr. K. Sachse

Wissenschaftliche Mitarbeiter:
Dr. A. Berndt, Dr. E. Borrmann, Dr. J. Gottschaldt, A. Kneucker, Dr. H. Köhler, Prof. Dr. E. Liebler-Tenorio, PD Dr. I. Moser, Dr. P. Möbius, Dr. E. Schubert, Dr. L. Sprague, Dipl.-Ing. E. Thalmann

Drittmittelbeschäftigte:
M. Braukmann, J. Elze, J. Feige, I. Fritsch, F. Gierke, S. Göllner, A. Kneucker, H. Lenzko, C. Ostermann, S. Sattler, K. Sommer, A. Vogel, J. Wagner

Institut für Nutztiergenetik (ING)

Wissenschaftliche Fragen der Genetik und genetischen Vielfalt bei landwirtschaftlichen Nutztieren stehen im Mittelpunkt der Arbeiten des **Instituts für Nutztiergenetik**. Schwerpunkte bilden Untersuchungen zur Charakterisierung und Erhaltung genetischer Ressourcen, biotechnische Methoden zu deren Erhaltung, sowie die Entwicklung informationstechnologischer Strategien, mit denen der Erhalt genetischer Ressourcen auch auf globaler Ebene ermöglicht werden kann. Die Charakterisierung genetischer Ressourcen schließt die Ermittlung individueller phänotypischer Varianz, z.B. bei Wachstum und Fortpflanzung, ein und ermöglicht dadurch die Analyse der Leistungsgrenzen bei Nutztieren. Ein weiterer Schwerpunkt der wissenschaftlichen Arbeiten sind moderne reproduktionsbiologische Verfahren, wie

In-vitro-Produktion von Embryonen, Spermientrennung, somatisches Klonen und die Stammzelltechnologie, die sowohl für den Erhalt genetischer Ressourcen als auch für zukunftsweisende Zuchtprogramme von großer Bedeutung sind. Neue molekulargenetische Erkenntnisse in Kombination mit reproduktionsbiologischen Verfahren erlauben die Zucht transgener Tiere für unterschiedliche Anwendungsperspektiven, wodurch die genetische Vielfalt erweitert werden kann. Hierzu gehört auch die Entwicklung neuer biomedizinischer Anwendungsmodelle. Ferner werden Arbeiten zu den Themenbereichen molekulare Mikrobiologie und Antibiotikaresistenz durchgeführt, die im Zusammenhang mit der Diagnostik und Bekämpfung bakterieller Infektionen bei landwirtschaftlichen Nutztieren wichtig sind. Typisch für die aktuelle Forschung ist die Einbindung in regionale und internationale Forschungsverbünde. Hervorzuheben ist die Beteiligung am Exzellenz-Cluster „REBIRTH“, das an der Medizinischen Hochschule Hannover angesiedelt ist.

Leitung: Prof. Dr. H. Niemann

Vertretung: Prof. Dr. D. Rath

Wissenschaftliche Mitarbeiter:
Dr. U. Baulain, Dr. Dr. h. c. mult. E. Groeneveld, Dr. R. Großmann, Dr. M. Henning, Dr. S. Klein, Dr. P. Köhler, Dr. A. Lucas-Hahn, Prof. Dr. N. Parvizi, Prof. Dr. S. Schwarz, Dr. S. Weigend, J. Carnwath, Dr. C. Ehling

Drittmittelbeschäftigte:
A. Cunha, Z. Duchev, H. Eding, Dr. J. Heinzmann, W. Garrels, Dr. L.F. Groeneveld, Dr. C. Kehrenberg, K. Kadlec, Dr. W. Kues, Prof. Dr. J. Laurincik, Dr. M. Nowak-Imialek, M. Orpeza, Dr. B. Petersen

Institut für Immunologie (IfI)

Das **Institut für Immunologie** erforscht die immunologischen Mechanismen von virusbedingten Tierseuchen sowie Prionenerkrankungen. Untersuchungen an verschiedenen Viren tragen zur Verbesserung und Entwicklung neuer Bekämpfungs- und Kontrollstrategien sowie für die Risikoabschätzung bei der Freisetzung gentechnisch veränderter Organismen bei. Das bearbeitete Erregerspektrum reicht von Pestiviren (Virus der klassischen Schweinepest; Virus der bovinen Virusdiarrhoe), über Caliciviren (Virus der hämorrhagischen Kaninchenseuche) und Herpesviren (Pseudorabiesvirus) bis zu Parapockenviren. Erforscht werden die biochemischen Grundlagen der Virusvermehrung und die molekularen Mechanismen der Interaktion von Virus und Immunsystem. Insbesondere aus den Arbeiten zur Attenuierung von Pestiviren sowie den Untersuchungen zum Einsatz des Parapockenvirus als Vektor aufgrund seiner immunstimulierenden Eigenschaften ergeben sich neue Aspekte für die Impfstoffentwicklung. Das IfI beschäftigt sich außerdem mit der Aufklärung der zellulären und humoralen Immunantwort nach Virusinfektionen. Insbesondere Wechselwirkungen des angeborenen und adaptiven Immunsystems mit Influenzaviren werden untersucht, wobei Pathogenese und Interventionsmöglichkeiten an experimentellen Modellen im Mittelpunkt stehen.
Auf zellbiologischer Ebene liegen die Schwerpunkte auf den für eine effiziente Immunantwort relevanten Signalwegen und den Mechanismen der Antigenprozessierung zur MHC-vermittelten Präsentation der viralen Antigene. Arbeiten zur Interaktion zwischen Viren und Immunzellen sollen immunpathologische Vorgänge auf B- und T-Zellebene aufklären. Als Modell dient hierzu die Bornasche Krankheit. Auf immunologischer und zellbiologischer Ebene werden sowohl pathologische Mechanismen der transmissiblen spongiformen Enzephalopathien weiter abgeklärt, als auch Wege einer möglichen Intervention aufgezeigt.

Leitung: Direktor und Professor Prof. Dr. L. Stitz

Vertretung: Direktor und Professor Prof. Dr. E. Pfaff

Wissenschaftliche Mitarbeiter:
Wiss. Oberrat Dr. P.-J. Enzmann, PD Dr. M. Knittler, Wiss. Direktor Prof. Dr. G. Meyers, Wiss. Oberrat Prof. Dr. O. Planz, Wiss. Direktor Dr. H.-J. Rziha, Dr. H. Voigt

Drittmittelbeschäftigte:
I. Bintintan, S. Burrack, K. Dröbner, D. Fiegl, E. Haasbach, P. Heindl, C. Luttermann, K. Muschko, B. Petsch, J. Rohde, T E.-M. Schürmann, B.A. Tews

Institut für Epidemiologie (IfE)

Das **Institut für Epidemiologie** beschäftigt sich mit der Epidemiologie einheimischer Tierseuchen wie aviärer Influenza, Blauzungenkrankheit oder Klassischer Schweinepest, der Prävention nicht einheimischer Infektionskrankheiten und den biomathematischen sowie epidemiologischen Grundlagen der Risikobewertung. Mit modernen epidemiologischen Methoden, die auch auf mathematische Modelle und geografische Informationssysteme zurückgreifen, werden neue Erkenntnisse gewonnen, die in die praktische Tierseuchenbekämpfung einfließen. Darüber hinaus nimmt das Institut behördliche Aufgaben wahr, insbesondere im

Zusammenhang mit dem Tierseuchennachrichtensystem (TSN) und dem Trade Control and Export System (TRACES) der Europäischen Union, und beteiligt sich an der Entwicklung elektronischer Werkzeuge des Krisenmanagements im Falle von Tierseuchenausbrüchen. Für epidemiologische Studien setzt das Institut labordiagnostische Untersuchungen ein. Die Evaluierung von Diagnoseverfahren für epidemiologische Zwecke sowie die Übernahme von Referenzfunktionen auf nationalem und internationalem Niveau bilden dabei eine wichtige Voraussetzung für eine optimale Validität der Studienergebnisse. Zu den Forschungsschwerpunkten gehören Tierkrankheiten mit wirtschaftlicher und/oder zoonotischer Bedeutung, beispielsweise Tollwut, Q-Fieber, Chlamydiose, Salmonellose, Infektionen mit enterohämorrhagischen *Escherichia coli*, Toxoplasmose, Neosporose und Echinokokkose. Die Reservoirfunktion verschiedener Tierpopulationen für Tierseuchenerreger und wirtschaftlich bedeutsame Erkrankungen von Haustieren wird ebenfalls untersucht.

Leitung: Direktor und Professor PD Dr. F.J. Conraths

Vertreter: Direktor und Professor Dr. M. Kramer

Wissenschaftliche Mitarbeiter:
Wiss. Oberrat Dr. A. Aschfalk (derzeit abgeordnet), Dr. A. Fröhlich, Dr. J.M. Gethmann, Wiss. Oberrat Dr. L. Geue, Wiss. Oberrat Dr. K. Henning, A. Micklich, Wiss. Dir. Dr. T. Müller, Dr. C. Pötzsch (derzeit beurlaubt), Dr. C. Probst, Wiss. Oberrat Dr. G. Schares, S. Schwarz, Wiss. Oberrat Dr. T. Selhorst, Wiss. Oberrat Dr. C. Staubach, A. Sutor, Dr. J. Teuffert, Wiss. Oberrat Dr. M. Ziller

Drittmittelbeschäftigte:
C.M. Freuling, D. Herrmann, A. Hilbert, M. Kasper, H. Lentz, P. Maksimov, A. Mathey, M. Milewski, Dr. C. Schoene, J. Sonnenburg, Dr. F. Unger (derzeit beurlaubt), H. Wilking

Beschäftigte

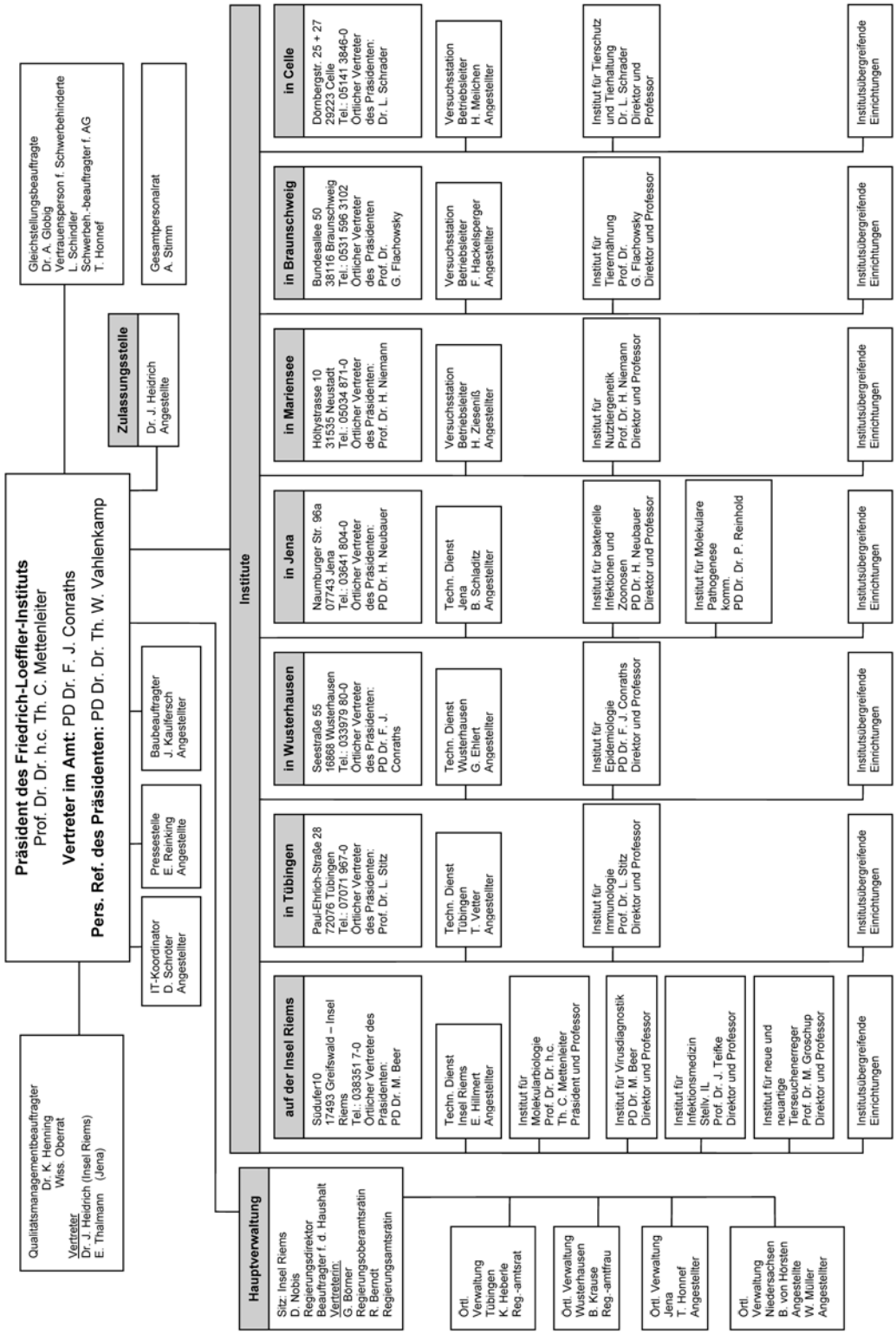
Übersicht über vorhandene Personalstellen am FLI - Stand 31.12.2008

Institut/Einrichtung	Wissenschaftler			Nichtwissenschaftler (ohne Verwaltung)			Verwaltungs-personal			Gesamt
	a	b	ges.	a	b	ges.	a	b	ges	
Braunschweig										
1. Sekretariat							1		1	1
2. Institut für Tierernährung	10,5	2,5	13	21,65	1,5	23,15				36,15
3. Gemeinsch. Einrichtungen										
a) Versuchstierhaltung				15,13		15,13				15,13
4. Örtliche Verwaltung						0	1,5		1,5	1,5
Celle										
1. Sekretariat							1		1	1
2. Institut für Tierhaltung und Tierschutz	11	2,5	13,5	23,75		23,75				37,25
3. Gemeinsch. Einrichtungen										
a) Informationszentrum				1		1				1
4. Betriebstechnischer Dienst				3		3				3
5. Örtliche Verwaltung				1,5		1,5	6		6	7,5
Insel Riems										
1. Leitung u. zentrale Dienste incl. Zulassungsstelle	16		16	0,5		0,5	2		2	18,5
2. Institut für Molekularbiologie	9	10	19	13	5	18				37
3. Institut für Virusdiagnostik	15	10	25	19	12	31	1		1	57
4. Institut für Infektionsmedizin	15,5	2	17,5	28	3	31	1		1	49,5
5. Institut für neue und neuartige Tierseuchenerreger	7	5,5	12,5	10,77	8,77	19,54	1		1	33,04
6. Gemeinsch. Einrichtungen										
a) Bibliothek	1		1	1		1				2
b) Informationszentrum	1		1	4		4				5
c) Zentrallager/Nährmedien				2		2				2
d) Fotolabor				2		2				2
7. Betriebstechnischer Dienst	1		1	32,16		32,16	1		1	34,16
8. Hauptverwaltung	2		2	13		13	32	1,5	33,5	48,5
Jena										
1. Sekretariat							1		1	1
2. Institut für bakterielle Infektionen und Zoonosen	15	5	20	19,5	3	22,5				42,5
3. Institut für molekulare Pathogenese	13	4	17	19,5	2,5	22				39
4. Gemeinsch. Einrichtungen										
a) Informationszentrum	1		1	2		2				3
b) Bibliothek				1		1				1
c) Versuchstierhaltung				9	2	11				11
d) Zentrallager/Nährmedien				3		3				3
5. Betriebstechnischer Dienst				7		7				7
6. Örtliche Verwaltung				5		5	4,65		4,65	9,65

Institut/Einrichtung	Wissenschaftler			Nichtwissenschaftler (ohne Verwaltung)			Verwaltungs-personal			Gesamt
	a	b	ges.	a	b	ges.	a	b	ges	
Mariensee										
1. Sekretariat							1		1	1
2. Institut für Nutztiergenetik	15	7	22	63,25	4,5	67,75				89,75
3. Gemeinsch. Einrichtungen										
a) Informationszentrum				5		5				5
4. Betriebstechnischer Dienst				7		7				7
5. Örtliche Verwaltung				7,53		7,53	9,13		9,13	16,66
Tübingen										
1. Sekretariat							1		1	1
2. Institut für Immunologie	8	5,5	13,5	13	3	16				29,5
3. Gemeinsch. Einrichtungen										
a) Informationszentrum				2		2				2
b) Bibliothek				1		1				1
c) Versuchstierhaltung				6		6				6
d) Zentrallager/Nährmedien				1		1				1
4. Betriebstechnischer Dienst				12		12				12
5. Örtliche Verwaltung				5		5	6		6	11
Wusterhausen										
1. Sekretariat							2		2	2
2. Institut für Epidemiologie	17,5	5	22,5	14	4,25	18,25				40,75
3. Gemeinsch. Einrichtungen										
a) Bibliothek				1		1				1
b) Versuchstierhaltung				2		2				2
4. Betriebstechnischer Dienst				5		5				5
5. Örtliche Verwaltung				4		4	3,9		3,9	7,9
Gesamt FLI	159	59	218	406,2	49,52	455,76	76,2	1,5	77,7	750,94

a) = aus Hausmitteln b) = aus Zuwendung Dritter und von Bundesbehörden

Organigramm Stand 31.12.2008



III. AUSGEWÄHLTE SCHWERPUNKTTHEMEN

INSTITUT FÜR MOLEKULARBIOLOGIE (IMB)

Effiziente Universalklonierung von Influenzavirusgenen: Ein neuartiges Werkzeug für Grundlagenforschung und Impfstoffentwicklung

Stech, J., Stech, O., Hundt, J., Gohrbandt, S., Kreibich, A., Bogs, J., Mettenleiter, T.C.

Hochpathogene aviäre Influenza-A-Viren (HPAIV) haben als Erreger der klassischen Geflügelpest eine erhebliche ökonomische Bedeutung. Darüber hinaus wird befürchtet, dass die wiederholten Infektionen des Menschen zu einer weiteren Anpassung bis hin zur effizienten Übertragung von Mensch zu Mensch führen könnten, womit die Voraussetzungen für eine neue Pandemie gegeben wären. Alternativ ist die Entstehung eines neuartigen Stammes durch Reassortment bei Koinfektion mit einem humanen und einem aviären Influenza A-Virus denkbar (Klenk et al., 2008).

Reverse Genetik von Influenza-A-Viren – Zentrales molekularbiologisches Werkzeug für Impfstoffentwicklung und Grundlagenforschung

Influenza-A-Viren gehören zu den *Orthomyxoviridae* und besitzen ein segmentiertes RNA-Genom negativer Polarität. Im Virion liegen die acht Gensegmente umhüllt vom Nukleoprotein und jeweils verbunden mit den drei Polymerase-Untereinheiten PB2, PB1 und PA vor. Das Matrixprotein M1 kleidet das umhüllte Virion von innen aus; Hämagglutinin, Neuraminidase und M2-Protein stellen Oberflächenproteine dar. Weitere Erläuterungen zur Funktion der Virusproteine finden sich in Abb. 1.

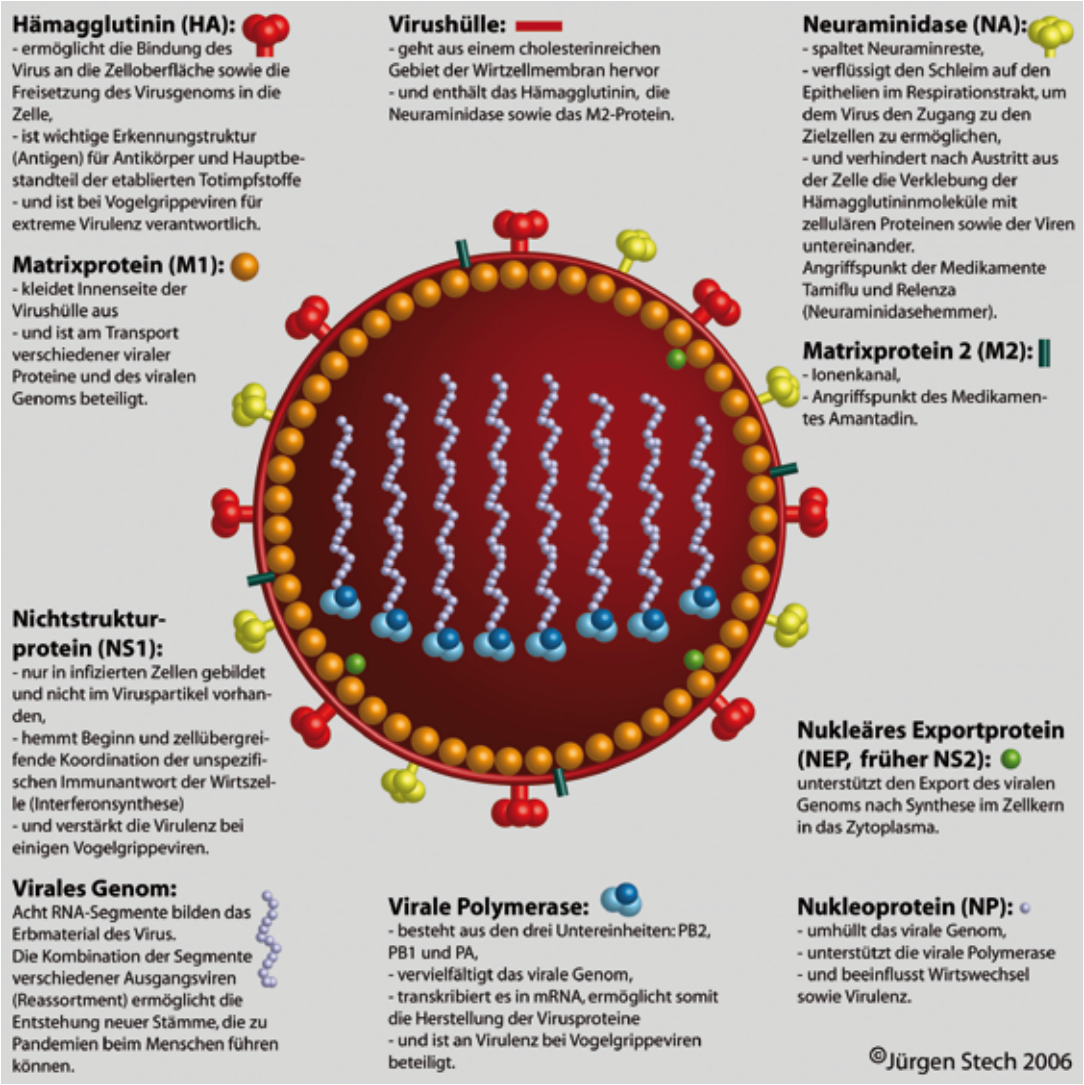


Abb. 1: Schematischer Aufbau des Influenza A-Virus und Erläuterungen zu den Funktionen der einzelnen Virusproteine.

Die Generierung rekombinanter Influenza-A-Viren ausschließlich durch Transfektion von Plasmiden in Zellen erlaubt die gezielte Einführung beliebiger Mutationen wie Punktmutationen, Insertionen, Deletionen oder den Austausch ganzer Gensegmente. Ermöglicht wird die Rekonstitution infektionsfähiger Virionen durch die Transkription der in den Plasmiden enthaltenen cDNA-Kopie der Virusgene sowohl in genomische virale RNA (vRNA) durch den Promoter der RNA-Polymerase I (Pol1), als auch in mRNA durch einen Promoter der RNA-Polymerase II (Pol2). Die beiden Promotoren können auf zwei verschiedenen Plasmiden oder auf einem Plasmid liegen. Ein System nach letzterem Prinzip (Hoffmann et al., 2000) wird von der Arbeitsgruppe eingesetzt. Die cDNA des eingefügten Virusgens wird dabei von den beiden Promotoren flankiert, was die Transkription sowohl in vRNA als auch in mRNA von derselben cDNA-Matrize ermöglicht. Dadurch wird die Zahl der notwendigen Plasmide und damit der Aufwand der Klonierung reduziert. Bei allen Systemen wird nach Transfektion die virale Polymerase exprimiert, welche die transkribierte vRNA vervielfältigt und davon zusätzlich mRNA für die Proteinsynthese synthetisiert, sodass weitere Nukleokapside zusammengesetzt werden und von den Zellen ausknospen können.

Herstellung rekombinanter Influenza-A-Viren durch reverse Genetik

Die Herstellung rekombinanter Influenzaviren setzt die exakte Klonierung aller acht Virusgene in Plasmide voraus. Erst dann wird die Generierung maßgeschneiderter Viren durch gezielte Mutagenesen möglich. In den etablierten Systemen der reversen Genetik basiert die Klonierung von Influenzavirusgenen auf der Nutzung von Restriktionsschnittstellen, die durch PCR an die Enden des Virusgens angefügt werden. Das Virusgen muss nukleotidgenau in den Plasmidvektor eingeführt werden, denn zusätzliche Nukleotide an den Termini der Gensegmente werden von der viralen Polymerase nicht toleriert und verhindern die Replikation. Zu diesem Zweck werden sogenannte Ausleger-Enzyme eingesetzt, die sich von anderen Restriktionsenzymen dadurch unterscheiden, dass Schnitt- und Erkennungsstelle in einem definierten Abstand voneinander getrennt sind. Der Einsatz von Restriktionsenzymen erfordert jedoch eine genaue Kenntnis der Nukleotidsequenz, um unerwünschte Schnittstellen im potentiellen Insert ausschließen zu können. Weiterhin kommt erschwerend hinzu, dass die Zahl der zum Plasmidvektor kompatiblen Enzyme sehr gering ist, sodass in manchen Gensegmenten Schnittstellen bereits vorliegen und somit für die Klonierung kein geeignetes Enzym zur Verfügung steht. In diesen Fällen müsste das Virusgen zunächst in einen anderen Vektor kloniert, die Spaltstelle durch Mutagenese entfernt und dann die mutierte cDNA in den Zielvektor eingeführt werden. Es wurde daher nach einer alternativen Klonierungsmethode gesucht, welche es ermöglicht, die Gene eines beliebigen Influenza-A-Stammes ohne vorherige Kenntnis der Sequenzen in den verwendeten Pol1-Pol2-Plasmidvektor zu klonieren.

Universalklonierung von Influenza-A-Virusgenen und etablierte rekombinante Systeme

Für die reverse Genetik von Influenza-A-Viren ist die nukleotidgenaue Einführung des Virusgens in den Plasmidvektor erforderlich. Geiser et al. beschrieben eine Erweiterung einer Mutagenese-Methode (Qikchange™), die es ermöglicht, PCR-Produkte von einer Länge bis zu 1117 bp in Plasmide einzuführen (Geiser et. al, 2001). Voraussetzung ist eine Homologie von mindestens 20 Nukleotiden zwischen den Enden des PCR-Produktes und den Insertionsstellen im Plasmid. Erste Versuche, dieses Konzept unverändert für die Klonierung von Influenza-virusgenen einzusetzen, reduzierten die Effizienz der PCR bedingt durch stark verlängerte Primer allerdings erheblich. Daher gelangen nur Klonierungen kleinerer Gensegmente. Die Länge der acht Gensegmente von Influenza A-Viren reicht von 890 bis 2341 Nukleotiden. Um die erforderliche Effizienz erreichen zu können, wurde in den verwendeten Plasmidvektor pHW2000 (Hoffmann et al., 2000) der für bestimmte *Escherichia coli*-Laborstämme letale Selektionsmarker ccdB flankiert von den beiden Enden der Gensegmente eingeführt. Diese Termini sind bei allen Segmenten aller Influenza A-Stämme hochkonserviert und bleiben während der Klonierung unverändert. Dies ermöglicht den Einsatz kürzerer PCR-Primer und erlaubt die Synthese ausreichend großer Mengen an Insert. Die Verwendung des letalen ccdB-Gens erlaubt darüber hinaus die Selektion gegen den unmodifizierten Ausgangsvektor nach Transformation in kompetente Bakterien. Das resultierende Plasmid pHWSccdB (Abb. 2a) wird zusammen mit dem gereinigten PCR-Produkt (Abb. 2b) des Virusgens in einer modifizierten Qikchange™-Reaktion eingesetzt. Die beiden Stränge des PCR-Produktes dienen dabei als Megaprimer und hybridisieren mittels ihrem 3‘-Ende mit der entsprechenden Bindungstelle im Plasmidvektor (Abb. 2c). Sie werden dann durch Anbau weiterer Nukleotide verlängert. Dabei entstehen relaxierte zirkuläre Moleküle mit Strangbrüchen (target-primed plasmid amplification). Die ablaufende Reaktion stellt keine PCR mit weitgehend exponentieller

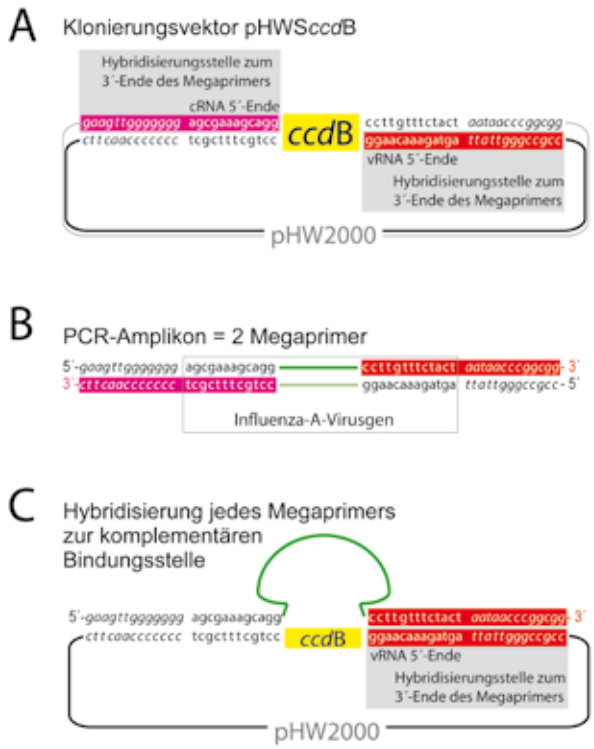


Abb. 2: Prinzip der target-primed plasmid amplification. A Der modifizierte Klonierungsvektor pHWSccdB enthält den letalen Selektionsmarker ccdB flankiert von den beiden konservierten Genenden des Influenza-A-Virus (cRNA- bzw. vRNa-5'-Ende). B Das PCR-Amplikon des Virusgens ist um einige zum Plasmid komplementäre Nukleotide verlängert und an seinen Enden homolog zu den Hybridisierungsstellen im Plasmidvektor (rot oder magenta). Beide Stränge dienen als Megaprimer. C Jeder Megaprimer bindet mit seinem 3'-Ende an der entsprechenden Hybridisierungstelle (rot oder magenta) im Plasmidvektor pHWSccdB und wird dann elongiert. Im Ergebnis entstehen zirkuläre relaxierte Moleküle mit Einzelstrangbrüchen, die in Bakterien transformiert werden können.

Kinetik dar, sondern besteht aus zwei antiparallelen linearen Amplifikationen, was die notwendigen hohen Insertmengen im Bereich von 40-700 Nanogramm erklärt. Durch den Einsatz des letalen ccdB-Gens kann gegen den Ausgangsvektor nach Transformation in sensitive Bakterien selektioniert werden. Zusätzlich können vorher wie im etablierten Qikchange-Protokoll mittels des Restriktionsenzyms DpnI methyliertes Ausgangsplasmid oder hemimethylierte Hybridmoleküle eliminiert werden (Stech et al., 2008).

Eine weitere Optimierung der Klonierung stellte die Reduktion der notwendigen PCR-Reaktionen für die Synthese der Inserts dar. Zur Verfügung standen acht gensegmentspezifische PCR. Die Amplifikation des Neuraminidase-Gens erforderte in Abhängigkeit vom Serotyp, von denen neun bekannt sind, vier verschiedene Primerpaare. Durch Design eines verkürzten Primerpaares kann nun das Neuraminidase-Gen unabhängig vom Serotyp amplifiziert werden. Zusätzlich werden Produkte von drei anderen in ihrer Größe unterscheidbaren Virusgenen erhalten, sodass die simultane Synthese von vier der acht erforderlichen Produkte möglich ist und somit die Zahl der notwendigen Reaktionen weiter reduziert werden kann.

Generierung rekombinanter Influenzaviren mittels reverser Genetik

Durch den Einsatz dieser neu entwickelten Methoden gelang es, von den zehn Influenzavirusstämmen A/Swine/Belzig/2/2001 (H1N1), A/Duck/Ukraine/ 1/1963 (H3N8), A/HongKong/1/1968 (H3N2), A/Chicken/Emirates/R66/2002 (H9N2), A/Denver/57 (H1N1), A/Seal/Massachusetts/1/80 (H7N7), A/Teal/Föhr/WV632/05, A/Thailand/1(KAN-1)/2004 (H5N1), A/Hong Kong/156/97 (H5N1) sowie A/Swan/R65/2006 (H5N1) alle acht Gensegmente zu klonieren. Nach der Sequenzanalyse wurde in Komplementierungsexperimenten ihre Funktionalität überprüft. Komplett homologe Reverse-Genetik-Systeme stehen nunmehr für die Influenzaviren A/Swine/Belzig/2/2001 (H1N1), A/Duck/Ukraine/ 1/1963 (H3N8), A/HongKong/1/1968 (H3N2), A/Denver/57 (H1N1), A/Seal/Massachusetts/1/80 (H7N7), A/Thailand/1(KAN-1)/2004 (H5N1), A/Hong Kong/156/97 (H5N1) sowie A/Swan/R65/2006 (H5N1) zum Einsatz in weiterführenden Untersuchungen zu den molekularen Grundlagen der Pathogenität und für die Impfstoffentwicklung zur Verfügung.

Ein Anwendungsbeispiel für die reverse Genetik von Influenza A-Viren ist die Anfügung einer Markierungssequenz (Flag-Tag) an das PB2-Protein (eine der drei Polymerase-Untereinheiten (Abb. 1) einer niedrigpathogenen Hämagglutinin-Mutante des Stammes A/Swan/R65/2006 (H5N1). Diese Mutante war hergestellt worden, um den Polymerase-Komplex aus virusinfizierten Zellen zu reinigen. Die Expression des Flag-Tags nach Virusinfektion kann mittels indirekter Immunfluoreszenz gezeigt werden (Abb. 3).

Ein weiteres Anwendungsbeispiel für die reverse Genetik ist die Klonierung der Gensegmente von A/Duck/Ukraine/1/1963 (H3N8), einem aviären niedrigpathogenen Stamm. Dessen Plasmidsatz konnte verwendet werden, um die Frage zu beantworten, ob die Einführung einer polybasischen Hämagglutinin-Spaltstelle, wie sie nur in hochpathogenen H5- oder H7-Stämmen vorkommt (Klenk et al., 2008), im avirulenten Virus die Virulenz gleichermaßen steigern würde. Durch Mutagenese des Hämagglutinin-Plasmides konnten drei Spaltstellenmutanten hergestellt werden. Diese replizieren im Gegensatz zum Wildtyp in der Zellkultur unabhängig von Trypsin wie ein HPAIV. Im infizierten Huhn wurden zwei Mutanten in Einzelfällen kloakal ausgeschieden, was mit dem vorübergehenden

Auftreten klinischer Symptome in Einklang stand. Dieses Ergebnis demonstriert, dass es außer der polybasischen Hämagglutinin-Spaltstelle weitere Determinanten der Pathogenität geben muss, die sich im Hämagglutinin selbst oder anderen viralen Proteinen befinden können (Stech et al., 2009).

Schlussbemerkung

Die Herstellung maßgeschneiderter rekombinanter Influenza-A-Viren ist ein zentrales Werkzeug für Grundlagenforschung und Impfstoffentwicklung geworden. Jedoch war die routinemäßige Klonierung der acht Gensegmente beliebiger Influenzavirus-Stämme oft durch notwendige Zwischenschritte und geringe Effizienz verzögert. Durch die von uns vorgestellte Methodik ist die Klonierung aller acht Virusgene beliebiger Stämme ohne vorherige Kenntnis der Nukleotidsequenzen möglich. Der Aufbau von Systemen der reversen Genetik von Influenza-A-Viren konnte somit deutlich beschleunigt werden. Die Herstellung mehrerer rekombinanter Influenzaviren ausschließlich auf der Basis reverser genetischer Systeme stellt einen signifikanten Fortschritt in der molekularbiologischen Analyse von Influenzavirusinfektionen dar. Die gezielte Einführung von Mutationen in Virulenz-determinierende Bereiche des Virusgenoms erlaubt Rückschlüsse auf die Entstehung von hochpathogenen aviären Influenzaviren aus niedrigpathogenen Vorläufern.

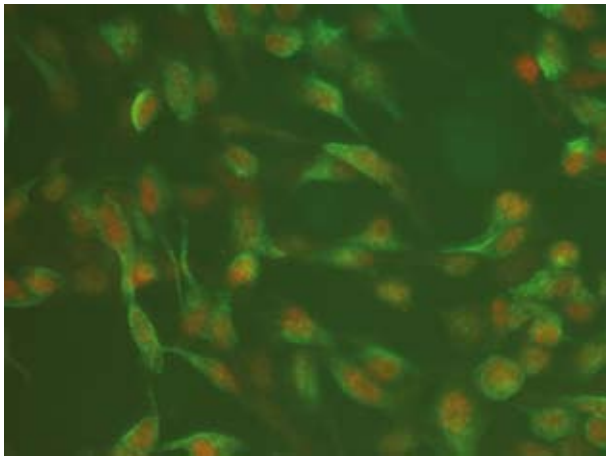


Abb. 3: Immunfluoreszenz eines rekombinanten Influenza A-Virus. An das PB2-Protein einer niedrigpathogenen Hämagglutinin-Mutante des Stammes A/Swan/R65/2006 (H5N1) wurde ein Flag-Tag angefügt. Mittels indirekter Immunfluoreszenz kann die Expression dieser Markierung in virusinfizierten Zellen durch die rötliche Zellkernfärbung demonstriert werden. Als Kontrolle für die Virusinfektion der Zelle wurde zusätzlich das Nukleoprotein (grün) mittels indirekter Immunfluoreszenz überwiegend im Zytoplasma detektiert.

Literatur

Klenk, H.-D., Matrosovich, M.N., Stech, J. (eds), (2008) Avian Influenza. Monographs in Virology. Basel, Karger

Geiser, M., Cebe, R., Drewello, D., and Schmitz, R. (2001). Integration of PCR fragments at any specific site within cloning vectors without the use of restriction enzymes and DNA ligase. Biotechniques 31, 88-90, 92.

Hoffmann, E., Neumann, G., Kawaoka, Y., Hobom, G., and Webster, R.G. (2000). A DNA transfection system for generation of influenza A virus from eight plasmids. Proc Natl Acad Sci U S A 97, 6108-6113.

Stech, J., Stech, O., Herwig, A., Altmeppen, H., Hundt, J., Gohrbandt, S., Kreibich, A., Weber, S., Klenk, H.D., and Mettenleiter, T.C. (2008). Rapid and reliable universal cloning of influenza A virus genes by target-primed plasmid amplification. Nucleic Acids Res 36, e139.

Stech, O., Veits, V., Weber, S., Deckers, D., Schröer, D., Vahlenkamp Th.W., Breithaupt, A., Teifke, J., Mettenleiter, Th.C., and Stech, J. (2009). Acquisition of a polybasic hemagglutinin cleavage site by a low-pathogenic avian influenza virus is not sufficient for immediate transformation into a highly pathogenic strain. J Virol doi:10.1128/JVI.02649-08

Weitere Literatur kann bei den Verfassern angefordert werden.

INSTITUT FÜR VIRUSDIAGNOSTIK

Feldstudie zur Wirksamkeit von inaktivierten BTV-Impfstoffen

Hoffmann, B.[1], Eschbaumer, M.[1], Beer, M.[1], Gethmann, J.[2], Probst, C.[2], Heyne, H.[3], Hüttner, K.[4]
[1]Institut für Virusdiagnostik; [2]Institut für Epidemiologie; [3]Ministerium für Landwirtschaft, Umwelt und Verbraucherschutz Mecklenburg-Vorpommern; [4]Landesamt für Landwirtschaft, Lebensmittelsicherheit und Fischerei Mecklenburg-Vorpommern

Im Jahr 2006 trat erstmalig die Blauzungenkrankheit bei Rindern, Schafen, Ziegen und Wildwiederkäuern in Belgien, Frankreich, Luxemburg, den Niederlanden und Deutschland auf. Der nachgewiesene Serotyp 8 des Blauzungenvirus (BTV-8) war noch nie zuvor in Europa gefunden worden und breitete sich trotz strenger Handelsrestriktionen im Jahr 2007 in erheblichem Maße aus. Als wirksames Mittel zur Eindämmung der Infektion kam daher nur die gezielte Impfung gegen BTV-8 in Frage. Allerdings standen zunächst noch keine Vakzinen zur Verfügung. Nachdem schließlich im Jahr 2008 erste, nicht zugelassene Impfstoffe verfügbar waren, sollten vor der millionenfachen Anwendung sowohl die Unschädlichkeit als auch die Wirksamkeit in einer Feldstudie des Landes Mecklenburg-Vorpommern unter wissenschaftlicher Begleitung durch das Friedrich-Loeffler-Institut (Institut für Epidemiologie, Institut für Virusdiagnostik) untersucht werden.

Ziel der Studie war dabei die Überprüfung der Unbedenklichkeit des Einsatzes folgender kommerziell erhältlicher Impfstoffe gegen BTV-8: BLUEVAC 8 (CZ Veterinaria, Spanien), BTVPUR AlSap 8 (Merial, Frankreich) und Zulvac 8 Ovis für Schafe bzw. Zulvac 8 Bovis für Rinder (Fort Dodge, Niederlande). Es sollte überprüft werden, ob in erheblichem Maße lokale und systemische Reaktionen nach der Applikation der Impfstoffe auftreten, die Applikation der Impfstoffe zu einer erhöhten Mortalität führt oder es zu Leistungsverlusten kommt. Ein weiteres Ziel der Studie war es, an ausgewählten Tieren die Wirksamkeit des Impfstoffes abzuschätzen. Nach erfolgreicher Verträglichkeitsstudie wurden daher aus den Betrieben Tiere für eine Wirksamkeitsstudie entnommen. Hierbei sollte die Schutzwirkung der inaktivierten Impfstoffe im Rind und Schaf gegenüber einer Belastungsinfektion mit einem aktuellen BTV-8-Isolat überprüft werden. Neben der Feststellung der grundsätzlichen Eignung der Vakzinen sollte im Rahmen dieser Untersuchung auch getestet werden, ob es bedeutsame Unterschiede hinsichtlich der Schutzwirkung der verschiedenen Impfstoffe gibt.

Unschädlichkeitsprüfung

Rinder

Für die vorliegende Studie wurden 893 Rinder mit einem der drei Impfstoffe gegen BTV-8 grundimmunisiert und mit 314 ungeimpften Kontrolltieren verglichen. Alle Impfstoffe wurden von den Rindern gut vertragen. Es kam nur zu kurzzeitigen Temperaturerhöhungen und zu geringen lokalen Reaktionen. In keiner der Gruppen wurden schwerwiegende Impfzwischenfälle oder Aborte festgestellt. Drei Wochen nach abgeschlossener Grundimmunisierung konnten bei 95 bis 100 Prozent der Rinder BTV-spezifische Antikörper nachgewiesen werden.

Schafe

Aus zwei verschiedenen Betrieben wurden insgesamt 1.132 Schafe mit einem der drei Impfstoffe geimpft und mit 324 Kontrolltieren verglichen. In beiden Betrieben vertrugen die Schafe die Impfung gut. Temperaturerhöhungen und lokale Reaktionen bewegten sich im Normbereich. Drei Wochen nach abgeschlossener Grundimmunisierung konnten im Betrieb 1 bei insgesamt 71 Prozent (Gruppe C, Jungtiere) bis 97 Prozent (Gruppe F, Alttiere; Abb.1) der Tiere und im Betrieb 2 bei 95 bis 100 Prozent der Tiere BTV-spezifische Antikörper nachgewiesen werden. Die bei einem Impfstoff gemäß Herstellerangaben erfolgte zweimalige Applikation induzierte dabei eine höhere Impfantikörper-Prävalenz.

Die Ergebnisse der Impfstudie zeigen, dass die Impfstoffe BLUEVAC 8, BTVPUR AlSap 8 und Zulvac 8 Bovis bzw. Ovis von Rindern und Schafen gut vertragen werden und keine wesentlichen Nebenwirkungen hervorrufen.

Wirksamkeitsprüfung

Zur Prüfung der Wirksamkeit der Impfstoffe wurden 23 Schafe und 24 Rinder aus dem BTV-8 Feldversuch in Mecklenburg-Vorpommern eingesetzt, bei denen die letzte Impfung mindestens 28 Tage zurücklag. Für jede Tierart wurden drei Gruppen mit jeweils sechs Tieren je Impfstoff gebildet, dazu jeweils eine vierte Gruppe mit sechs nicht geimpften Tieren als Infektionskontrollen. In der mit der Fort Dodge Vakzine geimpften Schafgruppe wurden nur

Abb. 1: Nachweis BTV-spezifischer Antikörper in Serum vor der Challenge-Infektion, Verdünnungen 1:1, 1:4 und 1:16. Die Ordinate zeigt die cELISA-Inhibitionswerte in %. Gruppe C = CZV, Gruppe M = Merial, Gruppe F = Fort Dodge

fünf Tiere untersucht. Die Tiere wurden im Bereich der Schutzstufe 3 des Isolierstallgebäudes des Friedrich-Loeffler-Instituts auf der Insel Riems aufgestallt. Vor der Infektion wurde bei allen Tieren eine Probe entnommen und der Gehalt an BTV-spezifischen Antikörpern mit einem kompetitiven Immunoassay (cELISA) festgestellt (Abb. 1). Gleichzeitig wurde eine bestehende BTV-Infektion bei allen Tieren mittels *real-time* RT-PCR ausgeschlossen.

Anschließend wurden die Tiere mit je vier Milliliter Blut eines BTV-8-infizierten Rindes inokuliert, das BTV-8-Virus eines kurz zuvor in Deutschland gewonnenen Isolats in großer Menge enthielt. Von den Rindern wurden an den Tagen 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11, 14, 17 und 21 nach der Infektion (dpi) und von den Schafen an den Tagen 3, 4, 5, 6, 7, 10, 12, 14, 17 und 21 dpi EDTA-Blutproben entnommen. Die RNA-Extraktion erfolgte mit dem NucleoSpin 96 RNA Kit (Macherey-Nagel, Düren) am Extraktionsroboter (Freedom EVO, Tecan, Männedorf, Schweiz). Alle Proben wurden mittels *real-time* RT-PCR auf das Vorkommen von BTV-8-Virusgenom untersucht. Bei den Schafen wurde zudem nach der Belastungsinfektion täglich die Körpertemperatur bestimmt.

Vor der Infektion wiesen alle geimpften Rinder BTV-spezifische Antikörper mit hohen ELISA-Inhibitionswerten im Serum auf. Mit einer Ausnahme reagierten auch alle geimpften Schafe im BTV-Antikörper-cELISA positiv. Nur bei einem geimpften Schaf (Nr. 16, aus Gruppe C) ergab der Antikörper-cELISA-Test ein eindeutig negatives Ergebnis (siehe Abb. 1). In der Titration (1:4 und 1:16 Verdünnung) der Rinder- und Schafseren zeigte sich, dass die zweimalige Applikation (bei den Schafen nur bei der Fort Dodge-Vakzine vorgesehen) zu einer deutlichen Erhöhung des Antikörper-Titers geführt hatte (Abb. 1).

Nach zweimaliger Impfung wurden im Mittel ELISA-Antikörper-Titer von 1:4 ermittelt, wobei die ELISA-Inhibitionswerte bei den Rindern keinen deutlichen Unterschied zwischen den Vakzinen erkennen ließen (Abb.1). Bei den geimpften Rindern konnte während des gesamten Versuchszeitraums, also auch nach der Belastungsinfektion, kein BTV-8-Genom im Blut

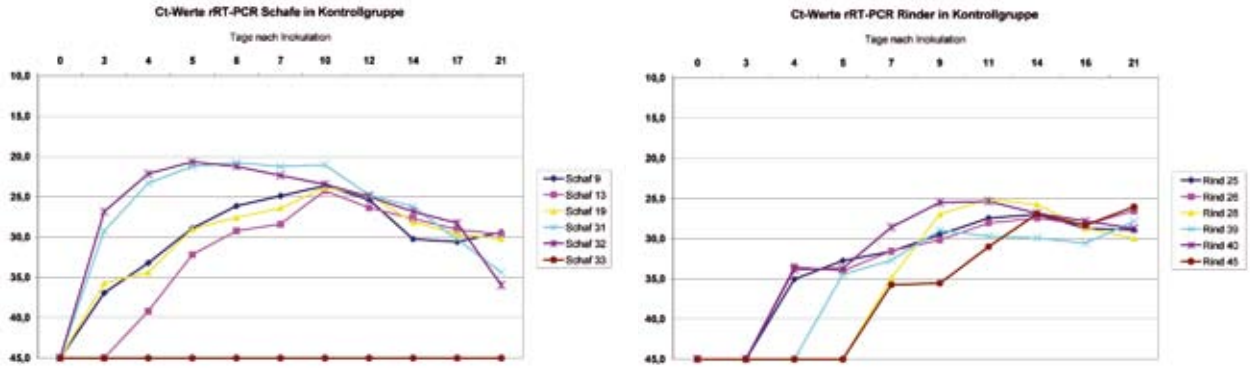


Abb. 2: Nachweis von BTV-8-Virusgenom in Blutproben nicht immunisierter Schafe (9, 13, 19, 31, 32, 33) und Rinder (25, 26, 28, 39, 40, 45) Ordinate: Ct-Werte der rRT-PCR. Schaf 33 blieb als einziges Kontrolltier trotz BTV-8-Inokulation negativ. Bei keinem der geimpften Rinder konnte BTV-8-Genom nachgewiesen werden (Daten nicht gezeigt).

nachgewiesen werden. Die erfolgreiche Infektion der ungeimpften Rinder wurde durch den Nachweis einer deutlichen Virusgenomlast spätestens ab dem 7. Tag nach Inokulation bestätigt (Abb. 2).

Deutliche Virusreplikation als Folge der Belastungsinfektion mit BTV-8 konnte auch bei sechs Schafen mittels real-time RT-PCR nachgewiesen werden. Hierbei handelte es sich um fünf der sechs Kontrollschafe (Abb. 2) sowie das als geimpft geführte, jedoch im cELISA seronegative Schaf Nr. 16 (Gruppe C; Abb. 3). Einige der ungeimpften PCR-positiven Schafe zeigten milde klinische Anzeichen einer Erkrankung und erhöhte Körpertemperaturen. Neben dem seronegativen Schaf Nr. 16, bei dem Virusreplikation wie bei den Kontrolltieren nachgewiesen werden konnte, wurde bei einem weiteren geimpften Schaf am Tag 10 nach Testinfektion Virusgenom in sehr geringer Menge detektiert (Abb. 3; Ct-Wert von etwa 36). Auf die Virusanzucht dieser Probe wurde verzichtet, da aufgrund der sehr niedrigen Genomlast eine Virusisolierung keine Erfolgsaussichten hatte.

Zusammenfassend ist Folgendes festzustellen: Die serologischen Analysen der vor Versuchsbeginn untersuchten Tiere zeigten, dass die zweimalige Applikation (Grundimmunisierung und Boosterung) einen deutlichen positiven Effekt auf die Höhe der nachweisbaren Antikörper gegen BTV-8 hat. Sowohl die Rinder, denen die jeweiligen Impfstoffe stets zweimal appliziert wurden, als auch die mit der Vakzine der Firma Fort Dodge geimpften Schafe, die ebenfalls eine Grund- und eine Boosterimmunisierung erhielten, zeigten einen durchschnittlichen ELISA-Titer von mindestens 1:4. Obwohl der ermittelte Antikörper-Titer bei den Schafen mit nur einer einmaligen Applikation (Merial, CZ Veterinaria) geringer war als bei den zweifach grundimmunisierten Rindern, reichte auch dieser Titer aus, um die Infektion mit BTV-8 im Belastungsversuch zu verhindern. Allerdings wurde bei einem Schaf der Gruppe C keine Serokonversion nach Immunisierung festgestellt. Dieses Tier war im Belastungsversuch auch nicht vor der Infektion mit BTV-8 geschützt. Nur bei einem Schaf mit nachweisbaren BTV-Antikörpern kam es an einem Tag zum Genomnachweis nahe der Detektionsgrenze der real-time RT-PCR. Es zeigte sich zum wiederholten Male, dass die Inokulation von nicht geimpften Schafen nicht bei allen Tieren zur Infektion führt, was bei Rindern bisher nicht beobachtet wurde. Dies könnte in einer geringeren BTV-8-Empfänglichkeit der verwendeten Schafrassen begründet sein.

Die Studie zeigte, dass die Infektion mit BTV-8 in allen getesteten Gruppen bei Tieren mit nachweisbaren Impfantikörpern zuverlässig verhindert wurde und nur in einem Fall bei einem geimpften Tier an einem Tag BTV-8-Genom im Blut nachgewiesen werden konnte. Die Wirksamkeit der Impfstoffe ist für die geprüften Chargen nach diesen ersten Erkenntnissen grundsätzlich

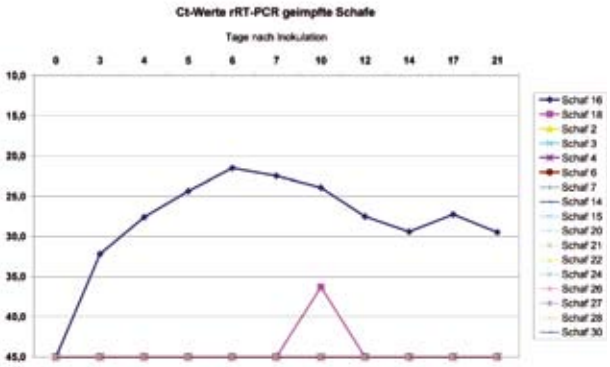


Abb. 3: Nachweis von BTV-8-Virusgenom in Blutproben immunisierter Schafe. Ordinate: Ct-Werte der rRT-PCR. Schaf 16 gehörte nach der Dokumentation zu den immunisierten Tieren, zeigte aber keine Antikörper (siehe Abb. 1). Schaf 18 war immunisiert und Antikörper-positiv und zeigt als einziges geimpftes und ELISA-Antikörper-positives Tier einen sehr schwach positiven Genomnachweis an Tag 10 nach BTV-8-Inokulation.

gewährleistet. Sie schützen auch nach der Applikation unter „Feldbedingungen“ die Tiere weitestgehend vor einer Infektion mit BTV-8. Im Rahmen dieser Studie konnte zwischen den geprüften Impfstoffen der einzelnen Hersteller kein eindeutiger Unterschied in der Schutzwirkung festgestellt werden, was eventuell auch durch die geringen Tierzahlen begründet ist. Unterschiede in den ermittelten Antikörper-Titern nach Impfung weisen allerdings darauf hin, dass eine zweimalige Applikation der Impfstoffe im Abstand von 21 bis 28 Tagen zur deutlichen Erhöhung der BTV-spezifischen Antikörper führt. Dies könnte einerseits für die direkte Schutzwirkung bei der Exposition gegenüber großen Virusmengen bedeutsam, aber auch für die Dauer der Persistenz von Impfantikörpern und der Schutzdauer relevant sein. Der niedrigste Antikörper-Gehalt im cELISA wurde für die Gruppe C ermittelt.

Darüber hinaus zeigte sich, dass durch ein zweistufiges Immunisierungsschema der Anteil ungeimpfter Tiere (versehentlich nicht oder nicht korrekt geimpfte Tiere) ebenfalls reduziert werden kann. Zur Erklärung dafür, dass ein geimpftes, aber cELISA-negatives Schaf beobachtet wurde, das in der Folge auch nicht vor der durchgeführten Belastungsinfektion geschützt war, bieten sich zwei Möglichkeiten an: 1) entweder wurde die Vakzine nicht korrekt oder gar nicht appliziert, was die wahrscheinlichste Ursache darstellt, oder 2) der Impfstoff induzierte bei diesem Tier keine ausreichende Immunantwort. Diese Beobachtung sollte in jedem Fall Anlass zur weiteren Überwachung geimpfter Tiere im Feld sein, um den Anteil von nicht reagierenden, versehentlich nicht oder nicht korrekt geimpften Tieren abschätzen und bewerten zu können. Aufgrund der kurzen Studiendauer und der offenen Fragen im Zusammenhang mit einer Langzeitwirkung der Vakzinen wird zudem für ausgewählte Bestände eine Verlaufsuntersuchung von vakzinierten Rinder- und Schafherden empfohlen (3, 6, 9 und 12 Monate nach Impfung).

Literatur

Schwartz-Cornil, I., P.P.C. Mertens, V. Contreras, B. Hemati, F. Pascale, E. Bréard, P.S. Mellor, N.J. MacLachlan, and S. Zientara. 2008. Bluetongue virus: Virology, pathogenesis and immunity. Vet Res 39(5):46

Savini, G., N.J. MacLachlan, J.M. Sanchez-Vizcaino, and S. Zientara. 2008. Vaccines against bluetongue in Europe. Comp Immunol Microbiol Infect Dis 31(2-3):101-20.

Saegerman, C., M. Hubaux, B. Urbain, L. Lengelé, and D. Berkvens. 2007. Regulatory issues surrounding the temporary authorisation of animal vaccination in emergency situations: the example of bluetongue in Europe. Rev Sci Tech 26(2):395-413

Office International des Epizooties. 2008. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. Weltorganisation für Tiergesundheit, Paris, Frankreich.

Weitere Literatur kann bei den Verfassern angefordert werden.

INSTITUT FÜR INFEKTIONSMEDIZIN (IMED)

Molekulare Epidemiologie von IHNV und VHSV

Schütze, H.[1] und Enzmann, P.-J.[2]
[1]Institut für Infektionsmedizin, Insel Riems; [2]Institut für Immunologie, Tübingen

Die Infektiöse Hämatopoetische Nekrose (IHN) und die Virale Hämorrhagische Septikämie (VHS) der Salmoniden sind in der Aquakultur die ökonomisch bedeutsamsten Rhabdovirusinfektionen. Beide Erreger verursachen in Europa große wirtschaftliche Schäden sowohl in Fischzuchtanlagen als auch in freien Gewässern. Darauf basierend sind die IHN und VHS in der Gesetzgebung innerhalb der Europäischen Union (EU) in der Liste II der Richtlinie zur Verhütung und Bekämpfung von Wassertierkrankheiten als nicht exotische Seuchen aufgeführt und somit anzeigepflichtig. Das Nationale Referenzlabor für IHN und VHS im Institut für Infektionsmedizin des Friedrich-Loeffler-Instituts auf der Insel Riems ist für diagnostische Fragestellungen beider Erreger zuständig. Arbeiten zur molekularbiologischen Charakterisierung (Genotypisierung) verschiedener Isolate der IHN und VHS erfolgten am Institut für Immunologie (Tübingen) und werden inzwischen am Institut für Infektionsmedizin (Insel Riems) weitergeführt.

Die Erreger der IHN (IHNV) und der VHS (VHSV) gehören innerhalb der Ordnung *Mononegavirales* zur Familie der *Rhabdoviridae*. Das Genom der Rhabdoviren besteht aus einer einzelsträngigen RNA negativer Polarität von ca. 11.000 Basen. Insgesamt werden fünf Strukturproteine von einer gleichen Anzahl monocistronischer mRNAs gebildet. IHNV und VHSV kodieren für ein Glykoprotein G, ein Nukleoprotein N, ein Phosphoprotein P, ein Matrixprotein M und eine virale RNA abhängige RNA Polymerase L („large“ Protein). Die virale infektiöse Einheit stellt der Ribonukleoproteinkomplex (RNP), bestehend aus N, P, L und der genomischen RNA, dar. IHNV und VHSV unterscheiden sich von anderen Rhabdoviren durch die Bildung eines Nichtstrukturproteins NV („non virion“). Das entsprechende Genprodukt wurde bislang nur in infizierten Zellen und nicht in reifen Virionen nachgewiesen. Es ist für eine effiziente Virusvermehrung essentiell und stellt einen Pathogenitätsfaktor dar. Basierend auf der Genomorganisation und der Bildung des NV Proteins werden IHNV und VHSV taxonomisch dem Genus *Novirhabdovirus* zugeordnet.

Das IHNV wurde erstmals 1957 in Lachsen entlang der pazifischen Küste Nordamerikas nachgewiesen. Der Erreger breitete sich weiter in Kanada und den Vereinigten Staaten, insbesondere in Oregon, Washington, Idaho, Kalifornien und Alaska aus. Mit der Intensivierung der Aquakultur verursachte der Erreger inzwischen auch erhebliche Verluste bei Süßwasserfischen. Im Jahr 1976 wurde das Virus erstmals in Japan isoliert. Wenige Jahre später erschienen Berichte über das Auftreten der IHN in weiteren asiatischen Ländern (Taiwan, China und Korea) sowie den europäischen Staaten Frankreich, Italien, Schweiz und Belgien. Der Erreger der IHN wurde 1992 erstmals in der Bundesrepublik Deutschland nachgewiesen.

Das Spektrum IHNV-empfänglicher Arten umfasst Pazifische Lachse (*Oncorhynchus* ssp.), Atlantische Lachse (*Salmo salar*) sowie Regenbogenforellen (*Oncorhynchus mykiss*). Berichten zufolge konnte das Virus ebenfalls aus Bachforellen (*Salmo trutta fario*), Bachsaiblingen (*Salvelinus fontinalis*), Hecht (*Esox lucius*) und Aal (*Anguilla anguilla*) isoliert werden.

Die Inkubationszeit nach Infektion ist vom Alter der Fische, der Wassertemperatur, der Infektionsdosis und dem Infektionsmodus (Wasser, Futter, Eier, Sperma) abhängig. In der Regel beträgt sie ein bis zwei Wochen. Betroffen sind vor allem Brütlinge und Setzlinge mit einer Verlustrate von bis zu 100 Prozent. Ältere Salmoniden erkranken selten.

Klinisch sind anfangs Lethargie und Überaktivität zu beobachten. Äußerlich sind Dunkelfärbung, Exophthalmus und vereinzelte Hautblutungen wahrnehmbar. Hämorrhagien treten an Kiemen und Flossen auf. Nekrosen sind im hämatopoetischen Gewebe von Milz und Niere, vereinzelt auch in Leber und Pankreas zu erkennen.

Die Virale Hämorrhagische Septikämie, auch Egtved Erkrankung genannt, ist eine meist akut verlaufende Rhabdovirusinfektion in den Fischzuchtanlagen Europas. Der Erreger der VHS wurde 1937 erstmals als Infektiöse Nieren- und Leberschwellung beschrieben. 1949 trat die Erkrankung seuchenhaft in Forellenfarmen in Dänemark (Dorf Egtved) auf. Bisher wurde dieser Erreger in Japan und in fast allen europäischen Ländern mit Forellenzucht nachgewiesen und kommt in Deutschland endemisch vor. Es gibt Hinweise, dass die VHS ursprünglich eine

Erkrankung der marinen Fische war und erst durch die Intensivierung der Aquakultur eine Übertragung auf Süßwasserfische erfolgte.

Inzwischen wurde VHSV aus mehr als 45 Fischarten aus Süß- und Salzwasser isoliert. Betroffen sind verschiedene Arten der Lachsartigen (*Salmoniformes*), Hecht (*Esociformes*), Hering (*Clupeiformes*), Dorsch (*Gadiformes*), Plattfisch (*Pleuronectiformes*), Stint (*Osmeriformes*), Barsch (*Perciformes*), Scorpionsfisch (*Scorpaeniformes*), Aal (*Anguilliformes*), Zahnkärpfling (*Cyprinodontiformes*) und Stichling (*Gasteroteiformes*). Eine Infektion mit VHSV führt bei einer Wassertemperatur von ca. 8-12 °C nach 4-7 Tagen zu Exophthalmus, hämorrhagischen Veränderungen sowie Formen der Apathie, Anämie und Ataxie. Das klinische Bild zeigt primäre Schädigungen an Milz und Gefäßendothelien, gefolgt von Nekrosen im Gewebe von Milz, Leber und Pankreas.

Die Erreger der IHN und VHS werden über den Antigennachweis in der Immunfluoreszenz bzw. im Neutralisationstest ermittelt. Das Glykoprotein G induziert neutralisierende Antikörper und ist für die Diagnostik bedeutungsvoll. Das Genom dieser Viren ist in der RT-PCR nachweisbar.

Mit Hilfe der klassischen diagnostischen Methoden ist eine eindeutige Einteilung der IHNV-Isolate nicht möglich. Aufgrund ihrer serologischen Verwandtschaft werden die IHNV-Isolate in einer Serogruppe zusammengefasst. Eine Unterscheidung ist nur mit monoklonalen Antikörpern (mAk) möglich. Die ursprüngliche Klassifizierung der IHN-Virusstämme in RB (Round Butte; isoliert aus Lachsen in Alaska und British Columbia), WRAC (Western Regional Aquaculture Center, Infektionen von Süßwasserfischen) und SRCV (Sacramento River Chinook Virus, isoliert aus Lachsen in Kalifornien) basierte auf der Herkunft der Isolate. Aufgrund der elektrophoretischen Migrationsmuster des Glykoproteins G und des Nukleoproteins N war eine Differenzierung der IHNV- Isolate in fünf Typen möglich. RNase T1 Fingerprint Analysen bestätigten sowohl eine geringe Variabilität und somit eine enge Verwandtschaft der IHNV-Isolate als auch die Einteilung entsprechend ihres geographischen Ursprungs.

Die frühere Einteilung von VHSV-Isolaten erfolgte aufgrund ihrer serologischen Eigenschaften in drei verschiedene Serotypen. Der Serotyp 1 (F1) ist pathogen für Regenbogenforellen und für die Mehrzahl der VHS-Ausbrüche verantwortlich. Der Referenzstamm wurde 1962 aus Regenbogenforellen in Dänemark isoliert. Serotyp 2 (He; Dänemark 1972) und Serotyp 3 (23.75; Frankreich, 1975) sind pathogen für Regenbogen- und Bachforellen. Mittels Serotypisierung ist weder eine Aussage über die Pathogenität der VHSV-Isolate noch eine Unterscheidung von marinen Isolaten und Süßwasserstämmen möglich. Ein Zusammenhang zwischen serologischen Eigenschaften und der Wirtsspezies besteht ebenfalls nicht.

Die Entwicklung neuer Methoden zur schnellen und effizienten Charakterisierung der viralen Genome wie z.B. die RT-PCR, die DNA-Sequenzierung und die entsprechenden biomathematischen Verarbeitungsprogramme führten zu einem rasanten Informationsanstieg und Wissenszuwachs.

Dank dieser Techniken wurden zahlreiche Genome bzw. Genombereiche identifiziert und analysiert. Basierend auf diesen Daten sind vergleichende phylogenetische Untersuchungen möglich. Einzelne Isolate können eindeutig voneinander unterschieden und klassifiziert werden. Verbindungen zwischen verschiedenen Infektionsgeschehen können aufgedeckt und zurückverfolgt werden. Ferner sind Aussagen nicht nur über die Verbreitung der Erreger bezogen auf Entfernung, Zeit und Wirt, sondern auch hinsichtlich ihrer genetischen Stabilität möglich.

Die genetische Charakterisierung der IHNV- bzw. VHSV-Isolate basiert auf den Analysen der Nukleotidsequenzen kodierend für das Nukleoprotein N, das Glykoprotein G und/oder das NV-Protein. Unabhängig von den analysierten Genombereichen N, G und NV wurden gleiche bzw. ähnliche Schlussfolgerungen gezogen.

So ergibt sich eine Einteilung der amerikanischen IHNV-Isolate in drei Genotypen (Abb. 1a). Genotyp U (Upper Region) repräsentiert Isolate aus Lachsen in Alaska und British Columbia. Genotyp M (Middle Region) umfasst Erreger der IHN aus Süßwasserfischen in Washington, Idaho, und Oregon. Der Genotyp L (Lower Region) beinhaltet Isolate von Lachsen aus Oregon und Kalifornien.

In Abbildung 1a ist die phylogenetische Analyse von IHNV-Isolaten dargestellt. Verglichen wurden in der Datenbank (GenBank) publizierte Nukleotidsequenzen, die für das Glykoprotein G kodieren. Der Stammbaum verdeutlicht, dass die molekularbiologischen Untersuchungen sowohl die ursprüngliche Klassifizierung der amerikanischen Isolate entsprechend ihrer geographischen Zugehörigkeit und ihres Wirtsspektrums (SRCV, RB, WRAC) als auch die Vermutungen zur natürlichen Verbreitung der IHN bestätigen. Ferner ist die Verwandtschaft von IHN-Viren

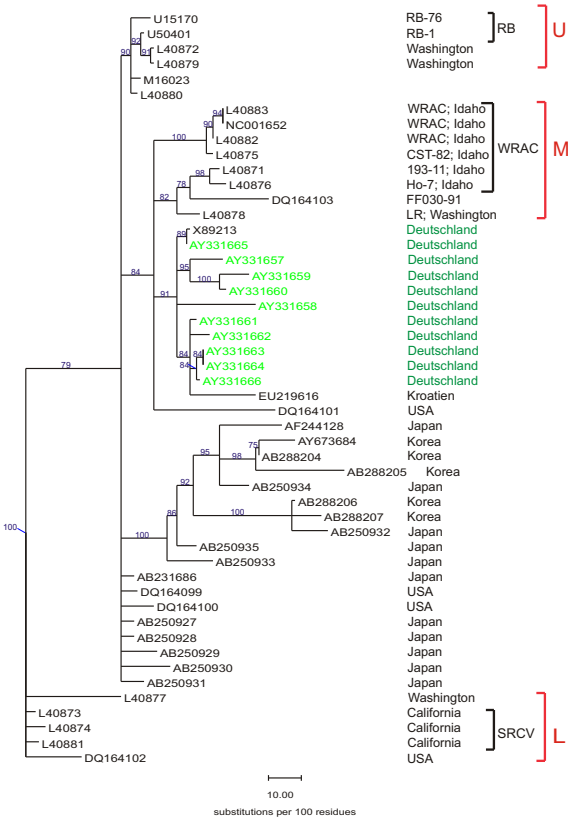


Abb. 1a: Phylogenetische Analyse der publizierten IHNV-Isolate (Genbank). Die Berechnungen basieren auf der vollständigen Nukleotidsequenz des Glykoprotein-Gens. Dargestellt ist die Einteilung amerikanischer IHNV-Isolate entsprechend der Serogruppen RB, WRAC und SRCV (schwarz) bzw. der Genogruppen U, M und L (rot). Deutsche Isolate sind grün abgebildet.

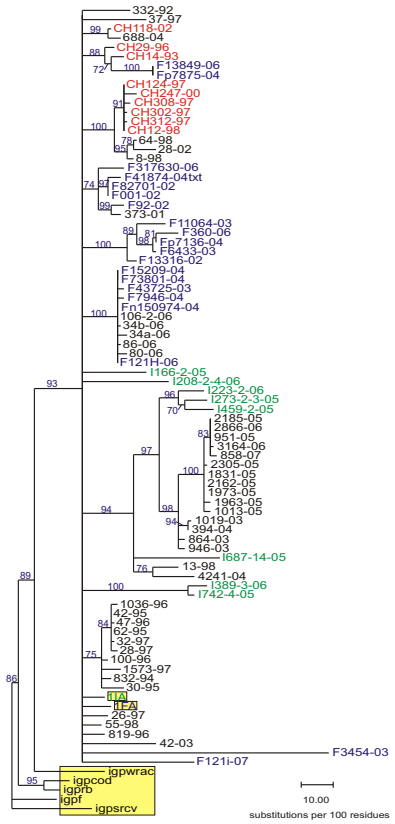


Abb. 1b: Stammbaum repräsentativer europäischer IHNV-Isolate. Die phylogenetischen Berechnungen erfolgten auf der Basis der vollständigen Nukleotidsequenz des Glykoprotein-Gens. Die Buchstaben F, I bzw. CH kennzeichnen die Herkunft der Isolate aus Frankreich (blau), Italien (grün) bzw. der Schweiz (rot). Deutsche Isolate (schwarz) sind ohne Länderbezeichnung. Die letzten beiden Ziffern geben Auskunft über das Jahr der Isolierung. Hervorgehoben (gelb) sind die Ausgangsisolate 1IA und 1IF sowie die amerikanischen IHNV-Stämme.

der M-Gruppe zu den asiatischen und den europäischen Isolaten deutlich erkennbar.

Die Verwandtschaft repräsentativer europäischer IHNV-Isolate aus Frankreich, Italien, der Schweiz und Deutschland ist in Abb. 1b dargestellt.

Dieser Stammbaum verdeutlicht die Entwicklung des IHN-Erregers innerhalb der letzten 20 Jahre. Die beiden Ausgangsisolate aus Frankreich und Italien aus dem Jahr 1987 sind als 1FA und 1IA dokumentiert. Ein F bezeichnet französische Isolate, ein I entspricht den italienischen Isolaten und ein CH repräsentiert die Schweizer Isolate. Die deutschen Isolate sind ohne Bezeichnung. Die letzten beiden Ziffern geben die Jahreszahl der Isolierung an.

Die Evolution des IHNV in Europa führte in den letzten 20 Jahren zur Ausbildung von Untergruppen des Europäischen Genotyps.

Bei den Erstisolaten aus Frankreich und Italien (1FA und 1IA) wird eine enge Verwandtschaft zu deutschen VHSV-Erregern sichtbar. Phylogenetisch zeichnet sich eine verwandte Gruppe mit Isolaten aus Deutschland (30-95 bis 1036-96) ab. Diese Gruppe ist insofern von besonderer Bedeutung, als sie zeigt, dass eine erfolgreiche Bekämpfung der IHN möglich ist. Alle Isolate aus dieser Gruppe stammen aus den Jahren 1994 bis 1997. Danach wurde kein weiteres Isolat dieser Gruppe mehr in Deutschland gefunden. Die Infektionskette wurde also gestoppt.

Ausgehend von den ursprünglichen Isolaten 1FA und 1IA wird auch eine große Gruppe deutlich, die nah verwandte Virusstämme aus Deutschland und Italien enthält (4241-04 bis I223-2-06). Die Viren dieser Gruppe zeigen eine enge Verwandtschaft zu italienischen Isolaten aus den Jahren 2005 und 2006. Eine Gruppe mit Stämmen, die bislang nur in Frankreich isoliert wurden (F13316-02 bis F11064-03), ist von Gruppen mit Isolaten aus Frankreich und Deutschland (F317630-06 bis 373-01 sowie F15209-04 bis F121H-06) flankiert. Eine weitere Gruppe enthält Isolate aus der Schweiz und Deutschland (CH124-97 bis 8-98). Weiterhin zeichnet sich eine Gruppe ab, die Isolate

aus der Schweiz und Frankreich beinhaltet (CH29-96 bis Fp7875-04). Benachbart ist diese Gruppe von Isolaten aus der Schweiz und Deutschland (688-04 bis 332-92). Die Abbildung verdeutlicht verschiedene Ereignisse zur Verbreitung des Erregers über Ländergrenzen hinweg.

Ein phylogenetischer Vergleich der publizierten Nukleotidsequenzen des Glykoproteins der VHS-Erreger (GenBank) ergibt eine Einteilung der Isolate in vier Genogruppen. Diese Klassifizierung ermöglicht die Unterscheidung mariner Isolate von Süßwasserstämmen entsprechend ihrer geographischen Herkunft (Abb. 2a). Genotyp 1 beinhaltet alle europäischen VHSV-Isolate von Süßwasserfischen und mariner Herkunft (Ostsee). Eine Einteilung in fünf verschiedene Untergruppen (1a-1e) ist möglich. Alle in Deutschland isolierten VHS-Stämme gehören zum Genotyp 1. Die Referenzstämme der VHSV-Serogruppen F1, He und 23.75 sind der Genogruppe 1 zugeordnet. Dänische VHSV-Isolate, isoliert aus Hering und Sprotte der Ostsee, bilden die Genogruppe 2. Marine Isolate aus Nordsee und Nordatlantik sind in der Genogruppe 3 zusammengefasst. Die marinen Isolate des Pazifiks (Nordamerika) sind in der Genogruppe 4

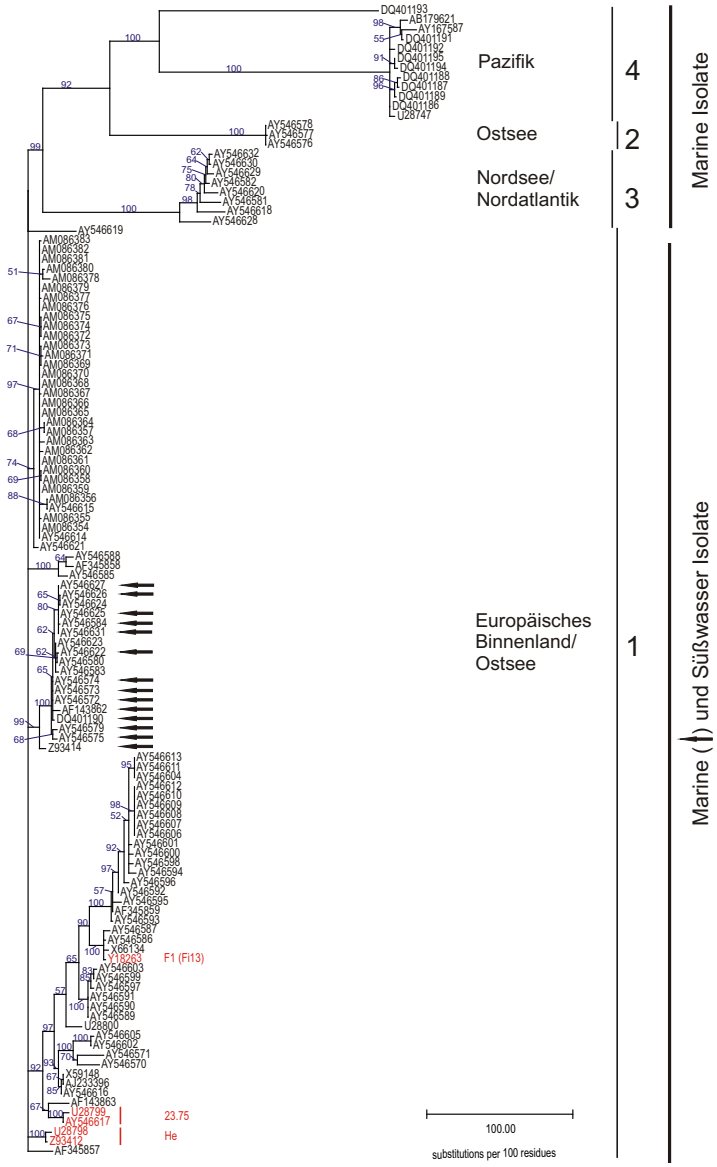


Abb. 2a: Phylogenetische Analyse der publizierten VHSV-Isolate (Genbank). Die Berechnungen basieren auf der vollständigen Nukleotidsequenz des Glykoprotein-Gens. Die Genogruppen 1-4 und das Vorkommen der Isolate im marinen bzw. Süßwasserbereich sind entsprechend hervorgehoben. Marine Isolate der Genogruppe 1 sind durch Pfeile gekennzeichnet. Die Referenzstämme der VHSV-Serogruppen F1 (Fi13, GenBank Y18263), He (GenBank Z93412) sowie 23.75 (GenBank AY546617) sind rot dargestellt.

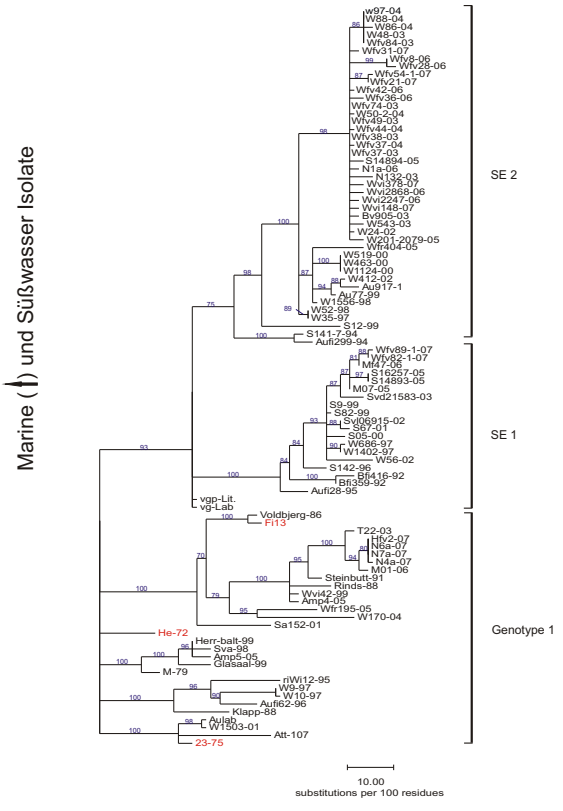


Abb. 2b: Stammbaum repräsentativer VHSV-Isolate der Genogruppe 1. Die phylogenetischen Berechnungen erfolgten auf der Basis der vollständigen Nukleotidsequenz des Glykoprotein-Gens. Die letzten beiden Ziffern geben Auskunft über das Jahr der Isolierung. Die Referenzstämme der Serogruppen F1 (Fi13; GenBank Y18263), He (GenBank Z93412) und 23.75 (GenBank AY546617, U28799) sind rot hervorgehoben. Dargestellt ist auch die weitere Einteilung der Genogruppe 1 in die zwei Untergruppen Südeuropas (SE).

dargestellt.

Die Analyse der deutschen VHSV-Isolate lässt eine weitere Einteilung in die zwei Untergruppen Südeuropa (SE) 1 und 2 erkennen (Abb. 2b). Diese Virusisolate wurden ursprünglich mit Regenbogenforellen aus Italien eingeführt und zirkulieren nun seit ungefähr 16 Jahren in Deutschland. Diese Stämme haben weitgehend die bisherigen dänischen Stämme ersetzt, die für den Genotyp I repräsentativ sind. Beide Untergruppen lassen sich aber auch dem Genotyp I unterordnen. Erst seit 2006 gibt es wieder vermehrt VHS-Ausbrüche mit Virusstämmen, die direkt zum Genotyp I gehören. In einigen Fällen kann hier eine direkte Zuordnung zu Infektionsketten nachgewiesen werden. Die Subgruppe SE 2 ist dominiert durch eine Serie von Seuchenausbrüchen in Baden-Württemberg, die genauer untersucht wurden. Die Verschleppungswege von Teichwirtschaft zu Teichwirtschaft sind auch hier teilweise eindeutig erkennbar. Identische Virusisolate in Teichwirtschaften und anliegenden Wildgewässern verdeutlichen die Gefährdung der Wildgewässer durch Teichwirtschaften und umgekehrt. Insgesamt lassen sich Wege der Verbreitung, auch über große Strecken hinweg, durch ganz Deutschland nachweisen. Für die Entwicklung des VHSV in Deutschland gelten besondere Bedingungen, da der innereuropäische Handel mit Fischen von Nord nach Süd und von Ost nach West durch Deutschland führt. So wurden bislang alle europäischen VHSV-Süßwasser-Stämme auch in Deutschland nachgewiesen.

Die phylogenetischen Analysen der deutschen VHSV-Isolate weisen eindeutig darauf hin, dass die Erreger der Gruppen SE 1 und 2 aus Südeuropa nach Deutschland eingeführt wurden.

Diagnose und Bekämpfung von Fischseuchen erfordern umfangreiche Studien zur Charakterisierung und Identifizierung der Erreger. Vergleichende Analysen des Glykoprotein-Gens erlauben Rückschlüsse auf Herkunft und Verwandtschaft der IHNV-Isolate bzw. eine Klassifizierung von VHSV-Isolaten. Um genaue Auskünfte zur Verbreitung von IHNV- und VHSV-Erregern in Deutschland geben zu können, sind umfassende phylogenetische Analysen nötig. Diese erfordern eine enge Zusammenarbeit der verantwortlichen Betreiber von Fischzuchtanlagen mit den Untersuchungseinrichtungen. Im Jahr 2008 wurden insgesamt 31 VHSV- und sechs IHNV-Ausbrüche gemeldet (Quelle: TierSeuchenNachrichtenSystem TSN der Bundesrepublik Deutschland, FLI, Institut für Epidemiologie, Wusterhausen). Die phylogenetische Verwandtschaft wurde nur für Isolate von sechs VHSV-Ausbrüchen und zwei IHNV-Geschehen aufgeklärt. Von den anderen Ausbrüchen wurden keine Isolate zur Identifizierung des Genotyps und molekularbiologischen Charakterisierung weitergeleitet. Diese Situation ist unbefriedigend, da auf dieser Basis eine flächendeckende Analyse zur Verbreitung der IHN- bzw. VHS-Erreger innerhalb Deutschlands nicht möglich ist. Die Ursache für einen Ausbruch bleibt in diesen Fällen ungeklärt. Die europäische und bundesdeutsche Gesetzgebung fordern epidemiologische Untersuchungen eines Seuchenausbruches bei zugelassenen Anlagen. Die Genotypisierung von IHNV- und VHSV-Isolaten ist gesetzlich noch nicht vorgeschrieben. Eine sichere Differenzierung von identifizierten IHNV- bzw. VHSV-Isolaten ist mit den bislang vorhandenen mAk oft nicht möglich. Deshalb bietet die molekularbiologische Charakterisierung (Genotypisierung) einschließlich der phylogenetischen Analyse die Möglichkeit, Isolate eindeutig zu identifizieren, Veränderungen dieser Virusstämme zu verfolgen und Rückschlüsse auf die Herkunft des Erregers zu ziehen. Die Verbreitung von IHNV und VHSV in Deutschland erfolgte in den meisten Fällen durch den Handel mit infizierten Fischen. Durch phylogenetische Analysen können Handelswege der Fische zurück verfolgt werden. Eindeutige epidemiologische Erkenntnisse und Aussagen zu Ursachen, Folgen und Verbreitung der Erreger sind aber nur möglich, wenn alle in Deutschland aufgetretenen IHNV- und VHSV-Geschehen entsprechend untersucht werden. In diesem Sinne besteht Klärungsbedarf für einheitliche gesetzliche Regelungen auf Bundesebene.

Literatur

Hoffmann, B., M. Beer, H. Schütze, and T.C. Mettenleiter (2005) Fish Rhabdoviruses: Molecular epidemiology and evolution. CTMI 292:81-117, Springer-Verlag.

Weitere Literatur kann bei den Verfassern angefordert werden.

INSTITUT FÜR NEUE UND NEUARTIGE TIERSEUCHENERREGER (INNT)

Die Pathogenese der Bovinen Spongiformen Enzephalopathie bei Rindern

Hoffmann, C., Ziegler, U., Kaatz, M., Buschmann, A., Hammerschmidt, B., Groschup, M.H.

Transmissible spongiforme Enzephalopathien (TSE), auch als Prion-Erkrankungen bekannt, sind seltene, progressive, stets tödlich verlaufende neurodegenerative Erkrankungen, die beim Menschen und einer Reihe anderer Säugetierarten auftreten können. Beim Menschen überwiegen sporadisch auftretende Fälle (Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung (CJD) und nur vergleichsweise selten kommen durch Mutationen im Prion-Gen verursachte Erkrankungen vor (z.B. familiäre CJD, Gerstmann-Sträussler-Scheinker-Syndrom (GSS), Tödliche Familiäre Insomnie (FFI). Daneben wurden Mitte des letzten Jahrhunderts Kuru-Fälle bei Eingeborenen vom Stamm der Fore in Papua-Neuguinea berichtet, die durch kannibalistische Riten, d.h. oral, übertragen wurden. Auch iatrogen-bedingte CJD- und GSS-Fälle sind bekannt. Zu den TSEs bei Tieren gehören die Scrapie bei Schafen und Ziegen, die als Prototyp dieser Erkrankungsgruppe angesehen werden kann, die übertragbare Nerz-Enzephalopathie sowie die Chronic Wasting Disease bei Zerviden. Mitte der achtziger Jahre wurden die ersten Fälle der bovinen spongiformen Enzephalopathie (BSE) bei Rindern beschrieben (Wells et al., 1987).

Änderungen beim Herstellungsverfahren von Tierkörpermehl und dessen Verfütterung waren im Vereinigten Königreich Ende der siebziger Jahre für die Entstehung einer bis heute andauernden BSE-Epidemie mit mehr als 180.000 klinisch erkrankten Rindern verantwortlich. Seit Anfang der neunziger Jahre wurden auch in anderen EU-Mitgliedstaaten BSE-Fälle nachgewiesen sowie jüngst auch in Japan und Nordamerika. Nachdem im Jahr 1996 bei britischen Bürgern eine neue Variante der CJD festgestellt wurde, die auf die Infektion mit dem BSE-Erreger zurückzuführen ist, rückten die Prionen in den Mittelpunkt des wissenschaftlichen und öffentlichen Interesses.

Im November 2000 wurde der erste BSE-Fall in Deutschland festgestellt. Die im Jahr 2001 eingeführte intensive BSE-Schnelltest-Überwachung in der EU ließ die Zahl der diagnostizierten BSE-Fälle deutlich ansteigen - in Deutschland wurden bisher 411 Fälle nachgewiesen. Trotz dieses massiven Auftretens ist die Pathogenese der BSE noch nicht vollständig geklärt. So ist ein sicherer präklinischer Nachweis der Infektion am lebenden Tier nicht möglich und die genaue Ausbreitung des Erregers während der jahrelangen Inkubationszeit im Tierkörper unbekannt. Aus diesem Grund wurde am Friedrich-Loeffler-Institut auf der Insel Riems seit Ende 2002 ein Tierversuch zur Erforschung der BSE-Pathogenese beim Rind durchgeführt. Ziel dieser Langzeitstudie war nicht nur, den Verlauf der BSE-Infektion von der Erregeraufnahme bis zum Ausbruch der Erkrankung zu verfolgen, sondern auch umfangreiches Probenmaterial vor allem von BSE-infizierten, aber noch nicht klinisch erkrankten Rindern zu gewinnen.

TSEs werden durch die vorwiegend im ZNS auftretende Akkumulation einer fehlgefalteten Isoform (PrP^{Sc}) des körpereigenen Prion-Proteins (PrP^{c}) hervorgerufen (Prusiner et al. 1990). Diese Ansammlungen sind als fibrilläre oder granuläre Strukturen intra- und extra-neuronal oder in Form amyloider Plaques nachweisbar. Histopathologisch finden sich Nervenzelldegenerationen, spongiforme Veränderungen des Neuropils sowie eine Astrozytose. Nach einer Inkubationszeit von bis zu mehreren Jahren resultieren neurologische Symptome wie Schreckhaftigkeit, Tremor und Ataxien, die sich bis zum vollständigen Verlust der Bewegungskoordination im finalen Stadium der Erkrankung steigern (Foster et al. 2001).

Das lebensmittelbedingte BSE-Risiko für den Verbraucher hängt im Wesentlichen von der Wahrscheinlichkeit seiner BSE-Erreger-Exposition ab. Diese wird maßgeblich beeinflusst durch a) die Zahl der BSE-infizierten Rinder, die in die Nahrungskette gelangen, und b) die BSE-Erregerverbreitung im Körper von inkubierenden und klinisch erkrankten Rindern (in Verbindung mit den Essgewohnheiten). Zur Minimierung des Expositionsrisikos wurden deshalb bereits seit 2001 in der EU bei Schlachtrindern altersabhängig die Gewebe und Organe entfernt, von denen angenommen wurde, dass sie auch bei Tieren mit Erregern belastet sein könnten, die noch keine klinischen Symptome zeigen (sog. spezifiziertes Risikomaterial (SRM)). Für die Definition solcher Gewebe/Organe sind allerdings genaue Kenntnisse zur Pathogenese und der Erregerausbreitung erforderlich. Profunde Erkenntnisse hierzu lagen jedoch bis vor wenigen Jahren nicht vor. So war nicht bekannt, auf welchem Weg der BSE-Erreger nach einer Infektion über das Futter vom Magen-Darm-Trakt in das zentrale

Nervensystem gelangt.

Erkenntnisse zur Pathogenese der BSE bei Rindern aus vorangegangenen Studien

Experimentelle Studien zur Pathogenese der BSE erfolgten seit 1991 im Vereingten Königreich. Obwohl dabei unterschiedlich konzentriertes Ausgangsmaterial (1g, 100g) eingesetzt wurde, waren die Ergebnisse bis auf minimale Unterschiede im zeitlichen Verlauf ähnlich.

Der früheste klinische Fall konnte 35 Monate p.i. nachgewiesen werden, PrP^{Sc} Ablagerungen im Stammhirn waren erstmalig 32 Monate p.i. nachweisbar. Zahlreiche Untersuchungen konnten bei klinisch erkrankten Tieren Infektiosität im ZNS einschließlich Rückenmark, verschiedenen Gehirnnerven, im Ischiasnerv, in der Netzhaut (neuronale Anteile) sowie in verschiedenen vegetativen Ganglien und Nerven nachweisen. Infektiosität in nicht-neuronalen Geweben war auf die Nebenniere, das Knochenmark (Brustbein) und das distale Ileum beschränkt. Skelettmuskulatur, Milz und andere lymphatische Gewebe erwiesen sich bei mehreren Untersuchungen als erregerfrei (Wells et al. 1994, 1998, 2005, Buschmann und Groschup 2005, Espinosa et al. 2007, Masujin et al. 2007). Untersuchungen zur Ausbreitung des pathologischen Prionproteins während der Inkubationszeit sind selten. Bisher konnte Infektiosität nur in der Tonsille und in den Peyerschen Platten des distalen Ileums (ab dem 6. Monat p.i.) bei BSE-inkubierenden Tieren nachgewiesen werden.

Die deutsche BSE-Pathogenesestudie

Angesichts der vielen offenen Fragen zur BSE-Pathogenese bei Rindern und den daraus resultierenden Unsicherheiten bei der Definition von SRM sowie zur Generierung von unter standardisierten Bedingungen gewonnenen Proben von experimentell infizierten Tieren wurde zwischen 2003 und 2008 eine orale BSE-Pathogenesestudie durchgeführt. Hierzu wurden 56 ca. 4–6 Monate alte Rinder oral mit je 100 g eines Mazerates aus BSE-positivem Rindergehirn infiziert. Weiteren 18 Tieren, die als nicht-infizierte Kontrolltiere dienten, wurde Hirnstammgewebe von BSE-freien Rindern verabreicht.

Ermittlung der Infektiosität des Ausgangsmaterials

Das für die Studie notwendige BSE-infizierte Hirnmaterial (rund. 5,7 Kilogramm) stammte von britischen BSE-Tieren. Um die Infektiosität des Ausgangsmaterials zu bestimmen, wurden mehrere Verdünnungsstufen (10^{-1} bis 10^{-9}) des eingesetzten Hirnstammhomogenats im Mausmodell untersucht. Es kamen dabei transgene Mäuse (Tgbov XV) zur Anwendung, die das bovine Prion-Protein überexprimieren und damit bis zu 10000fach empfindlicher auf eine BSE-Infektion reagieren als konventionelle Mäuse (Buschmann u. Groschup 2005). Der damit ermittelte Infektions-Titer lag bei $10^{6.1}$ ID_{50} pro Gramm Gewebe (Hoffmann et al. 2007) und entsprach dem vergleichbarer BSE-Pathogenesestudien aus dem Vereinigten Königreich (Wells et al. 1998).

Probennahme während der BSE-Pathogenesestudie/ Nationale Probenbank

Am lebenden Tier erfolgte alle acht Wochen die Entnahme von Blut- und Harnproben, sowie alle vier Monate an vorher sedierten Tieren die Entnahme von Liquor. Zudem wurden nach einem definierten Sektionsplan alle vier Monate zufällig ausgewählte Tiere euthanasiert und bei der anschließenden Sektion über 1.400 Einzelproben aus mehr als 150 Organen und Geweben entnommen. Sofern möglich wurde von jeder Probe sowohl Gefriermaterial (gelagert bei -70 und/oder -20°C) als auch formalinfixiertes und paraffineingebettetes Gewebe asserviert. Neben dem zentralen und peripheren Nervensystem wurden dabei u.a. Proben des gesamten Verdauungsapparates, des Atmungsapparates, des lymphatischen Systems, des Harn- und Geschlechtsapparates sowie der Körperhöhlen und diverser Muskelgruppen berücksichtigt. Hinzu kam die Gewinnung zahlreicher Körperflüssigkeiten. Die Probenentnahme erfolgte dabei stets unter TSE-sterilen Bedingungen, d.h. es wurde eine Kontamination der Proben durch Verschleppung des Erregers von einer zuvor entnommenen Probe durch die Verwendung individueller Instrumentensets verhindert.

Alle Proben wurden unter Nutzung einer computergestützten Datenbank und eines Etiketten-Barcodesystems in das Archiv der Nationalen BSE-Probenbank überführt. Im Rahmen der nationalen TSE-Forschungsplattform wird dieses Material auf Antrag Wissenschaftlern anderer Institute sowie aus der Industrie zur Verfügung gestellt, die an Test- und Therapieverfahren für BSE arbeiten.

Das klinische Erscheinungsbild der BSE

Eine gründliche klinische Untersuchung kann bereits erste Hinweise auf eine BSE-Erkrankung geben. Hierzu wurde an der Universität Zürich (Braun 2002) ein spezieller Untersuchungsgang entwickelt, der neben der Körperhaltung und dem Bewegungsablauf auch die Reaktionen der Tiere auf optische, akustische und taktile Reize erhebt. Wie sich im Rahmen der BSE-Pathogenesestudie jedoch herausstellte, lassen sich BSE-infizierte Tiere mit schwach oder untypisch ausgeprägten klinischen Symptomen selbst von in der klinischen BSE-

Diagnostik erfahrenen Beurteilern nicht sicher erkennen. Besonders zu Beginn der klinischen Erkrankungsphase traten vielfach unspezifische Symptome auf.

Um bereits erste klinische Anzeichen einer beginnenden BSE-Erkrankung bei den experimentell infizierten Rindern sicher festzustellen, wurden die Tiere alle acht Wochen nach einem festgelegten Untersuchungsschema beurteilt. Hierbei kam neben der Beurteilung des Verhaltens und der Sensibilität (Prüfung auf Berührung, Manipulation am Kopf- und Halsbereich, Reaktion auf Licht und Lärm, Besenprobe) auch die Bewegungsbeurteilung (Gangverhalten/Lahmheit/Ataxien) zur Anwendung. Anhand aller erhobenen Befunde erfolgte die Einteilung der Tiere in vier Gruppen. Eine detaillierte Beschreibung des klinischen Untersuchungsganges und der nachfolgenden Beurteilung gibt Abbildung 1.

Im Gegensatz zu einer vorangegangenen BSE-Infektionsstudie im Vereinigten Königreich, bei der erste klinische Symptome erst nach einer Inkubationszeit von 35 Monaten auftraten (Wells et al. 1998), zeigten sich bei unserer bereits ab dem 32. Monat p.i. die ersten klinischen Auffälligkeiten bei den Tieren. Das betraf v.a. Verhaltensänderungen mit einer stark erhöhten Schreckhaftigkeit. Auch Sensibilitätsveränderungen mit einer erhöhten Empfindlichkeit auf taktile Reize in der Kopf/Hals-Region sowie einer erhöhten Lärm- und Lichtscheue traten auf. Diese Symptome, zunächst undulierend und schwach ausgeprägt (Status 0-1), verstärkten sich bei einigen Tieren zusehends (Status 2), um dann in einer typischen BSE-Klinik (Status 3) zu enden, die eine Euthanasie der Tiere erforderlich machte. Interessant war dabei die deutliche individuelle Variabilität im zeitlichen Auftreten der ersten Symptome. Da alle vier Monate Rinder aus dem Versuch genommen wurden, die anfangs klinisch unauffällig, aber mit zunehmender Versuchsdauer klinisch auffällig waren, lässt sich angesichts des Versuchsaufbaus keine durchschnittliche Inkubationszeit bei den Tieren bestimmen. Immerhin kann festgestellt werden, dass nach einer Inkubationszeit von 44 Monaten die meisten Tiere aufgrund einer deutlichen BSE-Symptomatik aus dem Versuch genommen werden mussten. Allerdings traten eindeutige Erkrankungen bei zwei Tieren erstmals auch nach 32 und 36 Monaten p.i. auf. Das letzte Rind im Versuch erkrankte nach 56

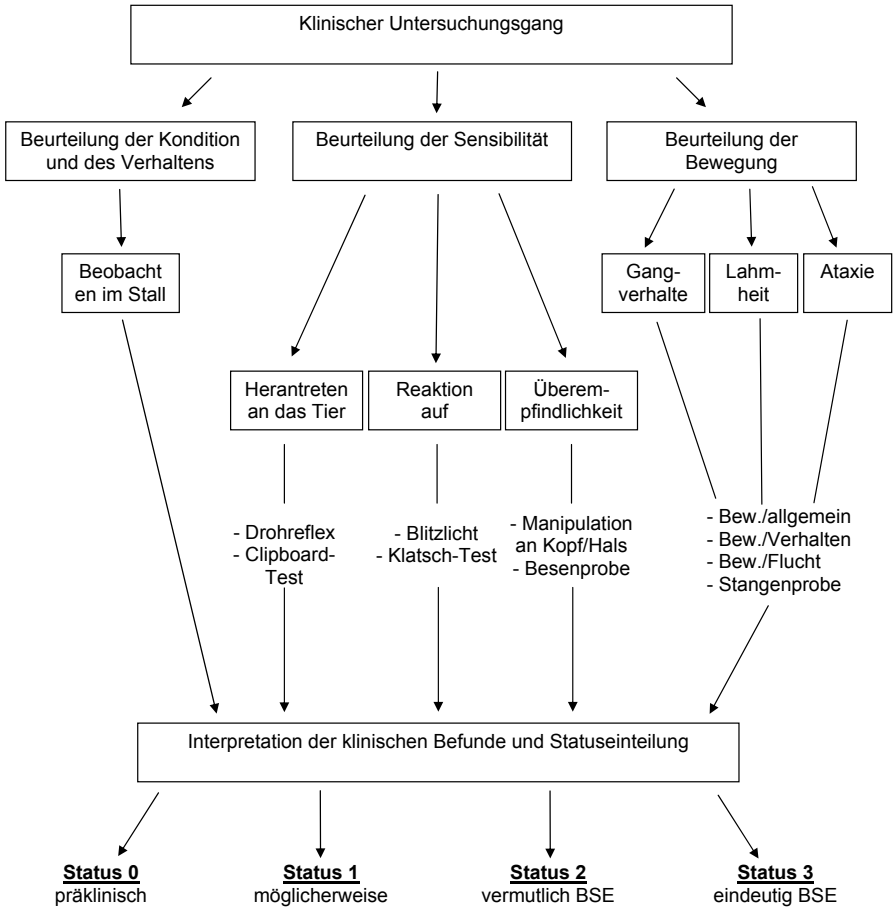


Abb. 1: Klinischer Untersuchungsgang und Diagnose der BSE (modifiziert nach Braun 2002)

Monaten. Tabelle 1 gibt einen Überblick über die klinische Beurteilung der einzelnen Tiere.

Histopathologische und immunhistologische Untersuchungen des Zentralen Nervensystems (Hirnstamm)

Die während der Sektion entnommenen Stammhirnproben aus dem Bereich des Obex wurden nach Fixierung in Formalin und Einbettung in Paraffin histopathologisch und immunhistologisch nach den geltenden Vorschriften zur Diagnostik der BSE untersucht. Dies schließt eine Hämatoxylin- & Eosin-Färbung histologischer Schnitte zur Beurteilung morphologischer Veränderungen sowie den immunhistologischen Nachweis von pathologischem Prion-Protein mit den monoklonalen Antikörpern 12F10 und 6C2 ein.

Histopathologie

Alle eindeutig an BSE erkrankten Tiere (ab dem 32. Monat p.i.) zeigten neurodegenerative Veränderungen, die typisch für TSE waren. Dabei zeigte sich, dass v.a. im Anfangsstadium der Erkrankung der Schweregrad der klinischen Ausprägung nicht unbedingt das Ausmaß der morphologisch erkennbaren Schädigung des Gehirns wiederspiegelt. Es traten deutliche individuelle Unterschiede auf. Übereinstimmend mit den Literaturangaben (Wells u. Wilesmith 1995) traten vorwiegend spongiforme Veränderungen in der grauen Substanz des Gehirns auf; eine Vakuolisierung der neuronalen Zellkörper, typisch für Scrapie beim Schaf (Jeffrey u. Gonzalez 2007), war seltener und nur bei einzelnen Neuronen meist im Rahmen hochgradiger Veränderungen zu beobachten. Die Veränderungen, sofern vorhanden, waren stets bilateral symmetrisch und zunächst auf einzelne Kerngebiete beschränkt, um im weiteren Verlauf der Erkrankung den gesamten Hirnstamm zu erfassen.

Zeit p.i.	Tier	Stammhirn (Obex)		Darm	Klinik (Status)
		H.&E.	IHC		
1 Monat	IT 04	o.b.B.	o.b.B.	negativ	0
	IT 44	o.b.B.	o.b.B.	negativ	0
	IT 62	o.b.B.	o.b.B.	negativ	0
4 Monate	IT 19	o.b.B.	o.b.B.	positiv	0
	IT 45	o.b.B.	o.b.B.	positiv	0
8 Monate	IT 14	o.b.B.	o.b.B.	positiv	0
	IT 20	o.b.B.	o.b.B.	positiv	0
	IT 39	o.b.B.	o.b.B.	positiv	0
	IT 55	o.b.B.	o.b.B.	positiv	0
12 Monate	IT 01	o.b.B.	o.b.B.	positiv	0
	IT 16	o.b.B.	o.b.B.	positiv	0
	IT 06	o.b.B.	o.b.B.	positiv	0
	IT 42	o.b.B.	o.b.B.	positiv	0
	IT 57	o.b.B.	o.b.B.	positiv	0
16 Monate	IT 07	o.b.B.	o.b.B.	negativ	0
	IT 28	o.b.B.	o.b.B.	positiv	0
	IT 65	o.b.B.	o.b.B.	positiv	0
	IT 46	o.b.B.	o.b.B.	positiv	0
20 Monate	IT 10	o.b.B.	o.b.B.	positiv	0
	IT 17	o.b.B.	o.b.B.	positiv	0
	IT 50	o.b.B.	o.b.B.	positiv	0
	IT 60	o.b.B.	o.b.B.	positiv	0
24 Monate	IT 26	o.b.B.	+	positiv	0
	IT 24	o.b.B.	o.b.B.	positiv	0
	IT 47	o.b.B.	o.b.B.	positiv	0
	IT 58	o.b.B.	o.b.B.	positiv	0
28 Monate	IT 08	o.b.B.	(+)	positiv	0
	IT 21	o.b.B.	(+)	positiv	0
	IT 51	o.b.B.	o.b.B.	positiv	0
	IT 52	o.b.B.	o.b.B.	positiv	0
32 Monate	IT 05	o.b.B.	+	positiv	0
	IT 09	+	++	positiv	0-1
	IT 43	++	+++	positiv	2
	IT 61	o.b.B.	+	positiv	0-1
36 Monate	IT 49	+++	+++	positiv	3
	IT 48	o.b.B.	o.b.B.	positiv	0
	IT 11	++	+++	positiv	0-1
	IT 23	+++	+++	positiv	1-2
40 Monate	IT 13	+++	+++	positiv	2-3
	IT 25	o.b.B.	+	positiv	0-1
	IT 56	+	++	positiv	0
	IT 41	+	++	positiv	0
44 Monate	IT 15	+++	+++	positiv	3
	IT 22	+++	+++	positiv	3
	IT 02	++	+++	positiv	2-3
	IT 53	+++	+++	positiv	2-3
	IT 38	++	++	n.u.	2
45/46 Monate	IT 03	+++	+++	n.u.	3
	IT 12	+	++	n.u.	2-3
47 Monate	IT 64	++	+++	n.u.	3
	IT 59	++	+++	n.u.	3
	IT 63	++	+++	n.u.	2-3
48,5 Mona	IT 40	+++	+++	n.u.	2-3
50 Monate	IT 18	+++	+++	n.u.	3
51 Monate	IT 27	+++	++	n.u.	2-3
Monate	IT 54	++	+++	n.u.	3

Tabelle 1: Ergebnisse der BSE-Pathogenesestudie

o.b.B.	*ohne besonderen Befund*	*0*	*Status 0/präklinisch*
n.u.	*nicht untersucht*	*1*	*Status 1/möglicherweise BSE*
(+)	*angedeutet*	*2*	*Status 2/vermutlich BSE*
+	*geringgradig*	*3*	*Status 3/eindeutig BSE*
++	*mittelgradig*		
+++	*hochgradig*		

Immunhistologische Untersuchungen

Die früheste immunhistologisch nachweisbare Akkumulation von PrP^{Sc} im Hirnstamm trat bei einem Einzeltier 24 Monate p.i. sowie bei zwei weiteren Tieren nach einer Inkubationszeit von 28 Monaten auf (Hoffmann et al. 2007). Die Inkubationszeit bis zum erstmaligen Nachweis von PrP^{Sc} im Stammhirn war damit um acht Monate kürzer als in einer vorangegangenen britischen Studie (Wells et al. 1998). Diese Tiere zeigten weder morphologische Veränderungen des Hirnstammes noch wiesen sie klinische Symptome auf. Die frühen, geringgradigen PrP^{Sc}-Akkumulationen betrafen zunächst nur einzelne Zellen (Abbildung 3B). Entsprechend der morphologischen Veränderungen zeigten sich in frühen Erkrankungsstadien auf einzelne Kerngebiete beschränkte, multifokale, jedoch bilateral symmetrische Ablagerungen. Im weiteren Verlauf konnte dann eine diffuse Ausbreitung des Prionproteins im Hirnstamm (Abbildung 3C) nachgewiesen werden. Übereinstimmend mit den Literaturangaben (Jeffrey und Gonzalez 2004) war das zelluläre Reaktionsmuster der PrP^{Sc}-Ablagerungen wenig variabel mit nur geringfügigen individuellen Unterschieden. Neben intra- und perineuronalen Reaktionsmustern waren auch lineare, fein- und grobgranuläre diffuse Ablagerungen im Neuropil vorhanden. Eine Plaquebildung konnte im Gegensatz zu den bei Scrapie beschriebenen Verhältnissen (Jeffrey u. Gonzalez 2007) nicht nachgewiesen werden.

