

FRIEDRICH-LOEFFLER-INSTITUT

FLI

Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit
Federal Research Institute for Animal Health

FLI-Info: Labormitteilungen aus dem Friedrich-Loeffler-Institut

Ausgabe 2/2004, Dezember 2004

INHALT

- Namensänderung
- *Neospora caninum*
- BSE-Schnelltests
- Bündelung der Diagnostik
- Mykobakterien
- Hantavirusinfektionen
- Kurznachrichten



Aus „IVD-INFO“ wird „FLI-INFO“

Liebe Kolleginnen und Kollegen,

ein Jahr mit zahlreichen Neuerungen im Bereich der Tierseuchenbekämpfung neigt sich dem Ende zu, und auch die „Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten der Tiere“ war - im positiven Sinne - betroffen.

Im Zuge der Namensänderung unserer gesamten Institution in „*Friedrich-Loeffler-Institut*“ (**FLI**) haben wir im Rahmen unseres Kollegiums beschlossen, die bisherige „**IVD-INFO**“ in „**FLI-INFO**“ umzubenennen. Mit diesem neuen Namen soll eine Erweiterung des Inhaltsspektrums auf alle Tätigkeitsbereiche des FLI zum Ausdruck kommen, ohne dabei die besonderen Belange der „Diagnostiker“ zu vernachlässigen. Die Redaktion wird in gewohnter Weise Dr. Klaus Depner aus dem Institut für Virusdiagnostik weiterführen.

Wir möchten uns abschließend bei Ihnen für Ihr Interesse an unserem Informationsblatt und besonders für die gute und erfolgreiche Zusammenarbeit in allen Bereichen bedanken.

Ein frohes Weihnachtsfest und
ein glückliches Jahr 2005
im Namen des FLI

PD Dr. Martin Beer
Leiter des Instituts
für Virusdiagnostik

Prof. Dr. Thomas Mettenleiter
Präsident
des Friedrich-Loeffler-Instituts

Neuer 'alter' Name für Bundesforschungsanstalt

*Prof. Dr. Th. C. Mettenleiter
Präsident des Friedrich-Loeffler-Instituts*

Die Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten der Tiere mit Hauptsitz auf der Insel Riems und weiteren Standorten in Jena, Tübingen und Wusterhausen wird in "Friedrich-Loeffler-Institut, Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit" umbenannt. Eine Namensänderung war notwendig geworden, weil der Aufgabenbereich des Instituts in der Zwischenzeit weit über die Bearbeitung von reinen Viruserkrankungen hinaus geht und auch Prionenkrankheiten und bakterielle und parasitäre Infektionen umfasst. Friedrich Loeffler, als Schüler Robert Kochs erfolgreicher Bakteriologe und gleichzeitig mit der Entdeckung des Maul- und Klauenseuche-Virus einer der Begründer der Virusforschung ist eine hervorragende Identifikationsfigur für die heute im Institut stattfindenden Forschungsarbeiten. Gleichzeitig wird mit der Bezeichnung 'Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit' der Aufgabenbereich der Forschungseinrichtung weiter gefasst und der aktuellen Situation angepasst. Friedrich Loeffler hatte das Institut auf der Insel Riems als weltweit erste virologische Forschungsstätte am 10. Oktober 1910 gegründet. Seit seinem 100. Geburtstag im Jahre 1952 führte das 'alte' Institut auf der Insel Riems bis 1991 bereits den Namen des Gründers. Die Namensänderung wurde mit dem Inkrafttreten der dritten Änderung des Tierseuchengesetzes wirksam.



Hauptgebäude des Friedrich-Loeffler-Instituts
am Hauptsitz Insel Riems



Friedrich-Loeffler (1852 – 1915)

Neuer Institutsleiter am FLI

*Prof. Dr. Th. C. Mettenleiter
Präsident des Friedrich-Loeffler-Instituts*

Im Jahr 2004 wurden vier Verfahren zur Berufung neuer Institutsleiter am FLI an den Standorten Insel Riems und Jena durchgeführt. Zwei der Verfahren konnten abgeschlossen werden bzw. befinden sich kurz vor dem Abschluss. Als neuer Leiter des Instituts für Virusdiagnostik (IVD) wurde Herr PD Dr. Martin Beer berufen, der sein Amt im September antrat. Besonders bedanken möchte ich mich bei Herrn Dr. Horst Schirrmeyer für die langjährige kommissarische Leitung des IVD. Der Ruf als Leiter des Instituts für molekulare Pathogenese am Standort Jena erging an Herrn Prof. Dr. Michael Naumann aus Magdeburg.

Bedeutung von *Neospora caninum* als Abortursache und die Rolle von Hunden als Überträger der Infektion

Gereon Schares und Franz-Josef Conraths
Institut für Epidemiologie

Auf Webseiten, die der Information niedergelassener Tierärzte dienen sollen, wurde kürzlich argumentiert, *Neospora caninum* sei nur ein „Trittfahrer“ im Zusammenhang mit Rinderaborten. Dieser Auffassung stehen wissenschaftlich fundierte, weltweit erhobene und publizierte Daten entgegen.

Anlass für die Äußerungen zur Bedeutung der bovinen *Neospora-caninum*-Infektion im Zusammenhang mit Rinderaborten sind Aktionen einzelner Landwirtschaftsverbände gegen Hundekot auf Weiden und Futterflächen.

Trotz der Beobachtung, dass sich mit der Hundedichte eines Landkreises oder Stadt, die Prävalenz Sammelmilch-positiver Herden vorhersagen lässt, teilen wir die Einschätzung, dass Kampagnen gegen Hundekot auf Weiden und Futterflächen wenig geeignet sind, *Neospora-caninum*-Infektionen und damit assoziierte Aborte in Rinderbeständen zu verhindern. Die im Stallbereich gehaltenen Hofhunde spielen bei der horizontalen Übertragung des Parasiten eine wesentlich wichtigere Rolle.

Aufgrund wissenschaftlicher Untersuchungen gibt es aber für uns an der Bedeutung von *Neospora caninum* als Abortursache bei Rindern aus folgenden Gründen keine Zweifel:

1. Epidemiologische Studien in Belgien und im Vereinigten Königreich ergaben, dass *Neospora caninum* eine wichtige infektiöse Abortursache beim Rind darstellt und dort mit rund 12 % der Rinderaborte in Verbindung gebracht werden kann.
2. Epidemiologische Untersuchungen in chronisch infizierten Herden zeigten, dass Zuchttiere, die sich pränatal infiziert hatten, einem

2 bis 7,4fach erhöhten Abortrisiko unterliegen.

3. Experimentelle Infektionen mit Zwischenwirtsstadien belegen, dass eine *Neospora-caninum*-Infektion, die ein Rind postnatal erwirbt, Aborte verursachen kann. Untersuchungen an experimentell und natürlich infizierten Tieren haben dazu beigetragen, dass die Pathogenese der bovinen Neosporose inzwischen weitgehend bekannt ist.
4. Fallberichte über Herden nach seuchenhaften Abortgeschehen zeigen, dass es in einzelnen Herden zu starken, fast zeitgleich ablaufenden *N. caninum*-assoziierten Infektionsgeschehen kommen kann, die mit Aborten einhergehen können.
5. Eine Reihe von Risikofaktorstudien belegt, dass Hunde bei der horizontalen Übertragung des Parasiten eine wichtige Rolle spielen. Modellrechnungen belegen, dass trotz einer effizienten vertikalen Übertragung der Parasiten ohne horizontale Infektionswege nicht dauerhaft in Rinderbeständen persistieren kann.