Ausbreitung des BSE-Erregers im Tierkörper

1. Darm

Nach oraler Aufnahme infektiösen Futters erfolgt eine erste Akkumulation des pathologischen Prionproteins im Dünndarm, vor allem im Darm-assoziierten lymphatischen

Gewebe (Peyersche Platten). Während bei Scrapie bereits früh das pathologische Prionprotein im gesamten Dünndarm nachgewiesen werden kann (van Keulen et al. 2000), war bei der BSE zur genauen Lokalisation und zum zeitlichen Verlauf der PrP^{Sc}-Ablagerung insbesondere während der frühen Inkubationszeit bisher wenig bekannt. Dieses Wissen ist jedoch für eine exakte wissenschaftliche Definition des Spezifischen Risikomaterials und die damit einhergehenden Verbraucherschutz-Maßnahmen unerlässlich.

Insgesamt konnte bei 19 der 25 Tiere aus der BSE-Pathogenesestudie mit Inkubationszeiten von bis zu 24 Monaten PrP^{Sc} im Dünndarm nachgewiesen werden. Der früheste Nachweis erfolgte vier Monate p.i. und damit etwas früher als bisher beschrieben. Akkumulationen des pathologischen Prionproteins waren mittels immunhistologischer und biochemischer Methoden ausschließlich im distalen Ileum sowie im Ileozäkaleingang darstellbar. Unter Verwendung transgener Mäuse, die eine sehr hohe Sensitivität gegenüber pathologischem Prion-Protein aufweisen, konnte jedoch erstmals auch eine geringe Infektiosität in Anteilen des Jejunums nachgewiesen werden.

Der Hauptteil der Ablagerung war jedoch im distalen Ileum zu finden. Während früher Inkubationszeiten waren lediglich einzelne Follikel betroffen, 12 Monate p.i. hingegen wiesen bis zu 20 Prozent der Follikel deutlich erkennbare Ablagerungen auf. Entsprechend den Literaturangaben war der Nachweis vorwiegend auf Makrophagen beschränkt, nur einzelne Tiere, meist mit längeren Inkubationszeiten, zeigten eine positive Reaktion des Enterischen Nervensystems (Abb. 2). Tabelle 1 gibt einen Überblick zu den erhobenen Befunden.

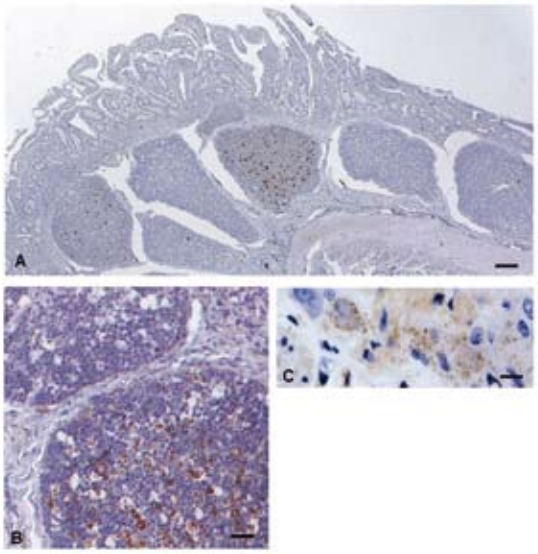


Abb. 2: Immunhistologischer Nachweis von PrP^{Sc} im Ileum, mab 12F10, A: positive Follikel der Peyerschen Platten im Überblick, IT 01, Bar 200µm; B: Makrophagen eines Follikels mit globulärer Akkumulation von PrP^{Sc}, angrenzender Follikel ohne Akkumulation, IT 26, Bar 25µm; C: Enterisches Nervensystem mit granulärem Reaktionsmuster in Neuronen und Mantelzellen, IT 26, Bar 10 µm

2. Vegetatives Nervensystem

Während die Ausbreitung des PrP^{Sc} im lymphoretikulären Gewebe und im peripheren Nervensystem bei Schafen gut dokumentiert ist (Keulen et al. 2000), fehlen solche Angaben bei Rindern. Die Pathogenese der BSE ist nach wie vor unklar. Daher erfolgte eine ausgedehnte Untersuchung zum Nachweis von PrP^{Sc} bzw. Infektiosität in verschiedenen Anteilen des peripheren Nervensystems, insbesondere in diversen vegetativen Ganglien und Nerven präklinisch und klinisch infizierter Tiere.

Anhand der erhobenen Befunde lässt sich der Ausbreitungsweg des BSE-Erregers rekonstruieren. So konnte sehr früh in der Inkubationsperiode (16 und 20 Monate p.i.) neben dem *Ganglion coeliacum* (*Solarplexus*) nahezu zeitgleich Infektiosität auch in rein parasympathischen (*Ganglion nodosum/Nervus Vagus*) und rein sympathischen (*Ganglion cervicale craniale*) Anteilen des vegetativen Nervensystems nachgewiesen werden. Denkbar ist daher eine zentripetale Ausbreitung entlang vegetativer Nervenfasern ausgehend vom distalen Ileum zum *Ganglion coeliacum*. Dieses gemischte Fasern führende Ganglion als große „Schaltstelle“ des vegetativen Nervensystems erlaubt sowohl den direkten Aufstieg in das Stammhirn über den parasympathischen Nervus vagus als auch die indirekte Ausbreitung über die postganglionären sympathischen Nervenfasern des Rückenmarkes. Beide Ausbreitungswege werden durch die Befunde am Stammhirn unterstützt. Immunhistologisch ist die Akkumulation von PrP^{Sc} in Neuronen und Mantelzellen vegetativer Ganglien und Nerven (Abb. 3A) ab dem 24. Monat p.i. darstellbar.

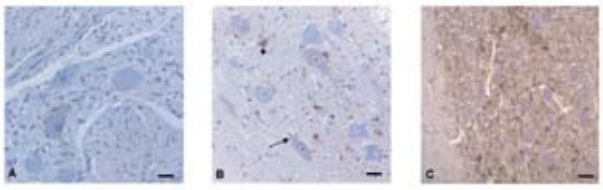


Abb. 3: Immunhistologischer Nachweis von PrP^{Sc} im vegetativen und zentralen Nervensystem, A/B: mab 12F10, IT 26, Bar 25 µm, C: mab 12F10, IT 54, Bar 50 µm.
A: Ganglion coeliacum mit perineuronalem und intraglialem Reaktionsmuster; B: geringgradige Ablagerung von PrP^{Sc} im Stammhirn (Obex), dorsales Kerngebiet des N. vagus, intra- und perineuronales (Pfeil), intragliales (Pfeilspitze) sowie feingranulär im Neuropil liegendes Reaktionsmuster, C: hochgradige Ablagerung von PrP^{Sc} im Stammhirn (Obex), gleiche Lokalisation wie B, vorwiegend diffuse Ablagerung im Neuropil, aber auch intragliale und perineuronale (Pfeil) Reaktionsmuster erkennbar.

Eine deutliche Zunahme des Nachweises von PrP^{Sc} und/oder Infektiosität im peripheren Nervensystem ist bei klinisch kranken Rindern zu beobachten, u.a. in der Zungenmuskulatur. Dies ist am ehesten auf eine sich der Vermehrung des BSE-Erregers im Stammhirn anschließende zentrifugale Ausbreitung des BSE-Erregers entlang vegetativer und motorischer Nervenfasern zurückzuführen.

Lokalisationen, die bereits eine frühe Akkumulation von PrP^{Sc} zeigen, jedoch keine direkte Verbindung zu den Nervenfasern des distalen Ileums haben, wie beispielsweise distale Anteile des Rückenmarkes oder das *Ganglion mesenteriale caudale*, könnten über eine retrograde Verteilung des PrP^{Sc} im Tierkörper miteinbezogen sein.

3. Lymphatisches Gewebe

Für eine Beteiligung des lymphatischen Systems (mit Ausnahme der Tonsille und der Peyerschen Platten des Darmes) an der Ausbreitung des BSE-Erregers gibt es trotz zahlreicher bereits durchgeführter Untersuchungen bisher keine eindeutigen Hinweise.

4. Abb. 4 zeigt im schematischen Überblick eine Hypothese zur Ausbreitung des BSE-Erregers.

Zusammenfassung und Ausblick

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die orale experimentelle Infektion bei 50 von 56 Tieren erfolgreich war. Bereits nach einer Inkubationszeit von 24 Monaten konnte erstmalig eine Akkumulation von PrP^{Sc} im Stammhirn eines Rindes nachgewiesen werden, während die ersten klinischen Symptome bei Tieren erst nach 32 Monaten auftraten. Die einzelnen Tiere wiesen aber sowohl in der Ausprägung der Symptome als auch in der Länge der Inkubationszeiten deutliche individuelle Variationen auf.

Mittels umfangreicher immunhistologischer und biochemischer Untersuchungen sowie mittels des transgenen Maus-Bioassays konnte der bislang unbekannte Weg des BSE-Erregers vom Darm in das Gehirn dargestellt werden. Die Ergebnisse aus unserer Pathogenesestudie bestätigen frühere Berichte (Wells et al., 2998; Wells, 2003; Buschmann und Groschup, 2005; Hoffmann et al., 2007), dass sowohl die Ablagerungen von PrP^{Sc} als auch der Erreger tatsächlich im Wesentlichen auf das Nervensystem beschränkt sind. Es konnte weiterhin gezeigt werden, dass der Erreger nach oraler Aufnahme (was dem vermuteten „natürlichen“ Weg entspricht) entlang des sympathischen und parasympathischen Nervensystems vom Verdauungstrakt zum Hirnstamm aufsteigt (Hoffmann et al., 2007). Im Gegensatz zur Pathogenese beim Schaf scheint das lymphatische System beim Rind fast keine Rolle zu spielen (Ausnahmen: Peyersche Platten im Ileum, Tonsillen), da dort weder PrP^{Sc} noch Infektiosität nachweisbar waren. Allerdings liegen die Ablagerungen des pathologischen Prion-Proteins im Darm in einem größeren Ausmaß vor als bisher angenommen.

Insgesamt konnten in dieser einzigartigen Langzeitstudie rund 200.000 Proben asserviert werden, die für weitere Untersuchungen zur Pathogenese der BSE, für die Entwicklung von Testsystemen sowie für zukünftige Fragestellungen zur Verfügung stehen.

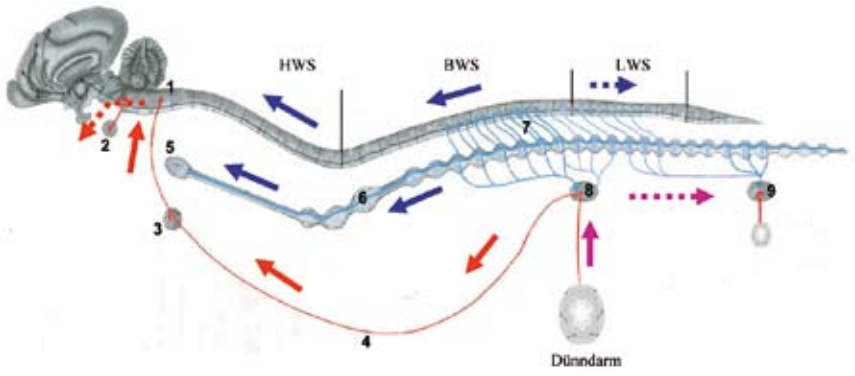


Abb. 4: Schematischer Überblick zur möglichen BSE-Pathogenese entlang des vegetativen Nervensystems (Pfeile): parasympathische Anteile sind rot (Zahlen 2-4), sympathische Anteile sind blau (Zahlen 5-7), gemischte Anteile lila (Zahlen 8, 9) dargestellt, punktierte Pfeile symbolisieren eine vermutete retrograde Ausbreitung,

HWS	*Rückenmark/Hals*	*4*	*N. Vagus*
BWS	*Rückenmar/Brust*	*5*	*Ggl. cervicale craniale*
LWS	*Rückenmark/Lende*	*6*	*Ggl. stellatum*
1	*Stammhirn (Obex)*	*7*	*N. splanchnici*
2	*Ggl. trigeminale*	*8*	*Ggl. coeliacum*
3	*Ggl. nodosum*	*9*	*Ggl. mesenteriale caudale*

Literatur

Braun U. Clinical signs and diagnosis of BSE. Schweiz Arch Tierheilkd 2002; 144:645-52.

Buschmann A, Groschup MH. Highly bovine spongiform encephalopathy-sensitive transgenic mice confirm the essential restriction of infectivity to the nervous system in clinically diseased cattle. J Infect Dis 2005; 192:934–42.

Espinosa JC, Morales M, Castilla J, Rogers M, Torres JM. Progression of prion infectivity in asymptomatic cattle after oral bovine spongiforme encephalopathy challenge. J Gen Virol 2007; 88:1379-83.

Foster JD, Parnham D, Chong A, Goldmann W, Hunter N. Clinical signs, histopathology and genetics of experimental transmission of BSE and natural Scrapie to sheep and goats. Vet Rec 2001; 148:165-71.

Hoffmann C, Ziegler U, Buschmann A, Weber A, Kupfer L, Oelschlegel A, Hammerschmidt B, Groschup MH. Prions spread via the autonomic nervous system from the gut to the central nervous system in cattle incubating bovine spongiform encephalopathy. J Gen Virol 2007; 88: 1048-55.

Jeffrey M, Gonzalez L. Classical sheep transmissible spongiform encephalopathies: pathogenesis, pathological phenotypes and clinical diseases. Neuropathol Appl Neurobiol 2007; 33; 373-94

Jeffrey M, Gonzalez L. Pathology and pathogenesis of bovine spongiform encephalopathy and scrapie. Curr Top Microbiol Immunol 2004; 284:65-97

Masujin K, Matthews D, Wells GAH, Mohri S, Yokoyama T. Prions in the peripheral nerves of bovine spongiform encephalopathy affected cattle. J Gen Virol 2007; 88:1850-58.

Prusiner SB, Scott M, Foster D, Pan KM, Groth D, Mirenda C, Torchia M, Yang SL, Serban D, Carlson GA. Transgenetic studies implicate interactions between homologous PrP isofomrs in scrapie prion replication. Cell 1990; 63:673-86

Terry LA, Marsh S, Ryder SJ, Hawkins SAC, Wells GAH, Spencer YI. Detection of disease specific PrP in the distal ileum of cattle exposed orally to the agent of bovine spongiform encephalopathy. Vet Rec 2003; 152:387-92.

van Keulen LJM, Schreuder BEC, Vromans MEW, Langeveld JPM, Smits MA. Pathogenesis of natural scrapie in sheep. Arch Virol Suppl 2000; 16:57-71.

Wells GAH, Hawkins SA, Green RB, Austin AR, Dexter I, Spencer YI, Chaplin MJ, Stack MJ, Dawson M. Preliminary observations on the pathogenesis of experimental bovine spongiform encephalopathy (BSE): an update. Vet Rec 1998;142:103–6.

Wells GAH, Wilesmith JW. The neuropathology and epidemiology of bovine spongiform encephalopathy. Brain Pathol 1995; 5:91-103.

Wells GAH, Spiropoulos J, Hawkins SAC, Ryder SJ Pathogenesis of experimental bovine spongiform encephalopathy: preclinical infectivity in tonsil and observations on the distribution of lingual tonsil in slaughtered cattle. Vet Rec 2005; 156:401-7.

INSTITUT FÜR TIERERNÄHRUNG (ITE)

Möglichkeiten und Grenzen der Diagnostik von Intoxikationen des Schweins mit Deoxynivalenol und Zearalenon

Dänicke, S., Döll, S., Valenta, H.

Ubiquitäre Arten der Pilzgattung *Fusarium* bilden ein breites Spektrum an Metaboliten des Sekundärstoffwechsels, wobei eine Reihe dieser Metaboliten als *Fusarium*-Mykotoxine anzusehen sind, da sie bei Mensch und Tier toxische Effekte ausüben können. Besondere Bedeutung kommt dabei den *Fusarium*-Toxinen Deoxynivalenol (DON) und Zearalenon (ZON) zu, da sie unter den klimatischen Bedingungen in Deutschland - selbst bei Berücksichtigung pflanzenbaulicher Minimierungsstrategien - in Konzentrationen auf Futterpflanzen vorkommen können, die die Tiergesundheit beeinträchtigen.

DON inhibiert die Proteinsynthese auf zellulärer Ebene, während ZON vorwiegend über eine kompetitive Bindung an Östrogenrezeptoren eine östrogene Wirkung entfalten kann und den endokrinen Disruptoren zugeordnet wird. Klinisch manifestiert sich eine DON-Intoxikation beim Schwein in einem Futterverzehrsrückgang, während eine ZON-Intoxikation zu Hyperöstrogenismus und Fertilitätsstörungen führt.

Aus den genannten Gründen hat die Kommission der Europäischen Union Richtwerte für Mykotoxine in zur Verfütterung an Tiere bestimmten Erzeugnissen empfohlen. Entsprechend dieser Richtlinie sollten Ergänzungs- und Alleinfuttermittel für Schweine als die empfindlichste Nutztierart nicht mehr als 0,9 mg DON/kg, sowie Ergänzungs- und Alleinfuttermittel für Ferkel und Jungsauen nicht mehr als 0,1 mg ZON/kg und für Sauen und Mastschweine nicht mehr als 0,25 mg ZON/kg (bei einem Feuchtegehalt von 12 Prozent) enthalten. Die Einhaltung dieser Richtwerte soll sicherstellen, dass es unter praxisüblichen Bedingungen nicht zu Beeinträchtigungen der Leistung und Tiergesundheit kommt.

Die Festlegung von Höchstgehalten (rechtlich bindend) oder Richtwerten für kritische Konzentrationen von unerwünschten Stoffen (z.B. Mykotoxine) in Futtermitteln erfolgt prinzipiell unter Berücksichtigung der Anforderungen, die an die Futtermittelsicherheit gestellt werden und betreffen die Lebensmittelsicherheit, den Schutz der Gesundheit von Mensch und Tier sowie der Umwelt. Die Wichtung dieser Aspekte bei der Festlegung solcher Werte hängt unter anderem vom Vorkommen des betrachteten unerwünschten Stoffes in Futtermitteln in Relation zu seiner toxikologischen oder antinutritiven Bedeutung (Tierschutz- und Tiergesundheitsaspekt), seinem Rückstandsverhalten in Lebensmitteln tierischen Ursprungs (Lebensmittelsicherheit, so genannter „Carry over“) sowie seiner Persistenz in tierischen Exkrementen (Umweltaspekt) ab.

Bei der Festlegung der Richtwerte für DON und ZON standen tiergesundheitliche Aspekte im Vordergrund, wobei die Anwendung dieser Richtwerte für das Futter bei der Beurteilung der Intoxikation einer Gruppe von Tieren oder von Einzeltieren aus forensischer Sicht häufig als unzureichend angesehen wird.

Daher führte das Institut für Tierernährung eine Reihe von Fütterungsversuchen nach dem Dosis-Wirkungsprinzip durch, um nicht nur Beiträge zur Abschätzung des Gesundheitsgefährdungspotenzials von DON und ZON zu leisten, sondern auch die Möglichkeiten einer Diagnostik von Intoxikationen (Toxinrückstände in physiologischen Substraten) zu untersuchen.

Metabolismus, Kinetik und Bioverfügbarkeit

Die Analytik von DON und ZON in physiologischen Substraten kann sich nicht allein auf die Berücksichtigung der Muttersubstanzen beschränken, sondern muss auch die im Verdauungstrakt und im Organismus gebildeten Toxinmetaboliten berücksichtigen, da zwischen diesen Metaboliten erhebliche Unterschiede in der Toxizität bestehen.

Als Metabolit von DON ist sein de-epoxidierter Metabolit de-epoxy-DON bekannt (Abb. 1), wobei diese Reaktion als Entgiftungsreaktion angesehen wird, da ihm die für die Proteinsynthesehemmung notwendige C-12, 13-Epoxidgruppe fehlt.

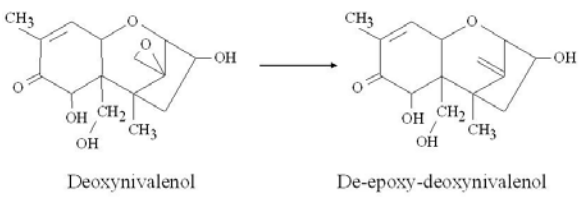


Abb. 1: Die De-epoxidierung von Deoxynivalenol kann durch Mikroorganismen des Verdauungstraktes bewerkstelligt werden und wird als Entgiftungsreaktion angesehen.

Als Metaboliten von ZON wurden in physiologischen Substraten α-Zearalenol (α-ZOL), β-Zearalenol (β-ZOL), Zearalanon (ZAN), α-Zearalanol (α-ZAL) und β-Zearalanol (β-ZAL) nachgewiesen (Abb. 2).

Aus quantitativer Sicht sind für das Schwein vor allem ZON und α-ZOL bedeutsam. Dabei ist die Metabolisierung von ZON zu α-ZOL mit einem Anstieg der Toxizität verbunden, da die Bindungsaffinität von α-ZOL an Östrogenrezeptoren im Uterus des Schweins im Vergleich zu ZON etwa 19-fach stärker ist.

Die Interpretation beobachteter metabolischer Toxineffekte kann erleichtert werden, wenn die systemisch verfügbare Toxinkonzentration bekannt ist, die aus einer bestimmten Toxinkonzentration im Futter resultiert. Dies setzt Kenntnisse über den Anteil des Toxins voraus, der aus der Futtermatrix freigesetzt und absorbiert wird und letztlich systemisch verfügbar ist. Toxine aus natürlich kontaminierten Futtermitteln müssen zunächst unter den Bedingungen des Verdauungstraktes aus der Futtermatrix freigesetzt werden, bevor eine Absorption erfolgen kann. Es gibt Hinweise, dass sowohl DON als auch ZON in natürlich kontaminierten Futtermitteln in variablen Anteilen an pflanzliche Bestandteile gebunden vorliegen, woraus sich theoretisch eine verminderte Bioverfügbarkeit ergeben kann.

Unter Verwendung pharmakokinetischer Methoden und Modelle wurde die Bioverfügbarkeit von DON aus natürlich kontaminierten Weizenkörnern bestimmt. Dazu war es erforderlich, DON einerseits intravenös und andererseits oral zu verabreichen. Da intravenös applizierte Pharmaka oder Toxine *per definitionem* zu 100 Prozent systemisch verfügbar sind, lässt sich aus dem Verhältnis der korrespondierenden Flächen unter den Kurven der Konzentrations-Zeit-Verläufe nach oraler und intravenöser Applikation die Bioverfügbarkeit abschätzen (Abb. 3). Es zeigte sich, dass DON aus natürlich kontaminiertem

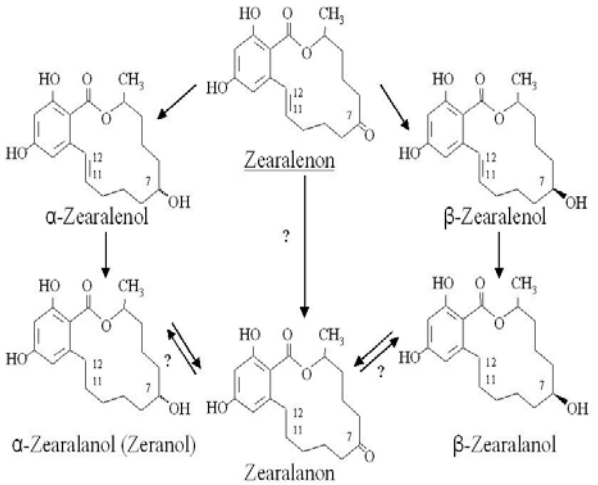


Abb. 2: Nachgewiesene und mögliche Bildungswege der Metaboliten von Zearalenon.

Weizen zu annähernd 100 Prozent bioverfügbar war. Weiterhin ließ sich aus den Untersuchungen ableiten, dass die Plasma-Eliminationshalbwertszeit ($t_{1/2}$) nach oraler DON-Exposition etwa 6 Stunden betrug. Andererseits ist zu berücksichtigen, dass die DON-Kinetik selbst bei gleicher Dosis und annähernd gleicher Körpermasse zum Teil erheblichen individuellen Schwankungen unterliegt, was insbesondere bei der Beurteilung von DON-Konzentrationen im Blut von Schweinen im Rahmen der klinischen Diagnostik zu berücksichtigen ist (Abb. 3).

Vergleichbare Untersuchungen zur Bioverfügbarkeit von ZON liegen für das Schwein gegenwärtig nicht vor, doch deuten methodische Vorarbeiten an, dass auch ZON aus natürlich kontaminierten Futtermitteln in erheblichem Ausmaß absorbiert wird. Im Hinblick auf die Beurteilung von ZON-Rückständen in physiologischen Matrices sind gegenüber DON einige Besonderheiten zu berücksichtigen. Diese betreffen hauptsächlich die größere Bedeutung der Metaboliten (insbesondere α-ZOL) und die ausgeprägte enterohepatische Rezirkulation.

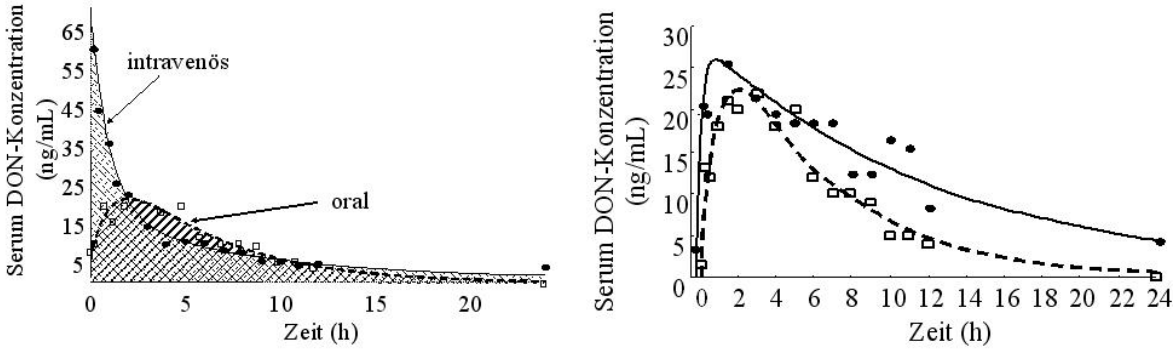


Abb. 3: Deoxynivalenol(DON)-Konzentration im Serum von Schweinen (~40 kg Körpermasse) nach intravenöser und oraler DON-Gabe (links) sowie Variation der Serumkonzentration von DON nach oraler Exposition von 2 Schweinen bei annähernd gleicher Dosis und gleicher Körpermasse (rechts).

Analytik

Für die DON- und ZON-Bestimmung in Futtermitteln wurde früher meist Gaschromatographie (GC) mit Elektroneneinfangdetektor (ECD) oder massenspektrometrischem Detektor (MS) eingesetzt. Heute wird zunehmend die Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) mit Ultraviolett-Detektion (UV), Dioden-Array-Detektion (DAD), Fluoreszenz- oder MS-Detektion verwendet. Zur Probenaufbereitung werden die Futtermittel mit Wasser oder einem Gemisch aus Wasser und organischem Lösungsmittel extrahiert, und die Extrakte werden entweder mittels Festphasenextraktion oder unter Verwendung von Immunoaffinitätssäulchen (IAC) aufgereinigt. Die Nachweisgrenzen variieren methodenabhängig zwischen 0,001 und 0,1 mg/kg. Mit modernen HPLC-MS-Methoden lässt sich die Nachweisgrenze noch deutlich verringern (<0,001 mg/kg), was aber für eine Risikoabschätzung der DON-Kontamination von Futtermitteln oder physiologischen Substraten häufig nicht erforderlich ist.

In physiologischen Substraten wie Galle und Blutserum müssen neben den Muttersubstanzen DON und ZON auch die erwähnten Metabolite und darüber hinaus auch deren mögliche Konjugate, mit z.B. Glukuronsäure, bestimmt werden, da diese sich hinsichtlich ihrer Toxizität zum Teil recht deutlich voneinander unterscheiden können.

Neben den angeführten Analysenmethoden für DON und ZON werden häufig auch Enzyme-Linked Immunosorbent Assays (ELISA) angewendet. Sie eignen sich hauptsächlich für Screening-Zwecke; eine quantitative Bestimmung ist aufgrund von Kreuzreaktionen (z.B. mit acetylierten DON-Verbindungen) zu ungenau. Proben, die im ELISA positiv detektiert wurden, sollten mit einer anderen Methode bestätigt werden. Die Notwendigkeit der Anwendung anderer spezifischer Analysemethoden ergibt sich zwingend dann, wenn physiologische Substrate mittels ELISA analysiert werden. Diese Tests sind in der Regel für pflanzliche Lebens- bzw. Futtermittel entwickelt worden, und Kreuzreaktionen mit Metaboliten, denen eine besondere toxische Bedeutung zukommt (z.B. α-ZOL, siehe oben), oder mit weiteren Bestandteilen der Matrix tierischer Gewebe dürfte eine größere Bedeutung zukommen. Außerdem kommen DON, ZON und ihre Metaboliten in physiologischen Substraten – im Gegensatz zu Futtermitteln - in der Regel (außer bei Harn und Kot) nur in sehr niedrigen Konzentrationen vor. Das stellt besonders hohe Anforderungen an die analytischen Methoden.

Vergleichende Untersuchungen von Blut-, Milch- und Galleproben auf DON-Rückstände mittels HPLC-, GC-MS-, HPLC-MS- sowie ELISA-Methoden zeigten gute Übereinstimmungen zwischen den drei Erstgenannten, während die ELISA-Methode zu falsch positiven - und biologisch nicht interpretierbaren - Ergebnissen führte.

Beurteilung der Rückstände von DON und ZON sowie deren Metaboliten in physiologischen Substraten des Schweins

Aus praktischer und forensischer Sicht stellt sich häufig die Frage, inwieweit dem Nachweis von Mykotoxinen in physiologischen Substraten vom Schwein eine Bedeutung für das Auftreten mehr oder weniger ausgeprägter toxischer Effekte zukommt bzw. ob es nutzbare Korrelationen zwischen den Toxinkonzentrationen und den toxischen Effekten gibt. Aus methodischer Sicht sind hierbei Dosis-Wirkungsstudien notwendig, welche die Toxinkonzentrationen im Futter den Toxinkonzentrationen

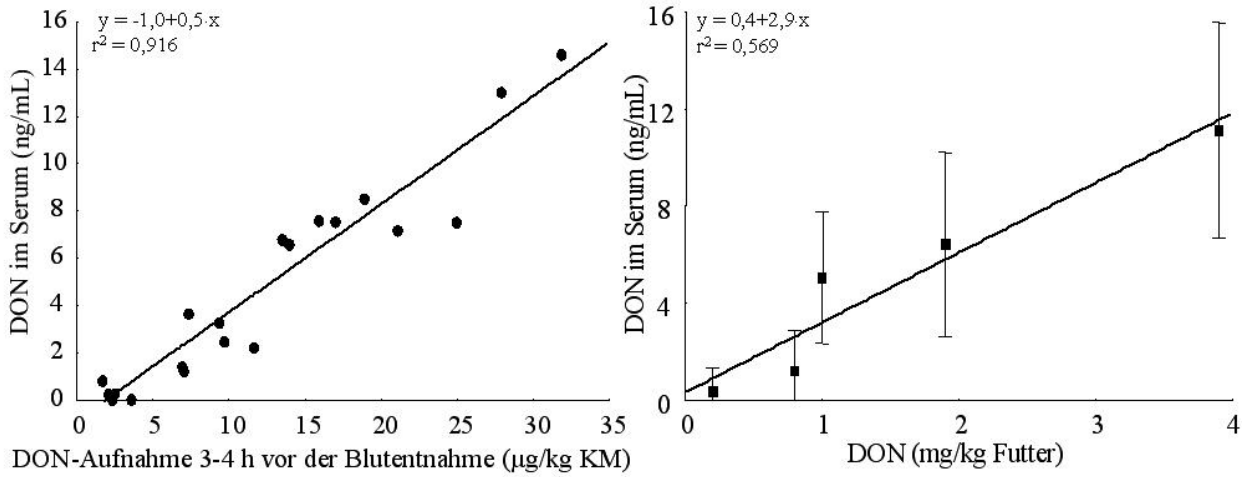


Abb. 4: Deoxynivalenol(DON)-Konzentration im Serum von kontrolliert gefütterten Ferkeln: In Abhängigkeit von der DON-Aufnahme je kg Körpermasse (LM) (links) sowie von der DON-Konzentration des Futters (rechts).

in den physiologischen Substraten gegenüberstellen. Dabei ist zu berücksichtigen, dass sich DON und ZON hinsichtlich ihres kinetischen Verhaltens im Organismus deutlich voneinander unterscheiden. So bewirkt die erwähnte ausgeprägte enterohepatische Rezirkulation von ZON und seinen Metaboliten deren konsekutive Anreicherung – auch von geringsten Futterkonzentrationen – in der Galle, während für DON dieser Weg offensichtlich eine geringere Rolle spielt und es stattdessen prominent systemisch zirkuliert, bevor es renal eliminiert wird. Zwischen der oralen Aufnahme an DON und den Rückständen von DON und de-epoxy-DON im Blut sowie zwischen der ZON-Aufnahme und den Rückständen von ZON und dessen Metaboliten in der Galle konnten lineare Beziehungen nachgewiesen werden (Abb. 4 und 5).

Aus praktischer Sicht ist jedoch bedeutsam, inwieweit sich Beziehungen zwischen der Toxinkonzentration im Futter und der Toxinkonzentration in Blut bzw. Galle herstellen lassen. Auch hier ließ sich eine signifikante Linearität zeigen. Die Anwendbarkeit dieser Beziehungen für praktische Belange wird jedoch stark eingeschränkt durch die hohe Variabilität der entsprechenden Konzentrationen sowohl von DON im Serum als auch von ZON und seinen Metaboliten in der Galle, die zu den jeweiligen Toxinkonzentrationen im Futter gehören, die von praktischem Interesse sind (Abb. 4 und 5). Mit Blick auf die europäischen Richtwerte für die kritischen Toxinkonzentrationen ist festzustellen, dass in diesem Konzentrationsbereich eine sichere Differenzierung zwischen „Toxin-frei“ gefütterten Tieren und solchen, die eine Ration erhielten, deren Toxinkonzentration sich um die genannten Richtwerte bewegt, nicht möglich ist. Dies resultiert auch aus der Tatsache, dass praktische Futtermischungen nie ganz frei sind von DON und ZON. Daher lassen sich auch bei quasi „Toxin-frei“ gefütterten Kontrolltieren regelmäßig positive DON- und ZON-Befunde in Serum und Galle erbringen. Außerdem sind bei der Beurteilung der DON-Befunde im Blut die Kinetik sowie die tierindividuelle Variation zu berücksichtigen (Abb. 3). Aus dem kinetischen Profil lässt sich ableiten, dass die DON-Konzentration im Blut nach der Fütterung bis zu einem Maximum rasch ansteigt und dann allmählich abfällt (Abb. 3). Das bedeutet, dass der Zeitpunkt der Blutentnahme nach der Fütterung zur Variation der Befunde beiträgt. Dieses Problem ist insbesondere bei *ad libitum* gefütterten Tieren von Bedeutung, bei denen eine Standardisierung des Blutentnahmezeitpunktes praktisch nicht möglich ist.

Hinzu kommt die erwähnte tierindividuelle Variation, die bei vergleichbarer Körpermasse und Toxindosis zu gleichen Zeitpunkten der Blutentnahme zu deutlichen Unterschieden in der DON-Konzentration im Blut führen kann (vgl. Abb. 3).

Da einerseits zwischen der DON-Konzentration im Futter und dem Leistungsrückgang bei Schweinen lineare negative Beziehungen bestehen und andererseits lineare positive Beziehungen zwischen der Futter-DON-Konzentration und der DON-Konzentration im Blut, ist von diagnostischem Interesse, ob auch zwischen der DON-Konzentration im Blut und dem Leistungsrückgang (oder anderen Parametern) diagnostisch verwertbare Beziehungen bestehen. Aus den in Abb. 6 dargestellten Zusammenhängen wird deutlich, dass sich eindeutige Beziehungen zwischen dem Leistungsrückgang einzelner Individuen und den korrespondierenden Konzentrationen

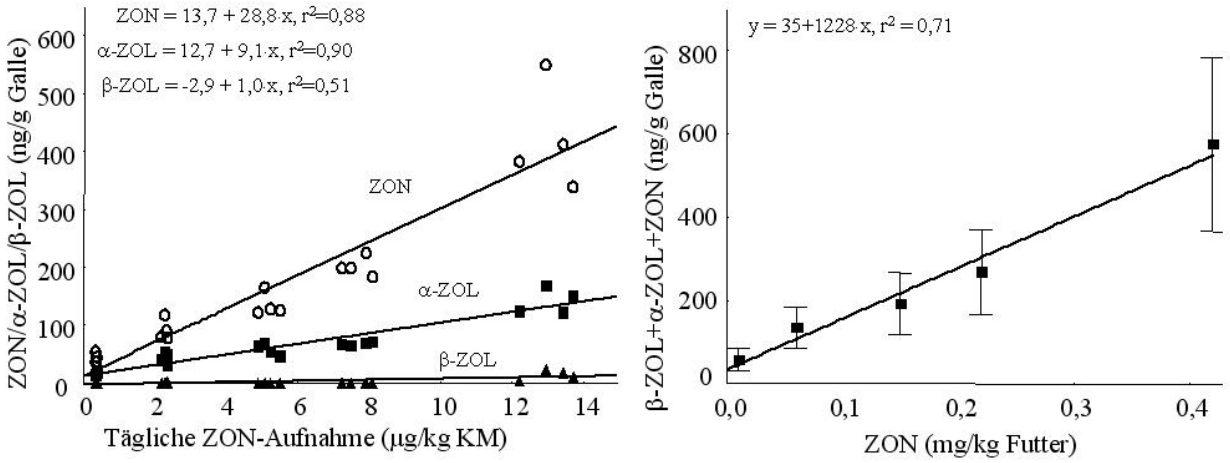


Abb. 5: Konzentration von Zearalenon (ZON) sowie den Metaboliten α-Zearalenol (ZOL) sowie β-ZOL in der Galle von Ferkeln in Abhängigkeit von der ZON-Aufnahme je kg Körpermasse (LM) (links) sowie von der ZON-Konzentration des Futters (rechts). Der mittlere Anteil von ZON, α-ZOL und β-ZOL an der Summe aller 3 Metaboliten beträgt 72 Prozent, 26 Prozent und 2 Prozent.

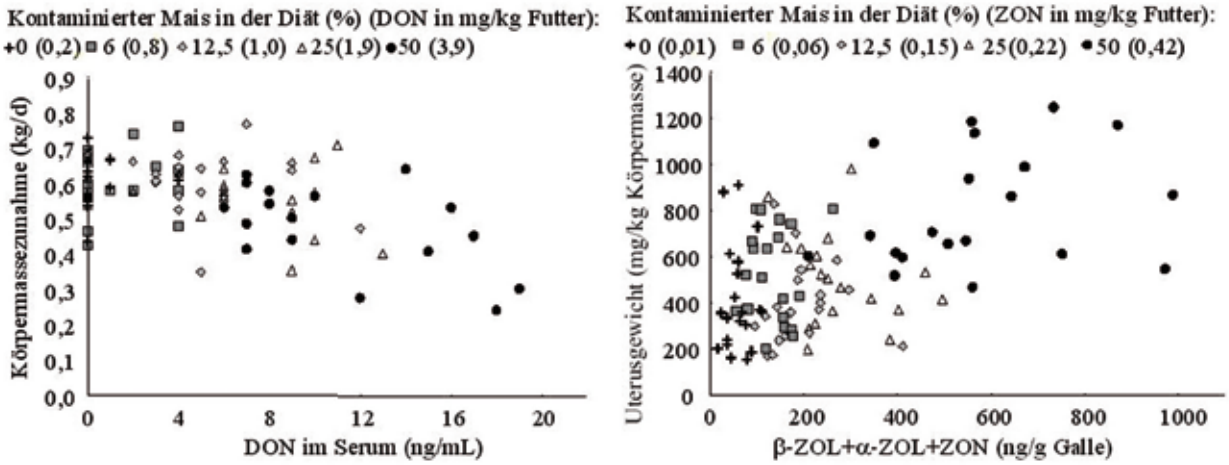


Abb. 6: Individuelle Körpermassezunahmen von Ferkeln in Abhängigkeit der Deoxynivalenol(DON)-Konzentration im Serum (links) sowie individuelle Uterusgewichte in Abhängigkeit der Konzentration von Zearalenon (ZON) sowie den Metaboliten α-Zearalenol (ZOL) sowie β-ZOL in der Galle (rechts) (20).

an DON im Blut nicht herstellen lassen. Selbst bei der überwiegenden Zahl der Ferkel der am höchsten exponierten Gruppe (3,9 mg DON/kg Futter) ist eine eindeutige Zuordnung anhand der DON-Konzentrationen im Blut nicht möglich.

Berücksichtigt man weiterhin den Östrogen-ähnlichen Effekt von ZON auf das Uterusgewicht von Ferkeln, dann lassen sich auch für die Beziehungen zwischen der Konzentration von ZON und seinen Metaboliten in der Galle und dem Uterusgewicht ähnliche Schlussfolgerungen ableiten. Auch hier ist eine tierindividuelle Zuordnung im Prinzip nicht möglich. Bei der Beurteilung möglicher Effekte von ZON auf das Uterusgewicht ist zudem zu berücksichtigen, dass dieses Merkmal grundsätzlich durch eine hohe interindividuelle Variation gekennzeichnet ist und nicht zwangsläufig Schlussfolgerungen hinsichtlich der Fertilität zulässt.

Im Hinblick auf die verschiedenen Kategorien „Ferkel“, „Mastschwein“ und „Jungsau“ ist weiterhin zu beachten, dass Unterschiede im Metabolisierungsprofil bestehen, was insbesondere für α-ZOL zu beachten ist. Wie bereits erwähnt, stellt die Reduktion von ZON zu α-ZOL eine erhebliche Erhöhung des östrogenen Potenzials dar.

Schlussfolgerungen

Die Beurteilung einer Belastung von Schweinen mit DON und ZON anhand der Toxinkonzentration im Blut (Serum bzw. Plasma) bzw. in der Galle ist für praxisrelevante Toxinkonzentrationen im Futter, die kleiner als die EU-Richtwerte für kritische DON- und ZON-Konzentrationen sind, als kritisch einzuschätzen. Ein Rückschluss von der gemessenen Toxinkonzentration in den physiologischen Substraten auf die Überschreitung von kritischen Konzentrationen der Toxine im Futter ist daher nur bedingt und nur bei sehr hohen Konzentrationen möglich. Weitere Einschränkungen ergeben sich aus der Toxin-spezifischen Toxikokinetik. So lässt sich beispielsweise eine länger zurückliegende einmalige höhere DON-Exposition schon ein bis zwei Tage später nicht mehr im Blut nachweisen, wohingegen auch geringe ZON-Konzentrationen (<Richtwerte) im Futter über längere Zeiträume zu einer Akkumulation in der Galle führen. Letzteres kann aber nicht als Indikator einer ZON-Intoxikation gewertet werden, sondern spiegelt die natürliche Hintergrundbelastung wider.

Eine Festlegung von Grenzwerten für DON und de-epoxy-DON im Blut, sowie für ZON und dessen Metaboliten in der Galle erscheint aus den genannten Gründen nicht sinnvoll und ist aufgrund der Datenlage, besonders der ungenügenden Beziehungen zwischen den Toxinkonzentrationen in den physiologischen Substraten und den klinischen Erscheinungen, auch nicht möglich.

Literatur

Dänicke, S., Döll, S., Goyarts, T., Valenta, H., Ueberschär, K.H. & Flachowsky, G. (2008) On the evaluation of the occurrence of the Fusarium-toxins deoxynivalenol (DON), zearalenone (ZON) and their metabolites in physiological substrates of the pig. Tierärztl Prax, 36: 35-47.

Weitere Literatur kann bei den Verfassern angefordert werden.

INSTITUT FÜR TIERSCHUTZ UND TIERHALTUNG (ITT)

Federpicken und Kannibalismus bei Legehennen: Eine Herausforderung für interdisziplinäre Forschung

Kjaer, J. B.

Die Verhaltensprobleme Federpicken und Kannibalismus stellen nach wie vor ein großes Problem in der Haltung von Legehennen dar. Beim Federpicken bepicken sich die Hennen gegenseitig das Gefieder und reißen dabei auch Federn heraus, was zu großem Federverlust führen kann (Abb. 1). Dies kann in Kannibalismus resultieren, bei dem sich die Hennen gegenseitig durch Pickschläge die Haut verletzen und auch tiefer liegende Gewebeschichten und Organe verletzen. Kannibalismus, der auch unabhängig vom Federpicken gezeigt wird, kann bis zum Tode der betroffenen Hennen führen. Federpicken und Kannibalismus stellen damit nicht nur gravierende Tierschutzprobleme dar, sondern sind oft auch mit hohen ökonomischen Einbußen verbunden. Bei einer Vielzahl von Hennen werden daher noch immer die Schnäbel kupiert (Abb. 2), um die Auswirkungen von Federpicken und Kannibalismus zu reduzieren. Grundsätzlich ist das prophylaktische Kupieren der Schnäbel in Deutschland nicht zulässig, kann aber genehmigt werden, wenn dieser Eingriff im Hinblick auf die vorgesehene Nutzung zum Schutz der Tiere unerlässlich ist. Sehr häufig wird gerade bei Hennen, die in Boden-, Freilandhaltung oder ökologischen Verfahren gehalten werden, der Schnabel kupiert.

Abb. 1: Eine sehr stark bepickte Legehenne (Foto: J.B. Kjaer)

Schnabelkupieren und geringe Lichtintensitäten verdecken das Problem nur

Trotz der großen Bedeutung dieses Problems konnten bis heute noch keine zufriedenstellenden Lösungen gefunden werden. Hierfür sind mehrere Gründe verantwortlich. Zunächst handelt es sich beim Federpicken und Kannibalismus um ein sehr komplexes Verhaltensproblem, das durch zahlreiche Faktoren beeinflusst wird. Weiterhin können die Folgen des Federpickens und insbesondere des Kannibalismus durch das Kupieren der Schnäbel der Eintagsküken in der Praxis über die gesamte Legeperiode hinweg deutlich reduziert werden. Obwohl das Verhalten weiterhin gezeigt wird, können die Verletzungen der Federn und der Haut, darunter auch blutige Wunden, vermindert werden. Das Kupieren der Schnäbel ist für die Vögel jedoch schmerzhaft und sollte daher vermieden werden. Auch durch das Management lassen sich die

Abb. 2: Schnabelkupieren bei Eintagsküken: a) Dieses Gerät schneidet die Schnabelspitze mit einer heißen Klinge, b) Küken vor und c) nach dem Schnabelkupieren (Fotos: J.B. Kjaer)

Konsequenzen dieser Verhaltensprobleme reduzieren. Die wichtigsten Maßnahmen sind geringe Lichtintensitäten und kleine Gruppengrößen. Aus diesen Gründen waren Federpicken und Kannibalismus in herkömmlichen Käfigbatterien auch besser beherrschbar und stellen in alternativen Haltungen ein deutlich größeres Problem dar. Sowohl das Kupieren der Schnäbel als auch geringe Lichtintensitäten verdecken diese Verhaltensprobleme jedoch nur und stellen selber einen tierschutzrelevanten Eingriff dar.

Das Verhalten ist der Schlüssel zum Verständnis

Festzuhalten bleibt, dass das Risiko für Federpicken und Kannibalismus in alternativen Haltungssystemen oder in Systemen mit vergleichsweise hohen Lichtintensitäten stark ansteigt, wenn gleichzeitig auf das Kupieren der Schnäbel verzichtet werden soll. Aber lassen sich aus wissenschaftlichen Untersuchungen vielleicht andere, tiergerechtere Lösungen für dieses Problem finden? Hierzu ist es notwendig zu verstehen, welche Ursachen Federpicken und Kannibalismus haben. Federpicken kann bei verschiedensten Geflügelarten beobachtet werden. Als “self pecking” oder “self mutilation” wird bezeichnet, wenn sich ein Vogel selber pickt und damit seine Federn, Füße oder andere Körperteile beschädigt. Das Bepicken anderer Vögel wird als “allo-pecking“ bezeichnet. Beim aggressiven Picken handelt es sich um ein sehr kraftvolles „allo-pecking“, das meist auf die Kopfregion gerichtet ist, wobei ebenfalls Federn beschädigt werden können. Das aggressive Picken ist aber grundsätzlich nicht die Hauptursache für Federverluste. Das eigentliche Federpicken hingegen, das zu entsprechenden Federverlusten und Verletzungen führt, ist kein aggressives Verhalten. Vielmehr weist die Mehrzahl an Untersuchungen darauf hin, dass das Federpicken eine umorientierte Nahrungssuche ist. Genauer gesagt wird das Picken, mit dem unter natürlichen Bedingungen die Nahrung am Boden gesucht wird, auf das Gefieder von Artgenossen gerichtet. Leider reicht das alleinige Anbieten von zur Nahrungssuche geeignetem Material nicht aus, um das Federpicken deutlich zu reduzieren. Vielmehr hängt die Neigung eines Tieres zum Federpicken auch mit seiner genetischen Herkunft, weiteren Aspekten der sozialen und nicht sozialen Umwelt sowie der physiologischen Belastung der Tiere zusammen. Diese Faktoren können sowohl die Entstehung als auch das aktuelle Auftreten von Federpicken beeinflussen.

Federpicken kann durch genetische Selektion beeinflusst werden

Mögliche genetische Aspekte des Federpickens sind lange kaum untersucht worden. Neuere Untersuchungen haben jedoch gezeigt, dass dieses Verhaltensproblem eine geringe bis moderat hohe Heritabilität hat (Kjaer et al., 2001). Dieses Ergebnis führte zu der Idee, dass auf ihre Neigung zu Federpicken selektierte genetische Linien eine gute Möglichkeit sein könnten, um die Zusammenhänge zwischen Federpicken und physiologischen, genetischen sowie anderen Verhaltensmerkmalen zu untersuchen. Daher wurde vor mehr als 10 Jahren damit begonnen, Legehennen zu selektieren, die gegenüber einer unselektierten Kontrolllinie eine geringe (LFP) und eine hohe (HFP) Neigung zu Federpicken zeigen. Selektionskriterium war die Anzahl an Federpicken, die von individuellen Hennen während einer dreistündigen Beobachtung, während derer sie sich in Gruppen zu 20 Tieren in Bodenhaltung befanden, gezeigt wurden. Bereits nach drei Generationen unterschieden sich die HFP- und die LFP-Linie signifikant in der Häufigkeit des Federpickens (Kjaer et al., 2001). Nachdem Hähne aus der Kontrolllinie eingekreuzt wurden, nahm die Häufigkeit des Federpickens in der HFP-Linie wieder ab, änderte sich in der LFP-Linie aber nicht (Abb. 3). Im Laufe der Selektion bis zur achten Generation nahm das Federpicken der LFP-Linie leicht ab, während es in der HFP-Linie nach einem Rückgang in der 4. Generation wieder anstieg.

Selektion auf Federpicken verändert auch andere Eigenschaften

Durch die Selektion auf Federpicken änderten sich auch andere Eigenschaften der Hennen. In Tabelle 1 sind die Unterschiede in Leistungs- und immunologischen

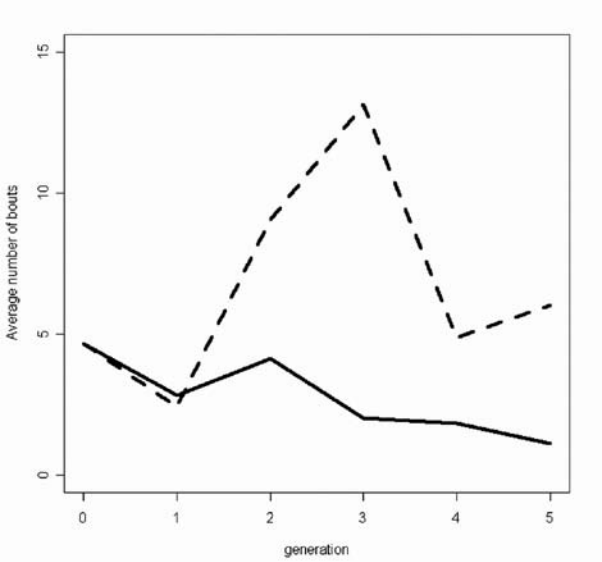


Abb. 3: Mittlere Anzahl an Federpickfolgen je Tier und Stunde in einem dreistündigen Test und über die ersten fünf Generationen des Selektionsexperiments. gestrichelte Linie: HFP-Linie, durchgezogene Linie: LFP-Linie. (nach Buitenhuis und Kjaer, 2008).

Merkmalen zwischen der HFP- und der LFP-Linie im Vergleich zur Kontrolllinie dargestellt. Bei den Leistungsmerkmalen zeigten sich in der LFP-Linie im Vergleich zur Kontrolllinie keine Unterschiede hinsichtlich der Eizahl, dem Eigewicht, der Eimasse und der Schalendicke. Die Höhe des Eiklars, der Eigelbanteil und der Futterverbrauch nahmen jedoch ab. Bei der HFP-Linie blieben die Eimasse, die Höhe des Eiklars, der Eigelbanteil und der Futterverbrauch unverändert. Allerdings nahm die Eizahl ab und das Eigewicht sowie die Schalendicke nahmen zu. Der für das Körpergewicht und die Eimasse korrigierte Futterverbrauch war in der HFP-Linie am größten und in der LFP-Linie am geringsten. Dies lässt sich hauptsächlich auf den besseren Gefiederzustand bei der LFP-Linie zurückführen. Einen Anteil hieran dürfte aber auch die generell höhere Verhaltensaktivität der Tiere der HFP-Linie haben (Abb. 4). Bereits als Küken zeigen Tiere der HFP-Linie mehr Fortbewegung als Küken der LFP-Linie.

Auch für verschiedene immunologische und physiologische Merkmale konnten signifikante Unterschiede zwischen der HFP- und der LFP-Linie im Vergleich zur Kontrolllinie gefunden werden (Tabelle 1). Beispielsweise zeigten Hennen der LFP-Linie geringere Konzentrationen von Serotonin (5-HT) im Blutplasma als Hennen der HFP-Linie. Die Stressempfindlichkeit, die über die Konzentration von Kortikosteron im Plasma nach 10 Minuten Fixierung der Hennen gemessen wurde, war in der HFP-Linie signifikant höher als in der LFP-Linie (Kjaer and Guémené, 2009).

Molekulargenetische Untersuchungen

Mit den auf Federpicken selektierten Linien werden jetzt auch molekulargenetische Untersuchungen durchgeführt. Dies ist interessant, da genetische Unterschiede zwischen den Linien auf Mechanismen hinweisen, die der Entwicklung von Federpicken zugrunde liegen und dieses beeinflussen. Außerdem könnten spezifische Unterschiede zwischen den Tieren der Linien, wie etwa Polymorphismen einzelner Nukleotide, als Marker genutzt werden, um mit markergestützter Selektion das Federpicken in kommerziellen genetischen Herkünften zu reduzieren (Jensen et al., 2008). Erst kürzlich sind Flisikowski und Mitarbeiter (2009) bei der Untersuchung des dopaminergen Systems auf vielversprechende Kandidatengene für das Federpicken gestoßen. Gene, die für Komponenten des serotonergen und dopaminergen Neurotransmittersystems kodieren, sind aus verschiedenen Gründen für Federpicken interessant. Diese Neurotransmittersysteme beeinflussen auch Eigenschaften wie das Erkundungs- oder Neugierverhalten („novelty seeking“). Damit wären die hiermit assoziierten Gene geeignete Kandidaten, wenn die von vielen akzeptierte Annahme stimmt, dass sich das Federpicken aus einem umorientierten

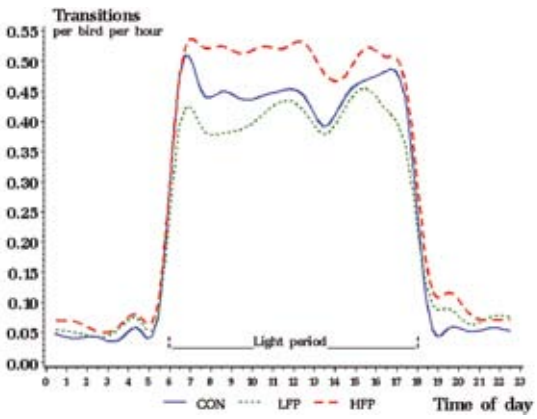


Abb. 4: Aktivität der Küken der auf Federpicken selektierten Linien (CON=Kontrolle, LFP = low- and HFP = high feather pecking line). Die Küken wurden in Bodenhaltung gehalten und die Aktivität wurde mit RFID-Transpondern zwischen der 13. und 15. Lebenswoche aufgezeichnet.

Merkmal	C	LFP	HFP
Leistungsmerkmale			
Eianzahl	20,18	0	-
Eigewicht (g)	59,59	0	+
Eimasse (g)	1,218	0	0
Eiklarhöhe (haugh units)	71.03	-	0
Schalendicke (mm)	0.371	0	+
Eigelbanteil (%)	31.55	-	0
Futteraufnahme (g)	3,107	-	0
Futterverwertung	38.02	-	+
Körpergewicht (g)	1,675	+	+
Immunologische Merkmale			
Weisse Blutkörperchen (count x cells /L)	14	+	-
$CD4^+$ Zellen (%)	34.6	+	0
$CD4^+$ $CD8^+$ Zellen (%)	8.0	+	0
CD8α on $CD8^+$ Zellen (%)	12.8	+	0
MHC I on $CD4^+$ Zellen (MFI)	11.0	0	-
MHC I on $CD8\beta^+$ Zellen (MFI)	13.5	0	-
MHC on $BU\text{-}1^+$ Zellen (MFI)	23.9	+	0
Antikörper gegen IBDV	[4]	0	+
Neurotransmitter			
Plasma 5-HT (µmol/L)	[5]	(-)	(+)
Tryptophan (µmol/L)	[5]	0	0

+ signifikant höher als die Kontrolllinie (P<0.05)
- signifikant niedriger als die Kontrolllinie (P<0.05)
0 kein Unterschied zur Kontrolllinie
(+) und (-) signifikanter Unterschied zwischen HFP und LFP
[4] Drei Wochen nach der Impfung zeigte HFP höhere Antikörpertiter als C
[5] Dieses Merkmal wurde in der Kontrolllinie nicht erfasst

Tabelle 1: Vergleich verschiedener Merkmale zwischen der Kontrolllinie (C) und der auf hohe Federpickaktivität (HFP) und auf geringe Federpickaktivität (LFP) selektierten Linie. (nach Buitenhuis and Kjaer, 2008)

Explorationsverhalten ableitet und mit einer generell gesteigerten Aktivität zusammenhängt. Beim Menschen, bei Säugetieren und kürzlich auch bei Vögeln konnte beispielsweise gezeigt werden, dass DRD4, ein den Dopamin-Rezeptor D4 kodierendes Gen, mit solchen Verhaltenseigenschaften assoziiert ist. Auch durch pharmakologische Untersuchungen wird die mögliche Rolle der serotonergen und dopaminergen Systeme für die Entstehung des Federpickens nahegelegt (Buitenhuis and Kjaer, 2008).

Untersuchungsmethoden aus der klinischen Psychologie

Aus pharmakologischen Untersuchungen an Legehennen ist bekannt, dass eine Erhöhung der Aktivität und Umsetzung von Serotonin (5-HT) mit einer Verringerung der Federpickaktivität verbunden ist. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass bei Papageien das Federpicken durch Behandlung mit einem Antidepressivum und mit einem Serotonin-Inhibitor reduziert werden kann. Interessanterweise zeigen diese Verhaltensprobleme Ähnlichkeiten mit bestimmten psychiatrischen Symptomen, bei denen die menschlichen Patienten anomal und immer wiederkehrend bestimmte Verhaltensabläufe zeigen. Hierbei werden hauptsächlich zwei Gruppen von Symptomen unterschieden: Zum einen Stereotypien, bei denen es sich um wiederholte, formkonstante motorische Muster handelt, mit denen keine offensichtlichen Ziele oder Funktionen verfolgt werden. Beispiele aus dem Humanbereich sind etwa das stereotype Wiegen des Kopfes oder des Körpers, was auch von autistischen Patienten gezeigt wird. Solche Stereotypien werden von Impulsstörungen bzw. Zwangshandlungen unterschieden, bei denen ebenfalls wiederholte, aber flexible und zielgerichtete Verhaltensweisen gezeigt werden. Hierzu wird beispielsweise die Trichotillomanie gezählt, bei der sich die Betroffenen zwanghaft Haare ausreißen. Hinsichtlich des Federpickens bei Legehennen ist es nun interessant zu testen, ob es sich bei diesem Verhaltensproblem um eine Stereotypie oder um eine Zwangshandlung handelt, da diesen Symptomen jeweils unterschiedliche neuropsychologische Mechanismen zugrunde liegen. Stereotype und ständig wiederholte Verhaltensabläufe können einer Dysfunktion der Basalganglien zugeordnet werden, die maßgeblich an der „automatischen“ Selektion von Verhaltensreaktionen auf externe und interne Reize beteiligt sind. Das Festhalten an bestimmten Zielen und Regeln, das für Zwangshandlungen symptomatisch ist, ist demgegenüber Ausdruck einer Dysfunktion des präfrontalen Cortex.

Ist Federpicken eine Stereotypie oder eine Zwangshandlung?

Bei Menschen lässt sich die Neigung zu Stereotypien mit dem sogenannten „two-choice gambling task“ feststellen. Dieser Lerntest, der für die Anwendung bei Tieren modifiziert wurde, wird bei Legehennen angewendet, um zu testen, ob das Wahlverhalten in diesem Test mit der Neigung zum Federpicken korreliert ist. Der Lerntest wird in einer Skinnerbox (Abb. 5) durchgeführt, in der den Hennen zwei identische Bilder auf einem berührungsempfindlichen Bildschirm gezeigt werden. Während 100 aufeinanderfolgender Durchgänge werden die Hennen jeweils zufällig belohnt, wenn sie auf eines der beiden Bilder picken. Obwohl die Belohnung zufällig gegeben wird, kann eine Henne die erhaltene Belohnung maximieren, wenn sie die beiden Bilder möglichst gleich häufig (50:50) anpickt. Dies kann sie entweder durch zufällige Wahl eines der beiden Bilder erreichen oder aber durch Pickabfolgen, die bestimmten Sequenzmustern folgen. Zeigt eine Henne wiederholte Pickabfolgen auf das gleiche Bild, weist dies auf eine stereotype Kontrolle ihrer Wahlentscheidungen hin. Sollte es sich beim Federpicken um eine Stereotypie handeln, erwarten wir daher, dass Hennen mit hoher Neigung zum Federpicken in diesem Test stärker ausgeprägte Sequenzmuster in ihren Wahlentscheidungen zeigen als Hennen mit geringer Neigung zum Federpicken.

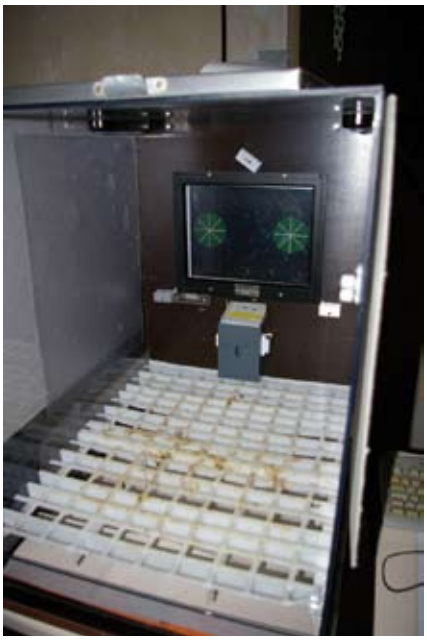


Abb. 5: Skinnerbox, die für die Lernversuche mit den Legehennen genutzt wird. Die Pickschläge gegen den berührungsempfindlichen Bildschirm werden automatisch erkannt und gespeichert. Bei einem Pickschlag auf das belohnte Symbol wird computergesteuert eine Futterbelohnung in den Trog unterhalb des Bildschirmes ausgegeben und das nächste Testbild angezeigt.

Impulsstörungen bzw. Zwangshandlungen lassen sich bei betroffenen Menschen durch sogenannte „Intra-Dimensional–Extra-Dimensional“ (IDED) Tests feststellen. Mit solchen Tests lässt sich quantifizieren, wie sehr ein Proband auf einmal entwickelten Entscheidungsregeln beharrt. Wir haben daher einen IDED Test für die Anwendung mit Legehennen modifiziert. Er wird ebenfalls in einer Skinnerbox durchgeführt, in der die Hennen auf einem berührungsempfindlichen Bildschirm zwischen zwei jeweils verschiedenen Bildern wählen müssen. In diesem Test wird die Wahlentscheidung nicht zufällig belohnt, sondern es werden nur die „richtigen“ Bilder belohnt, die sich in bestimmten Eigenschaften bzw. Dimensionen (z.B. Form, Farbe, Größe) von den „falschen“ Bildern unterscheiden. Im Prinzip setzt sich der IDED Test aus mehreren Stufen zusammen, in denen die Hennen lernen müssen, dass die Entscheidung für zuvor belohnte Dimensionen auf der nächsten Stufe nicht mehr belohnt werden, sondern andere, aber bereits vorhandene Dimensionen relevant sind. In der letzten Stufe wird dann eine gänzlich neue Dimension eingeführt, die in den vorhergehenden Stufen noch nicht vorhanden war. Bei Menschen konnte gezeigt werden, dass die Fähigkeit, diese Lernaufgaben zu lösen, in hohem Maße vom orbitofrontalen Cortex abhängt.

Interdisziplinäre Forschung ist notwendig

Federpicken und Kannibalismus bei Legehennen sind sehr komplexe Verhaltensweisen und von einer Vielzahl verschiedenster Einflussfaktoren abhängig. Um die zugrunde liegenden physiologischen und genetischen Mechanismen zu verstehen, müssen verschiedene interdisziplinäre Methoden angewendet werden. Hierdurch wird es hoffentlich einmal möglich sein, die Aufzuchtbedingungen und die Haltung so anzupassen, dass diese Verhaltensprobleme möglichst weit reduziert werden. Gleichzeitig kann die Forschung zu den genetischen Mechanismen, die zum Federpicken beitragen, helfen, auch in kommerziellen Linien Möglichkeiten der Selektion gegen Federpicken zu finden. Da aufgrund der hohen Komplexität dieser Verhaltensstörung die genauen Ursachen noch nicht zufriedenstellend aufgeklärt sind, könnten moderne züchterische Ansätze einen effektiven und schnellen Weg darstellen, dieses Tierschutzproblem in der Legehennenhaltung zu reduzieren.

Literatur

Buitenhuis, A. J. and J. B. Kjaer. 2008. Long term selection for reduced or increased pecking behaviour in laying hens. Worlds Poultry Sci J 64:477-487

Flisikowski, K., H. Schwarzenbacher, M. Wysocki, S. Weigend, R. Preisinger, J. B. Kjaer, and R. Fries. 200X. Variation in neighbouring genes of the dopaminergic and serotonergic systems affects feather pecking behaviour of laying hens. Anim Genet doi:10.1111/j.1365-2052.2008.01821.x.

Jensen, P., A. J. Buitenhuis, J. B. Kjaer, A. Zanella, P. Mormède, and T. Pizzari. 2008. Genetics and genomics of animal behaviour and welfare – Challenges and possibilities. Appl Anim Behav Sci 113:383-403.

Kjaer, J. B, D. Guémené. 2009. Adrenal reactivity in lines of domestic fowl selected on feather pecking behavior. Phys & Behav 96:370–373.

Kjaer, J. B., P. Sørensen, and G. Su. 2001. Divergent selection on feather pecking behaviour in laying hens (*Gallus gallus domesticus*). Appl Anim Behav Sci 71:229-239.

Weitere Literatur kann bei dem Verfasser angefordert werden.

INSTITUT FÜR BAKTERIELLE INFEKTIONEN UND ZOONOSEN (IBIZ)

Zusammenhänge zwischen Zeckenaktivität (*Ixodes ricinus*), durch Zecken übertragenen Krankheitserregern, Klimaentwicklung und weiteren Faktoren

Klaus, C., Süss, J.

In den letzten Jahrzehnten sind durch Zecken übertragene Krankheiten als „emerging infectious diseases“ mehr und mehr in den Blickpunkt des wissenschaftlichen Interesses gerückt. In Deutschland und Europa hat die Inzidenz bei den wesentlichen durch Zecken übertragenen Erkrankungen des Menschen (Frühsommermeningo-enzephalitis, FSME und Lyme Borreliose, LB) in den letzten Jahrzehnten deutlich zugenommen, wie in Abbildung 1 und 2 beispielhaft anhand der FSME-Fallzahlen in Deutschland und Tschechien exemplarisch dargestellt ist (2008 nur vorläufige Zahlen). Von 1973 bis 2003 kam es z.B. bei FSME in Mitteleuropa im Schnitt zu einer Inzidenzsteigerung auf 400 Prozent, wobei das Ausgangsniveau der Fallzahlen in den einzelnen Ländern sehr unterschiedlich war. Von 2003 bis 2006 verdoppelten sich die Fallzahlen nahezu, während sich die Inzidenz 2007 im Vergleich zu 2006 halbierte und dieses Niveau ungefähr auch 2008 beibehalten wurde. Dieser Trend ist nicht nur in Deutschland, sondern auch in Tschechien, Litauen, Polen, der Slowakei, Slowenien und der Schweiz übereinstimmend zu beobachten. Die Gründe dafür sind unklar und können bisher von keiner Arbeitsgruppe schlüssig dargestellt werden. Dieser ähnliche Verlauf der Inzidenzentwicklung in den verschiedenen Ländern mit sehr unterschiedlichen Bedingungen lässt vermuten, dass dafür ein genereller Faktor, wie z.B. die Veränderung klimatischer Bedingungen, eine entscheidende Rolle spielen könnte. Will man dieser Frage nachgehen, so müssen zunächst die Entwicklungsbedingungen der Zeckenpopulationen, also der Vektoren der durch Zecken übertragenen Krankheiten berücksichtigt und anschließend die möglichen Einflussfaktoren auf die Zeckenpopulationen und die durch sie übertragenen Krankheitserreger betrachtet werden. Genauso wichtig, hier aber nicht Gegenstand der Erörterung, ist die Rolle und Bedeutung der kompetenten Wirte bei diesen ökologischen Fragestellungen.

Lebensbedingungen für Zecken

Zecken sind Spinnentiere, sie gehören im engeren Sinne zur Gruppe der Milben und sind damit keine Insekten. Weltweit kommen etwa 850 verschiedene Arten von Zecken vor, von denen aber längst nicht alle von Bedeutung für die Human- und Veterinärmedizin sind. Fast alle Zeckenarten werden zwei großen Familien zugeordnet, den Schildzecken (*Ixodidae*) oder den Lederzecken (*Argasidae*). Vertreter beider Familien können als Überträger von Krankheitserregern auf Mensch und Tier fungieren.

Aus medizinischer Sicht kommt der Schildzecke *Ixodes ricinus*, dem sogenannten Gemeinen Holzbock, in Deutschland und Mitteleuropa die größte Bedeutung zu, in Osteuropa ab der Mitte Lettlands bis nach Fernost auch der eng verwandten Taigazecke, *Ixodes persulcatus*. Von weitaus geringerer Relevanz für Mitteleuropa sowohl von der Häufigkeit des Auftretens als auch von der Bedeutung als Krankheitsüberträger her sind die Schafzecke, *Dermacentor marginatus*, die besonders in Süddeutschland an einigen Stellen häufiger angetroffen wird, die eng verwandte Auwaldzecke *Dermacentor reticulatus* und die braune Hundezecke *Rhipicephalus sanguineus*, sowie einige *Haemaphysalis*-Arten, eine weitere Schildzeckenart.

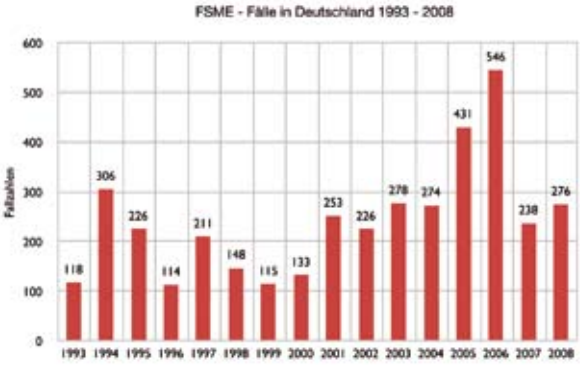


Abb .1 : FSME-Fälle in Deutschland (nach G. Jäger, R. Kaiser, M. Roggendorf, J. Süss und RKI).

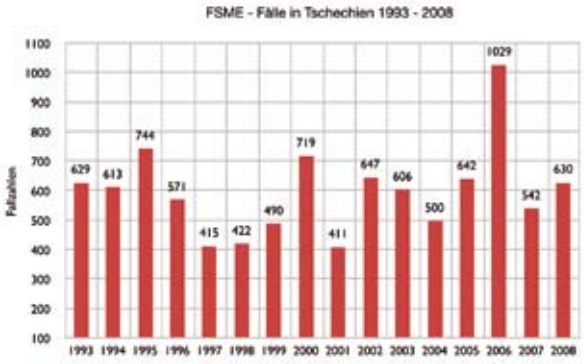


Abb. 2 : FSME-Fälle in Tschechien (nach J. Süss und M. Daniel).

Schildzecken entwickeln sich aus dem Ei über die Larve zur Nymphe und danach zum adulten männlichen oder weiblichen Tier. Am Ende des Zyklus legen die Weibchen die Eier ab, in der Regel weit mehr als 2000 Stück. Abbildung 3 zeigt die einzelnen Stadien von *I. ricinus* und veranschaulicht die Größenverhältnisse. Unabdingbare Voraussetzung für den Entwicklungszyklus ist die jeweilige Aufnahme einer Blutmahlzeit in den einzelnen Stadien von der Larve bis zum adulten Tier. Der Entwicklungszyklus verläuft in der Regel über zwei bis sechs Jahre und hängt in seiner Dauer sowohl von klimatischen Faktoren als auch von der Verfügbarkeit von Wirtstieren für die Blutmahlzeiten ab. Aus den Eiern schlüpfen knapp 1 Millimeter große Larven, die je sechs Beine haben. Nach einer Blutmahlzeit (z.B. an Mäusen, Igeln, Eichhörnchen und anderen Kleinsäugern) folgt nach einigen Wochen oder Monaten die Entwicklung zur achtbeinigen Nymphe. Nach einer weiteren Blutmahlzeit, für die wegen des leistungsfähigeren Stechapparates auch zahlreiche andere Tiere als Wirte genutzt werden können, kommt es zur Entwicklung von adulten ebenfalls achtbeinigen männlichen und weiblichen Tieren. Nur das Weibchen nimmt danach noch eine große Blutmahlzeit auf, um genügend Nährstoffe für die Eiproduktion zu bevorraten, das Männchen begnügt sich mit einer geringen Blutaufnahme zur Auffüllung seiner Energiereserven. Während des Saugaktes oder auch schon davor wird das Weibchen von einem oder mehreren Männchen begattet. Bisher wurde *Ixodes ricinus* an mehr als 300 verschiedenen Wild- und Haustierarten gefunden, an mehr als 100 Vogelarten und selbst an Reptilien, wie z.B. Eidechsen.

Während *I. ricinus*, wie dargestellt, praktisch jeden Wirt für die Gewinnung einer Blutmahlzeit benutzen kann, wird die Frage der Erregerübertragung und -weitergabe an einen weiteren Vektor und damit an einen weiteren Wirt nur dann möglich, wenn dieser Wirt „kompetent“ ist, den Erreger vermehrt und die Bedingungen für eine Transmission schaffen kann.

So konnte z.B. gezeigt werden, dass eine ausgeprägte Spezifität der einzelnen Genospezies von *Borrelia burgdorferi s.l.* für bestimmte Wirtsgruppen wesentlich für die Verbreitung bzw. Nicht-Verbreitung in den Risikogebieten verantwortlich ist.

Menschen werden als (inkompetente) Wirte in der Regel am häufigsten von Nymphenstadien aufgesucht, da diese Stadien verhältnismäßig häufig vorkommen. Wegen ihrer relativ geringen Körpergröße als wenig auffälliger Parasit können sie durchaus während der Blutmahlzeit unentdeckt bleiben und sind deshalb als Krankheitsüberträger

Abb. 3: Entwicklungsstadien von Ixodes ricinus im Größenvergleich.

besonders bedeutsam. Larven können durch ihr sehr kleines Hypostom die Haut des Menschen nur selten an dünneren Hautstellen durchdringen. Dadurch und auch durch die Tatsache, dass sie meist nur geringe Erregermengen beherbergen, spielen Larven bei der Übertragung von Krankheitserregern auf den Menschen eine geringere Rolle als Nymphen und erwachsene Zecken. Zwischen den Blutmahlzeiten können die Zecken ein bis zwei Jahre ohne weitere Nahrungsaufnahme leben, wenn ihre ausgeprägten Feuchteansprüche erfüllt werden. Die kleinklimatische relative Luftfeuchte sollte nicht lange unter 80-85 Prozent sinken. Für das Aufsuchen eines Wirtes ist darüber hinaus eine Mindesttemperatur von etwa 6-7° Celsius über mehrere Stunden täglich erforderlich. Deshalb kann es auch in milden Wintern zur Beobachtung von Zeckenaktivität und zum Auftreten von durch Zecken übertragenen Krankheiten kommen. Unterhalb dieser Temperaturen ist mit einer Zeckenaktivität nicht zu rechnen.

Übertragung von Krankheitserregern

Durch Zecken können zahlreiche Krankheitserreger übertragen werden, dazu zählen neben den bedeutendsten bakteriellen Erregern, den Borrelien als Erreger der Lyme-Borreliose (Familie Spirochäten, Gattung *Borrelia*), auch Anaplasmen, Ehrlichien, Franzisellen und Rickettsien sowie zahlreiche virale (z.B. FSME, CCHF) und parasitäre Erreger (z.B. Babesien). Die größte medizinische Bedeutung haben die Lyme-Borreliose mit geschätzten 60-100.000 jährlichen Neuerkrankungen des Menschen in Deutschland sowie die FSME mit durchschnittlich 250 Erkrankungen des Menschen im Jahr, wobei Spitzenwerte bei 546 Erkrankungen im Jahre 2006 lagen. Veterinärmedizinisch ist sicher die Borreliose bei Hund, Pferd und Rind am bedeutendsten, gefolgt von FSME beim Hund sowie bei Milch liefernden Tieren. Bei Letzteren besteht die Möglichkeit, dass das Virus alimentär vom Menschen über den Genuss von Rohmilch oder Rohmilchprodukten aufgenommen wird,

ohne dass die Tiere selbst klinisch erkranken. Auf diesem Wege kann es ohne Zeckenstich zu einer Infektion des Menschen kommen.

Die Infektion des Wirtes durch Zecken erfolgt via Blutmahlzeit, bei der die saugende Zecke dem Nahrungsbrei Wasser entzieht und diese Flüssigkeit dem Wirt über die Speicheldrüsen und den Stichkanal zurückgibt. Dieser Flüssigkeitsstrom begünstigt die Erregerübertragung und so gelangt z.B. das FSME-Virus von den Speicheldrüsen der Zecke in den Stichkanal und damit in den Körper des Wirtes. Neben der direkten Erregerübertragung spielen für die Erhaltung des Erregers im Habitat auch die transstadiale und transovariale Erregerübertragung sowie das „Co-feeding“ eine Rolle. Mit „Co-feeding“ bezeichnet man eine Erregerübertragung von Zecke zu Zecke, bei der eine Virus tragende Zecke neben einer virusfreien Zecke an einem Wirt Blut saugt. Dabei ist es möglich, dass die Viren direkt von der benachbarten Zecke auf die virusfreie Zecke übertragen werden, ohne dass der Umweg über die Virämie des Wirtes erfolgen muss.

Einflussfaktoren auf Zecken und durch Zecken übertragene Krankheiten

Kurz gefasst lässt sich sagen, dass für Zecken das Wetter, das Klima, besonders auch das lokale Mikroklima und die Verfügbarkeit von Wirten bedeutende limitierende Faktoren darstellen. Eine hohe relative Luftfeuchtigkeit von mehr als 80-85 Prozent ist dabei der wichtigste Faktor.

Ökologische Faktoren im Zusammenhang mit dem sich verändernden Klima (Sumilo et al., 2008a,b, Randolph, 2008) scheinen eine nicht zu unterschätzende Rolle zu spielen. Es gibt zwar eine Reihe von Fakten, die einen Zusammenhang zwischen Klimaentwicklung und der Inzidenzentwicklung bei den durch Zecken übertragenen Krankheiten wahrscheinlich machen, klare und systematische Beweise fehlen aber noch (Süss et al., 2008) oder es wird in bestimmten geographischen Gebieten diesem Zusammenhang sogar widersprochen (Sumilo et al., 2007). Auch eigene Untersuchungen zeigten, dass von einem einfachen linearen Zusammenhang zwischen Klimaveränderungen und durch Zecken übertragenen Krankheiten nicht auszugehen ist (Klaus et al., 2008), da durchaus FSME-Risikogebiete vergangener Jahrzehnte erlöschen (Nationalpark Hainich, Thüringen, Insel Rügen, Mecklenburg-Vorpommern) und räumlich relativ nah zu früheren Gebieten neue FSME-Risikogebiete entstehen können (Süss et al., 1992). Generell ist jedoch eine Ausbreitung der FSME nach Norden, nicht nur in Deutschland, sondern in Europa, auffallend.

Ein entscheidender Faktor könnte bei diesen klimabedingten Veränderungen im Bereich der durch Zecken übertragenen Krankheiten die Zunahme der Zeckenpopulation, insbesondere von *Ixodes ricinus* bzw. die Einwanderung in neue Gebiete durch günstigere Überlebensbedingungen im Habitat sein. Die Steigerungen bei den Durchschnittstemperaturen, vor allem aber die Erhöhung bei den durchschnittlichen Niederschlagsmengen, könnten diese Entwicklung befördern. Für die Bedeutung der Zeckenpopulation spricht auch, dass sich die Lyme-Borreliose-Fälle beim Menschen tendenziell wie die FSME-Fälle entwickelt haben mit einem bisherigen Gipfel im Jahre 2006. Belastbare Daten liegen lediglich für Ostdeutschland vor, da es nur dort eine Meldepflicht gibt. Die Neuerkrankungen beim Menschen stiegen danach von 3020 Fällen im Jahre 2002 auf 6239 Fälle im Jahre 2006 an, wobei ein Teil des Anstiegs zumindest zu Beginn der Einführung auch meldebedingt sein könnte. Außerdem muss angemerkt werden, dass, anders als bei der FSME, bei den Meldekriterien für Lyme Borreliose große Unsicherheiten herrschen.

Nach Prognosen des Potsdamer Instituts für Klimafolgenforschung ist davon auszugehen, dass sich in Deutschland in den kommenden 50 Jahren die mittlere Temperatur um 0,6-1,8° Celsius erhöhen wird und sich damit die Bedingungen für Zecken weiter verbessern werden. Bei dem zweiten wichtigen Faktor, der Niederschlagsmenge, ist die prognostizierte Veränderung regional deutlich differenzierter und muss deshalb auch prognostisch in der Auswirkung auf die Ausbreitung der Zeckenpopulation regional zugeordnet werden (Süss et al., 2008).

Für bessere klimatische Rahmenbedingungen zur Entwicklung der Zeckenpopulationen sprechen bisher einige Untersuchungen. Berichtet wurde bereits über die Winteraktivität von Zecken (aus Deutschland) sowie einen schnelleren Lebenszyklus und eine höhere

Abb. 4: Beispiel für ein Zeckenbiotop.

Populationsdichte von Zecken (aus Lettland), über das Vorkommen von Zecken in höheren Gebirgslagen (aus Tschechien) und eine Nordwärtswanderung von Zecken (aus mehreren europäischen Ländern, u.a. Schweden, Norwegen). Außerdem wurde aus allen europäischen Ländern mit entsprechendem Risiko eine höhere Inzidenz der durch Zecken übertragenen Krankheiten festgestellt, wenn auch auf sehr unterschiedlichem Niveau der Fallzahlen.

Die Verfügbarkeit der Wirte für Zecken wird neben klimatischen auch durch sozioökonomische und politische Veränderungen, z.B. durch veränderte Landnutzung und ein verändertes Freizeitverhalten, beeinflusst, was wiederum bei einigen Faktoren auch zu einer häufigeren Zeckenstichexposition führt. Gerade in den letzten 20 Jahren hat es weit reichende Veränderungen in der Landwirtschaft gegeben mit Flächenstilllegungen, Restrukturierung der Landschaft durch Hecken und Gehölze und - besonders in den osteuropäischen Staaten - dem Übergang von großen Landwirtschaftsbetrieben in kleinbäuerliche Strukturen. Hinzu kommt ein verändertes Freizeitverhalten mit zahlreichen Aktivitäten im Freien. Nicht zuletzt hat auch der Boom der Holzheizungen dazu geführt, dass Wald und Flur häufiger aufgesucht werden. Darüber hinaus kann nicht quantifiziert werden, welche Rolle verbesserte Melde- und Diagnostiksysteme sowie eine generell höhere Aufmerksamkeit für durch Zecken übertragene Krankheiten auf die Erhöhung der Inzidenz bei den wesentlichen durch Zecken übertragenen Erkrankungen des Menschen in den vergangenen Jahren spielten.

Weitere Arbeiten

Zur Entwicklung der Zeckenpopulationen gibt es leider bisher in Deutschland keine Langzeitbeobachtungen und systematischen Daten, wie sie z.B. aus den baltischen Staaten bekannt geworden sind (Bormane et al., 2004), die sich aber auch lediglich mit Adultstadien von Zecken befassten. In den kommenden Jahren sollen vor allem Populationsdaten von *Ixodes ricinus* erhoben und mit den Klimadaten abgeglichen werden. Dabei wird in acht Bundesländern mit standardisierten Methoden des Zeckenfangs GPS-gestützt über mehrere Jahre eine stadienabhängige Populationsdynamik, getrennt nach Larven, Nymphen, männlichen und weiblichen Adulti in charakteristischen Biotopen untersucht. Soweit möglich, sollen dabei auch andere Schildzeckenarten (vor allem *Dermacentor* spp.) mit erfasst werden. Diese Daten von Zecken als Krankheitsüberträger und Klimadaten werden für prospektive Aussagen vernetzt.

Wenn andere retrospektive Daten nicht verfügbar sind, werden Inzidenzentwicklungen bei durch Zecken übertragenen Krankheiten als indirekter Hinweis auf allgemeine Zeckenaktivität im Sinne eines Modells bewertet. Dabei spielt die Erfassung der FSME als Modell eine herausragende Rolle, da für diese Erkrankung über einen vergleichsweise langen Zeitraum (seit den 60er Jahren) sehr präzise Daten vorliegen (Süss et al., 1992), die es ermöglichen, die Inzidenz der FSME als Surrogatmarker für Zeckenaktivität zu verwenden. Darüber hinaus werden die seit Jahren laufenden Untersuchungen zur Erregerinzidenz in Zecken weiter ausgebaut und systematisiert. Umfangreiche Seroprävalenzmessungen bei Tieren zum indirekten Nachweis von Erregern, die durch Zecken übertragen werden, sind angelaufen.

Zielstellung der weiteren Arbeiten ist es, die oben angeführten Zusammenhänge und möglichen Entwicklungen weiter wissenschaftlich zu durchdringen und zu beschreiben, um so entsprechende Vorsorge- bzw. Abwehrstrategien entwickeln zu können. Diese komplexen Untersuchungen werden in enger Kooperation mit dem Umweltbundesamt, dem Potsdamer Institut für Klimafolgenforschung und zahlreichen Arbeitsgruppen aus Human- und Veterinärmedizin durchgeführt und erste Ergebnisse in Kürze vorgelegt.

Der beste Schutz vor den durch Zecken übertragenen Krankheiten liegt im Wissen und in der Aufklärung über potentielle Risiken und richtiges Verhalten, der weitgehenden Vermeidung von Zeckenstichen (z.B. durch entsprechende Kleidung oder den Einsatz von Repellentien), dem raschen und sachkundigen Entfernen von gesogenen Zecken (dicht über der Einstichstelle, nicht quetschen oder drehen) und - bei einem entsprechenden Risiko - in der Impfung gegen FSME.

Literatur

Bormane, A., I. Lucenko, A. Duks, V. Mavtchoutko, R. Ranka, K. Salmina, and V. Baumanis. 2004. Vectors of tick-borne diseases and epidemiological situation in Latvia in 1993 – 2002. Int J Med Microbiol 293 S37: 36-47.

Klaus, C., B. Hoffmann, U. Hering, B. Mielke, K. Sachse, M. Beer, and J. Süss. 2008. Tick-borne encephalitis (TBE) virus prevalence and virus genome characterization in field-collected ticks (*Ixodes ricinus*) in risk, non-risk, and former risk areas of TBE, and in ticks removed from humans in Germany. Clin Microbiol Infect 14:in press.

Randolph, S.E. 2008. Tick-borne encephalitis incidence in Central and Eastern Europe: consequences of political transition. Microbes and Infection 10:209-216.

Sumilo, D., L. Asokliene, A. Bormane, V. Vasilenko, I. Golovljova, and S. E. Randolph. 2007. Climate change cannot explain the upsurge of tick-borne encephalitis in the Baltics. PLoS ONE2(6):e500, doi:10.1371/journal.pone.0000500.

Sumilo, D., L. Asokliene, T. Avsic-Zupanc, A. Bormane, V. Vasilenko, I. Lucendo, I. Golovljova, and S. E. Randolph. 2008a. Behavioural responses to perceived risk of tick-borne encephalitis: Vaccination and avoidance in the Baltics and Slovenia. Vaccine 26:2580-2588.

Sumilo, D., A. Bormane, L. Asokliene, V. Vasilenko, I. Golovljova, T. Avsic-Zupanc, Z. Hubalek, and S. E. Randolph. 2008b. Socio-economic factors in the differential upsurge of tick-borne encephalitis in Central and Eastern Europe. Rev Med Virol 18:81-95.

Süss, J., H. Sinnecker, R. Sinnecker, D. Berndt, E. Zilske, G. Dedek, and L. Apitzsch. 1992. Epidemiology and ecology of tick-borne encephalitis in the eastern part of Germany between 1960 and 1990 and studies on the dynamics of a natural focus of tick-borne encephalitis. Ztbl Bakteriol 277, 224-235.

Süss, J., C. Klaus, F.-W. Gerstengarbe, and P. Werner. 2008. What makes ticks tick? Climate change, ticks and tick-borne diseases. J. Travel Med 15, 39-45

Weitere Literatur kann bei den Verfassern angefordert werden.

INSTITUT FÜR MOLEKULARE PATHOGENESE (IMP)

Chlamydieninfektionen beim Hund

Sprague, L.D.

Chlamydien sind hochspezialisierte gramnegative Bakterien, die einen einzigartigen biphasischen Entwicklungszyklus aufweisen. Dieser alterniert zwischen einer extrazellulären infektiösen Form, den sogenannten Elementarkörperchen, und einer obligat intrazellulären, metabolisch aktiven Form, dem Retikularkörper. Letztere vermehren sich intrazellulär innerhalb einer Vakuole, auch Einschlusskörperchen genannt, mittels binärer Teilung. Nach Redifferenzierung der Retikularkörper zu Elementarkörperchen werden diese von der sterbenden Wirtszelle in die Umgebung entlassen oder durch permanent infizierte Zellen mittels Exozytose ausgeschieden. Chlamydien können eine Vielzahl von Zellen infizieren und zu schweren Infektionen bei Mensch und Tier führen (Longbottom, D., Coulter, L.J., 2003) .

Klinisches Bild und prädisponierende Faktoren

Berichte über Chlamydieninfektionen beim Hund sind selten, vermutlich weil Chlamydien bei dieser Spezies nicht als Krankheitsursache in Betracht gezogen werden. Jedoch haben in der Vergangenheit mehrere serologische Untersuchungen gezeigt, dass Hunde für Chlamydieninfektionen empfänglich sind und bis zu 50 Prozent klinisch inapparenter Hunde Antikörper gegen Chlamydien aufzeigen (Werth et al., 1987). Erschwerend kommt hinzu, dass das klinische Bild einer Chlamydieninfektion beim Hund sehr variabel ist. Die Erkrankung kann einen akuten, subakuten oder chronischen Verlauf nehmen. Hohes Fieber (bis 42°C) mit Bronchopneumonie, Husten, Keratitis oder Keratokonjunktivitis, Mattigkeit, Inappetenz, Vomitus, Diarrhoe sowie neurologische Symptome einschließlich tonisch-klonischer Anfälle sind beschrieben worden (Gresham et al., 1996). Des Weiteren finden sich im Schrifttum vereinzelte Berichte über *Chlamydophila (Cp.) psittaci*-induzierte septische Polyarthritis und atherosklerotische Läsionen. Immunsupprimierte und junge Hunde sind für Chlamydieninfektionen besonders empfänglich, aber auch Stress durch schlechte Haltungsbedingungen können den Krankheitsverlauf negativ beeinflussen [4]. Eine erhöhte Infektionsrate konnte auch bei trächtigen Hündinnen beobachtet werden. Vermutlich spielt hier eine trächtigkeitsinduzierte Immunsuppression eine Rolle, die durch die immunsuppressiv wirkenden Hormone Progesteron, Prostaglandin E2 und α-Fetoprotein hervorgerufen wird. Infektionen während der Trächtigkeit können zum intrauterinen Fruchttod und Abort oder zur Geburt lebensschwacher Welpen führen.

Infektion und Erregerausscheidung

Hunde infizieren sich mit *Cp. psittaci* durch den Verzehr von kontaminierten Vogelkadavern und Vogelkot, sowie über Tröpfcheninfektion, wobei die Infektionsquelle häufig nicht mehr ausfindig gemacht werden kann (Sprague et al., 2008). Eine transplazentare Übertragung auf den Welpen ist ebenfalls möglich (Sprague et al., 2008). Die minimale infektiöse Dosis ist, wie auch für den Menschen, nicht bekannt. Ebenso ist unbekannt, wie und in welcher Menge Chlamydien ausgeschieden werden. Nahe liegend scheint, dass der Erreger über die Atemwege in die Umwelt gelangt. Ferner wird auch eine Ausscheidung über den Darm diskutiert, denn nach experimenteller, parenteraler Infektion konnten infektiöse Chlamydien aus der Leber und der Milz isoliert werden. Daher ist eine mögliche Übertragung von Chlamydien vom erkrankten Hund auf den Menschen über Se-/ Exkrete nicht auszuschließen.

Ein Problem für den praktizierenden und den im Labor tätigen Tierarzt sind das Fehlen einer ausgereiften Diagnostik für canine Chlamydieninfektionen und aktueller epidemiologischer Daten zur Seroprävalenz von Chlamydien in der Hundepopulation. Erschwerend

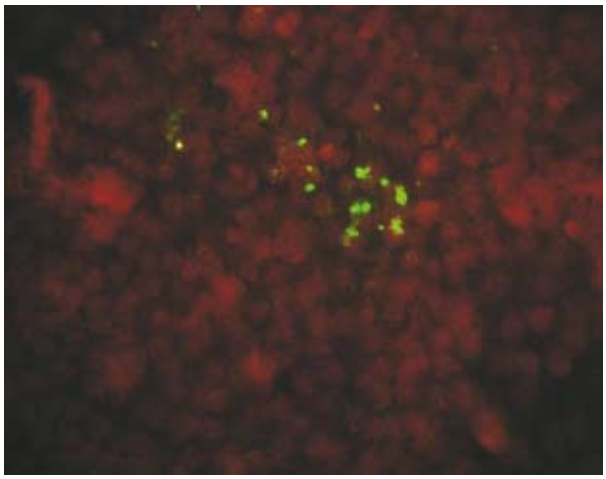


Abb. 1: Chlamydiale Einschlüsse in Buffalo Green Monkey (BGM) Zellen, die mit einem vom Hund stammenden Schleimhautabstrich infiziert wurden.

kommt außerdem hinzu, dass noch immer nicht bekannt ist, welche Chlamydienspezies, außer *Cp. psittaci*, im Hund anzutreffen sind. Sporadisch konnten *Cp. caviae* und *Cp. felis* nachgewiesen werden. Ferner zeigten sich im Experiment Hunde für *Chlamydia* (*C.*) *trachomatis* Infektionen empfänglich. *C. trachomatis* ist humanpathogen und verantwortlich für die namensgebende Bindehautentzündung (Trachom) sowie für Entzündungen im Genitalbereich, die bei der Frau zur Unfruchtbarkeit führen können. Laut Schätzungen der WHO erkranken jährlich weltweit ca. 92 Millionen Menschen an einer *C. trachomatis*-Infektion (WHO, Chlamydia incidence, 1999). In Europa ist die Infektion mit *C. trachomatis* die am häufigsten auftretende sexuell übertragbare Krankheit bakterieller Ursache. Der Nachweis dieses Erregers im Hund sollte nach bisherigen Erkenntnissen den Diagnostiker hellhörig machen und an Missbrauch (Sodomie) denken lassen.

Auf Grund des engen Kontaktes zwischen Mensch und Hund sind auch Infektionen mit *Cp. pneumoniae* nicht auszuschließen, wobei der Beweis dieser Hypothese noch aussteht. *Cp. pneumoniae* ruft beim Menschen hauptsächlich Infektionen der Lunge und der Atemwege hervor, die zur Chronifizierung neigen. Die globale Inzidenz von *Cp. pneumoniae* liegt bei ca. 1-2 Prozent, wobei sich die Inzidenz bei älteren Menschen (>70 Lebensjahr) um das dreifache erhöht. Diese lange Zeit als rein humanpathogen geltende Spezies wurde bereits in verschiedenen Tierarten, wie Pferd, Koala, Frosch und Chamäleon, nachgewiesen (Bodetti et al., 2002). Bislang steht die Beurteilung des Gefährdungspotentials der animalen *Cp. pneumoniae*-Stämme für den Menschen allerdings noch aus.

Zoonotisches Gefahrenpotential caniner Chlamydien

Die Rolle des Hundes in der Epidemiologie des Zoonoseerregers *Cp. psittaci* ist unklar. Das vielfältige Krankheitsbild erschwert häufig die korrekte Diagnosestellung und es ist daher anzunehmen, dass auch bei Hunden eine hohe Zahl an nicht erkannten Infektionen vorliegt. Fallberichte über Chlamydieninfektionen bei Hund und Halter haben häufig einen fast anekdotischen Charakter und sind schwierig zu beurteilen, denn in keinem der Fälle wurden Isolate von Mensch und Tier gewonnen, die zur epidemiologischen Abklärung hätten dienen können. Dieses Fehlen von Isolaten verhindert nicht nur die Typisierung und Charakterisierung der caninen Chlamydien, sondern auch die Beurteilung ihrer Pathogenität und ihres zoonotischen Potentials.

Obwohl in einigen deutschen amtlichen Veröffentlichungen der Hund als Reservoir für *Cp. psittaci* angegeben wird (Robert Koch-Institut; Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit), ist diese Aussage nicht durch experimentelle und klinische Daten belegt. In der Literatur werden zwar mehrere Fälle von chronisch erkrankten Hunden beschrieben, es fehlen aber weiterführende Untersuchungen, die eine sichere Beurteilung des Gefahrenpotentials ermöglichen. Dabei sei auch noch erwähnt, dass die allgemeine Gefährdungsbeurteilung von *Cp. psittaci*-Isolaten nicht aviären Ursprungs noch aussteht.

Eine Risikoanalyse auf Basis der jetzigen Datenlage zeigt, dass bei Betrachtung des Hundes als Einzeltier tatsächlich ein Risiko für diesen besteht, an einer Chlamydieninfektion zu erkranken. Für die gesamte Hundepopulation kann bislang jedoch keine Aussage getroffen werden. Das Risiko für den Menschen, sich über einen Hund an Chlamydien anzustecken, ist nicht bekannt, kann jedoch nicht ausgeschlossen werden. Inwiefern sich der Hund über den Menschen mit Chlamydien anstecken kann, ist bislang ebenfalls nicht untersucht. Eigene Untersuchungen in einer über mehrere Jahre hinweg infizierten Hundezucht, in der auch die Besitzerin und deren Familie erkrankten, legen die Vermutung nahe, das eine gegenseitige „Wiederansteckung“ zwischen Mensch und Hund möglich ist. Diese Hypothese konnte aber bislang nicht verifiziert werden. Interessant sind in dieser Hinsicht auch die Spekulationen von Maclean und Brough in ihrem Fallbericht von 1988. Nach Verfütterung einer geschossenen und anschließend gekochten Taube an seine beiden Hunde erkrankte ein Familienvater 18 Tage später an Ornithose. Vier weitere Familienmitglieder und die beiden Hunde zeigten klinische Symptome einer Ornithose. Sowohl die Hunde als auch drei Familienmitglieder entwickelten Antikörper gegen Chlamydien. Da die Hunde sehr kontaktfreudig und verschmust waren, wurde eine Ansteckung zwischen Hunden und Menschen diskutiert. Letztendlich fehlten aber auch in dieser Untersuchung die Isolate, um dies zu bestätigen.

Weiterführender Forschungsbedarf und eigene Forschungstätigkeiten

In den vergangenen Jahren sind an das Referenzlabor für Psittakose mehrfach Anfragen gestellt worden, Hunde auf Chlamydien zu untersuchen. Da eine hundespezifische Diagnostik fehlt, soll diese in den nächsten Jahren im Referenzlabor aufgebaut werden. Ausführliche Literaturstudien zeigen außerdem, dass keine aktuellen Daten aus Deutschland zur Seroprävalenz von Chlamydien in Hunden vorliegen. Dieser Datenmangel soll durch eine neue Erhebung behoben werden.

Zu diesem Zweck werden aus einer repräsentativen Hundegruppe Serumproben gesammelt und zunächst mittels LPS- und rekombinanten Antigen-ELISA auf Antikörper (genus- und speziesspezifisch) untersucht. Nach Identifizierung der positiven Tiere durch ELISA und PCR erfolgt eine optimierte Erregeranzucht. Die gewonnenen Isolate werden anschließend anhand von Genotypisierung, Schmelzkurvenanalyse und Sequenzierung charakterisiert. Mit Hilfe dieser Daten sollen eine Risikobewertung und Folgenabschätzung für die menschliche Gesundheit in Bezug auf den Hund erfolgen und mögliche Infektketten aufgedeckt werden. Weiterhin können diese Ergebnisse dazu beitragen, Sanierungsmaßnahmen für infizierte Hundebestände zu erarbeiten. Ferner sind Untersuchungen geplant, die die Frage beantworten sollen, inwieweit der Mensch als Infektionsquelle für den Hund in Frage kommt. Dabei könnte *Cp. pneumoniae* als Erreger von z.T. schweren Atemwegserkrankungen eine wichtige Rolle spielen. Es ist denkbar, dass Hunde als Erregerreservoir in Frage kommen und somit als Reinfektionsquelle für den Menschen und als belebter Vektor bei der Ausbreitung dieses Erregers eine entscheidende Rolle spielen.

Zusammenfassung

Im Zuge des demographischen Wandels unserer Gesellschaft übernehmen Haustiere (v.a. Hund, Katze, Pferd) eine immer bedeutendere Rolle und haben häufig die Stellung eines vollwertigen Familienmitglieds (Wells, 2007). Dieses enge Zusammenleben von Mensch und Tier erfordert daher eine strenge gesundheitliche Überwachung dieser Tiere auch in Bezug auf zoonotische Erreger. Obwohl das zoonotische Potential von tierischen Chlamydien bekannt ist, fehlen systematische Untersuchungen zur Bestätigung von Erregerreservoiren und Infektketten. Dabei steht nicht nur die mögliche Infektion des Menschen durch den Hund im Vordergrund, sondern auch inwiefern der Mensch als Infektionsquelle für den Hund in Frage kommt.

Literatur

Longbottom, D., Coulter, L.J., 2003. Animal Chlamydioses and zoonotic implications. J Comp Pathol 128, 217-244.

Werth, D., Schmeer, N., Muller, H.P., Karo, M., Krauss, H., 1987. Demonstration of antibodies against *Chlamydia psittaci* and *Coxiella burnetii* in dogs and cats: comparison of the enzyme immunoassay, immunoperoxidase technique, complement fixation test and agar gel precipitation test. Zentrbl Vetmed B 34, 165-176.

Gresham, A.C., Dixon, C.E., Bevan, B.J., 1996. Domiciliary outbreak of psittacosis in dogs: potential for zoonotic infection. Vet Rec 138, 622-623.

Sprague, L.D., Schubert, E., Scharf, S., Hotzel, H., Sachse, K., 2008. The detection of *Chlamydophila psittaci* genotype C infection in dogs. Vet J doi: 10.1016/j.tvjl.200804.002 (in press)

Bodetti, T.J., Jacobson, E., Wan, C., Hafner, L., Pospischil, A., Rose, K., Timms, P., 2002. Molecular evidence to support the expansion of the host range of *Chlamydophila pneumoniae* to include reptiles as well as humans, horses, koalas and amphibians. System Appl Microbiol 25, 146-152.

Wells, D.L., 2007. Domestic dogs and human health: an overview. Br J Health Psychol 12, 145-156.

Weitere Literatur kann bei der Verfasserin angefordert werden.

INSTITUT FÜR NUTZTIERGENETIK (ING)

Antibiotikaresistenzforschung – Studien zur Florfenicolresistenz boviner und porziner Atemwegsinfektionserreger

Schwarz, S., Kadlec, K., Kehrenberg, C.

Antimikrobielle Wirkstoffe gehören zu den in der Veterinärmedizin weltweit am häufigsten eingesetzten Substanzen. Nach der letzten vom Bundesverband für Tiergesundheit durchgeführten Analyse des Tierarzneimittelmarktes in Deutschland für das Jahr 2005 lag der Marktanteil der Antiinfektiva bei 32 Prozent (Abb. 1). Innerhalb der Gruppe der Antiinfektiva stellen die antimikrobiellen Wirkstoffe den größten Anteil dar, während die ebenfalls zu dieser Gruppe gehörigen antiviralen Wirkstoffe und Antimykotika nur eine vergleichsweise untergeordnete Rolle spielen. Antimikrobielle Wirkstoffe werden im allgemeinen Sprachgebrauch häufig auch als Antibiotika bezeichnet. Dieser Begriff ist im eigentlichen Sinne jedoch nur für Substanzen zu verwenden, die von Mikroorganismen produziert werden. Synthetische Wirkstoffe wie Sulfonamide, Trimethoprim oder Fluorchinolone gelten daher nicht als Antibiotika im engeren Sinne. Zur Umgehung dieser begrifflichen Nuancen werden entsprechende Substanzen im nachfolgenden Text als „antimikrobielle Wirkstoffe“ bezeichnet. Antimikrobielle Wirkstoffe sind in der Human- und Veterinärmedizin bei der Bekämpfung bakterieller Infektionskrankheiten unverzichtbar. Dies betrifft im veterinärmedizinischen Bereich gleichermaßen Lebensmittel liefernde landwirtschaftliche Nutztiere wie auch Hobby- und Heimtiere.

Bei der Anwendung antimikrobieller Wirkstoffe ist jedoch zu beachten, dass jede antimikrobiell wirksame Substanz die Selektion resistenter Bakterien nach sich ziehen kann. Dies gilt unabhängig davon, ob die Substanz für die Anwendung in der Humanmedizin, in der Veterinärmedizin, in Aquakulturen oder bei Nutzpflanzen zugelassen ist. Im Zusammenhang mit der Resistenzentwicklung bakterieller Infektionserreger stellt sich ständig die Frage nach der Entwicklung neuer und besser wirksamer antimikrobieller Wirkstoffe. Hierbei steht einem großen Bedarf an solchen neuen Substanzen jedoch nur eine verschwindend geringe Anzahl von Neuentwicklungen gegenüber. Eine von der Infectious Disease Society of America (IDSA) herausgegebene Broschüre beschreibt diese Situation und macht die stagnierende Wirkstoffentwicklung seitens der pharmazeutischen Industrie mitverantwortlich für langfristig fehlende therapeutische Optionen für die Behandlung bakterieller Infektionskrankheiten.