Weitere Informationen, insbesondere zur Diagnose der Neosporose des Rindes, finden sich auf der Homepage des Friedrich-Loeffler-Instituts unter <http://www.bfav.de/organisation/ifed/krankheiten/neospora1.html>

Dr. Gereon Schares
Friedrich-Loeffler-Institut
Seestraße 55, 16868 Wusterhausen
Telefon: 033979-80 193
gereon.schares@wus.bfav.de

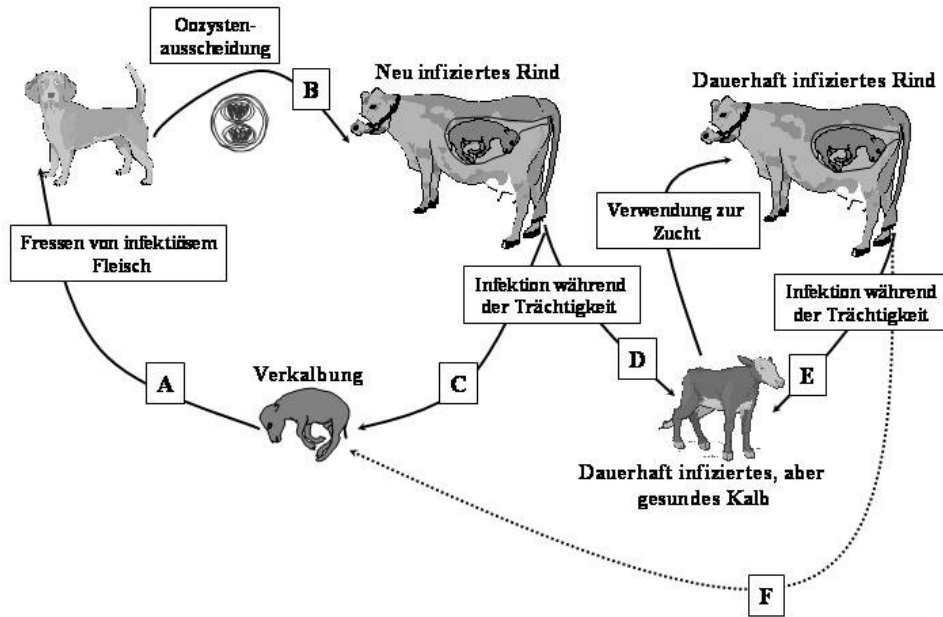


Abb.: (A) Das Fressen von Körpergewebe infizierter Zwischenwirte (z. B. Abortmaterial oder Nachgeburten) kann bei Hunden eine ein- bis dreiwöchige Ausscheidung von *Neospora-caninum*-Oozysten über den Kot auslösen. (B) Rinder können sich über Oozysten infizieren. Oozysten sind sehr widerstandsfähig. Sie können wahrscheinlich Wochen bis Monate in der Umwelt (im Futter oder Wasser) überleben. (C) Durch Oozysten infizierte Rinder können aufgrund der Infektion verkalben, eine Totgeburt oder die Geburt eines lebensschwachen Kalbes erfahren. (D) Oft überlebt das Kalb die Infektion und es werden dauerhaft infizierte, aber gesunde Kälber geboren. (E) Wird mit solchen dauerhaft, eventuell lebenslang infizierten Kälbern weitergezüchtet, so übertragen diese Tiere ihre Infektion auf ihre eigenen Nachkommen. Einmal infizierte Rinderlinien bleiben so für mehrere Generationen infiziert. (F) Chronisch infizierte Tiere können ebenfalls verkalben. Sie verkalben im Durchschnitt zwei- bis dreimal häufiger als nicht infizierte Tiere.

Untersuchungen zur analytischen Empfindlichkeit von BSE-Schnelltests

U. Ziegler, A. Buschmann, J. Schultz und M. H. Groschup
 Institut für Neue und Neuartige Tierseuchenerreger

Die Durchführung der BSE-Untersuchungen und die Diagnostik erfolgt in Deutschland anhand der EU-Verordnung Nr. 999/2001, zuletzt geändert am 19.12.03, als gesetzliche Grundlage. Umgesetzt in nationales Recht gilt zum einen die BSE-Untersuchungsverordnung für Schlachttiere sowie zum anderen die TSE-Überwachungsverordnung für TBA-Tiere.

Die Bedeutung der BSE-Schnelltests ist in der EU-Verordnung als sogenannte Screening-Methode, für alle Rinder die älter als 30 Monate sind, festgelegt. Diese Verfahren sind zur Untersuchung großer Probenzahlen geeignet.

In Deutschland gelten für alle Rinder, die älter als 24 Monate sind, die BSE-Untersuchungspflicht.

Es gibt zum einen ELISA-Antigenteste zum Nachweis des Prionproteins oder aber eine Western-Blot-Technik (Immunelektrophorese). Auf diesen beiden möglichen Prinzipien beruhen die 4 in Deutschland zugelassenen Schnellteste. Um eine endgültige Diagnose zu stellen, muss eine vom Internationalen Tierseuchenamt zugelassene Diagnostikmethode eingesetzt werden. Dies ist einmal der SAF-Immunoblot oder die immunhistochemische Untersuchung histologischer

Hirnpräparate. Beide Methoden finden im TSE-Referenzlabor Anwendung.

Um eine Vergleichbarkeit zwischen den einzelnen BSE-Untersuchungsmethoden zu ermöglichen, ist die Herstellung von BSE-Referenzproben zwingend erforderlich.

Dabei sollen solche Proben aus definiertem Material bestehen, einen einheitlichen Zerkleinerungsgrad des Hirngewebes aufweisen und sich gut vermischen lassen [einheitlicher Gehalt an BSE-Infektiosität/Prozente (%)]. Auch die Haltbarkeit solcher Standardpools ist ein wichtiger Aspekt. Bis vor kurzem war dies nicht möglich, da fein gemahlene Dounce-Homogenate in Detergenzhaltigen Puffern bereits nach wenigen Stunden bzw. Tagen ihre PrP^{Sc}-Antigenität einbüßten, unabhängig davon, bei welchen Temperaturen sie gelagert wurden. Der Kollege Dr. Peter Lind vom dänischen BSE-Referenzlabor löste dieses Problem, indem er grobe 50 %ige BSE-Hirnmazerate in 5 %iger Sucrose-Lösung herstellte, die eine bessere Gewebe- und Antigenkonservierung ermöglichten. Hierzu wurde das Gehirngewebe (BSE-positiv oder -negativ) nach einer Vorzerkleinerung zu gleichen Anteilen mit der Verdünnerlösung verrieben und durch ein feinmaschiges Metallsieb gepresst. Man erhält einen Hirnbrei, der zu 50 % aus Hirngewebe besteht. Diese Mazerate können dann mit einer Insulinspritze portioniert werden. Folgende Fragestellungen galt es nun zu klären:

1. Ist die Herstellung unterschiedlicher Verdünnungsstufen möglich? Wie haltbar sind diese Proben?
2. Wie haltbar sind die Ausgangspool's?

Zur Abklärung wurden zwei unterschiedliche Lagerungstemperaturen gewählt (-20 °C/-70 °C). Die Herstellung der Verdünnungsstufen erfolgte nach folgendem Schema:

Das Ausgangsmaterial Positivpool (50 % BSE-Hirn) und Negativpool (50 % negativ Hirn) wurden zu unterschiedlichen Teilen miteinander vermischt. Folgende Verdünnungsstufen (1 : 2,5, 1 : 5, 1 : 10, 1 : 20) mit den entsprechenden Endgehalten von BSE-Hirn (20 % BSE, 10 % BSE, 5 % BSE und 2,5 % BSE) wurden so hergestellt.

Die Haltbarkeits-Untersuchung zu diesen Verdünnungsstufen bei -20 °C erbrachte im BioRad-ELISA, dem am häufigsten in Deutschland eingesetzten Schnelltest, folgende Ergebnisse: Auch wenn die Werte über den Zeitraum von 21 Monaten etwas schwanken, so änderte sich die

Klassifizierung der Proben nicht, d. h. Proben mit hohen BSE-Hirnanteilen wie 50 % oder 20 % zeigten hohe Extinktionswerte über den untersuchten Zeitraum. Proben mit geringen BSE-Gehalten wie 10 % oder 5 % zeigten entsprechend niedrigere Werte. Und Proben mit sehr geringen BSE-Gehalten, wie die 2,5 % Probe bewegten sich stets im grenzwertigen Bereich.