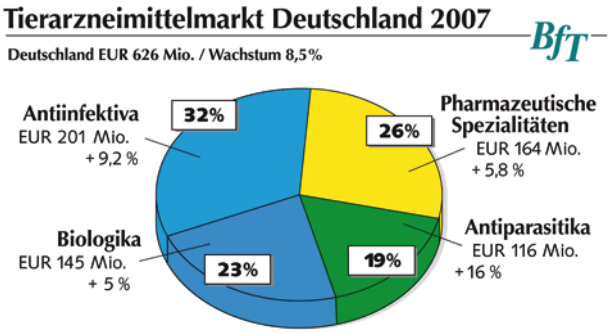


Abb. 1: Tierarzneimittelmarkt in Deutschland im Jahr 2007 [Quelle: Bundesverband für Tiergesundheit (BfT)]

Bei der Entwicklung neuer antimikrobieller Wirkstoffe gibt es grundsätzlich zwei unterschiedliche Wege. Der erste beschreibt die Entwicklung völlig neuer Wirkstoffe bzw. Wirkstoffklassen. Er beinhaltet einen langwierigen und kostenintensiven Entwicklungsprozess, bei dem viele der Kandidatensubstanzen den klinischen Prüfungen nicht standhalten. Zudem besteht nur eine kurze Phase des Patentschutzes, in der die Herstellerfirma diese Substanzen exklusiv wirtschaftlich nutzen kann. Aufgrund dieser Hemmnisse beschreitet man seitens der Industrie häufig einen zweiten Weg, der im Vergleich zur Neuentwicklung von Wirkstoffen kürzer und weniger kostenintensiv ist. Bei diesem Weg handelt es sich um die chemische Modifikation von Substanzen aus bereits bekannten Wirkstoffklassen. Eine Analyse der für die Veterinärmedizin zugelassenen Substanzen zeigt, dass alle neueren Wirkstoffe, die während der vergangenen 15 Jahre für die veterinärmedizinische Nutzung zugelassen wurden, über diesen Weg entstanden sind. Selbst das zur Unterklasse der Triamilide zählende Tulathromycin stellt chemisch gesehen ein 1:9 Gemisch aus 13- und 15-gliedrigen Makroliden dar. Und auch das erst 2008 zugelassene und zur Klasse der Azalide gehörige Gamithromycin ist chemisch gesehen ein 15-gliedriges Makrolid. Ziele der chemischen Modifikation bekannter Wirkstoffe sind: a) die Beeinflussung der pharmakologischen Eigenschaften, b) die Erweiterung des Spektrums an zu bekämpfenden Infektionserregern und c) das Umgehen bzw. Außerkraftsetzen bereits bekannter Resistenzmechanismen. Dieses letztere

Ziel ist von hoher Relevanz, aber bei den bisherigen Entwicklungen häufig zu kurz gekommen. Bei allen in Deutschland während der vergangenen 15 Jahre für die Veterinärmedizin zugelassenen antimikrobiellen Wirkstoffen ist dieses Ziel lediglich bei einem Wirkstoff, dem Florfenicol, adäquat berücksichtigt worden.

Das Umgehen bzw. Ausschalten bekannter Resistenzmechanismen setzt detaillierte molekulare Kenntnisse zum Resistenzmechanismus voraus. Diese liegen für Wirkstoffe aus der Gruppe der Phenicole vor (Schwarz et al., 2004) und wurden bei der Herstellung des fluorierten Thiamphenicolderivats Florfenicol effizient genutzt. Der bei grampositiven und gramnegativen, aeroben und anaeroben Bakterien am weitesten verbreitete Resistenzmechanismus gegenüber nichtfluorierten Phenicolen (Chloramphenicol, Thiamphenicol, Azidamphenicol) basiert auf der enzymatischen Inaktivierung dieser Phenicole durch Chloramphenicol-Acetyltransferasen, abgekürzt als CAT. CAT-Enzyme übertragen zunächst eine Acetylgruppe auf die OH-Gruppe an der C3-Position des Phenicolmoleküls. Diese Acetylgruppe wird dann intramolekular auf die OH-Gruppe an der C1-Position umgelagert und die nun wieder freie OH-Gruppe an der C3-Position wird abermals acetyliert. Man erhält letztendlich ein 1,3-diacetyliertes Phenicolmolekül, das keine antimikrobielle Wirkung mehr besitzt. Aus der Beschreibung dieses Inaktivierungsprozesses wird ersichtlich, dass die OH-Gruppe an der C3-Position die einzige Akzeptorstelle für Acetylgruppen im Phenicolmolekül darstellt und diese Position somit eine ganz entscheidende Rolle bei der enzymatischen Inaktivierung von nichtfluorierten Phenicolen besitzt. Diese Kenntnis hat man sich bei der Entwicklung von Florfenicol zu Nutze gemacht und die OH-Gruppe an der C3-Position durch einen Fluorrest ersetzt (Abb. 2). Dadurch ist es für die CAT-Enzyme nicht mehr möglich, eine Acetylgruppe auf das Phenicolmolekül zu übertragen. Folglich sind chloramphenicolresistente Bakterien, bei denen die Resistenz ausschließlich auf der Aktivität eines CAT-Enzyms beruht, empfindlich gegenüber Florfenicol. Dies bedeutet wiederum, dass Bakterien – wenn sie resistent gegenüber Florfenicol werden wollen – nicht auf die bereits in der Natur weit verbreiteten und bei Bakterien unterschiedlichster Genera und Spezies vorhandenen CAT-Gene zurückgreifen können. Dementsprechend war eine verzögerte Resistenzentwicklung gegenüber Florfenicol zu erwarten.

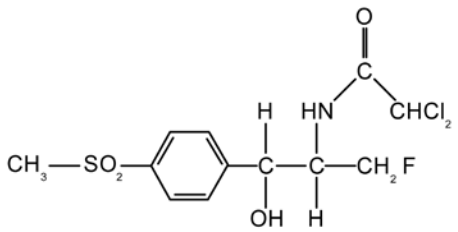


Abb. 2: Strukturformel von Florfenicol.

Florfenicol wurde im Jahre 1995 zur Bekämpfung bakterieller Atemwegsinfektionen bei Rindern und im Jahre 2000 zur Bekämpfung bakterieller Atemwegsinfektionen bei Schweinen in der EU zugelassen. Die hierbei aufgelisteten Zielorganismen sind *Pasteurella multocida*, *Mannheimia haemolytica* und *Histophilus somni* beim Rind sowie *Pasteurella multocida* und *Actinobacillus pleuropneumoniae* beim Schwein. Seitens des Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) liegen für diese Zielorganismen, aber auch für *Bordetella bronchiseptica* und *Streptococcus suis* porziner Herkunft klinische Grenzwerte vor, die im Rahmen der *In-vitro*-Empfindlichkeitsprüfung eine Klassifizierung der jeweiligen Erreger in die Kategorien empfindlich, intermediär und resistent ermöglichen. Bis zum Jahr 2007 war Florfenicol ausschließlich als Injektionspräparat für die Einzeltierbehandlung verfügbar und wurde ausschließlich von der Firma Schering-Plough und entsprechenden Tochterfirmen vermarktet. Mit Ablauf des Patentschutzes für Florfenicol erfolgte im Jahr 2008 die Zulassung diverser Generika, die Florfenicol als Wirkstoff enthalten.

Zur Untersuchung des Empfindlichkeitsstatus von bakteriellen Infektionserregern gegenüber antimikrobiellen Wirkstoffen sind umfangreiche Monitoringstudien notwendig. In Deutschland führt das Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) seit 2001 jährlich das Nationale Resistenzmonitoringprogramm GERM-Vet, das ausschließlich Infektionserreger von Lebensmittel liefernden Tierarten untersucht, durch. Im Rahmen der GERM-Vet Studien wurden in verschiedenen Jahren auch ausgewählte bovine und porzine Atemwegsinfektionserreger hinsichtlich ihrer Empfindlichkeit gegenüber Florfenicol untersucht. Eine kontinuierliche Überwachung des Empfindlichkeitsstatus gegenüber Florfenicol bei den bovinen Zielorganismen *P. multocida* und *M. haemolytica* sowie bei den porzinen Zielorganismen *P. multocida* und *A. pleuropneumoniae* und den ebenfalls an Atemwegsinfektionen bei Schweinen beteiligten Erregern *B. bronchiseptica* und *S. suis* erfolgt seit dem Jahr 2000 im Institut für Nutztiergenetik des Friedrich-Loeffler-Instituts (FLI) bzw. dem Vorgängerinstitut der Bundesforschungsanstalt für

Landwirtschaft (FAL).

Die Analyse der bislang publizierten Daten aus dieser Studie zeigten mit Ausnahme einiger porziner *B. bronchiseptica*-Isolate keinerlei resistente Isolate der anderen vorab genannten Spezies. Der Vergleich der minimalen Hemmkonzentrationen (= MHK-Werte) ergab kaum Abweichungen in der Spannbreite (Range) der gemessenen MHK-Werte sowie den MHK_{50}- und MHK_{90}-Werten über die Jahre (Tabelle 1). Weiterhin ergab ein Vergleich mit den entsprechenden Werten für *P. multocida* und *M. haemolytica* von Rindern aus den Jahren 1994 und 1996 – also aus den Zeiten vor der Zulassung bzw. unmittelbar nach der Zulassung des Wirkstoffs für die Anwendung beim Rind – dass sich auch hier keine nennenswerten Änderungen in den Werten für die Spannbreite sowie in den MHK_{50}- und MHK_{90}-Werten zeigten. Somit ist seit der Einführung von Florfenicol in die veterinärmedizinisch-klinische Nutzung keine Resistenzentwicklung bei den bovinen und porzinen Zielorganismen gegenüber Florfenicol in Deutschland nachweisbar. Die vom BVL im Rahmen des GERM-Vet Programms erhobenen Daten stützen ebenfalls weitgehend diese Schlussfolgerungen.

Studien in anderen Ländern, wie beispielsweise Großbritannien und Frankreich, zeigten jedoch das vereinzelte Auftreten florfenicolresistenter *Pasteurella*-Isolate. Die molekulare Analyse dieser Isolate ergab, dass die Florfenicolresistenz in allen Fällen auf der Präsenz des Gens floR basierte. Dieses Gen kodiert für ein membranständiges Effluxprotein aus der „Major Facilitator Superfamily“, das über 12 Transmembrandomänen verfügt. Dieses Protein schleust spezifisch fluorierte wie auch nichtfluorierte Phenicole aus der Bakterienzelle aus und bewirkt damit, dass die intrazelluläre Phenicolkonzentration zu gering für eine effektive Beeinträchtigung der Proteinbiosynthese bleibt. Eine Variante des Gens floR wurde erstmalig 1996 bei fischpathogenen Bakterien der Spezies *Photobacterium damselae* subsp. *piscicida* in Asien nachgewiesen. Im Jahr 1999 erlangte dieses Resistenzgen Bedeutung als Bestandteil des chromosomalen SGI1-assoziierten Multiresistenzgenclusters von *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Serovar *Typhimurium* DT104. Seit dieser Zeit wurde das Gen floR im Chromosom oder auf Plasmiden bei einer Vielzahl von Bakterien nachgewiesen. Bei bovinen und porzinen Atemwegsinfektionserregern kommt es jedoch ausgesprochen selten vor.

Das erste florfenicolresistente *P. multocida*-Isolat stammte von einem Kalb aus Großbritannien. Das bei diesem Isolat nachgewiesene floR-tragende Plasmid pCCK381 umfasste 10.874 Basenpaare und verfügte über keine weiteren Resistenzgene (Kehrenberg und Schwarz, 2005). Die Strukturanalyse dieses Plasmids zeigte, dass es höchstwahrscheinlich aus verschiedenen Teilen anderer Plasmide durch Rekombination entstanden ist (Abb. 3). Diese Beobachtung verdeutlicht die Fähigkeit von Bakterien, fremdes genetisches Material aufzunehmen, zu rekombinieren und dann zu nutzen. Auch das zweite weltweit nachgewiesene florfenicolresistente Isolat aus der Familie *Pasteurellaceae*, ein bovines *Pasteurella* (mittlerweile reklassifiziert als *Bibersteinia*) *trehalosi*-Isolat aus Frankreich, verfügte über ein floR-tragendes Plasmid von 14.969 Basenpaaren. Dieses unter der Bezeichnung pCCK13698 bekannte Plasmid unterschied sich deutlich in seiner Struktur von pCCK381, bestand aber ebenfalls aus diversen Segmenten anderer Plasmide (Kehrenberg et al., 2006). Neben dem floR-Gen besaß dieses Plasmid zwei weitere funktionsfähige Resistenzgene: ein

Bakterien	Anzahl der Isolate	Zeitraum	Bouillon-Mikrodilution			Florfenicol-resistente Isolate (%)
			Spannweite (mg/L)	MHK_{50} (mg/L)	MHK_{90} (mg/L)	
P. multocida (bovine)	215	1993/1994	0.25 – 1	0.25	0.5	0.0
	60	1996	0.25 – 1	0.5	0.5	0.0
	122	2000/2001	≤ 0.12 – 1	0.25	0.5	0.0
	95	2002/2003	≤ 0.12 – 1	0.25	0.5	0.0
M. haemolytica	160	1993/1994	0.25 – 1	0.5	1	0.0
	26	1996	0.25 – 1	0.5	1	0.0
	118	2000/2001	0.25 – 2	1	2	0.0
	98	2002/2003	≤ 0.12 – 2	0.5	1	0.0
P. multocida (porzine)	119	1996	0.25 – 1	0.5	0.5	0.0
	212	2000/2001	≤ 0.12 – 2	0.25	0.5	0.0
	103	2002/2003	≤ 0.12 – 2	0.5	0.5	0.0
A. pleuropneumoniae	45	2000/2001	≤ 0.12 – 2	0.25	0.5	0.0
	63	2002/2003	≤ 0.12 – 0.5	0.25	0.25	0.0
B. bronchiseptica	160	2000/2001	1 – 32	4	4	6.3
	131	2002/2003	0.5 – 32	2	2	0.8
S. suis	99	2000/2001	0.25 – 2	1	2	0.0
	105	2002/2003	0.5 – 2	1	2	0.0

Tabelle 1: Daten zur Florfenicolempfindlichkeit boviner und porziner Atemwegsinfektionserreger [nach Kehrenberg et al. (2004) J Antimicrob Chemother 54:572-4]

Sulfonamidresistenzgen vom Typ sul2 sowie ein catA3-Gen, das für eine Chloramphenicol-Acetyltransferase kodiert. Die Analyse vermeintlich florfenicolresistenter *P. multocida*-Isolate aus Deutschland bestätigte das Vorliegen dieser Resistenzeigenschaft bei zwei porzinen *P. multocida*-Isolaten aus dem GERM-Vet Programm des Jahres 2003 sowie einem bovinen *P. multocida*-Isolat aus einer diagnostischen Einsendung des Jahres 2007 (Kehrenberg et al., 2006). In allen drei Fällen war wiederum das Gen floR auf Plasmiden nachweisbar. Bei dem bovinen *P. multocida*-Isolat und einem der beiden porcinen *P. multocida*-Isolate ergaben die Strukturanalysen die Präsenz eines zu pCCK381 baugleichen Plasmids. Das zweite porcine *P. multocida*-Isolat verfügte jedoch über ein neuartiges Florfenicolresistenzplasmid, pCCK1900, von 10.226 Basenpaaren. Die Sequenzanalyse dieses Plasmids bestätigte, dass es sich um ein RSF1010-analoges Plasmid handelt, in das ein floR-tragendes Segment integriert ist (Kehrenberg et al., 2006; Abb. 4). Untersuchungen zur Verwandtschaft der somit insgesamt drei pCCK381-tragenden *P. multocida*-Isolate aus Deutschland und Großbritannien mittels Pulsfeld-Gelelektrophorese bestätigten, dass es sich um nicht verwandte Isolate handelt. Dementsprechend erscheint der horizontale Gentransfer als wahrscheinlichste Erklärung für das Auftreten baugleicher Plasmide bei Isolaten unterschiedlicher tierartlicher und geographischer Herkunft.

Untersuchungen der identifizierten florfenicolresistenten *B. bronchiseptica*-Isolate von Schweinen ergaben ebenfalls die Präsenz des floR-Gens bei neun von insgesamt siebzehn Isolaten (Kadlec et al., 2007). Hierbei lag das floR-Gen in allen Fällen chromosomal kodiert vor. Studien mit Effluxpumpeninhibitoren deuteten jedoch darauf hin, dass bei den übrigen *B. bronchiseptica*-Isolaten offensichtlich noch ein weiteres, bislang nicht näher charakterisiertes Effluxsystem vorliegt, das in der Lage ist, Phenicole aus der Bakterienzelle auszuschleusen (Kadlec et al., 2007).

Diese Beispiele zeigen, dass mittelfristig auch bei Florfenicol mit einer bakteriellen Resistenzentwicklung zu rechnen ist. Bakterien sind ausgesprochen flexibel und können Resistenzgene untereinander austauschen, insbesondere wenn diese auf mobilen genetischen Elementen wie Plasmiden lokalisiert sind. Dies bedeutet, dass Resistenzgene, die bei bestimmten Bakterien vorkommen, nicht notwendigerweise auf diese Bakterien beschränkt bleiben. Wie das Beispiel des Gens floR zeigt, können sie auch über Spezies- und Genusgrenzen hinweg ausgetauscht werden und dann mit einer mehr oder minder großen zeitlichen Verzögerung – im Falle von Florfenicol nach einer vergleichsweise langen Zeit von nahezu zehn Jahren – auch die Zielbakterien erreichen. Die bakterielle Resistenzentwicklung stellt

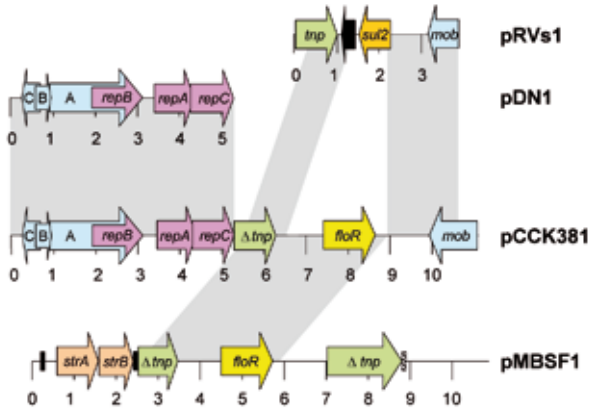


Abb. 3: Schematische Darstellung von Plasmid pCCK381 (Datenbankzugangsnr. AJ871969) im Vergleich zu Plasmid pDN1 (Datenbankzugangsnr. Y19120) sowie Teilen der Plasmide pMBSF1 (Datenbankzugangsnr. AJ581835) und pRVS1 (Datenbankzugangsnr. AJ289135). Die Leserahmen sind als Pfeile dargestellt, wobei die Pfeilspitze die Transkriptionsrichtung angibt (repA, repB, repC: Plasmidreplikation; tnp: Transposition; mob: Mobilisation; sul2: Sulfonamidresistenz; floR: Resistenz gegenüber Chloramphenicol und Florfenicol; strA, strB: Streptomycinresistenz). Die mit A, B und C bezeichneten Leserahmen in den Karten der Plasmide pCCK381 und pDN1 geben die sich teilweise überlappenden Mobilisierungsgene mobA, mobB und mobC an. Das ΔSymbol bezeichnet ein funktionell inaktives Gen. Eine Längenskala in kb ist unter jeder Plasmidkarte angegeben. Die grauschattierten Bereiche symbolisieren Bereiche mit ≥99% Identität auf Nukleinsäureebene zwischen pCCK381 und den anderen drei Plasmiden.

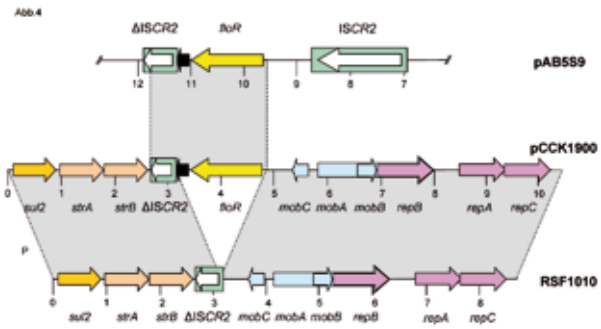


Abb. 4: Schematische Darstellung von Plasmid pCCK1900 (Datenbankzugangsnr. FM179941) im Vergleich zu Plasmid RSF1010 (Datenbankzugangsnr. M28829) und einem Teil des Plasmids pAB5S9 (Datenbankzugangsnr. EF495198). Die Leserahmen sind als Pfeile dargestellt, wobei die Pfeilspitze die Transkriptionsrichtung angibt (repA, repB, repC: Plasmidreplikation; tnp: Transposition; mobA, mobB, mobC: Mobilisation; sul2: Sulfonamidresistenz; floR: Resistenz gegenüber Chloramphenicol und Florfenicol; strA, strB: Streptomycinresistenz). Das lysR-Gen stromabwärts von floR ist als schwarzer Pfeil angegeben. Die ISCR2-Elemente sind als Kästchen dargestellt, wobei der innere Pfeil den Leserahmen für das Transposase-Gen symbolisiert. Das Δ Symbol bezeichnet ein funktionell inaktives Gen. Eine Längenskala in kb ist unter jeder Plasmidkarte angegeben. Die grauschattierten Bereiche symbolisieren Bereiche mit ≥ 99% Identität auf Nukleinsäureebene zwischen den drei Plasmiden.

einen ständigen Entwicklungsprozess dar, bei dem der Einsatz neuer antimikrobieller Wirkstoffe einen neuen Selektionsdruck schafft, unter dem Bakterien neue Resistenzgene oder resistenzvermittelnde Mutationen entwickeln oder erwerben. Dieser Prozess ist nach derzeitigem Kenntnisstand nicht aufzuhalten, aber durch geeignete Maßnahmen zu verlangsamen. Hierzu zählt im veterinärmedizinischen Bereich in erster Linie der verantwortungsvolle und zielgerichtete Einsatz antimikrobieller Wirkstoffe gemäß den Antibiotika-Leitlinien. Weiterhin stellen Monitoringprogramme wichtige Hilfsmittel zur Erfassung des gegenwärtigen Empfindlichkeitsstatus bakterieller Erreger dar. Aufbauend auf den phänotypischen Resistenzdaten sind Forschungsarbeiten zu den genetischen Grundlagen der entsprechenden Resistenzeigenschaften von herausragender Bedeutung. Sie ermöglichen unter anderem (a) die Klärung der vorliegenden Resistenzmechanismen, (b) die Identifizierung von Resistenzgenen oder resistenzvermittelnden Mutationen und deren Beteiligung am Resistenzgeschehen, (c) den Nachweis von Resistenzgenen auf mobilen genetischen Elementen und (d) basierend auf der Kenntnis dieser mobilen genetischen Elemente Vorhersagen zum Ausbreitungspotenzial entsprechender Resistenzgene.

Literatur

Kadlec, K., C. Kehrenberg, and S. Schwarz. 2007. Efflux-mediated resistance to florfenicol and/or chloramphenicol in *Bordetella bronchiseptica*: identification of a novel chloramphenicol exporter. J Antimicrob Chemother 59:191-196.

Kehrenberg, C., D. Meunier, H. Targant, A. Cloeckaert, S. Schwarz, and J.-Y. Madec. 2006. Plasmid-mediated florfenicol resistance in *Pasteurella trehalosi*. J Antimicrob Chemother 58:13-17.

Kehrenberg, C., and S. Schwarz. 2005. Plasmid-borne florfenicol resistance in *Pasteurella multocida*. J Antimicrob Chemother 55:773-775.

Kehrenberg, C., J. Wallmann, and S. Schwarz. 2008. Molecular analysis of florfenicol-resistant *Pasteurella multocida* isolates in Germany. J Antimicrob Chemother 62:951-955.

Schwarz, S., C. Kehrenberg, B. Doublet, and A. Cloeckaert. 2004. Molecular basis of bacterial resistance to chloramphenicol and florfenicol. FEMS Microbiol Rev 28:519-542.

Weitere Literatur kann bei den Verfassern angefordert werden.

INSTITUT FÜR IMMUNOLOGIE (IfI)

Pathogen-gelenkte Evolution von Immunrezeptorfamilien

Kammerer, R.

Komplexe Immunreaktionen benötigen eine fein abgestimmte Kommunikation unterschiedlicher Komponenten des angeborenen und adaptiven Immunsystems. Zellen des Immunsystems verständigen sich mittels löslicher Mediatoren sowie durch die Interaktion von Zelloberflächenmolekülen. Zelloberflächenrezeptoren, die vorwiegend von Zellen des Immunsystems exprimiert werden, bezeichnet man auch als Immunrezeptoren. In den letzten Jahren wurden, vorangetrieben durch die Entschlüsselung des Genoms mehrerer Spezies, allen voran des humanen Genoms, zahlreiche neue Immunrezeptorgene identifiziert. Meist sind sie Mitglieder größerer Genfamilien. Die Vielzahl der entdeckten Spezies-spezifischen Immunrezeptoren war eine der großen Überraschungen, die die Genomprojekte hervorgebracht haben. Warum sind so viele verschiedene Rezeptoren entstanden? Was treibt ihre Evolution voran? Warum zeigen diese Genfamilien eine ausgeprägte Spezies-Spezifität? Die Beantwortung solcher Fragen könnte Hinweise auf die spezies-spezifischen Anforderungen geben, denen das Immunsystem ausgesetzt ist oder während der Evolution ausgesetzt war. Würde man die Funktion einzelner Immunrezeptoren kennen, könnte man möglicherweise komplexe Immunreaktionen noch gezielter beeinflussen. Dies würde zu neuen Strategien der Prävention und Behandlung von Infektionskrankheiten, Autoimmunerkrankungen oder malignen Erkrankungen führen können.

Lokalisation und Struktur der Immunrezeptorgenfamilien

Die meisten Immunrezeptoren gehören entweder der C-Typ-Lektin-Familie oder der Immunglobulinsuperfamilie an. Ein großer Teil der korrespondierenden Gene ist beim Menschen auf Chromosom 19q13 und bei der Maus in der syntenen Region auf Chromosom 7 lokalisiert. Diese Region wird als erweiterter Leucocyte receptor complex (LRC) bezeichnet und umfasst beim Menschen die killer immunoglobulin-like receptors (KIRs), die leukocyte Ig-like receptors (LILRs), die sialic acid binding Ig-like lectins (Siglecs), die carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecules (CEACAMs) und die pregnancy-specific glycoproteins (PSGs). Weitere Mitglieder des erweiterten LRC sind der osteoclast-associated receptor (OSCAR), leucocyte-associated Ig-like receptor (LAIR), NKp46, FcRαRI und glycoprotein VI (GPVI) (Abb. 1). Eine Besonderheit dieser Genfamilien ist das Vorkommen von sogenannten „gepaarten“ Immunrezeptoren. Dies sind Rezeptorpaare, die eine sehr ähnliche extrazelluläre Domäne besitzen, jedoch entgegengesetzte Signale (inhibierende oder aktivierende) in die Zelle leiten. Einen wichtigen Hinweis auf die Entstehung und Funktion der Immunrezeptorpaare lieferte die Entdeckung eines aktivierenden Rezeptors innerhalb der Ly49-Familie der Maus. Die bisher bekannten Mitglieder der Ly49-Familie sind inhibitorische Immunrezeptoren, die von natürlichen Killerzellen exprimiert werden und über die Erkennung von MHC-I-Molekülen eine Attacke gegen gesunde Zellen verhindern. Das murine Cytomegalievirus (MCMV) kodiert für ein MHC-ähnliches Protein (m157). Dieses viruseigene Protein bindet an die inhibitorischen Ly49-Rezeptoren und verhindert dadurch die Elimination virusinfizierter Zellen in MCMV-empfänglichen Mäusen. In MCMV-resistenten Mäusen wird ein zum Ly49 sehr nahe verwandter aktivierenden Rezeptor (Ly49H) von NK-Zellen exprimiert, der an das virale m157-Protein bindet, was zu einer Aktivierung der NK-Zellen und dadurch zu einem Schutz gegenüber dem MCMV führt. Aufgrund der hohen Homologie der beiden Rezeptoren wird vermutet, dass der aktivierende Rezeptor als Reaktion auf den starken Selektionsdruck durch das Pathogen aus dem inhibierenden Rezeptor durch Genkonversion oder Rekombination entstanden ist.

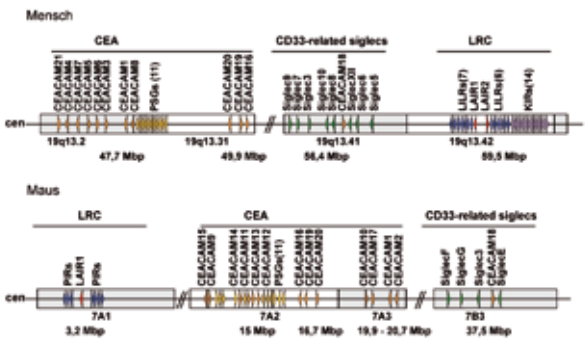


Abb. 1: Genanordnung im erweiterten leucocyte receptor complex (LRC). Dargestellt sind die CEACAM-Gene (orange Dreiecke), die PSG-Gene (gelb), der Siglec gene cluster (grün) und der LCR (LILRs/PIR, blau; LAIR, rot; KIR, lila) in Mensch (Chromosom 19) und Maus (Chromosom 7). Die Pfeilrichtung gibt an, ob das Gen auf dem Strang (nach rechts) oder Gegenstrang (nach links) lokalisiert ist. Die chromosomale Lokalisation ist anhand der Chromosomabschnitte und der Entfernung vom Zentromer (cen) in Mbp angegeben.

Dieser Mechanismus könnte für das Vorkommen vieler der gepaarten Immunrezeptoren verantwortlich sein.

Die karzinoembryonale Antigen (CEA) Familie

Die CEA-Familie ist eine Untergruppe der Immunglobulinsuperfamilie (IgSF) und beinhaltet die CEA-related cell adhesion molecules (CEACAM) und die pregnancy specific glycoproteins (PSG). Die PSG werden in Primaten und Nagern praktisch ausschließlich von Trophoblastzellen exprimiert und machen im späten Stadium der Schwangerschaft bei Primaten den größten Anteil der fötalen Proteine im mütterlichen Blut aus. Es sind lösliche Proteine, die im Menschen von 11 und in der Maus von 17 sehr nahe verwandten Genen kodiert werden. Die CEACAM-Subgruppe ist deutlich komplexer und besteht aus transmembranen, Glykosylphosphatidylinositol (GPI)-verankerten und löslichen Molekülen. Nur zu fünf CEACAM-Genen des Menschen (CEACAM1, CEACAM16, CEACAM18, CEACAM19 und CEACAM20) können orthologe Gene in Maus und Ratte gefunden werden (Abb. 2). In Nagern sind, außer dem CEACAM2 in der Maus und CEACAM17 in Maus und Ratte, nur lösliche Proteine entstanden, die meist aus zwei Immunglobulin-Domänen bestehen. Das lösliche CEACAM10 der Ratte besteht aus nur einer IgV-ähnlichen N-Domäne. Im Menschen gibt es neben den transmembranen Molekülen CEACAM3 und CEACAM4 vier GPI-verankerte Moleküle, CEACAM5, CEACAM6, CEACAM7 und CEACAM8. Das CEACAM5, das auch als CEA oder CD66e bezeichnet wird, ist das ursprünglich als Tumormarker von Gold und Freedman 1965 entdeckte namensgebende Mitglied der Karzinoembryonalen Antigen Familie (Abb. 2).

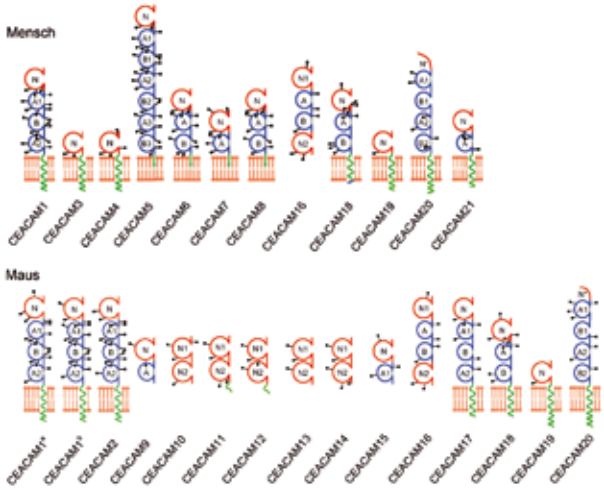


Abb. 2: Schematische Darstellung der Domänenstruktur der CEACAM von Mensch und Maus. Eine GPI-Verankerung ist durch den in die Membran reichenden grünen Pfeil dargestellt. Mögliche N-Glykosylierungsstellen sind durch schwarze „Lollipops" markiert. Die IgV-ähnlichen N-Domänen sind in rot, die IgC-ähnlichen A- und B-Domänen in blau dargestellt.

Die auffälligsten Signalmotive, die im zytoplasmatischen Teil der transmembranen CEACAM gefunden werden, gehören zu den immunoreceptor tyrosine-based motifs (ITM). Sowohl immunoreceptor tyrosine-based activation motifs (ITAM) (CEACAM3, CEACAM4) als auch immunoreceptor tyrosine-based inhibition motifs (ITIM) (CEACAM1) konnten identifiziert werden. Nach Phosphorylierung der beiden Tyrosine innerhalb der ITIM-Motive von CEACAM1 können Tyrosin-Phosphatasen wie SHP-1 (Src homology 2 domain-containing tyrosine phosphatase 1) und SHP-2 mit der zytoplasmatischen Domäne assoziieren. Die Assoziation mit Phosphatasen führt zur Dephosphorylierung verschiedener Proteinsubstrate, und zur Weiterleitung inhibitorischer Signale. CEACAM3 und CEACAM4 leiten dagegen aufgrund ihrer ITAM-ähnlichen Motive aktivierende Signale weiter.

Die meisten der bisher identifizierten zellulären Liganden der CEACAM gehören selbst zur CEACAM-Familie, d.h. homophile und heterophile Interaktionen unter den CEACAM sind die wichtigsten Signalauslöser, die während der Zell-Zell-Kommunikation von den CEACAM vermittelt werden.

Die CEACAMs als Pathogenrezeptoren

Zusätzlich zu den physiologischen Liganden wurden eine Reihe von Pathogenen (Bakterien und Viren) identifiziert, die unterschiedliche CEACAM binden können (Tabelle 1). Sowohl das Maus Hepatitis Virus (MHV) als auch verschiedene pathogene Bakterien benützen die gleiche Bindungsstelle innerhalb der CFG-Fläche der CEACAM-N-Domäne. Genau diese Bindungsstelle ist auch für die homophile und heterophile Zell-Zell-Adhäsion der CEACAM essentiell. Aufgrund der physiologischen Funktion dieser Bindungsstelle ist eine Veränderung während der Evolution des Wirtes nur in begrenztem Umfang möglich.

Einfluss von Pathogenen auf die Evolution der CEA-Familie

Wie für die Ly49-Familie der Maus dargestellt, können Pathogene im Rahmen einer Pathogen-Wirts-Koevolution einen starken Einfluss auf Genfamilien haben. Aufgrund der kurzen Generationszeit von Pathogenen zeichnen sich Genfamilien, die mit ihnen koevolvieren, durch eine extrem hohe Evolutionsgeschwindigkeit aus. Bei einer kürzlich durchgeführten Analyse wurde die CEA Genfamilie als eine der am schnellsten evolvierenden Genfamilien des menschlichen Genoms identifiziert.

Das CEACAM1 ist der eigentliche Pathogenrezeptor der CEA-Familie. Es gibt nur wenige Moleküle, die ähnlich

Erreger	Rezeptor	Spezies		Ligand	Referenz
Neisseria gonorrhoeae Neisseria meningitidis	CEACAM1 CEACAM3 CEACAM5 CEACAM6	Mensch	Protein	Protein der äußeren Membran: colony opacity-associated proteins (Opa)	(Bos et al., 1997; Chen and Gotschlich, 1996; Chen et al., 1997; Gray-Owen et al., 1997; Virji et al., 1996)
Moraxella catarrhalis	CEACAM1	Mensch	Protein	UspA1 (fibril-like)	(Hill and Virji, 2003)
Haemophilus influenzae	CEACAM1	Mensch	Protein	P5 (Protein der äußeren Membran)	(Virji et al., 2000)
Escherichia coli	CEACAM1 CEACAM5 CEACAM6	Mensch	Zuckerstruktur	Fimbrien und andere Strukturen	(Berger et al., 2004; Leusch et al., 1990; Leusch et al., 1991)
Salmonella	CEACAM5 CEACAM6	Mensch	Zuckerstruktur	Fimbrien	(Leusch et al., 1991)
Maus-Hepatitisvirus	CEACAM1[a]	Maus	Protein	Spike protein	(Dveksler et al., 1991; Leusch et al., 1991)

Tabelle 1. Liganden der CEACAM in Mensch, Maus und Ratte

häufig als Pathogenrezeptor verwendet werden. Das CD46 ist eines davon. Welche Eigenschaften machen diese Rezeptoren so attraktiv für Pathogene? CEACAM1 zeigt ein ausgesprochen breites Expressionsmuster, wobei die Expression in Epithelzellen des Magen-Darm-Traktes und des Respirationstraktes hervorzuheben ist. Gerade diese Körperoberflächen stellen die bevorzugten Eintrittspforten von Pathogenen dar. CEACAM1 wird außerdem von Immunzellen, einschließlich Granulozyten, Lymphozyten und dendritischen Zellen, exprimiert. Kürzlich konnte gezeigt werden, dass Neisserien durch die Bindung an CEACAM1 auf T-Helferzellen eine gegen diese Bakterien gerichtete Immunantwort effizient inhibieren können. Die Kombination von Präsenz an den typischen Eintrittspforten und den immunsuppressiven Eigenschaften scheint CEACAM1 zu einem hot spot für Pathogenattacken zu machen. Welche Möglichkeiten hat nun der Wirt, diese „Schwachstelle“ zu schützen?

Der Rezeptor kann so verändert werden, dass die Bindung des Pathogens erschwert oder verhindert wird. Dies wäre vor allem ein probates Mittel zur Abwehr von viralen Pathogenen. Dabei darf die physiologische Funktion des Rezeptors aber nicht verloren gehen. Bei CEACAM1 befinden sich die Pathogenbindungsstellen jedoch in dem Bereich, der für die Interaktion mit den physiologischen Liganden notwendig ist. Eine Veränderung der Pathogenbindungsstelle scheint deshalb nur in begrenztem Umfang möglich zu sein. Tatsächlich finden wir in der Maus nur zwei unterschiedliche Allele von CEACAM1, die sich aber fundamental in der Bindungsaffinität zu MHV unterscheiden. Beim Menschen sind keine allelischen Varianten gefunden worden.

Eine weitere Möglichkeit besteht darin, neue Rezeptoren zu generieren, die als Lockvogel (decoy receptor) fungieren können. Durch partielle Genduplikation des zellulären Pathogenrezeptors können z.B. lösliche Moleküle generiert werden, die die Bindungsstellen des Pathogens blockieren. Im Zuge einer Genduplikation könnten durch zusätzliche Modifikationen auch gepaarte Immunrezeptoren generiert werden. Abhängig von der Expression des aktivierenden Rezeptors kann dieser nun zur Bekämpfung des Pathogens genutzt werden. Im Menschen wurde diese Strategie durch die Expression von CEACAM3 auf Granulozyten realisiert. Kürzlich konnte gezeigt werden, dass Neisserien, die an CEACAM3 auf Granulozyten binden, effizient von diesen phagozytiert werden. Für die Induktion der Phagozytose ist das ITAM-ähnliche Motiv notwendig. Das YxxM-Motiv ist eine bevorzugte Bindungsstelle für die SH2-Domänen der p85 Untereinheit der Phosphatidylinositol-3’-Kinase (PI-3K). Die Phosphorylierung von CEACAM3 führt zur Rekrutierung von PI-3K und zur Aktivierung der GTPase Rac. Rac ist ein wichtiger Regulator der Aktinpolymerisierung und der Phagozytose.

Wir postulieren deshalb, dass die Unterschiede der CEA-Genfamilien in Mensch und Maus das Resultat der Koevolution des Wirtes mit speziesspezifischen Pathogenen ist. Stimmt diese Hypothese, dann könnte die Analyse der CEA-Genfamilien in weiteren Spezies völlig neue Einblicke in die Natur der Wirt-Pathogen-Koevolution geben.

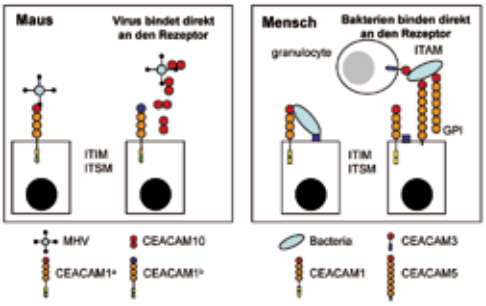


Abb. 3: Möglicher Einfluss von Pathogenen auf die Evolution von Genfamilien. Die CEA-Genfamilie der Maus ist geprägt durch den Wettlauf von Wirt und Virus. Als Gegenmaßnahme gegen die Verwendung von CEACAM1 als Rezeptor durch den MHV sind eine allelische CEACAM1-Variante und eine Vielzahl löslicher CEACAMs entstanden. Die Expression von CEACAM3 auf humanen Granulozyten ermöglicht eine Bekämpfung von CEACAM1 bindenden Bakterien.

Die CEA-Genfamilien der Nutztiere

Bei der Analyse der CEA-Genfamilien in 27 verschiedenen Säugern konnte festgestellt werden, dass die CEA-Genfamilie ihres gemeinsamen Vorfahren aus fünf Genen bestand. Nur der Vorläufer des CEACAM1-Gens hat durch multiple Genduplikationen zur Expansion der CEA-Genfamilie geführt. Das Ausmaß dieser Expansion unterscheidet sich jedoch stark zwischen den verschiedenen Spezies. So variiert die Zahl der CEACAM1-ähnlichen Gene von weniger als fünf im Kaninchen bis zu über 100 in der Fledermaus. Die Unterschiede spiegeln dabei die Verwandtschaftsverhältnisse der Spezies nicht wieder. Offensichtlich muss sich der Selektionsdruck, der die Evolution der CEA-Genfamilie beeinflusst, zwischen nahe verwandten Spezies stark unterscheiden. Spezies-spezifische Pathogene würden dieses Kriterium erfüllen.

Die CEA-Genfamilie des Rindes

Die CEA-Genfamilie des Rindes enthält nur vier CEACAM1-ähnliche Gene, wovon drei für transmembranal verankerte und eines für ein lösliches Molekül kodieren. Vom CEACAM1 konnten wir im Rind zwei verschiedene Allele identifizieren. Beim Vergleich der beiden Allele fällt auf, dass die größten Unterschiede wieder in der oben beschriebenen Pathogenbindungsregion lokalisiert sind. Während diese Unterschiede in der Maus durch Rekombination erzielt wurden, entstand das zweite Allel im Rind durch eine Deletion von neun Nukleotiden. Die Existenz dieser unterschiedlichen Allele könnte ein Hinweis sein, dass CEACAM1 auch im Rind einen zellulären Pathogenrezeptor darstellt. Mittels genetischer Immunisierung wurde ein für das bovine CEACAM1 spezifischer monoklonaler Antikörper hergestellt und die Expression von CEACAM1 im Rind untersucht. CEACAM1 verfügt im Rind über ein ebenso breites Expressionsmuster (Epithelzellen und Immunzellen) wie in Mensch und Maus. CEACAM1 des Rindes erfüllt also die Kriterien, die wir an einen bevorzugten Pathogenrezeptor gestellt haben.

Die CEA-Genfamilie des Hundes

Neben CEACAM1, das im Hund in Form von sechs verschiedenen Spleißvarianten vorliegt, konnten wir fünf CEACAM1-ähnliche Gene identifizieren und klonieren. Vier dieser Gene kodieren für transmembranal

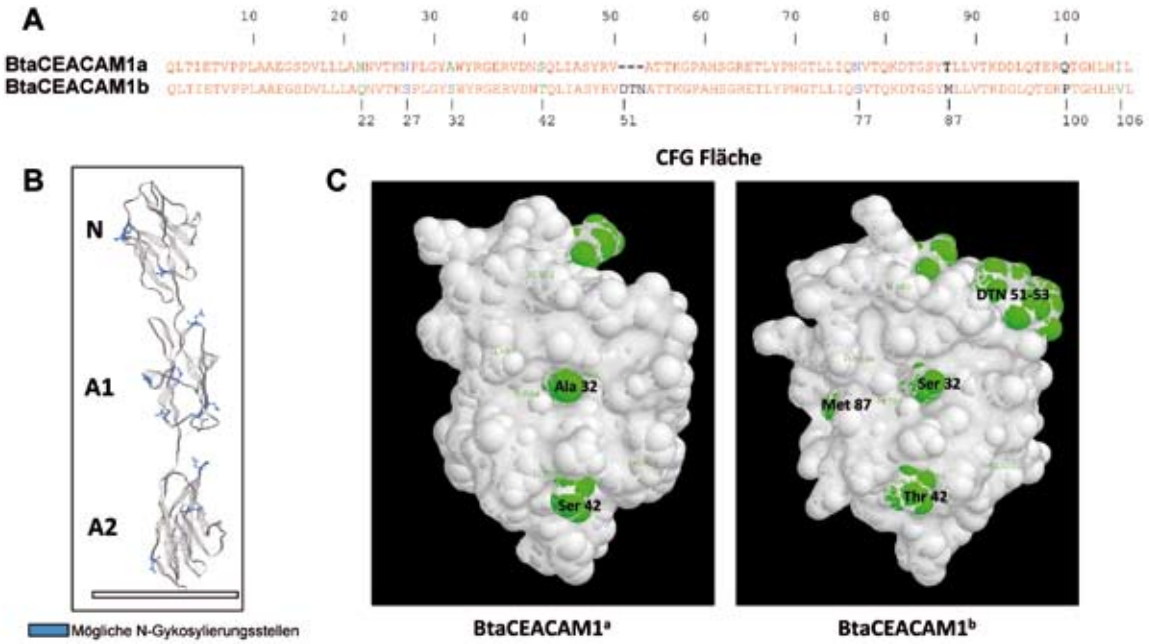


Abb. 4: Darstellung der beiden Allele von CEACAM1 im Rind. A. Vergleich der Aminosäuresequenz von Allel A und Allel B. Identische Aminosäuren sind rot dargestellt. B. 3D-Modell des extrazellulären Anteils von BtaCEACAM1. Blau markiert sind die möglichen N-Glykosylierungsstellen. Die CFG-Fläche ist mit einem Pfeil markiert. C. Die CFG-Fläche der beiden Allele. AS, die sich an der Oberfläche der CFG-Fläche befinden und sich zwischen den Allelen unterscheiden sind grün gefärbt.

verankerte Moleküle, die ein ITAM-ähnliches Motiv im zytoplasmatischen Teil enthalten. Auch das vom fünften Gen kodierte Protein besaß vermutlich bei seiner Entstehung ein ITAM, das aber durch eine Punktmutation in der Spleißdonorstelle eines Exons verloren ging. Die N-Domäne eines dieser Moleküle (CEACAM28) unterscheidet sich nur in zwei Aminosäuren von der des CEACAM1. Weitergehende Sequenzanalysen zeigten, dass die Übereinstimmung der N-Domänen von CEACAM1 und CEACAM28 durch eine kürzlich stattgefundene Genkonversion hervorgerufen wurde. Dabei wurde die N-Domäne des CEACAM28-Vorläufers durch die N-Domäne von CEACAM1 ersetzt. Die Angleichung des aktivierenden Rezeptors an den inhibitorischen Rezeptor würde man bei einer Reaktion auf eine „Pathogenattacke“ auch erwarten.

Expressionsanalysen ergaben, dass die meisten der ITAM tragenden Rezeptoren von Granulozyten exprimiert werden, wie es auch beim CEACAM3 des Menschen der Fall ist. Wir gehen deshalb davon aus, dass im Hund, wie im Menschen, Bakterien CEACAM1 als Rezeptor benützen. Die verschiedenen ITAM tragenden Rezeptoren könnten im Laufe der Evolution auf Grund eines wellenartigen Selektionsdruckes entstanden sein. War der Selektionsdruck, der vom Pathogen ausgeübt wurde, stark, wurden aktivierende Rezeptoren im Genom fixiert, ließ der Druck nach, übernahmen sie neue Aufgaben und konnten sich vom CEACAM1 entfernen. Wiederholt sich dieses Szenario, so führt dies zur Akkumulation von aktivierenden Rezeptoren, wie wir das im Genom des Hundes beobachten können. Diese Untersuchungen zeigen beispielhaft Strategien auf, die auch für die Untersuchungen entsprechender Rezeptoren bei Nutztieren beschritten werden sollen.

Identifizierung von neuen CEACAM bindenden Pathogenen

Um neue Pathogene, die an CEACAM1 binden, zu identifizieren, wenden wir eine High-throughput-screening-Strategie und eine Knowledge-based-Strategie an.

Die High-throughput-Strategie basiert auf einer Methode, die von der Arbeitsgruppe um Mumtaz Virji (Bristol, Vereinigtes Königreich) entwickelt wurde. Kernstück dieses Vorgehens sind sogenannte Bakterienarrays, die aus Lysaten unterschiedlicher Bakterien hergestellt werden. Diese Arrays werden dann mit CEACAM-Fc-Fusionsproteinen in Kombination mit Fc-Detektionsantikörpern „entwickelt“. Initiale detektierte Interaktionen werden dann mittels klassischer mikrobiologischer Methoden verifiziert.

Die Knowledge-based-Strategie bedient sich der Erkenntnisse zur Phylogenetik der Pathogene. Die Wahrscheinlichkeit, dass Pathogene in verschiedenen Spezies die gleichen zellulären Rezeptoren verwenden, sollte bei nahe verwandten Pathogenen am größten sein. Zum Beispiel wird CD150 in verschiedenen Spezies von nahe verwandten Morbilliviren als Rezeptor verwendet. CEACAM1 wird vom murinen Coronavirus MHV als zellulärer Rezeptor verwendet. Da die Phylogenie der Coronaviren sehr gut beschrieben ist, kann man - beginnend mit nahe verwandten Coronaviren - untersuchen, ob diese das CEACAM1 in anderen Spezies ebenfalls als zellulären Rezeptor benutzen. Bei den Coronaviren stellen vor allem die Mitglieder der Gruppe II, zu der das MHV, das HCoV-OC43 und das bovine Coronavirus gezählt werden, potentielle Kandidaten dar. Erste Ergebnisse deuten in der Tat darauf hin, dass das bovine Coronavirus ebenfalls CEACAM1 als zellulären Rezeptor verwendet. Wir erwarten deshalb von unseren Untersuchungen nicht nur die Identifizierung weiterer Pathogene, die einen gemeinsamen zellulären Rezeptor in verschiedenen Spezies verwenden, sondern auch neue Erkenntnisse über die Mechanismen, die einen Übertritt von Infektionen von einer Spezies auf die andere und damit die Entstehung neuer Infektionskrankheiten ermöglichen.

Ausblick

Wie dargelegt, stellen CEACAM-Moleküle Rezeptoren dar, die eine wichtige Rolle bei der Pathogenese von infektiösen Erkrankungen, sowohl für die Besiedlung durch den Erreger als auch für die Abwehr des Wirtes, spielen können. Da über diese Moleküle und deren Bedeutung für Infektionsgeschehen allgemein, insbesondere aber bei Nutztieren, nur ein geringes Wissen besteht, stellt die Erforschung der Rezeptoren und deren Beeinflussung durch Pathogene ein interessantes Themengebiet für die Grundlagenforschung dar, zeigt aber auch für die angewandte Forschung am Nutztier auf, welche Faktoren für die Gesundheit bzw. Erreger-bedingte Erkrankungen wichtig sind.

Literatur

Kammerer, R., D. Stober, B.B. Singer, B. Obrink, and J. Reimann. 2001. Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1 on murine dendritic cells is a potent regulator of T cell stimulation. J Immunol 166:6537-6544.

Boulton, I.C. and S.D. Gray-Owen. 2002. Neisserial binding to CEACAM1 arrests the activation and proliferation of CD4+ T lymphocytes. Nat Immunol 3:229-

236.

Kuespert, K., S. Pils, and C.R. Hauck. 2006. CEACAMs: their role in physiology and pathophysiology. Curr Opin Cell Biol 18:565-71.

Gray-Owen S.D., and R.S. Blumberg. 2006. CEACAM 1: contact-dependent control of immunity. Nat Rev Immunol 6:433-46.

Kammerer, R., T. Popp, S. Härtle, B.B. Singer, and W. Zimmermann. 2007. Species-specific evolution of ITAM containing CEACAM1-related immune receptors in the dog. BMC Evol Biol 7:196

Weitere Literatur kann bei dem Verfasser angefordert werden.

INSTITUT FÜR EPIDEMIOLOGIE (IfE)

Besnoitia besnoiti: ein exotischer Rinderparasit erstmals in Deutschland nachgewiesen

Schares, G.[1], Basso, W.[1], Wilking, H.[1], Conraths, F.[1], Majzoub, M.[2], Rostaher, A.[3], Selmair, J.[4], Gollnick, N.S.[5]

[1]Friedrich-Loeffler-Institut, Institut für Epidemiologie, Wusterhausen, [2]Institut für Veterinärpathologie, Ludwig-Maximilians-Universität, München, [3]Medizinische Kleintierklinik, Ludwig-Maximilians-Universität, München, [4]Inning am Holz, [5]Klinik für Wiederkäuer mit Ambulanz und Bestandsbetreuung, Ludwig-Maximilians-Universität, München

Im August 2008 wurden in einem Fleischrinder haltenden Bestand in Bayern Tiere mit auffälligen Hautveränderungen beobachtet. Ein Tier wurde in die Klinik für Wiederkäuer der Ludwig-Maximilians-Universität München eingeliefert und mittels histologischer und serologischer Methoden sowie spezifischer DNA-Nachweisverfahren und DNA-Sequenzierung Besnoitiose diagnostiziert (Rostaher et al., eingereicht). Befragungen des Tierbesitzers und des den Bestand betreuenden Tierarztes ergaben, dass bereits im Jahr 2006 bei einem Rind Symptome einer Besnoitiose beobachtet worden waren. Am Beispiel des Auftretens der Besnoitiose wird erneut deutlich, dass sich exotische Tiererkrankungen auch in Deutschland etablieren und über Tierhandel oder andere Wege weiterverbreiten können.

Die Besnoitiose ist eine protozoäre Erkrankung, die vor allem die Haut, die Unterhaut, Blutgefäße, Schleimhäute und andere Körpergewebe betrifft. Sie kann bei chronisch infizierten Tieren zu Sklerodermie, Hyperkeratose und Alopezie führen (Abb. 1). In endemischen Gebieten verursacht die Besnoitiose große wirtschaftliche Schäden. Ihre Mortalität ist gering (<10 Prozent), jedoch lassen sich stark befallene Tiere aufgrund ihres schlechten Gesundheitszustands nur schlecht vermarkten. Bullen, die mit dem Erreger infiziert sind, können zeitweilig oder auch dauerhaft unfruchtbar werden. Die Haut befallener Tiere weist nur noch einen geringen Wert auf.

Die bovine Besnoitiose wird durch den mit *Toxoplasma gondii* und *Neospora caninum* eng verwandten Einzeller *Besnoitia besnoiti* verursacht. *B. besnoiti* vermehrt sich in vielen Körperzellen infizierter Tiere und bildet vor allem in der Haut charakteristische dickwandige Zysten, die mit Zystozoiten gefüllt sind (Abb. 2).

B. besnoiti befällt nur Rinder. Verwandte Erreger können vergleichbare Erkrankungen bei Ziegen (*B. caprae*), Pferden und Eseln (*B. bennetti*) sowie bei Rentieren und Karibus (*B. tarandi*) hervorrufen.

Der Erreger der bovinen Besnoitiose ist für den Menschen nicht gefährlich. Fleisch und Milchprodukte können ohne Bedenken verzehrt werden.

Klinische Erscheinungen

Viele der infizierten Tiere zeigen bis auf einige wenige Zysten in den skleralen Konjunktiven (Augenbindehaut) oder in der Genitalschleimhaut keine Symptome (Abb. 3). Mangelnde Erfahrung beim Erkennen der Zysten und eine unzureichende Fixierung der zu untersuchenden Tiere dürfte die Zuverlässigkeit einer Diagnostik beeinträchtigen, die ausschließlich auf den Ergebnissen klinischer Untersuchungen beruht. Bei vielen Tieren

Abb. 1: Sklerodermie, Hyperkeratose und Alopezie aufgrund einer Infektion mit Besnoitia besnoiti (Aufnahme: Helder Cortes, Evora Universität, Portugal).

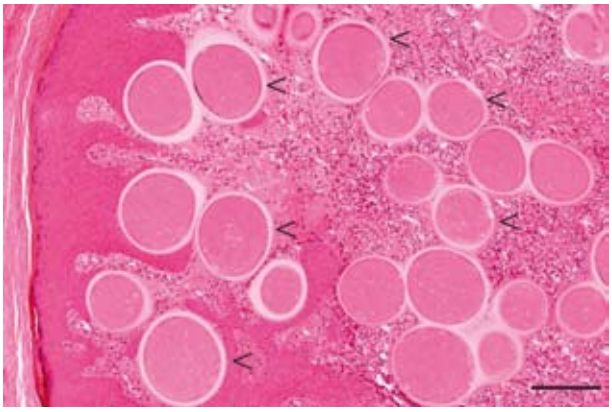


Abb. 2: Histologischer Schnitt (H&E-Färbung): Dickwandige Gewebezysten (<) von Besnoitia besnoiti in der Haut eines Rindes (Balken: 200 µm).

läuft die Infektion unbemerkt ab. Bei manchen klinisch erkrankten Tieren können zwei Phasen, eine akute und eine chronische Krankheitsphase, unterschieden werden.

Akute Phase (4-14 Tage nach der Infektion): Die Erkrankung beginnt mit Fieber und entzündlichen, schmerzhaften Schwellungen des ventralen Abdomens (sogenanntes Anasarka-Stadium). Auch an anderen Körperregionen, insbesondere im distalen Bereich der Gliedmaßen, treten schmerzhafte Ödeme auf. Symptome einer akuten Atemwegserkrankung können beobachtet werden. Die Tiere können geschwollene Lymphknoten, reduzierte Fresslust, Lichtscheuheit, Augen- und Nasenausfluss, Durchfall und Symptome einer Hodenentzündung zeigen.

Chronische Phase (beginnend 3-4 Wochen nach der Infektion): Die Haut verdickt und verhärtet sich während der chronischen Phase (Skleroderma), wird faltig und entwickelt Risse, über die es zu bakteriellen Infektionen und zum Befall mit Fliegenmaden (Myiasis) kommen kann. Bei Bullen können Hodenentzündungen auftreten, die eine vorübergehende oder dauerhafte Unfruchtbarkeit zur Folge haben.

Bisherige geographische Verbreitung

Die Erkrankung ist im südlichen Europa in Teilen Portugals und Spaniens, in Afrika (Subsahara) und in Asien endemisch. Dies gilt ebenfalls für den Süden Frankreichs (östliche Pyrenäen, Massif Central, französische Alpen). In Italien traten ebenfalls Fälle boviner Besnoitiose auf. Im Jahr 2007 wurde darüber berichtet, dass vereinzelte Fälle auch in Westfrankreich bis hinauf an die Loire und in eher zentral gelegenen Regionen Frankreichs vorkamen (Alzieu et al., 2007). Aus anderen Nachbarländern Deutschlands liegen bisher keine Berichte über das Auftreten der Besnoitiose vor.

Infektionswege, Ausbreitung der Infektion in Rinderbeständen

Die Übertragungswege von *B. besnoiti* sind nur teilweise bekannt, da der vollständige Lebenszyklus des Parasiten noch nicht aufgeklärt ist.

Die mechanische Übertragung durch blutsaugende Insekten (z.B. Bremsen, Weidefliegen) ist experimentell gesichert. Es zeigte sich, dass eine Übertragung in der Regel nur erfolgte, wenn mehrere Transfers vom infektiösen auf das zu infizierende Tier durchgeführt wurden. Über kontaminierte Kanülen konnte die Infektion experimentell auch von Rindern auf Kaninchen übertragen werden. Eine mechanische Übertragung durch intensiven Kontakt der Tiere, wie etwa beim Deckakt, ist wissenschaftlich nicht belegt, wird aber vor dem Hintergrund, dass männliche Tiere häufiger und stärker von Besnoitiose betroffen sind, diskutiert.

Ein Endwirt für *B. besnoiti*, der nach Ablauf der sexuellen Vermehrung umweltresistente Dauerstadien (Oozysten) mit dem Kot ausscheiden könnte, ist bislang unbekannt. Es ist denkbar, dass Feliden wie bei anderen *Besnoitia*-Arten auch die Endwirte von *B. besnoiti* sein könnten. Allerdings gibt es derzeit keine belastbaren Belege für diese Annahme. Es wird vermutet, dass durch den Endwirt ausgeschiedene Oozysten Futter und Trinkwasser der Tiere kontaminieren könnten.

Nach dem Eintrag der Infektion in den Bestand (z.B. über Zukauf, über blutsaugende Insekten oder eventuell auch über Oozysten-Kontaminationen) breitet sich die Infektion meist langsam, teilweise über mehrere Jahre, im Bestand aus (Bigalke, 1968). Unter den Bedingungen in Südafrika erfolgte die Übertragung von Rind zu Rind auch, wenn keine männlichen Tiere in einer Tiergruppe gehalten wurden. Ob der Einsatz von Deckbullen die Ausbreitung der Infektion im Bestand beschleunigen

Abb. 3: Auch bei ansonsten klinisch unauffälligen Tieren kann das Vorhandensein von Zysten (kleine weiße Punkte, <) in der Augenbindehaut (a) oder auf der Vulva-Schleimhaut auf eine Besnoitiose hindeuten (b).

kann, ist unklar.

Die Zahl der Tiere, bei denen auffällige klinische Erscheinungen beobachtet werden, ist zunächst klein. Mit zunehmender Ausbreitung innerhalb der Herde nimmt auch die Zahl der klinisch auffälligen Tiere zu. Männliche Tiere sind häufiger und stärker infiziert, d.h. sie fallen häufiger durch klinische Erscheinungen auf.

In Frankreich treten klinische Erscheinungen saisonal gehäuft im Juli und August auf. Dies könnte mit der jahreszeitlich unterschiedlichen Abundanz blutsaugender Insekten in Verbindung stehen, welche die Besnoitiose übertragen.

Diagnose

Eine Verdachtsdiagnose kann aufgrund typischer klinischer Erscheinungen (Zysten in der skleralen Konjunktiva oder auf den Genitalschleimhäuten, Sklerodermie, Hyperkeratose und Alopezie) gestellt werden. Allerdings sollte diese Verdachtsdiagnose histologisch, serologisch oder mit Hilfe von DNA-Nachweismethoden bestätigt werden.

Es gibt mehrere serologische Verfahren (ELISA, Immunfluoreszenztest, Immunoblot), um Antikörper gegen *B. besnoiti* nachzuweisen. Diese Tests weisen unterschiedliche Charakteristika auf. Die Sensitivität der ELISAs reichte von 68,2 bis 90,9 Prozent und die Spezifität von 96,4 bis 97,7 Prozent. Für den Immunfluoreszenztest (IFAT) mit einem Schwellenwert von 1:20 wurde eine Sensitivität von 81,7 Prozent und eine Spezifität von 100 Prozent berichtet (Janitschke et al., 1984). Unsere Erfahrungen zeigen, dass *Neospora caninum*-positive Rinderseren bis zu einem Titer von 1:100 kreuzreagieren, so dass angenommen werden muss, dass die Sensitivität des IFAT bei adjustiertem Schwellenwert deutlich niedriger liegen dürfte als angegeben. Für den Immunoblot werden eine Sensitivität von 90,9 Prozent und eine Spezifität von 96,4 bis 100 Prozent angegeben. Dieses Verfahren hat den Vorteil, dass durch die Auftrennung der verschiedenen Antigene spezifische leichter von unspezifischen Reaktionen unterschieden werden können. Es ist somit das derzeit beste Verfahren, spezifische Antikörper gegen *B. besnoiti* nachzuweisen.

Bekämpfung

In keinem der europäischen Länder, in denen die Besnoitiose regional endemisch ist, existieren staatliche Bekämpfungsprogramme. Allerdings rät man dort, Rinder serologisch zu untersuchen und seropositive Tiere aus der Herde zu entfernen, um eine Weiterverbreitung innerhalb der Herde zu verhindern. Für Deutschland empfiehlt das Friedrich-Loeffler-Institut, über serologische Untersuchungen den Zukauf befallener Tiere aus betroffenen Regionen zu verhindern. In manchen Ländern (Israel, Südafrika) werden attenuierte Lebendimpfstoffe eingesetzt. Es gibt keinen in Deutschland zugelassenen Impfstoff.

Eigene Untersuchung in dem von Besnoitiose betroffenen Bestand

Anfang November 2008 wurde eine klinische und serologische Untersuchung aller der zu diesem Zeitpunkt in dem betroffenen Bestand gehaltenen Rinder durchgeführt. Mit der Untersuchung in dem Bestand konnte erst deshalb so spät nach der Feststellung des ersten Besnoitiose-Falles begonnen werden, weil die Tiere zunächst von sieben teilweise mehr als 100 Kilometer auseinanderliegenden Weidegebieten zur Überwinterung an den Hauptstandort in der Nähe von München verbracht werden mussten. Insgesamt wurden 214 Tiere klinisch und serologisch untersucht. Drei auf dem Betriebsgelände gehaltene Katzen wurden serologisch untersucht.

63 Rinder zeigten klinische Symptome (Zysten in den Augenbindehäuten oder in der Vulva-Schleimhaut, verdickte Haut). 57 dieser Tiere hatten Antikörper gegen *B. besnoiti*. Bei 13 Tieren waren die klinischen Erscheinungen verdächtig, aber nicht eindeutig. Acht dieser Tiere waren serologisch positiv und fünf negativ. 77 weitere Tiere waren serologisch positiv, ohne dass klinische Erscheinungen beobachtet werden konnten. Nur 60 der 214 Rinder waren weder klinisch auffällig noch serologisch positiv. Insgesamt lag die Seroprävalenz bei 66,4 Prozent (142/214). Die Prävalenz klinisch positiver Tiere erreichte 29,5 Prozent (63/214).

Klinische Erscheinungen in Abhängigkeit vom Alter

Klinische Symptome konnten bei ≤ 6 Monate bzw. bei 6 bis ≤ 12 Monate alten Tieren nur selten beobachtet werden (7 Prozent bzw. 15 Prozent). Bei über 12 Monate alten Tieren lag die Häufigkeit klinischer Erscheinungen bei 40 Prozent. Männliche Tiere waren dabei stärker von klinischen Erscheinungen betroffen (Abb. 4).

Seropositivität in Abhängigkeit vom Alter

Seropositivität wurde bei ≤ 6 Monate bzw. bei 6 bis ≤ 12 Monate alten Tieren seltener als bei älteren Tieren beobachtet (28 Prozent bzw. 29 Prozent). 88 Prozent der über 12 Monate alten Tieren waren seropositiv.

Junge (≤ 12 Monate alte) männliche Tiere waren häufiger seropositiv als junge weibliche Tiere (Abb. 4). Unter den älteren Tieren (> 12 Monate) waren weibliche Tiere häufiger seropositiv (89 Prozent) als männliche Tiere (67

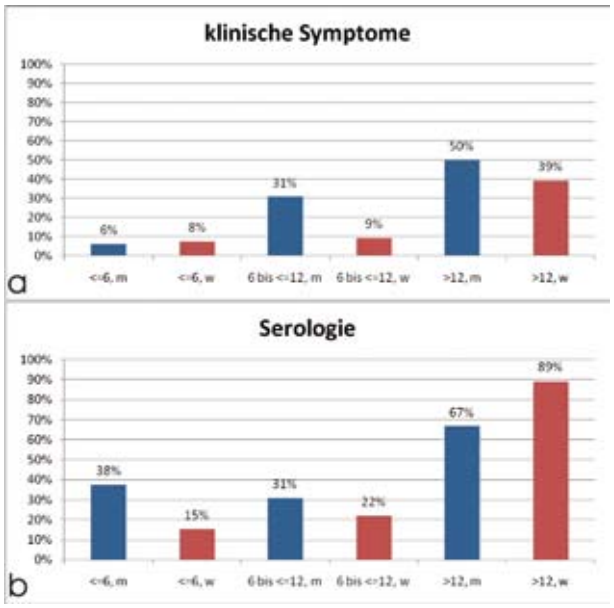


Abb. 4: Anteil klinisch (a) und serologisch positiver (b) männlicher (blau) und weiblicher (rot) Tiere in verschiedenen Altersgruppen (≤ 6 Monate; 6-≤ 12 Monate; > 12 Monate).

Prozent) (Abb. 4).

Seropositivität in Abhängigkeit vom Standort, auf dem die erwachsenen Tiere zuletzt gehalten wurden

Bei den klinischen Untersuchungen wurde der Standort erfasst, an dem die Tiere zuletzt gehalten worden waren. An den 7 verschiedenen Lokalisationen wurden Seroprävalenzen zwischen 72 Prozent und 96 Prozent beobachtet.

Mögliche Eintragsquelle

Vermutet wird der Eintrag durch den Import von Rindern aus Ländern, in denen die Besnoitiose endemisch oder sporadisch vorkommt. Seit 1999 importierte der betroffene Betrieb 55 Tiere aus Frankreich. Bis 2003 wurden 4 weibliche Tiere aus dem Departement Ariège (Region Midi-Pyrénées) eingestallt, einer Gegend, in der die Besnoitiose seit Jahrzehnten endemisch vorkommt. Weitere 41 männliche und weibliche Rinder kamen bis 2008 aus französischen Regionen (Departements Cher, Indre, Saône-et-Loire), in denen oder in deren Nachbarschaft Besnoitiose seit wenigen Jahren sporadisch auftritt.

Darüber hinaus wurden 44 Tiere aus Tschechien, 74 Tiere aus der Slowakei und 176 Tiere aus Rumänien importiert. Diese wurden nicht in die Herde aufgenommen, sondern nur in den leerstehenden Stallungen während der Weidesaison gehalten und vor der kalten Jahreszeit weiterverkauft. Über das Vorkommen von Besnoitiose in Tschechien, der Slowakei und in Rumänien ist nichts bekannt.

Mögliche Verbreitung über Katzen

Feliden stehen im Verdacht, Endwirte von *B. besnoiti* zu sein. Auf dem Betriebsgelände des betroffenen Bestandes wurden mehrere Katzen gehalten. Serologische Untersuchungen bei drei dieser Katzen ergaben keine Hinweise auf eine *B. besnoiti*-Infektion.

Mögliche Weiterverbreitung der Infektion durch Tierhandel

466 Rinder aus den Standorten des Betriebs wurden in andere Betriebe verbracht (Stichtag 01.01.2006; HIT-Abfrage vom 22.10.2008;): 328 Tiere in Betriebe anderer landwirtschaftlicher Rinderhalter, 67 in Betriebe sonstiger Rinderhalter, 16 in Betriebe von Viehhändlern und 2 in Schlachtbetriebe (HIT: Herkunftssicherungs- und Informationssystem für Tiere). Bei 33 Tieren sind die aufnehmenden Betriebe unbekannt.

Mögliche Weiterverbreitung der Infektion in benachbarte Rinderhaltungen

Insgesamt wurden bislang 97 Tiere aus 6 benachbarten Herden auf Antikörper gegen *B. besnoiti* untersucht. In einem der Bestände konnte ein serologisch positives Tier identifiziert werden. Die Untersuchungen einer Hautstanzprobe und eines Vulvaabstriches des serologisch positiven Tiers mittels PCR verliefen allerdings negativ. Ein aus dem betroffenen Bestand stammender Bulle, der in der Herde gehalten wurde, war serologisch negativ.

Schlussfolgerungen

Die Quelle, aus welcher die *B. besnoiti*-Infektion in den Bestand gelangte, ist unbekannt. Der Tierhalter unterhielt in der Vergangenheit Handelskontakte nach Frankreich und in andere Länder. Es ist daher denkbar, dass er oder einer seiner Handelspartner infizierte Tiere zugekauft hat.

Die Wege, über die sich die Infektion innerhalb der betroffenen Herde verbreitete und über die sie in die Nachbarherde gelangte, sind nicht bekannt. Am wahrscheinlichsten ist die mechanische Übertragung (z.B. über blutsaugende Insekten oder den Deckakt).

Tierexperimentelle und epidemiologische Untersuchungen in Südafrika zeigten, dass meist einige Jahre vergehen, bevor es zu klinischen Erkrankungen in Tiergruppen kommt (Bigalke, 1968). In dem vorliegenden Fall kam es trotz der weit auseinander liegenden Weidegebiete zu einem gleichmäßigen Durchseuchen der Rinderpopulation. Dies lässt vermuten, dass *B. besnoiti*-Infektionen bereits seit einem Jahr, vermutlich sogar seit zwei Jahren oder länger im Bestand vorkamen und sich

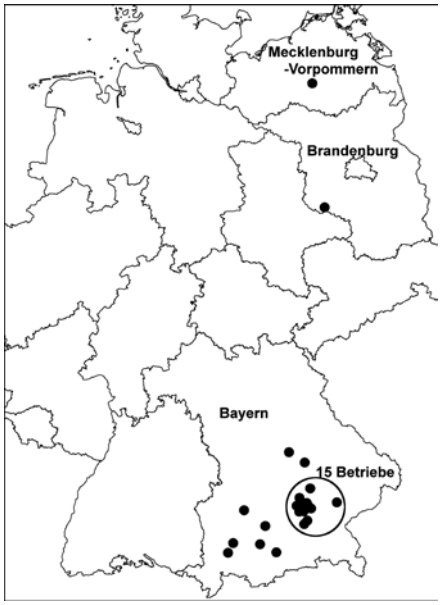


Abb. 5: Lokalisation der Betriebe, in die Tiere aus dem Besnoitiose-Index-Bestand verbracht wurden (zwischen 01.01.2006 und 20.10.2008).

dort unbemerkt ausgebreitet haben. Diese Vermutung stützt sich auch auf die Beobachtung eines Tieres, das im Jahr 2006 mit Symptomen einer Besnoitiose erkrankt war. Es besteht daher die Möglichkeit, dass infizierte Tiere aus dem betroffenen Bestand in andere Betriebe verbracht wurden und dass sich die Infektion in diesen Beständen ebenfalls ausbreiten kann. Weitere Untersuchungen zum Vorkommen *B. besnoiti*-infizierter Tiere in benachbarten Rinderhaltungen und in Rinderhaltungen, in die Tiere in den vergangen Jahren verbracht wurden (Abb. 5), sind dringend erforderlich. Es sollten Maßnahmen ergriffen werden, die den Import infizierter Tiere aus endemischen Gebieten verhindern.

Literatur

Alzieu, J.-P., P. Dorchies, F. Schelcher, and B. Gottstein (2007) L‘extension de la besnoitiose bovine en France. Le Point Vétérinaire 276, 37-43.

Bigalke, R.D. (1968) New concepts on the epidemiological features of bovine besnoitiosis as determined by laboratory and field investigations. Onderstepoort J Vet Res 35, 3-137.

Janitschke, K., A. J. De Vos, and R.D. Bigalke (1984) Serodiagnosis of bovine besnoitiosis by ELISA and immunofluorescence tests. Onderstepoort J Vet Res 51, 239-243.

Rostaher, A., R.S. Mueller, M. Majzoub, G. Schares, and N.S. Gollnick (2008) Bovine besnoitiosis in Germany, Vet Dermatol, eingereicht.

Weitere Literatur kann bei den Verfassern angefordert werden.

ARBEITSGRUPPE INTERNATIONALE TIERGESUNDHEIT (AG-ITG)

Aviäre Influenza in Afrika - Untersuchungen im Rahmen des internationalen Projektes „Epidemiology of Avian Influenza in Africa“(EPIAAF)

Böhle, W., Globig, A., Höreth-Böntgen, D., Tanner, M.

Die Arbeitsgruppe Internationale Tiergesundheit (AG-ITG) wurde im Januar 2007 am Friedrich-Loeffler-Institut (FLI) eingerichtet. Auf Anforderung unterstützt die Gruppe Tierseuchenkontrollmaßnahmen außerhalb Europas, berät verantwortliche Stellen bei der Planung von Zentren zur Seuchenuntersuchung und bildet das zugehörige Personal in modernen Diagnosetechniken aus. Da sich im Zuge der Globalisierung Krankheiten und ihre Überträger leichter als je zuvor weltweit ausbreiten, stellt auch das Monitoring von epidemiologischen Prozessen unterschiedlichster Tierseuchen einen Aufgabenbereich für die AG-ITG dar.

Hochpathogene Aviäre Influenza (HPAI) des Typs H5N1 wurde 1996 das erste Mal in China isoliert und breitete sich seither entlang internationaler Handelsrouten und über Handelsströme sowie entlang der bekannten Wildvogelzugrouten über ganz Asien bis nach Europa aus. In den Jahren 2006 und 2007 traten dann auch Fälle bei Mensch und anderen Tierarten als Geflügel in elf afrikanischen Staaten auf. Mit Ausnahme der Ausbruchszentren Nigeria und Ägypten verschwand die Seuche aber wieder relativ schnell aus den übrigen afrikanischen Ländern. Somit verhielt sich die Tierseuche atypisch im Vergleich zum Verbreitungsmuster in Europa und vor allem in Asien, wo HPAI H5N1 noch heute weitläufig auftritt und als bereits endemisch eingestuft werden kann.

Die Welternährungsorganisation FAO der Vereinten Nationen beauftragte daher das französische „Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement“ (CIRAD) mit der Untersuchung dieser epidemiologischen Auffälligkeit. CIRAD beteiligte seinerseits als Unterauftragnehmer das „Royal Veterinary College“ der Universität London (RVC), das Referenzlabor für Äviäre Influenza der Weltorganisation für Tiergesundheit (OIE) in Padua (IZSVe), die Freie Universität Brüssel (ULB) und das FLI.

Die Aufgaben bestanden in der Entwicklung einer internetbasierten Datenbank zu landesspezifischen Informationen (FLI), Entwicklung eines epidemiologischen Fragebogens (CIRAD, FLI), Einsätzen in Burkina Faso, Nigeria, Kamerun, Niger, Ägypten und Sudan (CIRAD, RVC, IZSVe, FLI) und der Erstellung eines Risikoanalysemodells basierend auf Datenbanken, Fragebögen und Probenergebnissen (RVC, ULB). Die benötigten Daten wurden von jeweils zwei internationalen Experten und je einem (im Fall von Sudan zwei, da Südsudan eine semi-autonome Stellung einnimmt) nationalen Koordinator mit Hilfe von Fragebogenerhebungen und Probenentnahmen (Tupfer– und Serumproben) zusammengestellt. Die Proben wurden im OIE Referenzlabor in Padua auf aviäre Influenzaviren (AIV) und Newcastle Disease Virus (NDV) untersucht.

Einsätze in sieben Ländern

Zur Koordination der Feldeinsätze wurden Vorbereitungstreffen in Kairo, Montpellier, Bamako und London abgehalten. Das Institut für Epidemiologie (IfE) des FLI entwickelte die benötigte Datenbank auf Basis eines FTP-Servers, welcher auch das Arbeiten mit MS-Access Tabellen zulässt und keine großen Ansprüche bezüglich Internetausstattung und IT-Kenntnissen stellt. Die Feldeinsätze wurden von Februar bis Mai 2008 durchgeführt.

Nach den Einsätzen wurde in Yaounde, Kamerun vom 21.-23.09.2008 ein Workshop zur Diskussion der vorliegenden Ergebnisse und zur Vorbereitung des Endreports abgehalten. Der Endbericht wurde der FAO im Oktober 2008 übergeben.

Abb. 1: Eines der Teams bei der Probennahme im Norden Kameruns.

Land	Einsatzteam	Zeitraum	Anzahl Proben
Ägypten	Alessandro Cristalli (IZSVe) Guillaume Fournié (RVC) Mosa Soliman (FAO)	02.03. - 25.03.	302
Burkina Faso	Anja Globig (FLI) Julien Cappelle (CIRAD) Hamidou Tiam (FAO)	26.03. - 17.04.	670
Kamerun	Wolfgang Boehle (FLI) Agnès Waret (RVC) Amadou Nchare (FAO)	21.04. - 16.05.	338
Elfenbeinküste	Sophie Molia (CIRAD) Raffaella Nisi (IZSVe) Jean-Narcisse N'Goran Koffi (FAO)	23.02 - 14.03.	606
Niger	Eric Etter (CIRAD) Barbara Haesler (RVC) Ibrahim Bangana (FAO)	14.03. - 04.04.	685
Nigeria	Detlef Hoereth-Boentgen (FLI) Gillian Diesel (RVC) Ahmed Maina Garba (FAO)	01.03. - 22.03.	471
Sudan	Manfred Tanner (FLI) Filippo Cilloni (IZSVe) Amal Mustafa Mohammed Ali (FAO) Amal Ahmed Mousa Gercona (FAO)	25.03. - 17.04.	600
Total			3672

Tabelle 1: Die Teams entnahmen während der Feldeinsätze von Februar bis Mai 2008 insgesamt 3672 Proben, die auf AIV und NDV untersucht wurden.

Ergebnisse

Im Untersuchungszeitraum März bis Mai 2008 konnten überraschenderweise keine AIV, weder hochpathogen noch niedriggpathogen, nachgewiesen werden. H5N1-Ausbrüche zeigten in den untersuchten Ländern eine starke Saisonalität mit Ausbrüchen meist im Februar/März. Deshalb könnte der Untersuchungszeitraum, welcher mehrfach verschoben werden musste, in eine Zeit gefallen sein, in der die Prävalenz von AIV in den untersuchten Ländern zu gering war. Für Ägypten ist dies allerdings fraglich, da Ausbrüche und Probennahme zeitlich zusammenlagen. In den meisten Ländern lag der letzte Ausbruch von HPAIV jedoch mehr als ein Jahr zurück. Die positive Serologie (Tabelle 2) könnte als Indiz gewertet werden, dass manche Tiere vor der Untersuchung mit AIV infiziert waren oder zumindest Kontakt zu AIV hatten. Der unklare Impfstatus vieler Tiere und die relativ niedrige Spezifität des ELISA von 91 Prozent müssen hierbei jedoch als Faktoren berücksichtigt werden.

Als Ursachen für die fehlenden Nachweise kommen möglicherweise die kurze Ausscheidungsperiode sowie fehlerhafte Entnahme und Aufarbeitung und der problematische Versand der Proben in Frage. Außerdem berichteten manche Länder über Schwierigkeiten bei der Einhaltung der Kühlkette, was die Qualität der Proben vermindert haben könnte. Genommaterial kann aber auch bei mehrfach unterbrochener Kühlkette intakt und somit brauchbar für eine PCR bleiben. Um die Untersuchungen kostengünstig zu gestalten, wurden zudem in Padua jeweils fünf Proben gepoolt, was eine geringfügige Verminderung der Sensitivität zur Folge gehabt haben könnte. Die Proben aus Ägypten und Nigeria wurden aufgrund der bisherigen Seuchengeschehen einzeln untersucht.

Die Ergebnisse des AI-ELISA erscheinen deutlich zu hoch, allerdings müssen hiervon die geimpften Tiere abgezogen werden, was zu einer Prävalenz von 19,9 Prozent führt. Berücksichtigt man zusätzlich den Anteil der falsch positiven Ergebnisse, welche durch die niedrige Spezifität des Testes hervorgerufen werden, ergibt sich ein realistischer Wert von rund 12 Prozent Prävalenz. Außerdem lagen viele der positiven Ergebnisse nahe der

Abb. 2: Entnahme von Trachealtupferproben.

Test	Zahl der negativen Tiere	Zahl der positiven Tiere	Gesamtzahl der getesteten Tiere	% positive Tiere
PCR für AI	3627	0	3627	0,0 %
PCR für ND	3614	33	3627	0,9 %
ELISA AI	2606	933	3539	26,4 %
HI ND	2322	1197	3519	34,0 %
HI H5	3392	108	3500	3,1 %
HI H7	3495	0	3495	0,0 %

Tabelle 2: Laborergebnisse sämtlicher Probenuntersuchungen.

Nachweisgrenze.

Für NDV wurde eine geringe Prävalenz ermittelt, obwohl die meisten der untersuchten Tiere nicht geimpft waren und die serologischen Untersuchungen auf eine weite Verbreitung des NDV hinwiesen. Wie bei AIV diskutiert, könnten auch hier die Ursachen im Poolen der Proben, der Nichteineinhaltung der Kühlkette und am ungünstigen Untersuchungszeitraum liegen.

In allen Ländern wurde NDV nachgewiesen, oft jedoch ohne klinische Symptomatik oder es traten andererseits typische Krankheitssymptome auf, ohne dass NDV nachgewiesen werden konnte. Viele Tierbesitzer scheuten sich, ihre kranken Tiere dem Untersuchungsteam vorzuführen, so dass überwiegend bei klinisch gesunden Tieren Proben genommen wurden. Da viele Teams Medikamente als Aufwandsentschädigung für die Tierbesitzer mit sich führten, nutzten aber auch einige wenige Tierbesitzer die Chance zur klinischen Untersuchung der Tiere durch die Teams.

In allen Ländern ergab sich eine hohe durchschnittliche Seroprävalenz für NDV. Ähnlich wie bei AIV müssen auch hier die geimpften Tiere und die Impfeffizienz sowie der Umfang der falsch positiven Ergebnisse berücksichtigt werden. Der Hämagglutinationshemmungstest auf ND weist Paramyxovirus 1 (PMV-1) nach, also auch apathogene und lentogene (Impf-) Stämme, welche man aber nicht mit meso- oder velogenen NDV gleichsetzen kann.

Die statistischen Analysen kamen zu folgenden Ergebnissen:

- AI-Seroprävalenz ist negativ zur Anzahl der Hühner assoziiert: Je mehr Hühner, desto niedriger ist die AI- Seroprävalenz
- ND-Seroprävalenz ist positiv zur Anzahl der Hühner assoziiert: Je mehr Hühner, desto höher ist die ND-Seroprävalenz
- AI-Seroprävalenz ist positiv mit jungen Tieren assoziiert: Wenn jung, dann höhere AI- Seroprävalenz
- Hühner haben eine höhere Wahrscheinlichkeit im ELISA als seropositiv für AI erkannt zu werden als Enten

Die Einsätze vor Ort wurden durch landesspezifische Probleme wie politische Unruhen, die zu Verzögerungen führten, kurzfristige Einsatzortverlegungen, schwierige Probentransporte und weitere technische Unzuläng-

Abb. 3: Warteschlange an einer Feldstation in Kamerun

lichkeiten erschwert.

Ausblick

Insgesamt hat diese Studie dazu beigetragen, standardisierte Daten zur HPAI H5N1 in sieben von elf betroffenen afrikanischen Ländern zu sammeln. Drei verschiedene epidemiologische Profile konnten unterschieden werden.

Ägypten hat als einziges afrikanisches Land eine enzootische Situation mit einem Auftreten der Erkrankung bei Mensch und Tier, besonders in den Wintermonaten. Begünstigt wird dies durch die hohen Bevölkerungs- und Geflügeldichten im Nildelta und die relativ große Anzahl von Gänsen und Enten.

Nigeria hatte ebenso eine enzootische Situation, meldet jedoch seit 2008 keine neuen Fälle mehr. Dies kann als Erfolg einer konsequenten Bekämpfung angesehen werden, es besteht allerdings die Möglichkeit von unentdeckten, leichteren Infektionsgeschehen. Kurz nach Abreise der Teams kam es zu neuen Ausbrüchen im Norden von Nigeria, teilweise in den gleichen Gebieten, die bei der Studie beprobt wurden.

Burkina Faso, Kamerun, Elfenbeinküste, Niger und Sudan haben ähnliche Umweltcharakteristiken und eine weit geringere Bevölkerungsdichte als Nigeria oder Ägypten. Alle hatten nur sporadische Ausbrüche, die in keinem engen Zusammenhang zueinander standen. Außerdem blieben die Fälle begrenzt und breiteten sich auch bei zu späten oder unzureichenden Bekämpfungsmaßnahmen nicht aus.

Die Annahme, traditionelles afrikanisches Dorfgeflügel sei unempfindlich gegen H5N1, konnte nicht bestätigt werden. Es wurden etwa 12-13 Prozent AIV-seropositive, ungeimpfte Vögel festgestellt. Eine mögliche Einschleppung des Virus durch Wildvögel konnte nicht überzeugend gezeigt werden, wohingegen der Handel mit Geflügel und Geflügelprodukten den Ergebnissen der Studie zufolge eine zentrale Rolle gespielt hat.

Viele der kritischen Anmerkungen vor Beginn der Studie und im Planungsstadium haben ihre Richtigkeit bewiesen. Bei künftigen Vorhaben ähnlicher Art sollten diese klarer und stärker vorgetragen werden und im Rahmen der inter-europäischen Zusammenarbeit mehr Beachtung finden. Dies soll nicht davon ablenken, dass die geringen Nachweise von AIV in den beprobten Ländern sehr wohl der afrikanischen Realität entsprechen können. Weitere Untersuchungen wären notwendig, um die verbleibenden offenen Fragen zu beleuchten.

Abb. 4: Blutentnahme für die serologische Probenuntersuchung.

IV. Laufende Forschungsprojekte

Die wissenschaftlichen Arbeiten des FLI werden je nach Ausrichtung institutsübergreifend und in Kooperation mit nationalen und internationalen Hochschulen oder Forschungseinrichtungen durchgeführt. In diesem Kapitel werden laufende Projekte vorgestellt, zu denen 2008 Veröffentlichungen erschienen sind. Die entsprechenden Publikationen unter Nennung der beteiligten Institute und Kooperationspartner sind unter den Kurzbeschreibungen der Projekte aufgeführt.
Informationen zu weiteren laufenden Projekten stehen auf der Internetseite des FLI (www.fli.bund.de) und in der Forschungsdatenbank des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (www.bmelv-forschung.de) zur Verfügung.

1 Viren

1.1 DNA-Viren

1.1.1 Familie *Herpesviridae*

Die Familie der *Herpesviridae* umfasst umhüllte Viren mit einem doppelsträngigen DNA-Genom und einem charakteristischen Viruspartikel aus Core, ikosaedrischem (T=16) Kapsid, Tegument und Hülle. Herpesviren werden bei vielen Vertebraten und auch bei Nicht-Vertebraten (Mollusken) gefunden. Da sich die bei Säugern, Vögeln und Reptilien vorkommenden Herpesviren phylogenetisch deutlich von denen der Fische und Amphibien sowie der Weichtiere unterscheiden, wurde kürzlich die neue Ordnung Herpesvirales mit den Familien *Herpesviridae* (Herpesviren von Säugern, Vögeln, Reptilien), *Alloherpesviridae* (Herpesviren bei Fischen und Amphibien) sowie *Malacoherpesviridae* (Herpesviren bei Weichtieren) etabliert. Die Familie der *Herpesviridae* wird dabei in die Unterfamilien Alpha-, Beta- und *Gammaherpesvirinae* unterteilt. Wichtige tierpathogene Viren befinden sich besonders in der Unterfamilie *Alphaherpesvirinae*, Gattung *Varicellovirus*. Typvirus ist das humanpathogene Varicella-Zoster Virus (VZV). Hierzu gehören z.B. der Erreger der Aujeszkyschen Krankheit der Schweine (Pseudorabiesvirus, PrV) oder das bovine Herpesvirus 1 (BoHV-1), das die infektiöse bovine Rhinotracheitis und die infektiöse pustulöse Vulvovaginitis verursacht. Ein generelles Merkmal der Herpesviren ist ihre Fähigkeit, im infizierten Organismus eine lebenslange Latenz auszubilden, aus der die Viren jederzeit reaktiviert werden können.

1.1.1.1 Pseudorabiesvirus

Ziel der Arbeiten ist die Aufklärung der Herpesvirus-Replikation auf molekularer Ebene. Hierzu werden insbesondere durch biochemische (Proteomanalyse), genetische (Virusmutanten) und bildgebende Verfahren (Elektronenmikroskopie, Live-Cell Video Imaging) Infektionen mit PrV und vergleichend mit dem verwandten, humanpathogenen Herpes simplex Virus 1 (HSV-1) untersucht. Nach der Adsorption an die Zielzelle fusionieren Virushülle und Plasmamembran und das Kapsid wird mit einigen assoziierten Tegumentproteinen entlang von Mikrotubuli zur Kernpore transportiert. Hierfür sind zelluläre Motorproteine verantwortlich. An der Kernpore wird die DNA in den Kern entlassen, wo virale Transkription und Genomreplikation stattfinden. Neue Kapside, in die anschließend die vervielfältigten Genome verpackt werden, bilden sich autokatalytisch im Zellkern. Reife Kapside verlassen den Kern durch Knospung an der inneren Kernmembran und nachfolgende Fusion der primären Virushülle mit der äußeren Kernmembran (Envelopment/De-Envelopment). Im Zytoplasma findet dann die finale Virusreifung, d.h. die Aquisition von Tegument und Umhüllung statt. Durch Exozytose werden die reifen Viren aus der Zelle entlassen. Beide Viren zeigen auch einen deutlichen Neurotropismus, der vergleichende Untersuchungen hinsichtlich der Neuroinvasion, Neurovirulenz und Neuropathogenität dieser Viren erlaubt.

Für den Viruseintritt (Penetration) notwendige Glykoproteine werden für die Freisetzung nicht benötigt

Während der Herpesvirus-Replikation finden nach der gängigen Hypothese zwei verschiedene Fusionsvorgänge statt. Beim Viruseintritt (Penetration) verschmelzen Virushülle und Plasmamembran, während bei der Freisetzung der neugebildeten Kapside aus dem Zellkern die primäre Virushülle mit der äußeren Kernmembran fusioniert (De-Envelopment). Die viralen Glykoproteine gB und gH/gL sind für die Penetration essentiell, während ihre Funktion bei der Freisetzung aus dem Kern bisher noch unklar ist. Mittels Immunmarkierungen konnten bei verschiedenen Herpesviren Glykoproteine sowohl in der Kernmembran als auch in der primären Virushülle nachgewiesen werden, was auf eine mögliche Beteiligung hindeutet. Um dies bei dem verwandten PrV zu untersuchen, wurden Mutanten generiert, denen die Glykoproteine gB, gD, gH, und gL einzeln bzw. in verschiedenen Kombinationen fehlten. Elektronenmikroskopische Untersuchungen ergaben, dass keines dieser Proteine für die Virusfreisetzung aus dem Kern benötigt wird. Immunmarkierungen mit monospezifischen Antiseren gegen verschiedene Glykoproteine ergaben auch keinen Hinweis auf die

Anwesenheit dieser Glykoproteine in der inneren Kernmembran oder der primären Virushülle. Unsere Ergebnisse sprechen daher für distinkte Mechanismen während der Fusion beim Viruseintritt und der Fusion bei der Freisetzung aus dem Kern.

Klupp *et al.* (2008) Glycoproteins required for entry are not necessary for egress of pseudorabies virus. J Virol 82, 6299-6309.

Friedrich-Loeffler-Institut, IMB und IMED, Greifswald-Insel Riems, Deutschland

Die partielle funktionelle Komplementierung der Pseudorabies Virus UL25 Deletionsmutante durch das UL25 Protein des Herpes Simplex Virus (HSV-1) deutet auf überlappende Funktionen der UL25 homologen Proteine der Alphaherpesviren hin

Zum pUL25 des Herpes Simplex Virus 1 (HSV-1) homologe Proteine sind innerhalb der *Herpesviridae* hoch konserviert, wobei ihre genaue Funktion bei der Virusreplikation noch nicht geklärt ist. Neuere Ergebnisse deuten darauf hin, dass pUL25 bei PrV eine Rolle bei der primären Umhüllung der Nukleokapside an der inneren Kernmembran spielt. In Abwesenheit von UL25 werden zwar Nukleokapside gebildet und zur inneren Kernmembran transportiert, dort jedoch nicht mehr umhüllt (Klupp *et al.*, 2006). Für HSV-1 pUL25 wurde hingegen eine Funktion bei der stabilen Verpackung des Genoms in die Kapside postuliert (Stow, 2001). Trotz der scheinbar divergenten Funktionen könnte die hohe Sequenzhomologie auch auf eine funktionelle Homologie hinweisen. Eine von uns konstruierte HSV-1 UL25 Deletionsmutante zeigte in der Zellkultur einen der PrV Mutante sehr ähnlichen Phänotyp mit zahlreichen Nukleokapsiden im Kern ohne nachfolgende primäre Umhüllung an der inneren Kernmembran. Dabei konnte HSV-1 pUL25 den Defekt der PrV Deletionsmutante zumindest teilweise komplementieren, jedoch nicht umgekehrt. Dies deutet darauf hin, dass die beiden sequenzhomologen Proteine zwar ähnliche, aber nicht identische Funktionen besitzen.

Kuhn *et al.* (2008) Partial functional complementation of a pseudorabies virus UL25 deletion mutant by herpes simplex virus type 1 pUL25 indicates overlapping functions of alphaherpesvirus pUL25 proteins. J Virol 82, 5725-5734.

Friedrich-Loeffler-Institut, IMB/IMED, Greifswald-Insel Riems, Deutschland

Mutagenese des Cysteins im aktiven Zentrum der Ubiquitin-spezifischen Protease des Tegument-proteins pUL36 des Pseudorabies Virus beeinflusst die virale Replikation *in vitro* und die Neuroinvasion *in vivo*

Herpesviren kodieren für eine Ubiquitin-spezifische Proteaseaktivität (DUB), die im Aminoterminus des konservierten großen Tegumentproteins pUL36 lokalisiert ist. Mutationen im aktiven Zentrum führen zum Verlust der DUB Aktivität sowie zu einer eingeschränkten Virusreplikation *in vitro* und *in vivo*. Zur weiteren funktionellen Charakterisierung wurde im aktiven Zentrum der DUB im pUL36 des PrV die konservierte Aminosäure Cystein an Position 26 gegen Serin ausgetauscht. Die so entstandene Virusmutante zeigte nur geringfügig reduzierte Virustiter, jedoch eine deutliche Verminderung der Plaquegrößen. In Ultrastrukturanalysen wurden Akkumulationen von nicht-umhüllten Nukleokapsiden im Zytoplasma beobachtet, wobei jedoch der Einbau des Tegumentproteins pUL37 nicht behindert war. Mäuse, die intranasal mit der Virusmutante infiziert worden waren, überlebten etwa doppelt so lange wie nach Infektion mit dem Wildtypvirus bzw. mit der reparierten Mutante. Die DUB-Aktivität in PrV pUL36 ist also sowohl für die Virusreplikation *in vitro* als auch für die Neuropathogenität *in vivo* von Bedeutung.

Böttcher *et al.* (2008) Mutagenesis of the active-site cysteine in the ubiquitin-specific protease contained in large tegument protein pUL36 of pseudorabies virus impairs viral replication *in vitro* and neuroinvasion *in vivo*. J Virol 82, 6009-6016.

Friedrich-Loeffler-Institut, IMB/IMED, Greifswald-Insel Riems, Deutschland

Proteomanalyse infizierter Zellen

Die Expression herpesviraler Gene in der infizierten Zelle erfolgt kaskadenartig in drei gut charakterisierten kinetischen Klassen. Welche zelleigenen Gene nach Infektion wie stark exprimiert werden, wurde in einer quantitativen Proteomstudie an Rinderzellen, die mit PrV für 4 Stunden infiziert waren, untersucht. Dazu wurde zunächst ein Verfahren zur Fraktionierung der Rohextrakte mittels dreier verschiedener Affinitätsanreicherungen entwickelt. Eine detaillierte Proteomkarte der verwendeten Rinderzelllinie wurde mittels zweidimensionaler Gelelektrophorese und massenspektrometrischer Identifizierung erstellt. Die Quantifizierung der Proteine erfolgte ebenfalls massenspektrometrisch im „SILAC“ (stable isotope labelling with amino acids in cell culture) Verfahren. Das Proteom der Wirtszellen erwies sich nach Infektion mit PrV zwar in qualitativer und quantitativer Hinsicht als überraschend stabil, dennoch wurden signifikante quantitative Veränderungen bei über 50 Proteinen festgestellt, von denen einige für den Infektionszyklus des PrV und anderer Herpesviren von Bedeutung sein könnten. Dazu gehören Bestandteile der Kernlamina bezüglich der Morphogenese von primären Virionen im Zellkern, Vertreter der heterogenen nukleären Ribonukleoproteine

bezüglich des virusinduzierten „shut-off“ und Proteine mit Relevanz für intrazelluläre Transportvorgänge bezüglich der weiteren Virusmorphogenese. In Kombination mit der hochauflösenden zweidimensionalen Elektrophorese gelang bei einer Reihe von Proteinen die Quantifizierung von verschiedenen posttranslational modifizierten Isoformen, die nach Infektion gegensinnige quantitative Veränderungen zeigten. Bei all diesen Proteinen wurde eine Mengenverschiebung hin zu den stärker negativ geladenen Isoformen beobachtet, so dass wir von direkt oder indirekt durch die Infektion induzierten Phosphorylierungen ausgehen.

Skiba, M., Mettenleiter, T.C. und Karger, A (2008) Quantitative whole-cell proteome analysis of pseudorabies virus-infected cells. J Virol 82:9689-99

Friedrich-Loeffler-Institut, IMB, Greifswald-Insel Riems, Deutschland

Sowohl Deletion als auch die GFP-Fusion des Pseudorabies Virus Kapsidproteins pUL35 beeinträchtigen die Virusreplikation in Zellkultur und die Neuroinvasion in Mäusen

Um Bewegungen von Herpesviruspartikeln in lebenden infizierten Zellen einfach beobachten zu können, wurden die nicht essentiellen Kapsidproteine pUL35 des HSV-1 und des PrV mit dem grün fluoreszierenden Protein (GFP) fusioniert. Die biologische Relevanz von PrV pUL35 und die Funktionalität der Fusionsproteine wurden jedoch bislang nicht näher untersucht. Deshalb wurde ein monospezifisches Kaninchen-Antiserum hergestellt, das einen direkten Nachweis des ca. 12 kDa großen UL35 Genproduktes von PrV ermöglichte. Außerdem wurden PrV-Mutanten generiert, die pUL35 entweder gar nicht oder in einer durch N-terminale Fusion mit GFP modifizierten Form exprimierten. Interessanterweise zeigten beide Mutanten ähnliche Replikationsdefekte in Kaninchennieren-Zellkulturen, die bei Verfügbarkeit des authentischen pUL35 *in trans* aufgehoben wurden. In intranasal infizierten Mäusen zeigten beide Mutanten eine verzögerte Neuroinvasion und eine Verlängerung der Überlebenszeiten der Tiere im Vergleich zu einer Wildtypvirusinfektion von zwei auf drei Tage. Folglich entsteht durch die Fusion von pUL35 mit GFP ein Protein, das zwar noch in Viruspartikel eingebaut wird, aber nicht mehr funktionell ist. Dieser deutliche Unterschied zum Wildtypvirus ist bei Verwendung entsprechender Virusmutanten in Infektionsstudien zu beachten.

Krautwald *et al.* (2008) Deletion or GFP-tagging of the pUL35 capsid component of pseudorabies virus impairs virus replication in cell culture and neuroinvasion in mice. J Gen Virol 89, 1346-1351.

Friedrich-Loeffler-Institut, IMB, Greifswald-Insel Riems, Deutschland

1.1.1.2 Bovines Herpesvirus Typ 1

Das UL49-Genprodukt von BoHV-1 beeinflusst die direkte Virusausbreitung von Zelle zu Zelle

BoHV-1 infiziert epitheliale und neuronale Gewebe, in denen es sich durch direkte Infektion von Zelle zu Zelle (cell-to-cell spread, CTCS) ausbreitet. Wie auch bei weiteren Alphaherpesviren wurden für die BoHV-1-Mutante, der das Glykoprotein E fehlt, verringerte Plaquegrößen bei unbeeinträchtigtem viralen Entry gemessen. Zur Klärung der Funktion des UL49-Genproduktes (VP22) im Rahmen des CTCS wurden verschiedene BoHV-1-Mutanten mit Deletionen des UL49 oder des gE oder beiden generiert. Sowohl die Ein-Schritt-Wachstumskinetik als auch elektronenmikroskopische Studien zeigten, dass der Virusegress von UL49-Einzeldeletionsmutanten und gE/UL49-Doppeldeletionsmutanten relativ unbeeinträchtigt bleibt. Die gemessenen Unterschiede in der Mehr-Schritt-Wachstumskinetik und die massiven Differenzen der Plaquegrößen können am besten mit verschiedenen CTCS-Effizienzen erklärt werden. Des Weiteren zeigten Mutanten mit der Einzeldeletion des UL49 einen vergleichbaren Effekt auf den CTCS von BoHV-1 wie gE- Deletionsmutanten (52 % und 53 % Plaquegrößenreduktion), dagegen zeigte die Doppeldeletionsmutante gE/UL49 einen mehr als additiven Effekt (83 % Plaquegrößenreduktion).

Kalthoff *et al.* (2008) The UL49 gene product of BoHV-1: a major factor in efficient cell-to-cell spread. J Gen Virol 89, 2269-2274.

Friedrich-Loeffler-Institut, IVD/IMED, Greifswald-Insel Riems, Deutschland

1.1.1.3 Varicella Zoster Virus

Molekulare und funktionelle Charakterisierung von Varicella zoster-Virus-Isolaten

Bei molekulargenetischen Untersuchungen von 45 VZV-Isolaten wurde eine Assoziation des Genotyps D mit unikalen Mutationen im Glykoprotein E (gE)-Gen gefunden. In den 45 analysierten VZV-Wildtypstämmen der Genotypen A und D wurden 5 neue gE-Mutationen entdeckt. In Tupferproben von 8 Zoster-Patienten aus Tansania konnte durch Sequenzierung von insgesamt 16.392 Bp, die die kompletten offenen Leserahmen 1, 5, 31, 36, 37, 47, 60, 62, 67, and 68 umfassen, der Genotyp M1 identifiziert werden. Die *In vitro*-Infektion von humanen Retinapigmentepithelzellen mit VZV induzierte einen typischen zytopathogenen Effekt (CPE), der durch Zellvergrößerung und erhöhte Granularität gekennzeichnet ist. In Abhängigkeit von der Ausbreitung des CPE können hohe Titer von zellfreiem und kryostabilem VZV gewonnen werden.

Schmidt-Chanasit *et al.* (2008). Novel varicella-zoster virus glycoprotein E gene mutations associated with genotypes A and

D. J Clin Microbiol 46, 325-7.

Schmidt-Chanasit *et al.* (2008). *In vitro* replication of varicella-zoster virus in human retinal pigment epithelial cells. J Clin Microbiol 46, 2122-4.

Schmidt-Chanasit *et al.* (2008). Molecular analysis of varicella-zoster virus strains circulating in Tanzania demonstrating the presence of genotype M1. J Clin Microbiol 46,3530-3.

Institut für Medizinische Virologie Universität Frankfurt; Universität Rostock; Friedrich-Loeffler-Institut, INNT, Greifswald-Insel Riems; M; Bernhard- Nocht-Institut, Hamburg, (alle Deutschland); Ikonda Hospital, Njombe, Tanzania; Zoological Institute, University of Bern, Bern, Switzerland

1.1.2 Familie *Alloherpesviridae*

Das erst vor etwa zehn Jahren entdeckte Koi Herpesvirus (KHV, Cyprinid Herpesvirus 3) gehört in die neue Familie *Alloherpesviridae* der Ordnung *Herpesvirales*. Bedingt durch den regen Zierfischhandel tritt die KHV-Infektion mittlerweile fast weltweit bei Kois und Nutzkarpfen auf. Sie verursacht schwere Erkrankungen, die durch Haut- und Kiemenläsionen sowie durch zentralnervöse Störungen gekennzeichnet sind und zu Massensterben in den Beständen führen können. Zur Bekämpfung stehen bislang keine sicheren Impfstoffe und nur wenige diagnostische Hilfsmittel zur Verfügung.

Identifizierung des Hüllproteins pORF81 des Koi-Herpesvirus mit Hilfe eines monospezifischen Kaninchen-Antiserums

Das KHV besitzt das mit 295 kbp größte bekannte Herpesvirusgenom, welches für 156 verschiedene vorhergesagte Proteine kodiert. Bislang wurde jedoch kein KHV-Protein sicher identifiziert oder funktionell charakterisiert. In der vorliegenden Studie wurde ein Kaninchen-Antiserum gegen ein bakterielles Fusionsprotein hergestellt, das den Nachweis des von KHV ORF81 kodierten, vorhergesagten Typ III Membranproteins ermöglichte. In Western Blot Analysen zeigte das abundante ORF81 Genprodukt eine apparente Masse von 26 kDa und war offensichtlich nicht glykosyliert. Mittels indirekter Immunfluoreszenz und Immun-Elektronenmikroskopie konnte es im Zytoplasma infizierter Zellen und in der Virushülle lokalisiert werden. Das Antiserum war auch zur Detektion von pORF81 mittels Immunhistochemie in Dünnschnitten von Kiemen, Nieren, Hepatopankreas und Haut KHV-infizierter Karpfen geeignet.

Rosenkranz *et al.* (2008) Identification of envelope protein pORF81 of koi herpesvirus using a monospecific rabbit antiserum. J Gen Virol 89, 896-900.

Friedrich-Loeffler-Institut, IMB/IMED, Greifswald – Insel Riems, Deutschland

1.2 DNA/RNA Revers Transkribierende Viren

1.2.1 Familie *Retroviridae*

Retroviren kommen bei zahlreichen Säugetieren, Vögeln, Reptilien und Insekten vor. Bei Wiederkäuern sind das Bovine Leukose Virus (BLV), das Bovine Immunschwäche Virus (BIV) und das Bovine Foamy Virus (BFV) beschrieben, bei Pferden das Virus der Infektiösen Anämie der Einhufer (EIAV). Das zur Gattung *Deltaretrovirus* zählende BLV hat als Tierseuchenerreger eine besondere Bedeutung. Auch Schafe sind, im Gegensatz zu Ziegen, gegenüber einer BLV-Infektion empfänglich und entwickeln unter experimentellen Bedingungen multiple Tumoren. Darüber hinaus sind die zur Gattung *Lentivirus* gehörenden Retroviren bei Schafen (Maedi Visna Virus; MVV) und Ziegen (Caprine Arthritis Enzephalitis Virus; CAEV) Erreger von chronisch progressiven Erkrankungen. Retroviren der Gattung Betaretrovirus (Jaagsiekte-Retrovirus; JSRV, Enzootisches Nasentumor Virus; ENTV-1, ENTV-2) besitzen onkogene Eigenschaften.