Aus diesen Ergebnissen kann geschlossen werden, dass die Mazeratmischungen bei der Lagerung bei -20 °C stabil sind und ihre Antigenität über viele Monate behalten. Die gleiche Tendenz zeigt sich auch bei der -70 °C-Lagerung. Zwar wurden hier nicht so viele Untersuchungen durchgeführt, da das Ausgangsmaterial nur begrenzt zur Verfügung stand (BSE-Material ist immer noch recht kostbar), aber ähnliche Verläufe waren sichtbar. Auch hier blieb die Klassifizierung/Antigenität der Proben (50 %, 20 %, 10 %, 5 %, und 2,5 % BSE) bei der -70 °C-Lagerung über einen Zeitraum von 20 Monaten erhalten.

Nachdem das Probenmaterial für die Haltbarkeitsstudien aufgebraucht war, wurde ein neuer Homogenatpool hergestellt, mit noch weiteren Verdünnungsstufen (50 % BSE bis 0,005 % BSE). Dieser sollte zum einen in den gängigen BSE-Schnelltests (BioRad Platelia bzw. TeSeE, Enfer, Prionics-LIA, Prionics-Westernblot) eingesetzt werden, um deren analytische Empfindlichkeit zu überprüfen. Zum anderen sollten die Schnelltestergebnisse mit der Empfindlichkeit der O.I.E.-Methoden verglichen werden. Die Untersuchungen wurden jeweils am TSE-Referenzlabor und in einem Untersuchungsamt durchgeführt, welches den entsprechenden Schnelltest routinemäßig einsetzt. In allen 4 Schnelltesten zeigte sich eine ähnliche Tendenz, die Schnelltests erkannten die Verdünnungsstufen gleich gut. Die Proben von 50 % BSE bis 5 % BSE wurden stets als eindeutig positiv erkannt, die 2,5 % Probe lag im grenzwertigen Bereich. Wenn man diese Schnelltestergebnisse den Ergebnissen des O.I.E.-Immunoblots/Westernblot gegenüberstellt, wird Folgendes sichtbar: Die 4 Schnelltests reagierten etwa gleich gut, aber der immunchemische Nachweis von pathologischem PrP^{Sc} in Fibrillenpräparaten aus Hirnstammgewebe (der SAF-Immunoblot), der mit 2 g Gehirnmazerat durchgeführt wurde, war mehr als 100 mal empfindlicher.

Des Weiteren wurde mit Hilfe der BSE-Standardproben die analytische Empfindlichkeit

der sog. PTA-Methode ermittelt, die im Rahmen von verschiedenen Forschungsprojekten am INNT Anwendung findet. Hierbei wird das pathologische Prion-Protein mittels Phosphorwolframsäure gefällt und anschließend im Immunoblot angefärbt. Diese Methode ist schneller (nur 5 Stunden) als der offizielle SAF-Immunoblot (Dauer 2 Tage) und außerdem wird weniger Probenmaterial benötigt.

Mittels der PTA-Fällung konnten Probenverdünnungen erkannt werden, die um 2 Verdünnungsstufen niedriger waren als die letzten durch die Schnelltests erkannten (1,25 % BSE und 0,625 % BSE). Dennoch bleibt zu bemerken, dass die analytische Empfindlichkeit des SAF-Immunoblots nicht erreicht wurde.

Eine andere O.I.E.-Bestätigungsmethode ist die immunhistochemische Untersuchung, die hier nur als Zusatzmethode an den Mazeratverdünnungen von 50 % BSE bis 2,5 % BSE durchgeführt wurde. In all diesen Präparaten wurden Gewebefragmente mit PrP^{Sc}-Ablagerungen erkannt (Antikörper mab 12F10, mab L42).

Da von einem Schnelltesthersteller bemerkt wurde, dass Sucrose im Verdünnungspuffer möglicherweise einen nachteiligen Einfluss auf die Performance ihrer Schnelltests haben könnte, wurden die Experimente ohne den Sucrose-Zusatz wiederholt: Zum einen wurde Ausgangsgewebe (ein Pool an positiven Hirnstämmen) mit Aqua dest. als Verdüner mazeriert und zum anderen wie anfangs beschrieben mit Sucroselösung angerieben.