1.2.1.1 Deltaretrovirus

BLV gehört taxonomisch zu den Deltaretroviren, zu denen auch die humanpathogenen Viren HTLV-1 und HTLV-2 sowie die eng verwandten Affen-Viren STLV-1, -2 und -3 zählen. Es verursacht bei Rindern, Büffeln und Wasserbüffeln die enzootische Leukose der Rinder (ERL), eine persistierende Leukämie. Die Infektion kann auch auf Schafe übertragen werden. Experimentell lässt sich das lymphotrope BLV auch auf zahlreiche andere Tierarten übertragen. Je nach Verlaufsform bleiben infizierte Tiere asymptomatisch oder entwickeln eine persistierende B-Zell-Leukämie und/oder multiple Tumoren als klinische Symptome. Die Infektion kann durch Milch und Blut übertragen werden. Für wärmere Länder wird auch eine Übertragung durch blutsaugende Insekten diskutiert.

Nachweis von Bovinem Leukosevirus (BLV) in Gewebeproben natürlich und experimentell infizierter Rinder

Bei Rindern spielt die ERL-Diagnostik auch nach erfolgreicher Durchführung von Sanierungsprogrammen noch immer eine besondere Rolle. Eine vollständige Eradikation ist bis heute nicht realisiert worden. Sporadisch werden bei Schlachtkörperuntersuchungen von Rindern neoplastische Veränderungen lymphatischer Gewebe beobachtet, die eine Abklärung erfordern. Da in der Regel von diesen Tieren keine serologischen Daten erhoben werden können und es erfahrungsgemäß

nicht unproblematisch ist, ohne Zeitverzug Bestandsblutproben zu erhalten, eröffnet die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) als ergänzendes Diagnostikum für Abklärungsuntersuchungen an unfixierten Gewebsproben obduzierter oder geschlachteter Tiere weitere diagnostische Möglichkeiten. Von 14 natürlich und experimentell BLV-infizierten Rindern, deren infektions- und serologischer Status bekannt war, wurde DNA aus Lymphknotengewebe extrahiert und in einer PCR auf das Vorliegen env-Gen-spezifischer BLV-Sequenzen untersucht. Die Ergebnisse belegen, dass sowohl von Rindern mit durch BLV verursachter Leukose als auch von klinisch und pathomorphologisch unauffälligen BLV-infizierten Tieren mit und ohne persistierender Lymphozytose provirale DNA aus unfixierten Gewebsproben auf einfache Weise und in hoher Übereinstimmung mit den serologischen Befunden nachgewiesen werden kann.

Teifke, J.P und Vahlenkamp, T.W. (2008) Nachweis von Bovinem Leukosevirus (BLV) in Gewebsproben natürlich und experimentell infizierter Rinder. Berl Münch Tierärztl Wschr 121, 263-269.

Friedrich-Loeffler-Institut, IMB/IMED, Greifswald-Insel Riems, Deutschland

1.3 RNA-Viren

1.3.1 Familie *Reoviridae*

Die Familie der *Reoviridae* umfasst unbehüllte Viren mit ikosaedrischem Kapsid und einem Durchmesser von 60-80 nm. Reoviren kommen im Tierreich weit verbreitet vor (Säugetiere, Reptilien, Fische, Krustentiere und Insekten). Drei Gattungen umfassen Pflanzenviren. Das Genom besteht aus doppelsträngiger RNA (dsRNA) aus je nach Gattung 10 – 12 Segmenten.

1.3.1.1 Orbivirus

Orbiviren besitzen ein dsRNA Genom aus 10 Segmenten. Die Übertragung zwischen den Vertebratenwirten findet durch eine Reihe blutsaugender Insekten (Gnitzen) statt. Zu dieser Gattung gehören die Erreger der Blauzungenkrankheit (BTV), der afrikanischen Pferdepest (AHSV) und der epizootischen Haemorrhagie der Hirsche (EHDV). Vom Erreger der Blauzungenkrankheit (BTV) sind bislang mindestens 24 verschiedene Serotypen mit unterschiedlicher Virulenz bekannt. Die Krankheit betrifft Wiederkäuer, wie z. B. Schafe, Rinder und Ziegen, aber auch Wildwiederkäuer sind betroffen. Die Blauzungenkrankheit ist eine anzeigepflichtige Tierseuche. Für den Menschen besteht keine Ansteckungsgefahr, weshalb Fleisch- und Milchprodukte ohne Bedenken verzehrt werden können.

Wiederauftreten von BTV-8 in den Jahren 2007 und 2008 in Deutschland

Nach dem Erstausbruch von Blauzungenkrankheit des Serotyps 8 (BTV-8) im Jahr 2006 in Deutschland wurde das Wiederauftreten von BTV-8 im Mai 2007 in einem sogenannten Sentinel-Tier erstmalig nachgewiesen und im Jahr 2008 bereits im Februar in einem in Quarantäne befindlichen Exporttier detektiert. Diese unerwartet frühen Nachweise wurden mittels PCR-Analyse, Virusisolierung, serologischer Untersuchung und der experimentellen Inokulation von Rindern abgesichert. Die Infektion der Tiere hat dabei im April bzw. Januar stattgefunden, so dass hier erstmalig eine sogenannte „Winterübertragung“ gesichert belegt werden konnte und zudem die kontinuierliche Weiterverbreitung von BTV-8 über das gesamte Jahr angenommen werden muss. Als mögliche Faktoren könnten dabei besonders in den Stallungen vorkommende infizierte Vektoren, aber auch intrauterine Infektionen mit verlängerter Virämie der neugeborenen Kälber eine Rolle spielen.

Hoffmann *et al.* (2008) Bluetongue virus serotype 8 reemergence in Germany, 2007 and 2008. Emerg Infect Dis 14, 1421-1423.

Maan *et al.* (2008) Sequence analysis of bluetongue virus serotype 8 from the Netherlands 2006 and comparison to other European strains. Virology 377, 308-318.

Makoschey *et al.* (2008). Bluetongue control--a new challenge for Europe. Berl Münch Tierärztl Wschr 121, 306-313.

Friedrich-Loeffler-Institut, IVD, Greifswald-Insel Riems; Staatliches Veterinäruntersuchungsamt Krefeld; Landeslabor Brandenburg, Frankfurt-Oder, (alle Deutschland); Department of Arbovirology, Institute for Animal Health, Pirbright Laboratory, Woking, Surrey, UK; Virology Division, Onderstepoort Veterinary Institute, South Africa; Department of Virology, Veterinary and Agrochemical Research Centre, Ukkel, Belgium; UMR 1161 Afssa/INRA/ENVA, Agence Française de Sécurite Sanitaire des Aliments, Maisons Alfort, France; Intervet/Schering-Plough Animal Health, Boxmeer, Niederlande; Afssa, Maisons-Alfort, Frankreich; Gembloux Hochschule für Landwirtschaft, Belgien; Universität Neapel, Italien; Tiergesundheitsdienst Deventer, Niederlande; Veterinärmedizinische Hochschule Alfort, Maisons-Alfort, Frankreich; CVI Wageningen UR, Lelystad, Niederlande; Agro-chemisches Forschungsinstitut (VAR), Brüssel, Belgien; Universität Lüttich, Belgien; CReSA, Barcelona, Spanien; Universität Madrid, Spanien; Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Deutschland; IZS Lombardia e Emilia Romagna, Italien

1.3.2 Familie *Rhabdoviridae*

Zu dieser Familie gehören behüllte Viren mit einem unsegmentierten RNA-Genom negativer Polarität. Tierpathogene Rhabdoviren haben eine typische geschossförmige Gestalt mit einer Länge von 100-430 nm und einem Durchmesser von 45-100 nm. Vertreter dieser Familie haben ein sehr breites Wirtsspektrum, wobei einige nur in Säugetieren, Vögeln, Fischen, Arthropoden oder anderen wirbellosen Tieren replizieren. Viele

replizieren allerdings sowohl in Arthopoden als auch in Wirbeltieren und werden daher zu den Arboviren gezählt. Weitere Vertreter infizieren sowohl Pflanzen als auch sich von Pflanzen ernährende Insekten.

1.3.2.1 Lyssavirus

Der typische Vertreter dieser Gattung ist der Erreger der Tollwut (**Tollwutvirus, Rabiesvirus**). Für zehn der elf bislang bekannten Lyssaviren stellen Fledermäuse das Hauptreservoir dar. Genotyp 1 umfasst den weltweit bei Karnivoren vorkommenden Erreger der „klassischen Tollwut“ (Rabiesvirus, RABV). Die Genotypen 2, Lagos Bat Virus (LBV); 3, Mokola Mirus (MOKV); 4, Duvenhage Virus (DUVV); 5 und 6, European bat lyssavirus 1 & 2 (EBLV-1 &-2); und 7, Australian bat lyssavirus (ABLV), kommen nur in bestimmten geographischen Regionen vor. Für die jüngst isolierten Lyssaviren Aravan Virus (ARV), Khujand Virus (KHUV), Irkut Virus (IRV) und West Caucasian Bat Virus (WCBV) steht eine Klassifizierung noch aus.

Molekular-epidemiologische Untersuchungen zur Tollwut in Eurasien

Die klassische Tollwut wird durch das Rabiesvirus (RABV) hervorgerufen. Phylogenetische Untersuchungen deuten darauf hin, dass weltweit eine „Kosmopolitische Linie“ dominiert. Diese scheint ihre Wurzeln im 17. Jahrhundert in Europa zu haben und ist vermutlich mit Kolonisierungs- und Forschungsexpeditionen nach Amerika, Asien und Afrika verbreitet worden. Am Beispiel von Sequenzanalysen von Tollwutvirusisolaten aus mehr als drei Jahrzehnten aus dem Balkan (ehemaliges Jugoslawien, Bosnien-Herzegowina, Bulgarien und Rumänien) wurden das Vorkommen und die Verwandtschaftsverhältnisse innerhalb der RABV in dieser Region untersucht. Eine Reihe verschiedener RABV-Varianten wurden identifiziert. Die Ergebnisse zeigen die Verbreitung der Tollwut durch den Fuchs als Wildtierreservoir. Interessanterweise sind Isolate aus Bulgarien phylogenetisch näher mit denen aus Serbien und Bosnien-Herzegowina als mit denen aus dem östlichen Rumänien verwandt.

Johnson *et al.* (2008) Epidemiology of rabies in Southeast Europe. Dev Biol (Basel) 131:189-198.

McElhinney *et al.* (2008) Molecular epidemiology of lyssaviruses in Eurasia. Dev Biol (Basel) 131:125-131.

Veterinary Laboratories Agency, Weybridge, UK; Friedrich-Loeffler-Institut, IfE Wusterhausen, Deutschland; Impfstoffwerk Dessau-Tornau GmbH, Roslau, Deutschland; Etlik Central Veterinary Control and Research Institute, Ankara, Turkey; National Diagnostic and Research Veterinary Institute, Sofia, Bulgaria; Institute for Diagnosis and Animal Health, Bucharest, Romania; Department of Infectious Diseases, University of Sarajevo; Veterinary Institute of the Republic of Srpska, Banja Luka, (both Bosnia and Hercegovina); Pasteur Institute, Novi Sad, Serbia; Changchun Veterinary Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, China; Unité de la Rage et Laboratoire des Lyssavirus, Institut Pasteur, Paris, France

Phylogenetische Untersuchungen von EBL-Viren aus Deutschland

In Europa wird die Fledermaustollwut durch die Europäischen Fledermaustollwutvirus Typen 1 und 2 (EBLV-1 und EBLV-2) hervorgerufen. EBLV-1 wird überwiegend bei der Breitflügelfledermaus (*Eptesicus serotinus*) nachgewiesen, während bisher ausschließlich Wasser- und Teichfledermäuse (*Myotis daubentonii* und *Myotis dasycneme*) positiv auf EBLV-2 getestet wurden. Die genetische Charakterisierung und phylogenetische Untersuchung von Virusisolaten aus Deutschland bestätigten vorangegangene Studien, wonach innerhalb von EBLV-1 eine hohe Sequenzidentität besteht. Es konnte jedoch gezeigt werden, dass bestimmte genetische Cluster der EBLV-1 Viruspopulation in Deutschland räumlich strukturiert sind. Beim Subtyp EBLV-1a deuten fast identische Sequenzen innerhalb eines geographisch begrenzten Gebietes auf eine große Stabilität des Genoms bei der Viruszirkulation hin, was ein Indiz für eine geringe Ausbreitungstendenz und Vermischung in der Fledermauspopulation darstellt. Das Vorkommen vom Subtyp 1b im Südwesten Deutschlands (Saarland) wurde bestätigt. Hierbei wurden bei einzelnen Isolaten Insertionen im N-P intergenischen Bereich identifiziert. 2007 konnte EBLV-2 erstmals in Deutschland bei einer Wasserfledermaus (*Myotis daubentonii*) aus dem baden-württembergischen Biberach nachgewiesen werden. Das Virus wurde isoliert und mittels Typisierung und partieller Sequenzierung als EBLV-2 identifiziert. Eine phylogenetische Analyse zeigte hohe Sequenzähnlichkeit mit Virusisolaten aus der Schweiz. Dies korreliert mit dem Fundort der Fledermaus in relativer Nähe zur Schweiz.

Freuling *et al.* (2008) A random grid based molecular epidemiological study on EBLV isolates from Germany. Dev Biol (Basel) 131:301-309.

Freuling *et al.* (2008) First Isolation of EBLV-2 in Germany. Vet Microbiol 131:26-34.

Friedrich-Loeffler-Institut, IfE, Wusterhausen, Staatliches Tierärztliches Untersuchungsamt Aulendorf; Arbeitskreis Fledermäuse Bodensee Oberschwaben, Konstanz; Institute of Virology, Tierärztliche Hochschule Hannover (alle Deutschland); Veterinary Laboratories Agency, Weybridge, UK; Unité de la Rage et Laboratoire des Lyssavirus, Institut Pasteur, Paris, France

Pathogenitätsstudien von EBLVs in Fledermäusen

Über die Mechanismen, die der Übertragung von europäischen Fledermaustollwutviren (EBLV) zugrunde liegen, sowie ihre Pathogenität/Virulenz in Fledermäusen ist nur wenig bekannt. Um die Wirtsreaktion gegenüber

EBLV-Infektionen zu untersuchen, wurden die Große Braune Fledermaus (*Eptesicus fuscus*) sowie Teichfledermäuse (*Myotis daubentonii*) experimentell mit EBLV-1 bzw. EBLV-2 infiziert. Dabei wurden verschiedene Infektionswege benutzt, um mögliche natürliche Übertragungswege zu imitieren. Die Fledermäuse wurden für 120 Tage p.i. beobachtet und es wurden in regelmäßigen Abständen Speichel sowie Blut gewonnen. Während in mit EBLV-1 infizierten *E. fuscus* virusneutralisierende Antikörper nachgewiesen werden konnten, serokonvertierte keine der mit EBLV-2 inokulierten *M. daubentonii*. In Abhängigkeit vom Inokulum, der Inokulationsdosis sowie dem gewähltem Infektionsweg variierte die Mortalität zwischen 0 und 100%. Die Studien weisen darauf hin, dass bei Fledermäusen der Virusübertragung via Speichel in Zusammenhang mit Bissverletzungen in die Epidermis bzw. Unterhaut eine besondere Bedeutung bei der Übertragung von EBLVs zukommt. Anhaltspunkte für einen asymptomatischen „Carrier Status“ wurden nicht gefunden.

Franka *et al.* (2008) Susceptibility of North American big brown bats (*Eptesicus fuscus*) to infection with European bat lyssavirus type 1. J Gen Virol 89, 1998-2010.

Johnson *et al.* (2008) Experimental study of European bat lyssavirus type-2 infection in Daubenton‘s bats (*Myotis daubentonii*). J Gen Virol 89, 2662-2672

Friedrich-Loeffler-Institut, IfE, Wusterhausen; IDT Biologica GmbH, Dessau-Rosslau; University of Tübingen, (alle Deutschland); Center of Disease Control and Prevention, Atlanta, USA; Veterinary Laboratories Agency Weybridge, WHO Collaborating Center for the Characterization of Rabies and Rabies-related Viruses, Rabies & Wildlife Zoonoses Group, Dept. of Virology, Addlestone, UK

Tollwut-Freiheit: Theoretische Ansätze zu den Kosten eines Impfgürtels und Impfstrategien für den Notfall

Ist die Tollwut in einem Gebiet getilgt, stellen Reinfektionen von benachbarten endemisch infizierten Regionen eine permanente Gefahr dar. In einem theoretischen Ansatz wurde die EU als tollwutfrei gesetzt, während die umgebenden Anrainerländer noch endemisch infiziert sind. Die Größe des zu etablierenden Impfgürtels und die daraus resultierenden Kosten für die Abwehr einer Reinfektion wurden errechnet. Den Empfehlungen der EU entsprechend wurde ein 50 km tiefer Impfgürtel vor der epidemischen Front entlang der infizierten Anrainerländer etabliert. Die Größe des zu etablierenden Impfgürtels würde demnach 263.000 km² betragen. Dadurch ergeben sich jährliche Kosten, die unter Verwendung von Kleinflugzeugen zwischen 8,2 und 16 Mio € liegen. Diese Kosten würden sich durch den ausschließlichen Einsatz von Helikoptern auf jährlich 24.5 Mio erhöhen. Einige Mitgliedstaaten müssten dabei in Abhängigkeit von der Länge der Grenze zu infizierten Anrainerländern bis zu 25% der Gesamtkosten tragen und könnten zudem niemals einen tollwutfreien Status erlangen.

Zusätzlich ist es wichtig , Impfstrategien für Notfallsituationen infolge Reinfektion tollwutfreier Gebiete zu erarbeiten. In Simulationsexperimenten wurden verschiedene Optionen für eine Notfallimpfung um den ersten entdeckten Tollwutfall (Ringimpfung vs. Flächenimpfung in unterschiedlicher Intensität und Ausdehnung) untersucht. Schlüsselfaktoren, wie das Gesundheitsrisiko (Anzahl Tollwutfälle), Fehlerrisiko (Ausbrechen der Tollwut aus Impfgebieten) und Kostenrisiken (geplante Kosten vs. mögliche Ausgaben), wurden gleichzeitig berücksichtigt. Interessanterweise ergaben die Ergebnisse Strategien, die den vorgefassten Plänen für eine Notfallstrategie widersprachen.

Freuling *et al.* (2008) The financial challenge of keeping a large region rabies-free--the EU example. Dev Biol (Basel) 131, 273-282.

Thulke *et al.* (2008) Scenario-analysis evaluating emergency strategies after rabies re-introduction. Dev. Biol (Basel) 131, 265-272.

Friedrich-Loeffler-Institut, IfE, Wusterhausen; Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz, Bonn; Helmholtz Zentrum für Umweltforschung - UFZ, Leipzig, (alle Deutschland)

1.3.2.2 Novirhabdovirus

Fischpathogene Rhabdoviren werden in die Gattung *Novirhabdovirus* eingruppiert. Sie enthalten ein Gen mehr als die klassischen Rhabdoviren. Dieses kodiert für ein Nichtstruktur-, d.h. „non-virion“ (NV) Protein.

Entwicklung einer Oralvakzine zur Immunisierung von Forellen (*Oncorhynchus mykiss*) gegen die Virale Hämorrhagische Septikämie (VHS)

Die Strategie der EU zur Bekämpfung von Fischseuchen ist auf die Eradikation der VHS ausgerichtet. Wirksame Impfstoffe standen bisher nicht zur Verfügung. Hier wird ein neues Wirkprinzip für die Freisetzung eines attenuierten VHS-Virus (VHSV) zur Immunisierung von Forellen beschrieben. Die Vakzine, die in Polyethylenglycol (PEG) eingebettetes lyophilisiertes Virus enthält, wird mittels Kaltextrusion hergestellt. Durch Zusatz neutralisierender Substanzen zum Oralimpfstoff wird nach deren Zerfall im Magen ein neutraler pH-Wert erzeugt und das Vakzinevirus vor dem sauren Magensaft geschützt.

Die Wirksamkeit des Freisetzungsprinzips für das attenuierte VHSV wurde in Tierversuchen nachgewiesen. Bei den Untersuchungen zur Sicherheit konnten keine Impfunverträglichkeiten festgestellt werden.

In weiteren Untersuchungen wurde die Stabilität des attenuierten Vakzinestamms nachgewiesen. Bei fünf Forellenpassagen durch i.p. Applikation und Reisolierung des Vakzinevirus 3-7 d. p. appl. aus verschiedenen

Organen wurden bei der klinischen und pathologisch-anatomischen Untersuchung der Fische keine besonderen Befunde festgestellt. Der Nachweis der genetischen Stabilität des attenuierten VHSV erfolgt durch Sequenzierung ausgewählter Genomabschnitte.

Adelmann *et al.* (2008). Development of an oral vaccine for immunisation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) against viral haemorrhagic septicaemia. Vaccine 26, 837-844.

Friedrich-Loeffler-Institut, IMED/IfI, Tübingen; Riemser Arzneimittel AG, Greifswald; Ernst Moritz Arndt Universität Greifswald, Institut für Pharmazie, (alle Deutschland)

1.3.3 Familie *Paramyxoviridae*

Zur Familie *Paramyxoviridae* gehören ebenfalls behüllte Viren mit einer einzelsträngigen, linearen RNA negativer Polarität. Paramyxoviren sind bei Säugetieren und Vögeln weit verbreitete Erreger wichtiger Erkrankungen wie, z.B. der Staupe und der Newcastle-Krankheit (ND).

1.3.3.1 Avulavirus

Der typische Vertreter dieser Gattung ist das **Virus der Newcastle-Krankheit (NDV)**, auch als aviäres Paramyxovirus Serotyp 1 (APMV-1) bezeichnet. Die ND ist eine hochkontagiöse Infektionskrankheit des Geflügels, die weltweit vorkommt. Die Empfänglichkeit von Vögeln aus 27 von 50 Ordnungen ist beschrieben, besonders empfänglich gegenüber der Erkrankung sind Hühner und Puten. Zu unterscheiden sind verschiedene Pathotypen. Velo- und mesogene Viren induzieren eine akute systemische Erkrankung und sind anzeigepflichtig. Demgegenüber verlaufen Infektionen mit lentogenen Viren zumeist symptomfrei. Insgesamt sind neun Serotypen (APMV-1 bis -9) der aviären Paramyxoviren beschrieben, wobei der Serotyp 1 bzw. NDV am besten charakterisiert ist.

Etablierung von serologischen Nachweissystemen für NDV-spezifischen Antikörpern beim Wassergeflügel

Ein gegen Serumimmunglobulin Y (IgY) von Pekingenten gerichteter monoklonaler Antikörper wurde auf seine Funktionalität in Testsystemen zur NDV-Diagnostik untersucht. Mit Hilfe APMV-1-positiver Seren von Hausgänsen und Flugenten konnte gezeigt werden, dass der mab 14A3 eine spezifische Färbung APMV-1 infizierter Zellen im Immunfluoreszenztest vermittelt. Darüber hinaus bewährte er sich in einem indirekten Ezyme-linked-Immunosorbent-Assay (ELISA) und im Westernblot. Der untersuchte monoklonale Antikörper ist somit ein attraktives und vielseitig einsetzbares Reagens, das die Möglichkeit eröffnet, serologische Testverfahren für das Wassergeflügel zu entwickeln, die im Falle des ELISA einen hohen Probendurchsatz oder im Falle des WB die Feinanalyse der humoralen Immunantwort erlaubt.

Kothlow *et al.* (2007) Evaluation of Newcastle disease virus immunoassays for waterfowl using a monoclonal antibody specific for the duck immunoglobulin light chain. Avian Pathol 37, 323-328.

Institut für Physiologie, Universität München; Friedrich-Loeffler-Institut, IVD, Greifswald-Insel Riems, (beide Deutschland)

1.3.4 Familie *Orthomyxoviridae*

Die Familie *Orthomyxoviridae* umfasst behüllte Viren mit einem segmentierten Genom aus einzelsträngiger RNA negativer Polarität. In die lipidhaltige Virushülle sind 1−3 Glykoproteine und 1−2 nicht-glykosylierte Proteine eingelagert, die 10−14 nm lange und 4−6 nm im Durchmesser große sichtbare Spikes auf der Oberfläche bilden. Die Übertragung findet überwiegend durch Tröpfcheninfektion statt. Dies gilt insbesondere für die Influenzaviren, die bei Säugetieren und Vögeln symptomlose Infektionen oder schwere Erkrankungen hervorufen können.

1.3.4.1 Influenza A Virus

Das Genom der Influenza A Viren ist in acht Segmente unterteilt. Charakterisiert werden die Influenza A Viren durch die Glykoproteine Haemaglutinin (H) und Neuraminidase (N), von denen 16 bzw. 9 Subtypen bekannt sind. Die Nomenklatur erfolgt nach dem Muster A/HxNx. Infektionen mit Influenza A-Viren besitzen für Mensch und Tier große Bedeutung. Ähnlich wie beim Menschen verlaufen solche Infektionen bei Pferden und Schweinen als fieberhafte Allgemeinerkrankung mit respiratorischer Symptomatik. Beim Geflügel kann es dagegen zu verlustreichen systemischen Infektionen kommen, sofern die Erreger eine hohe Pathogenität besitzen. Hochpathogene Biotypen entstehen durch Mutation aus niedrigpathogenen Vorläufern, die ihr natürliches Reservoir in aquatisch lebenden Wildvogelpopulationen haben. Infektionen mit hochpathogenen aviären Influenzaviren der Subtypen H5 und H7 werden als klassische Geflügelpest bezeichnet. Eine Besonderheit stellen Infektionen mit dem aus Asien stammenden Geflügelpestvirus des Subtyps H5N1 dar. Es kann beim Menschen eine tödlich verlaufende Erkrankung auslösen.

Entwicklung und Optimierung von schnellen Methoden zur Subtypisierung von Influenza A-Viren und vollständigen Sequenzierung von Influenza-A-H5N1-Genomen

Hochpathogene Influenza-A-Viren des Subtyps H5N1 traten erstmals 2006 in Deutschland auf. Influenzaviren dieses Subtyps sind humanpathogen und führten in rund

60 % der Fälle zum Tode des Patienten. Im Falle eines Influenza A/H5 Ausbruches ist die schnellstmögliche Subtypisierung und Bestimmung der Pathogenität des Virus erforderlich, um zielgenau weitere Maßnahmen ergreifen zu können. In verschiedenen Arbeiten wurden einfache und schnelle Methoden zur Subtypisierung und Charakterisierung entwickelt. Mit Hilfe von spezifischen RT-PCRs konnten alle neun bekannten NA-Subtypen anhand von Referenzisolaten und Routineproben sensitiv und spezifisch nachgewiesen werden. Ein universell einsetzbarer Algorithmus zur molekularen Subtypisierung von PCR-positiven Feldproben als Alternative zur klassischen serologischen Subtypisierung von AIV wird empfohlen.

Weiterhin wurde eine Methode zur raschen Pathotypisierung von H5-AIV validiert. Sie beruht auf der Analyse der Restriktionsenzym-Muster (RECP) unter Verwendung des Enzyms MboII von RT-PCR-Produkten. Die hier vorgestellte Pathotypisierung aktueller H5-Viren ist nicht nur schnell, zuverlässig, vergleichsweise sensitiv, sondern kann auch in weniger gut ausgestatteten Laboratorien durchgeführt werden.

Umfassende Informationen über die Pathogenität von A/H5N1-Viren sind jedoch nur anhand vollständiger Genomsequenzen der Isolate verfügbar. Daher wurde eine Methode entwickelt, mit der innerhalb von nur drei Tagen die kompletten Genome von Influenza-A-H5N1-Viren direkt aus diagnostischen Proben bestimmt werden können. Hierfür wurde die erst seit 2006 kommerziell verfügbare Genome-Sequencer-Technologie etabliert. Beim Genome Sequencer handelt es sich um ein Hochdurchsatzsystem zur DNA-Sequenzierung, mit dem bis zu 100 Mb Rohsequenz in einem Gerätelauf (8 Stunden) erzeugt werden können. Die in der Probe enthaltenen Influenza-Genome spezifisch durch eine einfache RT-PCR amplifiziert und in eine Standard-DNA-Bibliothek für die Sequenzierung umgewandelt. Durch Zusammenfügen der erhaltenen kurzen Sequenzabschnitte aus den Rohdaten zu größeren zusammenhängenden Sequenzen, die den einzelnen Genomsegmenten entsprechen, erhält man sehr zuverlässige Sequenzen, in denen jede Base vielfach sequenziert wurde. Diese Sequenzen können dann zur Feindiagnostik verwendet werden. Mit dem vorgelegten Protokoll kann die Zeit zur Ermittlung kompletter Influenza-Genomsequenzen von zwei Wochen auf drei Tage verkürzt werden.

Fereidouni *et al.* (2009) Rapid molecular subtyping by reverse transcription polymerase chain reaction of the neuraminidase gene of avian influenza A viruses. Vet Microbiol 135, 253-60.

Fereidouni *et al.* (2008) Rapid pathotyping of recent H5N1 highly pathogenic avian influenza viruses and of H5 viruses with low pathogenicity by RT-PCR and restriction enzyme cleavage pattern (RECP). J Virol Methods 154, 14-9.

Höper, D., Hoffmann, B., Beer, M. (2009) Simple, sensitive, and swift sequencing of complete Avian Influenza H5N1 genomes, J Clin Microbiol 47(3):674-9.

Friedrich-Loeffler-Institut, IVD/IMB, Greifswald-Insel Riems, Deutschland

Entwicklung und Einsatz der DNA-Chip-Technologie für eine umfassende Influenzavirus-Diagnostik

Vor dem Hintergrund des kontinuierlichen Auftretens neuer Virusstämme sind schnelle und verlässliche Methoden zur umfassenden Charakterisierung von AIV essentiell. Im Rahmen von Monitoringprogrammen oder Ausbruchsszenarien werden die Grenzen herkömmlicher molekularer Methoden, wie z.B. real-time-RT-PCR oder Sequenzierung, offensichtlich. DNA-Chips (engl. microarrays) hingegen erlauben die simultane Detektion einer Vielzahl von Genen und bieten daher neue Möglichkeiten. Es wurde ein Microarray-System entwickelt, das die Haemagglutinin- und Neuraminidase-Subtypisierung, Pathotypisierung und spezifische Detektion des seit 2006 in Deutschland aufgetretenen HPAIV H5N1/Asia clade 2.2 sowie die Differenzierung eurasischer und nordamerikanischer AIV H5 und H7 ermöglicht. Der neue Test ist einfach durchzuführen und erlaubt die hochsensitive (vergleichbar einer Real-time-RT-PCR) und spezifische Feinanalyse von AIV aus Virusisolaten und diagnostischen Proben innerhalb von 24 Stunden.

Gall *et al.* (2008) Universal primer set for amplification and sequencing of HA_0 cleavage sites of all influenza A viruses. J Clin Microbiol 46, 2561-2567.

Gall *et al.*(2009). Design and validation of a microarray for detection, haemagglutinin subtyping and pathotyping of avian influenza viruses. J Clin Microbiol 47(2):327-34.

Friedrich-Loeffler-Institut, IVD, Greifswald-Insel Riems, Deutschland

Phylogenetische Analyse hochpathogener Influenzavirusisolate (H5N1) aus Deutschland 2006 und 2007 deutet auf separate Viruseinträge hin

Hochpathogenes aviäres Influenzavirus (HPAIV) vom Subtyp H5N1 trat in Deutschland erstmals im Frühjahr 2006 auf. Der Nachweis erfolgte aus 343 toten Wildvögeln, einem Zooschwan, drei Katzen, einem Steinmarder sowie aus einem Putenbestand. Sieben Bundesländer waren betroffen. Im Sommer 2007 wurde das Virus erneut in Proben toter Wildvögel im Süden Deutschlands nachgewiesen (vier Bundesländer). Zusätzlich waren zwei Entenmastbetriebe infiziert. Mittels Sequenzierung und phylogenetischer Analyse der Hämagglutinin- und Neuraminidasegene von 27 H5N1-

Isolaten aus verschiedenen Regionen und Tierspezies konnte gezeigt werden, dass es sich hierbei um drei eng verwandte, aber deutlich voneinander unterscheidbare Viren handelte. Sie konnten 2006 den H5N1-Sublinien 2.2.1 sowie 2.2.2 zugeordnet werden, während die 2007er Viren zur Sublinie 2.2.3. gehören. Daher muss von mindestens drei verschiedenen Viruseinträgen nach Deutschland ausgegangen werden. Für 2006 erscheint ein Eintrag durch Wildvögel aus Zentral- und Südrussland wahrscheinlich, während es 2007 offensichtlich zu einer neuen Infektion aus unbekannter Quelle kam. Ein neuerlicher Ausbruch von HPAIV H5N1 im Oktober 2008 ist auf einen Stamm zurückzuführen, der schon 2006 in Deutschland nachgewiesen wurde. Die Ursachen dieses Ausbruchs sind unklar.

Starick *et al.* (2008) Vet Microbiol 128, 243-52.

Friedrich-Loeffler-Institut, IVD/IMB, Greifswald-Insel Riems, Deutschland; Friedrich-Loeffler-Institut, IfE, Wusterhausen, Deutschland

Experimentelle Infektion von Kälbern mit hochpathogenem aviären Influenzavirus vom Subtyp H5N1

Veröffentlichte Ergebnisse zur serologischen Untersuchung von Vertretern der Familie *Bovidae* (Rinder und Büffel) im Hinblick auf Influenzaviren und die Beschreibung eines von einem Kalb isolierten Influenzastammes waren Anlass für die Untersuchung der Empfänglichkeit von Holstein-Friesen-Kälbern für HPAIV-H5N1. Dazu wurden vier Kälber im Alter von drei Monaten intranasal mit dem H5N1-Stamm A/cat/Germany/R606/2006 inokuliert. Zwei weitere Tiere wurden als Kontakttiere gehalten. Bei keinem der Tiere konnten klinische Symptome beobachtet werden. Virusausscheidung über das Nasensekret konnte jedoch über zwei Tage nachgewiesen werden. Bei allen inokulierten Kälbern und einem der Kontakttiere konnte eine Serokonversion nachgewiesen werden. Diese ließ sich bis zu drei Monate nach Virusinokulation per ELISA und Virusneutralisationstest belegen. Dagegen reagierten die Seren im Hämagglutinationshemmungstest zu diesem Zeitpunkt negativ. Damit könnten bovine Seren in Endemiegebieten wie beispielsweise in Asien, wo der Kontakt zwischen Geflügel und Rindern gegeben ist, eine zusätzliche Informationsquelle für epidemiologische Untersuchungen darstellen.

Kalthoff *et al.* (2008) Experimental infection of cattle with highly pathogenic avian influenza virus (H5N1). Emerg Infect Dis 14, 1132-1134.

Friedrich-Loeffler-Institut, IVD, Greifswald-Insel Riems, Deutschland

Experimentelle Infektion von adulten Höckerschwänen mit hochpathogenem aviärem Influenzavirus vom Subtyp H5N1

Vor allem in Europa gehörten Schwäne zu der am stärksten bei Ausbrüchen von hochpathogenem Influenzavirus (HPAIV) H5N1 betroffenen Wildvogelspezies. Brown *et al.*, 2008 identifizierten juvenile Höckerschwäne als wahrscheinlichste Übertrager von HPAIV H5N1.

Mit dieser Studie sollte geklärt werden, ob bei adulten Höckerschwänen altersbedingte Unterschiede in der Empfänglichkeit bestehen und welche Rolle frühere Infektionen mit niedrig pathogenen aviären Influenzaviren spielen. Dazu wurden immunologisch naive Höckerschwäne im Alter von einem bis zu vier Jahren mit zwei unterschiedlichen Dosen des HPAIV A/Cygnus cygnus/Germany/R65/2006 infiziert. Von zwei Höckerschwänen mit prä-experimentell erworbenen spezifischen Antikörpern gegen aviäres Influenzavirus wurde ein Tier ebenfalls mit der hohen Dosis inokuliert und ein Schwan als Kontakttier in der hohen Dosisgruppe gehalten. Ein naives Tier aus der niedrigen Dosisgruppe und beide Antikörper-positiven Tiere aus der hohen Dosisgruppe überlebten, während alle weiteren Tiere verstarben bzw. aufgrund des Schweregrades der Symptome euthanasiert wurden. Zusammenfassend erwiesen sich adulte Höckerschwäne als hoch empfänglich, schieden über mehrere Tage Virus aus und wurden durch eine präexistierende erworbene Immunität vor klinischer Erkrankung geschützt.

Kalthoff *et al.* (2008) Highly pathogenic avian influenza virus (H5N1) in experimentally infected adult mute swans. Emerg Infect Dis 14, 1267-1270.

Friedrich-Loeffler-Institut, IVD/IMED/IMB, Greifswald-Insel Riems, Deutschland

Experimentelle Infektion und natürliche Kontaktexposition von Hunden mit aviärem Influenzavirus H5N1

Kontaktexpositionsexperimente von naiven Hunden mit Influenzavirus H5N1 infizierten Katzen und von naiven Hunden mit Influenzavirus H5N1 infizierten Hunden ergab keine Intraspezies- bzw. Interspeziesübertragung. Experimentell infizierte Hunde zeigten erhöhte Körpertemperatur, virale RNA in pharyngealen Tupferproben und entwickelten eine spezifische Antikörperantwort, jedoch keine weiteren klinischen Symptome.

Giese *et al.* (2008) Experimental infection and natural contact exposure of dogs with H5N1 avian influenza virus. Emerg Infect Dis 14, 308-310.

Friedrich-Loeffler-Institut, IMB/IVD/IMED, Greifswald-Insel Riems, Deutschland

Vorkommen von Influenza A/H5N1 Virus Infektionen bei Katzen in Gebieten mit Nachweis von hochpathogenem aviären H5N1 Virus bei Wildvögeln

Natürliche und experimentelle Infektionen zeigten, dass Katzen empfänglich für das hochpathogene aviäre Influenzavirus H5N1 sind. Katzen können schwere klinische Symptome entwickeln und an der Infektion sterben, jedoch wurden auch subklinische Infektionen beschrieben. Um mehr über die Bedeutung der Übertragung der Infektion durch Katzen und des Infektionsrisikos für Katzen zu lernen, wurde die Prävalenz des H5N1 Virus bei 171 Katzen aus Gebieten mit infizierten Wildvögeln in Deutschland und Österreich untersucht. Pharyngeale Tupferproben wurden mittels real-time PCR auf virale RNA und Serumproben auf das Vorhandensein Influenza-spezifischer Antikörper untersucht. In keiner der Proben konnten Hinweise auf eine Influenzavirusinfektion nachgewiesen werden.

Marschall *et al.* (2008) Prevalence of influenza A H5N1 virus in cats from areas with occurrence of highly pathogenic avian influenza in birds. J Feline Med Surg 10, 355-358.

Medizinische Tierklinik, Ludwig-Maximilians-Universität, München; Friedrich-Loeffler-Institut, IMB/IVD, Greifswald-Insel Riems; Laboklin, Bad Kissingen, IDEXX, Offenburg (alle Deutschland)

Schutz von Katzen gegenüber einer lethalen Belastungsinfektion mit dem aviären Influenzavirus H5N1

Das hochpathogene aviäre Influenzavirus H5N1 aus Asien zirkuliert weiterhin in Geflügelbeständen und Wildvögeln und stellt unverändert eine veterinär- und humanmedizinische Herausforderung in Asien, Europa und Afrika dar. Natürliche Übertragungen des HPAIV H5N1 Virus von Geflügel zum Menschen und Übertragungen vom Geflügel oder Wildvögeln auf Groß- und Hauskatzen wurden beschrieben. Experimentell konnten letale Infektionen bei Hauskatzen mit einem humanen HPAI H5N1 Virus ausgelöst werden. Die Bedeutung von Katzen bei der Adaptierung des aviären Virus an Säugetiere ist bislang ungeklärt. In diesem Beitrag konnte gezeigt werden, dass Katzen von einer letalen Belastungsinfektion durch Immunisierung mit einem inaktivierten, adjuvierten, heterologen aviären Influenzavirus des Subtyps H5N6 geschützt werden können. Zudem zeigten die Untersuchungen, dass naive Katzen nach Infektion mit einer niedrigen Infektionsdosis keine klinischen Symptome entwickeln und lediglich geringe Mengen infektiöses Virus ausscheiden. Da erkrankte Katzen das Virus auf nicht-infizierte Kontakttiere übertragen können, sollte eine mögliche epidemiologische Rolle von Katzen bei der Übertragung des Virus in endemisch infizierten Gebieten in Betracht gezogen werden.

Vahlenkamp *et al.* (2008) Protection of cats against lethal influenza H5N1 challenge infection. J Gen Virol 89, 968-974.

Friedrich-Loeffler-Institut, IMB/IVD/IMED, Greifswald-Insel Riems, Deutschland; Intervet UK

Influenzavirusinfektionen beim Kleintier

In den vergangenen Jahren kam es beim Geflügel in Europa gehäuft zu Infektionen mit hochpathogenen aviären Influenzaviren. Eine direkte Übertragung aviärer Influenzaviren auf Säugetiere war nur für wenige Arten, wie z.B. Schwein, Nerz, Frettchen und Seehund, beschrieben. Hinsichtlich der Übertragung dieser Viren auf den Menschen ging man davon aus, dass das Schwein eine besondere Rolle spielt, da diese Tiere mit aviären und mit humanen Influenzaviren infiziert werden können. Mit dem mittlerweile in Asien, Europa und Afrika auftretenden hochpathogenen aviären Influenzavirus des Subtyps H5N1 wurden erstmals auch letal verlaufende Infektionen bei Katzen und einem Hund beobachtet. Zudem kommt es immer wieder zu Infektionen von Menschen. In dem vorliegenden Artikel werden grundlegende Eigenschaften von Influenzaviren erklärt und ein Überblick über Influenzavirusinfektionen bei Katze und Hund gegeben.

Vahlenkamp T.W. (2008) Influenzavirusinfektionen beim Kleintier. Kleintierpraxis 53, 376-383.

Friedrich-Loeffler-Institut, IMB, Greifswald-Insel Riems

Entwicklung viraler Vektorvakzinen/Markervakzinen

Kommerziell erhältliche Impfstoffe gegen aviäre Influenza basieren überwiegend auf inaktivierten Vollviruspräparationen. Diese schützen die Tiere zwar wirksam vor aviären Influenzavirus (AIV)-Infektionen des entsprechenden Hämagglutinin (HA)-Subtyps, eine Unterscheidung von geimpften und Feldvirus-infizierten Tieren ist aber nicht oder nur durch aufwändige serologische Verfahren möglich. Bislang ist nur ein Markerimpfstoff auf der Basis von attenuiertem Geflügelpockenvirus, das lediglich das protektive HA-Protein des AIV exprimiert, zugelassen, wodurch bei Einsatz geeigneter Antikörper-Nachweisteste gegen weitere AIV-Proteine eine einfache Erkennung infizierter Tiere möglich wird. Allerdings müssen alle bisher verfügbaren Impfstoffe individuell verabreicht werden.

Daher wird im genannten Projekt der Schwerpunkt auf die Entwicklung massenapplizierbarer Markerimpfstoffe gelegt. Eine Hämagglutinin vom Subtyp H5 exprimierende Lebendvirusvakzine auf Basis des Newcastle Disease Virus (NDV-H5), welche grundsätzlich eine Applikation über Spray oder Trinkwasser erlaubt, zeigte in früheren Experimenten bereits eine gute Schutzwirkung gegen

eine Infektion mit hochpathogenem AIV (HPAIV) vom Subtyp H5. Daneben wurden diverse weitere Impfstoffe beschrieben, die Tiere wirksam gegen HPAIV schützen. Um die Effizienz der NDV-H5 Rekombinante vergleichend einschätzen zu können, wurde die Wirksamkeit dreier kommerziell erhältlicher AIV H5 Vakzinen (H5N2 (A), H5N9 (B), H5N3 (C)) und einer weiteren HA-exprimierenden Vektorvakzine (Modified vaccinia virus (MVA)-H5) in SPF-Hühnern gegen HPAIV vom Subtyp H5 untersucht. Während die inaktivierte Vakzine A, NDV-H5, Vakzine C und MVA-H5 vor Sterblichkeit schützten, erlagen 20% der mit Vakzine B immunisierten Tiere einer tödlichen Belastungsinfektion. Unterschiede ergaben sich weiterhin im Grad der Ausscheidung des AIV-Belastungsvirus, die bei Vakzine A, NDV-H5, Vakzine C, MAV-H5 und Vakzine B bei 0%, 10%, 20%, 50% bzw. 70% Virusausscheidern lag.

Die Ergebnisse zeigen, dass die NDV-AIV-Vektorvakzine eine nahezu vergleichbare Wirksamkeit wie der beste inaktivierte Impfstoff aufweist und darüber hinaus Vorteile bei der Applikation und der Unterscheidung von geimpften und infizierten Tieren bietet. Es sind jedoch noch weitere Untersuchungen nötig, in denen die Wirksamkeit unter praxisrelevanten Bedingungen, z.B. bei präexistierender Immunität gegen das Vektorvirus, getestet werden muss.

Veits *et al.* (2008) Protective efficacy of several vaccines against highly pathogenic H5N1 avian influenza virus under experimental conditions. Vaccine 26, 1688-1696.

Friedrich-Loeffler-Institut, IMB und IVD, Greifswald – Insel Riems; Department of Virology, Paul-Ehrlich-Institut, Langen, (alle Deutschland)

Die Schutzwirkung einer NDV-basierten attenuierten Vektorvakzine gegen hochpathogenes aviäres Influenzavirus des Subtyps H5 hängt von der Homologie des H5 zwischen Vakzine und Belastungsvirus ab

Eine NDV-Vektor-basierte attenuierte Lebendvakzine (NDVH5m), die das Hämagglutinin des hochpathogenen Influenzavirus (HPAIV) H5N2 exprimiert, schützt gegen Infektion mit dem homologen Influenzavirus. Der Vorteil einer solchen Vakzine ist neben der Anwendbarkeit für eine Massenapplikation als Spray oder über das Trinkwasser die einfache serologische Differenzierung zwischen infizierten und vakzinierten Tieren durch Nachweis von Antikörpern gegen andere Influenzaproteine als H5. Mit diesem Impfvirus wurde aber nur ein partieller Schutz gegen eine Infektion mit heterologem HPAIV H5N1 (Vietnam) erreicht. Dagegen waren Hühner 3 Wochen nach Immunisierung mit einer neuen NDV-Rekombinante, die das H5 aus H5N1 (Vietnam) exprimiert, vollständig gegen eine Infektion mit HPAIV H5N1 (Vietnam) geschützt. Die Aminosäureidentität zwischen den H5 Sequenzen der beiden Impfviren betrug 93,6 %. Die Ergebnisse der Versuche weisen darauf hin, dass es notwendig sein kann, das Impfvirus an das jeweils aktuell zirkulierende HPAIV anzupassen.

Römer-Oberdörfer *et al.* (2008) Level of protection of chickens against highly pathogenic H5 avian influenza virus with Newcastle disease virus based live attenuated vector vaccine depends on homology of H5 sequence between vaccine and challenge virus. Vaccine 26, 2307-2313.

Friedrich-Loeffler-Institut, IMB, Greifswald-Insel Riems; Institut für Physiologie, Universität München, (beide Deutschland)

Epidemiologische Untersuchungen auf Porzines Influenza A-Virus in ausgewählten Schwarzwildpopulationen in Deutschland

Gegenstand des Projektes war die Evaluierung der epidemiologischen Situation der Influenza A-Virusinfektion bei Wildschweinen in ausgewählten Gebieten Deutschlands. Hierzu wurden serologische Untersuchungen in verschiedenen Bundesländern wie auch virologische Untersuchungen in Teilen des Landkreises Nordvorpommern (Mecklenburg-Vorpommern) durchgeführt. Insgesamt wurden 1.245 Seren von Wildschweinen im Hämagglutinationstest untersucht. Die Seroprävalenz gegen porzine Influenza-Viren war gering (5,2 %). Antikörper wurden nur gegen die Subtypen H1N1 und H3N2 festgestellt, wobei Unterschiede in der Prävalenz zwischen verschiedenen Populationen und den Altersklassen auftraten. Nur zwei virologisch positive Wildschweine (0,8 %) wurden im Rahmen der Untersuchungen (Lungen von 242 gestreckten Tieren) im Landkreis Nordvorpommern festgestellt. Die serologische Typisierung der Isolate ergab den Subtyp H3N2. Molekularbiologische Untersuchungen der Hämagglutinin (HA)- und Neuraminidase (NA)-Gene bestätigten dieses Ergebnis. Die Studie zeigt, dass die untersuchten Schwarzwildpopulationen hinsichtlich porzinen Influenza A-Viren keine potentielle Gefahr für Hausschweinebestände darstellen.

Kaden *et al.* (2008) Epidemiological survey of swine influenza A virus in selected wild boar populations in Germany. Vet Microbiol 131, 123-132.

Friedrich-Loeffler-Institut, IMED und IVD, Greifswald-Insel Riems; Veterinary and Food Monitoring Office Nordvorpommern, Grimmen; Department for Diagnostic Investigation of Epizootics (LALLF), Rostock, (alle Deutschland)

Antikörper und CD4+ T-Zellen vermitteln Kreuzimmunität gegen H5N1 Influenza-Virus Infektion in Mäusen nach Vakzinierung mit einem niedrig pathogenen H5N2 Stamm

In dieser Studie wurde die Rolle der Immunantwort bei der Kreuzimmunität gegen hochpathogenes

aviäres Influenzavirus (HPAIV) vom Subtyp H5N1 untersucht. Hierfür wurde ein niedrigpathogenes aviäres Influenzavirus (LPAIV) vom Subtyp H5N2 als Vakzine verwendet. Wildtyp, Antikörper-defiziente (µMT), CD4-/- und CD8-/- Mäuse wurden mit dem apathogenen H5N2 geimpft, und 80 Tage später eine Belastungsinfektion mit 100-facher MLD50 des H5N1 Stamms durchgeführt. Während 100% der Wildtyp- und 100% der CD8-/- Mäuse gesund blieben, waren nur 50% der CD4-/- und keine der Antikörper-defizienten Mäuse geschützt. Diese Ergebnisse unterstützen den Standpunkt, dass die humorale Immunantwort und zu einem bestimmten Teil auch die CD4+ T-Helferzellen eine Voraussetzung für die Kreuz-Immunität bei H5 Influenzaviren sind.

Droebner *et al.* (2008) Antibodies and CD4$^+$ T-cells mediate cross-protection against H5N1 influenza virus infection in mice after vaccination with a low pathogenic H5N2 strain. Vaccine 26:6965-74.

Friedrich-Loeffler-Institut, IfI, Tübingen; Bavarian Health and Food Safety Authority, Oberschleissheim; Interfacultary Institute for Cell Biology, Department of Immunology, Tübingen, (alle Deutschland)

Die Rolle der Hyperzytokinämie in NF-κB p50-defizienten Mäusen nach einer H5N1 Influenzavirus-infektion

Die Infektion mit dem H5N1 Influenza A Virus führt zur deutlichen Erhöhung von pro-inflammatorischen Zytokinen in den Lungen infizierter Wirte. Die Bedeutung dieser fehlregulierten Zytokinantwort für die H5N1-vermittelte Pathogenese ist bisher ungeklärt. Um den Einfluss der Hyperzytokinämie („cytokine storm“) auf die Pathogenese zu untersuchen, wurden NF-κB p50 defiziente Mäuse verwendet. Die NF-κB p50 Untereinheit ist ein Bestandteil des klassischen NF-κB Signalweges. Dieser reguliert die Induktion der meisten proinflammatorischen Zytokine, welche bei der Hyperzytokinämie involviert sind. Die Deletion der p50 Untereinheit führt zu einer deutlich reduzierten Expression der NF-κB-regulierten Zytokine und Chemokine. H5N1-infizierte transgene Mäuse zeigten trotz des Ausbleibens der Hyperzytokinämie eine unveränderte Pathogenese. Die Fehlregulation der Zytokinantwort kann somit als Ursache für den drastischen Verlauf einer H5N1 Infektion ausgeschlossen werden.

Droebner, K., Reiling, S.J., Planz, O. (2008) Role of Hypercytokinemia in NF-κB p50-Deficient Mice after H5N1 Influenza A Virus Infection. J. Virol. 82(22):11461-11466.

Friedrich-Loeffler-Institut, IfI, Tübingen, Deutschland

Assoziation eines Epitops des Influenzavirus Nukleoproteins (NP) mit polymeren Formen des NP

Das intrazelluläre Influenzavirus Nukleoprotein NP ist durch eine hohe Effizienz einer Homopolymerbildung charakterisiert. Allerdings ist deren antigene Struktur nur unvollständig bekannt. Die vorliegenden Untersuchungen zeigten, dass der spezifische monoklonale Antikörper N5D3 in der Radioimmunpräzipitation intrazelluläre NP-Polymere bindet. Diese Bindung wurde von RNase nicht verhindert. Im Gegensatz dazu wurden NP-Monomere, die durch eine temperaturbedingte Dissoziation des NP-Polymers generiert wurden, nicht gebunden. Aufgrund der durch die Dissoziation erhöhte Konzentration an NP-Monomeren kommt es aber sowohl in der löslichen als auch in der immobilisierten Form zu einer NP-NP Selbstassemblierung, die von einer Renaturierung des Epitops für den monoklonalen Antikörper begleitet ist. Die gleichen Beobachtungen konnten im denaturierenden Westernblot gemacht werden. Diese Ergebnisse zeigen, dass die *In-vivo*-Bildung und die *In-vitro*-Renaturierung des NP-Epitops von Interaktionen innerhalb der Untereinheiten des monomeren NP abhängig sind. NP- und NP-NP-Interaktionen beeinflussen die antigene Struktur der Influenzavirus NP-Polymere. Deshalb könnte der oligomere Zustand des NP für die Entwicklung von Influenzavirus-Vakzinen von Bedeutung sein.

Prokudina *et al.* (2008). An antigenic epitope of influenza nucleoprotein (NP) associated with polymeric forms of NP. Virology J 5, 37-40.

Semenova et al. (2008). Native and renatured oligomer-dependent epitopes of intracellular influenza virus nucleocapsid protein. Vopr Virusol, 53, 21-24.

Ivanovsky Institute, Moscow, Russia and Friedrich-Loeffler-Institut, IfI, Tübingen, Deutschland

1.3.5 Familie *Bunyaviridae*

Zur Familie *Bunyaviridae* zählen die Gattungen Hantavirus, Orthobunyavirus, Nairovirus und Phlebovirus, denen eine Reihe von tier- und humanpathogenen Erregern zugeordnet werden. Hantaviren, Krim-Kongo-Hämorrhagisches Fieber-Virus und Rifttalfiebervirus verursachen in bestimmten Regionen der Welt immer wieder umfangreiche Krankheitsausbrüche in der Bevölkerung bzw. bei landwirtschaftlichen Nutztieren. Außer bei Hantaviren erfolgt die Übertragung der Bunyaviren auf Mensch und Haustier durch Arthropoden, wie Mücken und Zecken.

Bunyaviren sind behüllte Viren mit einem segmentierten einzelsträngigen RNA-Genom negativer Polarität. Die drei Genomsegmente werden nach ihrer Größe als S- (small), M- (medium) und L- (large) Segment bezeichnet. Die Strukturproteine werden von zwei Segmenten kodiert, das Nukleokapsidprotein vom S-Segment und die Hüllproteine vom M-Segment. Das L-Segment kodiert für eine RNA-abhängige RNA-Polymerase. Bei einigen Gattungen der Bunyaviren wurden zusätzlich

überlappende Leserahmen auf dem S- und M-Segment beschrieben.

1.3.5.1 Hantavirus

Hantavirus-Infektionen können beim Menschen zwei unterschiedliche Krankheitsbilder hervorrufen, das Hämorrhagische Fieber mit renalem Syndrom (HFRS) und das hantavirale kardiopulmonale Syndrom. Art und Schwere der klinischen Symptomatik der humanen Infektionen werden maßgeblich durch die Hantavirus-Spezies bestimmt und reichen von klinisch inapparenten Infektionen bis zu tödlichen Verläufen. Bei Infektionen mit den amerikanischen Hantaviren Sin Nombre-Virus (SNV) und Andesvirus (ANDV) wird eine Letalität von bis zu 40% beobachtet. In Europa und Asien liegt die Letalität, in Abhängigkeit von der Hantavirus-Spezies, bei 0,1 – ca. 12%.

Das natürliche Reservoir für Hantaviren sind wildlebende Nagetiere, die persistent mit dem Virus infiziert sind. Generell ist eine Hantavirus-Spezies immer eng mit einer Reservoirart oder sehr nahe verwandten Arten der gleichen Gattung assoziiert. In Deutschland kommen mindestens 3 Hantavirus-Arten vor: das Rötelmaus-übertragene Puumalavirus (PUUV), das von der Feldmaus (*Microtus arvalis*) übertragene Tulavirus (TULV) und das Brandmaus-übertragene Dobrava-Belgrad-Virus.

Hantavirus-Infektionen sind in Deutschland seit etwa 25 Jahren bekannt. Die durchschnittliche Antikörperprävalenz in der Bevölkerung liegt bei ca. 1-2%. Nach Einführung der Meldepflicht im Jahr 2001 sind jährlich durchschnittlich etwa 70 bis 240 Fälle gemeldet worden. Im Jahr 2005 und insbesondere im Jahr 2007 ist jedoch ein deutlicher Anstieg der Zahl der gemeldeten Fälle registriert worden. Die am meisten betroffenen Regionen lagen in den Bundesländern Baden-Württemberg, Bayern, Nordrhein-Westfalen und Niedersachsen.

Netzwerk „Nagetier-übertragene Pathogene“: Longitudinalstudie zu Hantavirus-Infektionen in Reservoirwirten und molekular-epidemiologische Untersuchungen zu Hantavirus-Ausbrüchen in Deutschland

Im Gegensatz zur epidemiologisch gut erfassten Situation beim Menschen ist die Kenntnis der geographischen Verbreitung und Häufigkeit von Hantavirus-Infektionen in den Nagetierreservoiren sehr begrenzt. Aus diesem Grund wurde in Deutschland das Netzwerk „Nagetier-übertragene Pathogene“ etabliert, das interdisziplinäre Untersuchungen zur Nagetier-Populationsdynamik, Prävalenz und Evolution von Hantaviren und anderen Nagetier-assoziierten Zoonoseerregern und den zugrunde liegenden Mechanismen sowie deren Auswirkungen auf die Häufigkeit humaner Infektionen erlaubt. Ein Monitoring von Hantaviren in Nagetieren wurde in Endemiegebie-ten (Baden-Württemberg, Bayern, Nordrhein-Westfalen, Niedersachsen) und Regionen mit einer geringen Zahl humaner Infektionen (Mecklenburg-Vorpommern, Brandenburg, Sachsen, Sachsen-Anhalt, Thüringen, Schleswig-Holstein, Hessen, Rheinland-Pfalz) initiiert. Insgesamt wurde eine breite geographische Verbreitung des PUUV in Rötelmäusen und des TULV in Feldmäusen dokumentiert. In den Hantavirus-Ausbruchsgebieten in Baden-Württemberg, Bayern, Nordrhein-Westfalen und Niedersachsen wurde bei Rötelmäusen eine hohe PUUV-Prävalenz beobachtet. Initiale Longitudinalstudien in Nordrhein-Westfalen (Stadt Köln), Bayern (Niederbayern) und Niedersachsen (ländliche Region bei Osnabrück) zeigten ein stabiles Vorkommen des PUUV in den Rötelmauspopulationen. Die begonnenen Studien werden Schlussfolgerungen zur Evolution von Hantaviren und anderen Nagetier-assoziierten Erregern und zu Veränderungen in deren Häufigkeit und Verbreitung ermöglichen. Diese Untersuchungen werden zukünftig eine verbesserte Risikoabschätzung für die Gefährdung der Bevölkerung ermöglichen, die auch die möglichen zukünftigen Klimawandel-bedingten Veränderungen in der Epidemiologie Nagetier-assoziierter Zoonoseerreger berücksichtigt. Die im Rahmen des Netzwerkes gesammelten Kleinsäugerproben führten auch zur Identifikation des ersten *Gammaherpesvirus* bei einer Spitzmaus.

Während des großen Hantavirus-Ausbruchs im Jahr 2007 mit insgesamt 1688 gemeldeten Fällen in Deutschland wurden umfangreiche sero- und molekularepidemiologische Untersuchungen an HFRS-Patientenproben und Reservoirnagetieren aus Baden-Württemberg und weiteren Regionen durchgeführt. Die in verschiedenen Regionen Deutschlands gefundenen PUUV-Sequenzen zeigten untereinander eine starke Divergenz. Eine phylogenetische Analyse der Sequenzen aus Patienten zeigte in Abhängigkeit von deren Wohnorten eine Zuordnung der Sequenzen in 4 Gruppen (Schwäbische Alb, Spessart, Münsterland und Bayerischer Wald). Die viralen Sequenzen aus Patienten und Rötelmäusen aus der gleichen geographischen Region zeigten eine sehr große Übereinstimmung. Zusammenfassend zeigten die Untersuchungen das von der Rötelmaus übertragene PUUV als ätiologische Ursache des Ausbruchs.

Ulrich *et al.* (2008). Network „Rodent-borne pathogens“ in Deutschland: longitudinal studies on the geographical distribution and prevalence of hantavirus infections. Parasitol Res 103 Suppl

1,121-9.

Hofmann *et al.* (2008). Hantavirus outbreak, Deutschland, 2007. Emerg Infect Dis 14, 850-2.

Ehlers *et al.* (2008). Novel mammalian herpesviruses and lineages within the *Gammaherpesvirinae*: cospeciation and interspecies transfer. J Virol 82, 3509-16.

Schönrich *et al.* (2008). Hantavirus-induced immunity in rodent reservoirs and humans. Immunol Rev 225:163-89.

Friedrich-Loeffler-Institut, INNT, Greifswald - Insel Riems; Bernhard-Nocht-Institut, Hamburg; Julius Kühn-Institut, Münster; Landesforstanstalt Eberswalde; Potsdam-Institut für Klimafolgenforschung, Potsdam; Bundeswehr Institut für Mikrobiologie, München; Landesgesundheitsamt Baden-Württemberg, Stuttgart; Gesundheitsamt Köln; Landesamt für Forsten und Großschutzgebiete, Schwerin; Landesforstbetrieb Sachsen-Anhalt, Flechtingen; Institut für Biologie, Universität Leipzig; Zoologisches Institut, Universität Rostock; Robert Koch-Institut, Berlin; Institut für Virologie, Charité, Berlin; Institut für Medizinische Virologie, Universität Tübingen; Institut für Virologie, Universität Ulm; Institut für Medizinische Virologie, Universität Frankfurt; Institut für Virologie, Universität Essen; Institut für Virologie, Infektiologie and Epidemiologie, Stuttgart (alle Deutschland); Computational and Molecular Population Genetics und Institute of Animal Pathology, University of Berne, Schweiz; Centre for Tropical Veterinary Medicine, University of Edinburgh; Institute of Virology, University of Glasgow, (beide UK); Centre de biologie et de Gestion des populations (CBGP), INRA-EFPA, Montferrier sur Lez, France; Laboratoire Interactions Hôtes-Virus, Institut Pasteur de la Guyane, French Guiana

Entwicklung von serologischen Testverfahren zum Nachweis von Hantavirus-Infektionen und deren Anwendung bei seroepidemiologischen Studien

Auf der Basis eines rekombinanten, in Hefezellen exprimierten Hantaanvirus (HTNV)-Nukleokapsid (N)-Proteins wurden indirekte und capture-ELISAs zum Nachweis von HTNV-spezifischen IgG- und IgM-Antikörpern in humanen Serumproben entwickelt. Die Sensitivität und Spezifität der ELISAs wurde durch Vergleich der Reaktivität von Seren von HFRS-Patienten aus China mit einem kommerziellen IgG/IgM-Kit bestimmt. Die Sensitivität der indirekten IgM- und IgG-Tests betrug 100% und die Spezifität der beiden Tests betrug 98% und 99%. Die Sensitivität und Spezifität des capture-IgM-ELISA betrugen 100% und 97%. Die neuen Tests wurden erfolgreich zum Nachweis von HTNV-spezifischen Antikörpern in Akutphase-Seren von HFRS-Verdachtsfällen in China eingesetzt. Somit sind sie für diagnostische und seroepidemiologische Untersuchungen geeignet.

In Frankfurt wurde im Oktober 2007 bei einem Patienten ein schwerer Fall von HFRS diagnostiziert. Serologische und molekularbiologische Untersuchungen bestätigten eine DOBV-Infektion als Ursache der Erkrankung. Die Infektion erfolgte vermutlich bei einem längeren Aufenthalt in seinem Heimatort in Serbien. Die Beschreibung dieses durch eine importierte DOBV-Infektion hervorgerufenen schweren HFRS-Falles sollte die Aufmerksamkeit von Ärzten für schwere Verläufe von HFRS in Regionen Deutschlands erhöhen, in denen normalerweise nur milde bis moderate, durch PUUV-Infektion verursachte Fälle auftreten.

Bisher gibt es keine dokumentierten klinischen Fälle von humanen Hantavirus-Infektionen aus Indien, obwohl serologische Hinweise auf das dortige Vorkommen von Hantaviren vorliegen. In einer Studie wurde die Hantavirus-Prävalenz in einem Serumpanel von 661 Patienten mit chronischer Nierenerkrankung, Lagerarbeitern und Nagetierfängern bestimmt. Als Kontrolle dienten Proben von gesunden Blutspendern. Unter Verwendung eines kommerziellen ELISA und eines indirekten Immunfluoreszenztests wurden insgesamt 38 seropositive Proben identifiziert, von denen 28 auch im Western Blot-Test unter Verwendung eines rekombinanten HTNV-N-Proteins nachgewiesen wurden. Somit bestätigte diese Studie das Vorkommen von Hantaviren in Indien. Weiterführende Untersuchungen müssen zukünftig zeigen, welche Hantavirus-Arten in Indien verbreitet sind.

Petraitytė *et al.* (2008). Development and evaluation of serological assays for detection of Hantaanvirus-specific antibodies in human sera using yeast-expressed nucleocapsid protein. J Virol Methods 148, 89-95.

Chandy *et al.* (2008) Seroepidemiological study on hantavirus infections in India. Trans R Soc Trop Med Hyg 102, 70-4.

Schmidt-Chanasit *et al.* (2008) Clinical course and laboratory parameters of the first Dobrava-Belgrade hantavirus infection imported to Germany. J Clin Virol 42, 91-3.

Friedrich-Loeffler-Institut, INNT, Greifswald-Insel Riems, Institut für Medizinische Virologie Universität Frankfurt; Institut für Medizinische Virologie, Charité, Berlin; Institut für Pathologie, Universität Frankfurt; (alle Deutschland); Institute of Biotechnology, Vilnius, Lithuania; Central Laboratory of Scientific Research of Shenyang Infectious Disease Hospital, Shenyang, China; Virus Reference Division, Centre for Infections, Health Protection Agency, London, UK; Christian Medical College, (Department of Clinical Virology, Department of Nephrology, Department of Community Health and Department of Clinical Pathology & Blood Bank), Vellore, India; Department of Microbiology, PGIBMS, Madras University, India; Graduate School of Medicine, Hokkaido University, Sapporo, Japan

1.3.6 Familie *Picornaviridae*

Zur Familie *Picornaviridae* gehören unbehüllte Viren mit einem einzelsträngigen, linearen RNA-Genom positiver Polarität. Die Viren dieser Familie gehören mit einer Größe von 22 - 30 nm zu den kleinsten Viren. Picornaviren kommen bei einer Vielzahl von Wirbeltieren vor. Wichtige Picornaviren bei Tieren sind das Maul- und-Klauenseuche-Virus (MKSV) und das Virus der

vesikulären Schweinekrankheit (Swine vesicular disease virus, SVDV).

1.3.6.1 Aphthovirus

Zu dieser Gattung zählt das Virus der **Maul- und Klauenseuche (MKS)**. Dabei handelt es sich um eine fieberhafte Allgemeinerkrankung der Klauentiere, die noch in vielen außereuropäischen Ländern, insbesondere in der Türkei sowie in Teilen Asiens, Afrikas und Südamerikas vorkommt. Die MKS führt zur Bildung von Bläschen (Aphthen) und Erosionen an kutanen Schleimhäuten und unbehaarten Teilen der Haut, insbesondere im Bereich des Maules und der Klauen. Sie verläuft bei erwachsenen Tieren meist nicht letal, führt aber bei Rindern zu einem lang anhaltenden Leistungsabfall. Bei Jungtieren können hohe Verluste durch Schädigung des Herzmuskels auftreten. Die MKS gehört wegen ihrer potentiell katastrophalen Auswirkungen auch heute noch zu den wirtschaftlich bedeutsamsten Tierseuchen. Ihre besondere Bedeutung beruht auf ihrer hohen Kontagiosität sowie auf den wirtschaftlichen Verlusten infolge der zu ihrer Bekämpfung erforderlichen drastischen Sperr- und Kontrollmaßnahmen.

Homologe und heterologe Schutzwirkung von MKS-Vakzinen

Im Rahmen eines EU-Projektes wurden homologe und heterologe Challenge-Experimente mit verschiedenen MKS-Stämmen des Serotyps A (A22 Irak, A24 Cruzeiro, A Iran96, A Iran99, A Egypt 06 und A Türkei 06) nach der Vorschrift der European Pharmacopoeia durchgeführt. Die klinischen Ergebnisse wurden mit denen serologischer Tests verglichen. Das Ziel der Arbeiten ist die Entwicklung von *In vitro*-Verfahren, um die Schutzwirkung von MKS-Vakzinen gegen Feldstämme vorherzusagen. Es zeigte sich, dass hoch potente Impfstoffe gegen Serotyp A oft eine Schutzwirkung auch gegen eindeutig heterologe Belastungsinfektionen haben. Aufgrund der niedrigen „r-values“, die den Grad der Verwandtschaft zwischen Impf- und Belastungsstamm angeben, war dies nicht unbedingt zu erwarten. Die Schutzwirkung korrelierte mit dem Niveau Challengevirus-spezifischer neutralisieren-der Antikörper. Es deutet sich aber an, dass dieses für die Tierseuchenbekämpfung positive Ergebnis nicht für den Serotyp O gilt. In Zukunft soll in Zusammenarbeit mit dem Weltreferenzlabor für MKS und weiteren Partnern versucht werden, die Bestimmung der „r-values“ zu standardisieren.

Brehm *et al.* (2008) High potency vaccines induce protection against heterologous challenge with foot-and-mouth disease virus, Vaccine 26, 1681-1687.

Gorisa *et al.* (2008) Indirect foot-and-mouth disease vaccine potency testing based on a serological alternative. Vaccine 26, 3870-3879.

Friedrich-Loeffler-Institut, IVD, Greifswald-Insel Riems; Department of Ecological Modelling, Leipzig; UFZ Helmholtz Centre for Environmental Research; Bayer HealthCare, Animal Health, Köln, (alle Deutschland); Veterinary and Agrochemical Research Centre, Virology Department and Coordination Centre for Veterinary Diagnostics, Brussels; Ghent University, Department of Virology, Parasitology and Immunology, Laboratory of Virology, Merelbeke, (all Belgium); Federal Governmental Institution “Federal Centre for Animal Health”, Biological and Technical Control Department, Vladimir, Russia

1.3.7 Familie *Flaviviridae*

Zur Familie *Flaviviridae* gehören umhüllte Viren mit einem linearen einzelsträngigen RNA-Genom positiver Polarität. Die Familie wird in die Genera *Flavivirus* (Typvirus Gelbfiebervirus), *Pestivirus* (Typvirus Erreger der klassischen Schweinepest) sowie *Hepacivirus* (Erreger der Hepatitis C) unterteilt.

1.3.7.1 Flavivirus

Zur Gattung *Flavivirus* gehören u.a. die humanpathogenen bzw. zoonotischen Erreger des Gelbfiebers, des Dengue-Fiebers, des West-Nil-Fiebers und der Frühsommer-Meningo-Enzephalitis (FSME). Die Viren werden hauptsächlich durch Arthropoden-Vektoren (Mücken, Zecken) übertragen. In unseren Breiten gehört die FSME zur wichtigsten durch Arthropoden übertragenen Virusinfektion. Auch die bakterielle Lyme-Borreliose wird durch diese Zeckenarten übertragen.

In Deutschland sind die wichtigsten durch Zecken übertragene Erkrankungen die Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME) und die bakterielle Lyme Borreliose (LB). Weitere bakterielle Erkrankungen sind z.B. Babesiose, Anaplasmose und Rickettsiose, deren Bedeutung zwar zunimmt, insgesamt aber nach wie vor gering ist. FSME und LB sind bedeutende menschliche Erkrankungen. Darüber hinaus ist bei Hunden und Pferden eine Erkrankung an FSME möglich. Ein erster klinischer Fall beim Affen ist von uns im Jahre 2006 beschrieben worden. Klinische Erkrankungen durch *Borrelia burgdorferi s.l.* als Erreger der LB treten bei Pferden, Rindern und Hunden auf. Die Bedeutung der LB bei Schafen, Ziegen und Katzen ist bisher unklar. Vögel können als Reservoirwirte für *Borrelia burgdorferi* dienen, klinische Erkrankungen wurden bisher nicht nachgewiesen.

Was macht Zecken glücklich? Klimawandel, Zecken und durch Zecken übertragene Krankheiten

In den letzten Jahrzehnten wurden Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME), Lyme-Borreliose (LB) und andere durch Zecken übertragene Krankheiten

zunehmend zum gesundheitlichen Problem in Europa und anderen Teilen der Welt und damit auch zum reisemedizinischen Problem. Es ist wahrscheinlich, dass der Klimawandel einen Teil dieser Veränderungen verursacht haben könnte. Klima, Wetter, Wirtssuche, Mikroklima und das lokale Ökosystem beeinflussen Zecken. Die bisherigen Veränderungen des Klimas haben die Lebensbedingungen für Zecken deutlich verbessert. Ein Ergebnis daraus ist die zunehmende Verbreitung von Zecken, eine erhöhte Zeckenaktivität und ein Anstieg der Inzidenz von durch Zecken übertragenen Krankheiten.

Süss *et al.* (2008) What makes ticks tick? Climate change, ticks and tick-borne diseases. J Travel Medicine 15, 39-45.

Friedrich-Loeffler-Institut, IBIZ, Jena; Potsdam Institut für Klimaforschung, Potsdam, (beide Deutschland)

Frühsommer-Meningoenzephalitis in Europa und darüber hinaus – die epidemiologische Situation seit 2007

In einer Übersicht werden die epidemiologische Entwicklung der Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME) im Jahre 2007 in Europa, Fernost und Asien dargestellt und die verschiedenen Entwicklungen interpretiert. Die bisherige FSME-Situation in 29 europäischen und vier nichteuropäischen Ländern wird dargestellt und diskutiert. Außerdem werden die registrierten FSME-Fälle in 19 europäischen Ländern mit endemischer FSME für die Zeit von 1976 bis 2007 bewertet. Obwohl die Kriterien zur Erfassung der FSME-Fälle von Land zu Land unterschiedlich sind und es notwendig wäre, auch nicht offiziell registrierte Fälle mit einzubeziehen, kann dennoch überall ein Anstieg der FSME-Fälle über die letzten 30 Jahre beobachtet werden. Neben Klimawandel und Wetteränderung sind für diesen Anstieg möglicherweise eine weitere Anzahl verschiedener Faktoren verantwortlich: häufigere Zeckenstichexposition, zum Teil verursacht durch sozioökonomische und politische Veränderungen sowie eine Reihe weiterer sicher zum Teil noch unbekannter Faktoren. Weiterhin wird der Immunisierungsstatus der Bevölkerung einiger Länder diskutiert.

Süss, J. (2008) Tick-borne encephalitis in Europe and beyond – the epidemiological situation as of 2007. Eurosurveillance 13, 26, 1-8

Friedrich-Loeffler-Institut, IBIZ, Jena, Deutschland

Frühsommer-Meningoenzephalitis-Virus-Prävalenz und Viruscharakterisierung von Zecken *(Ixodes ricinus)* in Deutschland, die im Freiland in FSME Risiko-, Nicht-Risiko- und früheren Risikogebieten gefangen wurden, und von Zecken, die von Menschen abgesammelt wurden

Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME) ist die bedeutendste von Zecken übertragene virale Zoonose in Europa. Aus diesem Grunde ist es wichtig, die epidemiologische Situation in FSME-Risiko- und Nicht-Risikogebieten sowie in früheren FSME-Risikogebieten mittels im Freiland gefangener Zecken *(I. ricinus)* zu untersuchen und in diese Untersuchungen auch vom Menschen abgesammelte Zecken einzubeziehen. Alle Untersuchungen erfolgten mittels real-time-RT-PCR. Die Zecken wurden in Nicht-Risikogebieten in Sachsen-Anhalt und Mecklenburg-Vorpommern gefangen, in denen in den letzten Jahren einzelne humane FSME-Erkrankungen aufgetreten waren. Auch in Thüringen wurden Zecken gefangen, jedoch in einer Region, die früher (1975) ein FSME-Risikogebiet mit zahlreichen humanen Erkrankungsfällen war, bis 1990 durch militärische Nutzung wenig betreten wurde und seit zehn Jahren stark touristisch genutzt wird. FSME-Viren konnten in keiner dieser Zecken aus dem Freiland nachgewiesen werden. Dagegen wurden in drei von insgesamt 239 Zecken aus Bayern, die von Menschen abgesammelt wurden, FSME-Viren nachgewiesen, die sich zwei verschiedenen FSME-Stämmen des zentraleuropäischen Typs zuordnen ließen. Weitere Untersuchungen, speziell zum Vorkommen verschiedener FSME-Stämme in Deutschland und zur Virusprävalenz in Zecken im Freiland sind geplant.

Klaus *et al.* (2008) Tick-borne encephalitis (TBE) virus prevalence and virus genome characterization in field-collected ticks (*Ixodes ricinus*) in risk, non-risk, and former risk areas of TBE, and in ticks removed from humans in Germany. Clin Microbiol Infec 14, im Druck

Friedrich-Loeffler-Institut, IBIZ/IMP/IVD, Greifswald-Insel Riems; Medizinisches Labor Rosenheim; Gesundheits- und Veterinäramt, Magdeburg, (alle Deutschland)

Genetische Charakterisierung eines FSME-Virus, das aus dem Gehirn eines nach natürlicher Zeckenexposition an FSME erkrankten Affen *(Macaca sylvanus)* isoliert wurde

In einer kürzlich veröffentlichten Fallstudie wurde das Auftreten einer FSME-Infektion mit schwerem klinischem Verlauf beim Affen nach natürlicher Zeckenstichexposition in einem FSME-Risikogebiet in Deutschland beschrieben. Mit Hilfe von histologischen, immunhistochemischen und serologischen Methoden sowie RT-PCR wurde die FSME-Virus-Infektion festgestellt. Im weiteren Verlauf wurde nun das FSME-Virus aus Gehirngewebe auf Vero-B4 Zellkultur angezüchtet und das komplette Genom dieses Isolates sequenziert. Der isolierte Stamm mit der Bezeichnung Salem ist eng verwandt mit den Stämmen Kumlinge sowie Neudoerfl, dem Prototypen des zentraleuropäischen FSME-Virus-Subtyps. Insgesamt 268 nt Differenzen wurden im Vergleich zum FSME Virusstamm Neudoerfl gefunden,

daraus resultieren 28 Aminosäure-Differenzen, von denen allerdings keine die bekannten funktionalen Regionen des Virusgenoms betrifft. Weitere Untersuchungen zur Verteilung des Virusantigens im Gehirngewebe sowie zur Reaktion der Wirtszellen mittels Immunhistologie zeigten Übereinstimmungen zwischen dem Verlauf der FSME-Infektion beim Affen und akuten oder perakuten Krankheitsverläufen beim Menschen.

Süss *et al.* (2008). Genetic characterization of a tick-borne encephalitis virus isolated from the brain of a naturally exposed monkey (*Macaca sylvanus)*. Int J Med Microbiol, 298S1/S44, 295-300

Friedrich-Loeffler-Institute, IBIZ/IMP, Jena; Bundeswehr Institute of Microbiology, Dept. Virology and Rickettsiology, Munich; Affenberg Salem, (alle Deutschland); Institute of Neurology, Medical University of Vienna, Austria

1.3.7.2 Pestivirus

Zur Gattung Pestivirus gehören die tierpathogenen Erreger der klassischen Schweinepest (KSP), der bovinen Virusdiarrhoe/mucosal disease (BVD/MD) und der Border disease (BD).

Orale Immunisierung gegen Klassische Schweinepest mit chimärem Pestivirus: Vergleichende Untersuchungen mit flüssigem und lyophilisiertem Virus

Ziel der Untersuchungen war es, die Wirksamkeit des chimären Markervakzinekandidaten CP7_E2alf in unterschiedlichen Formulierungen für die orale Immunisierung gegen Klassische Schweinepest (KSP) zu überprüfen. In einem ersten Experiment wurden drei Wildschweine oral mit flüssigem chimärem Pestivirus CP7_E2alf vakziniert, während in einem zweiten Experiment je vier Wild- und Hausschweine mit der lyophilisierten Chimäre immunisiert wurden. Das in Gelatinekapseln abgefüllte lyophilisierte Vakzinevirus wurde den Tieren in einer neuen Köderformulierung (Brauer *et al.*, Eur J Wildl Res 52:271-276, 2006) verabreicht. Die Chimäre erwies sich erwartungsgemäß als unschädlich für Haus- und Wildschweine. Alle mit dem flüssigen Vakzinevirus immunisierten Wildschweine waren 21 Tage *post vaccinationem* seropositiv. Nach Challenge mit hochvirulentem KSP-Virus zeigten diese Tiere weder Virämie noch wurde Belastungsvirus ausgeschieden. In einigen Organen der überlebenden Wildschweine konnte jedoch vom Belastungsvirus stammende virale RNA festgestellt werden. Mit lyophilisiertem Vakzinevirus via neuem Köder immunisierte Haus- und Wildschweine erwiesen sich nach Belastungsinfektion als nicht geschützt. Ungeachtet des negativen Ergebnisses mit lyophilisiertem chimärem Pestivirus CP7_E2alf weisen diese und frühere Untersuchungen (Reimann *et al.*, Virology 307:213-227, 2004) darauf hin, dass dieses Vakzinevirus einen potentiellen Markervakzinekandidat darstellt.

Kaden, V., Lange, E., Faust, A. (2008). Oral vaccination against classical swine fever with a chimeric *Pestivirus*: comparative investigations of liquid and lyophilized virus. Eur J Wildl Res 54, 237-244.

Friedrich-Loeffler-Institut, IMED, Greifswald-Insel Riems, Deutschland

Verhinderung einer transplazentären Infektion der Feten durch orale Immunisierung von tragenden Sauen mit dem Virus der Klassischen Schweinepest vom Stamm "C"

Das Ziel der Studie bestand darin festzustellen, ob oral mit dem Virusstamm „C" vakzinierte, tragende Sauen bei nachfolgender Infektion das Belastungsvirus auf die Feten übertragen. Es wurden zwei Experimente mit Jungsauen durchgeführt, welche ca. fünf Wochen nach künstlicher Besamung vakziniert wurden. Die Infektion der Sauen erfolgte in der Mitte der Trächtigkeit mit hochvirulentem bzw. mäßig virulentem Virus der Klassischen Schweinepest (KSPV).

Die Impfung beeinträchtigte den Gesundheitszustand der Jungsauen nicht; alle Tiere serokonvertierten. Nach Infektion erwiesen sich die Sauen als geschützt, wobei Belastungsvirus weder im Blut noch im Nasensekret, Speichel und Fezes bzw. in den Organen, welche zur Sektion entnommen wurden, festgestellt werden konnte. Alle Feten der vakzinierten Tiere waren sowohl virologisch als auch serologisch negativ. Im Gegensatz dazu entwickelten die nicht vakzinierten Kontrollen eine kurze Virämie und übertrugen das Belastungsvirus auf die Feten. Ferner wurden Embryonen bzw. Feten von 22 serologisch positiven Bachen aus einer endemisch mit KSPV infizierten Population auf KSPV bzw. virale RNA untersucht, wobei alle Proben virologisch negativ waren. Unsere Resultate bestätigen, dass nach oraler Immunisierung von tragenden Bachen mit C-Stamm-Vakzine und nachfolgender Infektion keine transplazentare Feldvirusübertragung zu erwarten ist.

Kaden *et al.* (2008) Classical swine fever strain "C" protects the offspring by oral immunisiation of pregnant sows. Vet Microbiol 130, 20-27.

Friedrich-Loeffler-Institut, IMED, Greifswald-Insel Riems; RIEMSER Arzneimittel AG, Greifswald-Insel Riems; Veterinary and Food Monitoring Office Nordvorpommern, Grimmen, (alle Deutschland)

Retrospektive Analyse der oralen Immunisierung von Wildschweinepopulationen gegen das Virus der Klassischen Schweinepest (KSPV) in der Region Eifel, Rheinland-Pfalz

Im vorliegenden Projekt wurde der Effekt der Bekämpfungsmaßnahmen während der KSP-Epidemie in der Region Eifel, Rheinland-Pfalz, von 1999-2005 bewertet. Innerhalb der ersten drei Jahre nach Feststellung des KSPV basierten diese Maßnahmen auf „intensiver" Bejagung, besonders der Jungtiere, und Hygienemaßnahmen. Danach wurde die orale Immunisierung als zusätzliche Bekämpfungsmaßnahme eingeführt. Alle geschossenen Wildschweine des gefährdeten Gebietes wurden virologisch und serologisch untersucht und in einer Datenbank nach Alter, Geschlecht und geographischem Ursprung dokumentiert. 82 % der virologisch positiven Tiere waren Frischlinge, was die Bedeutung dieser Altersklasse für das Fortbestehen der Infektion bestätigt. Analysen der Jagdstrecke zeigten, dass der Frischlingsanteil in Bezug auf die Gesamtstrecke unterrepräsentiert ist, was darauf schließen lässt, dass die Jäger das Bejagen von Jungtieren nicht konsequent realisierten. Sowohl vor als auch nach der Einführung der Impfung wurden eine höhere Virusprävalenz und eine niedrigere Seroprävalenz bei Frischlingen im Vergleich zu Tieren im Alter über einem Jahr festgestellt. Bereits kurz nach Einführung der Impfung sank die Virusprävalenz signifikant, während die Seroprävalenz in allen Altersklassen merklich anstieg. Zur Bewertung des Einflusses von Alter und Vakzination auf die Seroprävalenz wurde ein logistisches Regressionsmodell verwendet. Dieses zeigte, dass unter Feldbedingungen die Vakzination einen größeren Einfluss auf die Seroprävalenzrate und die Viruseliminierung hatte als das Alter der Tiere. Der letzte Virusnachweis erfolgte dreizehn Monate nach Einführung der Impfmaßnahmen.

Von Rüden *et al.* (2008) Retrospective analysis of the oral immunisation of wild boar populations against classical swine fever virus (CSFV) in region Eifel of Rhineland-Palatinate. Vet Microbiol 132, 29-38.

Institute of Virology, University of Veterinary Medicine Hannover; Friedrich-Loeffler-Institut, IfE/IMED; State Veterinary Laboratory of Rhineland-Palatinate, Koblenz; Ministry of Environment, Forestry and Consumer Protection, Mainz, (alle Deutschland).

Etablierung einer Volllängen-RT-PCR zur Gewinnung infektiöser Pestiviren

Die Verfügbarkeit von infektiösen Pestivirus-cDNA-Klonen ermöglicht eine gezielte *In-vitro*-Manipulation dieser RNA-Viren. Die Generierung von infektiösen cDNA-Klonen mittels klassischer cDNA-Synthese und anschließender Klonierung in Plasmidvektoren ist allerdings sehr zeitaufwändig und erfordert umfangreiche Sequenzinformationen. Daher wurde für Pestiviren am Beispiel des Border Disease Virus (Isolat "Gifhorn") eine RT-PCR für lange DNA-Fragmente etabliert. Voraussetzung dafür war die Bestimmung der 5'- und 3'-terminalen Nukleotidsequenzen sowie die Optimierung der RNA-Isolierung aus BDV-infizierten Zellkulturen. Die PCR-Amplikons mit einer Länge von ca. 12,3 kb, die zusätzlich zur viralen Sequenz eine T7-RNA-Polymerase-Promotor-Sequenz enthielten, dienten als Matrize für die Synthese von RNA genomischer Länge mittels T7-RNA-Polymerase. Nach Transfektion der *in vitro*-transkribierten RNA in ovine SFT-Zellen konnte infektiöses BDV generiert und weiter passagiert werden. Der Phänotyp des rekombinanten Virus entsprach dem des parentalen BDV-Gifhorn. Somit konnte gezeigt werden, dass diese universell für Pestiviren einsetzbare Volllängen-Amplifikation von Virusgenomen eine geeignete Methode für die Gewinnung von infektiösen Pestiviren sowie für die Konservierung von Isolaten und deren Charakterisierung darstellt. Des Weiteren ist eine Klonierung in Plasmid- und BAC-Vektoren möglich, welche die gezielte genetische Manipulation der Virusgenome erlaubt.

Rasmussen *et al.* (2008). Direct recovery of infectious Pestivirus from a full-length RT-PCR amplicon. J Virol Meth 149, 330-333.

National Veterinary Institute, Technical University of Denmark, Kalvehave, Denmark; Friedrich-Loeffler-Institut, IMB/IVD, Greifswald-Insel Riems, Deutschland

1.3.8 Familie *Togaviridae*

Die Familie *Togaviridae* umfasst derzeit zwei Gattungen von behüllten Viren (lat. toga: Mantel) mit einer einzelsträngigen RNA positiver Polarität. Zu den *Togaviridae* gehören in der Gattung Alphavirus wichtige Virusarten, die durch Insekten Krankheiten auf Menschen und Tiere übertragen, sowie in der monotypischen Gattung Rubivirus der Erreger der Röteln.

1.3.8.1 Alphavirus

Alphaviren haben einen Durchmesser von ca. 60 bis 70 nm und die Virushülle besitzt charakteristische Spikes aus Glykoproteinen. Sie vermehren sich im Zytoplasma. Alphaviren sind weltweit verbreitet und werden vor allem durch Stechmücken (z.B. *Anopheles*) übertragen. Beim Menschen können sie endemisch, epidemisch und sporadisch Erkrankungen hervorrufen, die überwiegend gutartig verlaufen. Bei Tieren kommen aber auch letale Infektionen mit Beteiligung des Zentralnervensystems vor, wie die anzeigepflichtigen Enzephalomyelitiden der Pferde.

Isolierung und Identifizierung von atypischen Alphaviren (Sleeping Disease Virus, SDV) aus Regenbogenforellen

Aus erkrankten Regenbogenforellen *(Oncorhynchus mykiss)* wurde das „Sleeping Disease Virus (SDV)“ bei 15 °C Inkubationstemperatur nach Elektroporation der RNA in RTG-2- und CHSE-214-Zellen isoliert. Die Identifizierung des Erregers gelang mittels RT-PCR und Immunfluoreszenz-Test (IFT) mit einem polyklonalen Antiserum gegen das SDV (J. Castric, Frankreich). Vergleichend wurden zwei Referenzisolate, S49P (SDV, Frankreich) und P42P (Salmon Pancreas Disease Virus, SPDV, Schottland), mit beiden diagnostischen Methoden untersucht. Während alle Isolate positiv im IFT reagierten, konnte gezeigt werden, dass die Ergebnisse aus der RT-PCR von denen in der Literatur (Villoing *et al.*, 2000) abwichen. Beschrieben ist für die atypischen Alphaviren ein 284 bp-Fragment, welches aber nach unseren Untersuchungen 303 bp groß sein muss. Dies konnte auch mit den Referenzisolaten bestätigt werden.

Bergmann *et al.* (2008) First isolation and identification of Sleeping Disease Virus (SDV) in Germany. EAFP Bulletin 28, 148-155

Friedrich-Loeffler-Institut, IMED, Greifswald-Insel Riems, Deutschland; AFSSA Brest, Plouzane, France

1.4 Unbekannte Viren

Untersuchung von massiven Mortalitätsgeschehen bei Pazifischen Austern *(Crassostrea gigas)* in der Nordsee

In den Jahren 2005-2007 wurde in der Nordsee, besonders im ostfriesischen Wattenmeer, ein Massensterben von Pazifischen Austern beobachtet. Bei Probennahmen im Frühjahr 2006 wurde ein Verhältnis von männlichen zu weiblichen Austern von 1:1 festgestellt. Dieses verschob sich bei weiteren Probennahmen und histologischer Auswertung im Sommer und Herbst 2006 auf 30 % bzw. 0 % weibliche Tiere zugunsten der männlichen Tiere. Histologisch standen degenerative Veränderungen an den Ovarien im Vordergrund. Bei männlichen und weiblichen Tieren wurden Veränderungen in allen Organen beschrieben. Am FLI wurden Austern und Miesmuscheln *(Mytilus edulis)* beprobt und nach Homogenisierung der Organe (Mantel, Kieme, Verdauungsdrüsen, Herz, Niere) in verschiedene Fischzellkulturen inokuliert. Ein zytopathischer Effekt konnte nur nach Inkubation von 3-4 Wochen bei 20 °C bei den Zellen CHSE-214 (CCLV RIE 341) beobachtet werden. An der weiteren Charakterisierung der Isolate wird derzeit gearbeitet.

Watermann *et al.* (2008) Pathology and mass mortality of Pacific oysters, *Crassostrea gigas* (Thunberg), in 2005 at the East Frisian coast, Germany. J Fish Dis 31, 621–630.

Labor für Limnische, Marine Forschung und Vergleichende Pathologie, LimnoMar, Hamburg; Niedersächsischer Landesbetrieb für Wasserwirtschaft, Küsten- und Naturschutz, Norderney; Friedrich-Loeffler-Institut, IMED, Greifswald-Insel Riems, (alle Deutschland)

2 Bakterien

2.1 Bakterien allgemein

Abschätzung der genetischen Heterogenität innerhalb von Bakterienspezies in gastrointestinalen und Umweltproben

Die Stammtypisierung von bakteriellen Isolaten wird zunehmend genutzt, um die Ursachen von Infektionen oder Produktkontaminationen zu identifizieren sowie die Übertragungswege von Pathogenen aufzuklären. Hierbei bestimmen oft Faktoren, wie z.B. vorhandene Laborkapazitäten, Laborabsprachen, Zweckmäßigkeit oder finanzielle Mittel die Anzahl der bakteriellen Isolate derselben Spezies, die pro Probe untersucht werden. Mit Hilfe statistischer Berechnungen und des Wissens um die Heterogenität bakterieller Populationen in verschiedenen Materialien kann die für die wissenschaftliche Fragestellung benötigte Anzahl der zu untersuchenden Isolate pro Probe bestimmt werden. Diese Arbeit präsentiert Daten für intestinale *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Klebsiella pneumoniae* und *Streptococcus uberis*, die aus gastrointestinalen Proben sowie Kot- oder Bodenproben gewonnen wurden. Die Charakterisierung erfolgte durch Ribotyping, Pulsfeld-Gelelektrophorese und PCR. Im Unterschied zu vorangegangenen Studien wurden in dieser Arbeit alle Berechnungen mit einem einzigen Computerprogramm durchgeführt, das auf einer frei verfügbaren Software beruht. Eine ausführliche Beschreibung erläutert die Auswahl und Herkunft der Prior-Verteilungen. Einige der Modell-Annahmen wurden gelockert, um die Analyse des speziellen Falls von zwei (bzw. zwei Gruppen von) Stämmen, die mit unterschiedlichen Wahrscheinlichkeiten beobachtet wurden, zu ermöglichen. Die Berechnungen der Probengröße mittels der Bayesian-Inferenz-Methode zeigen, dass zum Nachweis aller Stämme (95 % Sicherheit) zwei bis 20 Isolate pro Probe charakterisiert werden sollten. Eine so hohe Zahl von Isolaten pro Probe wird wegen der finanziellen und logistischen Beschränkungen in der Praxis selten typisiert. Dies impliziert, dass Untersucher nicht die maximalen Informationen über die Stamm-Heterogenität erhalten und dass so Ursachen und Übertragungswege unentdeckt bleiben könnten.

Döpfer *et al.* Assessing genetic heterogeneity within bacterial species isolated from gastrointestinal and environmental samples: how many isolates does it take? Appl Environ Microbiol 74, 3490-3496.

CVI, University and Research Centre, Lelystad, The Netherlands, Department of Food Science, Cornell University, Ithaca, New York, USA; Quality Milk Production Services, Cornell University, Ithaca, New York, USA; Friedrich-Loeffler-Institut, IfE, Wusterhausen, Deutschland

2.2 Campylobacter

Die Gattung *Campylobacter* umfasst korkenzieherförmige, gramnegative Bakterien (Spirillen), die mikroaerophil und polar begeißelt sind. Besondere Bedeutung besitzen die thermophilen Arten *Campylobacter (C.) jejuni* und *C. coli*, die weltweit zu den häufigsten bakteriellen Durchfallerregern des Menschen zählen. Sie kolonisieren als enterale Kommensalen den Gastrointestinaltrakt von Säugetieren und Vögeln. Landwirtschaftliche Nutztiere, vor allem Geflügel, Rind und Schwein, aber auch Haustiere wie Hund und Katze stellen das Hauptreservoir für *Campylobacter*-Infektionen des Menschen dar. Tierische Lebensmittel, wie nicht ausreichend erhitztes Geflügelfleisch und Rohmilch, aber auch Oberflächenwasser und der Kontakt zu Haustieren stellen die wichtigsten Risikofaktoren für die sporadische Campylobacteriose des Menschen dar.

Genotypische und phänotypische Veränderungen von *Campylobacter jejuni* nach Passage durch den Kükendarm

Campylobacter jejuni Feldisolate unterscheiden sich deutlich in ihrer Fähigkeit, den Geflügeldarm zu kolonisieren. Auch gibt es in der Literatur Hinweise, dass Veränderungen im *Campylobacter*-Genom nach einer Passage des Erregers durch den Kükendarm mit Hilfe der Pulsfeldgelelektrophorese (PFGE) und anderer molekularbiologischer Differenzierungsmethoden nachzuweisen sind. Bisher gibt es jedoch noch keine Untersuchungen, ob die nachgewiesenen genetischen Veränderungen mit bereits bekannten Virulenzeigenschaften wie Adhäsion und Invasion korrelieren. In dieser Studie konnte gezeigt werden, dass sowohl bovine als auch humane Campylobacter-Stämme den Kükendarm kolonisieren können. Drei Wochen nach einer Infektion von 9 Tage alten Küken wurden die Stämme reisoliert und phänotypisch sowie genotypisch mit dem Inokulationsstamm verglichen. Durch PFGE und Flagellen-Typisierung konnte das Auftreten neuer Geno- und flaA-Typen nach dreiwöchiger Kolonisation im Kükendarm nachgewiesen werden. Diese genomischen Instabilitäten waren vom individuellen Küken abhängig, was auf den Einfluss von Wirts-spezifischen Faktoren hinweist. Andererseits wurden auch stabile Genotypen, die keine nachweisbaren Veränderungen durch die Tierpassage aufwiesen, bestimmt. Nur eines der 17 untersuchten *Campylobacter*-Isolate wies nach Passage durch den Kükendarm phänotypische Veränderungen auf. Es zeigte eine signifikante Erhöhung der Adhäsion der reisolierten Bakterien an eukaryotische Darmepithelzellen, eine verringerte Motilität und morphologische Veränderungen. Diese phänotypischen Veränderungen standen jedoch in keinem Zusammenhang mit den beobachteten genomischen Instabilitäten.

Hänel *et al. (2008)* Genomic and phenotypic changes of *Campylobacter jejuni* strains after passage of the chicken gut. Vet Microbiol (2008),doi:10.1016/j.vetmic.2008.10.018.

Friedrich-Loeffler-Institut, IBIZ/IMP, Jena, Deutschland

2.3 Chlamydien

Chlamydien sind obligat-intrazelluläre Bakterien mit einer Zellwand, die im Unterschied zu anderen gramnegativen Bakterien kein Peptidoglycan enthält. Ihre Hülle besteht aus äußerer und innerer Membran mit einem veränderlichen periplasmatischen Raum. Ein charakteristischer Bestandteil der Außenmembran ist das Lipopolysaccharid mit einem für Chlamydien spezifischen Epitop im KDO-Trisaccharid. Daneben macht das Major Outer Membrane Protein A (MOMP) bis zu 60 % der Proteinfraktion dieser Membran aus. Man unterscheidet zwei morphologische Erscheinungsformen dieser Mikroorganismen, die relativ kleinen Elementarkörper (0,2-0,6 µm Durchmesser), welche extrazellulär vorkommen, infektiös, jedoch metabolisch inaktiv sind, und die vergleichsweise größeren Retikularkörper (bis 1,5 µm Durchmesser), welche in zytoplasmatischen Einschlüssen existieren, sich dort vermehren und metabolisch aktiv sind.

Nach der jetzt gültigen Taxonomie wird die Familie in die Genera *Chlamydia (C.)* mit den Spezies *C. trachomatis*, *C. suis* und *C. muridarum* sowie *Chlamydophila (Cp.)* mit *Cp. psittaci, Cp. abortus, Cp. pecorum, Cp. felis, Cp. caviae* und *Cp. pneumoniae* unterteilt.

Chlamydieninfektionen stellen sowohl in der Veterinär- als auch in der Humanmedizin ein häufiges Problem dar. Die wichtigste Zoonose unter den Chlamydiosen ist die Psittakose (Erreger *Cp. psittaci*), eine systemische Erkrankung der Psittaziden bzw. des Haus- und Wildgeflügels (hier oft noch als Ornithose bezeichnet) mit akutem, protrahiertem, chronischem oder subklinischem Verlauf. Der enzootische Schafabort (Erreger: *Cp. abortus*) verursacht alljährlich beträchtliche ökonomische Verluste in Beständen kleiner Wiederkäuer in Europa. Auch hier sind Fälle von Übertragungen auf Menschen

bekannt. Weitere Chlamydienarten treten sowohl als Krankheitserreger als auch als Begleitkeime in Rinder- und Schweinebeständen sowie bei Pferden, Katzen u.a. auf, wobei in vielen Fällen die Abklärung ihrer konkreten epidemiologischen Bedeutung angesichts des verbreiteten Vorkommens schwierig ist. *C. trachomatis* und *Cp. pneumoniae* verursachen beim Menschen weit verbreitete Erkrankungen des Genitaltraktes, der Augen (Trachom) bzw. des Respirationstraktes.

Die Diversität respiratorischer chlamydialer Infektionen wird durch unterschiedliche Tiermodelle widergespiegelt

Chlamydiale Infektionen der Lunge können sowohl einen akuten bis lebensbedrohlichen als auch einen klinisch-inapparenten Verlauf nehmen, wobei insbesondere die chronisch-rezidivierenden Verlaufsformen im pathogenetischen Zusammenhang mit chronisch-obstruktiven Atemwegserkrankungen diskutiert werden. Um die Pathogenese dieser unterschiedlichen klinischen Erscheinungsformen zu verstehen, bedarf es verschiedener repräsentativer Tiermodelle. An zwei Großtiermodellen wurden das klinische Bild einer respiratorischen Chlamydien-Infektion, die nachweisbaren Lungenfunktionsstörungen und die Art der pulmonalen Entzündung vergleichend betrachtet:

Modell einer akuten Infektion (Schwein); Inhalation eines Aerosols einer mit *Chlamydia suis* infizierten Zellkultur (Infektionsdosis: 1 x 109 EBE pro Tier); Beobachtungszeitraum: 3 Wochen

Modell einer chronischen Infektion (Rind); natürlich erworbene Infektionen mit Nachweis verschiedener *Chlamydophila* spp.; Beobachtungszeitraum: 6 Monate

Das Modell der aerogen induzierten Chlamydien-Infektion am Schwein repräsentierte einen akuten Verlauf mit schweren klinischen Symptomen. Die pulmonalen Dysfunktionen waren im Wesentlichen durch periphere Atemwegsobstruktionen sowie lebensbedrohliche Gasaustauschstörungen charakterisiert. Im Gegensatz dazu repräsentierten die Kälber mit natürlich erworbenen Chlamydien-Infektionen klinisch inapparente, chronisch-persistierende Verlaufsformen. Die pulmonalen Dysfunktionen waren durch persistierende Atemwegsobstruktionen, chronisch-entzündliche Veränderungen im Lungengewebe und Umbauprozesse im Sinne von ‚tissue remodeling' gekennzeichnet.

Beide Tiermodelle besitzen erhebliches Potential, um die verschiedenen klinischen Verlaufsformen von Chlamydien-assoziierten respiratorischen Erkrankungen in natürlichen Erreger-Wirt-Systemen zu untersuchen und weisen eine höhere biologische Relevanz auf als Modelle an Labornagern.

Reinhold *et al.* (2008) Impact of latent infections with *Chlamydophila* species in young cattle. Vet J 175, 202-211.

Jaeger *et al.* (2007) A clinically silent respiratory infection with *Chlamydophila* spp. in calves is associated with airway obstruction and pulmonary inflammation. Vet Res 38, 711-728.

Reinhold *et al.* (2008) An experimentally induced *Chlamydia suis* infection in pigs results in severe lung function disorders and pulmonary inflammation. Vet Res 39, 35 open access [DOI: 10.1051/vetres:2008012]

Friedrich-Loeffler-Institut, IMP/IBIZ, Jena, Deutschland; University of Namur, Belgium; Universität Duisburg-Essen, Deutschland

Diagnostische und epidemiologische Untersuchungen von *Cp.-psittaci*-Infektionen bei einem Ausbruch in einem Geflügelbestand

Ein Ausbruch mit schweren respiratorischen Symptomen aus einem gemischten Geflügelbestand mit *Cp.-psittaci*-Infektion führte zur Verbreitung des Geschehens auf mindestens 100 kleine Geflügelhaltungen in elf Landkreisen Mitteldeutschlands. In der Zeit meldeten sich insgesamt 24 Kontaktpersonen mit grippeähnlichen Symptomen beim Hausarzt, so dass eine zoonotische Ansteckung vermutet wurde. Aus diesem Personenkreis wurden sieben Personen innerhalb der ersten drei Wochen hospitalisiert, davon drei auf Intensivstation. Die Analyse der ompA-Gensequenzen aus Isolaten und klinischem Material zeigte, dass zwei Genotypen von *Cp. psittaci*, A und E/B, sowohl im Ausgangsbestand als auch in Kontaktbeständen vorhanden waren. Der Genotyp A wurde auch in den drei schwer erkrankten Patienten gefunden. Daneben wurde in mehreren asymptomatischen Beständen noch ein drittes chlamydiales Agens nachgewiesen, das jedoch keiner gültigen Art zugeordnet werden konnte. Die Befunde dieser Studie demonstrieren erneut das hohe zoonotische Potential der aviären Chlamydien. Um die schnelle Tilgung von Psittakose- und Ornithoseausbrüchen in den Beständen wie auch die wirksame Behandlung der infizierten Personen zu gewährleisten, ist ein schneller, sensitiver und spezies-spezifischer Nachweis des Erregers notwendig. Dies erfordert die enge Zusammenarbeit zwischen den regionalen Veterinär- und Gesundheitsämtern, den behandelnden Ärzten und den Untersuchungsämtern.

Gaede *et al.* (2008) *Chlamydophila psittaci* infections in humans during an outbreak of psittacosis from poultry in Germany. Zoonoses Public Health 55, 184-188.

State Institute for Consumer Protection of Saxony-Anhalt, Dept. for Veterinary Medicine, Stendal; Friedrich-Loeffler-Institut, IBIZ/IMP, Jena; State Institute for Consumer Protection of Saxony-Anhalt, Dept. for Hygiene, Magdeburg; State Institute for Food Safety and Consumer Protection of Thuringia, Dept. for Veterinary Medicine, Bad Langensalza (alle Deutschland)

Entwicklung eines neuen DNA-Mikroarraytests zur direkten Genotypisierung von *Cp. psittaci* aus Zellkultur und klinischen Proben

Das bisher für den aviären zoonotischen Erreger *C. psittaci* eingesetzte System zur Genotypisierung hat sich aus der Serologie entwickelt und basiert auf Variationen der *omp*A-Gensequenzen. Es umfasst sieben aviäre und zwei nicht-aviäre Genotypen, die durch die Restriktionsmusteranalyse und seltener auch durch komplette Gensequenzierung untersucht werden. Abgesehen von Einschränkungen dieser Methoden in ihrer Anwendungsbreite wurde in letzter Zeit wiederholt beobachtet, dass bestimmte Stämme nicht in das vorgegebene Typisierungsschema passen.

Die umfassende Analyse aller verfügbaren *omp*A-Sequenzen offenbarte eine bemerkenswerte genetische Diversität innerhalb der Spezies *Cp. psittaci*, die von dem bisher benutzten Typisierungsschema nur teilweise abgedeckt wird. Wir schlagen daher eine Erweiterung und Abgleichung des Schemas vor, speziell die Einführung von Untergruppen der heterogenen Genotypen A, E/B und D sowie 6 provisorische Genotypen für bisher nicht typisierbare Stämme. Die Ergebnisse der Sequenzanalyse sind in die Entwicklung eines DNA-Mikroarrays eingeflossen. Mit einem *omp*A-Genotypisierungstest, basierend auf der ArrayTube®-Technologie, wurde gezeigt, dass alle etablierten Genotypen und auch bisher nicht typisierbare Stämme identifiziert und unterschieden werden können. Die hohe Spezifität des Mikroarraytests beruht auf dem parallelen Ansatz mit insgesamt 35 Hybridisierungssonden, die aus den variablen Domänen 2 und 4 des ompA-Gens abgeleitet wurden, und ermöglicht u.a. auch die Detektion von SNPs.

Während das traditionelle Genotypisierungssystem das Ausmaß der Intraspezies-Heterogenität von *Cp. psittaci* nicht adäquat widerspiegelt, stellt der neu entwickelte DNA-Mikroarraytest ein vielversprechendes diagnostisches Werkzeug dar, um epidemiologische Ketten aufzuspüren, die Verbreitung der einzelnen Genotypen zu charakterisieren und atypische Vertreter von *Cp. psittaci* zu identifizieren.

Sachse *et al.* (2008) Genotyping of *Chlamydophila psittaci* using a new DNA microarray assay based on sequence analysis of ompA genes. BMC Microbiol 8, 63.

Friedrich-Loeffler-Institut, IMP/IBIZ, Jena, Deutschland; AFSSA, Unité Zoonoses Bactériennes, Maisons-Alfort, France; Clondiag Chip Technologies, Jena, Deutschland

2.4 Coxiellen

Bei dem Erreger des Q-Fiebers, *Coxiella burnetii*, handelt es sich um ein sehr kleines, gramnegatives, obligat intrazelluläres Bakterium. Der Erreger hat ein breites Wirtsspektrum, das vor allem Säuger, Zecken und Vögel umfasst. Seine Bedeutung hat *Coxiella burnetii* insbesondere als Aborterreger bei Wiederkäuern. Besonders reichlich ist der Erreger im Fruchtwasser, in den Nachgeburten und in den Lochien enthalten. Die Übertragung erfolgt kongenital, oral oder aerogen. Ferner werden Coxiellen auch durch Zecken übertragen. Der Mensch kann ebenfalls an Q-Fieber erkranken. Besonders gefährdet sind hierbei Personen, die beruflich Kontakt mit Tieren haben, wie Landwirte, Tierärzte, Schafhirten und Schafscherer sowie Schlachthofpersonal. Eine Infektion mit *Coxiella burnetii* kann zu schweren grippeähnlichen Erkrankungen, Pneumonien, Hepatitiden sowie Endocarditiden führen. Bei schwangeren Frauen kann eine Infektion mit *Coxiella burnetii* zum Abort führen.

Sensitivität der Methoden zum Nachweis von *Coxiella burnetii*

In den letzten Jahren kam es zu einem Anstieg von Q-Fieber-Ausbrüchen. Es wird davon ausgegangen, dass beim Menschen 1-10 Bakterien zur Erkrankung führen. Daher sind hoch sensitive Nachweismethoden (PCR) erforderlich. Diese wurden durch Vergleichsuntersuchungen validiert.

Panning *et al.* (2008): High throughput detection of *Coxiella burnetii* by real-time PCR with internal control system and automated DNA preparation. BMC Microbiol 8, 77.

Frangoulidis, D., Kimmig, P., Henning, K. (2008): *Coxiella burnetii* (Q-Fieber). In: Kekulé, A.S.: Hochpathogene Erreger, Biologische Kampfstoffe, Teil II. Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik. Mauch, H. (Hrsg.); Podbielski, Andreas (Hrsg.); Herrmann, Mathias (Hrsg.); Kniehl, Eberhard (Hrsg.). MiQ 27 2007. Elsevier Verlag.

Bernhard Nocht-Institute for Tropical Medicine, Hamburg; Staatliches Veterinäruntersuchungsamt, Arnsberg; Friedrich-Loeffler-Institut, IfE, Wusterhausen; Bundeswehr Institute of Microbiology, Munich; University of Bonn, Medical Centre, Bonn; Landesgesundheitsamt Baden-Württemberg, Stuttgart, (alle Deutschland)

2.5 Mykobakterien

Mykobakterien sind obligat aerobe, grampositive und unbewegliche Stäbchen. Die komplexe, lipidreiche Zellwand schütz diese Bakterien vor Austrocknung, extremen pH-Werten und anderen umweltbedingten Stressoren.

2.5.1 Paratuberkulose

Mycobacterium avium subsp. *paratuberculosis* (MAP) ruft bei Haus- und Wildwiederkäuern die Paratuberkulose hervor, eine chronische entzündliche Darmerkrankung, die nicht therapierbar ist und vor allem bei Milchrindern zu erheblichen direkten und indirekten Verlusten führen kann.

Die Bekämpfung der Erkrankung erfolgt in Deutschland

auf freiwilliger Basis, die Bekämpfungskonzepte und die Beteiligung in den Bundesländern sind derzeit noch sehr heterogen. Im Jahre 2005 wurden vom BMELV nationale Paratuberkulose-Leitlinien veröffentlicht, die eine Vereinheitlichung der Bekämpfungsprogramme in Deutschland zum Ziel haben.

Weltweit stehen die Aufklärung der Pathogenese der Erkrankung, die Suche nach verbesserten diagnostischen Verfahren und die Entwicklung optimierter Bekämpfungsstrategien im Mittelpunkt der Forschung.

Vergleich verschiedener Zielregionen für den molekularbiologischen Nachweis von *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) mittels PCR

Es existieren Unsicherheiten bezüglich der Sensitivität und Spezifität der verschiedenen weltweit eingesetzten PCR-Systeme zum Nachweis von MAP.

In der vorliegenden Studie wurden acht „single-round“ und fünf „nested“ PCR-Systeme bezüglich ihrer analytischen Sensitivität und Spezifität miteinander verglichen. Zwölf Primerpaare mit unterschiedlichen Zielsequenzen innerhalb des IS900 (9X), des IS*Mav2* (1X), des f57 (1X) und des 255 (1X) Locus wurden verwendet. In die Spezifitätstestung wurden Referenzstämme und Feldisolate von 17 Mykobakterienspezies und –subspezies, 16 andere bakterielle Rinderpathogene und Kommensalen einbezogen.

Unabhängig von der Zielregion ergaben die „single-round“ PCRs ein Detektionslimit von 1 pg bis 100 fg DNS pro Ansatz. „Nested“ PCRs waren 100fach sensitiver, jedoch kontaminationsanfällig, was ein Risiko für die Routinediagnostik darstellt. Für die analytische Spezifität der PCR war vor allem die Selektion der Primer innerhalb der Zielsequenz entscheidend. Bei einer der fünf „single-round“ PCRs und zwei der vier „nested“ PCRs mit Zielsequenzen innerhalb des IS900 wurden falsch positive Ergebnisse erzielt. Das traf auch auf die „single-round“ PCR mit der Zielsequenz IS*Mav2* und auf die „nested“ PCR mit der Zielsequenz f57 zu. Die Primer IS900/150, IS900/921, und p90+/p91+ (Vary *et al.*, 1992; Millar *et al.*, 1996) mit der Zielregion IS900 können nicht empfohlen werden. Eine hohe Anzahl unspezifischer Produkte wurde bei der „single-round“ PCR mit der Zielsequenz IS*Mav2*, aber auch für ein Primerpaar mit der Zielsequenz IS*900* detektiert. Vereinzelt oder nur bei Einsatz sehr hoher DNS-Mengen entstanden unspezifische Produkte auch bei Verwendung von Primern mit der Zielsequenz Locus 255 und IS900. Spezifische Produkte können von unspezifischen unterschieden werden, wenn die Detektion mit Hilfe einer entsprechend sensitiven Gelelektrophorese durchgeführt wird.

Bei entsprechender Primerauswahl bleibt IS900 eine nützliche Targetregion für den Nachweis von MAP. Die untersuchten PCR-Systeme mit den Zielregionen f57 und Locus 255 können ebenfalls empfohlen werden. Innerhalb der Zielregion ISMav2 sollten weitere Primer getestet werden.

Möbius *et al.* (2008) Comparison of 13 single-round and nested PCR assays targeting IS900, ISMav2, f57 and locus 255 for detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. Vet Microbiol 126:324-333.

Friedrich-Loeffler-Institut, IMP/IBIZ, Jena, Deutschland

Vergleich der Wechselwirkung verschiedener *M. avium* subsp. *paratuberculosis*-Stämme mit der humanen Monozyten Zelllinie THP-1

Paratuberkulose ist eine chronisch-entzündliche Darmerkrankung bei Wiederkäuern und Morbus Crohn eine chronische Entzündung beim Menschen im Bereich des Verdauungsapparates. Beide Erkrankungen zeigen Ähnlichkeiten in ihrer Histopathologie und den klinischen Symptomen; eine kausale Beteiligung von MAP an der Ätiologie des Morbus Crohn konnte trotz zahlreicher Studien bis jetzt nicht bewiesen werden.

Viele Fragen zur Pathogenese der Paratuberkulose sind noch nicht geklärt. Unbestritten ist jedoch, dass die Aufnahme, das Überleben und die Vermehrung von MAP in Makrophagen Schlüsselfunktionen darstellen, die für die Kommunikation der Makrophagen mit anderen Abwehrzellen von Bedeutung sind. Dabei spielen Zytokine eine herausragende Rolle.

Innerhalb der Spezies MAP werden drei Biotypen unterschieden: Schaf-Typ, Rinder-Typ und Intermediär-Typ. Bis jetzt ist nicht bekannt, ob die verschiedenen Biotypen unterschiedlich mit Makrophagen interagieren. Wir verglichen deshalb die Wechselwirkung der Monozyten-Zelllinie THP-1 sowohl mit dem Rinderstamm 03A1961, dem Schafstamm J III-86 als auch mit dem Typenstamm ATCC 19698. Die Expression von mRNA von IL-1, IL-10 und TNF-α wurde mittels quantitativer RT-PCR bestimmt. Die Messung der Sekretion der biologisch aktiven Proteine erfolgte mittels ELISA bzw. mittels Zytotoxizitätstest für TNF-α. Wir fanden signifikante Unterschiede in den untersuchten Zytokin-Profilen sowohl auf mRNA- als auch auf Proteinebene zwischen den Stämmen.

Borrmann *et al.* (2008) Comparison of the cytokine response of human macrophages to diverse *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* strains. Int J Med Mircobiol 298, 67.

Friedrich-Loeffler-Institut, IMP, Jena, Deutschland

Evaluierung von fünf ELISA Kits zum Nachweis von Antikörpern gegen *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* im Serum von Rindern

Fünf kommerziell verfügbare ELISA Tests zum Nachweis von Antikörpern gegen *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in Serumproben vom Rind wurden evaluiert. Hierzu wurden Seren von 286 Paratuberkulose-negativen und 110 Paratuberkuolse-positiven Milchkühen für die Einzeltierdiagnostik verwendet. Die Sensitivität (Se) und Spezifität (Sp) der Tests wurde nach Berechnung des cut-off dθ mittels TG-ROC-Analyse und auf der Basis der von den Herstellern empfohlenen cut-off-Werte ermittelt. Unter Verwendung der dθ cut-offs wiesen die fünf Tests eine unzureichende Se und Sp auf. Die Sp von vier der fünf ELISAs stieg unter Nutzung der cut-off-Vorgaben der Hersteller an, zwei Tests erreichten Sp $\geq$ 99.0%. Bei allen Tests zeigte sich eine eindeutige Abhängigkeit der ermittelten Se-Werte vom Erkrankungsstadium der untersuchten Tiere. Die Se war bei klinisch erkrankten Tieren signifikant höher als bei latent infizierten. Die Berechnung der positiven und negativen prädiktiven Werte ergab, dass in Abhängigkeit vom Test mit einem erheblichen Anteil falsch positiver und falsch negativer Ergebnisse zu rechnen ist. Damit wird die Eignung des Antikörpernachweises für die Einzeltierdiagnostik in Frage gestellt.

Köhler, H. *et al.* (2008) Evaluation of five ELISA test kits for the measurement of antibodies against *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in bovine serum. Berl Münch Tierärztl Wochenschr 121, 203-210.

Friedrich-Loeffler-Institut, IMP/ IfE, Wusterhausen, Deutschland; Veterinary Research Institute, Brno, Czech Republic

2.5.2 Tuberkulose

Die klassische Tuberkulose ist eine zyklische Allgemeinerkrankung warmblütiger Tiere und des Menschen, charakterisiert durch chronisch-granulomatöse Entzündungen meist der inneren Organe, die durch Mykobakterien des *Mycobacterium* (M.)-*tuberculosis*-Komplexes (MTC) hervorgerufen wird. Diese haben sich im Laufe der Evolution an bestimmte Wirtstierarten bzw. den Menschen angepasst, bei welchen sie als Krankheitserreger von besonderer Bedeutung sind. Sie sind jedoch in der Lage, auch bei anderen als ihren Primärwirten Erkrankungen auszulösen. Diese Eigenschaft charakterisiert sie als Zoonose-Erreger. Mykobakterien, die nicht zum MTC gehören, werden als MOTT-Erreger (**m**ycobacteria **o**ther **t**han **t**uberculosis) oder atypische Mykobakterien bezeichnet. Auch Erreger dieser Gruppe können Tuberkulose-ähnliche Erkrankungen bei Vertebraten aller evolutionären Entwicklungsstufen (Fische, Amphibien, Reptilien, Vögel, Säugetiere) und beim Menschen hervorrufen.

***Mycobacterium pinnipedii*: Übertragung vom südamerikanischen Seelöwen (*Otaria byronia*) auf das Kamel (*Camelus bactrianus bactrianus*) und den malayaischen Tapir (*Tapirus indicus*)**

Die Erreger der klassischen Tuberkulose bei Tier und Mensch werden auf Grund ihrer engen Verwandtschaft im *Mycobacterium tuberculosis*-Komplex (MTC) zusammengefasst. Ein Mitglied des MTC, das primär Tuberkulose bei Robben verursacht, trägt den Namen *Mycobacterium (M.) pinnipedii*. Bei einem Südamerikanischen Seelöwen, einem Kamel und einigen Tapiren, die in zwei zoologischen Gärten in benachbarten Gehegen gehalten wurden, kam es zu *Mycobacterium pinnipedii* Infektionen. Die Entwicklung der Infektionskette wurde über fünf Jahre beobachtet. Die Zoologischen Gärten hatten durch den Transfer eines unerkannt infizierten Tapirs direkten Kontakt. Mit konventionellen und molekularen Methoden (Spoligotypisierung und VNTR-Typisierung) wurden die Infektionserreger isoliert und typisiert. Es wurde nachgewiesen, dass die Isolate von allen betroffenen Tieren nahezu identische molekulare Charakteristika aufwiesen. Darüber hinaus wurden mit Hilfe eines neu entwickelten serologischen Schnelltests und eines konventionellen ELISA spezifische Antikörper nachgewiesen. Die Studie zeigte, dass (1) mit molekularen Methoden der vermutete Übertragungsweg bestätigt werden konnte und dass (2) serologische Tests helfen können, Tuberkulose in einem frühen Stadium der Infektion beim lebenden Tier einfach und schnell nachzuweisen.

Moser *et al.* (2008). *Mycobacterium pinnipedii*: transmission from South American sea lion (*Otaria byronia*) to Bactrian camel (*Camelus bactrianus bactrianus*) and Malayan tapirs (*Tapirus indicus*). Vet Microbiol 127, 399-406.

Department of Hygiene, Microbiology and Social Medicine, Innsbruck Medical University, Innsbruck, Austria; Chembio Diagnostic Systems, Inc., Medford, New York 11763, USA; Central Institute for Animal Disease Control, Lelystad, The Netherlands; Parc Zoologique et Botanique de Mulhouse, Mulhouse, France; Institute for Bacteriology and Mycology/ Institute for Veterinary Pathology, University of Leipzig, Leipzig; Institut for Veterinary Pathology, Justus Liebig University, Gießen; Tiergarten Heidelberg, Heidelberg; Friedrich-Loeffler-Institut, IMP/IBIZ, Jena, (alle Deutschland)

Infektion mit *Mycobacterium avium subsp. hominissuis* bei zwei Hunden

Vertreter des -intracellulare-Komplexes (MAIC) werden nicht selten als Krankheitserreger beim Menschen, insbesondere als Erreger von Lymphadenitiden bei Kindern, aber auch in Zusammenhang mit Lungeninfektionen ähnlich der Tuberkulose und disseminierten Infektionen (AIDS-Patienten) nachgewiesen. Auch beim Tier werden

wichtige Erkrankungen, wie die Geflügeltuberkulose und die Paratuberkulose der Wiederkäuer durch Mitglieder dieser Erregergruppe hervorgerufen. Meist scheinen die Infektionen von Quellen, die in der Umwelt (Erdboden, Torf, Wasser, Staub, Futter) liegen, ihren Ausgang zu nehmen. Beim Säuger wird überwiegend die *M. avium*-Subspezies *„hominissuis“* isoliert, bei Vögeln dagegen meist die Subspezies *„avium“*. Beide Subspezies unterscheiden sich unter anderem durch ihren Gehalt an Insertionselementen, die zur molekularen Differenzierung genutzt werden. Hunde werden allgemein als relativ resistent gegenüber der Infektion mit *M. avium* beschrieben. Dennoch konnten wir zwei Fälle von Infektionen mit *M. avium hominissuis* bei einem bzw. drei Jahre alten Hunden (Miniatur-Schnauzer, Yorkshire-Terrier) nachweisen, die über mehrere Wochen schwere klinische Symptome (therapieresistentes Fieber, Lethargie, zunehmender Gewichtsverlust, generalisierte Lymphadenomegalie, Diarrhoe) zeigten, so dass sie schließlich euthanasiert werden mussten. Die pathologisch-anatomischen Veränderungen entsprachen denen generalisierter Mykobakterien-Infektionen: vergrößerte Lymphknoten durchsetzt mit weißlichen granulomatösen Herden, granulomatöse Herde auch in anderen Organen (Milz, Leber, Brustraum), intra-abdominale Verklebungen und Verwachsungen. Pathohistologisch waren eitrig-granulomatöse Herde in Lymphknoten, Tonsillen, Leber, Milz, Netz, Darm, Niere, Lunge und Rippenfell nachweisbar. Die granulomatösen Herde waren gekennzeichnet durch zentrale Nekrosen umgeben von Makrophagen, Epitheloid-Zellen und wenigen Neutrophilen. Säurefeste Stäbchen wurden mikroskopisch in großer Zahl nachgewiesen. Nach einer Kultivierungszeit von zwei Wochen war *M. avium subsp. hominissui*s auch im Gewebe nachweisbar. Diese Ergebnisse zeigen, das von kleinen Haustieren, die mit *M. avium* subsp. *hominissuis* infiziert sind, ein Risiko für den Menschen ausgeht. Vor allem bei den üblicherweise chronischen unspezifischen Krankheitsverläufen sollte dies nicht unterschätzt werden.

Haist *et al.* (2008) *Mycobacterium avium* subsp. *hominissuis* infection in 2 pet dogs, Germany. Emerg Infect Dis 14, 988-990.

Department of Pathology, University of Veterinary Medicine Hannover; Friedrich-Loeffler-Institut, IMP/IBIZ, Jena, (alle Deutschland)

Mycobacterium gordonae als mögliche Ursache granulomatöser Läsionen der Zehenspitzen beim Südafrikanischen Krallenfrosch (_Xenopus laevis_)

Im Rahmen der Gesundheitsüberwachung der Amphibienhaltung an einem Tierforschungszentrum wurde *Mycobacterium* (*M.*) *gordonae* aus granulomatösen Läsionen der Zehenspitzen beim Südafrikanischen Krallenfrosch (*Xenopus laevis*) nachgewiesen. Innerhalb der vergangenen drei Jahre wurden bei 21 Tieren der Kolonie, die sich aus ca. 350-400 Fröschen zusammensetzte, Zehenspitzengranulome mit Krallenverlust beobachtet. Das Allgemeinbefinden der Frösche erschien ungestört. Mit Hilfe von 16S rDNA-Sequenzierung und PCR-Restriktionsanalyse des *rpoB*-Gens mit der Endonuklease *HaeIII* wurde der angezüchtete Erreger als *Mycobacterium gordonae* identifiziert.

Auch in unveränderten Gewebeproben von Lunge und Haut konnte der Erreger nachgewiesen werden, der im Übrigen ubiquitär vorkommt und in der Regel als apathogen gilt. Die granulomatösen Läsionen bei *Xenopus laevis* lassen vermuten, dass auch diese atypische Mykobakterienspezies unter bestimmten Bedingungen für bestimmte Tierarten pathogene Eigenschaften entwickeln kann. Ähnlich wie beim „Schwimmbad- oder Aquarianer-Granulom“, hervorgerufen durch *M. marinum*, könnte auch *M. gordonae* lokale Infektionen beim Menschen verursachen.

Kirsch *et al.* (2008) *Mycobacterium gordonae* als mögliche Ursache granulomatöser Läsionen der Zehenspitzen beim Südafrikanischen Krallenfrosch (*Xenopus laevis*). Berl Münch Tierärztl Wochenschr 121, 270-277.

Tierforschungszentrum, Universität Ulm; Friedrich-Loeffler-Institut, IBIZ/IMP, Jena, (beide Deutschland)

2.6 Salmonellen

Salmonellen sind gramnegative, begeißelte Stäbchen, die akut bis chronisch oder symptomlos verlaufende Infektionskrankheiten verursachen können. Sie kommen bei vielen Tierarten und auch beim Menschen vor. Neben tierartadaptierten Salmonellen-Serovaren sind häufig auch virulente nicht-tierartadaptierte Serovaren wie *Salmonella Typhimurium* und *Salmonella Enteritidis* für enterale und systemische Erkrankungen bei verschiedenen Wirten verantwortlich. Besondere Bedeutung besitzen Salmonellen-Infektionen bei landwirtschaftlichen Nutztieren als Ursache für Salmonellen-Infektionen des Menschen (Zoonose).

Wirkung von Norepinephrin auf die Kolonisation und systemische Ausbreitung von _Salmonella enterica_ in infizierten Tieren: Bedeutung von Catecholat-Siderophor-Vorstufen und Abbauprodukten

Norepinephrin fördert die *In-vitro*-Vermehrung von *Salmonella enterica* unter Eisenmangelbedingungen, indem es über die eisenbindenden Proteine Serumtransferrin und Ovotransferrin die Freisetzung von gebundenem Eisen und die nachfolgende Aufnahme durch die Bakterien erleichtert. Darüber hinaus führte

eine Vorbehandlung von Mäusen und Küken mit Norepinephrin zu einer signifikant höheren intestinalen Besiedelung und systemischen Ausbreitung nach einer Infektion mit *Salmonella enterica* -Stämmen. Bei ent- und *tonB*-Mutanten führte Norepinephrin jedoch weder in serumhaltigem Flüssigmedium noch auf eiweißhaltigen festen Nährmedien zu einer Steigerung der Vermehrung. Das weist darauf hin, dass dieser Prozess sowohl das Vermögen zur Synthese von Enterobactin als auch eine *TonB*-abhängige Aufnahme des Eisens voraussetzt. Eine entS-Mutante (früher als ybdA bezeichnet) und eine *iroB*-Mutante verhielten sich in beiden Testsystemen wie Wildstämme. Demzufolge ist für diesen Effekt weder die Sekretion von Enterobactin noch die Umwandlung von Enterobactin zu Salmochelin S4 notwendig. Auf der anderen Seite führten Mutationen in fes oder *iroD* in beiden Testsystemen zu einem Verlust des vermehrungsfördernden Effektes durch Norepinephrin. Die fes- und *iroD*-Gene kodieren Enzyme, die Enterobactin bzw. Salmochelin S4 zu Monomeren hydrolysieren. Daher ist davon auszugehen, dass die Exkretion der monomeren Formen dieser Siderophore große Bedeutung für die Aufnahme des durch Norepinephrin freigesetzten Eisens von Transferrin oder Ovotransferrin hat. Ein ähnliches Verhaltensmuster wurde bei *Salmonella Typhimurium* in einem Mäuse-Infektionsmodell beobachtet. Eine Behandlung der Tiere mit Norepinephrin vor der intragastralen Infektion führte zu einer erhöhten intestinalen Besiedelung und systemischen Ausbreitung des Wildstammes und der entS-Mutante, während die fes-Mutante unter diesen *In-vivo*-Bedingungen signifikant attenuiert war. Das weist darauf hin, dass die Exkretion von 2,3-Dihydroxibenzoylserin unabdingbar für die durch Norepinephrin induzierte Vermehrungsförderung unter Eisenmangelbedingungen im infizierten Wirtstier sein könnte. Im Gegensatz zu den *In-vitro*-Bedingungen verhielten sich die *tonB*-Mutanten von *Salmonella Typhimurium* und *Enteritidis* sowohl in infizierten Mäusen als auch in Küken wie der Wildstamm. Daher könnte die durch Norepinephrin induzierte Vermehrungsförderung auch durch eine von *TonB* unabhängige Aufnahme der Enterobactin-Vorstufe 2,3-Dihydroxibenzoesäure erfolgen.

Methner, U., Rabsch, W., Reissbrodt, R., Williams, P.H. (2008) Effect of norepinephrine on colonisation and systemic spread of *Salmonella enterica* in infected animals: Role of catecholate siderophore precursors and degradation products. Int J Med Microbiol 298, 429-439

Department of Genetics, University of Leicester, UK; Robert Koch-Institut, Wernigerode; Friedrich-Loeffler-Institut, IBIZ, Jena, (beide Deutschland)

2.7 Bakterielle Resistenzforschung

Antimikrobielle Wirkstoffe stellen in der Veterinärmedizin unverzichtbare Hilfsmittel bei der Bekämpfung bakterieller Infektionskrankheiten dar. Die Anwendung antimikrobieller Wirkstoffe birgt jedoch die Gefahr, dass die zu bekämpfenden Erreger, aber auch Kommensalen, unter dem Selektionsdruck Resistenzen gegenüber den entsprechenden Wirkstoffen entwickeln bzw. erwer-ben. Für viele bakterielle Erreger aus dem veterinärmedizinischen Bereich liegen bislang nur unzureichende Informationen über die genetischen Grundlagen und die Übertragbarkeit entsprechender Resistenzeigenschaften vor. Die nachfolgend beschriebenen publizierten Projekte zu unterschiedlichen Aspekten der antimikrobiellen Resistenz bei Bakterien von Lebensmittel liefernden Nutztieren, Kleintieren, aber auch Fischen dienten dazu, entsprechende Wissenslücken zu füllen.

Analyse und Vorkommen von Klasse 1- und Klasse 2-Integrons und Integron assoziierten Genkassetten bei *Escherichia coli*-Isolaten von Schweinen, Pferden, Katzen und Hunden aus der BfT-GermVet Monitoringstudie 2004-2006

Im Rahmen der BfT-GermVet Monitoringstudie wurden 417 *Escherichia coli*-Isolate untersucht, die in den Jahren 2004-2006 in Deutschland aus Infektionen des Uro-Genitaltrakts von Schweinen (n=87), Infektionen des Genitaltrakts von Pferden (n=102) und von Infektionen des Respirations- (n=28), des Harn- (n=100) oder des Gastrointestinaltrakts (n=100) von Katzen/ Hunden gesammelt wurden. Die Isolate wurden auf ihre Empfindlichkeit gegenüber 22 verschiedenen Wirkstoffen und zwei Kombinationen von antimikrobiellen Wirkstoffen untersucht. In der vorliegenden Studie wurden Integron- assoziierte Resistenzgene identifiziert. Die Präsenz der Klasse 1- und Klasse 2-Integrasegene wurde mittels PCR untersucht und die variable Region der Integrons anschließend mittels spezifischer PCR-Assays amplifiziert. Die klonierten Amplikons wurden sequenziert. Für die nachfolgend aufgelisteten Wirkstoffe wurden verschiedene Resistenzgene nachgewiesen: Trimethoprim, Streptomycin/Spectinomycin, Streptothricin, Gentamicin/Tobramycin/Kanamycin und Chloramphenicol. Die Genkassetten mit diesen Genen wurden in sieben verschiedenen Kassettenarrangements innerhalb von Klasse 1-Integrons und in drei verschiedenen Kassettenarrangements in Klasse 2-Integrons identifiziert. Die Ergebnisse dieser Untersuchung zeigten, dass Klasse 1- und Klasse 2-Integrons in 18,9% der 417 Isolate nachgewiesen wurden und häufig über mehr

als eine Genkassette verfügten. Der molekulare Nachweis der Kopplung von verschiedenen Resistenzgenen liefert eine mögliche Erklärung für die Co-Selektion und Persistenz von Resistenzgenen ohne direkten Selektionsdruck.

Kadlec, K., Schwarz, S. (2008) Analysis and distribution of class 1 and class 2 integrons and associated gene cassettes among *Escherichia coli* isolates from swine, horses, cats and dogs collected in the BfT-GermVet monitoring study. J Antimicrob Chemother 62, 469-473.

Friedrich-Loeffler-Institut, ING, Mariensee, Deutschland

Nachweis von Methicillin resistenten *Staphylococcus aureus*- und *Staphylococcus pseudintermedius*-Isolaten aus der BfT-GermVet Monitoringstudie

Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA)-Stämme von Tieren haben in den letzten Jahren im Fokus zahlreicher Studien gestanden. Zu den Bakterien, die für die BfT-GermVet Monitoringstudie gesammelt wurden, gehörten 247 koagulasepositive oder -variable Staphylokokken. Diese stammten von Schweinen mit Infektionen der Haut (n=44) oder des Uro-Genitaltraktes (inklusive der Erkrankungen aus dem Metritis-Mastitis-Agalaktie-Komplex) (n=45), aber auch von Hunden/Katzen mit Infektionen des Respirationstraktes (n=57) oder Infektionen von Haut/Ohr/Maul (n=101). Die *In-vitro*-Empfindlichkeitsprüfung ergab, dass sieben (2,8%) dieser 247 Staphylokokken als Oxacillin-resistent eingestuft wurden. Sie zeigten MHK-Werte von 8 bis ≥ 32 mg/L. Diese fünf *S. aureus* Isolate von Schweinen und zwei *S. pseudintermedius* Isolate von Hunden wurden vergleichend auf ihre Reistenzphänotypen und -genotypen untersucht und die Resistenzgene mittels PCR identifiziert. Alle sieben Isolate wiesen das Gen mecA auf und waren Tetracyclin-resistent. Drei Tetracyclin-Resistenzgene, tet(K), tet(L) und tet(M), wurden einzeln oder in verschiedenen Kombinationen nachgewiesen. Fünf Isolate zeigten Gentamicinresistenz, die durch das Gen aacA/aphD vermittelt wurde. Ein Isolat zeigte sich resistent gegenüber Makroliden/Lincosamiden und wies das Gen erm(A) auf. Alle fünf MRSA-Isolate entsprachen dem MLST-Typ ST398, der bereits bei Schweinen aus benachbarten Ländern, wie den Niederlanden oder Dänemark, nachgewiesen wurde. Die Ergebnisse dieser Studie weisen darauf hin, dass solche Isolate auch an definierten Krankheitsgeschehen bei Schweinen aus verschiedenen Gebieten Deutschlands beteiligt sind.

Schwarz *et al.* (2008) Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* detected in the BfT-GermVet monitoring program 2004-2006 in Germany. J. Antimicrob. Chemother. 61, 282-285

Friedrich-Loeffler-Institut, ING, Mariensee; Robert Koch-Institut, Wernigerode; (beide Deutschland)

Erste komplette Sequenz eines Multiresistenzplasmids von *Aeromonas bestiarum*

Aeromonas bestiarum ist ein aquatisches Bakterium, das bei diversen Fischarten Hautinfektionen und Septikämien verursachen kann. In Aquakulturen werden *Aeromonas*-bedingte Krankheitsprozesse oft mit antimikrobiellen Wirkstoffen bekämpft. Über die Grundlagen der antimikrobiellen Resistenz von *A. bestiarum* ist bislang wenig bekannt. In der vorliegenden Studie wurde ein multiresistentes *A. bestiarum*-Isolat hinsichtlich der Präsenz, Lokalisation und Organisation von Resistenzgenen untersucht. Hierbei wurde ein mit pAB5S9 bezeichnetes Multiresistenzplasmid identifiziert, das Resistenz gegenüber Phenicolen, Sulfonamiden, Streptomycin und Tetracyclinen vermittelte. Dieses 24716 bp große Plasmid wurde komplett sequenziert und hinsichtlich seiner Struktur und der Organisation der Resistenzgene untersucht. Hierzu wurde das Plasmid mittels Elektroporation in *Escherichia coli* TG1 übertragen, wo es alle Resistenzeigenschaften exprimierte. Die Analyse des Plasmids ergab insgesamt 20 Leserahmen inklusive der Resistenzgene floR (chloramphenicol/Florfenicolresistenz), sul2 (Sulfonamidresistenz), strA-strB (Streptomycinresistenz) und tetR-tet(Y) (Tetracyclinresistenz). Nahezu 7,5 kb des Plasmids zeigten 100% Identität auf Nukleotidsequenzebene zu drei nichtzusammenhängenden Bereichen des SXT-Elements von *Vibrio cholerae*. Diese Bereiche umfassten unter anderem den floR-Genbereich sowie die Region um die Gene sul2 und strA-strB. Andere Leserahmen des Plasmids pAB5S9, die für Plasmidreplikation, metabolische Funktionen, Genregulationsfunktionen und Transfereigenschaften kodierten, zeigten Homologien zu entsprechenden Genen unterschiedlicher Bakterien. Diese Studie erlaubte den erstmaligen Nachweis des Resistenzgens floR bei Bakterien des Genus *Aeromonas* sowie die erste Beschreibung eines vollständigen tetR-tet(Y) Operons. Die Analyse dieses multiresistenten A. bestiarum-Stammes deutet an, dass entsprechende Stämme als Reservoir für transferable Resistenzgene im aquatischen Lebensraum fungieren können.

Gordon *et al.* (2008) Complete sequence of the floR-carrying multiresistance plasmid pAB5S9 from freshwater *Aeromonas bestiarum*. J Antimicrob Chemother 62, 65-71.

INRA, ENVN, UMR1035 Chimiothérapie Aquacole et Environnement, Nantes; INRA, UR1282 Infectiologie Animale et Santé Publique, Nouzilly; Unité de Biodiversité des Bactéries Pathogènes Emergentes, Institut Pasteur, (alle Frankreich); Friedrich-Loeffler-Institut, ING, Mariensee, Deutschland

Nachweis erster Florfenicol-resistenter *Pasteurella multocida*-Isolate in Deutschland

Florfenicol ist ein zur Bekämpfung von Atemwegsinfektionen bei Rind und Schwein zugelassener antimikrobieller Wirkstoff. Daten aus Monitoringstudien belegen, dass Resistenzen gegenüber diesem Wirkstoff bei den Zielbakterien derzeit ausgesprochen selten vorkommen. In dieser Studie wurden die ersten drei Florfenicol-resistenten *Pasteurella multocida*-Isolate aus Deutschland – zwei von Schweinen und eins von einem Kalb – hinsichtlich der Genetik und Übertragbarkeit dieser Resistenzeigenschaft untersucht. In allen drei Fällen basierte die Florfenicol-Resistenz auf einem plasmidkodierten floR-Gen, das für einen phenicolspezifischen Exporter kodiert. Restriktionsanalysen zeigten, dass die floR-tragenden Plasmide eines der beiden porzinen Isolate und des bovinen *P. multocida*-Isolats dem Plasmidtyp pCCK381 entsprachen. Dieser Plasmidtyp wurde 2004 bei einem bovinen *P. multocida*-Isolat aus Großbritannien nachgewiesen. Das andere porzine Isolat verfügte über einen neuen, mit pCCK1900 bezeichneten Plasmidtyp. Dieses neue Plasmid von 10226 bp wurde komplett sequenziert und die Strukturanalyse ergab eine dem Plasmid RSF1010 analoge Grundstruktur. Untersuchungen mittels Pulsfeld-Gelelektrophorese (PFGE) bestätigten, dass diese drei floR-tragenden Isolate aus Deutschland nicht verwandt waren und sich auch von dem pCCK381-tragenden Isolat aus Großbritannien unterschieden. Die Ergebnisse dieser Studie zeigten, dass nach Großbritannien und Frankreich nun auch Florfenicol-resistente Isolate aus der Familie *Pasteurellaceae* in Deutschland aufgetreten sind. Die molekulare Analyse der Stämme mittels PFGE sowie Analyse der floR-tragenden Plasmide deutet an, dass die Verbreitung der Florfenicol-Resistenz auf dem horizontalen Transfer mobilisierbarer Plasmide beruht und nicht auf der klonalen Verbreitung eines resistenten Stammes über geographische und tierartliche Grenzen.

Kehrenberg *et al.* (2008) Molecular analysis of florfenicol-resistant *Pasteurella multocida* isolates in Germany. J Antimicrob Chemother 62, 951-955

Friedrich-Loeffler-Institut, ING, Mariensee; Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL), Berlin, (beide Deutschland)

Identifizierung von Resistenzgenen, Integrons und eines Gruppe II Introns bei multiresistenten porzinen *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Serovar Bredeney-Isolaten aus Brasilien

In dieser Studie wurden 83 *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Serovar Bredeney-Isolate von klinisch unauffälligen Schlachtschweinen aus Südbrasilien zunächst mittels XbaI- und BlnI-Pulsfeld-Gelelektrophorese, Plasmidprofilanalysen und mittels Bestimmung der Empfindlichkeit gegenüber antimikrobiellen Wirkstoffen hinsichtlich ihrer Verwandtschaft untersucht. Hierbei wurden insgesamt 29 XbaI- und 30 BlnI-PFGE-Muster festgestellt. Die 72 plasmidtragenden Isolate zeigten 20 unterschiedliche Plasmidprofile. Antimikrobielle Multiresistenz wurde bei 49 Isolaten (59%) nachgewiesen, wovon 39 Isolate zumindest Resistenz gegenüber Sulfonamiden, Tetracyclinen, Chloramphenicol, Streptomycin, Kanamycin und/oder Ampicillin aufwiesen. Zwölf repräsentative Isolate wurden für die Identifizierung der Resistenzgene sowie Untersuchungen zu deren Lokalisation und Transferabilität ausgewählt. Hierbei wurden die Sulfonamid-Resistenzgene sul1, sul2 und sul3, die Tetracyclin-Resistenzgene tet(A) und tet(B), die Phenicol-Resistenzgene catA1 und floR, das Streptomycin-Resistenzgen strA, das Kanamycin-Resistenzgen aphA1 sowie das Ampicillin-Resistenzgen bla_{TEM} mittels spezifischer PCRs nachgewiesen. Diese Gene befanden sich überwiegend auf Plasmiden lokalisiert. Zusätzlich war ein Klasse 1-Integron mit der Kassettenkombination dfrA21/blaOXA-129/aadA1 und ein Klasse 2-Integron mit der Kassettenkombination dfrA1/sat1/aadA1 nachweisbar. In das 59-Basen-Element der aadA1-Genkassette des Klasse 1-Integrons war ein Gruppe II Intron inseriert. Die Daten dieser Studie unterstreichen die große genomische Vielfalt porziner S. Bredeney-Isolate aus einem engen geographischen Bereich. Die hohe Anzahl multiresistenter Isolate deutet die Problematik für therapeutische Interventionen an, sofern diese Isolate Eingang in die menschliche Nahrungskette finden und Infektionen beim Menschen verursachen.

Michael *et al.* (2008) Molecular analysis of multiresistant porcine *Salmonella enterica subsp. enterica* serovar Bredeney isolates from Southern Brazil: identification of resistance genes, integrons and a group II intron. Int. J. Antimicrob. Agents 32,120-129

Friedrich-Loeffler-Institut, ING, Mariensee, Deutschland; Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brazil

Identifizierung einer neuen qnrB-Variante, qnrB12, bei aviären *Citrobacter werkmanii*-Isolaten

Gene vom Typ qnr kodieren für Proteine aus der Pentarepeat-Familie und schützen zu einem gewissen Grad die bakteriellen Enzyme DNA-Gyrase und DNA-Topoisomerase IV vor der inhibitorischen Wirkung von Chinolonen/Fluorchinolonen. Im Rahmen einer Untersuchung aviärer Enterobacteriaceae hinsichtlich

der Präsenz von qnr-Genen wurde bei drei unverwandten *Citrobacter werkmanii*-Isolaten eine neue qnrB-Variante, qnrB12, nachgewiesen. Das 648 bp große qnrB12-Gen kodiert für ein 215 Aminosäuren großes Protein. Identitäten zum nächstverwandten qnrB9-Gen bzw. QnrB9-Protein von *Citrobacter freundii* betragen 98,9% auf Nukleotidsequenzebene bzw. 99,5% auf Aminosäureebene. Eine chromosomale Lokalisation der qnrB12-Gene ist wahrscheinlich, da wiederholte Transformations- und Konjugationsexperimente erfolglos blieben und auch Hybridisierungsexperimente mit einer qnrB12-spezifischen Sonde keine Signale bei der Verwendung von Plasmid-DNA zeigten. Dagegen zeigten Hybridisierungsstudien mit I-CeuI-geschnittener genomischer DNA (dieses Enzym schneidet ausschließlich innerhalb der chromosomalen rRNA-Operons) Signale mit dem größten I-CeuI-Fragment von etwa 800 kb. Weiterhin zeigten S1-Nukleaseverdaus mit anschließender Pulsfeld-Gelelektrophorese keine großen Plasmide, die mit dieser ~800 kb-Bande co-migrieren. Sequenzanalysen der Areale, die qnrB12-Gene flankierten, zeigten, dass sich alle drei qnrB12-Gene im gleichen genetischen Umfeld befinden. Dieses Umfeld zeigt deutliche Homologien zur Sequenz eines qnrB-tragenden Plasmids aus *Klebsiella pneumoniae*. Hieraus ergibt sich die Vermutung, dass die qnrB12-Gene über die partielle oder komplette Integration eines entsprechenden Plasmids in die chromosomale DNA von *C. werkmanii* gelangt sind.

Kehrenberg *et al.* (2008) Novel variant of the qnrB gene, qnrB9, in *Citrobacter werkmanii*. Antimicrob Agents Chemother 52, 1206-1207.

Friedrich-Loeffler-Institut, ING, Mariensee; Bayer HealthCare AG, Animal Health Division, Clinical Research & Development Antiinfectives, Leverkusen, (beide Deutschland)

Erarbeitung klinischer Grenzwerte für Amoxicillin zur Anwendung bei porzinen Atemwegsinfektionserregern

In dieser Studie wurde ein Vorschlag für klinische Grenzwerte für Amoxicillin erarbeitet, der eine Einstufung von Atemwegsinfektionserregern von Schweinen anhand ihrer minimalen Hemmkonzentrationen (MHK-Werte) in die qualitativen Kategorien „empfindlich“, „intermediär“ und „resistent“ ermöglichen soll. Zu diesem Zweck erfolgte eine gründliche Aufarbeitung der entsprechenden publizierten Literatur im Hinblick auf (a) schweinespezifische pharmakologische Daten unter Berücksichtigung der verwendeten Dosierungen und Applikationswege von Amoxicillin, (b) klinische Wirksamkeit und (c) *In-vitro*-Empfindlichkeit der Zielorganismen. Basierend auf der vergleichenden Analyse der erhaltenen Ergebnisse hat die Arbeitsgruppe “Antibiotikaresistenz” der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft e.V. folgende Grenzwerte für Amoxicillin zur Anwendung bei porzinen Atemwegsinfektionserregern vorgeschlagen: „empfindlich bei MHK-Werten von $\leq$ 0.5 mg/L, „intermediär” bei 1 mg/L und „resistent“ bei $\geq$ 2 mg/L.

Schwarz *et al.* (2008) A proposal of clinical breakpoints for amoxicillin applicable to porcine respiratory tract pathogens. Vet. Microbiol 126, 178-188.

Friedrich-Loeffler-Institut, ING, Mariensee; Intervet Innovation GmbH, Schwabenheim; Institut für Geflügelkrankheiten und Institut für Pharmakologie und Toxikologie, Freie Universität Berlin; Pfizer GmbH, Karlsruhe; Medizinische Kleintierklinik und Institut für Medizinische Mikrobiologie, Infektions- and Seuchenmedizin, Ludwig-Maximilians-Universität München; Institut für Physiologie, Wissenschaftszentrum Weihenstephan, Freising-Weihenstephan; Institut für Pharmakologie, Toxikologie and Pharmazie; Institut für Lebensmittelqualität und –sicherheit; Klinik für kleine Klauentiere, alle Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover; Veterinärinstitut Oldenburg, LAVES; TGD Bayern, Poing; Landesuntersuchungsamt Rheinland-Pfalz, Institut für Lebensmittel tierischer Herkunft, Koblenz; Bundesverband für Tiergesundheit (BfT), Bonn; Bundesamt für Verbraucherschutz and Lebensmittelsicherheit (BVL), Berlin; (alle Deutschland)

3 Parasiten

3.1 *Toxoplasma gondii*

Toxoplasma gondii ist ein obligat intrazellulärer protozoärer Parasit, der alle warmblütigen Vertebraten einschließlich Säugetiere und Vögel infizieren kann. Bis zu einem Drittel der menschlichen Population sind mit *T. gondii* infiziert. Die meisten Primärinfektionen beim Menschen verlaufen asymptomatisch; manche Patienten erkranken an einer Lymphadenopathie oder einer okulären Toxoplasmose. Eine während der Schwangerschaft erworbene primäre Infektion kann den Föten schwer schädigen. Bei immunsupprimierten Patienten kann eine Reaktivierung latenter Infektionen zu lebensbedrohlichen Enzephalitiden führen. Infektionen beim Menschen werden vor allem durch den Verzehr von rohem oder nicht ausreichend erhitztem Fleisch verursacht, das lebende Stadien von *T. gondii* enthält, oder durch die Aufnahme von Nahrungsmitteln oder Wasser, die mit Oozysten aus dem Kot infizierter Feliden kontaminiert sind.

Auftreten von *Toxoplasma gondii* und *Hammondia hammondi* Oozysten im Kot von Katzen aus Deutschland und anderen europäischen Ländern

Zwischen Oktober 2004 und November 2006 wurden Kotproben von 24.106 Katzen aus Deutschland und anderen europäischen Ländern mikroskopisch in einem privaten veterinärmedizinischen Labor in Deutschland untersucht, um die Prävalenz von Tieren zu schätzen, die *Toxoplasma gondii* oder *Hammondia hammondi* Oozysten ausscheiden. In 74 Proben (0,31%) wurden

9-15 µm große Oozysten mit einer ähnlichen Morphologie wie *H. hammondi* und *T. gondii* gefunden. Um eine Speziesdiagnose zu stellen und den Genotyp von *T. gondii*-Isolaten zu ermitteln, wurden insgesamt 54 Proben eingehender mittels PCR und PCR-RFLP untersucht. Insgesamt konnten 48 Isolate charakterisiert werden: 26 (0,11%) wurden abschließend als *T. gondii* und 22 (0,09%) als *H. hammondi* identifiziert. *T. gondii*-positive Proben kamen aus Deutschland, Österreich, Frankreich und der Schweiz, während *H. hammondi* in Proben aus Deutschland, Österreich und Italien stammten. In zwei Proben (eine *T. gondii* und eine *H. hammondi*) wurden über die PCR Hinweise für das Vorhandensein von *Hammondia heydorni*-DNA gefunden. In keiner der von Katzen stammenden Proben konnte dagegen *Neospora caninum*-DNA nachgewiesen werden. 22 der 26 *T. gondii*-Isolate konnten genotypisiert werden. Die PCR-RFLP-Analyse der SAG2-, SAG3-, GRA6- und BTUB-Gene ergab in allen Fällen den *T. gondii*-Genotyp II. Morphologisch zeigten *H. hammondi*-Oozysten ein kleineres Länge-Breite-Verhältnis als *T. gondii*-Ooozysten. Eine neue PCR zur sensitiven und spezifischen Identifizierung von *H. hammondi* wurde entwickelt.

Schares *et al.* (2008). Characterization of a repetitive DNA fragment in *Hammondia hammondi* and its utility for the specific differentiation of *H. hammondi* from *Toxoplasma gondii* by PCR. Mol Cell Probes 22, 244-251.

Schares *et al.* (2008) Occurrence of *Toxoplasma gondii* and *Hammondia hammondi oocysts* in the faeces of cats from Germany and other European countries. Vet Parasitol 152, 34-45.

Friedrich-Loeffler-Institut, IfE, Wusterhausen; Vet Med Labor GmbH, Ludwigsburg (beide Deutschland)

3.2 *Neospora caninum*

Die Neosporose zählt weltweit zu den am häufigsten diagnostizierten infektiösen Ursachen für bovine Aborte und Totgeburten. Man geht davon aus, dass sich die Mehrzahl der *N. caninum*-positiven Rinder pränatal infiziert hat. Dieser vertikale Übertragungsweg ist sehr effizient und sichert *N. caninum* für mehrere Rindergenerationen das Überleben in einer einmal infizierten Zuchtlinie. Hunde und Kojoten sind Endwirte für den protozoären Infektionserreger. Endwirte scheiden im Kot Oozysten aus, die in der Umwelt längere Zeit überlebensfähig sind und wahrscheinlich über Kontaminationen des Futters oder des Trinkwassers zu Infektionen bei Zwischenwirten, wie zum Beispiel dem Rind, führen.

Entwicklung und Validierung von diagnostischen Methoden zur Bestimmung von Antikörpern gegen *Neospora caninum*

Für epidemiologische Studien ist die Qualität der Methoden zum Nachweis von Antikörpern gegen *Neospora caninum* äußerst wichtig. Verschiedene serologische Test, wie z.B. IFAT, ELISA oder Immunoblots mit unterschiedlichen Eigenschaften und Sensitivitäten stehen zur Verfügung. Ziel mehrerer Studien war es, verschiedene existierende Tests zu vergleichen. Insbesondere sollte die Vergleichbarkeit der, in verschiedenen Labors gewonnenen seroepidemiologischen Daten geklärt werden. Die Ergebnisse dieser Testvergleiche sind eine wichtige Voraussetzung für eine zukünftige Standardisierung der Ergebnisinterpretation.

Sotiraki *et al.* (2008). *Neospora caninum* infection in Greek dairy cattle herds detected by two antibody assays in individual milk samples. Vet Parasitol 152, 79-84.

Veterinary Research Institute, National Agricultural Research Foundation, Thessaloniki, Greece; Clinic of Productive Animals, Faculty of Veterinary Medicine, Aristotle University of Thessaloniki, Greece; Friedrich-Loeffler-Institut, IfE, Wusterhausen, Deutschland

3.3 *Echinococcus multilocularis*

Der kleine Fuchsbandwurm (*Echinococcus multilocularis*) gehört zur Klasse der Bandwürmer (Cestoden). Infektionen von Menschen mit dem Larvenstadium gelten in Mitteleuropa als die gefährlichste parasitär bedingte Zoonose. Der Parasit hat einen obligaten Wirtwechselzyklus. Infizierte Endwirte (*Canidae*, auch *Felidae*; in Europa vor allem der Fuchs) beherbergen wenige bis zu mehreren 100.000 geschlechtsreife, 1-3 mm kleinen Bandwürmer im Dünndarm und scheiden die auch für den Menschen infektiösen Eier mit der Losung aus. Diese bleibt über Monate an der bodennah wachsenden Vegetation infektionsfähig. Natürliche Zwischenwirte sind Nager, die sich durch orale Aufnahme der Eier infizieren und das Larvenstadium in nahezu allen Fällen in der Leber beherbergen. Der Lebenszyklus schließt sich über die Räuber-Beute-Beziehung der End- und Zwischenwirte. Der Mensch infiziert sich als Fehl-Zwischenwirt.

Räumlich-zeitliche Analysen zur Epidemiologie des Kleinen Fuchsbandwurms *Echinococcus multilocularis*

Erst seit etwa 15 Jahren ist bekannt, dass der kleine Fuchsbandwurm bundesweit bei Füchsen vorkommt. Hinweise auf eine deutliche Zunahme von infizierten Füchsen (absolut und/oder relativ) verdichten sich seit einigen Jahren. Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass dies zu einem erhöhten Infektionsrisiko bei Menschen führt, das jedoch aufgrund der langen Inkubationszeit (5 – 15 Jahre) erst mit jahrelanger Zeitverzögerung zu einem Anstieg der Erkrankungszahlen führen würde. Eine möglichst genaue Kenntnis der zeitlichen und räumlichen Dynamik

dieser Parasitose im natürlichen Lebensraum sowie der sie beeinflussenden Faktoren stellen Grundlagen für räumliche und zeitliche Risikobewertungen einschließlich Prüfung von Präventions- und Interventionsstrategien dar. Ein neuer Aspekt ist die Zuwanderung und Etablierung einer neuen Endwirtpopulation, bestehend aus dem Marderhund, im Osten Deutschlands. Epidemiologische Analysen bei so heterogen verteilten Infektionen in Wildtierpopulationen, insbesondere bei Wirtswechselzyklen, sind epidemiologisches Neuland. Daher ist dies auch ein Modellprojekt über die Erreger-orientierte Fragestellung hinaus. Zur Bearbeitung dieser Aufgabe muss eine geeignete Datenbasis (Datum und digitalisierter Ort der Streckung, diagnostischer Befund, andere epidemiologisch relevante Informationen, Stichprobendichte) geschaffen und über längere Zeiträume fortgeschrieben werden. Eigene Untersuchungen gestreckter Füchse, zunehmend auch Marderhunde (Einsendungen durch Unterstützung aus verschiedenen anderen Projekten) bilden den belastbaren Daten-Kernbereich, daneben wurden in Kooperation auch andere Daten für dieses Projekt nutzbar gemacht und eingebunden. Das schließt auch die Evaluierung und Harmonisierung der diagnostischen Methoden sowie die Prüfung, ob mit im Freiland gesammelten Losungsproben die regionale epidemiologische Situation überwacht werden kann, ein. Zur Verarbeitung dieser Daten wurden neue epidemiologische Analysekonzepte, auch unter Einbeziehung Geographischer Informationssysteme, entwickelt und evaluiert.

Sutor, A. (2008). Dispersal of the alien raccoon dog *Nyctereutes procyonoides* in Southern Brandenburg, Germany. Eur J Wildl Res 54, 321-326.

Friedrich-Loeffler-Institut, IfE, Wusterhausen, Deutschland

4 Prionen

Transmissible spongiforme Enzephalopathien (TSEs) sind progressive neurodegenerative Erkrankungen, die stets tödlich verlaufen und durch die Akkumulation einer fehlgefalteten Isoform (PrP^{Sc}) des körpereigenen Prion-Proteins (PrP^{C}) v.a. im zentralen Nervensystem gekennzeichnet sind. Pruisiner formulierte 1982 erstmals die Theorie, dass es sich bei dem Erreger der Scrapie, einer TSE des Schafes, um ein proteinartiges infektiöses Partikel („Prion“) handelt. Nach einer Inkubationszeit von bis zu mehreren Jahren folgen neurologische Symptome wie Schreckhaftigkeit, Tremor und Ataxien, die sich bis zum vollständigen Verlust der Bewegungskoordination im finalen Stadium der Erkrankung steigern. Histomorphologisch können Nervenzelldegenerationen, spongiforme Veränderungen im Neuropil sowie eine Astrozytose nachgewiesen werden. Die Ansammlungen des PrP^{Sc} sind als fibrilläre oder granuläre Strukturen intra- und extraneuronal oder in Form von amyloiden Plaques erkennbar. Eine Immunreaktion des Körpers auf das infektiöse Agens findet nicht statt. Neben ihrer oralen oder iatrogenen Transmissibilität können spongiforme Enzephalopathien auch genetisch bedingt sein oder sporadisch auftreten. Ihre experimentelle Übertragbarkeit unterscheidet sie jedoch von anderen neurodegenerativen Erkrankungen.

Die zelluläre Pathogenese bei Prion-Infektionen

Untersuchungen zur zellulären Pathogenese bei Prion-Infektionen zeigten, dass eine Vielzahl von Zellen auch extraneuronalen Ursprungs durch Prion-Erreger infiziert werden können, aber dass fast ausschließlich neuronale Zellen diese Erreger produktiv vermehren. Als Ursache für die fehlende Erregervermehrung in extra-neuronalen Zellen wurde ein Abfall der PrP^{C}-Expression infolge dieser Zellen festgestellt.

Eine zweite Studie befasste sich mit der Rolle des erst kürzlich gefundenen Sorting Nexin SNX33 bei Prion-Infektionen. SNX33 wurde bei Alzheimer-Studien als Aktivator der βAPP-Proteolyse identifiziert. Es ist ein phosphoryliertes, primär zytosolisches oder auch Membran-assoziiertes Protein. Seine Überexpression führt zu einer Inhibition der Dynamin-abhängigen Endozytose und in Folge dessen zu einer etwa 50%igen Reduktion der βAPP-Endozytose. Im Rahmen von Prion-Infektionen führte diese Überexpression zu einer erhöhten Ablösung von PrP^{C} von der Zellmembran und Modulation von dessen Endozytose-Rate. Dies hatte zum Ergebnis, dass die Neubildung von PrP^{Sc} in den Zellen zurückging.

Aguib *et al.* (2008) Neuroendocrine cultured cells counteract persistent prion infection by down-regulation of PrPc. Mol Cell Neurosci 38(1):98-109.

Heiseke *et al.* (2008) The novel sorting nexin SNX33 interferes with cellular PrP formation by modulation of PrP shedding. Traffic 9(7):1116-29.

Friedrich-Loeffler-Institut, INNT, Greifswald-Insel Riems; Institut für Virologie, Technische Universität München; Adolf-Butenandt-Institut und Zentrum für Neuropathologie und Prionforschung, Ludwig-Maximilians-University, München, (alle Deutschland)

Identifikation von Biomarkern im Blut und im Harn von BSE-erkrankten Rindern

Die BSE-Schnelltests zum Nachweis der fehlgefalteten Isoform des Prion-Proteins sind nur zur postmortalen Diagnostik an Hirngewebe geeignet. Um eine Gesundheitsüberwachung in einer Rinderherde durchzuführen oder Exportbescheinigungen zur Freiheit von BSE er-

stellen zu können, wäre die Verfügbarkeit von BSE-Lebendtests hilfreich. Solche Lebendtests könnten auf dem Nachweis von charakteristischen Biomarkern im Blut oder im Harn präklinisch infizierter Rinder basieren. In dieser Studie wurde nach einzelnen körpereigenen, aber BSE-spezifischen im Blut zirkulierenden DNA-Sequenzen (sog. CNAs: circulating nucleic acids) bzw. Mustern für solche CNAs gesucht. Als Untersuchungsmaterial dienten Proben von Rindern aus der BSE-Pathogenesstudie des FLI. Mit diesem Ansatz wurde bisher ein spezifisches CNA-Muster für BSE-erkrankte Rinder gefunden, aber noch kein brauchbarer präklinischer Biomarker. Dagegen waren die Ergebnisse für einen präklinischen Biomarker für Chronic Wasting Disease bei Cerviden vielversprechend.

In einem zweiten Versuchsansatz wurden die Proteine im Harn dieser BSE-infizierten und nicht-infizierten Rinder mit Hilfe der 2 D-Gelelektrophorese und Massenspektrometrie analysiert. Auch hier ergaben sich erste Ansätze für die Definition von Biomarkern. Weitere Validierungsstudien, insbesondere an Harnproben von Rindern aus unterschiedlichen präklinischen Phasen (definierte BSE-Inkubationsstadien), müssen jedoch folgen.

Gordon *et al.* (2009) Disease-specific motifs can be identified in circulating nucleic acids from live elk and cattle infected with transmissible spongiform encephalopathies. Nucleic Acids Res 37(2):550-6. (Epub 2008 Dec 5).

Simon *et al.* (2008) The identification of disease-induced biomarkers in the urine of BSE infected cattle. Proteome Sci 5; 6:23.

Prion Diseases Program, Public Health Agency of Canada; Department of Medical Microbiology and Department of Pharmacology, University of Manitoba; Animal Diseases Research Institute, Canadian Food Inspection Agency, (alle Kanada); Friedrich-Loeffler-Institut, INNT, Greifswald-Insel Riems, Deutschland

Untersuchungen zur BSE-Prädisposition in Abhängigkeit von Varianten des bovinen HEXA-Gens

Variationen in der Promotor-Region des prp-Gens zeigten einen deutlichen Effekt auf die Empfänglichkeit von Rindern gegenüber BSE. Mögliche andere die BSE-Empfänglichkeit beeinflussende Gen-Loci sind auch bereits beschrieben. Ein weiteres funktionelles Kandidatengen für BSE Prädisposition ist das *HEXA*-Gen. Es kodiert das lysosomale Enzym Hexosaminidase A. Beim Menschen führen Sequenzvarianten im *HEXA* zu der autosomal rezessiven Krankheit Tay-Sachs. Hierbei kommt es aufgrund eines defizienten Hexa-Enzyms zu einem Verfall von Nervenzellen und daraus resultierenden neurodegenerativen Störungen. In dieser Studie wurde eine 320kb-Region, die das HEXA-Gen mit einschloss, charakterisiert und auf Polymorphismen untersucht. Die Genotypisierung von 38 SNPs dieser Genregion in einer englischen Holstein-Friesen-Rindergruppe (350 Erkrankte + 270 Kontrollen) ergaben zwei SNPs, die mit einer BSE-Häufung gekoppelt waren. Die seltenen Allele beider SNPs waren in der Kontrollgruppe überrepräsentiert und stellten einen schützenden Effekt und ein geringeres Risiko einer BSE-Erkrankung dar. Entgegengesetzt dazu fand sich in der deutschen Holstein-Friesen Gruppe (73 Erkrankte und 627 Kontrollen) eine leichte Überrepräsentation des schützenden Haplotyps in der BSE-infizierten Tiergruppe, die jedoch nicht signifikant war. Diese Ergebnisse deuten auf einen möglichen Einfluss einer Mutation hin, die sich im Kopplungsungleichgewicht mit den untersuchten Loci befindet. Weitere Assoziationsstudien in den regulatorischen Regionen des *HEXA*-Gens und benachbarter Gene sollen helfen die kausalen Beziehungen zwischen BSE-Empfänglichkeit und Schutzwirkung besser zu identifizieren.

Juling et al (2008) Characterization of a 320-kb region containing the HEXA gene on bovine chromosome 10 and analysis of its association with BSE susceptibility. Anim Genet 39(4):400-6.

Institut für Tierzucht, Technische Universität München, Deutschland; Friedrich-Loeffler-Institut, INNT, Greifswald-Insel Riems, Deutschland; Division of Genetics and Genomics, Roslin Institute, UK

Rolle des zellulären Prion-Proteins

Die physiologische Rolle des zellulären Prion-Proteins ist bis heute nicht bekannt. Der hohe Konservierungsgrad innerhalb der Säugetierspezies spricht aber für eine wichtige Funktion. Transgene Mäuse, die PrP nicht exprimieren (PrP-knockout-Mäuse), zeigen bis auf geringgradige Veränderungen des Tag-Nacht-Rhythmus keine Auffälligkeiten und können nicht mit TSE infiziert werden. Auch zeigen transgene Rinder, die kein PrP exprimieren, keine Abweichungen von der Physiologie. Um den Zusammenhang zwischen der Menge des intrazellulär vorliegenden Prion-Proteins und der apoptotischen Aktivität der Zelle zu untersuchen, wurden die Protein-Profile von zwei Zelllinien in Abhängigkeit vom PrP^C-Expressionslevel verglichen. Eine vorübergehende Überexpression von PrP^C in HEK 293-Zellen belegte eine Beteiligung bei der Regulierung von Proteinen zum Schutz gegen oxidativen Stress und Apoptose an. Darüber hinaus ergaben sich Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen dem Prion-Protein und mehreren Proteinen, die in der Pathogenese der Alzheimerschen Krankheit eine Rolle spielen. Diese Zusammenhänge sollen zukünftig weiter erforscht werden.

Buschmann *et al.* (2008) Übertragbare spongiforme Enzephalopathien bei Tieren – ein Update. Tierärztliche Praxis 2008; 36 (Suppl 1): S. 15-19.

Friedrich-Loeffler-Institut, INNT, Greifswald-Insel Riems, Deutschland

Studie zum Vorkommen von Prion-Proteinen im Euter und in der Milch

Die genaue Funktion und Verteilung des nicht-infektiösen, zellulären Prion-Proteins (PrP^c) im Tierkörper sind bis heute unklar. In dieser Studie wurde die Expression des PrP^c im Euter von Rindern, Schafen und Ziegen untersucht und der Gehalt an PrP^c in den verschiedenen Milchfraktionen bestimmt. Es wurde gezeigt, dass PrP^c tierartspezifisch im Euter exprimiert und auch in die Milch sezerniert wird. Eine Abhängigkeit der Sekretion vom Laktationsstadium trat zudem beim Schaf auf. Während das Kolostrum von mit BSE oder Scrapie infizierten Schafen eine Reaktivität im ELISA zeigte, die jedoch in weiterführenden biochemischen Untersuchungen nicht bestätigt werden konnte, war weder eine Expression noch Sekretion des pathologischen Prion-Proteins im Euter bzw. in der Milch bei Rindern nachweisbar.

Didier et al. (2008) Studie zum Vorkommen von Prion Proteinen im Euter und in der Milch. Tierärztl Umschau 63, 475-82.

Lehrstuhl für Hygiene und Technologie der Milch, LMU München, Deutschland; Veterinary Laboratory Agency, Weybridge, UK; Friedrich-Loeffler-Institut, INNT, Greifswald-Insel Riems, Deutschland

Feline spongiforme Enzephalopathie

Die feline spongiforme Enzephalopathie (FSE) wurde 1990 erstmals bei einer Hauskatze beschrieben und betrifft auch in Gefangenschaft gehaltene Großkatzen. Der zeitliche Zusammenhang des Auftretens der FSE mit der BSE-Epidemie wird als Beweis einer Erreger-Übertragung durch kontaminiertes Rindfleisch gesehen.

In Deutschland wurde erstmals im Jahr 2008 FSE bei einem Geparden aus dem Nürnberger Zoo beschrieben. Ein neun Jahre alter, weiblicher Gepard entwickelte im Jahr 2007 über einen Zeitraum von acht Wochen hinweg neurologische Symptome mit Ataxien und einer progressiven Lahmheit der Hintergliedmaßen. Das in den Niederlanden geborene und aufgewachsene Tier verbrachte die letzten zwei Jahre im Zoologischen Garten Nürnberg, in dem es schließlich aus Tierschutzgründen euthanasiert wurde. Die histopathologische Untersuchung des Hirnstammes ergab eine mittelgradige spongiforme Enzephalopathie und das pathologische Prion-Protein wurde nachgewiesen, so dass die Diagnose Feline Spongiforme Enzephalopathie gestellt wurde. Der diskriminatorische Immunoblot (FLI-Test) zeigte hinsichtlich des Glykoprofils und der Proteinase-K-Schnittstelle BSE-ähnliche, von der Scrapie deutlich unterscheidbare Eigenschaften. Immunhistochemische Untersuchungen an formalinfixiertem Material zeigten eine weite Verteilung des pathologischen Prion-Proteins im zentralen wie peripheren Nervensystem sowie im lymphoretikulären und anderen Geweben. Diese Befunde sprechen für eine frühe, simultane hämatogene, lymphatische und neuronale Ausbreitung der FSE Prionen.

Hoffmann *et al.* (2008) Feline Spongiforme Enzephalopathie bei einem Geparden aus einem deutschen Tierpark: Immunhistologische und Biochemische Untersuchungen. DTW 115.

Friedrich-Loeffler-Institut, INNT, Greifswald-Insel Riems; Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit, Erlangen; Tiergarten Nürnberg, (alle) Deutschland

Prion Dekontamination während des oleochemischen Prozesses der Fetthydrogenierung

Nahrungsmittel, die zum menschlichen Verzehr oder für kosmetische Anwendungen gedacht sind, aber auch Tierfutter sowie oleochemische Herstellungsprozesse können einer Kontamination mit BSE-haltigem Material von Rindern ausgesetzt sein. Obwohl das wichtigste oleochemische Rohmaterial, der Talg, nicht als ursächlicher Faktor für BSE angesehen wird, ist es notwendig, ein potentielles Risiko durch Talg zu evaluieren. Talg findet sowohl in Lebensmitteln als auch in Kosmetika und im industriellen Bereich Verwendung. Wichtigster Produktionsprozess ist die hydrolytische Fettspaltung, wodurch Glycerol und eine Mischung verschiedener Fettsäuren entstehen, bei denen gewährleistet sein muss, ein für den menschlichen Verzehr sicheres, Prion-freies Produkt zu erhalten. Allerdings werden Fettsäuren nicht ausschließlich durch hydrolytische Fettspaltung gewonnen. Deshalb wurden die unter industriellen Bedingungen hergestellten Fettsäuren aus katalytischer Fetthydrogenierung, die zu einer Verbesserung der Lagerungsfähigkeit und zur Geschmacksstabilität von Fettsäuren führt, hinsichtlich der Prionsicherheit überprüft. Die Analysen zeigen, dass die industrielle Fetthydrogenierung zur drastischen Reduktion einer BSE Kontamination führt. Diese Analysen lassen den Schluss zu, dass das Risiko einer Erkrankung beim Menschen aufgrund einer BSE Kontamination etwa 6000-fach geringer ist als an der spontanen Creutzfeld-Jacob-Krankheit zu erkranken.

Müller, H., L. Stitz, und D. Riesner (2008) Prion decontamination during the oleochemical process of fat hydrogenation. Eur J Lipid Sci Technol 110, 392-399.

Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf; Friedrich-Loeffler-Institu, Ifl, Tübingen, (beide Deutschland).

Erweiterung der Octarepeat Domäne verändert den Fehlfaltungsmechanismus, nicht aber den Faltungsmechanismus des Prion-Proteins

Die fehlgefaltete Form des Prion-Proteins, PrP^{sc}, ist die entscheidende Komponente für das infektiöse Agens. Insertionsmutationen des Proteins, die die Anzahl der

Octarepeats im Protein erhöhen, werden mit vererblichen menschlichen Prionerkrankungen in Verbindung gebracht. In dieser Arbeit wurde untersucht, in welcher Weise die Erweiterung der Octapeptid (OR) Domäne eine Prion-ähnliche Konformation des zellulären Prion-Proteins beeinflusst. Deshalb wurden die Konformations- und Aggregations-modulierenden Eigenschaften von Wildtyp- sowie des expandierten OR miteinander verglichen; hierfür wurde entweder ein Fusionskonstrukt mit der Protein G B1 Domäne oder der integrale Teil des murinen Prion-Proteins verwendet. Durch Anwendung der zirkulären Dichroismus Spektroskopie konnte zunächst gezeigt werden, dass die ORs nicht ungefaltet, sondern in Form dreier unterschiedlicher Konformere in Form einer Polyprolin-ähnlichen Helix, als ß-Windung und „Trp-verwandt“ vorliegen. Die Erweiterung der Domäne hatte nur geringen Einfluss auf die Konformation des GB1-OR Fusionsproteins. Als Teil des Prion-Proteins veränderte eine erweiterte OR Domäne die Faltung, allerdings nicht durch Verhinderung der Enstehung nativer α-helikaler Monomere, sondern durch die Verhinderung der Bildung von Amyloid und durch Veränderung der Ansammlung von fehlgefalteten, β-reichen Aggregaten. Diese Eigenschaften können in geringfügigen pH-abhängigen Konformationsunterschieden zwischen Wildtyp und Mutante begründet sein. Zusammenfassend ergibt sich, dass PrP Insertionsmutanten pathogen sind, weil sie die spezifischen Fehlfaltungsmechanismen des PrP eher fördern als eine native Faltung verhindern. Diese Hypothese wird durch einen Bioassay in transgenen Mäusen mit Überexpression des Wildtyp-Maus Prion-Proteins gestützt, bei dem eine intrazerebrale Injektion eines rekombinanten PrP mit erweiterter OR Domäne, nicht aber das Wildtyp-PrP, eine Prionerkrankung verursachte.

Lelieveld, SR, L. Stitz, and C. Korth (2008). Expansion of the octarepeat domain alters the misfolding pathway but not the folding pathway of prion protein. Biochemistry 47,6267-6278.

Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf; Friedrich-Loeffler-Institut, IfI, Tübingen, (beide Deutschland).

5 Immunologie und Pathophysiologie

5.1 Immunsystem der Fische

Dem Immunsystem der Säuger ähnlich bilden Fische Immunglobuline und besitzen Lymphozytensubpopulationen, welche die Immunantwort gegenüber einer Reihe von Pathogenen manifestieren. T-Zellsubpopulationen konnten bisher jedoch noch nicht direkt identifiziert werden, da geeignete Antikörper für deren Nachweis fehlen. Die Existenz von NK-ähnlichen Zellen und spezifischen zytotoxischen Zellen wurde bei Fischen erstmals in allogenen und xenogenen Effektor-/Zielzellsystemen gezeigt. Bei Säugern kennt man die meisten Moleküle, die bei der erworbenen zellvermittelten Zytotoxizität eine Rolle spielen. Expressionsstudien bezüglich der MHC Klasse I-, TCR- and CD8-Gene bei Fischen deuten darauf hin, dass bei Fischen ähnliche Mechanismen existieren.

Untersuchungen zu neuartigen Immunglobulin-ähnlichen Transkripten bei Forellen

Im Zuge der angeborenen Immunantwort von Primaten ermöglichen unveränderliche, sogenannte Killerzell-Immunoglobulin-ähnliche Rezeptoren (KIR) die Erkennung von Zielzellen über sogenannte „Nicht-Selbst“ (missing self) Signale. Kürzlich wurden bei Fischen Genfamilien Neuartiger Immuntyp-Rezeptoren (NITR) und Neuartiger Immunglobulin-ähnlicher Transkripte (NILT) beschrieben, die molekulare Strukturhomologien zu KIRs aufweisen. Neben strukturellen Homologien weist auch der Grad an haplotypischen und allelischen Variationen dieser Gene auf funktionelle KIR-Homologe hin. Obgleich zahlreiche NITR-Sequenzen verschiedener Fischspezies bekannt sind, wurden bislang nur zwei NILT-Gene bei Karpfen entdeckt. Wir haben kürzlich die erste Regenbogenforellen-NILT-Sequenz (Onmy-NILT2D) beschrieben. Diese wird alternativ in eine lange, membrangebundene und eine kurze, wahrscheinlich sekretierte Form gespleißt. Beide Formen besitzen zwei Immunglobulin (Ig)-ähnliche Domänen, wobei die zweite Ig-ähnliche Domäne ein Konsensusmotiv aufweist, das sowohl in NILTs als auch in NITRs vorkommt. Interessanterweise enthält die zytoplasmatische Region der langen Form gleichzeitig ein Immunrezeptor-Tyrosin-basiertes aktivierendes Motiv (ITAM) und Immunrezeptor-Tyrosin-basierte inhibitorische Motive (ITIM).

Kock, H. und Fischer, U. (2008) A novel immunoglobulin-like transcript from rainbow trout with two Ig-like domains and two isoforms. Mol Immunol 45, 1612–1622.

Friedrich-Loeffler-Institut, IMED, Greifswald-Insel Riems, Deutschland

Tollip, ein negativer TLR-Regulator wird in Salmoniden von Zwillingsgenen kodiert

In höheren Vertebraten ist der Faktor Tollip als negativer Regulator des TLR2 und des TLR4 bekannt. In dem vorliegenden Projekt wurden zwei eng verwandte Tollip-Gene des Atlantischen Lachses (*Salmo salar*) und die entsprechende orthologe mRNA der Regenbogenforelle (*Oncorhynchus mykiss*) identifiziert. Ähnlich wie beim humanen orthologen Gen verfügen die salmoniden Tollip-Gene über 6 Exons. Die abgeleiteten Proteinsequenzen

weisen untereinander und zwischen den beiden Spezies eine Homologie von mehr als 97 % auf. Beide vorausgesagten Proteine besitzen eine C2-Domäne sowie eine Ubiquitinsystemkomponente und damit charakteristische Eigenschaften von Tollip-Faktoren der Säuger. Beide Tollip-kodierende Gene werden ubiquitär und gleich stark sowohl im Lachs als auch in der Regenbogenforelle exprimiert. Nach viraler Infektion war die Expression von Tollip erhöht. Die Daten lassen vermuten, dass eine Duplikation der Tollip-Gene vor der evolutionären Teilung der Lachse und Forellen stattfand. Unter Berücksichtigung der hohen Ähnlichkeiten der Tollip-Gene zwischen Fischen und Säugern kann zudem geschlossen werden, dass noch weitere Regulatoren der TLR-Kaskade zwischen Fischen und Säugern konserviert sein könnten.

Rebl, A. *et al.* (2008) Tollip, a negative regulator of TLR-signalling, is encoded by twin genes in salmonid fish. Fish&Shellfish Immunol 25, 153-162.

The Norwegian School of Veterinary Science, Department of Basic Sciences and Aquatic Medicine, Section for Genetics, Oslo, Norway; Research Institute for the Biology of Farm Animals (FBN), Dummerstorf; Friedrich-Loeffler-Institut, IMED, Greifswald-Insel Riems,; University of Rostock, Department of Biosciences, Rostock, (alle Deutschland)

Expression von CytochromP4501A in Leukozytenpopulationen der Regenbogenforelle

Die Verschmutzung von Gewässern mit industriellen Abwässern, z.B. Benz(A)pyren (BaP), hat toxischen Einfluss auf das Immunsystem von Fischen. Um diesen Einfluss detaillierter untersuchen zu können, wurde die Expression von toxinmetabolisierenden Enzymen in Leukozytenpopulationen der Regenbogenforelle bestimmt. Dazu wurde die CYP1A-Aktivität nach Belastung von Forellen mit 25 mg BaP/kg Körpermasse sowie die induzierte Expression der CYP1A-Proteins im Westernblot an verschiedenen Tagen nach Belastung in der Kopfniere und der Leber vergleichend analysiert.

Außerdem wurde die induzierte Expression in verschiedenen Zellen der Leber und der Kopfniere immunhistologisch untersucht. In Doppelmarkierungsexperimenten konnte eine Induktion von CYP1A in B-Lymphozyten und Granulozyten nachgewiesen werden. Damit wurde erstmalig ein direkter immuntoxischer Einfluss von BaP auf Immunzellen bei Fischen gezeigt.

Nakayama *et al.* (2008) Surface marker-defined head kidney granulocytes and B lymphocytes of rainbow trout express benzo[a]pyrene-inducible cytochrome P4501A protein. Toxicol Sci 103, 86-96.

University of Bern, Center for Fish and Wildlife Health, Bern, Switzerland; Friedrich-Loeffler-Institut, IMED, Greifswald-Insel Riems, Deutschland; University of Zurich, Institute of Anatomy, Zurich, Switzerland

Zellvermittelte Immunreaktionen der Regenbogenforelle nach DNA-Immunisierung gegen die Virale Hämorrhagische Septikämie (VHS)

Um genauere Informationen über Proteine des VHSV zu erlangen, die zytotoxische Zellen aktivieren, wurden Regenbogenforellen mit DNA-Vektoren, die für das Glykoprotein G und für das Nukleokapsidprotein N kodieren, immunisiert. Das G-Protein löste eine effizientere zellvermittelte Zytotoxizität aus als das N-Protein. Periphere Blutlymphozyten (PBL) von Glykoprotein G-immunisierten Forellen lysierten sowohl VHSV-infizierte MHC Klasse I-kompatible Zielzellen als auch VHSV-infizierte MHC Klasse I-inkompatible (xenogene) Zielzellen, was auf die Beteiligung zytotoxischer T-Zellen (CTL) bzw. NK-Zellen schließen lässt. Im Gegensatz dazu waren PBL von Glykoprotein N-vakzinierten Forellen lediglich in der Lage, VHSV-infizierte MHC Klasse I-kompatible Zielzellen zu lysieren, was auf eine Beteiligung von CTL hinweist. Interessanterweise zeigten PBL von Glykoprotein N-vakzinierten Forellen nur während der Sommermonate eine zytotoxische Antwort. PBL von Glykoprotein G-vakzinierten Forellen lösten eine signifikante Lyse VHSV-infizierter Zellen aus, jedoch nicht von Zielzellen, die mit dem Virus der Infektiösen Hämatopoetischen Nekrose infiziert waren. Dies deutet auf eine Induktion von CTL hin. Damit zeigt diese Studie erstmals zellvermittelte zytotoxische Reaktionen nach DNA-Immunisierung bei Fischen. Die intramuskuläre Injektion von DNA-Vakzinen induziert an der Applikationsstelle eine Entzündungsreaktion. Entsprechende Entzündungszellen wurden isoliert, gefärbt und an homolog und heterolog vakzinierte Rezipienten transferiert. Die meisten der gefärbten Zellen akkumulierten am Entzündungsherd der homologen Vakzine und nicht an denen der heterologen Vakzinen. Das weist auf spezifisches Homing hin, wobei dieses Phänomen bei Fischen überhaupt erstmals gezeigt werden konnte.

Utke *et al.* (2008). Cell-mediated immune responses in rainbow trout after DNA immunization against the viral hemorrhagic septicemia virus. Dev Comp Immunol 32, 239–252.

Friedrich-Loeffler-Institut, IMED, Greifswald-Insel Riems, Deutschland; Danish Institute for Food and Veterinary Research, Aarhus, Denmark; Department of Marine Biotechnology, Norwegian College of Fishery Science, University of Tromsø, Norway; Veterinary Research Institute, Brno, Czech Republic, Inland Station, National Research Institute of Aquaculture, Fisheries Research Agency, Tamaki, Mie, Japan

5.2 Immunsystem des Geflügels

Heterogenität aviärer γδ-T-Zellen

Im Thymus der Säuger und Vögel entwickeln sich zwei T-Lymphozyten-Linien, die der αβ- und γδ-T-Zellen. Für die γδ-T-Zellen wurden je nach Gewebslokalisation, Rezeptordiversität, Phänotyp oder Funktion bereits eine Reihe unterschiedlicher Subpopulationen definiert. Leider ist die Verteilung der gefundenen Subtypen zwischen verschiedenen Tierarten ungleich und eine einheitliche Klassifikation, die für alle Spezies anwendbar wäre, existiert nicht.

Aviäre γδ-T-Zellen stellen einen Großteil der Lymphozyten im peripheren Blut und in den Organen des Huhnes. Um die lokale und funktionelle Heterogenität nicht stimulierter aviärer γδ-T-Zellen zu untersuchen, wurden verschiedene, durch ihre CD8-Expression charakterisierte, γδ-T-Zellsubpopulationen des Blutes, der Milz und des Zäkums flow-zytometrisch quantifiziert und der proliferative Status analysiert. Nach Einzelzellsortierung wurde die Expression verschiedener immunologisch relevanter Gene bestimmt. Die Anzahl aviärer CD8-charakterisierter γδ-T-Zellpopulationen unterschied sich in Abhängigkeit vom Herkunftsgewebe und dem Alter der Vögel. In sieben Wochen alten Hühnern wurden im Zäkum (verglichen mit dem Blut und der Milz) die höchsten Prozentsätze sowohl von γδ-T-Zellen als auch von CD8α+high γδ-T-Zellen detektiert. Generell waren die CD8αβ+-Zellen innerhalb der CD8α+high γδ-T-Zellpopulation aller Organe häufiger anzutreffen als CD8αα+-Lymphozyten. Außerdem zeigte die CD8αβ+-Subpopulation der Milz die höchste proliferative Aktivität. Die Expression immunologisch relevanter Gene in unstimulierten γδ-T-Zellsubpopulationen wurde mittels quantitativer RT-PCR bewiesen. Die Expressionsstärke war allerdings sehr unterschiedlich. Die Ergebnisse der Untersuchungen verdeutlichen, dass γδ-T-Zellen von Hühnern nicht nur in Bezug auf ihre CD8-Antigen-Expressionscharakteristik und ihre Gewebslokalisation heterogen sind, sondern auch hinsichtlich funktioneller Eigenschaften, wie der mRNA-Expression für immunologisch bedeutsame Proteine.

Pieper, J., Methner, U. und Berndt, A. (2008) Heterogeneity of avian γδ T cells. Vet Immunol Immunopathol 124, 241-252.

Friedrich-Loeffler-Institut, IMP, Jena, Deutschland

5.3 Allgemeine Impfstoffentwicklung und Immuntherapie

Virale Vektoren zur Entwicklung von Impfstoffen in der Veterinärmedizin

Der Erkenntniszuwachs in der Molekularbiologie, Pathogenese und Immunologie von Virusinfektionen hat optimale Voraussetzungen für die Entwicklung neuartiger Ansätze für das rationale Design von Impfstoffen gegen virale Epizootien geschaffen. Dazu gehören „Antigen Delivery“ Systeme (ADS), die unter anderem auf attenuierten DNA- und RNA-Virusvektoren basieren. Neben ihrer Bedeutung für die Impfstoffentwicklung sind die viralen ADS wertvolle Hilfen für die Erforschung protektiver Immunantworten in unterschiedlichen Spezies und eröffnen die Möglichkeit, die am Schutz beteiligten Immunmechanismen auch verstärkend zu beeinflussen.

Alejandro Brun *et al.* (2008). Antigen delivery systems for veterinary vaccine development Viral-vector based delivery systems. Vaccine 26, 6508–6528.

Centro de Investigación en Sanidad Animal (CISA-INIA), Madrid, Spain; Centre International de Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD), UMR, Contrôle des maladies, Montpellier, France; Institute for Animal Health, Pirbright, UK; Faculty of Veterinary Medicine, University of Calgary, Alberta, Canada; Agence Francaise de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA), Ploufragan, France; Friedrich-Loeffler-Institut, IMB, Greifswald-Insel Riems, Deutschland; UMR 1161 Virologie INRA AFSSA ENVA, Maisons-Alfort, France

Hamsterpolyomavirus-abgeleitete virusähnliche Partikel als potentielle Basis für die Vakzineentwicklung

Das Hauptkapsidprotein VP1 des Hamsterpolyomavirus (HaPyV) erlaubte die simultane Insertion eines Tumor-assoziierten HLA-*A2-restringierten zytotoxischen T-Zell-Epitops des humanen Mucin 1 (MUC 1) an zwei Stellen ohne die Assemblierung von Virus-ähnlichen Partikeln (VLPs) zu behindern. Diese chimären VLPs unterscheiden sich im Aufnahmeweg und Reifungspotential für humane dendritische Zellen (hDC) nicht von unmodifizierten VLPs. MUC1-spezifische murine monoklonale Antikörper reagierten spezifisch mit bestimmten humanen Tumorzellen. Die Kokultivierung von mit chimären VLPs geprimten hDC mit autologen peripheren Blutleukozyten resultierte in der Aktivierung von MUC1-Epitop-spezifischen CD8(+) T-Zellen. Die Induktion von Epitop-spezifischen T-Zellen in einem humanen *in vitro*-Modell und von murinen MUC1-reaktiven Antikörpern *in vivo* zeigt das Potential von chimären HaPyV VP1-abgeleiteten VLPs als Basis für immuntherapeutische Behandlungsmethoden.

Dorn *et al.* (2008). Cellular and humoral immunogenicity of hamster polyomavirus-derived virus-like particles harboring a mucin 1 cytotoxic T-cell epitope. Viral Immunol 21, 12-27.

Institut für Virologie und Klinik für Onkologie und Hämatologie, beide Charité, Berlin, Deutschland; Institute of Biotechnology,

Vilnius, Lithuania; Robert Koch-Institut, Berlin, Deutschland; Moore Laboratory, Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, New York, USA; Friedrich-Loeffler-Institut, INNT, Greifswald - Insel Riems, Deutschland

Herstellung eines rekombinanten onkolytischen NDV und Expression eines IgG Antikörpers durch zwei Transgene

Für die onkolytische Krebstherapie werden mesogene Stämme des NDV eingesetzt. Diese replizieren selektiv in Tumorzellen, aber nicht in normalen humanen Zellen. Auf der Grundlage des mesogenen onkolytischen NDV Stamms MTH68 wurde eine Rekombinante erzeugt, die zwei zusätzliche Transgene, die für die schweren und leichten Ketten eines monoklonalen Antikörpers kodieren, exprimiert. Die Koexpression führt zur Expression des kompletten monoklonalen IgG-Antikörpers. Nach Infektion von Tumorzellen mit diesem Virus wird der IgG Antikörper durch die Tumorzellen produziert und sezerniert, der spezifisch an sein Zielantigen im Tumorgewebe bindet. Eine solche Vorgehensweise ermöglicht die Kombination der Vorteile des onkolytischen RNA Virus und der monoklonalen Antikörper in einem einzigen Agens mit verbesserten oder neuen Therapieeigenschaften.

Pühler *et al.* (2008) Generation of a recombinant oncolytic Newcastle disease virus and expression of a full IgG antibody from two transgenes. Gene Therapy 15, 371–383

Bayer Schering Pharma AG, Berlin; Friedrich-Loeffler-Institut, IMB, Greifswald-Insel Riems, (beide Deutschland)

5.4 Pathophysiologie

Virus-Zell-Interaktionen - Die Rolle von Integrinen bei der Bewegung von Leukozyten in dreidimensionalen Systemen

Integrine sind heterodimere Transmembranproteine, die in der Regel einen Kontakt der Zelle zu einer extrazellulären Matrix vermitteln. In einigen Fällen spielen sie darüber hinaus auch eine entscheidende Rolle bei Zell-Zell-Kontakten in Vertebraten. Des Weiteren stehen sie intrazellulär über Proteinkomplexe mit dem Zytoskelett in Kontakt und nehmen an verschiedenen Signalübermittlungswegen von der Außenseite der Zelle in das Zellinnere, aber auch an einem Inside-Out Signalling teil. Aufgrund dieser vielfältigen Aufgaben stehen Integrine im Zentrum vieler Forschungsarbeiten und ihre Funktionen sind daher schon gut verstanden. Sie sind in verschiedene physiologische Prozesse wie die Entwicklung von Organismen, die Immunantwort und den Leukozytenverkehr involviert, spielen aber auch bei pathologischen Prozessen wie Krebs und als zelluläre Rezeptoren für verschiedene Viren und Bakterien eine zentrale Rolle. So ist zum Beispiel das Integrin αvβ3 ein zellulärer Rezeptor für das West-Nil-Virus. Aus diesen Gründen sind sie auch als Angriffspunkte für Therapeutika, wie zum Beispiel Entzündungs- und Thrombosehemmer, gut geeignet.

Um zu klären, ob Integrine an der dreidimensionalen Bewegung von Leukozyten im Gewebe beteiligt sind, wurden Maus-Leukozyten eingesetzt, die keine Integrin-Heterodimere mehr bilden können. Da Integrine an der Zellmigration auf einer extrazelllulären Matrix einen entscheidenden Anteil haben, können diese Zellen auf zweidimensionalen Matrices nicht mehr binden oder darauf wandern. In dreidimensionalen Systemen bei denen die Leukozyten zum Beispiel Endothelien durchqueren müssen, spielen Integrine jedoch eine untergeordnete Rolle. Sie dienen hierbei eher als Steuerungsmoleküle, die die Leukozyten im Kontext mit extrazellulären Faktoren bremsen können, während die eigentliche Wanderung durch das Gewebe unabhängig von einer speziellen extrazelluären Matrix erfolgt. So können die Leukozyten sich autonom durch Gewebe bewegen, ohne sich laufend an einen veränderten Gewebekontext anpassen zu müssen. Der Mechanismus der Wanderung beruht in diesen Fällen auf dem Aktin-Netzwerksystem, das einen gerichteten Fluss der führenden Seite der Zellen fördert. Hinzu kommt eine Myosin II-abhängige Kontraktion der Zelle an engen Gewebespalten, die den starren Zellkern mittels Kontraktion des nachfolgenden Zellendes durch den Engpass treibt.

Lämmermann et. al. (2008) Rapid leukocyte migration by integrinindependent flowing and squeezing. Nature 453, 51-55

Department of Molecular Medicine, Junior Research Group Cellular Dynamics and Cell Patterning, Max Planck Institute of Biochemistry, Martinsried; Department of Nutritional Medicine, Technische Universität München; Institute of Immunology, Hannover Medical School; Friedrich-Loeffler-Institut, INNT, Greifswald-Insel Riems, (alle Deutschland); Department of Biochemistry, University of Leicester, UK

Das Fusionsprotein F des respiratorischen Syncytialvirus vermittelt p53-abhängige Apoptose

Infektionen mit dem respiratorischen Syncytialvirus (RSV) verursachen vor allem bei Kindern häufig schwere Atemwegsentzündungen. Das Fusionsprotein F von RSV ist ein integrales Membranprotein der viralen Hülle und induziert Apoptose. Die Expression des F Proteins in polarisierten Epithelzellen leitet den Caspase-abhängigen Zelltod ein. Über die Phosphorylierung des Tumorsuppressor p53 wird p53 als Transkriptionsfaktor aktiviert, wodurch es zur Aktivierung des proapoptotischen Proteins Bax kommt. Die stabile Expression von dominant-negativem p53 oder Abschalten der p53 Expression durch siRNA inhibiert die RSV-vermittelte Apoptose. Auf Grund dieser Ergebnisse wird ein neues Modell zur RSV-Pathogenese vorgeschlagen, das dem F Protein die

Rolle des Initiators der Erkrankung zuweist und es damit zum Hauptziel für die Entwicklung effektiver Therapien zur Behandlung nach Infektion macht.

Eckardt-Michel *et al.* (2008) The Fusion Protein of Respiratory Syncytial Virus Triggers p53-Dependent Apoptosis. J Virol 82, 3236–3249.

Institut für Virologie, Zentrum für Infektionsmedizin, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover; Abteilung für Mol. & Med. Virologie, Ruhr-Universität Bochum; Friedrich-Loeffler-Institut, IMB, Greifswald-Insel Riems, (alle Deutschland)

Evaluierung von Biomarkern in der Ausatemluft: H_2O_2 und pH

Eine frühzeitige und nicht-invasive Diagnostik von enzündlichen Prozessen und/oder Infektionen auf der Basis von biologischen Markern (Biomarkern) steht im zunehmenden Interesse der Human- und Veterinärmedizin. In dieser Studie wurden zwei in der kondensierten Ausatemluft (Atemkondensat; AKO) messbare Biomarker evaluiert und bezüglich zukünftiger Messbedingungen standardisiert: H_2O_2 sowie pH-Wert. Als Modelltiere wurden gesunde Kälber eingesetzt, wobei AKO-Proben, Blutsera und kondensierte Umgebungsluft parallel betrachtet wurden.

H_2O_2: Die Konzentration von H_2O_2 in der Ausatemluft stieg im Verlaufe eines jeden Tages an und erwies sich dabei als von der Futteraufnahme abhängig. Unter Beachtung dieser Gegebenheiten waren intraindividuell reproduzierbare Messwerte zu erzielen (drei verschiedene Tage innerhalb von vier Wochen), wobei eine signifikante interindividuelle Variabilität deutlich wurde. Weiterführende Untersuchungen zeigten, dass vergleichbare Aussagen zum H_2O_2-Gehalt in der Ausatemluft nur nach Umrechnung auf die in 100 Litern Ausatemluft exhalierte Menge an H_2O_2 zu erwarten sind, da die in den AKO-Proben gemessene H_2O_2-Konzentration infolge variabler Verdünnungsfaktoren methodischen Schwankungen unterliegt. Des Weiteren erfordert eine standardisierte Messung des exhalierten H_2O_2 die Subtraktion des in der Umgebungsluft enthaltenen eingeatmeten H_2O_2.

pH: Die im nativen AKO gemessenen pH-Werte waren sauer (5.3 bis 6.5.), wobei abends signifikant höhere pH-Werte zu konstatieren waren als morgens. Sie unterlagen jedoch keiner signifikanten interindividuellen Variabilität, waren weder vom Atmungsmuster noch von den Umgebungsbedingungen abhängig und zeigten auch keine Korrelation zum pH-Wert des Blutes.

Zusammenfassend hat diese Studie einen hohen speziesübergreifenden Informationsgehalt, um Biomarker in der Ausatemluft standardisiert zu erfassen und methodische Fehler zu vermeiden.

Knobloch *et al.* (2008) Evaluation of H_2O_2 and pH in exhaled breath condensate samples: methodical and physiological aspects. Biomarkers 13, 319-341.

Friedrich-Loeffler-Institut, IMP, Jena; Becher Consult GmbH, Bernau, (beide Deutschland)

Vorteile und Nutzen von Großtiermodellen für chronische Atemwegserkrankungen

Die Möglichkeiten der Nutzung von Großtieren (Katze, Hund, Schaf, Schwein, Rind, Pferd und Affe) als Modelle für chronische Atemwegserkrankungen wurden zusamengefasst. Nicht nur die physiologischen und pathophysiologischen Besonderheiten des respiratorischen Systems, sondern auch die methodischen Möglichkeiten unterscheiden sich erheblich zwischen den verschiedenen Spezies. Diese Aspekte sind in Betracht zu ziehen, bevor eine Tierart als Modell für Asthma oder chronisch-obstruktive Atemwegserkrankungen ausgewählt wird. Als Modelltiere für allergisches Asthma sind Katze, Hund, Schwein, Schaf und Affe bekannt. Unter diesen Tierarten ist das feline Modell von besonderem Interesse, da Katzen spontan idiopathisches Asthma entwickeln. Die bekannten allergischen felinen Asthma-Modelle sind sehr gut bezüglich Lungenfunktion, bronchialer Hyperreaktivität, Atemwegsentzündung und Lungenmorphologie („remodeling“) charakterisiert. Andere Tierarten, denen kollaterale Atemwege und damit die Möglichkeit zur kollateralen Ventilation fehlen (z.B. Schwein und Rind), sind überaus empfindlich gegenüber den funktionellen Konsequenzen von Atemwegsobstruktionen und eignen sich deshalb besonders als sensitive Modelle für verschiedenste obstruktive Lungenerkrankungen - mit oder ohne Beteiligung infektiöser Noxen. Tiere mit einem Körpergewicht, das dem der Menschen vergleichbar ist (Schweine, Schafe, Kälber), weisen den Vorteil auf, dass die Lungenfunktionsstörungen mit denselben Messverfahren und Methoden evaluiert werden können, die auch in der Humanmedizin an Kindern oder Erwachsenen unter Spontanatmung zum Einsatz kommen (d.h. direkt vergleichbare Lungenfunktionsdaten werden generiert). Trotz der bekannten Nachteile von Großtiermodellen (teuer, zeitaufwändig, eingeschränkte Verfügbarkeit von immunologischen und molekularen Testsystemen) weisen gerade diese Modelle das Potential auf, intraindividuelle Langzeituntersuchungen durchzuführen. Wenn funktionelle, immunologische und morphologische Verlaufsuntersuchungen parallel an ein und demselben Individuum erfasst werden können, vermindert sich nicht nur die Variabilität der Daten, sondern es werden auch pathogenetische Interaktionen und Zusammenhänge besser deutlich. Somit können wertvolle Informationen über die Komplexität von chronischen Atemwegserkrankungen gewonnen werden.

Kirschvink, N., Reinhold, P. (2008) Use of alternative animals as asthma models. (Review) Curr Drug Targets 8, 470-484

University of Namur, Belgium; Friedrich-Loeffler-Institut, IMP, Jena, Deutschland

6 Tierschutz/Tierhaltung

6.1 Grundlagen von Anpassungsreaktionen

Voraussetzung für die Bewertung möglicher Belastungen durch die Haltungsformen ist das Verständnis der Mechanismen, mit denen sich die Tiere an ihre Haltung anpassen können. Berücksichtigt werden insbesondere Mechanismen der Verhaltenssteuerung (motivationale und kognitive Steuerungsmechanismen) sowie physiologische (stressphysiologische und immunologische) und molekulare Mechanismen. Gleichzeitig werden die Ansprüche der Nutztiere gegenüber der Haltungsumwelt im Hinblick auf Verhalten und Tiergesundheit untersucht. Dabei müssen auch Faktoren berücksichtigt werden, die die Anpassungsreaktionen der Tiere an die Haltungsbedingungen determinieren oder modifizieren. Hierzu gehören beispielsweise ontogenetische und Reifungsprozesse, genetische Faktoren, die Ernährung und der Gesundheitsstatus der Tiere.

Ist die Höhe von Sitzstangen für Legehennen wichtig?

Zum nächtlichen Ruhen bevorzugen Legehennen möglichst hohe Sitzstangen. Bislang wurde jedoch noch nicht getestet, wie wichtig die Höhe des Ruheplatzes unabhängig vom Vorhandensein einer Sitzstange ist. In drei Durchgängen wurden insgesamt 36 Gruppen von jeweils neun Legehennen zweier genetischer Herkünfte (Lohmann Brown, Lohmann Selected Leghorn) in Abteilen (300x185 cm) gehalten, in denen ihnen zwei unterschiedliche Ruhebereiche angeboten wurden. Die Ruhebereiche bestanden aus zwei Elementen (90x65 cm) unterschiedlicher Höhe (L: 15 cm oder H: 60 cm), die entweder mit einem Gitterboden (G) oder mit Sitzstangen (P) versehen waren. Die Bevorzugung von Sitzstangen gegenüber Gitterboden wurde mit den Kombinationen HP/HG and LP/LG, die Bevorzugung von hohen gegenüber niedrigen Ruhebereichen wurde mit den Kombinationen HP/LP and HG/LG und die Bevorzugung der Höhe gegenüber einer Sitzstange wurde mit der Kombination HG/LP getestet. Als Kontrolle diente die Kombination HP/LG. In der 10. Legewoche wurden die Abteile mit Video gefilmt und in 1h-Intervallen wurde die Anzahl Hennen auf den Elementen während zwei aufeinander folgenden Nächten über jeweils 8 Stunden bestimmt. Die Hennen beider Herkünfte bevorzugten nachts signifikant die hohen gegenüber den niedrigen Elementen und die Sitzstangen gegenüber dem Gitterboden. In der Kontrolle wurden die hohen Elemente mit Sitzstangen gegenüber den niedrigen Elementen mit Gitterboden bevorzugt. Interessanterweise bevorzugten die Hennen aber signifikant die hohen Elemente mit Gitterboden (ΔHG-LP: 86.6%, $t=4.3$, $P<0.001$), wenn diese ihnen gemeinsam mit niedrigen Elementen mit Sitzstangen angeboten wurden. Dieses Ergebnis weist darauf hin, dass Legehennen erhöhte Sitzstangen angeboten werden sollten, um die Tiergerechtheit von Haltungen zu verbessern.

Schrader, L., K. Krösmann, and B. Müller. 2008. Does the height of perches matter for laying hens? Proceedings of the 42nd International Congress of the ISAE, Dublin, Ireland, August 5-9, 58.

Friedrich-Loeffler-Institut, ITT, Celle, Deutschland

Erbliche Einflüsse auf die Entwicklung des aggressiven Verhaltens männlicher Hauskaninchen im Alter von 8-30 Wochen

Bei der Mast von Hauskaninchen in Gruppen kommt es gegen Ende der Mastperiode durch gegenseitiges Angreifen der Rammler vereinzelt zu Bissverletzungen. Zwischen verschiedenen genetischen Gruppen wurde die Häufigkeit von aggressivem Verhalten zwischen den Rammlern sowie das Alter, in dem die Aggressionen beginnen, erfasst. Insgesamt wurden 193 Rammlerpaare, davon 142 mit bekannter elterlicher Abstammung aus 5 verschiedenen genetischen Gruppen, in herkömmlichen Mastkäfigen gehalten. Versuchseinheit waren jeweils 2 männliche Wurfgeschwister. Rund 43% aller Paare mussten wegen Bissverletzungen oder Angriffen getrennt werden. Die Unterschiede zwischen den genetischen Gruppen waren nicht signifikant und erscheinen auch hinsichtlich der Bedeutung für die praktische Kaninchenmast nicht relevant. Die genetischen Gruppen unterschieden sich signifikant im durchschnittlichen Alter, bei dem Aggressionen beobachtet wurden. Diese Unterschiede scheinen allerdings ebenso wenig von praktischer Bedeutung wie die Unterschiede im Alter, in dem die erste Gruppe getrennt werden musste. Die Gewichtsunterschiede zwischen dem Angreifer und dem Opfer waren weder beim Einstallen noch bei der Trennung statistisch signifikant. Die Merkmale „Häufigkeit der Aufsprünge“ und „Trennung wegen Aggression“ waren nicht korreliert. Die genetischen Gruppen unterschieden sich jedoch hinsichtlich des Alters beim Beginn der Aufsprünge. Das Merkmal „Treiben“ stieg mit zunehmendem Alter signifikant an. Dies weist darauf hin, dass dieses Verhalten ebenso wie das Aufspringen mit der Geschlechtsreife zusammenhängt. Allerdings tritt

dieses Merkmal zu selten und zu unregelmäßig auf, als dass es in der Kaninchenmast genutzt werden könnte, um drohende Verletzungen zu vermeiden. Im Durchschnitt der 5 genetischen Gruppen wurde für die Häufigkeit der Verletzungen eine mittlere Heritabilität (0,32) und für das Alter, bei dem die Verletzungen auftraten, eine hohe Heritabilität (0,92) geschätzt. Falls sich diese Werte innerhalb einer Linie bestätigen, bietet dies gute Voraussetzungen, um die Häufigkeit von Angriffen und Bissverletzungen durch gezielte Selektion zu verändern.

Heil and Dempfle (2008) Erbliche Einflüsse auf die Entwicklung des aggressiven Verhaltens männlicher Hauskaninchen im Alter von 8-30 Wochen. Arch Geflügelk 72(4):188-192.

Friedrich-Loeffler-Institut, ITT, Celle; Technische Universität München Freising, Department Tierwissenschaft, Wissenschaftliches Zentrum Weihenstephan Ernährung Landnutzung, Freising Weihenstephan (alle Deutschland)

6.2 Bewertungsindikatoren und -verfahren

Für eine objektivierbare Bewertung der Auswirkungen von Haltungsbedingungen auf die Tiere werden Indikatoren neu- oder weiterentwickelt. Da sich die Haltung in komplexer Weise auf verschiedene Reaktionssysteme der Tiere auswirkt, müssen zur Interpretation der Auswirkungen meist mehrere Indikatoren herangezogen werden. Hierzu gehören Verhaltensäußerungen, physiologische, immunologische, molekularbiologische und pathologische Merkmale sowie Morbidität und Mortalität. Für die Bewertung von Haltungssystemen und -einrichtungen müssen die Indikatoren hinsichtlich ihrer Praktikabilität angepasst und innovative Indikatoren müssen validiert werden.

Einfluss des Gewichts, der Temperatur und des Verhaltens auf die zircadiane Konzentration von Kortisol im Speichel von Mastschweinen

Die Messung der Konzentration von Kortisol im Speichel ist ein gebräuchlicher Parameter zur Erfassung von Stressreaktionen bei Nutztieren geworden. Allerdings gibt es erst wenige Untersuchungen, in denen die Basalwerte der Kortisolkonzentrationen von Schweinen und deren zircadianer Rhythmus betrachtet wurden. Das Ziel dieses Projektes war es, den Einfluss der Umgebungstemperatur und des thermoregulatorischen Verhaltens von Mastschweinen auf den zircadianen Rhythmus der Kortisolkonzentration im Speichel zu untersuchen. Dazu wurden 30 Mastschweine ver-schiedenen Gewichts (60 bis 100 kg) in sechs Gruppen in einem nicht wärmegedämmten Stall in Buchten mit Teilspaltenboden gehalten. Bei unterschiedlichen Umgebungstemperaturen wurden in 2h-Intervallen Speichelproben über jeweils 24h zweimal im Winter und viermal im Sommer genommen. Das thermoregulatorische Verhalten wurde während der gleichen 24h-Perioden per Video aufgezeichnet. Der Einfluss der Tageszeit, des Körpergewichtes, der Umgebungstemperatur und des Verhaltens auf die Kortisolkonzentrationen wurde mit einem mixed-effects model getestet. Die Kortisolkonzentrationen zeigten über den Tag hinweg eine zweigipfelige Verteilung. Dieses zircadiane Muster wurde mit zunehmendem Körpergewicht und an Tagen, an denen die Tiere thermoregulatorisches Verhalten zeigten, deutlicher. Die über einen Tag gemittelten Kortisolkonzentrationen waren durch das Körpergewicht, aber nicht durch das thermoregulatorische Verhalten der Tiere beeinflusst. Aus den Daten kann gefolgert werden, dass Langzeitveränderungen der Kortisolkonzentration stärker durch das Alter und Gewicht der Tiere beeinflusst sein können als durch die jeweilige experimentelle Situation. Zur Bewertung der Tiergerechtheit scheint es daher zuverlässiger zu sein, den zircadianen Verlauf der Kortisolkonzentration zu erfassen als lediglich einen Wert pro Tag zu erheben.

Hillmann *et al.* (2008) Effects of weight, temperature and behaviour on the circadian rhythm of salivary cortisol in growing pigs. Animal 2(3):405-409.

ETH, Institut für Nutztierwissenschaften, Gruppe Physiologie & Verhalten, Zürich, Schweiz; Agroscope Reckenholz Tänikon, Zentrum für tiergerechte Haltung: Wiederkäuer und Schweine, Tänikon, Ettenhausen, Schweiz; Friedrich-Loeffler-Institut, ITT, Celle, Deutschland

Auswirkungen von intra-hippocampalen D-AP5 Injektionen auf das passive Vermeide-Lernen bei adulten Legehennen

Bei der Erforschung von Mechanismen, die bei Lernen und Gedächtnisbildung eine Rolle spielen, werden häufig passive Vemeidetests angewendet. Besonders für Labortiere gibt es eine Anzahl verschiedener „one Trial“ Vemeidetests. Die Tiere können zum einen ohne weitere Manipulationen diese Tests durchlaufen, zum anderen werden aber häufig auch Applikationen von neurochemischen Substanzen zusätzlich vorgenommen, um z.B. zu testen, ob bestimmte Hirnregionen beim Erlernen des Tests involviert sind. Eine dieser neurochemischen Substanzen ist AP-5, ein NMDA-Rezeptor-Antagonist. Diese Rezeptoren, die auch im Hippocampus lokalisiert sind, spielen bei der Konsolidierung von Informationen ins Langzeit-Gedächtnis eine Rolle. Demzufolge ist der Hippocampus eine wichtige Region bei der Bildung des Langzeit-Gedächtnisses. Hühner sind neben Ratten und Mäusen ebenfalls Modellorganismen in der Gedächtnisforschung. Allerdings gibt es keinen hippocampusabhängigen Lerntest für adulte Legehennen. Wir haben daher einen Test, bei dem die Tiere lernen sollen, auf einer Plattform

zu bleiben, den „Step-Down Avoidance-Test“ (SDA) für Hühner umgestaltet. Intra-hippocampale AP-5-Injektionen blockierten die Lernleistung in diesem Test. Diese Ergebnisse zeigen, dass auch bei Hühnern der Hippocampus beim Lernen des SDA eine Rolle spielt. Außerdem ist der SDA-Test geeignet, um Lern-und Gedächtnismechanismen bei adulten Legehennen zu untersuchen.

Krause, E.T., M. Naguib and S. Petow (2008) Effects of intra-hippocampal D-AP5 injections on one trial passive avoidance learning in adult laying hens *(Gallus gallus domesticus)* Acta Neurobiologiae Experimentalis, 68,494-501.

Universität Bielefeld, Department of Animal Behavior; Universität Bielefeld und Netherlands Institute of Ecology (NIOO-KNAW), Department of Animal Population Biology, ZG Heteren, The Netherlands; Friedrich-Loeffler-Institut, ITT, Celle, Deutschland

6.3 Verbesserung der Haltung

Eine tiergerechte Haltung ermöglicht den Tieren die Ausübung wesentlicher Aspekte ihres Verhaltensrepertoires und schafft die Voraussetzungen sich erfolgreich mit der Haltungsumwelt auseinandersetzen zu können, ohne dass es zu Risiken für die Tiergesundheit kommt. Neben den Aspekten der Tiergerechtheit müssen weitere relevante Gesichtspunkte, wie beispielsweise die Wirtschaftlichkeit, die Verfahrenssicherheit und der Umweltschutz einbezogen werden. Dies erfordert oft komplexe Forschungsansätze. Die enge Zusammenarbeit mit der Praxis stellt dabei eine wichtige Grundlage dar, um auftretende Probleme zu identifizieren, signifikante Haltungsfaktoren gezielt und kurzfristig zu ermitteln und nachfolgend konkrete Lösungsansätze zu entwickeln.

Einfluss unterschiedlicher Einstreuarten auf die Prävalenz und den Schweregrad von Pododermatitis, Tierverhalten und Tierleistungen bei Geflügel

Pododermatitis ist eine Form der Kontaktdermatitis, die vorrangig an den Fußballen auftritt. In schweren Fällen können auch die Zehenballen der Tiere betroffen sein. Zahlreiche Faktoren (Genetik, Management, Haltung, Geschlecht) werden als Ursache für die Entwicklung von Pododermatitis diskutiert. Durch Pododermatitis verursachte Läsionen reichen von Verfärbungen und Hyperkeratosen, die oft kombiniert sind mit Erosionen oder Nekrosen der Epidermis, bis zu tiefen Ulzerationen. Tiefe Läsionen sind wahrscheinlich mit Schmerzen verbunden und müssen damit als tierschutzrelevant betrachtet werden.

In verschiedenen Studien wurde der Einfluss unterschiedlicher Einstreuarten auf das Vorkommen und den Schweregrad von Pododermatitis, die Leistungen von männlichen Broilern oder Puten untersucht. Für Broiler konnte gezeigt werden, das mit Pelletions oder Hygieneholz-Spänen das Tierverhalten, die Leistungen und den Schweregrad von Pododermatitis deutlich verbessert werden kann. Häckselstroh als Standardeinstreu in Deutschland verursachte die schlechtesten Fußballen, reduzierte die Lebendmassen und die Tieraktivität und scheint die am wenigsten geeignete Variante aus der Sicht des Tierschutzes zu sein. Für Puten wurde unabhängig von der Einstreuvariante ein Anstieg in der Prävalenz und dem Schweregrad der Pododermatitis mit zunehmendem Tieralter beobachtet. Hierbei scheint Lignocellulose aber einen positiven Einfluss auf das Vorkommen und den Schweregrad von Fußballenläsionen zu haben. Aufbauend auf diesen Ergebnissen wurde eine Variante mit geringerer Staubemission entwickelt, die unter dem Namen „Softcell“ in der Praxis eingesetzt wird.

Berk, J. (2008) Verhalten sowie Prävalenz und Schweregrad von Pododermatitis bei auf unterschiedlichen Einstreuarten gehaltenen Broilern. KTBL-Schrift 471:116-124.

Berk, J. (2008) Can alternative kinds of litter reduce foot pad lesions in female Turkeys? WPSA Proc. of the 4th International Symposium on Turkey production, Berlin 21st – 23rd June 2007, 143-149.

Friedrich-Loeffler-Institut, ITT, Celle, Deutschland

Untersuchungen zum Einsatz eines Außenklimabereiches (AKB) in der Putenmast unter besonderer Berücksichtigung von Tierleistung, Tiergesundheit und Tierverhalten bei unterschiedlichen Besatzdichten

Zunehmend wird auch in der Geflügelmast nach alternativen Haltungssystemen gesucht, die den Anforderungen der Tiere in Bezug auf Gesundheit und Tiergerechtheit unter Beachtung von Wirtschaftlichkeit und Umwelt besser gerecht werden sollen. Normalerweise erfolgt die Putenmast auf Einstreu in Offenställen ohne Strukturierung. Die Anreicherung der Haltungsumwelt durch einen AKB könnte die Tiergesundheit und das Wohlbefinden verbessern. Die zusätzlichen Investitionskosten könnten durch eine 50-prozentige Anrechenbarkeit der durch den AKB hinzugewonnenen Nutzfläche auf die Besatzdichte amortisiert werden.

In einer Praxisuntersuchung wurde dieses anhand von zwei Ställe mit AKB in zwei Versuchsdurchgängen untersucht. Die vorläufigen Auswertungen des Projektes deuten darauf hin, dass eine 50-prozentige Anrechnung der Nutzfläche des AKB auf die Besatzdichte möglich zu sein scheint.

Dannenbrink, J., and J. Berk. 2008: Inquiries to a turkey house with roofed outside run (veranda) and different stocking densities. XXIII World Poultry Congress, Brisbane, Australia, 30th June – 4th July 2008, Book of Abstracts 64 (2), 200.

Friedrich-Loeffler-Institut, ITT, Celle, Deutschland

Kontaktmöglichkeit für wurffremde Ferkel in Einzelabferkelungssystemen während der Säugezeit
Über einen Zeitraum von 2 Jahren wurde an insgesamt 1935 Ferkeln aus 230 Würfen von 113 Sauen der Einfluss eines Ferkelschlupfes zwischen je 2 Abferkelbuchten auf das Verhalten, das Wachstum und das Auftreten von Hautläsionen untersucht. Die verwendeten Einzelabferkelungssysteme waren Bewegungsbuchten (BB) und konventionelle Kastenstände (KS). Als Kontrollen fungierten einerseits die Würfe aus diesen beiden Systemen ohne Schlupf und andererseits die aus einer Gruppenabferkelung (GS). Ferkel in den Kontaktbuchten (KSmS bzw. BBmS) sowie der Gruppenabferkelung erhielten ab dem 10. Lebenstag bis zum Umstallen Kontaktmöglichkeiten zu wurffremden Ferkeln und Sauen. Die Kontaktgruppen verblieben auch nach dem Umstallen in gemeinsamen Aufzuchtbuchten. Diese Untersuchungen zeigten, dass der soziale Kontakt zu wurffremden Ferkeln während der Säugezeit weder die Lebendmassezunahme vor dem Absetzen mindert noch zu vermehrten Hautläsionen während der Säugeperiode führt. Erfolgt der erste soziale Kontakt zu wurffremden Ferkeln nach dem Absetzen beim Gruppieren in der Aufzuchtbucht, treten mehr aggressive Interaktionen auf, was zu vermehrten und schwereren Verletzungen nach dem Umstallen führt. Das beeinträchtigt sowohl die Lebendmassezunahme nach dem Absetzen als auch die Lebendmasse 5 Wochen nach dem Umstallen.

Kutzer *et al.* (2008) Kontaktmöglichkeiten für wurffremde Ferkel in Einzelabferkelungssystemen während der Säugezeit. KTBL-Schrift **471**:28-36.

Friedrich-Loeffler-Institut, ITT, Celle, Deutschland

Mastbullenhaltung - Einfluss von Spaltenbodenqualität und Flächenangebot auf das Vorkommen von Verletzungen und die Klauengesundheit
In einer mehrjährigen Untersuchung wurde unter Berücksichtigung des Liegeverhaltens geprüft, inwiefern Gummimatten (LOSPA) für Betonspalten in Kombination mit unterschiedlichem Platzangebot (2,5 bis 5,0 m^2 je Tier) gegenüber herkömmlichen Betonspaltenbuchten zu einer Reduzierung von Schwanzspitzen- und Gelenkverletzungen beitragen. Die bisherigen Ergebnisse zeigen, dass bereits bei geringem Platzangebot durch eine Bodengummierung das Risiko von Schäden an der Schwanzspitze und an den Karpalgelenken verringert wird. Das Risiko für schwere Verletzungen der Schwanzspitze nahm auf Beton bei höherem Mastgewicht erheblich zu. Schwere Schäden an den Gelenken traten auf Beton eher auf. Auf gummierten Flächen kam es infolge der geringeren Kniebelastung zu einer Verbesserung der Abliege- und Aufstehvorgänge, auf Beton vermieden die Bullen einen häufigen Wechsel und zeigten dadurch längere Liegeperioden. Da der Einfluss des Bodentyps größer war als der Faktor Besatzdichte, kann eine Gummierung von Spaltenböden empfohlen und der Vergrößerung des Platzangebots vorgezogen werden. Andere Bewertungskriterien, wie z.B. die Klauengesundheit, finden in dieser Empfehlung noch keine Berücksichtigung.

Zerbe, F., G. Niemann, and E. Scheithauer. 2008. Mastbullenhaltung – Alternativen in der Spaltenbodenhaltung. Deutsche Tierärztliche Wochenschrift 115:3, 118-122.

Zerbe, F., C. Mayer, and J. Kjaer. 2008. Einfluss von Spaltenbodenqualität und Flächenangebot auf das Vorkommen von Verletzungen der Schwanzspitzen und am Integument bei Mastbullen. KTBL-Schrift 471:47-57.

Friedrich-Loeffler-Institut, ITT, Celle, Deutschland

7 Tierernährung

7.1 Futtermittelzusatzstoffe

7.1.1 Spurenelemente

In der Tierernährung werden als Spurenelemente lebensnotwendige (essentielle) anorganische Bestandteile sowohl im Futter als auch im Tierkörper bezeichnet, deren Konzentration meist unter 100 mg je kg Trockensubstanz (T) liegt. Es wird in klassische Spurenelemente, wie Fe, Mn, Zn, Cu, Se, J, Mo, Cr und F und neue oder Ultra-Spurenelemente unterschieden (z.B. Al, As, B, Ba, Br, Cd, Cs, Li, Ni, Pb, Rb, Si, Sn, V). Einzelne Spurenelemente (z.B. Cu, Zn, Seltene Erden wie Ce, La) lösen in höheren Dosierungen Sondereffekte aus, während viele andere Spurenelemente in hohen Dosierungen toxisch wirken (z.B. As, Cd, Cu, F, Mo, Pb).
Neben der Sicherung einer bedarfsgerechten Spurenelementversorgung der Tiere haben insbesondere Fragen zur Bewertung der Sicherheit und Umweltrelevanz von Spurenelementen (insbesondere Kupfer, Zink und Jod) bei der Verwendung als Futterzusatzstoff in den letzten Jahren zunehmende Bedeutung in der Tierernährung erlangt.
Auch Fragen bezüglich der am besten geeigneten Diagnosemöglichkeiten der Spurenelementversorgung (Mangel und Überschuss) müssen dabei in die Überlegungen mit einbezogen werden.

7.1.1.1 Kupfer und Zink bei Milchkühen

Kupfer und Zink haben wichtige Funktionen im Stoffwechsel. Ein Kupfermangel stellt eine häufig diagnostizierte Mangelversorgung bei Rindern dar und kann neben spezifischen Symptomen (Störung der Pigmentierung und Strukturbildung des Haares)

zu zahlreichen unspezifischen Symptomen (Durchfall, Inappetenz, Wachstumsstörungen, Aborte, embryonaler Frühtod) führen. Auch ein Zinkmangel wird mit unspezifischen Erscheinungen (Wachstums- und Fruchtbarkeitsstörungen) in Verbindung gebracht, spezifische Symptome sind dagegen Störungen der Keratinisierung der Haut, welche Haarausfall und schmerzhafte Läsionen an der Zungenoberfläche bewirken können. Auch eine Überversorgung mit Spurenelementen kann Probleme hervorrufen. Im Hinblick auf den Schutz des Verbrauchers und der Umwelt sind auch Überversorgungen von Bedeutung, da sie zu einem übermäßigen Eintrag von Kupfer und Zink in Lebensmittel tierischer Herkunft und die Umwelt führen können. Zu direkten Intoxikationen bei Tieren kommt es dagegen selten.

Beurteilung der Kupfer- und Zinkversorgung von Milchkühen anhand von Serumuntersuchungen

In einem Fütterungsversuch über insgesamt vier Laktationen mit jeweils 30 Kühen der Rasse Deutsche Holstein pro Versuchsjahr wurde der Einfluss unterschiedlicher Kupfer- und Zinkgehalte (bedarfsgerecht bzw. etwa 2-fache Überversorgung) auf deren Konzentrationen im Serum in den unterschiedlichen Laktationen untersucht. Insbesondere wurden tierindividuelle Schwankungen bei beiden Spurenelementen bei der Interpretation der Ergebnisse berücksichtigt. Sowohl zwischen den einzelnen Tieren (interindividuelle Variation) als auch innerhalb eines Tieres während der gesamten Laktation (intraindividuelle Variation) schwanken die ermittelten Kupfer- und Zinkkonzentrationen im Serum teilweise erheblich, so dass eine Eignung der Ermittlung der Kupfer- und Zinkkonzentration im Serum wenig geeignet erscheint, eine mindestens bedarfsgerechte Versorgung zu erkennen.

Spolders *et al.* (2008) Beurteilung der Kupfer- und Zinkversorgung von Milchkühen anhand von Serumuntersuchungen. Praktischer Tierarzt 89:12, 1024-1030.

Friedrich-Loeffler-Institut, ITE, Braunschweig; Klinik für Rinder, Stiftung Tierärztliche Hochschule, Hannover (beide Deutschland)

Einfluss unterschiedlicher Kupfer- und Zinkversorgung auf deren Konzentrationen in Blutserum, Leber und Deckhaar bei Milchkühen

In einem Fütterungsversuch über 16 Wochen mit 20 Kühen der Rasse Deutsche Holstein wurde der Einfluss unterschiedlicher Kupfer- und Zinkgehalte in der Ration auf deren Konzentrationen in Serum, Leber und Deckhaar untersucht, um das am besten geeignete Untersuchungsmaterial für die Diagnostik zu evaluieren. Dabei wurde eine bedarfsgerechte Kupfer- und Zinkversorgung mit einer deutlichen Überversorgung (ca. 2,5-fache Menge der Versorgungsempfehlungen) mit Kupfer und Zink verglichen. Dabei waren Serum und Deckhaar die am wenigsten geeigneten Indikatororgane. Die Leber spiegelte die Cu-Versorgung sehr gut wieder.

Spolders *et al.*(2008) Einfluss unterschiedlicher Kupfer- und Zinkversorgung auf deren Konzentrationen in Blutserum, Leber und Deckhaar bei Milchkühen. Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr. 121, 278-285.

Friedrich-Loeffler-Institut, ITE, Braunschweig; Hochschule Anhalt (FH), Fachbereich Landwirtschaft, Bernburg; FOOD GmbH Analytik und Consulting, Jena; Klinik für Rinder, Stiftung Tierärztliche Hochschule, Hannover (alle Deutschland)

7.1.1.2 Jod

Das Spurenelement Jod ist für Mensch und Tier essentiell. Jod wird im Organismus für die Synthese der Schilddrüsenhormone Trijodthyronin (T_3) und Tetrajodthyronin (T_4) benötigt, welche bedeutende metabolische Prozesse wie Wachstum, Reproduktion und Gehirnentwicklung steuern. Struma, vermindertes Wachstum, geistige Zurückgebliebenheit und Knochendeformationen sind die bedeutendsten Folgen einer Unterversorgung mit Jod. Weltweit leiden noch immer etwa 800 Mio Menschen unter den Folgen des Jodmangels. Neben der Salzjodierung wird in den letzten Jahren verstärkt versucht, Lebensmittel tierischer Herkunft (Fleisch, Milch, Eier) über die Supplementation von Futtermitteln mit Jod anzureichern. Auf der anderen Seite ist Jod beim Menschen jedoch durch ein hohes Risiko einer Überdosierung gekennzeichnet, bedingt durch einen geringen Abstand zwischen dem Bedarf von 180-200µg/d und dem Tolerable Upper Intake Level von 500µg/d (~1:3). Im Jahr 2005 bewertete die Europäische Lebensmittelsicherheitsbehörde (EFSA) Nutzen und Risiken der Futtermitteljodierung und kam zu dem Schluss, dass mehr Dosis-Wirkungs-Studien benötigt werden, um sichere Aussagen über den Transfer von Jod vom Futter in Lebensmittel tierischer Herkunft treffen zu können.

Untersuchung zum Transfer von Jod ins Schweinefleisch

In einem Mastschweinversuch mit 70 BHZP-Hybriden wurde die Jodkonzentration in der Fraktion Muskel/Fett und in anderen Fraktionen, die möglicherweise in der Herstellung von Produkten aus Schweinefleisch eingesetzt werden, bei einer Futtermitteljodierung im Bereich des Bedarfs bis hin zu sehr hohen Gehalten bestimmt. Weiterhin wurde die Verteilung des aufgenommenen Jods im Organismus untersucht. Der Jodgehalt wurde in den Fraktionen Muskel/Fett, Knochen,

Innereien/Blut und der Schilddrüse analysiert. Mit zunehmender Futtermitteljodierung stieg der Jodgehalt in allen Fraktionen bis auf Innereien/Blut an. Bei der höchsten getesteten Jodsupplementation des Futters betrug der Jodgehalt der Fraktion Muskel/Fett 17,1µg/kg. Im Mittel der Gruppen enthielt die Schilddrüse 80% des im Körper gespeicherten Jods, Innereien/Blut 14%, Muskel/Fett 5% und die Knochen 1%. Die Ergebnisse der Studie weisen darauf hin, dass der Jodgehalt von unverarbeitetem Schweinefleisch und somit dessen Beitrag zur Jodversorgung des Menschen (<1%) auch bei hohen Jodsupplementationen des Futters sehr gering ist.

Franke *et al.*(2008) Influence of dietary iodine on the iodine content of pork and the distribution of the trace element in the body. Eur J Nutr 47 (1), 40-46.

Friedrich-Loeffler-Institut, ITE, Braunschweig; Thüringer Landesanstalt für Landwirtschaft, Jena (alle Deutschland)

Untersuchungen zur Jodversorgung von Mastbullen

In einer Dosis-Wirkungs-Studie mit 34 Mastbullen der Rasse Deutsche Holstein wurde die Ergänzung einer aus Maissilage und Kraftfutter bestehenden Ration mit Jod in Höhe von 0,8 (Gruppe 1), 3,5 (Gruppe 2) und 8,3 (Gruppe 3) mg/kg Trockenmasse geprüft. Im Anschluss an die Schlachtung der Tiere erfolgte die Bestimmung des Jodgehalts in Blut, Serum, Plasma, Schilddrüse, Leber, Niere und Muskel mittels ICP-MS. Die Jodsupplementation hatte keinen signifikanten Einfluss auf die Futteraufnahme, die Lebendmassezunahme (1453 (1), 1419 (2) and 1343 (3) g/Tag) und die ermittelten Schlachtleistungsparameter, wogegen die Schilddrüsenmasse bei den am höchsten mit Jod versorgten Bullen signifikant anstieg (32 (1), 26 (2) und 42 (3) g/Tier). Weiterhin führten die Jodzulagen zu einer Erhöhung des Jodgehalts in Muskel, Leber, Niere und Schilddrüse. Aufgrund des relativ geringen Beitrags von Rindfleisch an der Jodaufnahme des Menschen besteht aus Sicht des Verbraucherschutzes keine Notwendigkeit zur Reduzierung des derzeit im Bereich der EU für Mastrinder geltenden Höchstgehalts von 10 mg Jod/kg Alleinfuttermittel.

Meyer *et al.*(2008) Effect of dietary iodine on growth and iodine status of growing fattening bulls. Livest Sci 115, 219-225

Friedrich-Loeffler-Institut, ITE, Braunschweig; Thüringer Landesanstalt für Landwirtschaft, Jena

7.1.2 Vitamine

Die Vitamine der B-Gruppe zählen zu den wasserlöslichen Vitaminen. Zu den B-Vitaminen gehören Thiamin (B_1), Riboflavin (B_2), Pyridoxin (B_6), Cobalamin (B_{12}), Biotin, Folsäure, Niacin und Pantothensäure. Die Zusammenfassung dieser Vitamine in einer Gruppe ist allerdings ausschließlich historisch bedingt und spiegelt nicht deren sehr unterschiedliche Strukturen und metabolische Funktionen wider. Ein gemeinsames Merkmal aller B-Vitamine ist jedoch, dass alle wichtige Coenzym-Funktionen im Stoffwechsel besitzen. Sie sind also essentiell für Leistung und Gesundheit bei Mensch und Tier.

Dem Wiederkäuer steht neben dem Futter noch eine weitere B-Vitamin-Quelle zur Verfügung, da die Mikroorganismen im Pansen diese synthetisieren können. Die mikrobielle Vitamin-Synthese wird bisher als für die Kuh bedarfsdeckend angenommen. Allerdings ist wenig über eventuelle Einflüsse auf die Syntheseleistung bekannt.

Niacin in der Milchviehfütterung

Niacin ist im Stoffwechsel von großer Bedeutung, da es in die beiden Coenzyme NAD und NADP eingebaut wird. Experimente mit Niacinzulage führten allerdings zu inkonsistenten Ergebnissen. Es gibt Effekte auf die Pansenfermentation in einigen Studien, in anderen jedoch wurden keine Auswirkungen beobachtet. Gleiches gilt für Blut- und Milchparameter. Allerdings konnte festgestellt werden, dass nicht die gesamte supplementierte Menge das Duodenum erreicht, was entweder durch ruminalen Abbau oder eine Absorption vor der Duodenalkanüle zustande kommen könnte. Außerdem erhöhte eine Niacinzulage nicht in allen Studien die Blutniacinkonzentration. Allerdings gibt es nur wenige Studien, in denen simultan die duodenale und die Blut-Niacinkonzentration bestimmt wurde, so dass unter anderem hier Forschungsbedarf besteht.

Niehoff, I., Hüther, L. und Lebzien, P. (2009) Niacin for dairy cattle: a review. British Journal of Nutrition 101, 5-19.

Friedrich-Loeffler-Institut, ITE, Braunschweig;

Einfluss von Kobalt auf die Vitamin B_{12} Synthese im Pansen

Eine Voraussetzung für die Vitamin B_{12}-Synthese im Pansen ist eine ausreichende Versorgung der Tiere mit Kobalt. Allerdings ist bisher noch sehr wenig über die Effizienz der Nutzung des Kobalts für die Synthese des Vitamins bekannt. Zwar konnte die Vitamin B_{12}- Synthese durch Steigerung der Kobaltzufuhr von 0,17 auf 0,29 mg/kg Futtertrockenmasse auf über das Doppelte gesteigert werden, jedoch berechnete sich eine Effizienz der

Kobaltnutzung von lediglich 7 – 10 %. Inwieweit Kühe Nutzen aus der verstärkten B_{12}- Synthese ziehen können, müssen weitere Versuche zeigen.

Stemme *et al.* (2008) The influence of an increased cobalt supply on ruminal parameters and micobial vitamin B_{12} synthesis in the rumen of dairy cows. Archives of Animal Nutrition 62, 207-218.

Friedrich-Loeffler-Institut, ITE, Braunschweig; Klinik für Rinder, Tierärztliche Hochschule, Hannover (alle Deutschland)

7.1.3 Nicht lebensnotwendige Futtermittelzusatzstoffe

7.1.3.1 Zeolith A zur Gebärpareseprophylaxe

Die Gebärparese stellt eine bedeutende Stoffwechselerkrankung bei hochleistenden Milchkühen dar. Dabei handelt es sich um eine akute Störung des Calciumstoffwechsels, die in der Regel kurz nach dem Kalben auftritt. Prädisponiert sind vor allem Hochleistungskühe ab der 3. Laktation. Die Inzidenz liegt weltweit bei 5 bis 10 % aller adulten Milchkühe. Bereits eine subklinische Hypocalcämie (Serum-Ca < 2 mmol/l) kann negative Auswirkungen auf verschiedene physiologische Funktionen haben. Daher gibt es verschiedene Möglichkeiten, über Futterzusatzstoffe prophylaktisch dieser Erkrankung entgegenzuwirken (z.B. Ca-arme Fütterung, Saure Salze, Zeolith A). Alle diese Prophylaxestrategien haben Vor- und Nachteile, die es abzuwägen gilt, um letztlich für jeden Betrieb die beste Strategie zu finden.

Einfluss von Zeolith A auf die Futteraufnahme von trockenstehenden Milchkühen, auf den Mineral- und Spurenelementstoffwechsel im peripartalen Zeitraum sowie auf die Milchleistung in der folgenden Laktation

Der Einsatz von Zeolith A *ante partum* als Calciumbinder wird als eine mögliche Präventionsstrategie von Milchfieber diskutiert. Zeolith A soll das über das Futter aufgenommene Calcium im Gastrointestinaltrakt binden und eine Resorption weitgehend verhindern. Ziel ist es, eine negative Calciumbilanz *ante partum* herbeizuführen und somit die Calciumhomöostase um die Geburt zu gewährleisten. In dieser Hinsicht scheint Zeolith A zu den gewünschten Effekten zu führen, allerdings fehlten Untersuchungen zu möglichen unerwünschten Nebenwirkungen (reduzierte Futteraufnahme, Bindung anderer zweiwertiger Kationen, Beeinflussung des Phosphorstoffwechsels).

Grabherr *et al.* (2008) Einfluss von Zeolith A auf die Futteraufnahme von trockenstehenden Milchkühen, auf den Mineral- und Spurenelementstoffwechsel im peripartalen Zeitraum sowie auf die Milchleistung in der folgenden Laktation. Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr. 121, 41-52.

Friedrich-Loeffler-Institut, ITE, Braunschweig; Medizinische Tierklinik, Veterinärmedizinische Fakultät der Universität Leipzig (alle Deutschland)

7.1.3.2 Phytogene Zusatzstoffe

Bei Ferkeln besteht vom Absetzen bis zum Beginn der Mast eine erhöhte Anfälligkeit für stressinduzierte Erkrankungen v.a. des Magen-Darm-Traktes, wie Durchfall, Enteritis oder *E. coli*-bedingte Enterotoxämie. Als Futterzusatzstoffe werden u.a. Kräuter und Gewürze, ß-Glucane aus Hefezellwänden oder aus Schimmelpilzen diskutiert und in Tierexperimenten erprobt.

Einfluss von *Tropaeolum majus* als Futterzusatz auf das Wachstum von Ferkeln

Phytopharmaka, die in der Humanmedizin erfolgreich eingesetzt werden, könnten auch in der Tierernährung bestimmte Wirkungen zeigen, wenn diese in entsprechender Dosierung dem Futter zugesetzt werden. Nasturtium (*Tropaeolum majus L.*) ist eine Pflanze mit erwiesener antimikrobieller Wirkung, welche auf den schnell zu Benzyl-Isothiozyanat abgebauten Inhaltsstoff Glucotropaeolin zurückzuführen ist. Hierzu wurde ein Ferkelaufzuchtversuch mit abgestuften Zusätzen von *T. majus* zum Futter durchgeführt. Die höchste Dosierung war dabei 1 g/kg, was einer Glucotropaeolinkonzentration von 22,6 mg/kg Futter entsprach und zu einer Konzentration von 16 µmol/L Benzyl-Isothiozyanat im Harn führte, was ausreicht um eine deutliche bakterielle Besiedlung zu unterbinden. Im Mittel wurden 4,5 – 9,2% des aufgenommenen Benzyl-Isothiozyanat als bioaktives Benzyl-Isothiozyanat durch die Tiere ausgeschieden. Der Zusatz von *T. majus* zum Futter hatte keinen signifikanten Einfluss auf die Leistung der Ferkel.

Bloem *et al.*(2008) Influence of *Tropaeolum majus* as feed additive on growth performance of piglets. Agriculture and Forestry Research, 3 (58). 215 -222.

Institut für Pflanzenbau und Bodenkunde, Julius-Kühn-Institut, Friedrich-Loeffler-Institut, ITE, (beide Braunschweig, Deutschland)

Einfluss eines gestaffelten Gehaltes von Bohnenkraut im Mastfutter auf Wachstums- und Schlachtmerkmale beim Broiler

Die Gewürzpflanze Bohnenkraut (*Satureja hortensis L.*) ist im östlichen Mittelmeerraum heimisch und soll im 9. Jahrhundert von Benediktiner-Mönchen über die Alpen nach Zentraleuropa gebracht worden sein. Die Pflanzenzüchter sind bemüht, den Gehalt an ätherischem Öl im Bohnenkraut auf die Größenordnung von Oregano (etwa 5 ml/100 g) anzuheben, um so den Einsatz in der Tierernährung noch effektiver zu gestalten.

Zwei Untersuchungen an männlichen Broilerküken wurden über je 35 Tage durchgeführt. Geprüft wurde

der Einfluss einer gestaffelten Supplementierung von Bohnenkraut ins Futter bei einem Fütterungsbeginn ab dem 1., 15. oder 22. Lebenstag der Tiere im 1. Versuch. Im Versuch 2 konnten die Tiere von 2 Gruppen zwischen dem Kontrollfutter und dem Bohnenkrautfutter wählen. Im Versuch 1 war die tägliche Futteraufnahme der Mastbroiler insbesondere in der Gruppe mit 2,5 g Bohnenkraut pro kg Futter und einem Fütterungsbeginn ab dem 1. Lebenstag, der Gruppe mit 5 g Bohnenkraut pro kg und dem Beginn der Fütterung dieser Mischung ab dem 22. Lebenstag und den beiden Gruppen, die ab dem 1. und 15. Lebenstag 10 g Bohnenkraut pro kg erhielten, reduziert, was zu einer statistisch gesichert geringeren Lebendmassezunahme sowie einer verminderten Schlachtausbeute im Vergleich zur Kontrolle sowie weiteren Versuchsgruppen führte. Der Futteraufwand war zwischen den Gruppen im Mittel der 35 Masttage gleich. Im Versuch 2 kam es im Mittel der Mastperiode zu keiner bevorzugten Aufnahme des Kontrollfutters oder des Futters mit Bohnenkraut. Im Endmastabschnitt (22. - 35. Tag) erreichten die Broiler der Wahlfuttergruppe mit Kontroll- und 5 g Bohnenkrautfutter die höchsten Lebendmassezunahmen. Resultierend daraus war der Futteraufwand in der Endmastphase dieser Wahlfuttergruppe am niedrigsten sowie im Mittel der gesamten Prüfperiode gesichert besser. Die Ausschlachtung ergab einen teilweise gesichert höheren Anteil an Brustfleisch und niedrigeren Anteil an Abdominalfett bei der Gruppe mit 5 g Bohnenkraut im Futter im Vergleich zu den anderen Gruppen.

Halle, I., Thomann, R., Bauermann, U. (2008) Einfluss eines gestaffelten Gehaltes von Bohnenkraut im Mastfutter auf Wachstums- und Schlachtmerkmale beim Broiler. Arch Geflügelk, 72 (3), 129-135.

Friedrich-Loeffler-Institut, ITE, Braunschweig; IGV, Institut für Getreide-verarbeitung GmbH, Nuthetal OT Bergholz-Rehbrücke; (beide Deutschland)

7.1.3.3 Seltene Erden

„Seltene Erden“ (Rare Earth Elements, REE) werden seit zwei Jahrzehnten in China eingesetzt, um das Wachstum von Kulturpflanzen und landwirtschaftlichen Nutztieren zu steigern. Neuerdings gibt es auch Untersuchungen in Westeuropa, wobei Dosis-Wirkungs-Studien kaum vorliegen.

Wirkung von seltenen Erden auf die Leistung und den Schilddrüsenhormonstatus von Ferkeln

In der Studie wurde an insgesamt 80 Ferkel Futter mit 0; 100; 200; 400 oder 800 mg/kg citratgebundenen REE verfüttert, wobei die REE 30% Lanthan, 55% Cer, 5% Praseodym und 10% Neodym enthielten. Der Versuch dauerte 35 Tage, die mittlere Lebendmasse (LM) der Ferkel zu Beginn des Versuches betrug 7,2 kg. Die Futteraufnahme verringerte sich nicht signifikant ($p > 0,05$) mit steigendem REE-Gehalt. Die tägliche Lebendmassezunahme (LMZ) betrug 283 g/d (Kontrollgruppe), 301 g/d (100 mg/kg), 254 g/d (200 mg/kg), 258 g/d (400 mg/kg) bzw. 271 g/d (800 mg/kg). Die Schilddrüsenhormonkonzentrationen stiegen mit der Zulage von REE an. Allerdings sind weitere Dosis-Wirkungs-Studien notwendig, um die Wirkung der REE auf Wachstumsparameter sowie weitere Wirkungen zu belegen.

Förster *et al.*(2008) Effects of Rare Earth Elements (REE) on the Performance and Thyroid Hormone Status of Rearing Piglets. Journal of Animal and Feed Science, 17. 70 -74.

Friedrich-Loeffler-Institut, ITE, Braunschweig; Institut für Lebensmitteltoxikologie und Chemische Analytik, Tierärztliche Hochschule; Hannover, Ludwig-Maximilians-Universität, Fakultät für Veterinärmedizin; München (alle Deutschland)

7.2 Mykotoxine

Als Mykotoxine werden Stoffwechselprodukte des Sekundärstoffwechsels von Schimmelpilzen bezeichnet, die bei höheren Organismen in geringsten Mengen zu Vergiftungserscheinungen führen können. Aus Sicht der Tierernährung kommt einigen Mykotoxinen der Schimmelpilzgattungen *Aspergillus*, *Penicillium* und *Fusarium* eine besondere Bedeutung zu, da sie in Konzentrationen in Futtermitteln vorkommen können, die bei landwirtschaftlichen Nutztieren Intoxikationen hervorrufen können. Als Beispiele seien Aflatoxin B1, das u.a. von *A. flavus* gebildet wird und das aufgrund seiner Toxizität und seines Rückstandsverhaltens mit Höchstgehalten für Futtermittel belegt ist, sowie Deoxynivalenol und Zearalenon, die u.a. von *F. graminearum* und *F. culmorum* synthetisiert werden und aufgrund ihres negativen Effektes auf die Tiergesundheit bei vernachlässigbarem carry over-Verhalten mit Richtwerten für kritische Konzentrationen in Futtermitteln bedacht wurden, genannt. Auch Alkaloide, die vom Mutterkornpilz *Claviceps purpurea* gebildet werden, gehören in die Gruppe der Mykotoxine.

Unter den *Fusarium*-Mykotoxinen sind insbesondere Deoxynivalenol (DON) und Zearalenon (ZON) von Bedeutung, da sie bereits auf dem Feld vor der Ernte gebildet werden und trotz pflanzenbaulicher Minimierungsstrategien infolge des Witterungseinflusses häufiger vorkommen können.

Unter den Nutztieren ist insbesondere das Schwein empfindlich, das auf höhere Konzentrationen an DON mit einem Futterverzehrsrückgang und an ZON mit Hyperöstrogenismus und Fertilitätsstörungen reagiert. Wiederkäuer und Geflügel werden als weniger empfindlich angesehen.

Carry over und Wirkung von DON und ZON beim Schwein

Bei in der Gravidität mit DON und ZON exponierten Sauen muss mit einem plazentaren Übergang der Toxine in das Blut bzw. einer Anreicherung in der Galle der Feten gerechnet werden. Dabei zeigte sich, dass die DON-Konzentration im Blut der Feten und der Sauen in etwa gleich hoch war, was auf einen ungehinderten plazentaren Transfer hindeutet. ZON und seine Metaboliten konnten dagegen nicht im Blut der Sauen und der Feten nachgewiesen werden, sondern fanden sich in unterschiedlichen Konzentrationen ausschließlich in der jeweiligen Galle. Die Ferkel, die von den exponierten Sauen per Kaiserschnitt entbunden wurden, wiesen keinerlei Anzeichen von Hyperöstrogenismus oder nekrotischen Veränderungen an den Akren auf. Darüber hinaus konnten keine pathologischen Veränderungen an der Milz und der Leber der Ferkel festgestellt werden. Anhand der untersuchten Parameter kann geschlossen werden, dass dem plazentaren Übergang von DON und ZON offensichtlich keine toxische Bedeutung zukommt.

Bei Mastschweinen, die über die gesamte Mastperiode mit kontaminiertem Futter, das geringe Konzentrationen an DON (~ kritische Futter-DON-Konzentration) aufwies, gefüttert wurden, konnten Spuren von DON und de-epoxy-DON in verschiedenen Substraten nachgewiesen werden. Die mediane DON-Konzentration ging von Galle > Nieren > Serum > Leber = Muskel zurück. Eine Risikoabschätzung macht deutlich, dass von diesen Rückständen keinerlei Gefahr für die Sicherheit von Lebensmitteln tierischen Ursprungs ausgeht.

Dänicke *et al.* (2008) On the evaluation of the occurrence of the *Fusarium*-toxins deoxynivalenol (DON), zearalenone (ZON) and their metabolites in physiological substrates of the pig. Tierärztliche Praxis, 36, 35-47.

Döll, S., Dänicke, S., Valenta, H. (2008) Residues of deoxynivalenol (DON) in pig tissue after feeding mash or pellet diets containing low concentrations. Molecular Nutrition & Food Research, 52, 727-734.

Tiemann *et al.*(2008) Changes in the spleen and liver of pregnant sows and full-term piglets after feeding diets naturally contaminated with deoxynivalenol and zearalenone. Veterinary Journal, 176, 188-196.

Friedrich-Loeffler-Institut, ITE, Braunschweig; Unit of Reproductive Biology and Unit of Muscle Biology and Growth, FBN Research Institute for the Biology of Farm Animals, Dummerstorf; Electron Microscopic Center, University of Rostock; Institute of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Leipzig; (alle Deutschland)

Carry over und Wirkung von DON bei der Milchkuh

Der Pansen von Wiederkäuern wird als wichtiger präsystemischer Detoxifikationsmechanismus für DON angesehen, da dieses Mykotoxin durch die ruminalen Mikroorganismen nahezu vollständig zum ungiftigen de-epoxy-DON metabolisiert wird. Ziel der Untersuchungen war es zu prüfen, inwieweit verschiedene Konzentratanteile in der Ration von Milchkühen dieses ruminale Detoxifikationspotenzial beeinträchtigen können. Es wurde gezeigt, dass Unterschiede in pansenphysiologischen Parametern durch Fütterung von Konzentratanteilen von 30 oder 60% bei An- und Abwesenheit von DON induziert wurden, was aber nicht zu einem verringerten Metabolisierungsgrad von DON führte.

Keese *et al.* (2008) No carry over of unmetabolised deoxynivalenol in milk of dairy cows fed high concentrate proportions. Molecular Nutrition & Food Research, 52, 1514-152.

Keese *et al.*(2008) On the effects of the concentrate proportion of dairy cow rations in the presence and absence of a fusarium toxin-contaminated triticale on cow performance. Archives of Animal Nutrition, 62, 241-262.

Keese *et al.*(2008) Ruminal fermentation patterns and parameters of the acid base metabolism in the urine as influenced by the proportion of concentrate in the ration of dairy cows with and without *Fusarium* toxin-contaminated triticale. Archives of Animal Nutrition, 62, 287-302.

Friedrich-Loeffler-Institut, ITE, Braunschweig; Department of Animal Nutrition, Hohenheim University, Stuttgart; Clinic for Cattle and Department of Physiology, University of Veterinary Medicine Hannover; Biometrics and Informatics in Agriculture Group and Institute of Agricultural and Nutritional Science, University of Halle-Wittenberg, (alle Deutschland)

Entgiftung von DON-kontaminiertem Triticale

Es wurde die Effektivität einer Feuchtkonservierung von DON-kontamiertem Triticale mit Natriummetabisulfit ($Na_2S_2O_5$, NBS) auf die Konzentration von DON sowie das durch die NBS-Behandlung gebildete Derivat DON-Sulphonat (DONS) untersucht. Das so konservierte Getreide wurde an Ferkel verfüttert, um aus dem Vergleich der Verfütterung entsprechender Kontrollvarianten (unkontaminierte Kontrolle, SBS-behandelte unkontaminierte Kontrolle, unbehandelte DON-Kontrolle) die Toxizität von DONS abzuschätzen. Es zeigte sich, dass die Konservierung des DON-kontamierten Triticale zu einer fast vollständigen Umsetzung von DON zu DONS führte. Im Ferkelversuch konnte bestätigt werden, dass DONS im Gegensatz zu DON zu keiner Beeinträchtigung von Leistung und Tiergesundheit führte.

Dänicke *et al.* (2008) Effects of a *Fusarium* toxin-contaminated triticale, either untreated or treated with sodium metabisulphite ($Na_2S_2O_5$, SBS), on weaned piglets with a special focus on liver function as determined by the C-13-methacetin breath test. Archives of Animal Nutrition, 62, 263-286.

Friedrich-Loeffler-Institute, ITE, Braunschweig; Institute of Pathology, University of Veterinary Medicine Hannover; Institute of Food Chemistry, University of Münster (alle Deutschland)

7.3 Wachstum und Körperzusammensetzung

Einfluss der Ernährung in der Kälber- und Jungrinderaufzucht

Fütterung beeinflusst das Wachstum von jungen Kälbern und hat vermutlich auch Auswirkungen auf die Produktivität dieser Tiere als Milchkühe. Bedingt durch verbesserte Arbeitsweisen in der Aufzucht von Kälbern und Rindern ist das Erstkalbealter in den vergangenen Jahren deutlich reduziert worden. Über den Einfluss von unterschiedlich intensiven Verfahren der Kälber- und Jungrinderaufzucht auf die Körperzusammensetzung der Kälber und Aufzuchtrinder sowie deren späteres Milchleistungspotenzial liegen bisher nur wenige Daten vor. Im Rahmen dieser Studie wurden die Auswirkungen unterschiedlicher Fütterungsintensitäten von weiblichen Kälbern der Rasse Deutsche Holstein auf die Futter- und Nährstoffaufnahme, die Entwicklung von Lebendmasse und Körperzusammensetzung sowie die Verwertung der umsetzbaren Energie für den Energieansatz untersucht.

Janssen *et al.*(2008) Einfluss unterschiedlicher Fütterungsintensitäten auf die Futteraufnahme, die Entwicklung der Lebendmasse und ausgewählter Körpermaße sowie den Energieaufwand für die Lebendmassezunahme bei weiblichen Kälbern und Aufzuchtrindern. Züchtungskunde 80, 233-246.

Friedrich-Loeffler-Institut, ITE, Braunschweig, Institut für Tierphysiologie und Tierernährung, Georg-August-Universität, Göttingen (beide Deutschland)

Einfluss verschiedener Fettquellen auf das Fettsäurenmuster beim Schwein

In Fütterungsversuchen mit verschiedenen Kreuzungen (Duroc, Hampshire x Duroc, Pietrain x Hampshire) wurde an Börgen und weiblichen Schweinen der Einfluss verschiedener Fettquellen (2,5 % Talg, Olivenöl, Sojaöl oder Leinöl) auf die Fetteinlagerung im Speck und in intramuskulärem Fett untersucht.

Während die unterschiedlichen Fettquellen keinen signifikanten Effekt auf die Mast- und Schlachtleistung im Lebendmasseabschnitt von 30 bis 120 kg ausübten, hatten die Fettquellen erheblichen Einfluss auf das Fettsäurenmuster im Rückenspeck und im Muskel. Enge Korrelationen konnten zwischen der Aufnahme an Polyenfettsäuren (x) und der Polyensäurekonzentration im Speck (y) ermittelt werden ($y = 3{,}73\ x - 0{,}91$, $r^2 = 0{,}85$).

Flachowsky *et al.* (2008) Effects of different dietary fat sources on the fatty acid profile of backfat and intramuscular fat or pigs of various sire breeds. Journal of Animal and Feed Science 17, 363-371.

Friedrich-Loeffler-Institut, ITE, Braunschweig, Institut für Tierzucht und Genetik, Universität Göttingen (beide Deutschland)

8 Züchtung und genetische Ressourcen

8.1 Monitoring, Charakterisierung und Erhaltung tiergenetischer Ressourcen

Genetische Diversität innerhalb einer Nutztierart spiegelt sich in einer Vielzahl genetischer Varianten (Unterschiede zwischen Individuen, Familien, Rassen) wider, die während der Domestikation angehäuft wurden. Zur Erarbeitung von Maßnahmen zur Erhaltung und Nutzung tiergenetischer Ressourcen bedarf es objektiver Informationen zur Bewertung der existierenden Populationen, von denen eine Vielzahl in ihrer Existenz gefährdet sind. Unterschiedliche DNA-Markersysteme wurden bei Nutztieren in der Vergangenheit zur Quantifizierung genetischer Diversität zwischen und innerhalb von Rassen und Populationen herangezogen. Insbesondere beim Haushuhn, wo in kleinen Beständen außerhalb der Wirtschaftszucht oftmals verlässliche Informationen über Herkunft, Management und Größe der aktuellen Populationen fehlen, erlangen molekulargenetische Informationen eine wesentliche Bedeutung.

Die Nutzung molekulargenetischer Informationen zur Bewertung und Klassifizierung tiergenetischer Ressourcen bei landwirtschaftlichen Nutztieren steht im Mittelpunkt der Forschungsarbeiten. Schwerpunktmäßig führen wir Untersuchungen beim Haushuhn durch, jedoch können die gewonnenen Erkenntnisse auch für andere Nutztierarten Bedeutung haben. Neben der Prüfung unterschiedlicher Markerarten (Mikrosatelliten, SNPs) und Informationsquellen (genomische DNA, mitochondriale DNA) nutzen wir neue Ansätze zur Schätzung genetischer Ähnlichkeiten zwischen Rassen und Populationen.

Analyse historischer Populationsstrukturen afrikanischer Hühnerrassen

Eine Informationsquelle, die häufig für phylogenetische Untersuchungen bei Nutz- und Wildtierspezies genutzt wird, ist das mitochondriale Genom. Als Bestandteil der Mitochondrien im Zytoplasma außerhalb des Zellkerns wird es maternal vererbt. Eine Region der mtDNA, die hypervariable D-loop Region, ist besonders gut für diese Art von Untersuchungen geeignet, da sie im Vergleich zu anderen Regionen deutlich variabler ist.

Wir haben Sequenzvariationen in der mt DNA D-loop Region genutzt, um historische Populationsstrukturen afrikanischer Hühnerpopulationen aus Simbabwe, Malawi und dem Sudan im Kontext globaler Diversität zu untersuchen. Ingesamt wurden 34 Haplotypen

identifiziert, die sich drei Hauptgruppen zuordnen ließen (Median-joining networks); (1) Simbabwe und Malawi; (2) Nordwesteuropa und Wirtschaftszuchtlinien; (3) Gemischtes Cluster. Die Ergebnisse spiegelten die Existenz von zwei maternalen Linien wider, die gleichmäßig über die fünf Ecotypen der Hühner Simbabwes verteilt waren. Aus der globalen Analyse schlussfolgerten wir, dass eine dieser Linien ihren Ursprung wahrscheinlich in Südostasien hat, während die andere auf eine Herkunft in Indien zurück geht.

Muchadeyi *et al.* (2008) Mitochondrial DNA D-loop sequences suggest a Southeast Asian and Indian origin of Zimbabwean village chickens. Anim Genet. 39(6):615-22.

Friedrich-Loeffler-Institut, ING, Mariensee; Institute of Animal Breeding and Genetics, Georg-August-Universität, Göttingen; Faculty Life Sciences, University of Applied Sciences, Bingen, (alle Deutschland)

Analyse der genetischen Diversität und phylogenetischer Beziehungen zwischen Wild- und chinesischen Haushuhnrassen

Langfristig angelegte Untersuchungen zur genetischen Diversität basierend auf Mikrosatelliten beim Haushuhn sollen dazu beitragen, die während der Domestikation akkumulierte Diversität beim Haushuhn besser bewerten zu können. In dieser Studie wurden 568 Individuen von 14 chinesischen Haushuhnrassen sowie zwei Wildhuhnpopulationen (*Gallus gallus spadiceus* aus China, und *Gallus gallus gallus* aus Thailand) an 29 Mikrosatelliten untersucht. Insgesamt wurde eine hohe Variabilität in diesen Populationen im Vergleich zu europäischen Rassen festgestellt. Die Clusteranalyse (Neighbor-Joining Methode) basierend auf der Reynolds' Distanz zeigte, dass die schwereren chinesischen Rassen (Luyuan, Xiaoshan, Beijing Fatty chicken, Henan Game, Huainan Partridge, Langshan) eine eigene Gruppe bildeten. Chahua- und Tibet-Hühner wiesen die engste genetische Verwandtschaft aller untersuchten Rassen zu den beiden Wildhuhnpopulationen auf. Die Ergebnisse dieser Studien unterstützen die Annahme, dass die Haushühner von verschiedenen Wildhuhnpopulationen abstammen.

Wen-Bin *et al.* (2008) Analysis of genetic diversity and phylogenetic relationships among red jungle fowls and Chinese domestic fowls. Sci China C Life Sci 51(6), 560-568.

College of Animal Science and Technology, Yangzhou University, China; College of Animal Science and Technology, Anhui Agriculture University, China; Friedrich-Loeffler-Institut, ING, Mariensee, Deutschland

Schätzung der Kovarianzstruktur von Zuchtpopulationen

Die Kovarianzstruktur von Merkmalen in Populationen ist die Voraussetzung für jegliches Zuchtprogramm, ob zur Erhaltung des Status quo in der Population oder zu seiner Veränderung. Da Kovarianzmatrizen Eingabeparameter der BLUP Zuchtwertschätzung sind, ist ihre möglichst genaue Schätzung von großer Bedeutung. Diese wird von einer beträchtlichen Zahl von Einflussgrößen bestimmt. Hierunter zählen die freie Wahl der zu nutzenden statistischen Modelle, Abbildung der modernen statistisch/genetischen Methoden, Effizienz der Berechnung sowie Robustheit der verwendeten Optimierungsverfahren. Dieses hat besonderes Gewicht, weil in der Regel multivariate Kovarianzkomponentenschätzungen extrem rechenzeitaufwändig sind. Für eine große Verbreitung ist sowohl die Verfügbarkeit von Programmen auf einer Vielzahl von Betriebssystemplattformen von großer Bedeutung als auch eine gute Dokumentation.

Eine neue Version des Statistikpaketes VCE zur Schätzung von Kovarianzkomponenten wurde 2008 fertiggestellt und zur allgemeinen Nutzung freigegeben. Binaries für Linux, Windows, MacOS als die ARM Prozessoren sind verfügbar. Die Schätzung erfolgt über REML und Gibbs Sampling für alle gängigen statistisch/genetischen Modelle einschließlich maternaler Effekte und der so genannten Random Regression Modelle. Das Benutzerhandbuch wurde weitgehend neu geschrieben und mit Beispielen stark erweitert.

Groeneveld, E., Kovac, M. und Mielenz, M. (2008) VCE binaries at: ftp://ftp. tzv.fal.de/pub/latest_vce/bin; VCE User's Guide and Reference Manual Version 6.0, Mariensee, November 2008, 125 pages; ftp://ftp.tzv.fal.de/pub/ latest_vce/doc/vce6-manual-3.1-A4.pdf.

Friedrich-Loeffler-Institute, ING, Mariensee, Deutschland; University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Animal Science, Slovenia; Institute of Agricultural and Nutritional Sciences, Martin-Luther-University, Halle-Wittenberg, Deutschland

Bewertung von Thai-Brahman- und Kabinburi-Rind als genetische Ressource in tropischen Gebieten

Der Erhalt und die Erweiterung der genetischen Ressourcen ist einer der Hauptschwerpunkte der landwirtschaftlichen Forschung in Thailand. Der Bedarf an Fleisch- und Milchprodukten ist in Thailand und anderen südostasiatischen Ländern enorm gestiegen. Diese Steigerung ist sowohl hinsichtlich der Quantität, aber viel mehr auch der Qualität der Produkte bemerkbar. Auf der anderen Seite sind die Mehrzahl der Betriebe in Thailand und den Nachbarländern sehr kleine Bauernfamilienbetriebe mit zum Teil nur 2-3 Rindern. Um dem Bedarf einerseits und den Möglichkeiten der Kleinbauern andererseits gerecht zu werden, ist das Kabinburi-Rind entwickelt worden. Kabinburi ist eine Kreuzung zwischen Simmental und Brahman (*B. tarus* x *B. indicus*). Zur Entwicklung von Kabinburi werden

zwei Rinderrassen, die sehr unterschiedlich sind, eingesetzt. Somit ist Kabinburi ein Zweinutzungsrind, geeignet für die Produktion von Milch und Fleisch, da es die Stärken der Ausgangsrassen vereinigt. Im Rahmen eines breit ausgelegten Projektes in Zusammenarbeit mit der Universität Kasetsart, Bangkok haben wir die genetischen und physiologischen Merkmale von Thai Brahman und Kabinburi in verschiedenen Klimazonen in Thailand bewertet.

Boonprong *et al.* (2008) Productivity of Thai Brahman and Simmental-Brahman crossbred (Kabinburi) cattle in central Thailand. Int. J. Biometerol. 52: 409-415.

Friedrich-Loeffler-Institut, ING, Mariensee, Deutschland; Dept. of Pysiology, Faculty of Vet. Med., Kasetsart, University, Bangkok, Thailand; Dept. of Animal Science, Facul. of Agri., Kasetsart University

8.2 Biotechnologie

Die Biotechnologie eröffnet vielversprechende Perspektiven für eine kostengünstige, qualitätssichernde und -verbessernde, nachhaltige und diversifizierte Tierproduktion. Im Vordergrund der Arbeiten stehen Entwicklung neuer Verwendungs- und Nutzungsformen für landwirtschaftliche Nutztiere, Aufklärung molekularer Regelmechanismen in der Embryonalentwicklung, Klonen, die Trennung von X- und Y-Spermien, sowie bio- und molekulargenetische Analyse genetischer Diversität. Die multidisziplinären Arbeiten integrieren neueste Erkenntnisse aus dem embryologischen, reproduktions- und zellbiologischen und molekulargenetischen Methodenspektrum.

Auswirkungen von insulinähnlichem Wachstumsfaktor 1 auf zelluläre und molekulare Eigenschaften *in vitro* produzierter Rinderblastozysten

Die Zugabe von insulinähnlichem Wachstumsfaktor 1 (IGF1) zum Kulturmedium erhöht den Anteil an Rinderembryonen, der sich zum Blastozytenstadium entwickelt. Der Anteil an Embryonen, der sich nach Transfer in hitzegestressten Milchkühen entwickelt, wird ebenfalls gesteigert. Die molekularen und zellulären Eigenschaften, die mit diesen Effekten von IGF1 korrelieren, wurden in dieser Studie bestimmt. Die Embryonen wurden durch *In vitro*-Fertilisation produziert und für 7 Tage mit oder ohne 100 ng/ml IGF1 kultiviert. An Tag 7 nach der *In vitro*-Befruchtung wurden expandierte Blastozysten mit guter Qualität gesammelt und die Gesamtzellzahl, der Anteil Zellen mit Apoptose, der Anteil an Zellen in der inneren Zellmasse und im Trophectoderm sowie der relative Gehalt verschiedener entwicklungsrelevanter Gentranskripte bestimmt. Unterschiede wurden nur im relativen Gehalt verschiedener Transkripte zwischen Kontrollen und IGF1-behandelten Embryonen beobachtet. Durch Zugabe von IGF1 erhöhte sich der relative RNA-Gehalt für IGFBP3, Desmocollin 2 und zeigte eine Tendenz zu einem erhöhten relativen Gehalt für Na+K+-ATPase und BAX, während die relative Transkriptmenge für Heatshock-protein 70 (HSP 70) und den IGF1-Receptor (IGF1r) reduziert wurde. Diese Ergebnisse zeigen, dass das verbesserte Überleben von Embryonen nach IGF1-Behandlung nicht auf direkte Effekte, auf die Zellzahl, Apoptose sowie die Zuordnung von Zellen zur inneren Zellmasse oder zum Trophectoderm in der Blastozyste zurückzuführen ist. Jedoch kann IGF1 in der *In vitro*-Kultur die Expression entwicklungsrelevanter Transkripte verändern, was wiederum Einflüsse auf Entwicklung und Überleben nach Transfer in Empfängertiere haben kann.

Block *et al.* (2008). Effects of insulin-like growth factor-1 on cellular and molecular characteristics of bovine blastocysts produced *in vitro*. Mol Reprod Dev 75, 895-903.

Department of Animal Sciences, University of Florida, USA; Friedrich-Loeffler-Institut, ING, Mariensee, Deutschland

Knockdown von porzinem endogenem Retrovirus (PERV) durch PERV-spezifische shRNA in transgenen Schweinen

Die Xenotransplantation unter Verwendung porziner Zellen, Gewebe oder intakter Organe könnte mit einer Übertragung von porzinem endogenem Retrovirus (PERV) verbunden sein. Mehr als 50 PERV Kopien sind bisher im Schweinegenom entdeckt worden. Drei verschiedene Subtypen an PERV können aus Schweinezellen freigesetzt werden, wobei zwei davon in der Lage sind, humane Zellen *in vitro* zu infizieren. Die RNA Interferenz (RNAi) Technologie könnte eine vielversprechende Option sein, die PERV-Expression zu verhindern. In der vorliegenden Arbeit haben wir kleine RNA-Moleküle (shRNA) für hoch konservierte Regionen in der PERV-DNA ausgewählt, die die Expression der drei Subtypen in PERV-infizierten humanen Zellen sowie in primären porzinen Zellen inhibierten. Schweinefibroblasten wurden mit einem lentiviralen Vektor, der diese shRNA exprimiert, transfiziert und mit den transfizierten Fibroblasten wurden transgene Schweine über somatisches Klonen erstellt. Die Integration des Vektors konnte durch PCR nachgewiesen werden. Die Expression von shRNA und PERV wurde durch Hybridisierungsanalyse und real-time-RT-PCR überprüft. Alle 7 geborenen Ferkel hatten das Transgen integriert und eine Expression der siRNA wurde in allen Geweben gefunden. In allen Fällen war die PERV-Expression signifikant gegenüber Wildtypkontrollen inhibiert. Die Ergebnisse zeigen, dass die beschriebene Strategie ein wirkungsvoller Ansatz sein kann, um PERV im Zusammenhang mit Xenotransplantation zu inhibieren.

Dieckhoff *et al.* (2008) Knockdown of porcine endogenous retrovirus (PERV) expression by PERV-specific shRNA in transgenic pigs. Xenotransplantation 15, 36-45.

Robert Koch Institut, Berlin; Friedrich-Loeffler-Institut, ING, Mariensee, Deutschland

Dopplersonographie der uterinen Arterien von Milchkühen während der ersten drei Wochen der Trächtigkeit bzw. während Superovulationsbehandlung

In zwei Studien wurde mittels transrektaler Farbdopplersonographie der uterine Blutfluss bestimmt, um Veränderungen bei zyklischen und frühträchtigen laktierenden Milchkühen zu ermitteln (Studie 1) und um Auswirkungen einer Gonadotropinbehandlung zur Superovulationsauslösung zu bestimmen. Der uterine Blutfluss spiegelte sich in der maximalen Flussgeschwindigkeit (TAMV), im Blutflussvolumen (BFV) und im Pulsatilitätsindex (PI) in den uterinen Arterien wieder, die ipsilateral zum Corpus luteum lagen.

Die Studie 1 wurde während der ersten drei Wochen an insgesamt 53 Milchkühen nach der Brunst durchgeführt. 14 Kühe befanden sich im Brunstzyklus und 39 Tiere waren mit tiefgefrorenem aufgetauten Sperma künstlich besamt worden. 21 Tiere, die am Tag 25 nicht trächtig waren, wurden von der Studie ausgeschlossen. Eine hohe individuelle Variabilität im PI (CV:22-62%) und in den TAMV-Werten (CV: 22-42%) wurde beobachtet. Die Veränderungen in TAMV korrelierten mit den Östrogen-Progesteron-Konzentrationen in zyklischen Kühen, nicht aber in trächtigen Tieren. Die PI-Werte korrelierten nicht mit den Steroidhormonspiegeln. Unterschiede im uterinen Blutfluss zwischen zyklischen und frühträchtigen Tieren wurden nur am Tag 18 festgestellt. Diese Ergebnisse zeigen erstmals, dass in trächtigen Kühen beträchtliche Änderungen im uterinen Blutzufluss bereits in der zweiten Woche nach der Besamung festgestellt werden können. Diese Veränderungen werden in der zweiten Woche des Brunstzyklus nicht beobachtet und sind auf die Anwesenheit der befruchteten Eizelle zurückzuführen.

Für die Studie 2 wurde der Brunstzyklus von 42 Kühen mit Hilfe von Prostaglandin-Injektionen synchronisiert und die Kühe wurden künstlich besamt. Die Östrogen- und Progesteronspiegel im peripheren Plasma wurden bestimmt. 8 Tage nach der Besamung wurden die Embryonen aus den Uterushörnern ausgespült und die Anzahl an Eizellen und Embryonen sowie der Anteil transfertauglicher Embryonen ermittelt. Die Ovarreaktion wurde definiert durch die Anzahl an Follikeln größer als 5mm am Tag 13 und die Anzahl an Corpora lutea am Tag 22. Das Blutflussvolumen (BFV) und der Pulsatilitätsindex (PI) zeigten deutliche Veränderungen während des Superovulationszyklus, wobei einige Faktoren korrelierten, andere aber nicht. Diese Untersuchungen zeigen, dass die transrektale Farbdopplersonographie der uterinen Arterien wichtige Hinweise auf die Vorgänge am Genitaltrakt liefert, aber die Vorhersagbarkeit im Hinblick auf den Anteil gewonnener transfertauglicher Embryonen nicht verbessern kann.

Honnens *et al.* (2008) Uterine blood flow during the first 3 weeks of pregnancy in dairy cows. Theriogenology 70, 1048-1056.

Honnens *et al.*(2008) Doppler sonography of the uterine arteries during a superovulatory regimen in cattle – Uterine blood flow in superovulated cattle. Theriogenology 70, 859-867

Institut für Rinder und Klinik für Rinder, Tierärztliche Hochschule Hannover; Friedrich-Loeffler-Institut, ING, Mariensee; Institut für Physiologie, Technische Universität München, Freising-Weihenstephan, (alle Deutschland)

Analyse des genomweiten Expressionsprofils bei *in vivo* gewonnenen Präimplantationsembryonen vom Rind

Rinderembryonen können durch *In vitro*-Fertilisation oder durch somatischen Kerntransfer erstellt werden. Diese *in vitro* erzeugten Embryonen unterscheiden sich jedoch in vielerlei Hinsicht von den entsprechenden Stadien aus der *In vivo*-Produktion, u.a. zeigen sie einen deutlich höheren Anteil an Entwicklungsabnormalitäten. In der vorliegenden Studie wurde erstmals das gesamte Transkriptom in der frühen Entwicklungsphase von der Oozyte bis zur Blastozyste mit Hilfe des Affymetrix GeneChip Bovine Genomic Array analysiert. Dieser Chip analysiert etwa 23.000 Transkripte. Die Ergebnisse zeigen, dass bovine Oozyten und Embryonen eine signifikant höhere Anzahl an Genen als somatische Zellen transkribieren (ca. 12 – 13.000 gegenüber 8.000). Mehrere Hundert Gene wurden bereits vor dem 8-Zell-Stadium transkribiert, was vor der Aktivierung des embryonalen Genoms beim Rind liegt. Für die einzelnen Entwicklungsstadien vom 2-,4- und 8-Zell Stadium sowie für Morulae und Blastozysten wurden sehr spezifische Expressionsmuster gefunden. Dies zeigt erhebliche und bisher unbekannte dynamische Veränderungen im embryonalen Transkriptom mit einem überraschend hohen Anteil an vorübergehend aktiven Genen. Eine Analyse ergab über 120 aktive biochemische Signalwege, die bereits in dieser frühen Entwicklungsphase aktiv sind. Signifikante Unterschiede im Genexpressionsprofil wurden zwischen *in vivo* und *in vitro* gereiften Oozyten gefunden. Dies unterstreicht die Notwendigkeit *in vivo* erzeugte Oozyten und Embryonen in Studien einzubeziehen, in denen die Effekte von assistierten Reproduktionstechniken analysiert werden sollen. Diese Studie zeigt erstmals eine zusammenfassende Analyse des Genexpressionsprofils und der transkriptionellen Dynamik in der *In vivo*-Präimplantationsphase und

kann damit als eine Basis zur Verbesserung assistierter Reproduktionstechniken dienen.

Kues *et al.* (2008) Genome-wide expression profiling reveals distinct clusters of transcriptional regulation during bovine preimplantation development *in vivo*. Proc Natl Acad Sci USA 105, 19768-19773.

Friedrich-Loeffler-Institut, ING, Mariensee, Max Planck Institut für Molekulare Genetik, Berlin, (beide Deutschland); Reproduktion Zentrum-Wieselburg, Veterinärmedizinische Universität Wien, Austria

Reprogrammierung der DNA und Histone H3-Methylierung sind bei Maus, Rind und Kaninchenzygoten konserviert

Beim Säuger werden die elterlichen Genome nach der Befruchtung epigenetisch reprogrammiert. Diese Reprogrammierung beinhaltet eine schnelle Demethylierung der väterlichen Chromosomen vor der DNA-Replikation in Zygoten. Eine solche aktive DNA-Demethylierung, die bereits in mehreren Säugerspezies, z.B. Maus, Ratte, Schwein, Mensch und Rind, nachgewiesen wurde, war bisher für das Kaninchen noch nicht bekannt. Durch vergleichende Analyse immunhistochemischer Muster nach Färbung mit Antikörpern gegen 5-Methylcytosin, H3K4ml3 und H3K9me2 wurde eine ähnliche Verteilung der Vorkerne und eine ähnliche Dynamik der Veränderungen in Zygoten von Maus, Rind und Kaninchen beobachtet. Im Kaninchen geschieht die DNA-Methylierung der väterlichen Chromosomen in einem etwas späteren pronuklearen Stadium. Die Kaninchenoozyte demethyliert auch sehr schnell in Spenderfibroblasten nach somatischem Kerntransfer die DNA. Unsere Daten zeigen, dass die wesentlichen Ereignisse der epigenetischen Reprogrammierung während der Vorkernausreifung konserviert sind, einschließlich der Mechanismen der aktiven Demethylierung.

Lepikhov *et al.* (2008) Evidence for conserved DNA and histone methylation reprogramming in mouse, bovine and rabbit zygotes. Epigenetics & Chromatin (1), 8 (doi: 10.1186/1756-8935-1-8)

Natural Sciences – Technical Faculty III, Universität Saarland, Saarbrücken; Department of Molecular Animal Breeding and Biotechnology, Ludwig-Maximilians University München; Klinik für Rinder, Tierärztliche Hochschule Hannover; Friedrich-Loeffler-Institut, ING, Mariensee, (alle Deutschland)

RNA Expressionsmuster von Histon-assoziierten Genen in Rinderembryonen verschiedener Herkunft

In der vorliegenden Arbeit wurde das mRNA Expressionsmuster von Histon-assoziierten Genen in Rinderembryonen analysiert. Verglichen wurden unreife und *in vitro* gereifte Oozyten (vor oder nach Enukleation und Aktivierung), *in vitro* produzierte Embryonen (Zygoten-, 8–16-Zell- oder Blastozystenstadium) geklonte Embryonen (aus weiblichen oder männlichen Spenderzellen), parthenogenetische Embryonen und *in vivo* produzierte Blastozysten. Die letzteren dienten als Standard, um Abweichungen vom normalen mRNA Expressionsmuster zu identifizieren. Ein sensitiver semiquantitiver RT-PCR Assay wurde verwendet, um Unterschiede im relativen Transkriptgehalt der Gene für von HDAC2, (Histone Deacetylase2), HAT -1 (Histone acetyltransferase1) G9A, SUV39H1 (Histon Methyltransferasen), HP1 (Heterochromatinprotein1) und ZAR1 (Zygote arrest-1 chromatin mediated transcription regulation) zu bestimmen. Mit Ausnahme von ZAR1 waren diese Transkripte während der gesamten Präimplantationsentwicklung zu finden. Die Expressionsmuster unterschieden sich dabei teilweise deutlich. Unsere Ergebnisse zeigen, dass sowohl die *In vitro*-Produktion als auch das somatische Klonen die mRNA Expression von Histon modifizierenden Genen beeinflussen und damit Einfluss auf die epigenetische Regulation insgesamt haben können.

Nowak-Imialek *et al.* (2008) Messenger RNA expression patterns of histone-associated genes in bovine preimplantation embryos derived from different origins. Mol Reprod Dev 75, 731-743.

Friedrich-Loeffler-Institut, ING, Mariensee, Deutschland; Laboratorio di Tecnologie dell Riproduzione, Cremona, Italy

Entwicklung und Validierung eines effizienten Protokolls für das Klonen von Schweinen unter Verwendung präovulatorischer peripuberaler Jungsauen als Empfänger

Die Effizienz des somatischen Kerntransfers ist bezogen auf die Anzahl geborener Ferkel pro transferierten Embryonen nach wie vor sehr niedrig. In dieser Studie berichten wir über ein hocheffizientes Protokoll für die Produktion geklonter Schweine unter Verwendung von peripuberalen Jungsauen als Empfänger, die so synchronisiert sind, dass sie ungefähr 24 Stunden nach dem Transfer geklonter Embryonen ovulieren. Der Transfer fand also in präovulatorische Empfängertiere statt. In einer retrospektiven Studie haben wir die Effizienz von zwei unterschiedlichen Synchronisationsprotokollen verglichen. In Gruppe 1 waren die Empfängertiere so synchronisiert, dass sie etwa 6 Stunden vor dem chirurgischen Embryotransfer in die Eileiter ovulierten, während in Gruppe 2 die Tiere so synchronisiert waren, dass sie 24 Stunden nach dem Embryotransfer ovulierten. Insgesamt 1562 geklonte Embryonen wurden in 12 Empfängertiere in Gruppe 1 übertragen, zwei davon wurden trächtig (16,7%) eine Trächtigkeit wurde am Tag 32 verloren, die zweite Trächtigkeit wurde abgeschlossen und führte zur Geburt eines gesunden Ferkels nach Kaiserschnitt. In Gruppe 2 wurden 1531 geklonte Embryonen auf 12 Empfängertiere übertragen.

9 Empfängertiere (75%) wurden trächtig, wie in der Ultraschalluntersuchung am Tag 25 festgestellt wurde. Alle Trächtigkeiten wurden abgeschlossen und endeten in der Geburt von insgesamt 47 lebenden Ferkeln. Die Effizienz des Klonens zwischen den beiden Gruppen unterschied sich signifikant. Dieses modifizierte Protokoll wurde dann anschließend in verschiedenen Experimenten mit einer unterschiedlichen Anzahl an transgenen und nicht-transgenen Spenderzellen mit ähnlichen Erfolgsraten eingesetzt. Die Ergebnisse zeigen, dass dieses Protokoll robust, zuverlässig und reproduzierbar ist und deshalb zur routinemäßigen Produktion von geklonten Schweinen eingesetzt werden kann.

Petersen *et al.* (2008) Development and validation of a highly efficient protocol of porcine somatic cloning using preovulatory embryo transfer in peripubertal gilts. Cloning Stem Cells 10, 355-362.

Friedrich-Loeffler-Institut, ING, Mariensee, Deutschland;

Auswirkungen von Follikelgröße und Reifungsstadium auf die mRNA Expression von *in vitro* gereiften Oozyten beim Rind

Die Zielsetzung dieser Studie war es, die dynamischen Abläufe in der Transkription von Genen, die an der Oozytenreifung beteiligt sind, aufzudecken. Der relative Gehalt an DYNLL1 (cytoplasmic dynein light chain LC8), DYNC1/1 (cytoplasmic dynein 1 intermediate chain), Dynactin 1, PMSB1 (proteasome beta subunit 1), PMSA4 (proteasome alfa subunit 4), Poly-A Polymerase und Connexin 43 wurde mit Hilfe einer semi-quantitativen RT-PCR in Oozyten in verschiedenen Stadien des Zellzyklus bestimmt. Die Oozyten stammten aus Follikeln, die entweder kleiner als 2mm waren oder aus Follikeln, die 2 – 8mm groß waren. Der relative Gehalt an DYNLL1 und DYNC/1 war in unreifen Oozyten aus den größeren Follikeln signifikant höher als in denen aus kleinen Follikeln. Während der *In vitro*-Reifung der Oozyten in den beiden verschiedenen Follikelgrößenkategorien wurde eine höhere mRNA Expression für DYNLL1 und DYNC1/1 sowie eine unterschiedliche Dynamik im Expressionsmuster für DYNLL1, DYNC1/1 und PMSB1 beobachtet werden. Dies kann mit der Entwicklungskapazität in Verbindung gesetzt werden. Die gefundenen Unterschiede zwischen den beiden Gruppen und Oozyten können als Marker dienen, um die Entwicklungskapazität von Rinderoozyten zu beurteilen.

Racedo *et al.* (2008) Effects of follicle size and stages of maturation on mRNA expression in bovine *in vitro* matured oocytes. Mol Reprod Dev 75, 17-25.

Friedrich-Loeffler-Institut, ING, Mariensee, Deutschland; Laboratorio de Biotechnologia Animal, Universidad de Buenos Aires, Argentina

Die Rolle von RNA Polymerase I und embryonaler Genomaktivierung in der Nucleolusentwicklung in Präimplantationsembryonen vom Rind

Die Zielsetzung dieser Studie war es, die Bedeutung der RNA-Polymerase 1 auf die Entwicklung des Nucleolus während der Hauptaktivierung des embryonalen Genoms beim Rind zu ermitteln. Späte 8-Zell Stadien wurden in An- oder Abwesenheit von Actinomycin D, einem spezifischen RNA Polymerasehemmer inkubiert. Späte 4-Zell Stadien wurden bis zum späten 8-Zell Stadium in niedriger Konzentration (0,2ng/ml) von Actinomycin D kultiviert. Die Embryonen wurden autoradiographisch, transmissionselektronenmikroskopisch oder über Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung, Silberfärbung zur Darstellung der nuklearen Proteine und mit Hilfe der Immunfluoreszenz untersucht. Die Ergebnisse zeigen, dass die rDNA-Transkription nicht für die Generierung von rRNA prozessierenden Proteinen benötigt wird. rRNA wird somit maternal vererbt. Ferner wird die De-novo-Transkription für eine physiologische Nukleologenese beim Rind benötigt.

Svarcova *et al.* (2008) The role of RNA polymerase I transcription and embryonic genome activation in nucleolar development in bovine preimplantation embryos. Mol Reprod Dev 75, 1095-1103.

IBHV, University of Copenhagen, Frederiksberg C, Denmak; Department of Zoology and Anthropology, Constantine the Pilosopher University, Nitra, Slovak Republic; Department of Botanics and Genetics, Constantine the Philosopher University, Nitra, Slovak Republic; IPH, University of Copenhagen, Frederiksberg, Denmark; Friedrich-Loeffler-Institut, ING, Mariensee, Deutschland

Einfluss von gesexten Bullenspermien auf die embryonale Entwicklung

Nur mit Hilfe der „Beltsville Sperm Sexing Technology“ lassen sich bislang X- und Y-chromosomale Spermienpopulationen in der Durchflusszytometrie voneinander trennen. Allerdings gibt es Hinweise darauf, dass das Muttertier Einfluss auf die geschlechtliche Ausbildung haben könnte. Obwohl mittlerweile gesextes Sperma kommerziell eingesetzt wird, sind die Befruchtungsergebnisse deutlich schlechter als nach Besamung mit unsortierten Spermien. Um zu testen, ob *in vitro* befruchtete Oozyten in der Lage sind, zwischen X- und Y-chromosomalen Spermien zu unterscheiden, wurden 1788 Oozyten mit X-chromosmalen bzw. Y-chromosomalen Spermien, X/Y zurückgemischtem Sperma sowie ungesortetem Sperma *in vitro* befruchtet und bis Tag 9 *in vitro* kultiviert. Die Fertilität wurde anhand der Teilungsrate nach 48 Std. sowie der Blastozystenbildungsrate nach neun Tagen nach IVF untersucht. Die Embryonen wurden im 2-4-Zellstadium

gesext. Aus den Ergebnissen lässt sich ableiten, dass durch die Oozyte eine geschlechtliche Selektion der Spermienpopulation nicht erfolgt, dass aber der Sortiervorgang eine reduzierte Fruchtbarkeit zur Folge hat. Dies könnte u.U. auf epigenetische Vorgänge während der Befruchtung zurückzuführen sein. Epigenetische Unterschiede zwischen männlichen und weiblichen Rinderblastozysten stehen in Verdacht, eine unterschiedliche Entwicklungspotenz von weiblichen und männlichen Embryonen zu bewirken. Um dies für Rinderembryonen abzuklären, wurden Oozyten *in vitro* mit gesextem, tiefgefrorenem Sperma befruchtet und *in vitro* bis zur Blastozyste kultiviert. Anschließend wurden die Blastozysten gesext und hinsichtlich mtDNA-Gehalt, Teleomerenlänge und Methylierungsgrad untersucht. Außerdem wurden mRNA Transkripte für die DNA Methyltransferasen Dnmt1, Dnmt3a, Dnmt3b sowie für HMT1 und Ilf3 quantifiziert. Die Ergebnisse weisen auf epigenetische Unterschiede zwischen männlichen und weiblichen, *in vitro* erzeugten Rinderblastozysten hin und lassen vermuten, dass epigenetische Vorgänge bereits vor Beginn der Gonadendifferenzierung Entwicklungsgeschwindigkeit, Metabolismus und Transkription, wie sie während der Präimplantationsphase zu beobachten sind, modulieren. Epigenetische Effekte scheinen insgesamt einen weitaus größeren Einfluss auf die Embryonalentwicklung zu nehmen als bisher angenommen. Unter anderem könnte die flowzytometrische Geschlechtsselektion hierbei eine wesentliche Rolle spielen.

Bermejo-Alvarez *et al.* (2008) Can bovine *in vitro*-matured oocytes selectively process X- or Y-sorted sperm differentially? Biol Reprod 9, 594-597.

Bermejo-Alvarez *et al.* (2008) Epigenetic differences between male and female bovine blastocysts produced *in vitro*. Physiol Genomics 32, 264-272.

Departamento de Reproducción Animal y Conservación de Recursos Zoogenéticos, INIA, Spain; Friedrich-Loeffler-Institut, ING, Mariensee, Deutschland; School of Agriculture, Food Science and Veterinary Medicine, University College Dublin, Ireland

Interaktionen von Eberspermien und Uterus nach Besamung

Moderne biotechnologische Verfahren, wie die geschlechtsspezifische Sortierung von Spermien, erfordern den Einsatz von minimalen Besamungsportionen. Beim Schwein werden für eine konventionelle Besamung 1-3 x 10^9 Spermien benötigt. Die Umgehung des Uterus mittels tief intrauteriner Besamung führt zu akzeptablen Befruchtungsraten mit 50 x 10^6 Spermien. Um künstliche Besamung mit geringer Spermienkonzentration auch mit der konventionellen Technik zu ermöglichen, müssen fundamentale Mechanismen der uterinen Spermienselektion und des Spermientransports geklärt werden. Ziel dieser Studien war es daher, die Interaktionen zwischen Spermien und uterinen Epithelzellen bzw. intraluminalen Leukozyten beim Schwein zu analysieren, soweit sie im Rahmen der Spermienselektion eine Rolle spielen könnten. Dazu wurde zunächst ein *Ex-vivo*-Modell etabliert, um Interaktionen zwischen Spermien und uterinen Epithelzellen unter möglichst natürlichen Bedingungen zu studieren. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass vor allem vitale Spermien im Uterus zurückgehalten werden, vermutlich als Resultat einer aktiven Bindung an die Epithelzellen. Es konnten keine Unterschiede zwischen prä- und postovulatorischen Uteri festgestellt werden. Allerdings verblieben gewaschene Spermien eher im Uterus als in Seminalplasma verdünnte unbehandelte Spermien. Dieses lässt auf eine partielle Inhibition dieser Bindung durch Seminalplasma schließen. Die Spermien-Leukozyten-Interaktionen wurden *in vitro* durch Bestimmung der Bindung verschiedener Spermienpräparationen an neutrophile Granulozyten getestet. Die Versuche zeigten, dass präferentiell vitale Spermien an Neutrophile binden, wobei auch hier das Seminalplasma wieder hemmend auf die Bindung wirkt. Membrangeschädigte Spermien wurden so gut wie gar nicht gebunden, während Immobilisation die Bindung stark reduzierte. Dies impliziert, dass Motilität ebenfalls von Bedeutung für die Bindung von Spermien an PMN ist. Interessanterweise wurde auch nach einstündiger Inkubationszeit lediglich Bindung, aber keine eigentliche Phagozytose beobachtet. Untersuchungen zur Klärung des Bindungsmodus zwischen Spermien und PMN ergaben, dass die Bindung mit großer Wahrscheinlichkeit nicht Lektin-vermittelt ist. Obwohl beide Partner eine große Bandbreite Lektin-bindender Zuckerreste aufwiesen, konnte keines der getesteten Lektine die Bindung zwischen Spermien und Neutrophilen blockieren.

Um weitere Kenntnisse über die Regulierung des PMN-Einstromes zu gewinnen, wurde *in vivo* bestimmt, in welchem Umfang Spermien im Uterus Leukozyten ausgesetzt sind und ob verschiedene Bestandteile einer Besamungsportion den Einstrom der Immunzellen beeinflussen können. Darüber hinaus sollte mittels qRT-PCR die Regulierung einer repräsentativen Auswahl immunrelevanter Gene im Endometrium untersucht werden. Die in den Besamungsversuchen *in vivo* getesteten Substanzen wurden auch in Transmigrationsversuchen *in vitro* getestet. Zusammengefasst verdeutlichen die Ergebnisse die Komplexität der Regulierung der maternalen Immunantwort nach Besamung. Weitere Untersuchungen sind allerdings erforderlich, um ein

klares Bild zu zeichnen.

Taylor *et al.* (2008) Porcine spermatozoa inhibit post-breeding cytokine induction in uterine epithelial cells *in vivo*. Anim Reprod Sci. Dec 6. [Epub ahead of print] PMID: 19136226.

Rath *et al.* (2008) Sperm interactions from insemination to fertilization. Reprod Domest Anim 43 Suppl 5, 2-11.

Taylor *et al.* (2008) Influence of inseminate components on porcine leucocyte migration *in vitro* and *in vivo* after pre- and post-ovulatory insemination. Reprod Domest Anim Sep 27. [Epub ahead of print].

Schuberth *et al.* (2008) Immunological responses to semen in the female genital tract. Theriogenology 70, 1174-1181.

Taylo *et al.* (2008) Interaction of intact porcine spermatozoa with epithelial cells and neutrophilic granulocytes during uterine passage. Reprod Domest Anim 43, 66-175.

Friedrich-Loeffler-Institut, ING, Mariensee; Clinic for Ruminants, LMU Munich, Oberschleißheim; Research Institute for the Biology of Farm Animals, Dummerstorf, Institute of Immunology, University of Veterinary Medicine, Hannover (alle Deutschland)

Neue Aspekte zur Tiefgefrierung von Ebersperma

Obwohl die Grundlagen der Tiefgefrierung von Ebersperma bereits seit 1975 bekannt sind, ist ein Durchbruch für die kommerzielle Anwendung bis heute nicht erfolgt. Gegenwärtige Untersuchungen beziehen sich auf die Verbesserung der Auftauergebnisse, indem Schäden während des Konservierungsvorganges reduziert werden. Gleichzeitig sind die Untersuchungen darauf fokussiert, die Anzahl an Spermien pro Besamung zu reduzieren und trotzdem ausreichende Befruchtungsergebnisse zu erzielen. Zu den Faktoren, die die Samenzellen besonders während der Tiefgefrierung und des Auftauprozesses negativ beeinflussen, zählt die Fett-Peroxidation, die zur Membranschädigung und zu metabolischen Dysfunktionen führt. Die Supplementierung der Gefriermedien mit Antioxidantien sowie Chelatbildnern reduzieren die Effekte der ROS deutlich. Gute Auftauergebnisse wurden nach Zugabe von Antioxidantien zum Standard-Einfriermedium mit 2-3% Glyzerin und bei einer Einfrierrate von 30-50°C/min sowie einer Auftaurate von 1200 bis 1800 °C erzielt. Dabei ist jedoch eine individuelle Anpassung an die Eber erforderlich, um zu optimierten Ergebnissen zu gelangen. In Verbindung mit der tief intrauterinen Besamung konnte die erforderliche Spermiengesamtzahl für die Besamung von 6 auf eine Milliarde Samenzellen reduziert werden, ohne dass die Trächtigkeitsraten und Wurfgrößen reduziert wurden. Damit steht tiefgefrorenes Ebersperma prinzipiell für die Besamung von Sauen zur Verfügung.

Grossfeld *et al.* (2008) New aspects of boar semen freezing strategies. Theriogenology 70, 225-1233.

Friedrich-Loeffler-Institut, ING, Mariensee, Deutschland; Faculty of Veterinary Science, University of Sydney, Sydney, NSW, Australia

Einsatz von gesextem Sperma zur Erhaltung bedrohter Wildtierspezies am Beispiel von Elefant und Nashorn

Die durchflusszytometrische geschlechtsspezifische Sortierung von Spermien und der Einsatz derart hergestellter Spermien in der künstlichen Besamung stellt eine einzigartige Option dar, das Geschlechterverhältnis bei Nachkommen von bedrohten Wildtierarten, wie z.B. Elefant und Nashorn, gezielt zu beeinflussen. Um die Sortierbarkeit von Spermien dieser Spezies zu prüfen, wurde in einem modifizierten Hochgeschwindigkeits-Durchflusszytometer der Unterschied des relativen DNA-Gehaltes von X-und Y-Chromosom-tragenden Spermien von drei Nashornarten [weiß (*Ceratotherium simum*), schwarz (*Diceros bicornis)* und indisch (*Rhinoceros unicornis*)] sowie dem asiatischen und afrikanischen Elefant determiniert. Darüber hinaus wurde lichtmikroskopisch das Areal des Spermienkopfes aller 5 Spezies vermessen. Das Multiplizieren des relativen DNA-Gehalts mit dem Areal des Spermienkopfes ergibt einen Sortierindex von 47, 48 und 50 für das weiße, das schwarze bzw. das indische Nashorn. Der asiatische Elefant erreichte einen Index von 66. Der afrikanische Elefant hatte mit 76 den höchsten Sortierindex.

Zunächst wurde für den asiatischen Elefanten ein Sortierprotokoll entwickelt. Insgesamt wurden von einem Bullen 18 Ejakulate mittels rektaler Stimulation gesammelt. MES-HEPES-Magermilch erwies sich als geeigneter Verdünner, um Spermien des asiatischen Elefanten zu sortieren. Von den 18 gesammelten Ejakulaten konnten 12 erfolgreich mit einer Sortier-Reinheit von 94.5+/-0.7% und einer durchschnittlichen Sortier-Rate von 1945.5+/-187.5 Spermien pro Sekunde sortiert werden. Diese Ergebnisse stellen eine gute Basis dar, um asiatische Elefanten mit gesextem Sperma zu besamen.

Behr *et al.* (2009) Germany/Australia Index of Sperm Sex Sortability in Elephants and Rhinoceros. Reprod Domest Anim 44(2):273-7 (doi: 10.1111/j.1439-0531.2007.01056.x).

Hermes *et al.* (2009) Sperm sex-sorting in the Asian elephant (Elephas maximus). Anim Reprod Sci 112(3-4):390-6. (doi:10.1016/j.anireprosci.2008.05.007).

Leibniz Institut für Zoo and Wildtier Forschung, Berlin; Friedrich-Loeffler-Institut, ING, Mariensee; Zoo Hannover, (alle Deutschland); Western Plains Zoo, Dubbo, Australia; Faculty of Veterinary Science, University of Sydney, Australien

8.3 Molekulare und physiologische Regulation von Wachstum, Reproduktion und Adaptationsmechanismen

Der tierische Organismus muss sich in vielfältiger Weise an unterschiedliche Umweltbedingungen anpassen. Dabei werden Reize aus der Umgebung aufgenommen, zentralnervös verarbeitet und beantwortet. Die Reaktion des Organismus spiegelt sich in Veränderungen bei einzelnen oder mehreren Funktionskreisen wider. Die einzelnen Regulationssysteme sind sehr komplex und interagieren oft sehr stark untereinander. Bei der Reizverarbeitung und -beantwortung spielen Neuropeptide und endokrin wirksame Körpersubstanzen eine wichtige, oftmals entscheidende Rolle. Als zentralnervöser Integrationsort hormoneller Regulation fungieren verschiedene Gehirnregionen, u.a. das Zwischenhirn (Hypothalamus).

Von diesen Arbeiten wird ein tieferes Verständnis der züchtungsbiologischen Grundlagen hormongesteuerter Systeme der Adaptation und Reproduktion bei landwirtschaftlichen Nutztieren erwartet.

Anstieg der Galanin-Immunreaktivität in Neuronen des hypothalamischen Nucleus supraopticus während der Eiablage beim Huhn

Das Neurohormon Arg-Vasotocin (AVT) wird in magnozellulären Neuronen des hypothalamischen Kerngebietes des Nucleus supraopticus (SON) synthetisiert, über Nervenfasern zur Neurohypophyse transportiert und von dort bei Bedarf in die Blutbahn sezerniert. Neben der Osmoregulation ist AVT auch an der Eiablage durch Kontraktion des Myometriums zum Zeitpunkt der Oviposition beteiligt. Das Neuropeptid Galanin beeinflusst die Synthese und Sekretion des AVT vielfältig, wobei die Regelmechanismen noch weitgehend unbekannt sind. Kurz vor der Oviposition steigt die Immunreaktivität von AVT im SON stark an, um unmittelbar nach der Eiablage wieder signifikant abzufallen. Bei Galanin ist ein ähnlicher, jedoch zeitversetzter Verlauf der Immunreaktivität festzustellen, d.h. der Anstieg erfolgt erst kurz nach der Eiablage. Unsere Ergebnisse weisen darauf hin, dass Galanin am negativen Feedback-Mechanismus der AVT-Synthese beteiligt ist.

Klein, S., Grossmann, R. (2008) Galanin immunoreactivity increased in chicken supraoptic neurons after activation of the vasotocin system at oviposition. Comp. Biochem. Physiol., Part A 149, 411-419.

Friedrich-Loeffler-Institut, ING, Mariensee, Deutschland

Funktionen von Leptin und Ghrelin bei der Regulation der Granulosazellen

Leptin, ein Hormon der Adipozyten (Fettzellen) gilt als Schlüsselmediator der durch Nahrungsaufnahme und Energieverbrauch beeinflussten Regelmechanismen. Es hat auch direkte Funktionen bei der Regulation der Reproduktion. In unseren *In vitro*-Studien haben wir die Beteiligung von Leptin an den intrazellulären Regelmechanismen der Hormonsynthese und -sekretion bei Granulosazellen des Hühnerovars untersucht. Leptin inhibiert die Sekretion von AVT, jedoch stimuliert es die Sekretion von Östrogenen und Progesteron. Die Prozesse werden intrazellulär über die MAP-Kinase reguliert. Weiterhin ist auch die Cyclin-abhängige Kinase (CDK) bei diesen Mechanismen involviert, da CDK-Inhibitoren die Wirkung von Leptin entweder inhibieren oder sogar umkehren können. Das Peptidhormon Ghrelin, das im Gastrointestinaltrakt, vornehmlich im Magen, produziert wird, hat neben seinen Funktionen im Stoffwechsel und bei der Nahrungsaufnahme, auch direkte Wirkungen an den Granulosazellen. So konnten unsere Studien zeigen, dass Ghrelin direkte Effekte sowohl bei der Zellproliferation und Apoptose als auch der Steroid- und Peptidhormonsekretion hat.

Sirotkin & Grossmann (2008) The involvement of leptin, MAP kinase- and CDC2 kinase- dependent intracellular mechanisms in the control of hormone release by chicken ovarian granulosa cells. Slovak J Anim Sci, 41, (1), 6-11.

Sirotkin & Grossmann (2008) Effects of ghrelin and its analogues on chicken ovarian granulosa cells. Domestic Animal Endocrinology 34, 125-134.

Mészárosová *et al.* (2008) The effect of obestatin on porcine ovarian granulosa cells. Animal Reproduction Science 108, 196-207.

Research Institute of Animal Production, Slovak Centre of Agricultural Studies, Nitra, Slovak Republic; Friedrich-Loeffler-Institut, ING, Mariensee, Deutschland; Konstantin the Philosopher University, Slovakia; Peptides International Inc., Louisville, KY 40299, USA

Expression von "ACTH-Signaling" Proteinen beim Schwein

Das adrenocorticotrope Hormon (ACTH) und Cortisol sind wichtige Elemente der Stressbewältigung und Regulation der Adaptationsvorgänge im Körper. Porzine Maligne Hypothermie wird durch den genetischen Defekt eines autosomalen rezessiven Gens verursacht, das auch unter dem Namen Halothan-Gen (Hal) bekannt ist. Homozygote Halothan positive Schweine (Hal^{nn}) sind für Stress anfällig und leiden an „porcine stress syndrome" (PSS). Diese Anfälligkeit kann unter Stress zum Tode führen. Die Synthese und die Sekretion von Cortisol finden in verschiedenen Stufen statt, die vor allem von ACTH gesteuert werden. ACTH-Bindung an „Melanocortin type

2 receptor“ (MC_2R) in den Zellen der Nebennierenrinde verursacht eine Kettenreaktion, die zum Anstieg von cAMP und in der Folge zur Aktivierung von Protein- Kinase A und Phophorylierung von „cAMP response element binding protein“ (CREB) führt. Dieses Protein aktiviert letztlich die Transkription von Genen, die an der Steroid -Synthese beteiligt sind, insbesondere „Steroidogenic acute regulatory“ (StAR und „cleavage cytochrome“, $P450_{scc}$) Gene. Ein defekter Expressionsvorgang der $P450_{scc}$-mRNA in der Nebennierenrinde wird als Grund für die reduzierte Produktion von Cortisol bei Halothan-positiven Schweinen vermutet. Wir haben die Expression von ACTH-signaling Komponenten (MC_2R, cAMP, CREB) sowie die Komponente der Steroid -Synthese (StAR, $P450_{scc}$) bei Hal^{nn} und Hal^{NN} Genotypen von Schweinen unter verschiedenen Situationen studiert.

Li *et al.* (2008) Diminished expression of ACTH signaling proteins and steroidogenic limiting factors in adrenocortical cells isolated from $halothane^{nn}$ pigs. Domes Anim Endocrinol 35, 1-7.

Key Laboratory of Animal Physiol. & Biochem. Nanjing Agri. University; Dept. of Anim. Science, Tianjin Agri. University, Tianjin, PR China; Dept. Functional Genom. & Bioregul. Friedrich-Loeffler-Institut, ING, Mariensee, Deutschland

9 Arbeitsgruppe Internationale Tiergesundheit (AG-ITG)

Das Jahr 2008 stand für die AG-ITG hauptsächlich im Zeichen des internationalen Projektes zur epidemiologischen Untersuchung der aviären Influenza in Afrika, welches im Auftrag der Welternährungsorganisation FAO in sieben afrikanischen Staaten durchgeführt wurde. Hinzu kamen diverse Auslandseinsätze und Beratungsaktivitäten im Rahmen des mit der Gesellschaft für technische Zusammenarbeit (GTZ) vereinbarten Rahmenvertrages und Vorbereitungsarbeiten für die im Jahre 2009 beginnenden EU- und DFG-Projekte der AG-ITG.

Auslandseinsätze 2008

- EPIAAF (EPIdemiology of Avian Influenza in AFrica) Zielsetzung des Projektes war die Entwicklung eines Modells zur Erklärung des unterschiedlichen Ausbruchsverhaltens von hochpathogener aviärer Influenza (HPAI) in Afrika im Vergleich zu Asien und Europa. Eine genaue Beschreibung des Projektes ist im Kapitel III „Schwerpunktthemen“ zu finden.
- GTZ-Rahmenvertrag 26.04. - 03.05. Indonesien
  Es wurde eine Machbarkeitsstudie zum Aufbau eines Hochsicherheitslabors zur nationalen Prüfung von Vakzinen und Arzneimitteln sowie zur Verbesserung von Sicherheitsmaßnahmen in Regionallaboren im Umgang mit HPAIV H5N1 durchgeführt. Außerdem wurde das Regionallabor Wates, zuständig für die AI-Routinediagnostik der gesamten Insel Java, bei der Problembehebung in der bestehenden real-time PCR unterstützt sowie Laborpersonal in der Durchführung und Qualitätssicherung von PCR-Methoden (HPAIV H5N1) trainiert.
  Globig, A.; Friedrich-Loeffler-Institut, AG-ITG, Greifswald-Insel Riems, Deutschland
- Benin 19. – 24.05.
  Beratung zu den Themen Notfallplanung, Qualitätsmanagementsysteme, Struktur der AI-Diagnostik und Ausstattung der Labore.
  Böhle, W.; Friedrich-Loeffler-Institut, AG-ITG, Greifswald-Insel Riems, Deutschland

Erstellung von Lehrmaterialien

- September/Oktober 2008
  Für Grundschullehrer in Indonesien wurden Lehrmittel zur Vermittlung der Vogelgrippeproblematik (Auftraggeber GTZ) erstellt. Grundschullehrer sind für diese Aufgabe ausgewählt worden, weil sie in Indonesien als ideale Multiplikatoren für die ländliche Bevölkerung genutzt werden können.
  Böhle, W., Höreth-Böntgen, D.; Friedrich-Loeffler-Institut, AG-ITG, Greifswald-Insel Riems, Deutschland

Zukünftige Projekte

- Edinburgh, UK 09.-11.02.
  Vorbereitung des EU-Antrags FP-7-1-3-09: “Integrated control of neglected zoonoses: improving human health and animal production through scientific innovation and public engagement”.
  Antragsteller sind 13 europäische und 9 afrikanische Institute sowie 4 private Firmen. Der Antrag wurde bereits angenommen und hat ein Volumen von 6 Millionen Euro. Wissenschaftler des Instituts für bakterielle Infektionen und Zoonosen (IBIZ) und der AG-ITG des FLI planen über ausgewählte Antigene den Gamma-Interferon-Test zur Diagnose von boviner Tuberkulose bei Wild- und Nutztieren zu optimieren. Projektstart ist voraussichtlich im März 2009.
  Tanner, M.; Friedrich-Loeffler-Institut, AG-ITG, Greifswald-Insel Riems, Deutschland
- Südafrika, Mosambik, Tansania 25.04. – 08.05. Vorbereitung des DFG-Projektes „*M. bovis* in the wildlife-livestock-human interface of East and Southern Africa“. Die Förderung ist bereits zugesagt, das Projekt beginnt voraussichtlich im Juni 2009.
  Tanner, M. und Moser, I. ; Friedrich-Loeffler-Institut, AG-ITG, Greifswald-Insel Riems und IBIZ, Jena, Deutschland.

10 Zellbank für Zelllinien in der Veterinärmedizin

Riebe, R., Lenk, M.

Im Berichtszeitraum wurden 68 neue Zelllinien in die Zellbank aufgenommen. Dabei handelt es sich um:

- 15 etablierte Linien aus anderen wissenschaftlichen Einrichtungen des In- und Auslandes (Affen, Fische, Kamel, Mensch, Ratte, Rind, Schaf, Schwein, Schildkröte)
- 16 Eigenanzüchtungen (Fledermaus, Feldmaus, Ratte), deren Linienentwicklung noch nicht abgeschlossen ist
- 12 Hybridome aus Arbeitsgruppen des FLI
- 24 gentechnisch veränderte Linien verschiedener Arbeitsgruppen des FLI

Zur Verbesserung der Identitätsnachweise wurde die Genotypisierung von humanen und bovinen Linien per Mikrosatellitenanalyse eingeführt.
Mehrere hinsichtlich der Spezies falsch deklarierte Linien wurden der richtigen Tierart zugeordnet. Die Ergebnisse sind auf der Internetpräsenz des FLI veröffentlicht.

11 Beteiligungen des FLI an nationalen und internationalen Forschungsverbünden und Exzellenznetzwerken:

Forschungsverbund Netzwerk	Beteiligte Institute
NoE Epizone FP6 Network of Excellence 2006-2011 Epizootic Disease Diagnosis and Control	IVD, IMED, IMB, IfE, IfI, INNT
NoE NeuroPrion FP6 Network of Excellence, 2003-2009 Prevention, control and management of prion diseases	INNT, IfI
NoE EADGENE FP6 Network of Excellence, 2004-2009 European Animal Disease Genomics Network of Excellence for Animal Health and Food	IMED
IP IMAQUANIM FP6 Integrated Project, 2005-2010 Improved immunity of aquacultured animals	IMED
IP Xenome FP6 Integrated Project, 2006-2011 Engineering of the porcine genome for xenotransplantation studies in primates: a step towards clinical application	ING
CP WILDTECH FP7 Large collaborative project: Novel Technologies for Surveillance of Emerging and Re-emerging Infections of Wildlife	IMP
Exzellenzcluster REBIRTH Exzellenzcluster der Medizinischen Hochschule Hannover From Regenerative Biology to Reconstructive Therapy	ING
Network DAFINET Danish Council for Strategic Research, 2009-2013 Danish Fish Immunology Research Network	IMED
Netzwerk “Nagetier-übertragene Pathogene”	INNT
BMBF-Forschungsverbunde Zoonosen: Q-Fieber, 2007-2010 Erforschung der molekularen Pathogenese des Q-Fiebers und ihre Anwendung und Diagnostik und Epidemiologie in Deutschland	IBIZ
BMBF-Forschungsverbunde Zoonosen: Zoonotische Chlamydien , 2007-2010 Modelle für chronische und persistente Infektionen bei Mensch und Tier	IMP
BMBF-Forschungsverbunde Zoonosen: ZooMap, 2007-2010 Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis - von der Johne‘schen Krankheit zum Morbus Crohn	IMP
BMBF-Forschungsverbunde Zoonosen: Die Zoonose Botulismus, 2007-2010	IBIZ
BMBF-Forschungsverbunde Zoonosen: Toxoplasmose, 2007-2010 Netzwerk zur Toxoplasmose bei Mensch und Tier in Deutschland: Pathogenese, Risikofaktoren und Kontrolle	IfE

Forschungsverbund Netzwerk	Beteiligte Institute
BMBF-Forschungsverbunde Zoonosen: Arbovirusinfektionen in Deutschland, 2007-2010	INNT
BMBF-Forschungsverbunde Zoonosen: Influenza - Fluresearchnet, 2007-2010	IfI
BMBF Forschungsverbund IPSILAM Induced Pluripotent Stemm Cells in large animal model	ING
BMBF Forschungsverbund Forschung für die zivile Sicherheit: ATLAS Autonomes-Tierseuchen-Lab-on-a-Chip-System BMBF Forschungsverbund Forschung für die zivile Sicherheit: PathoSafe Raman-Spektroskopie zur Detektion agroterroristisch relevanter Erreger der Sicherheitsstufe 3	IBIZ
BMBF Forschungsverbund Forschung für die zivile Sicherheit: PathoSafe Raman-Spektroskopie zur Detektion agroterroristisch relevanter Erreger der Sicherheitsstufe 3	IBIZ
BMBF Forschungsverbund PET/CT zur Darstellung von Infektion und Entzündung: Reduction, Refinement und Replacement von Tierversuchen	IMP
BMBF Forschungsverbund FUGATO: E. coli-Chick Wirt-Erreger-Interaktion der e. coli -Resistenz beim Geflügel und seine Anwendung in Zuchtprogrammen	ING
DFG-Forschergrruppe RU 1041 Germ Cell Potential	ING
DFG-Forschergrruppe RU 535 Xenotransplantation	ING
DFG-Forschergrruppe RU 478 Mechanisms of embryo-matenal communications	ING

V. Behördliche Aufgaben

1. Aufgaben im Rahmen des Gentechnikrechts

Das FLI ist Einvernehmensbehörde bei Verfahren zur Freisetzung bzw. zum Inverkehrbringen von gentechnisch veränderten Tieren sowie von gentechnisch veränderten Mikroorganismen, die an Tieren angewendet werden sollen. Im Zusammenhang mit dieser Aufgabe ist das FLI auch beratend tätig bei der Fortschreibung des Gentechnikrechtes sowie allgemeinen Fragen der biologischen Sicherheit, soweit Tierseuchenerreger betroffen sind.

2. Referenzlaboratorien

Als zuständige Bundeseinrichtung betreibt das Friedrich-Loeffler-Institut über 50 nationale Referenzlaboratorien (NRL) für anzeigepflichtige Tierseuchen und meldepflichtige Tierkrankheiten. Hiervon sind acht von der Weltorganisation für Tiergesundheit, dem Office International des Épizooties (OIE), als OIE-Referenzlabore bestellt. Die NRLs nehmen die mit der Benennung verbundenen Aufgaben wahr und unterstützen die entsprechenden Untersuchungseinrichtungen in den Ländern. Die rechtlichen Grundlagen sind im Kapitel V.3 aufgeführt.

Insbesondere sind die NRLs für die Bestätigung von Diagnosen und Abklärung von Verdachtsfällen verantwortlich. Hierzu zählen die Entwicklung und Validierung neuer sowie die kontinuierliche Optimierung der bestehenden diagnostischen Verfahren und der dazu benötigten Reagenzien. Standardisierte Verfahren werden an die entsprechenden Untersuchungseinrichtungen der Bundesländer transferiert, die zudem spezifische Referenzmaterialien wie Seren und Virusstämme erhalten. Im Rahmen der Qualitätssicherung der Tierseuchendiagnostik führen die NRLs Ringversuche für deutsche Untersuchungseinrichtungen durch und nehmen selber an internationalen Ringversuchen teil.

Zu den hoheitlichen Aufgaben gehören außerdem Zulassungs- und Chargenprüfungen von Diagnostika, die Beratung der Veterinärbehörden sowie die Erarbeitung von Grundlagen für Leitungsentscheidungen, Stellungnahmen zu Entwürfen sowie Änderungen oder Neufassungen von Richtlinien. Weiterhin führen die NRLs Import/Export-Diagnostik durch.

Die Nationalen Referenzlaboratorien am FLI wurden von der Akkreditierungsstelle (AKS) Hannover nach ISO/IEC 17025:2005 akkreditiert.

Nationales Referenzlabor für Afrikanische Schweinepest

Depner, K. R., Haas, B., Blome, S.

Die Afrikanische Schweinepest (ASP) wird durch ein DNA-Virus des Genus *Asfivirus* verursacht und lässt sich klinisch nicht von der Klassischen Schweinepest unterscheiden. Das Virus infiziert Vertreter der Familie *Suidae*, zu der unter anderem das Hausschwein, das Wildschwein sowie Warzen- und Buschschweine gehören. Zusätzlich kann sich das Virus in Zecken des Genus *Ornithodoros* vermehren. Das Hauptverbreitungsgebiet der ASP liegt in den afrikanischen Staaten südlich der Sahara, es sind jedoch in letzter Zeit ASP-Ausbrüche z.B. in Georgien, Armenien und Russland aufgetreten. Die ASP gehört ebenfalls zu den Erkrankungen, die sowohl national als auch international anzeigepflichtig sind.

Im Jahr 2008 sind in Deutschland keine Fälle von ASP registriert worden.

	Spezifizierung	Anzahl
Erregernachweise	Hausschweine Wildschweine	1 1
Antikörpernachweise	Hausschweineseren Wildschweineseren	0 0
Zulassungsuntersuchungen / Chargenprüfungen		0
Abgabe von Referenzmaterialien		0
Ringtests	Teilnahme am EU Ringtest 2008	1

Nationales Referenzlabor für Ansteckende Schweinelähmung (Teschener Krankheit)

Dauber, M.

Bei der Ansteckenden Schweinelähmung handelt es sich um eine Erkrankung der Haus- und Wildschweine, die durch bestimmte Virusstämme aus der Familie *Picornaviridae*, Genus Teschovirus, verursacht werden kann. Ihre Abgrenzung von milderen, nicht anzeigepflichtigen Verlaufsformen ist im Einzelfall problematisch. Voraussetzungen für die Feststellung eines Falles sind: a) epidemiologisch auffällige, gehäuft auftretende schwere klinische Erkrankungen, b) die histologische Untersuchung bestätigt das Vorliegen einer nicht eitrigen Polioenzephalomyelitis, c) differentialdiagnostisch sind andere Krankheiten, insbesondere Tollwut und Schweinepest, ausgeschlossen und d) Teschovirus (in der Regel vom Serotyp 1) wurde identifiziert. Auf Grund der notwendigen komplexen Betrachtungsweise kann das Referenzlabor für Ansteckende Schweinelähmung lediglich Virusnachweise verifizieren, nicht jedoch eine abschließende Diagnose der Krankheit stellen.

	Spezifizierung	Anzahl
Einsendungen Referenzproben		26
Anzahl Erregernachweise	Anzüchtung, IFT, RT-PCR	20
Abgabe von Referenzmaterialien	MAK	3

Nationales Referenzlabor für Aujeszkysche Krankheit

Müller, T.

Die Aujeszkysche Krankheit (AK) kommt weltweit vor und wird durch das Suide Herpesvirus 1, auch als Pseudorabiesvirus (PrV) oder Virus der Aujeszkyschen Krankheit (AKV) bezeichnet, verursacht. Die AK ist eine der gefährlichsten viralen Schweineerkrankungen und verursacht erhebliche ökonomische Schäden und Verluste in der Schweineproduktion. Infolge der Implementierung eines strikten nationalen Bekämpfungsprogrammes konnte die AK in der Hausschweinepopulation Deutschlands getilgt werden. Seit 2003 gilt Deutschland offiziell als frei von AK. Die Aufrechterhaltung des AK-freien Status ist an jährliche serologische Untersuchungen nach einem zweistufigen Stichprobenplan gekoppelt. Die Aufgaben des NRL für Aujeszkysche Krankheit (AK) umfassen drei wesentliche Schwerpunkte: Labordiagnostik (Abklärung von AK-Verdachtsfällen), Standardisierung der Diagnostik sowie hoheitliche Aufgaben (Erarbeitung von Grundlagen für Leitungsentscheidungen, Stellungnahmen zu Entwürfen, Änderungen oder Neufassungen von nationalen, EU- bzw. OIE- Richtlinien).

	Spezifizierung	Anzahl
Einsendungen Referenzproben		188
Erregernachweise		0
Antikörpernachweise	ELISA, SNT (OIE-Empfehlung)	4
Zulassungsuntersuchungen / Chargenprüfungen		1
Abgabe von Referenzmaterialien		0
Ringtests		0

OIE und Nationales Referenzlabor für Aviäre Influenza

Harder, T.

Die hochpathogene aviäre Influenza (HPAI) ist eine mit sehr hohen wirtschaftlichen Verlusten einhergehende, hochkontagiöse Infektionskrankheit des Geflügels. Derzeit wird das Infektionsgeschehen durch eine Panzootie mit dem zooanthroponotischen HPAI Virus des Subtyps H5N1 bestimmt. Endemische Infektionsherde sind in Südostasien, Ägypten und dem westlichen Afrika lokalisiert. Europa war 2008 lediglich von vereinzelten Ausbrüchen betroffen. In Deutschland wurde ein isolierter Ausbruch in einer kleineren Mischgeflügelhaltung in Sachsen detektiert; dort waren Mastenten betroffen. Darüber hinaus wurden Ausbrüche niedrig pathogener aviärer Influenzaviren des Subtyps H5 in deutschen Geflügelhaltungen registriert, wobei ein größeres Ausbruchscluster in industriellen Putenhaltungen in Niedersachsen registriert wurde. Untersuchungen im Rahmen dieses Geschehen sowie das EU-kofinanzierte Monitoring von Wildvögeln führten auch 2008 wieder zu einem beachtenswerten Probeneingang.

	Spezifizierung	Anzahl
Einsendungen Referenzproben	Virologisch	2092
	Serologisch	2212
Erregernachweise	Gesamt	372
	AIV (molekular)	171
	Subtypebene (molekular)	143
	Isolate	58
Antikörpernachweise	ELISA	661
Zulassungsuntersuchungen / Chargenprüfungen		2/7
Abgabe von Referenzmaterialien		99
Ringtests		4

Nationales Referenzlabor für Beschälseuche

Moser, I.

Die Beschälseuche ist eine durch den einzelligen Parasiten *Trypanosoma* (*T.*) *equiperdum* hervorgerufene, meist chronisch verlaufende klassische Deckinfektion bei Equiden. Sie zählt zu den anzeigepflichtigen Tierseuchen und ist seit vielen Jahren in Deutschland getilgt. Zur Aufrechterhaltung des Status der Seuchenfreiheit werden sowohl Tiere, die importiert werden, als auch Tiere, die im Inland gezogen sind und Verwendung in der Zucht finden sollen, mittels Komplement-Bindungsreaktion (KBR; von der OIE empfohlene Methode) auf spezifische Serum-Antikörper untersucht, da ein direkter Erregernachweis außer im akuten Stadium der Erkrankung kaum möglich ist. Die enge Verwandtschaft des Erregers mit *T. evansi*, dem Erreger der Surra bei Kameliden und Equiden, kann jedoch zu Kreuzreaktivitäten bei serologischen Reaktionen führen.

	Spezifizierung	Anzahl
Einsendungen		12
Erregernachweise		0
Antikörpernachweise	Komplement-Bindungsreaktion (OIE-Empfehlung)	4
Zulassungsuntersuchungen / Chargenprüfungen	Antigenherstellung (Ref.-Lab.)	0 / 2
Abgabe von Referenzmaterialien	33 x Antigen 37 x Kontrollserum	12
Ringtests	Laborvergleichstest	1

Nationales Referenzlabor für Blauzungenkrankheit

Hoffmann, B.

Das Bluetongue Virus (BTV) ist ein Orbivirus aus der Familie *Reoviridae*. Die doppelsträngige RNA liegt in 10 Segmenten vor. Momentan werden 24 Serotypen unterschieden. Beide Charakteristika sind für die Diagnostik von BTV von besonderer Bedeutung. Im August 2006 wurde in Deutschland erstmalig BTV festgestellt. Hierbei handelte es sich um den BTV-Serotyp 8. Im November 2008 wurde an der Grenze zu den Niederlanden BTV vom Serotyp 6 festgestellt. 2008 breitete sich der Serotyp 1 in Südwestfrankreich in Richtung Norden weiter aus und stellt eine ständige Bedrohung für Deutschland dar. Serologische und PCR-Tests zum Nachweis von BTV im Allgemeinen und für die Serotypen 8 und 6 im Besonderen wurden entwickelt, validiert und den regionalen Laboren zur Verfügung gestellt. Das NRL-BT führte 2008 zwei Ringtests zur Diagnostik von BTV-8 und BTV-6 mit allen regionalen Untersuchungseinrichtungen der Länder durch, um die Diagnostik von BTV zu standardisieren und zu harmonisieren.

	Spezifizierung	Anzahl
Einsendungen Referenzproben		278
Erregernachweise	Pan-BTV-real-time RT-PCR BTV-8-real-time RT-PCR BTV-6-real-time RT-PCR BTV-1-real-time RT-PCR	7980 1176 845 129
Antikörpernachweise	ELISA	2549
Virusisolierungen	Zellkultur	58
Zulassungsuntersuchungen / Chargenprüfungen	ELISA-Zulassung ELISA-Chargentestung PCR-Zulassung PCR-Chargentestung	1 3 2 1
Abgabe von Referenzmaterialien	BTV-positives Blut, Sera, RNA	45
Ringtests	BTV-8, BTV-6-Mini-Ringtest	2

OIE und Nationales Referenzlabor für Bovine Herpesviren vom Typ 1 (BHV-1)

Beer, M., König, P. Teuffert, J.

Dem OIE- und Nationalen Referenzlabor sind auch im Berichtszeitraum 2008 eine große Zahl von Proben zur BHV-1-Abklärung zugeführt worden. 891 Serum-, Plasma- und Milchproben aus 161 Einsendungen wurden im Zuge hoheitlicher Amtshilfe oder zu Forschungszwecken an das NRL weitergeleitet. Einen Schwerpunkt bildeten dabei der Nachweis von gE-spezifischen Antikörpern sowie die serologische Untersuchung ungeimpfter Tiere mit Hilfe von BHV-1-Antikörper-ELISAs und Neutralisationstest.

In Deutschland wurden im Jahr 2007 ca. 3,5 Millionen Blutproben und 240 000 Milchproben serologisch auf BHV-1 untersucht. Im Bundesdurchschnitt sind 80,3 Prozent der Bestände BHV-1-frei, 14,6 Prozent sind Sanierungsbetriebe und 5,1 Prozent werden in die Kategorie „sonstige Bestände“ eingeordnet.

BHV-1 Situation 2007 in Deutschland

Bundesland	Kategorien	BHV1-frei insgesamt (%)	Sanierungs-best. Insgesamt (%)	Sonstige Bestände (%)
Baden-Württemberg	Anz. Bestände	82,6	12,5	4,9
	Rinder insges.	81,9	16,0	2,1
Bayern	Anz. Bestände	95,9	3,6	0,5
	Rinder insges.	94,2	5,5	0,4
Berlin	Anz. Bestände	93,3	6,7	0,0
	Rinder insges.	99,6	0,4	0,0
Brandenburg	Anz. Bestände	85,8	10,0	4,2
	Rinder insges.	77,9	21,1	1,0
Bremen	Anz. Bestände	91,4	4,8	3,8
	Rinder insges.	90,8	8,4	0,9
Hessen	Anz. Bestände	83,5	9,6	6,8
	Rinder insges.	83,5	12,6	3,0
Hamburg	Anz. Bestände	92,7	7,3	0,0
	Rinder insges.	86,7	13,3	0,0
Mecklenburg-Vorpommern	Anz. Bestände	79,4	17,3	3,3
	Rinder insges.	65,0	32,8	2,2
Niedersachsen	Anz. Bestände	76,4	17,6	6,0
	Rinder insges.	67,1	30,3	2,6
Nordrhein-Westfalen	Anz. Bestände	66,7	28,0	5,2
	Rinder insges.	53,2	43,5	3,3
Rheinland-Pfalz	Anz. Bestände	66,2	22,9	10,9
	Rinder insges.	59,5	30,1	10,5
Saarland	Anz. Bestände	75,7	20,4	3,9
	Rinder insges.	64,1	32,9	3,0
Sachsen	Anz. Bestände	87,7	6,3	6,0
	Rinder insges.	64,5	34,0	1,5
Sachsen-Anhalt	Anz. Bestände	96,3	3,3	0,5
	Rinder insges.	92,8	6,7	0,5
Schleswig-Holstein	Anz. Bestände	59,8	36,0	4,2
	Rinder insges.	49,1	48,5	2,4
Thüringen	Anz. Bestände	80,1	16,2	3,7
	Rinder insges.	48,6	49,3	2,1

	Spezifizierung	Anzahl
Einsendungen		161
Erregernachweise	Anzucht, PCR	14
Antikörpernachweise	5 unterschiedliche ELISA-Tests, SNT	2163
Zulassungsuntersuchungen / Chargenprüfungen	Antikörper-ELISA	45
Abgabe von Referenzmaterialien	578 Referenzseren/-milchproben	19
Ringtests		1

Nationales Referenzlabor für BSE

Buschmann, A., Hoffmann, C., Eiden, M., Groschup, M.H.

In Deutschland sank die Zahl von 125 BSE-Fällen im Jahre 2001 auf 2 Fälle im Jahre 2008. Zur Überwachung des Bestandes und zum Schutz des Verbrauchers werden jährlich in Deutschland mehr als 4 Millionen BSE-Schnelltests in ca. 30 regionalen Schnelltestlabors durchgeführt. Das NRL unterstützt diese Labors durch fachliche Beratung. Es berät ferner die Zulassungsstellen für diagnostische Tests im Rahmen des EU-weiten Evaluierungs- und Zulassungsverfahrens (nach der EU-VO

999/2001) sowie des nationalen Zulassungsverfahrens (nach der Tierimpfstoff-VO). Wesentliche Voraussetzung hierfür ist, dass alle Schnelltests im NRL etabliert sind.

Proben mit verdächtigen BSE-Schnelltest-Ergebnissen werden im NRL mittels der OIE-anerkannten Bestätigungsmethoden abgeklärt. Hierzu gehören histopathologische, immunhistochemische und ein proteinbiochemisches (OIE-SAF-Immunoblot) Verfahren. Die beiden letztgenannten Bestätigungsmethoden verfügen über eine deutlich höhere Sensitivität als die BSE-Schnelltests, sind jedoch wegen des erheblich größeren Zeitaufwandes für Massenuntersuchungen nicht geeignet. Das NRL ist in internationale Forschungskooperationen eingebunden und seine Mitarbeiter nehmen regelmäßig an Fortbildungsmaßnahmen im In- und Ausland teil. Das NRL führte im vergangenen Berichtszeitraum Fort- und Weiterbildungen von Mitarbeitern aus NRLs anderer Länder durch. Wesentlicher Bestandteil von Beratungsleistungen waren Fragen zu den Konsequenzen der durch die TSE-Roadmap vorgegebenen Lockerung der BSE-Schutzmaßnahmen.

Rind	Spezifizierung	Anzahl
Einsendungen		16
Erregernachweise		2
Chargenprüfungen		31
Durchgeführte nationale Ringversuche		1
Teilnahme an internationalen Ringversuchen		11

Nationales Referenzlabor für Bovine Virusdiarrhoe/ Mucosal Disease (NRL BVD/MD)

Schirrmeier, H.

Die Bovine Virusdiarrhoe/Mucosal Disease (BVD/MD) ist seit November 2004 anzeigepflichtig. In der „Verordnung zum Schutz der Rinder vor einer Infektion mit dem Bovinen Virusdiarrhoe-Virus“ (BVDV-Verordnung) vom 11. Dezember 2008, BGBl. 2008 Teil I Nr. 59, S. 2461 vom 18. Dezember 2008 sind nunmehr die Grundsätze einer bundeseinheitlichen Bekämpfung der BVD auf verpflichtender Grundlage geregelt. Sie tritt ab dem 01.01.2011 in Kraft

Im Tierseuchennachrichtensystem TSN sind für das Jahr 2008 1270 Fälle von BVD/MD ausgewiesen, und damit nur 30 weniger als 2007. Insgesamt zeigen die Zahlen, dass die Anzeigepflicht immer noch unzureichend durchgesetzt ist. Bei einer angenommenen Prävalenz von persistenten Virusträgern zwischen 0,1 und 0,5 Prozent in der Nutzrinderpopulation ist mit einer etwa 10 - 50fach höheren Zahl tatsächlicher Fälle zu rechnen.

	2005	2006	2007	2008
SH:	51	651	188	129
NI.:	250	231	202	245
NW:	51	53	56	64
HE:	16	17	18	14
RP:	5	16	38	58
BW:	21	38	89	97
BY:	439	492	613	564
SL:	1	1	0	1
BB:	47	25	23	18
MV:	5	54	8	9
SN:	14	9	14	19
ST:	57	33	47	44
TH:	6	3	3	7
Ber			1	1
Gesamt:	963	1623	1300	1270

Abb. und Zahlen BVD-Fälle in Deutschland 2008, Angaben aus TSN.

	Spezifizierung	Anzahl
Einsendungen		58
Erregernachweise/-charakterisierungen		230
Antikörpernachweise		205
Zulassungsuntersuchungen / Chargenprüfungen		17
Abgabe von Referenzmaterialien	Erfolgt über Virusbank	

OIE und Nationales Referenzlabor für Brucellose der Rinder, Schweine, Schafe und Ziegen

Melzer, F., Neubauer, H.

Die Brucellose ist eine Infektionskrankheit, hervorgerufen durch Bakterien der Gattung *Brucella* (*B.*). Da der Erreger vom Rind (*B. abortus*), vom Schwein (B. suis), vom Schaf und von der Ziege (*B. melitensis*) und in eingeschränktem Maße auch vom Hund (*B. canis*) auf den Menschen übertragen werden kann, handelt es sich um eine Zoonose. Deutschland ist als offiziell frei von der anzeigepflichtigen Brucellose der Rinder, Schweine, Schafe und Ziegen anerkannt. Hauptsymptome der Brucellose beim Tier sind Aborte, Frühgeburten oder die Geburt toter, lebensschwacher und unterentwickelter Tiere. Beim männlichen Tier kommt es meist zu entzündlichen Veränderungen im Bereich des Genitaltraktes, v.a. der Hoden und Nebenhoden. Im Jahr 2008 gab es sechs Brucelloseausbrüche in

Schweinefreilandhaltungen in Mecklenburg-Vorpommern durch eine Infektion mit *Brucella suis* Biovar 2. Die Infektion mit *Brucella ovis* beim Schaf wird als eine gesonderte Erkrankung (Ovine Epididymitis) behandelt und fällt nicht unter die Regelungen der Brucelloseverordnung.

	Spezifizierung	Anzahl
Einsendungen Referenzproben	Proben national und international	437
Erregernachweise	Identifizierung und Typisierung von eigenen oder eingesendeten Isolaten	24
Antikörpernachweise	inklusive möglicher falsch positiver serologischer Reaktionen	54
Zulassungsuntersuchungen / Chargenprüfungen		10
Abgabe von Referenzmaterialien	Referenzserum und Antigen in ml	70
Ringtests	Teilnahme an internationalen Ringversuchen	2

Nationales Referenzlabor für Bunyaviren (i.e. Hantaviren)

Ulrich, R.G.

Hantaviren, Familie *Bunyaviridae*, sind Zoonoseerreger, die von persistent infizierten Nagetieren auf den Menschen übertragen werden. In Europa kommen mindestens drei humanpathogene Hantavirus-Spezies vor, die unterschiedlich schwere Verläufe des Hämorrhagischen Fiebers mit renalem Syndrom hervorrufen können. Mehr als 90 Prozent der bisher in Deutschland gemeldeten humanen Hantavirus-Infektionen wurden durch das Puumalavirus verursacht. Bisher ist nicht bekannt, ob landwirtschaftliche Nutztiere durch Hantaviren infiziert werden können und erkranken. Zur Überwachung der Hantavirus-Situation wird im Rahmen des Netzwerkes „Nagetier-übertragene Pathogene“ ein Monitoring von Nagetier-Reservoirwirten durchgeführt. Dieses Monitoring konzentriert sich insbesondere auf Wildnager aus Hantavirus-Ausbruchsgebieten in Niedersachsen und Nordrhein-Westfalen, aber auch auf Gebiete in anderen Bundesländern. Nach einem serologischen Screening von Transsudat-Proben mittels IgG-ELISA unter Verwendung homologer rekombinanter Antigene erfolgt anschließend eine RT-PCR-Analyse von Lungenproben der Nagetiere.

	Spezifizierung	Anzahl
Einsendungen	Nagetiere und andere Kleinsäuger	ca. 1.400
Erregernachweis	Anzucht	keine
	RT-PCR	1
	Sequenzanalyse	1
Antikörpernachweis	PUUV-ELISA	291
	DOBV-ELISA	478
	TULV-ELISA	373

Nationales Referenzlabor für Caprine Arthritis/Enzephalitis und Maedi/Visna

Vahlenkamp, T.W.

Das caprine Arthritis-Enzephalitis Virus (CAEV) gehört in der Familie der Retroviridae zum Genus Lentivirus und ist der Erreger der Caprinen Arthritis-Enzephalitis (CAE), einer progressiv verlaufenden, chronischen Infektionserkrankung bei Ziegen. Das CAEV ist mit dem Maedi-Visna Virus (MVV) der Schafe nahe verwandt. Beide Viren besitzen ein gemeinsames Gruppenantigen. Die Inkubationszeit kann mehrere Jahre betragen. Nur etwa 30 Prozent der infizierten Tiere zeigen schließlich klinische Symptome. Ähnlich wie beim MVV kann die Übertragung des CAEV durch Milch, aber auch durch infizierte und virushaltige Sekrete der betroffenen Tiere erfolgen. In der Bundesrepublik bestehen in einzelnen Bundesländern freiwillige Bekämpfungsprogramme gegen CAE. Infektionen werden durch den Nachweis von Antikörpern gegen CAEV und MVV mittels ELISA nachgewiesen. Einsendungen von Geweben werden zur differentialdiagnostischen Abklärung in der Pathologie immunhistologisch untersucht.

	Spezifizierung	Anzahl
Einsendungen Referenzproben		11
Erregernachweise	PCR	1
Antikörpernachweise	ELISA	32
Zulassungsuntersuchungen / Chargenprüfungen	Chargenprüfung / ELISA	7
Abgabe von Referenzmaterialien		keine
Ringtest	Serologie (CAEV/ MVV)	1

Nationales Referenzlabor für Echinokokkose

Conraths, F.J., Schwarz, S., Sutor, A.

Infektionen von Menschen mit dem Larvenstadium des Kleinen Fuchsbandwurms *E. multilocularis* gelten als die gefährlichste parasitär bedingte Zoonose Mitteleuropas. Infektionen bei Tieren mit *Echinococcus* spp. sind seit 9. November 2004 (Verordnung über meldepflichtige Tierkrankheiten) meldepflichtig. *E. multilocularis* hat einen obligaten Wirtwechselzyklus. Infizierte Endwirte (*Canidae*, auch *Felidae*; in Europa vor allem der Fuchs) beherbergen wenige bis zu mehreren 100.000 geschlechtsreife, 1-3 Millimeter kleine Bandwürmer im Dünndarm und scheiden die auch für den Menschen infektiösen Eier mit der Losung aus. Diese bleibt über Monate an der bodennah wachsenden Vegetation infektionsfähig. Natürliche

Zwischenwirte sind Nager, die sich durch orale Aufnahme der Eier infizieren und das Larvenstadium in nahezu allen Fällen in der Leber beherbergen. Der Lebenszyklus schließt sich über die Räuber-Beute-Beziehung der End- und Zwischenwirte.

	Spezifizierung	Anzahl
Einsendungen		2905
Erregernachweise		268
Antikörpernachweise	entfällt	
Zulassungsuntersuchungen / Chargenprüfungen	entfällt	
Abgabe von Referenzmaterialien		2
Ringtests	Laborvergleichs-untersuchungen	1

OIE und Nationales Referenzlabor für Enzootische Leukose der Rinder

Vahlenkamp, T.W.

Das bovine Leukosevirus (BLV) gehört in der Familie der *Retroviridae* zum Genus Deltaretrovirus und ist der Erreger der enzootischen Leukose der Rinder (enzootic bovine leukosis, EBL). Das Virus persistiert primär in B-Lymphozyten und zu geringeren Anteilen in CD4+ und CD8+ T-Lymphozyten. Klinisch werden drei Verlaufsformen unterschieden: inapparente Infektion, persistierende Lymphozytose und tumoröse Leukose. Die Prävalenz der EBL ist in vielen Ländern Europas durch erfolgreiche serologische Sanierungsprogramme mittels ELISA und Agargelimmundiffusionstest zurückgegangen, allerdings ist die Infektion in Portugal, Ungarn, Bulgarien, Rumänien, Griechenland, Estland, Lettland, Litauen sowie in bestimmten Gebieten Italiens und Polens verbreitet. Außerhalb der EU ist die Erkrankung vor allem in Osteuropa, Asien, Australien sowie in Nord- und Südamerika von wirtschaftlicher Bedeutung. In diesen Ländern beträgt der Anteil infizierter Tiere in den Beständen z.T. bis zu 60 Prozent.

	Spezifizierung	Anzahl
Einsendungen Referenzproben		38
Erregernachweise	PCR	99
Antikörpernachweise	ELISA AGID	314 104
Zulassungsuntersuchungen / Chargenprüfungen	Chargenprüfung ELISA Chargenprüfung AGID	4 1
Abgabe von Referenzmaterialien	E05 OIE Referenzserum; Versand in verschiedene Länder	10
Ringtests	Serologie / PCR	2

Nationales Referenzlabor für Epizootische Hämorrhagie der Hirsche

Hoffmann, B.

Der Erreger der Epizootischen Hämorrhagie ist das Epizootic hemorrhagic disease virus (EHDV) aus der Gattung Orbivirus aus der Familie *Reoviridae*. Es ist nah verwandt mit dem Virus der Blauzungenkrankheit (BTV). Man unterscheidet mindestens acht Serotypen. Die Übertragung erfolgt genau wie bei BT durch stechende und beißende Insekten. Die Krankheit wird vor allem in Weißschwanzhirschen und anderen frei lebenden Huftieren (z.B. Antilopen) ausgelöst, kann aber bei Rindern eine der Blauzungenkrankheit sehr ähnliche Klinik verursachen. Es gibt monoklonale Antikörper, die EHDV von BTV differenzieren. Dies gelingt auch auf Basis spezifischer PCR-Testverfahren, die im NRL weiter entwickelt werden. Diese PCR-Verfahren werden genutzt, um bei klinisch auffälligen, aber BTV-negativen Tieren das Auftreten von EHDV-Infektionen auszuschließen.

	Spezifizierung	Anzahl
Einsendungen Referenzproben		9
Erregernachweise	EHDV real-time RT-PCR EHDV RT-PCR	9 6

Nationales Referenzlabor für die Fischseuchen VHS, IHN, ISA und KHV-Infektion

Fichtner, D., Bergmann, S.M.

Die Nationalen Referenzlaboratorien (NRL) für Fischseuchen haben die Diagnose virusbedingter Krankheiten der Fische auf der Grundlage der Fischseuchen-Verordnung und der Gesetzgebung der Europäischen Union (EU) zu koordinieren und zu sichern. Anzeigepflichtige Fischseuchen sind die Virale Hämorrhagische Septikämie (VHS) und die Infektiöse Hämatopoetische Nekrose (IHN), zwei für Forellen bedeutsame Seuchen, die Infektiöse Anämie der Lachse (ISA) und die Koi-Herpesvirus (KHV)-Infektion (KHV-I) der Karpfen. Sie sind in der Liste der nicht-exotischen Krankheiten der Fische in der „EU-Richtlinie 2006/88/EG mit Gesundheits- und Hygienevorschriften für Tiere in Aquakultur und Aquakulturerzeugnisse und zur Verhütung und Bekämpfung bestimmter Wassertierkrankheiten“ aufgeführt. In der Liste der exotischen Fischkrankheiten dieser Richtlinie sind die Epizootische Hämatopoetische Nekrose (EHN) und das Epizootische Ulzerative Syndrom (EUS) genannt. Für diese beiden Fischseuchen wurde mit Inkrafttreten der „Fischseuchenverordnung und Verordnung zur Änderung der Verordnung über anzeigepflichtige Tierseuchen vom 24. November 2008“ ebenfalls die Anzeigepflicht festgelegt.

2008 wurden in den NRL 63 Einsendungen untersucht (Anzahl der Proben und nachgewiesene Viren s. Tab.).

Entsprechend den Vorschriften aus der Richtlinie 2006/88/EG wurden epizootiologische Untersuchungen durchgeführt, um die Ursache von verschiedenen VHS- und IHN-Ausbrüchen festzustellen. Als Methode wurde die genetische Analyse der Virusisolate durch Sequenzierung ausgewählter Genombereiche eingesetzt (H. Schütze und P.-J. Enzmann). Zwölf eingesandte Serumproben von Forellen erwiesen sich im ELISA als frei von Antikörpern gegen VHSV. Das negative Ergebnis im Virusnachweis und damit das Freisein eines Forellenbestandes von VHSV konnten indirekt durch diese serologischen Untersuchungen bestätigt werden.

Das KHV verursacht weiterhin verlustreiche Krankheitsgeschehen bei Kulturkarpfen (*Cyprinus carpio*) und bei Kois (*Cyprinus carpio*). Die PCR zum Nachweis von KHV-Genom wurde weiter optimiert. Es wurden Methoden zur routinemäßigen Diagnose der KHV-Infektionen empfohlen.

Etablierte monoklonale Antikörper (mAk) gegen VHSV, IHNV, White Bream Virus (WBV), ISAV, Iridoviren, wie z.B. gegen EHN-Virus (EHNV), European Sheatfish Virus (ESV) und European Catfish Virus (ECV) aber auch gegen Infektiöse Pankreas Nekrose Virus (IPNV) sowie gegen Spring Viremia of Carp Virus (SVCV) wurden auf Spezifität und Sensitivität getestet und stehen für Forschung und Diagnostik zur Verfügung (M. Dauber).

Beim jährlichen Treffen der Vertreter der nationalen Referenzlaboratorien für Fischkrankheiten aus den Mitgliedsländern der EU wurde eine Analyse über Umfang und Struktur der Aquakultur, über Daten zur Epizootiologie, Diagnose und Bekämpfung der VHS, IHN, ISA, KHV-I und SVC sowie über Umfang und Ergebnisse der Laboruntersuchungen zu virusbedingten Fischkrankheiten in Deutschland vorgelegt. Ein nationaler Workshop zur KHV-Infektion wurde organisiert. Gemeinsam mit eingeladenen Sprechern und Kolleginnen und Kollegen der Fischgesundheitsdienste sowie Diagnostiklabore wurden Fragen zur Diagnose und Bekämpfung der KHV-I diskutiert und Empfehlungen erarbeitet.

	Spezifizierung	Anzahl
Einsendungsproben	35x Forelle; 160x Karpfen, 6x Lachs, 12x Aal, 39x Stör, 3x Goldfisch, je 1x Zander, Hechtbrut, Döbel, Blei, Koi	284
Erregernachweise	VHSV, IHNV, IPNV, KHV, SVCV; piscine Vesiculoviren, WBV, HVA, EVE, Stör-Iridovirus, Stör-Herpesvirus, Aquareovirus, CEV, CyHV-2	143
Zulassungsuntersuchungen / Chargenprüfungen	Anti-ISAV-mAk, Anti-KHV-mAk	2
Abgabe von Referenzmaterialien	VHSV, IHNV, IPNV, KHV, SVCV, KHV-DNA, IPNV-Antiserum	12
Ringteste (EU- und OIE-Referenzlabor)	Identifizierung u. Genotypisierung IHNV u. VHSV sowie Genomnachweis KHV	2

Nationales Referenzlabor für Henipaviren

Buschmann, A., Groschup, M.H.

Infektionen mit dem Hendra-Virus und dem Nipah-Virus wurden in den 90er Jahren des 20. Jahrhunderts erstmals als Ursachen für respiratorische und neurologische Erkrankungen identifiziert, die bei einer Reihe von Tierspezies auftraten. Das Hendra-Virus verursachte 1994 erstmals schwere Atemwegserkrankungen bei Pferden, in dessen Verlauf 14 Pferde und der Trainer dieser Pferde in Brisbane, Australien, starben. Insgesamt sind bisher drei Menschen nach einer Infektion mit dem Hendra-Virus verstorben.

Zwischen September 1998 und April 1999 verbreitete sich das Nipah-Virus unerkannt als Auslöser einer respiratorischen und enzephalitischen Infektion bei Schweinen in Malaysia und manifestierte sich dann als fatale Enzephalitis bei Menschen. Mehr als eine Million Schweine wurden im Rahmen der nun folgenden Bekämpfungsmaßnahmen gekeult. Mehr als 400 Fälle von Nipah-Virus-Infektionen beim Menschen sind bisher bekannt geworden, von denen etwa 200 Menschen in Malaysia, Singapur, Bangladesch und Indien verstorben sind. Flughunde (Fruchtfledermäuse) der Gattung *Pteropus* sind die natürlichen Wirte beider Viren.

Diagnostische Einsendungen wurden im Jahr 2008 nicht bearbeitet, eine Diagnostik mittels real-time RT-PCR wurde nach Angaben der OIE etabliert.

Nationales Referenzlabor für Infektiöse Anämie der Einhufer

König, P.

Die Infektiöse Anämie der Einhufer, auch als Equine infektiöse Anämie (EIA) oder Ansteckende Blutarmut der Einhufer bezeichnet, ist eine weltweit auftretende Viruserkrankung der Pferde, Esel, Maultiere und Zebras. Der Erreger (EIAV), ein Lentivirus aus der Familie der Retroviren, verursacht eine lebenslang persistierende Infektion. Der Nachweis von Antikörpern gegen das konservierte Hauptstrukturprotein p26 des Virus-Innenkörpers wird für die Diagnosestellung der EIAV-Infektion herangezogen. Die Krankheit ist in Deutschland anzeigepflichtig und wird

durch die „Verordnung zum Schutz gegen die ansteckende Blutarmut der Einhufer“ reglementiert, die eine Tötung positiver Tiere sowie Sperrung und Untersuchung der betroffenen Bestände und der Kontaktbetriebe vorschreibt. Immunprophylaxe oder Therapie sind nicht verfügbar.

In Deutschland wurden im Jahr 2008 insgesamt 7 Ausbrüche verzeichnet. 11 Pferde wurden EIAV-positiv befundet.

	Spezifizierung	Anzahl
Einsendungen		56
Erregernachweise	RT-/ PCR	32
Antikörpernachweise	AGID (2 Hersteller) ELISA (2 Hersteller)	561
Zulassungsuntersuchungen		1
Abgabe von Referenzmaterialien		4
Ringtests		1

Nationales Referenzlabor für Japan-Enzephalitis-Virus (JEV)

Groschup, M.H. und Ziegler, U.

Die Japan-Enzephalitis wird durch Flaviviren ausgelöst. Sie tritt nicht nur in Japan, sondern in allen gemäßigten und tropischen Zonen Südost-Asiens auf, wo jährlich 30.000 bis 50.000 Fälle beim Menschen berichtet werden. Schwerpunkte sind ländliche Regionen mit Reisproduktion und Schweinezucht. Infektionen kommen aber auch in urbanen Regionen in entwickelten Ländern Asiens vor. Das Virus wird durch Mückenstiche übertragen. Eine direkte Übertragung von Mensch zu Mensch ist nicht möglich. Das Virus befällt auch Haustiere, wie Pferde, Schweine oder Hunde. Über 95 Prozent der Infektionen beim Menschen verlaufen symptomlos, 5 Prozent entwickeln Enzephalitiden (oft mit neurologischen Spätschäden), die in 0,5 Prozent der Fälle tödlich enden. Das NRL war im Jahre 2008 an der Einfuhr, Bewertung und Sondergenehmigung für die Anwendung eines inaktivierten JEV-Impfstoffes aus Japan zuständig, mit dem alle Pferde immunisiert werden mussten, die an der in Hongkong stattfindenden Olympiade teilnahmen. Darüber hinaus wurden am FLI molekularbiologische Arbeiten zur Etablierung eines real-time RT-PCR-Nachweises für JEV durchgeführt.

Nationales Referenzlabor für Klassische Schweinepest

Depner, K.R., Kaden, V., Strebelow, G., Blome, S.

Die Klassische Schweinepest (KSP) ist eine weltweit vorkommende, verlustreiche Tierseuche mit großer handelspolitischer und ökonomischer Relevanz. Sie zählt zu den Krankheiten, die bei der Weltorganisation für Tiergesundheit, dem Office International des Epizooties (OIE), und in allen europäischen Staaten anzeigepflichtig sind. Innerhalb der EU besteht seit 1990 ein striktes Verbot der prophylaktischen Impfung, wobei Notimpfungen durch die EU gestattet werden können. Die KSP wird durch ein kleines, behülltes RNA-Virus aus dem Genus Pestivirus hervorgerufen. Natürliche Wirte des Virus sind ausschließlich Haus- und Wildschweine. Da das klinische Bild sehr variabel sein kann, müssen zur Bestätigung der Erkrankung labordiagnostische Methoden verwendet werden. Die Aufgaben des Referenzlabors für Klassische Schweinepest (KSP) sind im Anhang III der EU Richtlinie 2001/89 festgelegt und ergeben sich darüber hinaus aus dem Tierseuchengesetz.

Im Jahr 2008 sind in Deutschland keine Schweinepestfälle registriert worden. Im Rahmen von Abklärungsuntersuchungen bei Wildschweinen wurde mehrfach der zur Impfung verwendete C-Stamm mittels spezifischer PCR und Sequenzierung nachgewiesen.

	Spezifizierung	Anzahl
Erregernachweise	Hausschweine Wildschweine	62 31
Antikörpernachweise	Hausschweineseren Wildschweineseren	62 30
Zulassungsuntersuchungen / Chargenprüfungen	Antikörper ELISA Antigen ELISA Konjugate Antikörper Impfstoffe	11 1 3 1 0
Abgabe von Referenzmaterialien	Standardseren	6
Ringtests	Auswertung des innerdeutschen Ringtests Teilnahme am EU Ringtest 2008	

Nationales Referenzlabor für Kontagiöse Equine Metritis

Melzer, F.

Die Kontagiöse Equine Metritis (CEM: Contagious Equine Metritis) ist eine Deckinfektion beim Pferd, hervorgerufen durch das Bakterium *Taylorella equigenitalis*. Das klinische Bild wird durch mukopurulenten Vaginalausfluss als Zeichen einer bestehenden Zervix- und Vaginalentzündung bei der Stute bestimmt und kann zu temporärer Infertilität führen. Auch wenn keine klinischen Zeichen auftreten, können die Tiere den Erreger ausscheiden und beim Deckakt auf den Hengst übertragen, der seinerseits asymptomatisch bleibt und die Infektion weiter übertragen kann. Die Diagnostik erfolgt durch die Entnahme von Genitaltupferproben bei Stuten und Hengsten zur Anzucht des Erregers. Diese Untersuchung wird vor dem Export oder bei Überwachungsuntersuchungen von Zuchtpferden in privaten und staatlichen Laboren

durchgeführt. Im Jahr 2008 wurden 16 Infektionen mit *T. equigenitalis* gemeldet.

	Spezifizierung	Anzahl
Einsendungen Referenzproben	zur Bestätigung der Diagnostik	5
Erregernachweise	Identifizierung der eingesendeten Isolate	5
Zulassungsuntersuchungen / Chargenprüfungen		1
Abgabe von Referenzmaterialien	Referenzserum und Antigen in ml	70
Ringtests	Teilnahme und logistische Unterstützung von internationalen Ringversuchen	1

Nationales Referenzlabor für die Lungenseuche der Rinder

Heller, M.; Schubert, E.

Bei der Lungenseuche der Rinder handelt es sich um eine anzeigepflichtige, hochkontagiöse respiratorische Erkrankung der Rinder, die vor allem in afrikanischen Ländern des Subsahara-Gebietes zu gravierenden wirtschaftlichen Verlusten führt. Deutschland ist seit vielen Jahren frei von Lungenseuche. Hervorgerufen wird die Erkrankung durch das zellwandlose Bakterium *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* small colony type (MmmSC). Die amtliche Feststellung eines Lungenseucheausbruchs erfolgt ausschließlich über den direkten Erregernachweis mittels kultureller Anzüchtung oder Genomnachweis durch PCR. Positive serologische Nachweise führen zum Verdacht. Laut OIE-Manual (Handbuch der OIE) sind Komplementbindungsreaktion und ELISA die vorgeschriebenen Verfahren zum spezifischen Antikörpernachweis.

Im Berichtszeitraum gab es keine Einsendungen von Verdachtsproben. Unter der Leitung des NRL wurde auch 2008 die Aktualisierung des bundeseinheitlichen Tierseuchenbekämpfungshandbuches im Rahmen der Task Force Tierseuchenbekämpfung fortgeführt und ein Arbeitstreffen in Schwerin einberufen.

	Spezifizierung	Anzahl
Einsendungen Referenzproben	MmmSC-Feldstämme, Seren, Lungengewebe, Lymphknotengewebe, Pleuralflüssigkeit, Nasentupfer	407
Erregernachweise	PCR oder Kultur	45
Antikörpernachweise	KBR /cELISA	354
Chargenprüfungen	recMgELISA, FLI-B437, interne Prüfungen	4
Abgabe von Referenzmaterialien	Kontrollserenm, Mycoplasma-Typstämme, Antiseren	54
Ringtests		0
Anzahl Einsendungen sonstiger Proben zur Mykoplasmendiagnostik (Kultur, IFT, PCR, Sequenzierung, KBR)		621

Nationales Referenzlabor für Maul- und Klauenseuche, vesikuläre Schweinekrankheit und Stomatitis vesicularis

Haas, B.

Die Maul- und Klauenseuche (MKS) ist eine fieberhafte Allgemeinerkrankung der Klauentiere. Sie kommt noch in vielen außereuropäischen Ländern vor, insbesondere in der Türkei sowie in Asien, Afrika sowie Südamerika, und gehört wegen ihrer potentiell katastrophalen Auswirkungen auch heute noch zu den wirtschaftlich bedeutsamsten Tierseuchen. Ihre besondere Bedeutung beruht auf ihrer hohen Kontagiosität sowie auf den wirtschaftlichen Verlusten infolge der zu ihrer Bekämpfung erforderlichen drastischen Sperr- und Kontrollmaßnahmen. Durch die Zunahme, Beschleunigung und Liberalisierung des internationalen Handels und Reiseverkehrs und die große Zahl der potentiellen Kontaktbetriebe bei der heutigen Struktur der Landwirtschaft sind die Bedingungen für eine Einschleppung und explosive Ausbreitung in Europa und damit auch in Deutschland jederzeit gegeben.

Im nationalen Referenzlabor für MKS werden gleichzeitig die Referenzlaboraufgaben für die differenzialdiagnostisch bedeutsamen Tierseuchen vesikuläre Schweinekrankheit (SVD) und Stomatitis vesicularis wahrgenommen. Die wichtigste Aufgabe des nationalen Referenzlabors für MKS ist die unverzügliche labordiagnostische Abklärung von MKS-Verdachtsfällen. Bei einem Ausbruch ist anschließend das isolierte Virus zu charakterisieren, um ggf. Empfehlungen für einen Impfstoff abgeben zu können. Wenn es gelungen ist, die Seuche zum Stillstand zu bringen, müssen serologische Untersuchungen die Entscheidungen über die Aufhebung von Sperrmaßnahmen unterstützen.

	Spezifizierung	Anzahl
MKS/SVD-Verdachtsfälle und DD Abklärung	63 Einsendungen	890
MKS (Import/Export)	Serologie	75
SVD (Import/Export)	Serologie	126
Stomatitis vesicularis (Import/Export)	Serologie, überwiegend Pferde	514
Zulassungsuntersuchungen / Chargenprüfungen	Zulassung diagnostischer Tests	1
Ringtests	MKS-Serologie u. -PCR f. Veterinärunter-suchungsämter	2

Nationales Referenzlabor für Milzbrand

Elschner, M.

Milzbrand ist eine durch das Bakterium *Bacillus anthracis* verursachte ansteckende und oft tödlich verlaufende anzeigepflichtige Tierkrankheit mit zoonotischem Potential. Gefährdet sind insbesondere pflanzenfressende Nutz- und Zuchttiere. Hauptinfektionsquellen sind die Sporen von *B. anthracis*, die von Tieren über das Futter aufgenommen werden. Bei den klinischen Verlaufsformen bei Mensch und Tier unterscheidet man abhängig von dem jeweiligen Eintrittsort Hautmilzbrand, Lungenmilzbrand oder Darmmilzbrand. Die Erkrankung kommt bevorzugt in wärmeren Klimazonen (Südosteuropa, Südamerika, Afrika, Südostasien) vor, in Deutschland dagegen nur noch sporadisch. Risikogebiete sind Flussniederungen, die häufigen Überschwemmungen ausgesetzt sind. Weitere Infektionsquellen sind tierische Rohprodukte ausländischer Herkunft wie beispielsweise trockene Häute oder Felle von Ziege, Schaf, Rind und Pferd und die von diesen Tieren gewonnenen Haare, Wolle oder Schweinsborsten. Der Erregernachweis erfolgt durch Anzucht mit nachfolgender Identifizierung der Virulenzplasmide mittels molekularbiologischer Methoden.

	Spezifizierung	Anzahl
Einsendungen Referenzproben	Organproben, Isolate	3
Erregernachweise		0
Zulassungsuntersuchungen / Chargenprüfungen	Ascoli-Test Antigen für die Milzbranddiagnostik	1
	Ascoli-Test Positivserum für die Milzbranddiagnostik	1
Erweiterung der Stammsammlung zur Differenzialdiagnostik	Bacillus-Stämme	51

Nationales Referenzlabor für Muschelkrankheiten

Bergmann, S. M., Fichtner, D.

Das Nationale Referenzlabor für Muschelkrankheiten (NRL-Mu) hat die Diagnose auf der Grundlage der deutschen Fischseuchen-Verordnung (Fischseuchenverordnung und Verordnung zur Änderung der Verordnung über anzeigepflichtige Tierseuchen vom 24. November 2008) und der Gesetzgebung der Europäischen Union (CD 2006/88/EC) zu koordinieren und zu sichern. Anzeigepflichtige, nicht exotische parasitäre Erkrankungen der Muscheln sind die Bonamiose, verursacht durch das Protozoon *Bonamia ostrea*, und die Marteiliose mit *Marteilia refringens* als krankheitsauslösendes Agens. Exotisch für die EU sind die Infektion mit den Parasiten *Bonamia exitiosa* (Australien), *Perkinsus marinus* (USA, Europa) und *Mikrocytos mackini* (USA). Die Diagnose wird in der Regel histologisch bei Abklatschpräparaten oder in HE-gefärbten Paraffinschnitten erstellt. Für die Bonamiose und die Marteiliose wurden seitens der CRL in La Tremblade (Frankreich) Standard Operating Procedure (SOP's) erarbeitet, die die Durchführung der Diagnostik mittels PCR oder *In-situ*-Hybridisierung erlauben. Das NRL nahm erfolgreich an einem Ringtest zum molekularbiologischen Nachweis der Bonamiose (Microcells) und an einem histologischen Ringtest mit 60 Präparaten, beide durch das CRL geplant, teil.

Das NRL führte 2008 ausschließlich Untersuchungen an Süßwassermuscheln im Rahmen der Bekämpfung der Koi-Herpesvirus-Infektion durch. In zwei Einsendungen konnte das KHV mittels PCR nachgewiesen werden.

	Spezifizierung	Anzahl
Einsendungen Referenzproben	Große Teichmuschel	28
Erregernachweise	KHV	7
Zulassungsuntersuchungen / Chargenprüfungen		0
Abgabe von Referenzmaterialien		0
Ringtests		2

OIE und Nationales Referenzlabor für Newcastle Disease (ND)

Grund, C.

Die Newcastle Disease ist eine hochkontagiöse Infektionskrankheit des Geflügels, die weltweit vorkommt. Im Jahre 2008 wurden in 42 Ländern ND-Ausbrüche an die OIE gemeldet. In Deutschland war im Jahr 2007 ein Ausbruch bei Tauben in einer gemischten Geflügelhaltung zu verzeichnen. Das isolierte Virus wurde als APMV-1 vom Taubentyp (PPMV-1) charakterisiert und wies einen intrazerebralen Pathogenitätsindex (ICPI) von 0,9 auf.

Insgesamt wurden im NRL ND 69 APMV-1-Isolate untersucht, von denen 31 von nationalen Untersuchungseinrichtungen stammten. Der überwiegende Anteil der APMV-1-haltigen Proben (16) stammte von Tauben und war dem Taubentyp zuzuordnen. NDV-Impfstämme wurden in Proben von Hühnern (9) sowie Straußen (2), Wachteln (1) und Fasanen (1) nachgewiesen. Zwei APMV-1-Isolate wurden in Proben von Wildenten gefunden und der Klasse I zugeordnet. Von ausländischen Einrichtungen kamen 38 APMV-1 Isolate zur Untersuchung. Diese stammten von Trappen (4), Greifvögeln (11), Tauben (6) und Hühnern (17).

	Spezifizierung	Anzahl
Anzahl Einsendungen		69
Anzahl Erregernachweise		52

Nationales Referenzlabor für Paratuberkulose

Köhler, H., Möbius, P.

Die Diagnostik der Paratuberkulose erfolgt durch den kulturellen Erregernachweis in Kot- oder Organproben, durch Genomnachweis mittels PCR oder indirekt durch den Nachweis spezifischer Antikörper in Blutserum oder Milch. Die Aufgaben des Referenzlabors bestehen vor allem in der Sicherung der Qualität der verfügbaren diagnostischen Verfahren durch Ringversuche und die Prüfung der Methoden im Rahmen des amtlichen Zulassungsverfahrens und der Chargenfreigabe sowie in der Evaluierung und Implementierung neuer diagnostischer Methoden. Abklärungsuntersuchungen sind nur von untergeordneter Bedeutung.

Ende des Jahres 2008 waren in Deutschland drei kommerzielle ELISA-Tests zum Nachweis von Antikörpern gegen *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* zugelassen (Paratub. S und Paratub. B des Institut Pourquier, ID Screen Paratuberculosis Indirect der Firma ID Vet, CATTLETYPE MAP Ab der Firma Labor Diagnostik Leipzig), ein vierter befindet sich im Zulassungsverfahren.

	Spezifizierung	Anzahl
Einsendungen Referenzproben	Mykobakterien-Isolate	18
Erregernachweise	Kot- und Organproben	62
Antikörpernachweise		0
Zulassungsuntersuchungen / Chargenprüfungen		2 / 6
Abgabe von Referenzmaterialien		3
Ringtests	Erregernachweis von MAP in Kotproben von Rindern	1

Nationales Referenzlabor für virale Pferdeenzephalomyelitiden (EEE, VEE, WEE)

Keller, M., Wohlfromm, W., Groschup, M.H.

Das venezolanische Pferdeenzephalomyelitisvirus (VEEV), östliche Pferdeenzephalomyelitisvirus (EEEV) sowie westliche Pferdeenzephalomyelitisvirus (WEEV) gehören zum Genus *Alphavirus* der Familie *Togoviridae*. Ihr Hauptreservoir bilden symptomlos infizierte Vögel. Blutsaugende Arthropoden übertragen diese Viren (Arboviren) auf andere Vögel und weitere Tierarten. Infizierte Pferde und Menschen stellen für WEEV und EEEV Fehlwirte dar, die infiziert werden ohne selbst als weitere Infektionsquelle zu fungieren. Solche Infektionen können asymptomatisch verlaufen oder durch Fieber, Abgeschlagenheit und in schweren Fällen massive neurologische Störungen (Enzephalomyelitis) gekennzeichnet sein. Viral bedingte Pferdeenzephalomyelitiden sind anzeigepflichtig und werden im NRL mittels einer Kombination molekularbiologischer (real-time RT-PCR, nested RT-PCR) und biochemischer Methoden diagnostiziert. Zur Verbesserung der Diagnostik entwickelt das NRL ELISAs auf der Basis von rekombinant hergestellten viralen Hüllproteinen. Diese Testsysteme sollen nicht nur die Viren der Pferdeenzephalomyelitiden, sondern auch nahe verwandte Viren, wie z.B. das in Europa verbreitete Sindbis-Virus, identifizieren.

OIE und Nationales Referenzlabor für Psittakose

Sachse, K., Schubert, E., Sprague, L.D.

Eine Infektion mit dem Bakterium *Chlamydophila psittaci*, dem Erreger der Psittakose, kann bei Vögeln akut, protrahiert, chronisch oder subklinisch verlaufen. Es zeigen sich respiratorische Symptome und/oder Zeichen von Konjunktivitis, Schnupfen, Husten oder Dyspnoe. Latent infizierte Tiere können den Erreger intermittierend über Jahre ausscheiden ohne dabei selbst zu erkranken. Die Ansteckung des Menschen durch *Cp. psittaci* erfolgt hauptsächlich aerogen über Staub- und Tröpfcheninfektion, aber auch durch Kontakt zu infizierten Tieren.

Der Erregernachweis über die Anzüchtung wird nur noch von spezialisierten Laboratorien durchgeführt. Kommerzielle Antigen-ELISA-Tests für *Cp. psittaci* sind gegenwärtig nicht verfügbar. Es werden validierte rtPCR-Tests eingesetzt, die bezüglich Spezifität der kulturellen Anzüchtung ebenbürtig und meist sensitiver sind.

Bei den am NRL bearbeiteten Psittakoseverdachtsproben handelt es sich überwiegend um Einsendungen der Untersuchungsämter zur Abklärung.

	Spezifizierung	Anzahl
Einsendungen Referenzproben	Mykobakterien-Isolate	18
Erregernachweise	Kot- und Organproben	62
Antikörpernachweise		0
Zulassungsuntersuchungen / Chargenprüfungen		2 / 6
Abgabe von Referenzmaterialien		3
Ringtests	Erregernachweis von MAP in Kotproben von Rindern	1

Nationales Referenzlabor für Q-Fieber (*Coxiella burnetii*)

Henning, K.

Unter der Bezeichnung Q-Fieber (Coxiellose) werden Infektionen mit dem Bakterium *Coxiella burnetii* verstanden. Das Q-Fieber zählt zu den meldepflichtigen Tierseuchen. Die Krankheitserscheinungen beim Tier sind meistens gering. Seine Hauptbedeutung hat der Erreger als Auslöser von Unfruchtbarkeit und Aborten beim Wieder-

käuer. Q-Fieber zählt außerdem zu den Zoonosen. Als labordiagnostischer Nachweis gilt ein positiver Befund mit mindestens einer der beiden folgenden Methoden: gefärbtes Ausstrichpräparat, Erregerisolierung (z.B. über Zellkultur) oder PCR (direkter Erregernachweis). Der indirekte (serologische) Nachweis erfolgt mittels KBR oder ELISA. Der serologische Nachweis für sich allein ergibt nicht den geforderten labordiagnostischen Nachweis einer bestehenden Q-Fieber-Infektion.

	Spezifizierung	Anzahl
Einsendungen Referenzproben		41
Erregernachweise	davon 4 positiv	266
Antikörpernachweise	davon 134 positiv	384
Zulassungsuntersuchungen / Chargenprüfungen		3
Abgabe von Referenzmaterialien		0
Ringtests		0

Nationales Referenzlabor für Rauschbrand

Seyboldt, C.

Der Rauschbrand ist eine seuchenhaft und akut verlaufende, infektiöse, aber nicht kontagiöse Gasödemkrankheit, die meist junge Rinder sowie gelegentlich Schafe bzw. Ziegen befällt. Infektionen mit diesem Erreger (*Clostridium* (*C.*) *chauvoei*) sind anzeigepflichtig. *C. chauvoei* muss von anderen Gasödemerregern, insbesondere von *C. septicum*, dem Erreger des Pararauschbrandes, abgegrenzt werden. Weitere Clostridienspezies sind differentialdiagnostisch zu berücksichtigen. Die Abgrenzung von *C. chauvoei* und *C. septicum* mit traditionellen mikrobiologischen Methoden ist problematisch, da sich die beiden Erreger in vielen Eigenschaften gleichen. Eine Differenzierung von Isolaten kann durch die Prüfung von biochemischen Eigenschaften („bunte Reihe“) unter anaeroben Bedingungen erfolgen. Weitere Möglichkeiten zur Identifikation von *C. chauvoei* sind die direkte Immunfluoreszenz sowie der Nachweis durch PCR-Methoden.

	Spezifizierung	Anzahl
Einsendungen Referenzproben		7
Erregernachweise		2
Antikörpernachweise		0
Zulassungsuntersuchungen / Chargenprüfungen		0
Abgabe von Referenzmaterialien		0
Ringtests		0

OIE und Nationales Referenzlabor für Rotz

Elschner, M., Neubauer, H.

Rotz (Malleus) ist eine durch das Bakterium *Burkholderia mallei* verursachte, akut, chronisch oder latent verlaufende anzeigepflichtige Infektionskrankheit der Einhufer mit zoonotischem Potential. Die Erkrankung tritt in Teilen Asiens und Südamerikas endemisch auf, dagegen gilt sie in Westeuropa als getilgt. Deutschland ist seit 1956 frei von dieser Tierseuche. Für Infektionen sind besonders Esel und Maultiere empfänglich. *B. mallei* wird von infizierten Tieren mit allen Körpersekreten ausgeschieden. Die Übertragung erfolgt ausschließlich horizontal durch direkten oder indirekten Kontakt mit infizierten Tieren oder kontaminierten Gegenständen. Klinische Verlaufsformen sind Hautrotz, Nasenrotz und Lungenrotz. Auf der Basis der Entscheidung 93/197/EWG der Kommission über die tierseuchenrechtlichen Bedingungen und die Beurkundung für die Einfuhr von registrierten Equiden sowie Zucht- und Nutzequiden, sind für Equiden aus bestimmten Drittländern serologische Untersuchungen mittels KBR gefordert. Die Aufgabe des Referenzlabors umfasst insbesondere die Unterstützung der Untersuchungseinrichtungen der Bundesländer durch Abklärungsuntersuchungen bei positiven KBR-Befunden und die Zulassung bzw. Chargenprüfung von Diagnostika.

	Spezifizierung	Anzahl
Einsendungen Referenzproben	Antigen- und Antikörpernachweise	292
Erregernachweise	PCR	0
Antikörpernachweise	Komplement-Bindungsreaktion (OIE-Empfehlung)	0
Zulassungsuntersuchungen / Chargenprüfungen	Malleus-KBR-Antigen, Antiserum	1
	ELISA TEST KIT (APP-ApxIV)	4
Abgabe von Referenzmaterialien	Positives Kontrollserum, Pferd	3
	Referenzstämme	1
Tupferproben (Monitoring) auf Pneumonieerreger		290

Nationales Referenzlabor für Salmonellose der Rinder

Methner, U.

Die Salmonellose der Rinder ist eine in Abhängigkeit vom verursachenden *Salmonella*-Serovar perakut bis chronisch oder symptomlos verlaufende Erkrankung, die meist bei Kälbern und bei Kühen um den Zeitpunkt des Abkalbens auftritt. Sie ist durch das Auftreten von Durchfällen mit Todesfällen, Bronchopneumonien, Arthritiden und Aborten ab dem 7. Trächtigkeitsmonat gekennzeichnet. Die Serovaren *Salmonella* Typhimurium und *Salmonella* Dublin verursachen 70 - 80 Prozent der angezeigten Rinder-Salmonellose-Ausbrüche in Deutschland. *Salmonella Abortus-bovis*, *Salmonella Enteritidis* sowie weitere, häufig wechselnde Serovaren sind für ca. 20-30 Prozent der Ausbrüche verantwortlich.

	Spezifizierung	Anzahl
Einsendungen Referenzproben		146
Erregernachweise		1504
Zulassungsuntersuchungen / Chargenprüfungen		2 / 26
Abgabe von Referenzmaterialien		5
Ringtests	Teilnahme	2
Beratungsleistungen		12

Nationales Referenzlabor für Scrapie

Hoffmann, C., Buschmann, A., Eiden, M., Groschup, M.H.

Seit Einführung der aktiven amtlichen TSE-Untersuchungen für kleine Wiederkäuer im Jahr 2002 wurden insgesamt 273 Fälle von Scrapie beim Schaf und kein Fall bei der Ziege festgestellt. Gemäß Verordnung (EG) Nr. 727/2007 wurden 2008 in Deutschland jeweils 10.000 geschlachtete und 10.000 verendete Tiere mit Hilfe eines zur TSE-Überwachung bei kleinen Wiederkäuern zugelassenen Schnelltests untersucht. Das NRL begleitete die hierfür zuständigen 16 staatlichen Schnelltestslabors durch fachliche Beratung.

Weiterhin wurden gemäß EU-Verordnung 214/2005 alle im Jahr 2008 diagnostizierten TSE-Fälle bei Schafen mit Hilfe des vom EU-Referenzlabor zugelassenen, am FLI entwickelten Diskriminierungstests (FLI-Test) auf eine mögliche BSE-Infektion untersucht. Hierbei wurden ausschließlich atypische Scrapie-Fälle festgestellt. Auf Grundlage der Erkenntnisse zur genetischen Scrapieresistenz und ihrer Bedeutung bei Prävention, Kontrolle und Tilgung der Scrapie wurde ferner in Zusammenarbeit mit dem Institut für Tierzucht und Haustiergenetik an der Justus-Liebig-Universität in Gießen der Genotyp sämtlicher TSE-Fälle bestimmt und den zuständigen Länderbehörden zeitnah mitgeteilt. Das NRL arbeitet in der sog. „Strain-Typing Expert Group“ (STEG) des EU-Referenzlabors mit.

Kleine Wiederkäuer (nur Schafe)	Spezifizierung Angaben	Anzahl
Einsendungen	davon drei Proben aus Bulgarien	11
Erregernachweise	alle atypische Scrapie	7
Chargenprüfungen		6

WHO Collaborating Centre for Rabies Surveillance and Research; OIE und Nationales Referenzlabor für Tollwut

Müller, T., Freuling, C.

Die Erreger der Tollwut sind Einzelstrang-RNA-Viren negativer Polarität, die zum Genus Lyssavirus, der Familie der Rhabdoviridae gehören. Drei der bislang sieben bekannten Genotypen kommen in Europa vor. Dazu gehören die Genotypen 1 (Rabies Virus, RABV), 5 und 6 [European bat lyssavirus 1 & 2 (EBLV-1 &-2)], für die Karnivore bzw. Fledermäuse als Hauptreservoire fungieren. Seit 2008 gilt Deutschland wie viele andere west- und mitteleuropäische Länder bereits auch offiziell als tollwutfrei (Freiheit von klassischer Tollwut, RABV).

Die Aufgaben des nationalen und OIE Referenzlabors für Tollwut leiten sich aus der Tollwut-Verordnung (TW-VO) vom 11. April 2001 (BGBl. I 2001 S. 598) in Verbindung mit der Entscheidung BMELV vom 08. Juli 1997 sowie den Entscheidungen des OIE (1992) ab. Die Aufgaben als WHO CC sind mit der Bestätigung der Redesignierung durch die WHO vom 16. Juli 2008 definiert.

	Spezifizierung	Anzahl
Einsendungen Referenzproben		571
Erregernachweise		3
Antikörpernachweise	RFFIT/FAVN (OIE-Empfehlung)	524
Zulassungsuntersuchungen / Chargenprüfungen		5
Abgabe von Referenzmaterialien		2
Ringtests		1

Nationales Referenzlabor für die Trichomonadenseuche des Rindes

Henning, K.

Die Trichomonadenseuche des Rindes ist eine durch den einzelligen Parasiten *Tritrichomonas* (*T.*) *foetus* hervorgerufene Deckinfektion des Rindes. Sie zählt zu den anzeigepflichtigen Tierseuchen. Der Erreger wird beim Deckakt übertragen. Im Anschluss an eine Infektion besiedeln die Trichomonaden beim Bullen die Präputialhöhle, den Penisgraben und die Mündung der Harnröhre. Infizierte Bullen zeigen oft nur leichte oder überhaupt keine Symptome. Bei Kühen werden Vagina und Uterus besiedelt. Die Infektion führt hier zu Vaginitis, Endometritis und Aborten. Als Komplikation können bakterielle Begleitinfektionen auftreten.

Als labordiagnostischer Nachweis gilt ein positiver Befund mit mindestens einer der folgenden Methoden: Mikroskopischer Nachweis (z.B. Dunkelfeld-Mikroskop, gefärbtes Ausstrichpräparat), Anzüchtung des Erregers oder Nachweis mittels PCR. Problematisch ist die Verwechselungsmöglichkeit von *T. foetus* mit anderen Trichomonaden. Hierbei spielen insbesondere Kontaminationen mit Flagellaten aus dem Darmtrakt eine Rolle.

	Spezifizierung	Anzahl
Einsendungen Referenzproben		0
Einsendungen zur Untersuchung auf T. foetus bei Katzen		4
Erregernachweise		0

Antikörpernachweise	entfällt	
Zulassungsuntersuchungen / Chargenprüfungen	entfällt	
Abgabe von Referenzmaterialien		3
Ringtests	Laborvergleichs-untersuchungen	3

Nationales veterinärmedizinisches Referenzlabor für Tuberkulose

Moser, I.

Die Tuberkulose ist eine chronisch verlaufende Infektionskrankheit bei Mensch und Tier (Zoonose), die durch granulomatöse Veränderungen der betroffenen Organe charakterisiert ist und ohne Behandlung oft tödlich endet. Sie zählt zu den anzeigepflichtigen Tierseuchen. Deutschland ist seit vielen Jahren amtlich frei von Tuberkulose, dennoch wurden im Jahr 2008 23 Ausbrüche diagnostiziert. Die Erreger der Tuberkulose bei Mensch und Tier werden im Mycobacterium (M.) tuberculosis-Komplex (MTC) zusammengefasst. Nicht zum MTC gehörende Mykobakterien (M. avium und andere atypische Mykobakterien) sind meist weniger pathogen für Mensch und Tier (Ausnahme: jeweilige Primärwirte). Bei der Diagnostik gilt noch immer die Kultivierung als sicherste und sensitivste Nachweismethode („Goldstandard“). Um die relativ lange Zeit bis zur Diagnosestellung abzukürzen, kann die mykobakterielle DNA mittels PCR direkt in Organextrakten nachgewiesen werden. Der PCR-Befund wird durch Anzüchtung des Erregers bestätigt. Zur weiteren Typisierung werden verschiedene molekularbiologische Methoden (Spoligotyping, VNTR-Typing, DNA-Sequenzanalyse) angewandt.

	Spezifizierung	Anzahl
Einsendungen		551
Erregernachweise	MTC, atypische Mykobakterien von 119 Tieren, z.T. noch offen	136
Antikörpernachweise		0
Zulassungsuntersuchungen / Chargenprüfungen		1 / 0
Abgabe von Referenzmaterialien		11
Ringtests	national	2

Nationales Referenzlabor für Vibrionenseuche der Rinder

Hotzel, H.

Campylobacter (*C.*) *fetus* subsp. *venerealis* ist der Erreger der bovinen genitalen Campylobacteriose (bgC), auch als Vibrionenseuche der Rinder bezeichnet. Diese venerische Infektionskrankheit der Rinder ist eine anzeigepflichtige Tierseuche und durch Infertilität, frühe embryonale Mortalität und Abort charakterisiert. Das verursachende Bakterium besitzt einen ausgeprägten Tropismus für die Genitalschleimhaut des Rindes (enzootischer Abort). Ein eng verwandter Mikroorganismus ist die zweite Subspezies von *C. fetus*. Dieser Keim, *C. fetus* subsp. *fetus*, hat sein natürliches Erregerreservoir im Intestinaltrakt des Rindes, doch ist auch er in der Lage, Aborte zu verursachen (sporadischer Abort). Die unterschiedliche klinische Bedeutung der beiden Subspezies erfordert deren exakte Identifizierung.

	Spezifizierung	Anzahl
Einsendungen Referenzproben		11
Erregernachweise		3
Antikörpernachweise		0
Zulassungsuntersuchungen / Chargenprüfungen		0
Abgabe von Referenzmaterialien		0
Ringtests		0

Nationales Referenzlabor für West-Nile-Virus

Groschup, M.H., Keller M. und Ziegler, U.

Das West-Nile-Virus (WNV) ist ein „arthropod-borne“ (Arbo-)Virus innerhalb der Gattung *Flavivirus* in der Familie der *Flaviviridae*. Es gehört zur Gruppe der Japan Enzephalitis-Viren, wird durch Moskitos übertragen und besitzt ein hohes zoonotisches Potential, wobei Wildvögel als Virusreservoir fungieren. Durch veränderte Klimabedingungen und die bereits vorhandenen Hauptvektoren des WNV (*Culex pipiens*-Stechmücken) im Süden Deutschlands ist nicht auszuschließen, dass es sich in Deutschland nach einem Eintrag halten und verbreiten kann. Daher führt das FLI ein aktives Überwachungsprogramm bei Vögeln und Pferden durch. Im Rahmen dieser Studie wurden unter anderem serologische Untersuchungen und der virus- bzw. nukleinsäurebasierte Erregernachweis zur Überwachung durchgeführt. Hierzu wurden die Serumneutralisationstests für WNV (lineages 1 und 2), Immunfluoreszenztests, ELISAs und die real-time RT-PCR-Methode zum Virus-RNA-Nachweis etabliert.

Angesichts der möglichen Einschleppung von WNV wurde in Europa ein konventioneller Tot-Impfstoff zugelassen, zwei weitere gentechnisch hergestellte Impfstoffe sind in den USA zugelassen. Am NRL wurden deshalb erste vergleichende Vakzinierungsversuche zur Verwendung dieser drei Impfstoffe initiiert.

	Spezifizierung	Anzahl
Einsendungen		8
Erregernachweise	real-time RT-PCR	0
Antikörpernachweise	Immunfluoreszenztest Neutralisationstest	1 1
Zulassungsuntersuchungen / Chargenprüfungen		0
Monitoringproben	Pferde, Freilandgeflügel, Wildvögel	ca. 4800

Nationales Referenzlabor für durch Zecken übertragene Krankheiten

Süss, J.

Das Nationale Referenzlabor für durch Zecken übertragene Krankheiten (NRL-ZüK) befasst sich sowohl mit der Biologie und Populationsdynamik der Zecke als Vektor als auch mit den durch Zecken übertragenen Krankheiten, wobei Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME) und Lyme Borreliose (LB) als in Deutschland wichtigste virale bzw. bakterielle durch Zecken übertragene Krankheiten bei Mensch und Tier im Vordergrund stehen. Weitere durch Zecken übertragene Erkrankungen sind z.B. Babesiose, Anaplasmose und Rickettsiose, deren Bedeutung zur Zeit immer noch gering ist. FSME kann neben den bekannten humanmedizinischen Erkrankungen mit ähnlichem klinischen Bild auch bei Hunden, Pferden und Affen auftreten. Schafe, Ziegen und Rinder können das Virus über unpasteurisierte Milch ausscheiden, ohne dabei selbst klinisch zu erkranken. Erkrankungen durch *Borrelia burgdorferi s.l.* als Erreger der LB treten bei Pferden, Rindern und Hunden auf. Die Bedeutung der LB bei Schafen, Ziegen und Katzen ist bisher unklar. Vögel können als Reservoirwirte für *Borrelia burgdorferi* dienen, klinische Erkrankungen wurden bisher nicht nachgewiesen.

Die Aufgaben des NRL-Zük umfassen Beratung und Vorträge zu FSME, Borreliose und anderer durch Zecken übertragener Krankheiten einschließlich Zeckenprophylaxe, Beurteilung von FSME-Risikogebieten, FSME-Virusnachweis in Zecken (Realtime-RT-PCR) sowie in Liquor- und Serumproben, Unterstützung bei der Abklärung von Borrelioseverdachtsfällen durch Antikörpernachweis (ELISA, Westernblot).

	Spezifizierung	Anzahl
Einsendungen Referenzproben		0
Erregernachweise		789
Antikörpernachweise		421
Chargenprüfungen		14
Abgabe von Referenzmaterialien		7
Ringtests		0
Beratungsleistungen		122

Nationale Referenzlabore im Aufbau

Für Filoviren (Marburg/Ebola), Krim-Kongo-Hämorrhagisches-Fieber-Virus und Rifttalfieber-Virus wird das FLI zukünftig ebenfalls NRL führen. Derzeit stehen die für diese Erreger notwendigen Sicherheitsstufen (L3, L4) noch nicht im vollen Umfang zur Verfügung. Vorarbeiten zur Etablierung der entsprechenden Diagnostik laufen im Institut für neue und neuartige Tierseuchenerreger (INNT).

3. Rechtliche Grundlagen der Referenzlaboratorien

Referenzlabor	Rechtsgrundlage
Afrikanische Schweinepest (Diagnostik nur am FLI)	EU RL 2002/60 sowie Ausführungshinweise zur Schweinepest-VO
Ansteckende Schweinelähmung (Teschen-Talfan-Disease)	VO über anzeigepflichtige Tierseuchen in der Fassung der Bekanntmachung vom 03.11.2004 (BGBl. I, S. 2764), zuletzt geändert durch Artikel 2 der Verordnung vom 24.11.2008 (BGBl. I, S. 2315), VO über Sperrbezirke bei Ansteckender Schweinelähmung (Sperrbezirks-VO) vom 24.07.1987 (BGBl. I, S. 1710), zuletzt geändert am 20.12.2005 durch BGBl. I, S.3499 Art.14 vom 23.12.2005
Arthritis-Enzephalitis der Ziege	BMELV-Auftrag
Aujeszkysche Krankheit	EU Entsch. 93/24 in Verb. mit EU RL 64/432 und 93/244 sowie Aujeszky-VO
Beschälseuche der Pferde	Tierseuchengesetz § 4 Abs. 2
Bovine Herpesvirus 1-Infektionen	EU RL 93/42 in Verb. mit EU RL 95/109 und BHV-1-VO
Bovine Virusdiarrhöe	VO über anzeigepflichtige Tierseuchen vom 20.12.2005; BMELV-Auftrag
Brucellose	Brucellose-VO i.d.F. der Bek. vom 20.12.2005 und Anhang C der Richtlinie 64/432/EWG geändert durch Verordnung (EG) Nr. 535/2002 vom 21. März 2002 Verordnung über anzeigepflichtige Tierseuchen in der jeweils gültigen Fassung
Kontagiöse Equine Metritis	Bekanntmachung vom 22. Dezember 2005: Nationale Referenzlaboratorien für anzeigepflichtige Tierseuchen und meldepflichtige Tierkrankheiten Entscheidung 93/197/EWG der Kommission vom 5. Februar 1993 über die tierseuchenrechtlichen Bedingungen und die Beurkundung für die Einfuhr von registrierten Equiden sowie Zucht- und Nutzequiden
Enzootische Rinderleukose (EBL)	EU RL 64/432 in Verb. mit EU RL 97/12 und Leukose-VO
Exotische Tierseuchen (Afrikanische Pferdepest, Blauzungenkrankheit, Epizootische Hämorrhagie der Hirsche, Lumpy-skin-Krankheit, Pockenseuche der Schafe und Ziegen, Pest der kleinen Wiederkäuer, Rinderpest, Virusbedingte Pferdeenzephalomyelitiden, Rifttal-Fieber) (Diagnostik nur am FLI)	EU RL 92/119 in Verb. mit VO Anzeigepflichtige Tierseuchen und Tierimpfstoff-VO EU-Verordnung für BTV: Nr 1266/2007
Fischkrankheiten (VHS, IHN, ISA, KHV)	EU RL 93/53 in Verb. mit EU RL 91/67 und EU RL 92/532 Fischseuchen-VO Richtlinie 2006/88/EG des Rates vom 24. Oktober 2006 mit Gesundheits- und Hygienevorschriften für Tiere in Aquakultur und Aquakulturerzeugnisse und zur Verhütung und Bekämpfung bestimmter Wassertierkrankheiten (ABl. EU Nr. L328 S. 14) Fischseuchenverordnung und Verordnung zur Änderung der Verordnung über anzeigepflichtige Tierseuchen vom 24. November 2008 (BGBl. I S. 2315)

Referenzlabor	Rechtsgrundlage
Geflügelpest	Geflügelpest-VO in Verb. mit EU RL 92/40
Infektiöse Anämie der Einhufer	VO-Ansteckende Blutarmut der Einhufer
Klassische Schweinepest	EU RL 2001/89 in Verb. mit Schweinepest-VO und Tierimpfstoff-VO
Lungenseuche der Rinder	Tierseuchengesetz EU RL 82/894 VO über anzeigepflichtige Tierseuchen
Maedi/Visna	BMELV-Auftrag
Maul- und Klauenseuche (Diagnostik nur am FLI)	EU RL 2003/85/EG, MKS-Verordnung
Milzbrand	VO zum Schutz gegen den Milzbrand und den Rauschbrand in Verbindung mit der VO über anzeigepflichtige Tierseuchen
Muschelkrankheiten	EU RL 95/70 in Verb. mit EU RL 91/67 Richtlinie 2006/88/EG des Rates vom 24. Oktober 2006 mit Gesundheits- und Hygienevorschriften für Tiere in Aquakultur und Aquakulturerzeugnisse und zur Verhütung und Bekämpfung bestimmter Wassertierkrankheiten (ABl. EU Nr. L328 S. 14)
Newcastle Disease	Geflügelpest-VO in Verb. mit EU RL 92/66
Paratuberkulose	VO über meldepflichtige Tierkrankheiten vom 20.12.2005; Paratuberkulose-Leitlinien vom 17.01.2005
Pferdepest (Diagnostik nur am FLI)	EU RL 92/35 in Verb. mit VO Anzeigepflichtige Tierseuchen
Psittakose	Psittakose-VO, Neufassung vom 20.12.2005 Tierseuchengesetz VO über anzeigepflichtige Tierseuchen
Q-Fieber	VO über meldepflichtige Tierkrankheiten vom 20.12.2005; BMELV-Auftrag
Rauschbrand	VO zum Schutz gegen den Milzbrand und den Rauschbrand in Verbindung mit der VO über anzeigepflichtige Tierseuchen
Rotz	Richtlinien zur Feststellung von Rotz (Malleus) bei Einhufern durch serologische und allergologische Untersuchungsverfahren vom 7. Mai 1974 in der Fassung vom 1. Juli 1979 Verordnung über anzeigepflichtige Tierseuchen in der jeweils gültigen Fassung Binnenmarkt-Tierseuchenschutz-Verordnung Entscheidung 93/197/EWG der Kommission zur Einfuhr von Equiden
Salmonellose der Rinder	VO über anzeigepflichtige Tierseuchen Rinder-Salmonellose-VO
Stomatitis vesicularis	VO über anzeigepflichtige Tierseuchen vom 20.12.2005; BMELV-Auftrag
Tollwut	Tollwut-VO, Neufassung vom 20.12.2005, in Verbindung mit der VO über anzeigepflichtige Tierseuchen vom 20.12.2005
Transmissible Spongiforme Enzephalopathien	EU-VO 999/2001 in Verbindung mit der VO über anzeigepflichtige Tierseuchen vom 20.12.2005

Referenzlabor	Rechtsgrundlage
Trichomonadenseuche der Rinder	VO über anzeigepflichtige Tierseuchen vom 20.12.2005; BMELV-Auftrag
Tuberkulose der Rinder	Zoonosenrichtlinie 92/117/EWG (ABl. EG Nr. L 62/93)
Vesikuläre Schweinekrankheit	EU RL 92/119, Entsch. 2000/428/EG, Verordnung zum Schutz gegen die Vesikuläre Schweinekrankheit
Vibrionenseuche der Rinder	VO zum Schutz gegen übertragbare Geschlechtskrankheiten der Rinder (Deckinfektionen-VO-Rinder) vom 3. Juni 1975 in Verbindung mit der VO über anzeigepflichtige Tierseuchen vom 3. November 2004 in der Neufassung vom 20. Dezember 2005
durch Zecken übertragene Krankheiten	Erlass des Bundesministeriums für Gesundheit vom 19.11.1999 auf der Grundlage von Art. 3 in Verbindung mit Art. 4 der Richtlinie 92/117/EWG des Rates vom 17.12.1992 über Maßnahmen zum Schutz gegen bestimmte Zoonosen bzw. ihre Erreger bei Tieren und Erzeugnissen tierischen Ursprungs zur Verhütung lebensmittelbedingter Infektionen und Vergiftungen (ABl. EG L62/93, S. 38), Bundesanzeiger Nr. 227, S. 19559 vom 01.12.1999

4. Epidemiologische Untersuchungen bei Tierseuchenausbrüchen in Deutschland

Zeitvolumen	Auftraggeber	Aufgabe	Bearbeiter/Teilnehmer
01.-03.01.	Ministerium f. Ländliche Entwicklung, Umwelt und Verbraucherschutz Brandenburg	Epidemiologische Untersuchungen zu HPAI-Fällen in Brandenburg	Kramer, M. Teuffert, J.
09.01.	Bayerisches Staatsministerium f. Umwelt, Gesundheit und Verbraucherschutz	Epidemiologische Ermittlungen im Landkreis Amberg-Sulzbach zur Infektiösen Anämie der Pferde	Teuffert, J.
10.-11.01.	Bayerisches Staatsministerium f. Umwelt, Gesundheit und Verbraucherschutz	Verfolgsuntersuchungen bei eingeführten Criollo-Pferden aus Südamerika hinsichtlich Infektiöser Anämie	Teuffert, J. Kramer, M.
26.-27.02.	Ministerium f. Ländliche Entwicklung, Umwelt und Verbraucherschutz Brandenburg	Abschlussbericht zum Geflügelpestgeschehen (HPAI) im Land Brandenburg	Teuffert, J. Kramer, M.
02.-05.03.	Ministerium für Umwelt, Forsten u. Verbraucherschutz Rheinland-Pfalz	Begleitung der MKS-Übung in Rheinland-Pfalz	Teuffert, J.
08.04.	BMELV, Ref. 323	AI-Enten-Monitoring	Teuffert, J. Harder, T.
24.06.	Zoologischer Garten Magdeburg	Epidemiologische Ermittlungen zu Verdacht auf Q-Fieber bei Zootieren	Henning, K. Hilbert, A. Probst, C.
04.09.	Ministerium für Landwirtschaft, Umwelt und ländliche Räume von Schleswig-Holstein	Epidemiologische Ermittlungen zu Tuberkuloseverdacht in Nordfriesland	Probst, C.
10.10.-11.10.	SMS Sachsen	Epidemiologische Ermittlungen zum HPAI-Ausbruch in Görlitz, Sachsen	Teuffert, J. Gethmann, J.
28.-29.10.	BMELV, Länder	Einführungslehrgang für die neue Version des computergestützten Melde- und Auswertungssystems für Tierseuchen und Tierkrankheiten TSN 3.0 mit integriertem Krisenmodul	Klöß, D. Micklich, A. Schröder, R.
30.10.	BMELV, Länder	4. TRACES-Workshop für die TRACES-Beauftragten der Länder	Micklich, A.
06.-08.11.	Niedersächsisches Ministerium für ländlichen Raum, Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz	Epidemiologische Ermittlungen zu BTV-6 in Bad Bentheim	Teuffert, J. Probst, C.
11.-19.12.	Niedersächsisches Ministerium für Ernährung, Landwirtschaft, Verbraucherschutz und Landesentwicklung	Epidemiologische Ausbruchsuntersuchungen bei LPAI-Fällen im Landkreis Cloppenburg	Teuffert, J. Staubach, C. Schoene, C.

VI. ORGANISIERTE VERANSTALTUNGEN

Datum	Ort	Titel	Verantwortlicher Wissenschaftler
17.-18.01.	Mariensee	Organisation eines Partnermeetings im Rahmen des FUGATO Projektes	Weigend, S.
21.-22-02.	Insel Riems	Jährliche Klausurtagung der Staatssekretäre der für die Lebensmittelsicherheit und Tiergesundheit zuständigen Ministerien des Bundes und der Länder	Mettenleiter, T. C.
10.-14.03.	Mariensee	Workshop 4252, PhD (VetResearch) Programm der University of Veterinary Medicine Hannover, WS 2007/08 “Computation of random and fixed effects in animal breeding using PEST package	Groeneveld, E.
11.-12.03.	Greifswald	Workshop zur KHV-Infektion und Diagnostik	Fichtner, D.
13.-14.03.	Mariensee	DGfZ/FLI-Workshop “Biotechnologie bei Nutztieren – heute und morgen”	Niemann, H.
15.-16.03.	Mariensee	Organisation des Frühjahrstreffens der Vorwerkhuhnzüchter (Pilotprojekt zur Erhaltung alter und gefährdeter Hühnerrassen)	Weigend, S.
13.-17.03.	Budapest	Workshop „Animals as biomedical models in reproductive (and regenerative) medicine” (International Congress on Animal Reproduction (ICAR)	Niemann, H.
18.-19.03.	Mariensee	“A global view of livestock biodiversity and conservation” - Agenda of the Second GLOBALDIV Joint WG Meeting (JWGM)	Weigend, S.
02.-04.04.	Insel Vilm	Klausurtagung der Institutsleitung des FLI	Mettenleiter, T. C.
09.-10. 04.	Lübeck	11. Workshop des Arbeitskreises „Vergleichende Pathologie und Pathophysiologie des respiratorischen Systems“	Reinhold, P.
10.04.	Mariensee	Treffen der Forschergruppe „Xenotransplantation“	Niemann, H.
14.04.	Celle	Vortragstagung der Gesellschaft der Förderer und Freunde für Geflügel- und Kleintierforschung e.V.	Schrader, L.
02.-03.06.	Jena	25. Jenaer Symposium ”Campylobacter-Infektionen”	Hänel, I.
19.06.	Schwerin	Sitzung der Arbeitsgruppe Lungenseuche zur Fortentwicklung des bundeseinheitlichen Tierseuchenbekämpfungshandbuches im Rahmen der Task Force Tierseuchenbekämpfung	Heller, M., Schubert, E.
01.-04.07.	Aarhus/DK	6th Workshop of COST Action 855 on Animal Chlamydioses and the Zoonotic Implications	Sachse, K.
25.-26.09.	Jena	4. Arbeitstagung des nationalen Referenzlabors für Psittakose: Infektionen durch intrazelluläre Erreger - Diagnostik, Epidemiologie und Pathogenese der Chlamydien- und Coxielleninfektionen	Sachse, K., Henning, K.
26.-29.05.	Göttingen	Trainingskurs „BSL 3/BSL 4 Training School“ im Rahmen der COST-Aktion B28	Elschner, M.
08.-09.05.	Braunschweig	Ausschuss für Bedarfsnormen der Deutschen Gesellschaft für Ernährungsphysiologie	Prof. Flachowsky
18.-19.5.	Insel Riems	Jährliche Sitzung des wissenschaftlichen Beirats des FLI	Mettenleiter, T. C.
20.05.	Insel Riems	Jährliche Sitzung des Fördervereins des FLI	Mettenleiter, T. C.
25.-27.06.	Braunschweig	Tagung der Fachgruppe „Bakteriologie und Mykologie“ der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft e.V.	Schwarz, S.
04.09	Mariensee	Vortragsveranstaltung „Biopharming in dairy cattle: production of valuable proteins in milk“ Vortragender: Dr. Goetz Laible, Reproductive Technologies, AgResearch Ltd., Ruakura Research Centre Hamilton, New Zealand	Niemann, H.

Datum	Ort	Titel	Verantwortlicher Wissenschaftler
14.10.	Mariensee	Vortragsveranstaltung „Epigenetische Genomreprogrammierung im frühen Embryo: Implikationen für die Reproduktionsmedizin“ Vortragender: Prof. Dr. Thomas Haaf, Institut für Humangenetik Klinikum der Johannes Gutenberg-Universität Mainz	Niemann, H.
13./14.11	Braunschweig	Workshop “Moderne Tierernährung – sicher, effizient und klimaschonend“	Flachowsky, G.
25.11.	Mariensee	Vortragsveranstaltung „Replicating nonviral minicircles: Novel Tools for predictable transgenesis“ Vortragender: Prof. Dr. Jürgen Bode, Helmholtz Zentrum für Infektionsforschung, Braunschweig	Niemann, H.
25.-26.11	Insel Riems	1. Workshop des Netzwerkes „Nagetier-übertragene Pathogene“	Ulrich, R.
27.-28.11.	Insel Riems	Jahrestreffen des „Arbeitskreises Mäuse“	Ulrich, R.
27./28.11.	Braunschweig	Ausschuss für Bedarfsnormen der Deutschen Gesellschaft für Ernährungsphysiologie	Flachowsky, G.

VII. PRESSE- UND ÖFFENTLICHKEITSARBEIT

Zum 1. Januar 2008 trat die Neuordnung der Ressortforschung des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz in Kraft. Damit wuchs das FLI um die Institute für Tierernährung, Tierschutz und Tierhaltung sowie Nutztiergenetik. Entsprechend stieg auch die Zahl an Anfragen der Journalisten von Printmedien, Funk und Fernsehen sowie aus der Bevölkerung zu Themen wie „Klontiere“, Legehennenhaltung oder Rinderhaltung und Treibhausgase. Über die Erweiterung des FLI um drei Fachbereiche und Standorte berichteten nicht nur Medien vor Ort, sondern auch die überregionale Presse.

Auch 2008 weckte die Blauzungenkrankheit großes Interesse. Hier rückte im vergangenen Jahr die erstmalige Impfung der Rinder- und Schafbestände in den Blickpunkt der Medien. Zu fast schon klassischen Themen entwickelten sich Klassische Geflügelpest („Vogelgrippe“), BSE und durch Zecken übertragene Krankheiten. Die Feststellung von Rindertuberkulose in Niedersachen und Nordhrein-Westfalen im Frühjahr 2008 wurde vor allem von der landwirtschaftlichen und tiermedizinischen Fachpresse aufgegriffen. Viele andere Themen wurden ebenfalls nachgefragt, wie beispielsweise Babesiose, Infektiöse Anämie bei Pferden, Koi-Herpesvirus-Infektionen bei Karpfen und Tollwut.

Neben den wissenschaftlichen Themen wurde die Grundsteinlegung für den Neubau von Labor- und Stallgebäuden am Hauptstandort Insel Riems am 30. Oktober von vielen Medien aufgegriffen. Für die derzeit größte Hochbaumaßnahme des Bundes in den neuen Bundesländern werden rund 300 Millionen Euro zur Verfügung gestellt. Mit Fertigstellung des Neubauprojektes wird das FLI über 89 Labore und 163 Stalleinheiten verschiedener Biosicherheitsstufen verfügen. Eine kleine Stall- und Laboreinheit ermöglicht dann Arbeiten unter der höchsten Sicherheitsstufe BSL 4, unter der mit Erregern wie West-Nil-Virus oder Henipaviren geforscht werden kann. Derzeit können nur zwei Labore weltweit, in Australien und Kanada, unter ähnlichen Bedingungen arbeiten.

Den Girls´ Day und Zukunftstag im April nutzten rund 100 Mädchen und Jungen, um sich über die Berufsbilder Biologielaborant/in, Landwirtschaftlich-Technische-Assistent/in, Tierpfleger/in oder Landwirt/in zu informieren und einen Blick in die Labore und Tierhaltungen des FLI zu werfen. Engagierte Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter betreuten an den Standorten Braunschweig, Celle, Mariensee, Insel Riems und Wusterhausen den begeisterten Nachwuchs.

Aus dem Terminkalender

21.-22. Februar
Klausurtagung der Staatssekretäre der für die Lebensmittelsicherheit und die Tiergesundheit zuständigen Ministerien am FLI Insel Riems

24. April
Girls´ Day und Zukunftstag mit rund 80 Mädchen und Jungen an den Standorten Braunschweig, Celle, Mariensee, Insel Riems und Wusterhausen

23.-24. August
Tag der offenen Tür des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz in Berlin, Informationsstand der vier Bundesforschungsinstitute

30. Oktober
Grundsteinlegung für den Neubau von Labor- und Stallgebäuden am Standort Insel Riems

11.-14. November
Messe EuroTier in Hannover, Gemeinschaftsstand des FLI und Johann Heinrich von Thünen-Instituts

Aus dem Medienkalender

24. April
mdr „Escher – Der mdr-Ratgeber“: Beitrag über Zecken; Interview mit Dr. Jochen Süss, Leiter des Nationalen Referenzlabors für durch Zecken übertragene Krankheiten

6. Mai
3Sat-Magazin „nano“: Beitrag zu Blauzungenkrankheit; Interview mit Dr. Martin Beer, Leiter des Instituts für Virusdiagnostik

21. Mai
zdf „Abenteuer Wissen“: Beitrag zu Epigenetik; Interview mit Prof. Heiner Niemann, Leiter des Instituts für Nutztiergenetik

26. September
wdr – „Servicezeit Essen“: Beitrag Rinderwahnsinn – aus und vorbei? Interview mit Prof. Martin Groschup, Leiter des Instituts für neue und neuartige Tierseuchenerreger

VIII. KOOPERATIONEN MIT HOCHSCHULEN UND MITARBEIT IN WISSENSCHAFTLICHEN GREMIEN

1. Vorlesungs- und Hochschultätigkeit

Name	Hochschule
PD Dr. M. Beer	Ludwig-Maximilians-Universität München
Dr. S.M. Bergmann	Universität Sczcecin, Dept. Aquakultur
Dr. J. Berk	Tierärztliche Hochschule Hannover
Dr. A. Berndt	Universität Leipzig
Dr. A. Buschmann	Tierärztliche Hochschule Hannover
PD Dr. F. J. Conraths	Freie Universität Berlin Universität Leipzig
Prof. Dr. G. Flachowsky	Friedrich-Schiller-Universität Jena
Dr. J.M. Gethmann	Tierärztliche Hochschule Hannover
Dr. L. Geue	Universität Leipzig
Dr. habil. H. Granzow	Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald
Dr. Dr. h.c. mult E. Groeneveld	Tierärztliche Hochschule Hannover
Prof. Dr. M.H. Groschup	Tierärztliche Hochschule Hannover
PD Dr. C. Grund	Ludwig-Maximilians-Universität München
PD Dr. I. Halle	Martin-Luther-Universität Halle/Wittenberg Georg-August-Universität Göttingen
PD Dr. T. Harder	Universitätsklinikum Kiel
Dr. C. Hoffmann	Tierärztliche Hochschule Hannover
Dr. habil. V. Kaden	Universität Rostock
K. Kadlec, Ph.D.	Tierärztliche Hochschule Hannover
PD Dr. H. Kampen	Universität Bonn
PD Dr. C. Kehrenberg, Ph.D.	Tierärztliche Hochschule Hannover
Dr. M. Kramer	Universität Leipzig Tierärztliche Hochschule Hannover
PD Dr. M. Knittler	Eberhard-Karls-Universität Tübingen Universität zu Köln
Dr. W.A. Kues	Tierärztliche Hochschule Hannover Christian-Albrechts-Universität Kiel
Prof. Dr. habil. E. Liebler-Tenorio	Tierärztliche Hochschule Hannover
PD Dr. I. Moser	Universität Hohenheim
Prof. Dr. Dr. h. c. T. C. Mettenleiter	Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald
PD Dr. H. Neubauer	Universität Leipzig
Prof. Dr. H. Niemann	FH Südwestfalen, Soest Medizinische Hochschule Hannover Tierärztliche Hochschule Hannover Christian-Albrechts-Universität Kiel
Prof. Dr. N. Parvizi	Universität Hannover Tierärztliche Hochschule Hannover
Prof. Dr. Dr. Rath	Tierärztliche Hochschule Hannover FH Südwestfalen, Soest Universität Murcia, Spanien
PD Dr. P. Reinhold, PhD	Freie Universität Berlin
Dr. H.-J. Rziha	Eberhard-Karls-Universität Tübingen
Dr. L. Schrader	Tierärztliche Hochschule Hannover
Prof. Dr. S. Schwarz	Tierärztliche Hochschule Hannover
PD Dr. T. Selhorst	Universität Bonn
Dr. C. Staubach	Tierärztliche Hochschule Hannover
Prof. Dr. L. Stitz	Justus-Liebig-Universität Gießen Eberhard-Karls-Universität Tübingen
PD Dr. J. Süss	Friedrich-Schiller-Universität Jena

Name	Hochschule
Prof. Dr. J.P. Teifke	Justus-Liebig-Universität Gießen
Dr. J. Teuffert	Tierärztliche Hochschule Hannover
PD Dr. H. Tomaso	Medizinische Universität Graz Friedrich-Schiller-Universität Jena
PD Dr. R.G. Ulrich	Charité-Universitätsmedizin, Berlin
PD Dr. Dr. T.W. Vahlenkamp	Freie Universität Berlin North Carolina State University, Raleigh NC/USA

2. Mitgliedschaft in wissenschaftlichen Gremien

Name	Position / Wissenschaftliches Gremium
Dr. U. Baulain	Mitglied im Arbeitsausschuss für Leistungsprüfung und Zuchtwertfeststellung beim Schwein (ALZ)
PD Dr. M. Beer	Mitglied der EFSA-Arbeitsgruppe “CSF Meat Safety” + Wild Boar Control”; des Kuratoriums der Akademie für Tiergesundheit (AfT) e.V.; des Rats für Agrarwissenschaften in Mecklenburg-Vorpommern (RAW); des Fachbeirats für Rinderzucht des Landesamtes für Landwirtschaft, Lebensmittelsicherheit und Fischerei in Mecklenburg-Vorpommern
Dr. S.M. Bergmann	Schatzmeister der European Association of Fish Pathologists (EAFP)
Dr. J. Berk	Mitglied der Sachverständigengruppe „Putenvereinbarung“ des Ministeriums für Landwirtschaft und Umwelt des Landes Sachsen-Anhalt und der Sachverständigengruppe „Weiterentwicklung der Niedersächsischen Putenvereinbarung“, Niedersächsisches Landesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit; des DLG-Ausschusses für Geflügelproduktion; der Sachverständigengruppe „Initiative Nachhaltige Deutsche Putenwirtschaft“, AG Tierschutz; der Sachverständigengruppe des BMELV zur Überarbeitung der „Bundeseinheitlichen Eckwerte für eine freiwillige Vereinbarung zur Haltung von Jungmasthühnern (Broiler, Masthähnchen) und Mastputen; der AG der Länderreferenten Eier und Geflügel, Mast des BMELV; des Arbeitskreises für Geflügelhaltung Deutschland-Belgien-Niederlande
Dr. A. Buschmann	Mitglied der Arbeitsgruppe „Gesamtstrategie Blutversorgung angesichts vCJK“ am Paul-Ehrlich-Institut; der EFSA-Arbeitsgruppen „Feeding of non-ruminant MBM to chicken and pigs“, „TSE risk from carcasses of ovine and caprine animals below 6 months of age“ und „Evaluation TSE tests“
PD Dr. F.J. Conraths	Vorsitzender des Verwaltungsausschusses der COST-Aktion 854
Prof. Dr. S. Dänicke	Mitglied der Arbeitsgruppe „Carry over unerwünschter Stoffe“ beim BMELV; der BfR-Kommission „Kontaminanten und andere gesundheitlich relevante Stoffe in der Lebensmittelkette“; des wissenschaftlichen Beirats des Forschungsinstituts für Futtermitteltechnik Braunschweig-Thune
Dr. M. Elschner	Mitglied im Verwaltungsausschuss der COST-Aktion B28 und Leiterin der Arbeitsgruppe 5 „Mikrobiologie“
Dr. D. Fichtner	stellvertretender Vorsitzender des Ausschusses Fische der Bundestierärztekammer
Dr. U. Fischer	Gewähltes Mitglied des Peer Review College beim Danish Council for Strategic Research; Gewähltes Mitglied der Tierversuchskommission nach §15 TschG des Landes Mecklenburg-Vorpommern
Prof. Dr. G. Flachowsky	Vorsitzender des Ausschusses für Bedarfsnormen der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie (GfE); Mitglied der AG “Food/Feed” des EFSA-Panels “GMO”; des Präsidiums der Deutschen Gesellschaft für Züchtungskunde (DGfZ); des wissenschaftlichen Beirats des BfR; der BfR-Kommission “GMO”; des DLG-Arbeitskreises “Futter und Fütterung”
Dr. Dr. h.c. mult. E. Groeneveld	2. Vorsitzender und Schriftführer der Gesellschaft für Tierzuchtwissenschaften (GfT); Vice-President der EAAP Working Group on Animal Genetic Resources; Mitglied des Genetisch-Statistischen Ausschusses der Deutschen Gesellschaft für Züchtungskunde e.V. (DGfZ); des DGfZ-Fachbeirats “Tiergenetische Ressourcen”; des Organisationskommittees “9th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production” (WCGALP) 2010 in Deutschland; des Zentrums für Evolutionäre und Experimentelle Biodiversität (ZEEB) in Niedersachsen, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover; des Arbeitsausschusses für Zuchtwertschätzung der Arbeitsgemeinschaft Deutscher Rinderzüchter e.V. (ADR), Vertreter der Wissenschaft; der Deutschen Vetretergruppe der Kommission für Tiergenetik der Europäischen Vereinigung für Tierproduktion; des Advisory Committee des “Department of Agriculture Production and Food Science and Technology”, Cyprus University of Technology, Limassol/Zypern

Name	Position / Wissenschaftliches Gremium
Prof. Dr. M.H. Groschup	Mitglied der Research Advisory Group (RAG) des britischen Verbraucherschutzministeriums (DEFRA); der ständigen “Strain typing Expert Group” der EU; des Task-Force Tierseuchen Arbeitskreises “TSE” der Bundesländer; der “OIE expert group on confirmatory TSE test”; der EFSA-Arbeitsgruppen “BSE in tongue”, “SRM back calculation”, “Working Group to review TSE testing protocols”, National TSE Focal point der EFSA; Advisory Board Member PrioNet Canada
R. Großmann	Mitglied der Deutschen Gruppe der EAAP-Arbeitsgruppe “Physiologie”; des Prüfungsausschusses für die Anerkennung als Fachtierarzt für Physiologie und Physiologische Chemie; des Prüfungsausschusses für die Anerkennung als Fachtierarzt für Molekulargenetik und Gentechnologie; Life-time member des Darwin College, Cambridge/ UK
Dr. B. Haas	Mitglied der „Research Group of the Standing Technical Committee of the European Commission for the Control of Foot-and-Mouth Disease“; der Arbeitsgruppe “Klasse 6.2” (Infektiöses Gefahrgut) im Ausschuss Gefahrgutbeförderung (AGGB) im Gefahrgut-Verkehrs-Beirat beim Bundesministerium für Verkehr, Bau und Stadtentwicklung; des Arbeitskreises TRBA 120 “Versuchstierhaltung” im ABAS Unterausschuss 2 “Schutzmaßnahmen”
PD Dr. I. Halle	Mitglied der Fachgruppe „Tierernährung“ der UFOP; des Scientific Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed - EFSA; der Europäischen Arbeitsgruppe 2 „Nutrition of Poultry“ - WPSA; der BfR-Kommission für Zusatzstoffe, Erzeugnisse und Stoffe in der Tierernährung
Dr. M. Heller	Stellvertretendes Mitglied der Tierschutzkommission nach § 15 TSchG in Thüringen
Dr. M. Henning	Mitglied der DGfZ-Projektgruppe „Fleischerzeugung“; Gast der DGfZ-Projektgruppe „Tiergenetische Ressourcen“; 3. Vorsitzender der Tierversuchskommission nach § 15 TierSchG des Niedersächsischen Landesamtes für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit
Dr. H. Hotzel	Mitglied der Arbeitsgruppe „Molekulare diagnostische Verfahren“ des AVID und der § 64 LFGB-Arbeitsgruppe „Molekularbiologische Methoden Mikrobiologie“
Dr. habil. V. Kaden	Mitglied des Ausschusses für „Desinfektion in der Veterinärmedizin“ der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft (DVG); des Arbeitskreises „Tierische Produktion“ des Rats für Agrarwissenschaften Mecklenburg-Vorpommern und des Fachbeirats für Schweinezucht der Landesforschungsanstalt für Landwirtschaft und Fischerei Mecklenburg-Vorpommern
PD Dr. C. Kehrenberg	Mitglied der Arbeitsgruppe „Antibiotikaresistenz“ der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft (DVG) e.V.
Dr. J. Kjaer	Mitglied der Arbeitsgruppe 9, Bird Welfare, der World‘s Poultry Science Association
Dr. H. Köhler	Mitglied der Tierschutzkommission nach § 15 TSchG in Thüringen
Dr. P. Köhler	Mitglied der Fachgruppen V (Tierernährung) und VI (Futtermittel) des Verbandes Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten (VDLUFA); Gründungsmitglied des Vereins D-NOTES e.V.
Dr. M. Kramer	Mitglied in der Arbeitsgruppe „GBR Up-date Methodology“ der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA), Brüssel/Parma
Dr. E. Lange	Mitglied des Arbeitskreises Landwirtschaft des Ministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz
Dr. M. Marahrens	Nationaler Experte für Tierschutzfragen bei Transport und Schlachtung des Europäischen Lebensmittel- und Veterinäramts; Mitglied der Europäischen Kommission, DG Gesundheit und Verbraucherschutz, Unit E2; der Bund-Länder-Arbeitsgruppe „Schlachtrecht“ (Neufassung der Tierschutz-Schlachtverordnung); der Länderarbeitsgemeinschaft gesundheitlicher Verbraucherschutz (LAGV), Arbeitsgruppe „Kontrolle Nutztierhaltungen“; der Tierärztlichen Vereinigung für Tierschutz, Vorstand, Arbeitskreis 5 (Handel und Transport - Vorsitz), Arbeitskreis 3 (Betäubung und Schlachtung)
Prof. Dr. Dr. h. c. T.C. Mettenleiter	Präsident des Senats der Bundesforschungsanstalten; Vorsitzender des wissenschaftlichen Beirats des Forschungsinstituts für die Biologie landwirtschaftlicher Nutztiere, Dummerstorf; Mitglied des Vorstands der Gesellschaft für Virologie; des wissenschaftlichen Beirats des Paul-Ehrlich-Instituts, Langen; des wissenschaftlichen Beirats des Zentrums für Veterinary Public Health, Universität Leipzig; der Akademie der Naturforscher „Leopoldina“; der Akademie der Wissenschaften in Hamburg
Dr. U. Meyer	Mitglied der BfR-Kommission für Zusatzstoffe, Erzeugnisse und Stoffe in der Tierernährung; der Deutsch-Niederländischen Arbeitsgruppe für Rinderhaltung
Dr. Th. Müller	Mitglied des Technical Advisory Board der Alliance for Rabies Control
Dr. W. Müller	Gutachter der AKS Hannover
PD Dr. H. Neubauer	Experte in der „Kommission für Biologische Gefahren“ am BfR, Berlin; Vorsitzender der Fachgruppe Bakteriologie und Mykologie der DVG; Mitglied des Wehrwissenschaftlichen Ausschusses beim Verteidigungsminister der Republik Österreich; der CBRN TF Bio-Subgroup der DG Justice der EU, Brüssel, Belgien; der EFSA Arbeitsgruppe „Brucellosis in pigs“, Parma, Italien

Name	Position / Wissenschaftliches Gremium
Prof. Dr. H. Niemann	Vorsitzender des Fachbeirats der Deutschen Gesellschaft für Züchtungskunde (DGfZ); Mitglied der Deutschen Akademie der Naturforscher „Leopoldina“; der Fachkommission „Genetisch veränderte Lebens- und Futtermittel“, BfR, Berlin; des Fugato Scientific Advisory Board; des Expert Committee der EFSA „Safety of products from cloned animals“; des Steering Committee des Exzellenzclusters REBIRTH (From Regenerative Biology to Reconstructive Therapy) an der Medizinischen Hochschule Hannover; des Vorstandes der Yak-Camel-Stiftung; des Fachgutachtergremiums des Deutschen Instituts für Sportwissenschaft, Köln; des Wissenschaftlerkreises „Grüne Gentechnik“ (WGG); des Steering Committee „International Conference on Pig Reproduction“ (ICPR); Vositzender des Prüfungsausschusses für die Anerkennung als Fachtierarzt für Molekulargenetik und Gentechnologie der Tierärztekammer Niedersachsen; Visiting Professor, Institute for Advanced Technologies, Kinki University, Japan
Dr. P. Otto	Mitglied in der § 64 LMBG- Arbeitsgruppe „Viren“
Prof. Dr. N. Parvizi	Gutachter der Union der deutschen Akademien der Wissenschaften; Externer Gutachter der Universität Utrecht, Niederlande; Externer Gutachter der Universität Madras Chennai, Indien; Mitglied der Europäischen Fachgruppe „Physiology and Endocrinology of Pregnancy and Parturition“
Dr. A. Raßbach	Gutachterin der AKS Hannover
Prof. Dr. A. Rath	Stellvertretendes Mitglied der 8. Tierversuchskommission LAVES (Niedersächsisches Landesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit); Vorsitzender des Standing Committee der „International Boar Semen Preservation“; Vorstandsmitglied und Programme Secretary der „European Society for Domestic Animal Reproduction“ (ESDAR); Country Representative der ESDAR für Deutschland; Vorsitzender des Virtuellen Zentrums für Reproduktionsmedizin an der Tierärztlichen Hochschule Hannover; Tierärztlich-fachtechnischer Leiter der Besamungsstation Mariensee; Ständiger Gast des Fachbereichs „Tiergenetische Ressourcen“ der DGFZ
PD Dr. Dr. P. Reinhold	Europäischer Sekretär der „Veterinary & Comparative Respiratory Society“ (VCRS); Leiterin des Arbeitskreises „Vergleichende Pathologie und Pathophysiologie des respiratorischen Systems“ der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft (DVG); Mitglied des wissenschaftlichen Beirats der Sektion “Pathophysiologie und Aerosolmedizin” der Deutschen Gesellschaft für Pneumologie (DPG); der Breath Research Unit der Österreichischen Akademie der Wissenschaften
Dr. K. Sachse	Vorsitzender des Verwaltungsausschusses der europäischen COST-Aktion 855 „Animal Chlamydioses and the Zoonotic Implications“; Mitglied des Board of the European Society for Chlamydia Research; des Subcommittee on the Taxonomy of Mollicutes of the International Committee of Systematic Bacteriology (ICSB); Leiter des Working Team on Ruminant Mycoplasmas of the International Research Programme on Comparative Mycoplasmology (IRPCM); Mitglied der Arbeitsgruppe “Molekulare diagnostische Verfahren” des AVID
Dr. H. Schirrmeier	Mitglied des Vorstandes des „Arbeitskreises Veterinärmedizinische Infektionsdiagnostik (AVID)“; des Fachbeirats „Schaf- und Ziegenzucht Mecklenburg-Vorpommern“
Dr. B. Scholz	Mitglied der Deutschen Vereinigung für Geflügelwissenschaften (WPSA)
Dr. L. Schrader	Mitglied der KTBL-Arbeitsgemeinschaft „Technik und Bauen in der Nutztierhaltung“; des KTBL-Hauptausschusses; der Arbeitsgruppe „Prüf- und Zulassungsverfahren für Stalleinrichtungen“ des Landes Mecklenburg-Vorpommern; des Fachausschusses „Tiergerechtheit“ der DLG; der „Koordinierungsplattform Verzicht auf Ferkelkastration“ von QS und DGfZ; zugewähltes Mitglied des Senats der Bundesforschungsinstitute
Prof. Dr. S. Schwarz	Vorsitzender der interdisziplinären Arbeitsgruppe „Antibiotikaresistenz“ der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft (DVG); Stellvertretender Vorsitzender der Arbeitsgruppe „Molekulare Methoden der Resistenzbestimmung“ der Paul-Ehrlich-Gesellschaft; Advisor für das Veterinary Antimicrobial Susceptibility Testing“ Subcommittee und Mitglied der „Generics Working Group“ des Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI); Vorsitzender der Fachgruppe „Bakteriologie und Mykologie“ der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft (DVG); Mitglied des Prüfungsausschusses der Tierärztekammer Niedersachsen für die Zuerkennung der Bezeichnung „Fachtierarzt für Mikrobiologie“; des Prüfungsausschusses der Tierärztekammer Niedersachsen für die Zuerkennung der Bezeichnung „Fachtierarzt für Molekulargenetik und Gentechnologie“; Mitglied und stellvertretender Vorsitzender des Prüfungsausschusses der Tierärztekammer Niedersachsen für die Zuerkennung der Bezeichnung „Fachtierarzt für Epidemiologie“
Dr. M. Spolders	Stellvertretendes Mitglied der Tierschutzkommission nach § 15 TSchG beim LAVES Niedersachsen
Dr. C. Staubach	Mitglied des Vorstands der Arbeitsgruppe „Räumliche Statistik“ der deutschen Region der Internationalen Biometrischen Gesellschaft
PD Dr. J. Süss	Mitglied des Fachbeirates Forum Impfen; der Akademie für Gemeinnützige Wissenschaften zu Erfurt; der International Study Working Group on TBE, des European Advisory Board on TBE
Prof. Dr. L. Stitz	Mitglied der Tierschutzkommission beim Regierungspräsidium Tübingen

Name	Position / Wissenschaftliches Gremium
Prof. Dr. J.P. Teifke	Stellvertretender Vorsitzender AK Tiermedizin der Vereinigung deutscher Stabsoffiziere (VdSO), Deutsche Gesellschaft für Wehrmedizin und Wehrpharmazie; Mitglied der Internationalen Akademie für Pathologie (I.A.P.); Diplomate des American College of Veterinary Pathologists (ACVP)
PD Dr. Dr. Th. W. Vahlenkamp	Vorsitzender des feline Component innerhalb des Veterinary Immunology Committee (VIC); stellvertretender Vorsitzender der Arbeitsgruppe „Immunbiologie von Virusinfektionen“ der Gesellschaft für Virologie (GfV); Vorstandsmitglied der Landestierärztekammer Mecklenburg-Vorpommern
Dr. H. Valenta	Mitglied der Gesellschaft Deutscher Chemiker (GDCh), Fachgruppe Analytische Chemie, Arbeitskreis Separation Science; der Gesellschaft für Mykotoxinforschung; des Verbands Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten (VDLUFA), Fachgruppe VI Futtermittel
Dr. S. Weigend	Vorsitzender des Fachbeirats Tiergenetische Ressourcen im Rahmen des Nationalen Fachprogramms Tiergenetische Ressourcen, AG der DGfZ; Vorsitzender der AG 3 „Züchtung und Genetik“ der Weltvereinigung für Geflügelwissenschaften (WPSA); Mitglied des Beirats Biodiversität und genetische Ressourcen beim BMELV; der ISAG/FAO Arbeitsgruppe für Tiergenetische Diversitätsbewertung;
Dr. F.-D. Zerbe	Mitglied des Fachausschusses „Tiergerechtheit“ der DLG

3. Mitgliedschaft im Editorial Board von wissenschaftlichen Zeitschriften

Name	Editor bzw. Mitgliedschaft im Board of Editors
Prof. Dr. S. Dänicke	Editorial Board Archives of Animal Nutrition, Landbauforschung - vTI Agriculture and Forestry Research, Mycotoxin Research
Prof. Dr. G. Flachowsky	Book Review Editor Animal Feed Science and Technology Editorial Board Archives of Animal Nutrition, Italian Journal of Animal Science, Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, Übersichten zur Tierernährung, Journal of Applied Animal Research, Journal of Animal and Feed Science und Journal of Feed Security
Dr. Dr. h.c. mult. E. Groeneveld	Redaktionsmitglied Archiv für Tierzucht Redaktionsmitglied Veterinärmedizin und Zootechnik, Litauische Veterinärakademie Redaktionsmitglied Annals of Animal Science, National Research Institute of Animal Production, Krakau/Polen
Prof. Dr. M.H. Groschup	Editorial Board Journal of General Virology Editorial Board Veterinary Research
Dr. R. Großmann	Editorial Board Slovak J. Animal Science
PD Dr. I. Halle	Editorial Board Landbauforschung - vTI Agriculture and Forestry Research
PD Dr. T. Harder	Editorial Board Journal of General Virology
Dr. habil. V. Kaden	Wissenschaftlicher Beirat Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit
Dr. G. Keil	Editor Archives of Virology
Dr. J. Kjaer	Editorial Board Applied Animal Behaviour Science
Dr. W. Kues	Editorial Board The Open Zoology Journal
Prof. Dr. Dr. h. c. T.C. Mettenleiter	Editorial Board Journal of General Virology
Prof. Dr. H. Niemann	Editorial Board Molecular Reproduction and Development, Cloning and Stem Cells, Theriogenology
Dr. K. Sachse	Editorial Board Molecular and Cellular Probes, Veterinary Microbiology, The Veterinary Journal, Veterinary Research Communications
Dr. L. Schrader	Editorial Board Landbauforschung Völkenrode
Prof. Dr. D. Rath	Editorial Board Spanish Journal of Agricultural Research, Slovenian Veterinary Research
PD Dr. Dr. P. Reinhold	Editorial Board Journal of Breath Research
Prof. Dr. S. Schwarz	Editorial Board Journal of Antimicrobial Chemotherapy, FEMS Microbiology Letters, Veterinary Microbiology, Veterinárií medicína (Vet Med - Czech)
PD Dr. Dr. T.W. Vahlenkamp	Editorial Board Veterinary Immunology and Immunopathology, Clinical and Vaccine Immunology, Virus Genes

IX. VERÖFFENTLICHUNGEN

1. Veröffentlichungen des Friedrich-Loeffler-Instituts

Jahresbericht 2007 / Hrsg.: Friedrich-Loeffler Institut, Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit. Greifswald-Insel Riems. 2007. 158 S. ISSN 1861-0005. www.fli.bund.de

Tiergesundheitsjahresbericht 2007 / Hrsg. Friedrich-Loeffler-Institut, Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit. Greifswald-Insel Riems und Wusterhausen. 8. Jahrgang 2008. 157 S. ISSN 1867-9374. www.fli.bund.de

Rabies Bulletin Europe / Hrsg.: C. Freuling. Vol. 31, No. 4 (2007); Vol. 32, No. 1-3 (2008). ISSN 0257-8506. www.who-rabies-bulletin.org

Der Loeffler / Hrsg.: Friedrich-Loeffler-Institut, Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit. Greifswald-Insel Riems, 2. Jahrgang 2008; Heft 3 und 4.

2. Wissenschaftliche Veröffentlichungen

2.1 Veröffentlichungen in referierten Zeitschriften

Adelmann, M., Köllner, B., Bergmann, S.M., Fischer, U., Lange, B., Weitschies, W., Enzmann, P.J., Fichtner, D. (2008) Development of an oral vaccine for immunisation of rainbow trout *(Oncorhynchus mykiss)* against viral haemorrhagic septicaemia. Vaccine 26, 837-844.

Aguib, Y., Gilch, S., Krammer, C., Ertmer, A., Groschup, M.H., Schätzl, H.M. (2008) Neuroendocrine cultured cells counteract persistent prion infection by down-regulation of PrP. Mol Cell Neurosci 38, 98-109.

Akanbi, O. B., Breithaupt, A., Polster, U., Alter, T., Quandt, A., Bracke, A., Teifke, J.P. (2008) Systemic listeriosis in caged canaries *(Serinus canarius)*. Avian Pathol 37, 329-332.

Al Dahouk, S., Jubier-Maurin, V., Scholz, H.C., Tomaso, H., Karges, W., Neubauer, H., Köhler, S. (2008) Quantitative analysis of the intramacrophagic *Brucella suis* proteome reveals metabolic adaptation to late stage of cellular infection. Proteomics 8, 3862-3870.

Al Dahouk, S., Nöckler, K., Scholz, H.C., Pfeffer, M., Neubauer, H., Tomaso, H. (2007) Evaluation of genus-specific and species-specific real-time PCR assays for the identification of *Brucella* spp. Clin Chem Lab Med 45, 1464-1470.

Aschfalk, A., Kemper, N., Arnemo, J.M., Veiberg, V., Rosef, O., Neubauer, H. (2008) Prevalence of *Yersinia species* in healthy free-ranging red deer *(Cervus elaphus)* in Norway. Vet Rec 163, 27-28.

Bao, W., Chen, G., Li, B., Wu, X., Shu, J., Wu, S., Xu, Q., Weigend, S. (2008) Analysis of genetic diversity and phylogenetic relationships among red jungle fowls and Chinese domestic fowls. Sci China C Life Sci 51, 560-568.

Bathgate, R., Grossfeld, R., Susetio, D., Ruckholdt, M., Heasmana, K., Rath, D., Evansa, G., Maxwell, W.M.C. (2008) Early pregnancy loss in sows after low dose, deep uterine artificial insemination with sex-sorted, frozen-thawed sperm. Anim Reprod Sci 104, 440-444.

Bayer, C., Schilling, D., Hoetzel, J., Egermann, H.P., Zips, D., Yaromina, A., Geurts-Moespot, A., Sprague, L.D., Sweep, F., Baumann, M., Molls, M., Adam, M. (2008) PAI-1 levels predict response to fractionated irradiation in 10 human squamous cell carcinoma lines of the head and neck. Radiother Oncol 86, 361-368.

Bermejo-Alvarez, P., Rizos, D., Rath, D., Lonergan, P., Gutierrez-Adan, A. (2008) Epigenetic differences between male and female bovine blastocysts produced *in vitro*. Physiol Genomics 32, 264-272.

Bermejo-Alvarez, P., Rizos, D., Rath, D., Lonergan, P., Gutierrez-Adan, A. (2008) Can bovine *in vitro*-matured oocytes selectively process X- or Y-sorted sperm differentially? Biol Reprod 79, 594-597.

Berndt, A., Müller, J., Borsi, L., Kosmehl, H., Methner, U., Berndt, A. (2008) Reorganisation of the caecal extracellular matrix upon *Salmonella* infection – Relation between bacterial invasiveness and expression of virulence genes. Vet Microbiol 133, 123-137.

Block, J., Wrenzycki, C., Niemann, H., Herrmann, D., Hansen, P.J. (2008) Effects of insulin-like growth factor-1 on cellular and molecular characteristics of bovine blastocysts produced *in vitro*. Mol Reprod Dev 75, 895-903.

Böttcher, S., Maresch, C., Granzow, H., Klupp, B.G., Teifke, J.P., Mettenleiter, T.C. (2008) Mutagenesis of the active-site cysteine in the ubiquitin-specific protease contained in large tegument protein pUL36 of Pseudorabies virus impairs viral replication *in vitro* and neuroinvasion *in vivo*. J Virol 82, 6009-6016.

Boonprong, S., Choothesa, A., Sribhen, C., Parvizi, N. (2008) Productivity of Thai Brahman and Simmental-Brahman crossbred (Kaninburi) cattle in central Thailand. Int J Biometeorol 52, 409-415.

Borel, N., Kempf, E., Hotzel, H., Schubert, E., Torgerson, P., Slickers, P., Ehricht, R., Tasara, T., Pospischil, A., Sachse, K. (2008) Direct identification of *chlamydiae* from clinical samples using a DNA microarray assay - A validation study. Mol Cell Probes 22, 55-64.

Brehm, K.E., Kumar, N., Thulke, H.H., Haas, B. (2008) High potency vaccines induce protection against heterologous challenge with foot-and-mouth disease virus. Vaccine 26, 1681-1687.

Brun, A., Albina, E., Barret, T., Chapman, D.A.G., Czub, M., Dixon, L.K., Keil, G.M., Klonjkowski, B., Le Potier, M.F., Libeau, G., Ortego, J., Richardson, J., Takamatsu, H.H. (2008) Antigen delivery systems for veterinary vaccine development: Viral-vector based delivery systems. Vaccine 26, 6508-6528.

Buitenhuis, B., Kjaer, J.B. (2008) Long term selection for reduced or increased pecking behaviour in laying hens. World‘s Poultry Sci J 64, 477-487.

Carvajal, B.G., Methner, U., Pieper, J., Berndt, A. (2008) Effects of *Salmonella enterica* serovar *Enteritidis* on cellular recruitment and cytokine gene expression in caecum of vaccinated chickens. Vaccine 26, 5423-5433.

Chandy, S., Yoshimatsu, K., Ulrich, R.G., Mertens, M., Okumura, M., Rajendran, P., John, G.T., Balraj, V., Muliyil, J., Mammen, J., Abraham, P., Arikawa, J., Sridharan, G. (2008) Seroepidemiological study on hantavirus infections in India. Trans R Soc Trop Med Hyg 102, 70-74.

Clulow, J.R., Buss, H., Sieme, H., Rodger, J.A., Cawdell-Smith, A.J., Evans, G., Rath, D., Morris, L.H.A., Maxwell, W.M.C. (2008) Field fertility of sex-sorted and non-sorted frozen-thawed stallion spermatozoa. Anim Reprod Sci 108, 287-297.

Dänicke, S., Beineke, A., Goyarts, T., Valenta, H., Beyer, M., Humpf, H.U. (2008) Effects of a *Fusarium* toxin-contaminated triticale, either untreated or treated with sodium metabisulphite (Na2S2O5, SBS), on weaned piglets with a special focus on liver function as determined by the C-13-methacetin breath test. Arch Anim Nutr 62, 263-286.

Dieckhoff, B., Petersen, B., Kues, W.A., Kurth, R., Niemann, H., Denner, J. (2008) Knockdown of porcine endogenous retrovirus (PERV) expression by PERV-specific shRNA in transgenic pigs. Xenotransplantation 15, 36-45.

Döpfer, D., Buist, W., Soyer, Y., Munoz, M.A., Zadoks, R.N., Geue, L., Engel, B. (2008) Assessing Genetic Heterogeneity within Bacterial Species Isolated from Gastrointestinal and Environmental Samples: How Many Isolates Does It Take? Appl Environ Microbiol 74, 3490-3496.

Döll, S., Dänicke, S., Valenta, H. (2008) Residues of deoxynivalenol (DON) in pig tissue after feeding mash or pellet diets containing low concentrations. Mol Nutr Food Res 52, 727-734.

Dorn, D.C., Lawatscheck, R., Zvirbliene, A., Aleksaite, E., Pecher, G., Sasnauskas, K., Ozel, M., Raftery, M., Schönrich, G., Ulrich, R.G., Gedvilaite, A. (2008) Cellular and humoral immunogenicity of hamster polyomavirus-derived virus-like particles harboring a mucin 1 cytotoxic T-cell epitope. Viral Immunol 21,12-26.

Droebner, K., Reiling, S.J., Planz, O. (2008) Role of Hypercytokinemia in NF-kappa B p50-Deficient Mice after H5N1 Influenza A Virus Infection. J Virol 82, 11461-11466.

Droebner, K., Haasbach, E., Fuchs, C., Weinzierl, A.O., Stevanovic, S., Büttner, M., Planz, O. (2008) Antibodies and CD4+ T-cells mediate cross-protection against H5N1 influenza virus infection in mice after vaccination with a low pathogenic H5N2 strain. Vaccine 26, 6965-6974.

East, M.L., Wibbelt, G., Lieckfeldt, D., Ludwig, A., Goller, K., Wilhelm, K., Schares, G., Thierer, D., Hofer, H. (2008) A Hepatozoon species genetically distinct from *H. canis* infecting spotted hyenas in the Serengeti ecosystem, Tanzania. J Wildl Dis 44, 45-52.

Eckardt-Michel, J., Lorek, M., Baxmann, D., Grunwald, T., Keil, G.M., Zimmer, G. (2008) The fusion protein of respiratory syncytial virus triggers p53-dependent apoptosis. J Virol 82, 3236-3249.

Ehlers, B., Dural, G., Yasmum, N., Lembo, T., de Thoisy, B., Ryser-Degiorgis, M.P., Ulrich, R.G., McGeoch, D.J. (2008) Novel mammalian herpesviruses and lineages within the *Gammaherpesvirinae*: Cospeciation and interspecies transfer. J Virol 82, 3509-3516.

Elbers, A.R.W., Backx, A., Mintiens, K., Gerbier, G., Staubach, C., Hendrickx, G., van der Spek, A. (2008) Field observations during the Bluetongue serotype 8 epidemic in 2006 - II. Morbidity and mortality rate, case fatality and clinical recovery in sheep and cattle in the Netherlands. Prev Vet Med 87, 31-40.

Elbers, A.R.W., Backx, A., Méroc, E., Gerbier, G., Staubach, C., Hendrickx, G., van der Spek, A., Mintiens, K. (2008) Field observations during the bluetongue serotype 8 epidemic in 2006 - I. Detection of first outbreaks and clinical signs in sheep and cattle in Belgium, France and the Netherlands. Prev Vet Med 87, 21-30.

Ewers, C., Wilking, H., Achtman, M., Wieler, L.H. (2007) Phylogenetic analysis of extraintestinal *E. coli* (ExPEC) reveals a close relationship between isolates of human and animal origin, urging a zoonotic potential of distinct phylotypes. Int J Med Microbiol 297, 148.

Fábián, K., Makrai, L, Sachse, K., Szeredi, L., Egyed, L. (2008) An investigation of the aetiological role of bovine herpesvirus 4 in bovine endometritis. Vet J 177, 289-292.

Fereidouni, S.R., Harder, T.C., Starick, E. (2008) Rapid phenotyping of recent H5N1 highly pathogenic avian influenza viruses and of H5 viruses with low pathogenicity by RT-PCR and restriction enzyme cleavage pattern (RECP). J Virol Meth 154, 14-19.

Flachowsky, G. 2008. What do animal nutritionists expect from plant breeding? Outl Agric 37, 95-103.

Flachowsky, G., Schulz, E., Kratz, R., Glodek, P. (2008) Effects of different dietary fat sources on the fatty acid profile of backfat and intramuscular fat of pigs of various sire breeds. J Anim Feed Sci 17, 363-371.

Forrester, N.L., Moss, S.R., Turner, S.L., Schirrmeier, H., Gould, E.A. (2008) Recombination in rabbit haemorrhagic disease virus: Possible impact on evolution and epidemiology. Virology 376, 390-396.

Förster, D., Berk, A., Hoppen, H.O., Rambeck, W.A., Flachowsky, G. (2008) A note on the effect of rare earth elements on the performance and thyroid hormone status of rearing piglets. J Anim Feed Sci 17, 70-74.

Franka, R., Johnson, N., Müller, T., Vos, A., Neubert, L., Freuling, C., Rupprecht, C.E., Fooks, A.R. (2008) Susceptibility of North American big brown bats *(Eptesicus fuscus)* to infection with European bat lyssavirus type 1. J Gen Virol 89, 1998-2010.

Franke, K., Schöne, F., Berk, A., Leiterer, M., Flachowsky, G. (2008) Influence of dietary iodine on the iodine content of pork and the distribution of the trace element in the body. Eur J Nutr 47, 40-46.

Fretin, D., Whatmore, A.M., Al Dahouk, S., Neubauer, H., Garin-Bastuji, B., Albert, D., Van Hessche, M., Ménart, M., Godfroid, J., Walravens, K., Wattiau, P. (2008) *Brucella suis* identification and biovar typing by real-time PCR. Vet Microbiol 131, 376-385.

Freuling, C.M., Grossmann, E., Conraths, F.J., Schameitat, A., Kliemt, U., Auer, E., Greiser-Wilke, I., Müller, T. 2008. First Isolation of EBLV-2 in Germany. Vet Microbiol 131, 26-34.

Freuling, C., Johnson, N., Marston, D., Selhorst, T., Geue, L., Fooks, A.R., Tordo, N., Müller, T. (2008) A random grid based molecular epidemiological study on EBLV isolates from Germany. Dev Biol 131, 301-309.

Freuling, C., Selhorst, T., Bätza, H.J., Müller, T. (2008) The financial challenge of keeping a large region rabies-free - the EU example. Dev Biol 131, 273-282.

Fritscher-Ravens, A., Ghanbari, A., Cuming, T., Kahle, E., Niemann, H., Köhler, P., Patel, K. (2008) Comparative study of NOTES alone vs. EUS-guided NOTES procedures. Endoscopy 40, 925-930.

Gabriel, G., Garn, H., Wegmann, M., Renz, H., Herwig, A., Klenk, H.D., Stech, J. (2008) The potential of a protease activation mutant of a highly pathogenic avian influenza virus for a pandemic live vaccine. Vaccine 26, 956-965.

Gaede, W., Reckling, K.F., Dresenkamp, B., Kenklies, S., Schubert, E., Noack, U., Irmscher, H.M., Ludwig, C., Hotzel, H., Sachse, K. (2008) *Chlamydophila psittaci* infections in humans during an outbreak of psittacosis from poultry in Germany.

Zoonoses Publ Health 55, 184-188.

Gall, A., Hoffmann, B., Harder, T., Grund, C., Beer, M. (2008) Universal primer set for amplification and sequencing of HA(0) cleavage sites of all influenza A viruses. J Clin Microbiol 46, 2561-2567.

Gardiner, D.W., Teifke, J.P., Podell, B.K., Kamstock, D.A. (2008) Fibropapilloma of the glans penis in a horse. J Vet Diagn Invest 20, 816-819.

Garner, M. M., Ramsell, K., Morera, N., Juan-Salles, C., Jimenez, J., Ardiaca, M., Montesinos, A., Teifke, J.P., Löhr, C.V., Evermann, U.V., Baszler, T.V., Nordhausen, R.W., Wise, A.G., Maes, R.K., Kiupel, M. (2008) Clinicopathologic features of a systemic coronavirus-associated disease resembling feline infectious peritonitis in the domestic ferret *(Mustela putorius)*. Vet Pathol 45, 236-246.

Gauly, M., Kanan, A., Brandt, H., Weigend, S., Moors, E., Erhardt, G. (2008) Genetic resistance to *Heterakis gallinarum* in two chicken layer lines following a single dose infection. Vet Parasitol 155, 74-79.

Gerbier, G., Baldet, T., Tran, A., Hendrickx, G., Guis, H., Mintiens, K., Elbers, A.R.W., Staubach, C. (2008) Modelling local dispersal of bluetongue virus serotype 8 using random walk. Prev Vet Med 87, 119-130.

Geue, L., Schares, S., Schnick, C., Kliemt, J., Beckert, A., Freuling, C., Conraths, F.J., Hoffmann, B., Zanoni, R., Marston, D., McElhinney, L., Johnson, N., Fooks, A.R., Tordo, N., Müller, T. (2008) Genetic characterisation of attenuated SAD rabies virus strains used for oral vaccination of wildlife. Vaccine 26, 3227-3235.

Giese, M., Harder, T.C., Teifke, J.P., Klopfleisch, R., Breithaupt, A., Mettenleiter, T.C., Vahlenkamp, T.W. (2008) Experimental infection and natural contact exposure of dogs with avian influenza virus (H5N1). Emerg Infect Dis 14, 308-310.

Gordon, L., Cloeckaert, A., Doublet, B., Schwarz, S., Bouju-Albert, A., Ganiere, J.P., Le Bris, H., Fleche-Mateos, A., Giraud, E. (2008) Complete sequence of the floR-carrying multiresistance plasmid pAB5S9 from freshwater *Aeromonas bestiarum*. J Antimicrob Chemother 62, 65-71.

Goris, N., Willems, T., Diev, V.I., Merkelbach-Peters, P., Vanbinst, T., Van der Stede, Y., Kraft, H.P., Zakharov, V.M., Borisov, V.V., Nauwynck, H.J., Haas, B., De Clercq, K. (2008) Indirect foot-and-mouth disease vaccine potency testing based on a serological alternative. Vaccine 26, 3870-3879.

Grabherr, H., Spolders, M., Flachowsky, G., Fürll, M. (2008) Einfluss von Zeolith A auf die Futteraufnahme von trockenstehenden Milchkühen, auf den Mengen- und Spurenelementstoffwechsel im peripartalen Zeitraum sowie auf die Milchleistung in der folgenden Laktation. Berl Münch Tierärztl Wschr 121, 41-52.

Grahnert, A., Richter, S., Siegert, F., Berndt, A., Hauschildt, S. (2008) The orthologue of the „acatalytic“ mammalian ART4 in chicken is an arginine-specific mono-ADP-ribosyltransferase. BMC Mol Biol 9.

Groener, A., Groschup, M., Schaefer, W. (2008) Efficient Reduction of Prions by the Manufacturing Process of a VWF/FVIII Product. Blood 112, 366-367.

Groeneveld, E., Huu Tinh, N., Kues, W., Thi Vien, N. (2008) A Protocol for the cryoconservation of breeds by low-cost emergency cell banks – A pilot study. Animal 2, 1-8.

Groschup, M. H., Buschmann, A. (2008) Rodent models for prion diseases. Vet Res 39.

Groschup, M.H., Selhorst, T., Buschmann, A., Mettenleiter, T.C., Conraths, F.J. (2008) Bovine spongiforme Enzephalopathie – gesundheitlicher Verbraucherschutz durch die Verhinderung von Infektionen bei Mensch und Tier. J Verbrauchersch Lebensmittelsicherh 3, 152-158.

Großfeld, R., Sieg, B., Struckmann, C., Frenzel, A., Maxwell, W.M.C., Rath, D. (2008) New aspects of boar semen freezing strategies. Theriogenology 70, 1225-1233.

Guohong, C., Wenbin, B., Jingting, S., Congliang, J., Minqiang, W., Eding, H., Muchadeyi, F., Weigend, S. (2008) Assessment of population structure and genetic diversity of 15 Chinese indigenous chicken breeds using microsatellite markers. Asian-Aust J Anim Sci 21, 331-339.

Haist, V., Seehusen, F., Moser, I., Hotzel, H., Deschl, U., Baumgartner, W., Wohlsein, P. (2008) *Mycobacterium avium subsp hominissuis* infection in 2 pet dogs, Germany. Emerg Infect Dis 14, 988-990.

Heindl, P., Garcia, A.F., Butz, P., Trierweiler, B., Voigt, H., Pfaff, E., Tauscher, B. (2008) High pressure/temperature treatments to inactivate highly infectious prion subpopulations. Innov Food Sci Emerg Technol 9, 290-297.

Heiseke, A., Schobel, S., Lichtenthaler, S.F., Vorberg, I., Groschup, M.H., Kretzschmar, H., Schätzl, H.M., Nunziante, M. (2008) The novel sorting nexin SNX33 interferes with cellular PrPSc formation by modulation of PrPc shedding. Traffic 9, 1116-1129.

Hendrickx, G., Gilbert, M., Staubach, C., Elbers, A., Mintiens, K., Gerbier, G., Ducheyne, E. (2008) A wind density model to quantify the airborne spread of *Culicoides* species during North-Western Europe bluetongue epidemic, 2006. Prev Vet Med 87, 162-181.

Henning, K., Reinhold, P., Hotzel, H., Moser, I. (2008) Outbreak of a *Chlamydophila psittaci* infection in laboratory rats. Bull Vet Inst Pulawy 52, 347-349.

Hillmann, E., Schrader, L., Mayer, C., Gygax, L. (2008) Effects of weight, temperature and behaviour on the circadian rhythm of salivary cortisol in growing pigs. Animal 2, 405-409.

Hoffmann, B., Sasserath, M., Thalheim, S., Bunzenthal, C., Strebelow, G., Beer, M. (2008) Bluetongue virus serotype 8 reemergence in Germany, 2007 and 2008. Emerg Infect Dis 14, 1421-1423.

Hofmann, J., Meisel, H., Klempa, B., Vesenbeckh, S.M., Beck, R., Michel, D., Schmidt-Chanasit, J., Ulrich, R.G., Grund, S., Enders, G., Krüger, D.H. (2008) Hantavirus outbreak, Germany, 2007. Emerg Infect Dis 14, 850-852.

Honnens, A., Niemann, H., Paul, V., Meyer, H.H.D., Bollwein, H. (2008) Doppler sonography of the uterine arteries during a superovulatory regime in cattle – Uterine blood flow in superovulated cattle. Theriogenology 70, 859-867.

Honnens, A., Voss, C., Herzog, K., Niemann, H., Rath, D., Bollwein, H. (2008) Uterine blood flow during the first 3 weeks of pregnancy in dairy cows. Theriogenology 70,1048-1056.

Jensen, P., Buitenhuis, B., Kjaer, J., Zanella, A., Mormede, P., Pizzari, T. (2008) Genetics and genomics of animal behaviour and welfare - Challenges and possibilities. Appl Anim Behav Sci 113, 383-403.

Johnson, N., Freuling, C., Vos, A., Un, H., Valtchovski, R., Turcitu, M., Dumistrescu, F., Vuta, V., Velic, R., Sandrac, V., Aylan, O., Müller, T., Fooks, A.R. (2008) Epidemiology of Rabies in Southeast Europe. Dev Biol 131, 189-198.

Johnson, N., Vos, A., Neubert, L., Freuling, C., Mansfield, K.L., Kaipf, I., Denzinger, A., Hicks, D., Nunez, A., Franka, R., Rupprecht, C.E., Müller, T., Fooks, A.R. (2008) Experimental study of European bat lyssavirus type-2 infection in Daubenton's bats *(Myotis daubentonii)*. J Gen Virol 89, 2662-2672.

Jores, J., Derocher, A.E., Staubach, C., Aschfalk, A. (2008) Occurrence and prevalence of *Clostridium perfringens* in polar bears from Svalbard, Norway. J Wildl Dis 44, 155-158.

Juling, K., Schwarzenbacher, H., Frankenberg, U., Ziegler, U., Groschup, M., Williams, J.L., Fries, R. (2008) Characterization of a 320-kb region containing the HEXA gene on bovine chromosome 10 and analysis of its association with BSE susceptibility. Anim Genet 39, 400-406.

Kaden, V., Lange, E., Faust, A. (2008) Oral vaccination against classical swine fever with a chimeric Pestivirus: comparative investigations of liquid and lyophilized virus. Eur J Wildl Res 54, 237-244.

Kaden, V., Lange, E., Starick, E., Bruer, W., Krakowski, W., Klopries, M. (2008) Epidemiological survey of swine influenza A virus in selected wild boar populations in Germany. Vet Microbiol 131, 123-132.

Kaden, V., Lange, E., Steyer, H., Lange, B., Klopfleisch, R., Teifke, J.P., Bruer, W. (2008) Classical swine fever virus strain „C" protects the offspring by oral immunisation of pregnant sows. Vet Microbiol 130, 20-27.

Kadlec, K., Schwarz, S. (2008) Analysis and distribution of class 1 and class 2 integrons and associated gene cassettes among *Escherichia coli* isolates from swine, horses, cats and dogs collected in the BfT-GermVet monitoring study. J Antimicrob Chemother 62, 469-473.

Kalthoff, D., Granzow, H., Trapp, S., Beer, M. (2008) The UL49 gene product of BoHV-1: a major factor in efficient cell-to-cell spread. J Gen Virol 89, 2269-2274.

Kalthoff, D., Breithaupt, A., Teifke, J.P., Globig, A., Harder, T., Mettenleiter, T.C., Beer, M. (2008) Highly pathogenic avian influenza virus (H5N1) in experimentally infected adult mute swans. Emerg Infect Dis 14, 1267-1270.

Kalthoff, D., Hoffmann, B., Harder, T., Durban, M., Beer, M. (2008) Experimental infection of cattle with highly pathogenic avian influenza virus (H5N1). Emerg Infect Dis 14, 1132-1134.

Keese, C., Meyer, U., Rehage, J., Spilke, J., Boguhn, J., Breves, G., Dänicke, S. (2008) On the effects of the concentrate proportion of dairy cow rations in the presence and absence of a *Fusarium* toxin-contaminated triticale on cow performance. Arch Anim Nutr 62, 241-262.

Keese, C., Meyer, U., Rehage, J., Spilke, J., Boguhn, J., Breves, G., Dänicke, S. (2008) Ruminal fermentation patterns and parameters of the acid base metabolism in the urine as influenced by the proportion of concentrate in the ration of dairy cows with and without *Fusarium* toxin-contaminated triticale. Arch Anim Nutr 62, 287-302.

Keese, C., Meyer, U., Valenta, H., Schollenberger, M., Starke, A., Weber, I.A., Rehage, J., Breves, G., Dänicke, S. (2008) No carry over of unmetabolised deoxynivalenol in milk of dairy cows fed high concentrate proportions. Mol Nutr Food Res 52, 1514-1529.

Kehrenberg, C., Friederichs, S., de Jong, A., Schwarz, S. (2008) Novel variant of the qnrB gene, qnrB9, in *Citrobacter werkmanii*. Antimicrob Agents Chemother 52, 1206-1207.

Kehrenberg, C., Wallmann, J., Schwarz, S. (2008) Molecular analysis of florfenicol-resistant *Pasteurella multocida isolates* in Germany. J Antimicrob Chemother 62, 951-955.

Kikuvi, G.M., Ombui, J.N., Mitema, E.S., Schwarz, S., Kehrenberg, C. (2008) Genetic basis, transferability and linkage of streptomycin and sulphonamide resistance genes in *Escherichia coli* from food of animal origin in Kenya. Bull Anim Health Prod Afr 56, 56-66.

Kiossis, E., Sotiraki, S., Brozos, C.N., Samartzi, F., Schares, G., Conraths, F.J. (2008) Detection of the *Neospora caninum* infection in Greek dairy cattle herds. Reprod Dom Anim 43, 18-19.

Kirsch, P., Nusser, P., Hotzel, H., Moser, I. (2008) *Mycobacterium gordonae* as potential cause of granulomatous lesions of the tiptoes in the South African clawed frog *(Xenopus laevis)*. Berl Münch Tierärztl Wschr 121, 270-277.

Kirschvink, N., Reinhold, P. (2008) Use of alternative animals as asthma models. Curr Drug Targets 9, 470-484.

Klein, S., Grossmann, R. (2008) Galanin immunoreactivity increased in chicken supraoptic neurons after activation of the vasotocin system at oviposition. Comp Biochem Physiol (A) 149, 411-419.

Klein, S., Grossmann, R. (2008) Primary sex ratio in fertilized chicken eggs *(Gallus gallus domesticus)* depends on reproductive age and selection. J Exp Zool 309A, 35-46.

Klein, S., Grossmann, R. (2008) Cell number and sex ratio in unfertilized chicken eggs *(Gallus gallus domesticus)* J Exp Zool 309A, 47-54.

Klingen, Y., Conzelmann, K.K., Finke, S. (2008) Double-labeled rabies virus: Live tracking of enveloped virus transport. J Virol 82, 237-245.

Klupp, B., Altenschmidt, J., Granzow, H., Fuchs, W., Mettenleiter, T.C. (2008) Glycoproteins required for entry are not necessary for egress of pseudorabies virus. J Virol 82, 6299-6309.

Kock, H., Fischer, U. (2008) A novel immunoglobulin-like transcript from rainbow trout with two Ig-like domains and two isoforms. Mol Immunol 45, 1612-1622.

Köhler, H., Burkert, B., Pavlik, I., Diller, R., Geue, L., Conraths, F.J., Martin, G. (2008) Evaluation of five ELISA test kits for the measurement of antibodies against *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in bovine serum. Berl Münch Tierärztl Wschr 121, 203-210.

Köhler, P., Storandt, R., Pulz, O. (2008) Untersuchungen zum Einfluss einer Algen-Supplementierung auf die Reproduktionsleistung von Sauen sowie die Parameter der Ferkelaufzucht. Acta Agronomica Óváriensis 50, 53-66.

Koppers-Lalic, D., Verweij, M.C., Lipinska, A.D., Wang, Y., Quinten, E., Reits, E.A., Koch, J., Loch, S., Rezende, M.M., Daus, F., Bienkowska-Szewczyk, K., Osterrieder, N., Mettenleiter, T.C., Heemskerk, M.H.M., Tampe, R., Neefjes, J.J., Chowdhury, S.I., Ressing, M.E., Rijsewijk, F.A.M., Wiertz, E.J.H.J. (2008) Varicellovirus UL49.5 proteins differentially affect the function of the transporter associated with antigen processing, TAP. PLoS Pathog. 4.

Kothlow, S., Häuslaigner, R., Kaspers, B., Grund, C. (2008)

Evaluation of Newcastle disease virus immunoassays for waterfowl using a monoclonal antibody specific for the duck immunoglobulin light chain. Avian Pathol 37, 323-328.

Kranendonk, G., Mulder, E.J.H., Parvizi, N., Taverne, M.A.M. (2008) Prenatal Stress in Pigs: Experimental Approaches and Field Observations. Exp Clin Endocrinol Diabetes 116, 413-422.

Krause, E.T., Naguib, M., Petow, S. (2008) Effects of intra-hippocampal D-AP5 injections on one trial passive avoidance learning in adult laying hens *(Gallus gallus domesticus)*. Acta Neurobiol Exp 68, 494-501.

Krautwald, M., Maresch, C., Klupp, B.G., Fuchs, W., Mettenleiter, T.C. (2008) Deletion or green fluorescent protein tagging of the pUL35 capsid component of pseudorabies virus impairs virus replication in cell culture and neuroinvasion in mice. J Gen Virol 89, 1346-1351.

Kues, W.A., Rath, D., Niemann, H. (2008) Reproductive biotechnology in farm animals goes genomics. CAB Reviews 3, 1-18.

Kues, W.A., Sudheer, S., Herrmann, D., Carnwath, J.W., Havlicek, V., Besenfelder, U., Lehrach, H., Adjaye, J., Niemann, H. (2008) Genome-wide expression profiling reveals distinct clusters of transcriptional regulation during bovine preimplantation development *in vivo*. Proc Natl Acad Sci USA 105, 19768-19773.

Kuhn, J., Leege, T., Klupp, B.G., Granzow, H., Fuchs, W., Mettenleiter, T.C. (2008) Partial functional complementation of a pseudorabies virus UL25 deletion mutant by herpes simplex virus type 1 pUL25 indicates overlapping functions of alphaherpesvirus pUL25 proteins. J Virol 82, 5725-5734.

Kusec, G., Kralik, G., Djurkin, I., Baulin, U., Kallweit, E. (2008) Optimal slaughter weight of pigs assessed by means of the asymmetric S-curve. Czech J Anim Sci 53, 98-105.

Lämmermann, T., Bader, B.L., Monkley, S.J., Worbs, T., Wedlich-Söldner, R., Hirsch, K., Keller, M., Förster, R., Critchley, D.R., Fässler, R., Sixt, M. (2008) Rapid leukocyte migration by integrin-independent flowing and squeezing. Nature 453, 51-55.

Laroucau, K., Thierry, S., Vorimore, F., Blanco, K., Kaleta, E., Hoop, R., Magnino, S., Vanrompay, D., Sachse, K., Myers, G.S.A., Bavoil, P.M., Vergnaud, G., Pourcel, C. (2008) High resolution typing of *Chlamydophila psittaci* by multilocus VNTR analysis (MLVA). Infect Genet Evol 8, 171-181.

Leliveld, S. R., Stitz, L., Korth, C. (2008) Expansion of the octarepeat domain alters the misfolding pathway but not the folding pathway of the prion protein. Biochemistry 47, 6267-6278.

Li, L.A., Xia, D., Wei, S., Li, X., Parvzi, N., Zhao, R.Q. (2008) Diminished expression of ACTH signalling proteins and steriodogenic limiting factors in adrenocortical cells isolated from halothane^{nn} pigs. Dom Anim Endocrinol 35, 1-7.

Ludwig, S., Planz, O. (2008) Influenza viruses and the NF-κB signalling pathway – towards a novel concept of antiviral therapy. Biol Chem 389, 1307-1312.

Maan, S., Maan, N.S., Ross-Smith, N., Batten, C.A., Shaw, A.,E., Anthony, S.J., Samuel, A.R., Darpel, K.E., Veronesi, E., Oura, C.A.L., Singh, K.P., Nomikou, K., Potgieter, A.C., Attoui, H., van Rooij, E., van Rijn, P., De Clercq, K., Vandenbussche, F., Zientara, S., Breard, E., Sailleau, C., Beer, M., Hoffmann, B., Mellor, P.S., Mertens, P.P.C. (2008) Sequence analysis of bluetongue virus serotype 8 from the Netherlands 2006 and comparison to other European strains. Virology 377, 308-318.

Makoschey, B., Beer, M., Zientara, S., Haubruge, E., Rinaldi, L., Dercksen, D., Millemann, Y., van Rijn, P., De Clercq, K., Oura, C.A.L., Saegerman, C., Domingo, M., Sanchez-Vizcaino, J.M., Mehlhorn, H., Tamba, M., Thiry, E. (2008) Bekämpfung der Blauzungenkrankheit – Eine neue Herausforderung für Europa. Berl Münch Tierärztl Wschr 121, 306-313.

Marschall, J., Schulz, B., Harder, T.C., Vahlenkamp, T.W., Hübner, J., Huisinga, E., Hartmann, K. (2008) Prevalence of influenza A H5N1 virus in cats from areas with occurrence of highly pathogenic avian influenza in birds. J Feline Med Surg 10, 355-358.

McElhinney, L.M., Marston, D.A., Stankov, S., Tu, C., Black, C., Johnson, N., Jiang, Y., Tordo, N., Müller, T., Fooks, A.R. (2008) Molecular Epidemiology of Lyssaviruses in Eurasia. Dev Biol 131, 125-131.

Meroc, E., Faes, C., Herr, C., Staubach, C., Verheyden, B., Vanbinst, T., Vandenbussche, F., Hooyberghs, J., Aerts, A., De Clercq, K., Mintiens, K. (2008) Establishing the spread of bluetongue virus at the end of the 2006 epidemic in Belgium. Vet Microbiol 131, 133-144.

Mészárosová, M., Sirotkin, A.V., Grossmann, R., Darlak, K., Valenzuela, F. (2008) The effect of obestatin on porcine ovarian granulosa cells. Anim Reprod Sci 108, 196-207.

Methner, U., Rabsch, W., Reissbrodt, R., Williams, P.H. (2008) Effect of norepinephrine on colonisation and systemic spread of *Salmonella enterica* in infected animals: Role of catecholate siderophore precursors and degradation products. Int J Med Microbiol 298, 429-439.

Meyer, U., Weigel, K., Schöne, F., Leiterer, M., Flachowsky, G. (2008) Effect of dietary iodine on growth and iodine status of growing fattening bulls. Livestock Sci 115, 219-225.

Michael, G.B., Cardoso, M., Schwarz, S. (2008) Molecular analysis of multiresistant porcine *Salmonella enterica* subsp. *Enterica* serovar Bredeney isolates from Southern Brazil: identification of resistance genes, integrons and a group II intron. Int J Antimicrob Agents 32, 120-129.

Mintiens, K., Meroc, E., Faes, C., Abrahantes, J.C., Hendrickx, G., Staubach, C., Gerbier, G., Elbers, A.R.W., Aerts, M., De Clercq, K. (2008) Impact of human interventions on the spread of bluetongue virus serotype 8 during the 2006 epidemic in North-Western Europe. Prev Vet Med 87, 145-161.

Mintiens, K., Meroc, E., Mellor, P.S., Staubach, C., Gerbier, G., Elbers, A.R.W., Hendrickx, G., De Clercq, K. (2008) Possible routes of introduction of bluetongue virus serotype 8 into the epicentre of the 2006 epidemic in North-Western Europe. Prev Vet Med 87, 131-144.

Möbius, P., Hotzel, H., Rassbach, A., Köhler, H. (2008) Comparison of 13 single-round and nested PCR assays targeting IS900, ISMav2, f57 and locus 255 for detection of *Mycobacterium avium* subsp *paratuberculosis*. Vet Microbiol 126, 324-333.

Möbius, P., Luyven, G., Hotzel, H., Köhler, H. (2008) High genetic diversity among *Mycobacterium avium* subsp *paratuberculosis* strains from German cattle herds shown by combination of IS900 restriction fragment length polymorphism analysis and mycobacterial interspersed repetitive unit-variable-number tandem-repeat typing. J Clin Microbiol 46, 972-981.

Moser, I., Prodinger, W.M., Hotzel, H., Greenwald, R., Lyashchenko, K.R., Bakker, D., Gomis, D., Seidler, T.,

Ellenberger, C., Hetzel, U., Wuennemann, K., Moisson, P. (2008) *Mycobacterium pinnipedii*: Transmission from South American sea lion *(Otaria byronia)* to Bactrian camel *(Camelus bactrianus bactrianus)* and Malayan tapirs *(Tapirus indicus)*. Vet Microbiol 127, 399-406.

Muchadeyi, F.C., Eding, H., Simianer, H., Wollny, C.B.A., Groeneveld, E., Weigend, S. (2008) Mitochondrial DNA D-loop sequences suggest a Southeast Asian and Indian origin of Zimbabwean village chickens. Anim Genet 39, 615-622.

Müller, H., Stitz, L., Riesner, D. (2008) Prion decontamination during the oleochemical process of fat hydrogenation. Eur J Lipid Sci Technol 110, 392-399.

Nakayama, A., Riesen, I., Köllner, B., Eppler, E., Segner, H. (2008) Surface marker-defined head kidney granulocytes and B lymphocytes of rainbow trout express benzo[a]pyrene-inducible cytochrome P4501A protein. Toxicol Sci 103, 86-96.

Nakhai, H., Siveke, J.T., Klein, B., Mendoza-Torres, L., Mazur, P.K., Algul, H., Radtke, F., Strobl, L., Zimber-Strobl, U., Schmid, R.M. (2008) Conditional ablation of Notch signaling in pancreatic development. Development 135, 2757-2765.

Nicholas, R.A.J., Lin, Y.C., Sachse, K., Hotzel, H., Parham, K., McAuliffe, L., Miles, R.J., Kelly, D.P., Wood, A.P. (2008) Proposal that the strains of the *Mycoplasma* ovine/caprine serogroup 11 be reclassified as *Mycoplasma bovigenitalium*. Int J Syst Evol Microbiol 58, 308-312.

Niemann, H., Tian, X.C., King, W.A., Lee, R.S.F. (2008). Epigenetic reprogramming in embryonic and foetal development upon somatic cell nuclear transfer. Reproduction 135, 51-163.

Nowak-Imialek, M., Wrenzycki, C., Herrmann, D., Lucas-Hahn, A., Lagutina, I., Lemme, E., Lazzari, G., Galli, C., Niemann, H. (2008) Messenger RNA expression patterns of histone-associated genes in bovine preimplantation embryos derived from different origins. Mol Reprod Dev 75, 731-743.

Ovelhey, A., Beyerbach, M., Schael, J., Selhorst, T., Kramer, M., Kreienbrock, L. (2008) Risk factors for BSE-infections in Lower Saxony, Germany. Prev Vet Med 83, 196-209.

Panning, M., Kilwinski, J., Greiner-Fischer, S., Peters, M., Kramme, S., Frangoulidis, D., Meyer, H., Henning, K., Drosten, C. (2008) High throughput detection of *Coxiella burnetii* by real-time PCR with internal control system and automated DNA preparation. BMC Microbiol 8.

Petersen, B., Lucas-Hahn, A., Oropeza, M., Hornen, N., Lemme, E., Hassel, P., Queisser, A.L., Niemann, H. (2008) Development and validation of a highly efficient protocol of porcine somatic cloning using preovulatory embryo transfer in peripubertal gilts. Cloning Stem Cells 10, 355-362.

Petraityte, R., Yang, H., Hunjan, R., Razanskiene, A., Dhanilall, P., Ulrich, R.G., Sasnauskas, K., Jin, L. (2008) Development and evaluation of serological assays for detection of Hantaan virus-specific antibodies in human sera using yeast-expressed nucleocapsid protein. J Virol Methods 148, 89-95.

Pieper, J., Methner, U., Berndt, A. (2008) Heterogeneity of avian gamma delta T cells. Vet Immunol Immunopathol 124, 241-252.

Prokudina, E. N., Semenova, N., Chumakov, V., Stitz, L. (2008) An antigenic epitope of influenza virus nucleoprotein (NP) associated with polymeric forms of NP. Virol J 5, 37.

Puhler, F., Willuda, J., Puhlmann, J., Mumberg, D., Römer-Oberdörfer, A., Beier, R. (2008) Generation of a recombinant oncolytic Newcastle disease virus and expression of a full IgG antibody from two transgenes. Gene Ther 15, 371-383.

Racedo, S., Wrenzycki, C., Herrmann, D., Salamone, D., Niemann, H. (2008) Effects of follicle size and stages of maturation on mRNA expression in bovine *in vitro* matured oocytes. Mol Reprod Dev 75, 17-25.

Ramljak, S., Asif, A.R., Armstrong, V.W., Wrede, A., Groschup, M.H., Buschmann, A., Schulz-Schaeffer, W., Bodemer, W., Zerr, I. (2008) Physiological role of the cellular prion protein (PrPc): Protein profiling study in two cell culture systems. J Proteome Res 7, 2681-2695.

Rasmussen, T. B., Reimann, I., Hoffmann, B., Depner, K., Uttenthal, A., Beer, M. (2008) Direct recovery of infectious Pestivirus from a full-length RT-PCR amplicon. J Virol Methods 149, 330-333.

Rath, D., Johnson, L.A. (2008) Application and commercialization of flow cytometrically sex-sorted semen. Reprod Dom Anim 43 (Suppl 2), 338-346.

Rath, D., Schuberth, H.J., Coy, P., Taylor, U. (2008) Sperm interactions from insemination to fertilization. Reprod Dom Anim 43 (Suppl 5), 2-11.

Rebl, A., Hoyheim, B., Fischer, U., Köllner, B., Siegl, E., Seyfert, H.M. (2008) Tollip, a negative regulator of TLR-signalling, is encoded by twin genes in salmonid fish. Fish Shellfish Immunol 25, 153-162.

Rehfeldt, C., Henning, M., Fiedler, I. (2008) Consequences of pig domestication for skeletal muscle growth and cellularity. Livestock Sci 116, 30-41.

Reinhold, P., Kirschvink, N., Theegarten, D., Berndt, A. (2008) An experimentally induced *Chlamydia suis* infection in pigs results in severe lung function disorders and pulmonary inflammation. Vet Res 39, 35.

Reinhold, P., Jäger, J., Liebler-Tenorio, E., Berndt, A., Bachmann, R., Schubert, E., Melzer, F., Elschner, M., Sachse, K. (2008) Impact of latent infections with *Chlamydophila* species in young cattle. Vet J 175, 202-211.

Richter, P., Junker, K., Franz, M., Berndt, A., Geyer, C., Gajda, M., Kosmehl, H., Berndt, A., Wunderlich, H. (2008) IIICS de novo glycosylated fibronectin as a marker for invasiveness in urothelial carcinoma of the urinary bladder (UBC). J Cancer Res Clin Oncol 134, 1059-1065.

Rönchen, S., Scholz, B., Hamann, H., Distl, O. (2008) Fat status in Lohmann Silver and Lohmann Tradition laying hens kept in modified small group housing systems, small group housing systems, furnished cages and an aviary system. Berl Münch Tierärztl Wschr 121, 11-18.

Römer-Oberdörfer, A., Veits, J., Helferich, D., Mettenleiter, T.C. (2008) Level of protection of chickens against highly pathogenic H5 avian influenza virus with Newcastle disease virus based live attenuated vector vaccine depends on homology of H5 sequence between vaccine and challenge virus. Vaccine 26, 2307-2313.

Rosenkranz, D., Klupp, B.G., Teifke, J.P., Granzow, H., Fichtner, D., Mettenleiter, T.C., Fuchs, W. (2008) Identification of envelope protein pORF81 of koi herpesvirus. J Gen Virol 89, 896-900.

Rupprecht, C.E., Barrett, J., Briggs, D., Cliquet, F., Fooks, A.R., Lumlertdacha, B., Meslin, F.X., Müller, T., Nel, L.H., Schneider, C., Tordo, N., Wandeler, A.I. (2008) Can Rabies Be Eradicated? Dev Biol 131, 95-122.

Sachse, K., Laroucau, K., Hotzel, H., Schubert, E., Ehricht, R.,

Slickers, P. (2008) Genotyping of *Chlamydophila psittaci* using a new DNA microarray assay based on sequence analysis of ompA genes. BMC Microbiol 8, 63.

Schares, G., Globokar Vrhovec, M., Pantchev, N., Herrmann, D.C., Conraths, F.J. (2008) Occurrence of *Toxoplasma gondii* and *Hammondia hammondi* oocysts in the faeces of cats from Germany and other European countries. Vet Parasitol 152, 34-45.

Schares, G., Herrmann, D.C., Beckert, A., Schares, S., Hosseininejad, M., Pantchev, N., Globokar Vrhovec, M., Conraths, F.J. (2008) Characterization of a repetitive DNA fragment in *Hammondia hammondi* and its utility for the specific differentiation of *H. hammondi* from *Toxoplasma gondii* by PCR. Mol Cell Probes 22, 244-251.

Schierack, P., Walk, N., Ewers, C., Wilking, H., Steinruck, H., Filter, M., Wieler, L.H. (2008) ExPEC-typical virulence-associated genes correlate with successful colonization by intestinal *E-coli* in a small piglet group. Environm Microbiol 10, 1742-1751.

Schmidt-Chanasit, J., Bleymehl, K., Schäd, S.G., Gross, G., Ulrich, R.G., Doerr, H.W. (2008) Novel varicella-zoster virus glycoprotein E gene mutations associated with genotypes A and D. J Clin Microbiol 46, 325-327.

Schmidt-Chanasit, J., Olschläger, S., Günther, S., Jaeger, G., Bleymehl, K., Schäd, S.G., Heckel, G., Ulrich, R.G., Doerr, H.W. (2008) Molecular analysis of varicella-zoster virus strains circulating in Tanzania demonstrating the presence of genotype M1. J Clin Microbiol 46, 3530-3533.

Schmidt-Chanasit, J., Bleymehl, K., Rabenau, H.F., Ulrich, R.G., Cinatl, J., Doerr, H.W. (2008) *In vitro* replication of varicella-zoster virus in human retinal pigment epithelial cells. J Clin Microbiol 46, 2122-2124.

Schmidt-Chanasit, J., Meisel, H., Hofmann, J., Rang, A., Lambrecht, E., Ulrich, R.G., Doerr, H.W. (2008) Clinical course and laboratory parameters of the first Dobrava-Belgrade hantavirus infection imported to Germany. J Clin Virol 42, 91-93.

Schönrich, G., Rang, A., Lutteke, N., Raftery, M.J., Charbonnel, N., Ulrich, R.G. (2008) Hantavirus-induced immunity in rodent reservoirs and humans. Immunol Rev 225, 163-189.

Scholz, B., Rönchen, S., Hamann, H., Hewicker-Trautwein, M., Distl, O. (2008) Keel bone condition in laying hens: a histological evaluation of macroscopically assessed keel bones. Berl Münch Tierärztl Wschr 121, 89-94.

Scholz, H. C., Al Dahouk, S., Tomaso, H., Neubauer, H., Witte, A., Schloter, M., Kampfer, P., Falsen, E., Pfeffer, M., Engel, M. (2008) Genetic diversity and phylogenetic relationships of bacteria belonging to the *Ochrobactrum-Brucella* group by recA and 16S rRNA gene-based comparative sequence analysis. Syst Appl Microbiol 31, 1-16.

Scholz, H.C., Hubalek, Z., Nesvadbova, J., Tomaso, H., Vergnaud, G., Le Flèche, P., Whatmore, A.M., Al Dahouk, S., Krüger, M., Lodri, C., Pfeffer, M. (2008) Isolation of *Brucella microti* from soil. Emerg Infect Dis 14, 1316-1317.

Scholz, H.C., Hubalek, Z., Sedlacek, I., Vergnaud, G., Tomaso, H., Al Dahouk, S., Melzer, F., Kampfer, P., Neubauer, H., Cloeckaert, A., Maquart, M., Zygmunt, M.S., Whatmore, A.M., Falsen, E., Bahn, P., Gollner, C., Pfeffer, M., Huber, B., Busse, H.J., Nöckler, K. (2008) *Brucella microti* sp nov., isolated from the common vole *Microtus arvalis*. Int J Syst Evol Microbiol 58, 375-382.

Scholz, H.C., Pfeffer, M., Witte, A., Neubauer, H., Al Dahouk, S., Wernery, U., Tomaso, H. (2008) Specific detection and differentiation of *Ochrobactrum anthropi*, *Ochrobactrum intermedium* and *Brucella* spp. by a multi-primer PCR that targets the recA gene. J Med Microbiol 57, 64-71.

Schuberth, H.J., Taylor, U., Zerbe, H., Waberski, D., Hunter, R., Rath, D. (2008) Immunological responses to semen in the female genital tract. Theriogenology 70, 1174-1181.

Schulze, C., Bensch, M., Winterhoff, N., Ansorge, H., Teifke, J.P. (2008) Gingival fibromatosis (hereditary hyperplastic gingivitis) in a wild European red fox *(Vulpes vulpes)*. Dtsch Tierärztl Wochenschr 115, 471-474.

Schwarz, S., Böttner, A., Goossens, L., Hafez, H.M., Hartmann, K., Kaske, M., Kehrenberg, C., Kietzmann, M., Klarmann, D., Klein, G., Krabisch, P., Luhofer, G., Richter, A., Schulz, B., Sigge, C., Waldmann, K.-H., Wallmann, J., Werckenthin, C. (2008) A proposal of clinical breakpoints for amoxicillin applicable to porcine respiratory tract pathogens. Vet Microbiol 126, 178-188.

Schwarz, S., Kadlec, K., Strommenger, B. (2008) Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* detected in the BfT-GermVet monitoring programme 2004-2006 in Germany. J Antimicrob Chemother 61, 282-285.

Semenova, N.P., Prokudina, E.N., Chumakov, V.M., Grigoreva, T.A., Stitz, L. (2008) Native and renatured oligomer-dependent epitopes of intracellular influenza virus nucleocapsid protein. Vopr Virusol 53, 21-24.

Sendag, S., Cetin, Y., Alan, M., Hadeler, K.G., Niemann, H. (2008) Effects of eCG and FSH on ovarian response, recovery rate and number and quality of oocytes obtained by ovum pick-up in Holstein cows. Anim Reprod Sci 106, 208-214.

Simon, S., Lamoureux, L., Plews, M., Stobart, M., LeMaistre, J., Ziegler, U., Graham, C., Czub, S., Groschup, M.H., Knox, J.D. (2008) The identification of disease-induced biomarkers in the urine of BSE infected cattle. Proteome Sci 6.

Sironi, L., Williams, J.L., Moreno-Martin, A.M., Ramelli, P., Stella, A., Han, J.L., Weigend, S., Lombardi, G., Cordioli, P., Mariani, P. (2008) Susceptibility of different chicken lines to H7N1 highly pathogenic avian influenza virus and the role of Mx gene polymorphism coding amino acid position 631. Virology 380, 152-156.

Sirotkin, A.V., Grossmann, R. (2008) Effects of ghrelin and its analogues on chicken ovarian granulosa cells. Dom Anim Endocrinol 34, 125-134.

Sirotkin, A.V., Grossmann, R. (2008) The involvement of leptin, MAP kinase- and CDC2 kinase-dependent intracellular mechanisms in the control of hormone release by chicken ovarian granulosa cells. Slovak J Anim Sci 1, 6-11.

Skiba, M., Mettenleiter, T.C., Karger, A. (2008) Quantitative whole-cell proteome analysis of pseudorabies virus-infected cells. J Virol 82, 9689-9699.

Smith, G.C., Thulke, H.H., Fooks, A.R., Artois, M., Macdonald, D.W., Eisinger, D., Selhorst, T. (2008) What is the future of wildlife rabies control in Europe? Dev Biol 131, 283-289.

Sotiraki, S., Brozos, C., Samartzi, F., Schares, G., Kiossis, E., Conraths, F.J. (2008) *Neospora caninum* infection in Greek dairy cattle herds detected by two antibody assays in individual milk samples. Vet Parasitol 152, 79-84.

Spolders, M., Sun, H., Waehner, M., Gruen, M., Rehage, J.,

Flachowsky, G. (2008) Einfluss unterschiedlicher Kupfer- und Zinkversorgung auf deren Konzentrationen in Blutserum, Leber und Deckhaar bei Milchkühen. Berl Münch Tierärztl Wschr 121, 278-285.

Sprague, L.D., Scholz, H.C., Amann, S., Busse, H.J., Neubauer, H. (2008) *Yersinia similis* sp nov. Int J Syst Evol Microbiol 58, 952-958.

Starick, E., Beer, M., Hoffmann, B., Staubach, C., Werner, O., Globig, A., Strebelow, G., Grund, C., Durban, M., Conraths, F.J., Mettenleiter, T.C., Harder, T. (2008) Phylogenetic analyses of highly pathogenic avian influenza virus isolates from Germany in 2006 and 2007 suggest at least three separate introductions of H5N1 virus. Vet Microbiol 128, 243-252.

Stech, J. 2008. Attenuated influenza A viruses with modified cleavage sites in hemagglutinin as live vaccines. Expert Rev Vaccines 7, 739-743.

Stech, J., Stech, O., Herwig, A., Altmeppen, H., Hundt, J., Gohrbandt, S., Kreibich, A., Weber, S., Klenk, H.-D., Mettenleiter, T.C. (2008) Rapid and reliable universal cloning of influenza A virus genes by target-primed plasmid amplification. Nucl Acids Res 36, e139.

Stemme, K., Lebzien, P., Flachowsky, G., Scholz, H. (2008) The influence of an increased cobalt supply on ruminal parameters and microbial vitamin B-12 synthesis in the rumen of dairy cows. Arch Anim Nutr 62, 207-218.

Strobel, E., Seeling, K., Tebbe, C. (2008) Diversity responses of rumen microbial communities to *Fusarium*-contaminated feed, evaluated with rumen simulating technology. Environ Microbiol 10, 483-496.

Süss, J., Dobler, G., Zoeller, G., Essbauer, S., Pfeffer, M., Klaus, C., Liebler-Tenorio, E.M., Gelpi, E., Stark, B., Hotzel, H. (2008) Genetic characterisation of a tick-borne encephalitis virus isolated from the brain of a naturally exposed monkey *(Macaca sylvanus)*. Int J Med Microbiol 298, 295-300.

Süss, J., Kahl, O. (2008) Proceedings of the IXth International Jena Symposium on Tick-Borne Diseases (formerly IPS): Climate change and tick-borne diseases. Int J Med Microbiol 298, 3-4.

Süss, J. 2008. Tick-borne encephalitis in Europe and beyond - the epidemiological situation as of 2007. Eurosurveillance 13.

Sutor, A. 2008. Dispersal of the alien raccoon dog *Nyctereutes procyonoides* in Southern Brandenburg, Germany. Europ. J Wildl Res 54, 321-326.

Svarcova, O., Strejcek, F., Petrovicova, I., Avery, B., Pedersen, H.G., Lucas-Hahn, A., Niemann, H., Laurincik, J., Maddox-Hyttel, P. (2008) The role of RNA polymerase I transcription and embryonic genome activation in nucleolar development in bovine preimplantation embryos. Mol Reprod Dev 75, 1095-1103.

Taylor, U., Rath, D., Zerbe, H., Schuberth, H.J. (2008) Interaction of intact porcine spermatozoa with epithelial cells and neutrophilic granulocytes during uterine passage. Reprod Domest Anim 43, 166-175.

Teifke, J. P., Vahlenkamp, T.W. (2008) Nachweis von Bovinem Leukosevirus (BLV) in Gewebsproben natürlich und experimentell infizierter Rinder. Berl Münch Tierärztl Wschr 121, 263-269.

Theegarten, D., Albrecht, S., Totsch, M., Teschler, H., Neubauer, H., Al Dahouk, S. (2008) Brucellosis of the lung: case report and review of the literature. Virchows Arch 452, 97-101.

Thulke, H.H., Eisinger, D., Selhorst, T., Müller, T. (2008) Scenario-analysis Evaluating Emergency Strategies after Rabies Re-introduction. Dev Biol 131, 265-272.

Tiemann, U., Brussow, K.P., Muchenmeister, U., Jonas, L., Pohland, R., Reischauer, A., Jäger, K., Dänicke, S. (2008) Changes in the spleen and liver of pregnant sows and full-term piglets after feeding diets naturally contaminated with deoxynivalenol and zearalenone. Vet J 176, 188-196.

Tomaso, H., Thullier, P., Seibold, E., Guglielmo, V., Buckendahl, A., Rahalison, L., Neubauer, H., Scholz, H., Splettstoesser, W. (2007) In vitro evaluation of hand-held test kits, immunofluorescence microscopy, ELISA, and flow cytometric analysis for the rapid presumptive identification of *Yersinia pestis*. Int J Antimicrob Agents 29, S315-S316.

Tomaso, H., Jacob, D., Eickhoff, M., Scholz, H.C. Al Dahouk, S., Kattar, M.M., Reischl, U., Plicka, H., Olsen, J.S., Nikkari, S., Matero, P., Beuret, C., Ciammaruconi, A., Lista, F., Gala, J.L., Broll, H., Appel, B., Cano, R.E.S., de Villavicencio, M.D.Y., Broekhuijsen, M., Indra, A., Petersen, R., Neubauer, H. (2008) Preliminary validation of real-time PCR assays for the identification of *Yersinia pestis*. Clin Chem Lab Med 46, 1239-1244.

Ulrich, R.G., Schmidt-Chanasit, J., Schlegel, M., Jacob, J., Pelz, H.-J., Mertens, M., Wenk, M., Büchner, T., Masur, D., Sevke, K., Groschup, M.H., Gerstengarbe, F.-W., Pfeffer, M., Oehme, R., Wegener, W., Bemmann, M., Ohlmeyer, L., Wolf, R., Zoller, H., Koch, J., Brockmann, S., Heckel, G., Essbauer, S. (2008) Network „Rodent-borne pathogens“ in Germany: longitudinal studies on the geographical distribution and prevalence of hantavirus infections. Parasitol Res 103, S121-S129.

Utke, K., Kock, H., Schütze, H., Bergmann, S.M., Lorenzen, N., Einer-Jensen, K., Köllner, B., Dalmo, R.A., Vesely, T., Ototake, M., Fischer, U. (2008) Cell-mediated immune responses in rainbow trout after DNA immunization against the viral hemorrhagic septicemia virus. Dev Comp Immunol 32, 239-252.

Vahlenkamp, T.W., Harder, T.C., Giese, M., Lin, F., Teifke, J.P., Klopfleisch, R., Hoffmann, R., Tarpey, I., Beer, M., Mettenleiter, T.C. (2008) Protection of cats against lethal influenza H5N1 challenge infection. J Gen Virol 89, 968-974.

Van Dijk, A.J., Parvizi, N., Taverne, M.A.M., Fink-Gremmels, J. (2008) Placental transfer and pharmacokinetics of allopurinol in late pregnant sows and their fetuses. J Vet Pharmacol Therap 31, 489-495.

van Haver, E., Alink, G., Barlow, S., Cockburn, A., Flachowsky, G., Knudsen, I., Kuiper, H., Massin, D.P., Pascal, G., Peijnenburg, A., Phipps, R., Poting, A., Poulsen, M., Seinen, W., Spielmann, H., van Loveren, H., Wal, J.M., Williams, A. (2008) Safety and nutritional assessment of GM plants and derived food and feed: The role of animal feeding trials. Food Chem Toxicol 46, S2-S70.

Veits, J., Römer-Oberdörfer, A., Helferich, D., Durban, M., Suezer, Y., Sutter, G., Mettenleiter, T.C. (2008) Protective efficacy of several vaccines against highly pathogenic H5N1 avian influenza virus under experimental conditions. Vaccine 26, 1688-1696.

Verweij, M.C., Koppers-Lalic, D., Loch, S., Klauschies, F., de la Salle, H., Quinten, E., Lehner, P.J., Mulder, A., Knittler, M.R., Tampe, R., Koch, J., Ressing, J.E., Wiertz, E.J.H.J. (2008) The varicellovirus UL49.5 protein blocks the transporter associated with antigen processing (TAP) by inhibiting essential conformational transitions in the 6+6 transmembrane TAP core complex. J Immunol 181, 4894-4907.

Vincek, D., Durkin, I., Kralik, G., Petricevic, A. Baulain, U., Kusec, G. (2008) Influence of feeding regime on pig growth characteristics. Krmiva 50, 63-72.

von Rüden, S., Staubach, C., Kaden, V., Hess, R.G., Blicke, J., Kuhne, S., Sonnenburg, J., Fröhlich, A., Teuffert, J., Moennig, V. (2008) Retrospective analysis of the oral immunisation of wild boar populations against classical swine fever virus (CSFV) in region Eifel of Rhineland-Palatinate. Vet Microbiol 132, 29-38.

Vos, A., Selhorst, T., Schröder, R., Mulder, J. (2008) Feasibility of oral rabies vaccination campaigns of young foxes *(Vulpes vulpes)* against rabies in summer. Eur J Wildl Res 54, 763-766.

Watermann, B.T., Herlyn, M., Daehne, B., Bergmann, S., Meemken, M., Kolodzey, H. (2008) Pathology and mass mortality of Pacific oysters, *Crassostrea gigas* (Thunberg), in 2005 at the East Frisian coast, Germany. J Fish Dis 31, 621-630.

Werckenthin, C., Luhofer, G., Böttner, A., Gangl, A., Goossens, L., Hafez, H.M., Hartmann, K., Kaske, M., Kehrenberg, C., Kietzmann, M., Klarmann, D., Klein, G., Krabisch, P., Kühn, T., Richter, A., Schulz, B., Schwarz, S., Sigge, C., Traeder, W., Waldmann, K.-H., Wallmann, J. (2008) Belegung von Mikrotiterplatten zur Empfindlichkeitsprüfung von Bakterien gegenüber antimikrobiellen Wirkstoffen in der Routinediagnostik: Vorschlag für ein Layout zur Testung von Bakterien von Hunden und Katzen. Berl Münch Tierärztl Wschr 121, 19-26.

Werner, O., Harder, T., Veits, J., Römer-Oberdörfer, A., Fuchs, W., Beer, M., Conraths, F.-J., Mettenleiter, T.C. (2008) Avian influenza outbreaks in Germany - Development of new avian vaccines. Monogr Virol 27, 71-87.

Wijnker, J.J., Depner, K.R., Berends, B.R. (2008) Inactivation of classical swine fever virus in porcine casing preserved in salt. Int J Food Microbiol 128, 411-413.

Zerbe, F., Niemann, C., Scheithauer, E. (2008) Mastbullenhaltung - Alternativen in der Spaltbodenhaltung. Dtsch Tierärztl Wochenschr 115, 118-122.

Zientara, S., Bréard, E., Sailleau, C., Beer, M., Hoffmann, B., Mellor, P.S., Mertens, P.P. (2008) Sequence analysis of bluetongue virus serotype 8 from the Netherlands 2006 and comparison to other European strains. Virology 377, 308-318.

2.2 Veröffentlichungen in nicht referierten Zeitschriften

Achilles, W., Eurich-Menden, B., Schrader, L. (2008) Vorgehensweise bei der zusammenfassenden Darstellung und Wertung im Nationalen Bewertungsrahmen Tierhaltungsverfahren. KTBL-Schrift 462, 58-63.

Baulain, U., Gruber, S., Brandt, H. (2008) Wachstum und Produktqualität unterschiedlicher Genotypen für die ökologische Schweinefleischerzeugung. Rekasan-Journal 15, 132-134.

Bergmann, S.M., Fichtner, D., Riebe, R., Castric, J. (2008) First isolation and identification of Sleeping Disease Virus (SDV) in Germany. Bull Eur Ass Fish Pathol 28, 148-156.

Berk, A. (2008) Ernährung, Fütterung sowie nährstoffökonomische Aspekte: Futtermittelkundliche Aspekte. Landbauforschung, Sonderheft 322, 141-149.

Berk, A., Hüther, L. (2008) Zum Einsatz von Nebenprodukten der Biokraftstoffherstellung in der Mastschweinefütterung. Rekasan-Journal 15, 70-73.

Berk, A., Meyer, U. (2008) Alte und neue Nebenprodukte aus der Herstellung von Biokraftstoffen als Futtermittel. Schriftenr Inst Nutztierwiss, Ernährung-Produkte-Umwelt 30, 22-31.

Berk, A., Weiß, J. (2008) Rapsfuttermittel und Trockenschlempe in der Schweinemast. Veredelungsprod 1, 18-21.

Berk, J. (2008) Verhalten sowie Prävalenz und Schweregrad von Pododermatitis bei auf unterschiedlichen Einstreuarten gehaltenen Broilern. KTBL-Schrift 471, 116-124.

Berk, J., Feldhaus, L. (2008) Lignocellulose ist einen Versuch wert. DGS 23, 29-34.

Berk, J., Flock, D.K. (2008) Geflügelwirtschaft im Baltikum. DGS Magazin 1, 36-42.

Blazey, B., Grimm, J., Dauber, M., Schwabe, I., Süß-Dombrowski, C., Lohner, E., Sting, R. (2008) Infektionen mit dem Porzinen Teschovirus verursachen in der Regel keine Bestandserkrankungen mehr! Amtstierärztl Dienst Lebensmittelkontr 15, 272-276.

Bloem, E., Berk, A., Haneklaus, S., Selmar, D., Schnug, E. (2008) Influence of *Tropaeolum majus* supplements on growth and antimicrobial capacity of glucotropaeolin in piglets. Landbauforschung 58, 203-210.

Brade, W., Dämmgen, U., Flachowsky, G. (2008) Einfluss eines durch züchterische Maßnahmen veränderten Milchfett/ Milcheiweiß-Verhältnisses auf Treibhausgas-Emissionen in der Milcherzeugung. Züchtungskunde 80, 360-369.

Brade, W., Dämmgen, U., Lebzien, P., Flachowsky, G. (2008) Milcherzeugung und Treibhausgasemissionen: Konsequenzen für die künftige Milchrinderzüchtung in Deutschland? Tierärztl Umschau 63,189-199.

Buschmann, A., Hoffmann, C., Eiden, M., Gretzschel, A., Ziegler, U., Groschup, M.H. (2008) Übertragbare spongiforme Enzephalopathien bei Tieren - ein Update. Tierärztl Prax 36, 15-19.

Dänicke, S., Döll, S., Goyarts, T., Valenta, H., Ueberschär, K.-H., Flachowsky, G. (2008) Zur Beurteilung des Vorkommens der *Fusarium*-Toxine Deoxynivalenol (DON) und Zearalenon (ZON) sowie ihrer Metaboliten in physiologischen Substraten des Schweins. Tierärztl Prax 36(G), 35-47.

Didier, A., Gebert, R., Dietrich, R., Bellworthy, S., Hoffmann, C., Märtlbauer, E. (2008) Studie zum Vorkommen von Prion Proteinen im Euter und in der Milch. Tierärztl Umschau 63, 475-482.

Flachowsky, G. (2008) Ernährung, Fütterung sowie nährstoffökonomische Aspekte: Nährstoffökonomische und ökologische Betrachtungen bei der Eiererzeugung. Landbauforschung, Sonderheft 322, 159-171.

Flachowsky, G. (2008) Wie kommen wir zu CO2-Footprints für Lebensmittel tierischer Herkunft? Arch Tierzucht 51, 67-82.

Flachowsky, G. (2008) Treibhausgase und Ressourceneffizienz: Aspekte der Erzeugung von Lebensmitteln tierischer Herkunft. Ernährungs-Umschau 7, 414-419.

Flachowsky, G. (2008) Erwartungen an das „Mischfutter 2020“ aus der Sicht der Tierernährung: Teil 1. Mühle und Mischfutter 145, 46-51.

Flachowsky, G. (2008) Erwartungen an das „Mischfutter 2020“ aus der Sicht der Tierernährung: Teil 2. Mühle und Mischfutter 145, 102-107.

Flachowsky, G. (2008) Klimafragen: relevante Gase aus der Tierproduktion. Kraftfutter 91, 16-25.

Flachowsky, G., Lebzien, P. (2008) Fütterungsmaßnahmen zur Reduzierung der Stickstoff- und Methanausscheidungen bei Lebensmittel liefernden Tieren. KTBL-Schrift 472, 87-102.

Flachowsky, G., Lebzien, P. (2008) Lebensmittel liefernde Tiere und Treibhausgase: Möglichkeiten der Tierernährung zur Emissionsminderung. Übers Tierernähr 35, 191-231.

Flachowsky, G., Lebzien, P. (2008) Beiträge der Tierernährung zur Reduzierung der Stickstoff-, Phosphor- und Spurenelementausscheidungen bei Lebensmittel liefernden Tieren. Agrarspectrum 41, 75-93.

Flachowsky, G., Meyer, U., Brade, W. (2008) Tierproduktion und klimarelevante Gase – Quellen und Reduzierungspotenziale. Rekasan-Journal 15, 30-34.

Flachowsky, G., Schulz, E. (2008) Futtermitteluntersuchung und –bewertung im Hinblick auf die Entwicklung von Versorgungsempfehlungen für Lebensmittel liefernde Tiere. VDLUFA-Schriftenr 63, 43-58.

Frangoulidis, D., Kimmig, P., Wanger-Wienig, C., Henning, K. (2008) *Coxiella burnettii* (Q-Fieber). Mikrobiologisch-infektiologische Qualitätsstandards 27, 102-111.

Franke, K., Wagner, H., Meyer, U., Flachowsky, G. (2008) New investigations on the influence of the iodine dose, iodine antagonists and iodine species in the feed of dairy cattle on the iodine content of milk. Mitteilungsbl Fleischforsch Kulmbach 47, 199-202.

Freuling, C., Selhorst, T., Kliemt, A., Conraths, F.J., Müller, T. (2008) Deutschland tollwutfrei! Erfolgreiche Tierseuchenbekämpfung im Wildtierbereich. Forschungsreport Ernährung, Landwirtschaft, Verbraucherschutz 1/2008, 34-38.

Gethmann, J., Conraths, F.J., Staubach, C. (2008) Aktuelles zur Epidemiologie der Blauzungenkrankheit in Westeuropa. Landbauforschung, Sonderheft 320, 41-43.

Gruber, L., Susenbeth, A., Schwarz, F.J., Fischer, B., Spiekers, H., Steingaß, H., Meyer, U., Chassot, A., Jilg, T., Obermaier, A. (2008) Bewertung des NEL-Systems und Schätzung des Energiebedarfs von Milchkühen auf der Basis von umfangreichen Fütterungsversuchen in Deutschland, Österreich und der Schweiz. VDLUFA-Schriftenr 63, 477-500.

Hänel, I., Alter, T., Backert, S. (2008) 25. Jenaer Symposium: *Campylobacter*-Infektionen. Bundesgesundheitsbl Gesundheitsforsch Gesundheitsschutz 11, 1347-1352.

Halle, I. (2008) Ernährung, Fütterung sowie nährstoffökonomische Aspekte: Legehennenfütterung. Landbauforschung, Sonderheft 322, 150-158.

Halle, I., Thomann, R., Bauermann, U. (2008) Einfluss eines gestaffelten Gehaltes von Bohnenkraut im Mastfutter auf Wachstums- und Schlachtmerkmale beim Broiler. Arch Geflügelk 72, 129-135.

Halle, I., Thomann, R., Bauermann, U. (2008) Einfluss einer gestaffelten Supplementierung von Kräutern oder ätherischen Ölen auf Wachstum und Schlachtkörpermerkmale beim Broiler. Rekasan-Journal 15, 93-96.

Hansen, B.K., Papsø, E, Papsø, B., Kjaer, J. (2008) Giver grovfoder bedre velfærd hos æglæggende agerhøns? Dansk Erhvervsfjerkrä 3, 18-121.

Heil, G. (2008) Agressionen sind tief verwurzelt. DGS Magazin 36, 48-50.

Heil, G., Dempfle, L. (2008) Erbliche Einflüsse auf die Entwicklung des aggressiven Verhaltens männlicher Hauskaninchen im Alter von 8-30 Wochen. Arch Geflügelk 72, 188-192.

Hertwig, F., Greef, J.M., Jilg, T., Kaiser, E., Losand, B., Meyer, U., Pries, M., Rodehutscord, M., Schwarz, F.-J., Spiekers, H., Südekum, K.-H., Weißbach, F. (2008) Schätzung des Energiegehaltes von Maisernteprodukten: Bericht zum Stand neuer Ableitungen. VDLUFA-Schriftenr 63, 413-419.

Hochberger, J., Matthes, K., Köhler, P., Menke, D., Lamadé, W. (2008) „NOTES“ – eine Perspektive für die Viszeralmedizin! Endoskopie heute 21, 2-5.

Hochberger, J., Menke, D., Matthes, K., Lamadé, W., Köhler, P. (2008) „NOTES“ – Experimentelle Erfahrungen und klinische Perspektiven. Gastroenterologie update 4, 263-281.

Hochberger, J., Menke, D., Matthes, K., Köhler, P., Lamadé, W. (2008) Wer macht in Zukunft NOTES? Gastroenterologe, Chirurg, endoskopischer Interventionalist? Endoskopie heute 21, 217-221.

Hoffmann, B., Gall, A., Schirrmeier, H., Beer, M. (2008) Nukleinsäure-basierte diagnostische Untersuchungen zum Nachweis von Pestiviren. Nova Acta Leopold NF95, 103-123.

Jäger, K., Ellenberger, C., Bartmann, C.P., Rass, J., Bazer, F.W., Klug, J., Allen, W.R., Hoppen, H.O., Hoffman, C., Schoon, H.A. (2008) Histopathological and immunohistochemical findings during the sexual cycle in female mules and effects of long-term Regumate (R) administration. Pferdeheilkunde 24, 44-52.

Janssen, H., Meyer, U., Spolders, M., Flachowsky, G., Abel, H.J. (2008) Einfluss unterschiedlicher Fütterungsintensitäten auf die Futteraufnahme, die Entwicklung der Lebendmasse und ausgewählter Körpermaße sowie den Energieaufwand für die Lebendmassezunahme bei weiblichen Kälbern und Aufzuchtrindern. Züchtungskunde 80, 233-246.

Klaus, C., Hotzel, H., Süss, J., Mielke, B. (2008) Bericht zu den Untersuchungen zur Prävalenz des Virus der Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSMEV) im Gemeinen Holzbock *(Ixodes ricinus)* in der nördlichen Magdeburger Umgebung. Ärzteblatt Sachsen-Anhalt 19, 17-18.

Knobloch, H., Becher, G., Decker, M., Reinhold, P. (2008) Evaluation of H2O2 and pH in exhaled breath condensate samples: methodical and physiological aspects. Biomarkers 13, 319-341.

Köhler, H., Gierke, F., Möbius, P. (2008) Paratuberculosis – current concepts and future of the diagnosis. Hung Vet J 130 (Suppl. 1), 67-69.

Kutzer, T., Bünger, B., Kjaer, J., Schrader, L. (2008) Kontaktmöglichkeit für wurffremde Ferkel in Einzelabferkelungssystemen während der Säugezeit. KTBL-Schrift 471, 28-36.

Lebzien, P., Brade, W., Flachowsky, G. (2008) Der Milchharnstoffgehalt: Ein Indikator für die Energie- und Proteinversorgung, aber auch für die N-Emissionen in der Milcherzeugung. Übers Tierernähr 36, 59-74.

Liebert, F., Lebzien, P. (2008) Das Rohprotein: Ausgangspunkt für derzeitige Verfahren zur Beurteilung der Proteinversorgung bei Schwein und Rind. Übers Tierernähr 36, 47-57.

Mauel, S., Ziegler, U., Groschup, M.H., Gruber, A.D. (2008). West-Nil-Virus ante portas? – Was sollten wir wissen? Pferdespiegel 3/2008, 107-111.

Melzer, F., Al Dahouk, S., Neubauer, H., Mettenleiter, T.C. (2008) Wird Brucellose zum reisemedizinischen Problem? MMW Fortschr Med 149, 46-47.

Mettenleiter, T.C. 2008. Neither protein nor fat feed. Fleischwirtschaft 88, 8-9.

Mettenleiter, T.C., Boehle, W. (2008) Erregerbedingte Erkrankungen unter veränderten Umweltbedingungen. Arch Tierzucht 51, 49-56.

Meyer, U., Weigel, K., Berk, A., Franke, K., Schone, F., Leiterer, M., Flachowsky, G. (2008) Iodine in human and animal nutrition. Mitteilungsbl Fleischforsch Kulmbach 47, 187-193.

Neubauer, H. Zoonosen in Deutschland – Ein Überblick über vorkommende und mögliche Erreger. Rdsch Fleischhyg Lebensmittelüberw 8, 314-317.

Pund, R., Fichtner, D., Kotterba, G., Bergmann, S., Meyer, C., Ellerbroek, L. (2008) Zur Bedeutung von mit Mykobakterien kontaminierten Fleischereierzeugnissen. Arch Lebensmittelhyg 59, 185-191.

Rönchen, S., Scholz, B., Hewicker-Trautwein, M., Hamann, H., Distl, O. (2008) Foot pad health in Lohmann Selected Leghorn and Lohmann Brown laying hens kept in different housing systems with modified perch design. Arch Geflügelk 72, 97-105.

Röttger, A.S., Wagner, H., Halle, I., Berk, A., Franke, K., Flachowsky, G. (2008) New investigations on the carry over of iodine from the feed into meat and hen eggs. Mitteilungsbl Fleischforsch Kulmbach 47, 203-206.

Sachse, K., Schubert, E. (2008) Eine wenig beachtete Infektionskette – Aviäre Chlamydiose als Quelle humaner Ornithose. Rdsch Fleischhyg Lebensmittelüberwach 8, 318-321.

Scholz, B., Rönchen, S., Hamann, H., Suerie, C., Neumann, U., Kamphues, J., Distl, O. (2008) Evaluation of bone strength, keel bone deformity and egg quality of laying hens housed in small group housing systems and furnished cages in comparison to an aviary housing system. Arch Tierzucht 51, 179-186.

Scholz, B., Rönchen, S., Hamann, H., Distl, O. (2008) Meta-Analyse von Gesundheits-, Eiqualitäts-, Leistungs- und Verhaltensmerkmalen zur Beurteilung von Kleingruppen-altungssystemen für Legehennen. Züchtungskunde 80, 315-333.

Scholz, B., Rönchen, S., Hamann, H., Pendl, H., Distl, O. (2008) Effect of housing system, group size and perch position on H/L-ratio in laying hens. Arch Geflügelk 72, 174-180.

Schrader, L. (2008) Verhalten, Haltung, spezielle Management-faktoren. Landbauforschung, Sonderheft 322, 93-140.

Schrader, L. (2008) Ernährung, Fütterung sowie nährstoff-ökonomische Aspekte: Verhalten, Haltung, spezielle Managementfaktoren. Landbauforschung, Sonderheft 322, 94-117.

Spolders, M., Meyer, U., Rehage, J., Flachowsky, G. (2008) Beurteilung der Kupfer- und Zinkversorgung von Milchkühen anhand von Serumuntersuchungen. Prakt Tierarzt 89, 1024-1030.

Spolders, M., Sun, H., Flachowsky, G. (2008) Einfluss unterschiedlicher Kupfer- und Zinkversorgung im geburtsnahen Zeitraum bei Milchkühen. Rekasan-Journal 15, 22-27.

Sprague, L.D. (2008) Gut versteckt - Chlamydieninfektionen bei unseren liebsten Freunden. HundKatzePferd 6, 22-25.

Süss, J., Kahl, O. (2008) Proceedings of the IXth International Jena Symposium on Tick-borne Diseases “Climate Change and Tick-borne Diseases”, Jena, March 15-17, 2007. Int J Med Microbiol 298S1, Suppl 44.

Süss, J., Klaus, C., Gerstengarbe, F.W., Werner, P.C. (2008) What makes ticks tick? Climate change, ticks, and tick-borne diseases. J Travel Med 15, 39-45.

Szeredi, L., Tenk, M., Janosi, S., Palfi, V., Hotzel, H., Sachse, K., Pospischil, A., Bozso, M., Glavits, R., Molnar, T. (2008) A survey of equine abortion and perinatal foal losses in Hungary during a three-year period (1998-2000). Acta Vet Hung 56, 353-367.

Theegarten, D., Sachse, K., Mentrup, B., Fey, K., Hotzel, H., Anhenn, O. (2008) *Chlamydophila* spp. infection in horses with recurrent airway obstruction: similarities to human chronic obstructive disease. Resp Res 9.

Unger, F., Harder, T., Conraths, F.J., Teuffert, J., Staubach, C., Globig, A., Grund, C., Beer, M., Mettenleiter, T.C. (2008) Klassische Geflügelpest H5N1 – Rückblick und aktuelle Synopsis der globalen Situation unter besonderer Berücksichtigung des Geschehens in Deutschland. Tierärztl Prax (G) 36, 5-13.

Vahlenkamp, T. (2008) Influenza virus infections in small animals. Kleintierpraxis 53, 376-382.

Weigend, S. (2008) Genetik und Züchtung – Genetische Vielfalt beim Haushuhn. Landbauforschung, Sonderheft 322, 42-56.

Werner, D., Conraths, F.J. (2008) Kleine Mücke – große Wirkung. ForschungsReport 2/2008, 30-33.

Wolf, J., Žáková, E., Groeneveld, E. (2008) Within-litter variation of birth weight in hyperprolific Czech Large White sows and its relation to litter size traits, stillborn piglets and losses until weaning. Livestock Sci 115, 195-205.

Zerbe, F., Mayer, C., Kjaer, J. (2008) Einfluss von Spaltenbodenqualität und Flächenangebot auf das Vorkommen von Verletzungen der Schwanzspitzen und am Integument bei Mastbullen. KTBL-Schrift 471, 47-57.

2. 3 Buchbeiträge

Bergmann, S.M., Fichtner, D. (2008) Diseases caused by viruses: viral diseases in salmonids. In: J. C. Eiras, H. Segner, T. Wahli, and B. G. Kapoor (eds.), Fish Diseases. Science Publishers, Enfield, NH, USA, S. 41-85.

Berk, A., Spolders, M., Flachowsky, G., Fleckenstein, J. (2008) Influence of source and level of supplemented copper and zinc on the trace element content of pig carcasses. In: Schlegel, P., Durosoy, S., Jongbloed, A.W. (eds.), Trace elements in animal production systems, Wageningen Acad Publ, Wageningen, S. 270-272.

Berk, J. (2008) Haltung von Jungmasthühnern (Broiler, Masthähnchen). DLG-Merkblatt 347. http://www.dlg.org/161.html, dlg-merkblatt_347_01.pdf

Berk, J. (2008) Faustzahlen zur Haltung von Mastgeflügel. In: Geflügeljahrbuch 2009, S. 149-169.

Berk, J. 2008. Technik in der Geflügelhaltung. In: Jahrbuch

Agrartechnik - Yearbook Agricultural Engineering 20, 210-214.

Dänicke, S. (2008) Fütterung des Geflügels. In: H. Jeroch, W. Drochner, and O. Simon (eds.), Ernährung landwirtschaftlicher Nutztiere. Ernährungsphysiologie, Futtermittelkunde, Fütterung. Agrarwissenschaften, Veterinärmedizin, Eugen Ulmer KG, Stuttgart, S. 486-541.

Dänicke, S. (2008) Futtermittelhygiene. In: H. Jeroch, W. Drochner, and O. Simon (eds.), Ernährung landwirtschaftlicher Nutztiere. Ernährungsphysiologie, Futtermittelkunde, Fütterung. Agrarwissenschaften, Veterinärmedizin, Eugen Ulmer KG, Stuttgart, S. 292-330.

Dänicke, S., Döll, S., Goyarts, T., Seeling, K., Valenta, H., Ueberschär, K.-H. (2009) Metabolism, kinetics and occurrence of deoxynivalenol (DON) and zearalenone (ZON) in physiological samples of pigs, ruminants and poultry. In: I. P. Oswald and I. Taranu (eds.), Mycotoxins in Farm Animals. Transworld Research Network, Kerala, India, S. 236-273.

Essbauer, S., Jacob, J., Ulrich, R.G. (2008) Klima, Nagetiere und Nagetier-assoziierte Krankheitserreger. In: J. L. Lozan, H. Grassl, G. Jendritzky, L. Karbe, and K. Reise (eds.), Warnsignal Klima: Gesundheitsrisiken; Gefahren für Pflanzen, Tiere und Menschen, S. 242-246.

Hochberger, J., Lamadé, W., Matthes, K., Menke, D., Köhler, P. (2008) Experimentelle Erfahrungen und klinische Perspektiven. In: Köckerling, F. (ed.) NOTES – Eingriffe über natürliche Körperöffnungen. Hans Marseille Verlag, München, S. 27-55.

Kadlec, K., Schwarz, S. (2008) Hund / Katze – Infektion des Respirationstraktes / Infektionen von Haut, Ohr, Maul, 6.1.1.4 Bordetella bronchiseptica, In: Kresken, M., Wallmann, J., Kern, W. (eds.) GERMAP 2008 – Antibiotika-Resistenz und -Verbrauch, Antiinfectives Intelligence – Gesellschaft für klinisch-mikrobiologische Forschung und Kommunikation mbH, Rheinbach, S. 112-113.

Kadlec, K., Wallmann, J., Schwarz, S. (2008) Schwein – Infektionen des Respiraktionstraktes, 5.2.1.4 *Bordetella bronchiseptica*. In: Kresken, M., Wallmann, J., Kern, W. (eds.) GERMAP 2008 – Antibiotika-Resistenz und -Verbrauch, Antiinfectives Intelligence – Gesellschaft für klinisch-mikrobiologische Forschung und Kommunikation mbH, Rheinbach, S. 93-94.

Kehrenberg, C., Schwarz, S. (2008) Hund / Katze – Infektion des Respirationstraktes / Infektionen von Haut, Ohr, Maul, 6.1.1.3 *Pasteurella multocida*. In: Kresken, M., Wallmann, J., Kern, W. (eds.) GERMAP 2008 – Antibiotika-Resistenz und -Verbrauch, Antiinfectives Intelligence – Gesellschaft für klinisch-mikrobiologische Forschung und Kommunikation mbH, Rheinbach, S. 110-111.

Mettenleiter, T.C. (2008) Pseudorabies Virus. In: Mahy, B.W.J., van Regenmortel, M.H.V. (eds.), Encyclopedia of Virology. Elsevier, Oxford, S. 341-351.

Niemann, H. (2008) The future of animal biotechnology in domestic animal production. In: Jozef Laurincik (ed.), Animal Biotechnology, Publisher Faculty of Natural Sciences, S. 162-174.

Niemann, H., Kues, W., Carnwath, J.W. (2008). Transgenic farm animals: Current status and perspectives for agriculture and biomedicine. In: Engelhard, M., Hagen, K., Boysen, M. (eds.), Genetic engineering in livestock – New applications and interdisciplinary perspectives – Ethics of Science and Technology Assessment. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, S. 1-30.

Schwarz, S. (2008) Mechanisms of antimicrobial resistance in *Pasteurellaceae*. In: Kuhnert, P., Christensen, H. (eds.), Pasteurellaceae: Biology, Genomics and Molecular Aspects, Caister Academic Press, Norfolk, S. 199-228.

Schwarz, S. (2008) Hund / Katze – Infektion des Urogenitaltraktes, 6.1.2.3 β-hämolysierende *Streptococcus* spp., In: Kresken, M., Wallmann, J., Kern, W. (eds.) GERMAP 2008 – Antibiotika-Resistenz und -Verbrauch, Antiinfectives Intelligence – Gesellschaft für klinisch-mikrobiologische Forschung und Kommunikation mbH, Rheinbach, S. 118-119.

Schwarz, S. (2008) Pferd – Infektion des Respirationstraktes, 6.2.1.1 *Streptococcus equi*. In: Kresken, M., Wallmann, J., Kern, W. (eds.) GERMAP 2008 – Antibiotika-Resistenz und -Verbrauch, Antiinfectives Intelligence – Gesellschaft für klinisch-mikrobiologische Forschung und Kommunikation mbH, Rheinbach, S. 120.

Schwarz, S. (2008) Pferd – Infektion des Genitaltraktes, 6.2.2.2 β-hämolysierende *Streptococcus* spp. In: Kresken, M., Wallmann, J., Kern, W. (eds.) GERMAP 2008 – Antibiotika-Resistenz und -Verbrauch, Antiinfectives Intelligence – Gesellschaft für klinisch-mikrobiologische Forschung und Kommunikation mbH, Rheinbach, S. 122-123.

Schwarz, S. (2008) Schwein – Infektion des Urogenitaltraktes / Metritis-Mastitis-Agalaktie, 5.2.3.1 *Staphylococcus aureus* / *Staphylococcus hyicus*. In: Kresken, M., Wallmann, J., Kern, W. (eds.) GERMAP 2008 – Antibiotika-Resistenz und -Verbrauch, Antiinfectives Intelligence – Gesellschaft für klinisch-mikrobiologische Forschung und Kommunikation mbH, Rheinbach, S. 97-98.

Schwarz, S. (2008) Schwein – Infektion des Urogenitaltraktes / Metritis-Mastitis-Agalaktie, 5.2.3.2 β-hämolysierende *Streptococcus* spp. In: Kresken, M., Wallmann, J., Kern, W. (eds.) GERMAP 2008 – Antibiotika-Resistenz und -Verbrauch, Antiinfectives Intelligence – Gesellschaft für klinisch-mikrobiologische Forschung und Kommunikation mbH, Rheinbach, S. 98-99.

Schwarz, S. (2008) Schwein – Infektion des Zentralen Nervensystems und Bewegungsapparates, 5.2.4.1 *Streptococcus suis*. In: Kresken, M., Wallmann, J., Kern, W. (eds.) GERMAP 2008 – Antibiotika-Resistenz und -Verbrauch, Antiinfectives Intelligence – Gesellschaft für klinisch-mikrobiologische Forschung und Kommunikation mbH, Rheinbach, S. 101.

Schwarz, S. (2008) Hund / Katze – Infektion des Respirationstraktes / Infektionen von Haut, Ohr, Maul, 6.1.1.2 β-hämolysierende *Streptococcus* spp. In: Kresken, M., Wallmann, J., Kern, W. (eds.) GERMAP 2008 – Antibiotika-Resistenz und -Verbrauch, Antiinfectives Intelligence – Gesellschaft für klinisch-mikrobiologische Forschung und Kommunikation mbH, Rheinbach, S. 108-109.

Schwarz, S., Lüthje, P., Wallmann, J. (2008) Rind – Mastitis, 5.1.2.2 Andere *Staphylococcus* spp. In: Kresken, M., Wallmann, J., Kern, W. (eds.) GERMAP 2008 – Antibiotika-Resistenz und -Verbrauch, Antiinfectives Intelligence – Gesellschaft für klinisch-mikrobiologische Forschung und Kommunikation mbH, Rheinbach, S. 84.

Schwarz, S., Werckenthin, C. (2008) Hund / Katze – Infektion des Respirationstraktes / Infektionen von Haut, Ohr, Maul, 6.1.1.1 *Staphylococcus aureus* / *Staphylococcus pseudointermedius*. In: Kresken, M., Wallmann, J., Kern, W. (eds.) GERMAP 2008 – Antibiotika-Resistenz und -Verbrauch, Antiinfectives Intelligence – Gesellschaft für klinisch-mikrobiologische Forschung und Kommunikation mbH, Rheinbach, S. 106-107.

Stitz, L., Planz, O., Lipkin, W.I. (2008) Bornaviruses. In: B.W.J.

Mahy and M.H.V. Regenmortel (eds.), Encyclopedia of Virology, Elsevier, Oxford, S. 341-347.

Süss, J. (2008) Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME) - Zunahme der Inzidenz in Europa und der Klimawandel. In: J.L. Lozan, H. Grassl, G. Jendritzky, L. Karbe, and K. Reise (eds.), Warnsignal Klima: Gesundheitsrisiken; Gefahren für Pflanzen, Tiere und Menschen, S. 106-110.

Animal Viruses: Molecular Biology / edited by Mettenleiter, T.C., Sobrino, F. Caister Academic Press, Norfolk, UK (2008). 531 S. ISBN: 978-1-904455-22-6.

Darin enthalten:

Klenk, H.-D., Matrosovich, M., Stech, J. (2008) Avian Influenza: Molecular Mechanisms of Pathogenesis and Host Range, S. 253-303.

Mettenleiter, T.C., Keil, G.M., Fuchs, W. (2008) Molecular Biology of Animal Herpesviruses. S. 375-456.

Avian Influenza / edited by Klenk, H.-D., Matrosovich, M., Stech, J. Monogr Virol 27. Basel: Karger (2008). 292 S. ISBN: 978-3-8055-8501-9.

Darin enthalten:

Werner, O., Harder, T., Veits, J., Römer-Oberdörfer, A., Fuchs, W., Beer, M., Conraths, F.-J., Mettenleiter, T.C. (2008) Avian influenza outbreaks in Germany - Development of new avian vaccines. S. 71-87.

Towards the Elimination of Rabies in Eurasia / edited by Dodet, B., Fooks, A.R., Müller, T., Tordo, N. in collaboration with the Scientific and Technical Department of the OIE. Dev Biol 131. Basel: Karger (2008). 594 S. ISBN: 978-3-8055-8550-7.

Darin enthalten:

Freuling, C., Johnson, N., Marston, D., Selhorst, T., Geue, L., Fooks, A.R., Tordo, N., Müller, T. (2008) A random grid based molecular epidemiological study on EBLV isolates from Germany. S. 301-309.

Freuling, C., Selhorst, T., Bätza, H.J., Müller, T. (2008) The financial challenge of keeping a large region rabies-free - the EU example. S. 273-282.

Johnson, N., Freuling, C., Vos, A., Un, H., Valtchovski, R., Turcitu, M., Dumistrescu, F., Vuta, V., Velic, R., Sandrac, V., Aylan, O., Müller, T., Fooks, A.R. (2008) Epidemiology of Rabies in Southeast Europe. S. 189-198.

McElhinney, L.M., Marston, D.A., Stankov, S., Tu, C., Black, C., Johnson, N., Jiang, Y., Tordo, N., Müller, T., Fooks, A.R. (2008) Molecular Epidemiology of Lyssaviruses in Eurasia. S. 125-131.

Rupprecht, C.E., Barrett, J., Briggs, D., Cliquet, F., Fooks, A.R., Lumlertdacha, B., Meslin, F.X., Müller, T., Nel, L.H., Schneider, C., Tordo, N., Wandeler, A.I. (2008) Can Rabies Be Eradicated? S. 95-122.

Smith, G.C., Thulke, H.H., Fooks, A.R., Artois, M., Macdonald, D.W., Eisinger, D., Selhorst, T. (2008) What is the future of wildlife rabies control in Europe? S. 283-289.

Thulke, H.H., Eisinger, D., Selhorst, T., Müller, T. (2008) Scenario-analysis Evaluating Emergency Strategies after Rabies Re-introduction. S. 265-272.

3. Habilitationsschriften, Dissertationen, Diplomarbeiten, Bachelor-Thesis

3.1. Habilitationen

keine

3.2. Dissertationen

Altenschmidt, J.: Einfluss von Mutationen in gH nach serieller Passage von gL-negativen Viren in Zellkultur auf die gL-unabhängige Infektiosität von Pseudorabies Virus (Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald, Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät)

Böttcher, S.: Funktionelle Charakterisierung des essentiellen Tegumentproteins pUL36 des Pseudorabies Virus (Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald, Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät)

Drallmeyer, S.: Vergleichende Darstellung der DNA-Methyltransferase 1 und 3a mittels Immunhistochemie in frühen bovinen Embryonalstadien (Tierärztliche Hochschule Hannover)

Höhle, C.: Expression von Proteinen des Virus der Maul- und klauenseuche (MKS) durch bovines Herpesvirus 1 und Baculoviren unter dem Aspekt der Etablierung neuer Bekämpfungsstrategien gegen MKS (Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald, Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät)

Hübner, K.: Untersuchung der Protein-DNA-Interaktion am Replikationsursprung in der Lysozym-GAS41-Gendomäne des Huhnes (Gallus Gallus, Linnaeus, 1758) (Universität Hamburg, Fakultät für Mathematik, Informatik und Naturwissenschaften, Department Biologie)

Iqbal, K.: Modulation of gene expression with emphasis on telomerase catalytic component (hTERT) in mammalian preimplantation embryos (Medizinische Hochschule Hannover, PhD Program Molecular Medicine)

Keese, Ch.: Investigations on the interactions between the concentrate proportions in the ration of dairy cows and the presence or absence of a *Fusarium* toxin-contaminated triticale on animal health, performance and deoxynivalenol residues in serum, bile and milk (Tierärztliche Hochschule Hannover)

Klosinsky, I.: Auswirkungen der postnatalen Fütterung auf den peripheren Insulin-Response von Kälbern (Tierärztliche Hochschule Hannover)

Kriegelstein, S.: Untersuchung der Vasotocin und Galanin Expression nach osmotischer Stimulation im Hühnergehirn (Leibniz-Universität Hannover, Naturwissenschaftliche Fakultät)

Kühnel, D.: Untersuchung der zytotoxischen Aktivität unterschiedlich virulenter NDV-Stämme auf Krebszelllinien (Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald, Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät)

Lellbach, C.: Einfluss der Spermagewinnungsmethode auf die Spermaqualität von Ebern und die Produktionseffizienz in Besamungsstationen (Tierärztliche Hochschule Hannover)

Petsch, B.: Herstellung von monoklonalen Antikörpern gegen die pathologische Isoform des Prionproteins (Eberhard-Karls-Universität Tübingen, Fakultät für Biologie)

Pieper, J.: Pieper, J. Aviäre Gamma-Delta T-Zell-Subpopulationen

und ihre Rolle während der *Salmonella*-Infektion (Friedrich-Schiller-Universität Jena, Biologisch-Pharmazeutische Fakultät)

Postel, A.: Untersuchungen zur Verbreitung und Funktion des äußere-Membran-Proteins OmpW von *Salmonella* spp. (Justus-Liebig-Universität Gießen, Fachbereich Veterinärmedizin)

Proft, J.: Die Rolle des N-Terminus bei der Konversion des Prion-Proteins (Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald, Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät)

Prost, D.: Auswirkung einer verkürzten präovulatorischen Follikelphase auf den genitalen Blutfluss und die endometriale Hormonrezeptorkonzentration des Rindes (Tierärztliche Hochschule Hannover)

Rudolf, M.: Einfluss von Besatzdichte und Einstreumaterial auf die Pododermatitis bei Mastputen (Freie Universität Berlin, Fachbereich Veterinärmedizin)

Trauschke, K.: Untersuchung zu Effekten von Menge und Zusammensetzung des Milchaustauschers in den ersten sieben Lebenswochen auf die Futteraufnahme und metabolische Parameter von Kälbern bis zum Alter von acht Monaten (Tierärztliche Hochschule Hannover)

3. 3 Diplomarbeiten

Aberle, D.: Versuche zur Expression, Reinigung und Strukturellen Charakterisierung des Membranankers eines viralen Glykoproteins (Eberhard-Karls-Universität Tübingen, Fakultät für Chemie und Pharmazie)

Amann, R.: Untersuchungen zur Bedeutung des zellulären Prion-Proteins in einer nicht-zytolytischen Virusinfektion (Eberhard-Karls-Universität Tübingen, Fakultät für Biologie)

Beckert, A.: Untersuchungen zur genetischen Stabilität des attenuierten Tollwut-Lebendimpfstoffes SAD B19 (Hochschule Mittweida (FH), Fachbereich Mathematik/Physik/Informatik/Biotechnologie/Bioinformatik)

Braukmann, M.: Untersuchungen zum Reaktionsvermögen aviärer Milzmakrophagen auf verschiedene *Salmonella*-Serovaren (Friedrich-Schiller-Universität Jena, Biologisch-Pharmazeutische Fakultät)

Daubner, A.: Untersuchungen zu den Wechselwirkungen zwischen dem *Fusarium*-Toxin Deoxynivalenol und einer viralen Infektion (Infectious Bursal Disease) beim Broiler auf verschiedene Parameter des Proteinturnover in Niere, Jejunum und Leber (Universität Jena)

Heerdegen, K.: Thema: Untersuchungen zum Einfluss unterschiedlicher Selenquellen in der Milchviehfütterung auf den Selengehalt der Milch (Universität Jena)

Hurst, J.: Molekularbiologische Analyse genotypspezifischer Unterschiede der Matrixproteine verschiedener Lyssavirus-Genotypen (Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald, Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät)

Köppen, P.: Herstellung von chimären Lyssaviren für die molekularbiologische Analyse genotypspezifischer Glykoprotein-Funktionen (Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald, Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät)

Meyer, K.: Clusteranalyse der RFLP-Analyse-Daten von STEC O26-Stämmen (Ernst-Moritz-Arndt Universität Greifswald, Fachbereich für Mathematik und Naturwissenschaften, Institut für Mathematik und Informatik)

Mischky, A.: Reaktion der Zytotoxischen CD8+ T-Zellen auf eine Infektion mit einem an Säugetiere adaptierten Influenza A Virus im Vergleich zu einer Infektion mit einem nicht adaptierten hochpathogenen aviären Influenza Virus in Mäusen (Eberhard-Karls-Universität Tübingen, Fakultät für Biologie)

Müller, F.: Primäre Umhüllung von Herpesviren an der inneren Kernmembran: Untersuchungen zur Entstehung und Proteinzusammensetzung der primären Hüllmembranen in transfizierten und infizierten Zellen (Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald, Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät)

Opitz, C.: Vergleich verschiedener Methoden zur DNA-Isolierung von *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* aus Rinderkotproben (Friedrich-Schiller-Universität Jena, Biologisch-pharmazeutische Fakultät)

Pappritz, J.: Untersuchungen zu den Wechselwirkungen zwischem dem Fusarium-Toxin Deoxynivalenol und einer viralen Infektion beim Broiler auf verschiedene Parameter des Proteinturnover in Bursa cloacalis und Milz (Universität Jena)

Polster, R.: Phylogenetische Untersuchungen an Tollwut-Lebendimpfstoffen (Ernst-Moritz-Arndt Universität Greifswald, Fachbereich für Mathematik und Naturwissenschaften, Institut für Mathematik und Informatik)

Reiling, S.J.: Influence of the NF-κB Signaling Pathway on the Propagation of H5N1 Influenza A Viruses in Neurons (Eberhard-Karls-Universität Tübingen, Fakultät für Biologie)

Vogel, A.: Die Beteiligung regulatorischer T-Zellen an der Pathogenese hochpathogener aviärer Influenzaviren in Mäusen (Eberhard-Karls-Universität Tübingen, Fakultät für Biologie)

3.4 Bachelor-Thesis

Kamrad, U.K.: Auswirkungen des Einsatzes von Laktose in der Futtermischung von Milchkühen auf die Höhe der Futteraufnahme und ausgewählte Leistungsparameter (FH Anhalt Bernburg)

4. Vorträge und Poster

Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter des FLI hielten zahlreiche Vorträge und präsentierten Poster auf wissenschaftlichen Fachtagungen. Aus Platzgründen werden diese nicht einzeln aufgeführt.