Der Vergleich dieser beiden BSE-Probenkonfektionierungen mittels BioRad-ELISA zeigte keinen negativen Einfluss der Sucrose. In einer zweiten Vergleichsuntersuchung wurden alle Verdünnungsstufen mittels Prionics-Check-LIA getestet – allerdings auch hier ohne offensichtlichen Effekt. Diese Tendenz zeigt sich auch in den anderen 2 Schnelltesten. Zusammenfassend kann deshalb bei zukünftigen Vergleichsreihen auch reines A. dest. als Verdüner eingesetzt werden.

Diese Erfahrungen bei der Herstellung von BSE-Standardproben hatten auch Einfluss auf die Herstellung der BSE-Ringversuchsproben.

Alle staatlichen und privaten BSE-Schnelltestlabors in Deutschland müssen an Ringtests ('proficiency tests') teilnehmen, die entsprechend des Tierseuchengesetzes unter

Aufsicht des nationalen BSE-Referenzzentrums am FLI Insel Riems durchgeführt werden. Ziel dieser Ringtests ist a) der Nachweis der Zuverlässigkeit der Labors und b) deren korrekte Durchführung der BSE-Schnelltests. Letztere wird indirekt ermittelt, indem mittels der Standardproben die laborspezifische analytische Sensitivität für den jeweils eingesetzten BSE-Schnelltests ermittelt wird.

Mittlerweile wurde der 3. deutsche BSE-Ringtest von Februar bis April diesen Jahres (2004) durchgeführt, in Zusammenarbeit mit der Gesellschaft für Biotechnologische Diagnostik in Berlin. Es nahmen 39 Labore teil, wobei einige Labore 2 Testverfahren durchführten.

Es wurden für jedes Labor Probensets aus jeweils 6 Proben (Sucrose-Mazeratmischungen) hergestellt. Dabei galt es 3 sicher positive Proben (1 : 6 = 8,3 % BSE; 1 : 12 = 4,17 % BSE, doppelt im Set), zu erkennen sowie 2 negative Proben. Diese 5 Proben waren die obligatorischen Ringtestproben. Die 1 : 16-Verdünnung (= 3,125 % BSE) war als fakultative Probe im Set, um die analytische Sensitivität des Teilnehmerlabors besser zu beurteilen.

Folgende Ergebnisse wurden erzielt:

Alle 26 Labore, die den Bio-Rad-ELISA (TeSeE bzw. Platelia) anwandten, identifizierten die 3 obligatorischen positiven Proben ohne Probleme. Das Gleiche galt für die Erkennung der fakultativen Probe, die nur von einem einzigen teilnehmenden Labor nicht erkannt wurde. Die 2 negativen Proben erkannten alle Labore korrekt. Die 4 Labors, die den Enfer-Test einsetzten, zeigten eine ähnlich gute Performance: positive und negative Proben wurden erkannt, nur 1 Teilnehmer klassifizierte die 1:16 Verdünnung als negativ.

Gleiches galt für die BSE-Schnelltestlabors, die den Prionics-Check-LIA (6 Labore) und den Prionics-Westernblot verwendeten: Auch hier wurden von allen Teilnehmern alle Proben korrekt erkannt.

Insofern erwiesen sich alle vier derzeit in Deutschland zur BSE-Schnelltestung zugelassenen Tests gleichermaßen geeignet. Von den 39 teilnehmenden Laboren erkannten alle 39 Labore die obligatorischen Proben. Lediglich 2 Labors erkannten jeweils die fakultative Probe nicht. Diese beiden Labors erhielten eine Nachschulung durch den jeweiligen Hersteller und/oder

das NRZ am FLI und wurden mittels eines weiteren Ringtestdurchgangs nachgetestet. Bei dieser Wiederholungsuntersuchung wurden alle Proben von diesen beiden Labors korrekt erkannt.

Wie in den Vorjahren belegt auch dieser 3. deutsche BSE-Ringtest den hohen Stand der diagnostischen Qualität in nahezu allen Untersuchungslabors.

Dr. Ute Ziegler
Friedrich-Loeffler-Institut
Boddenblick 5 a
17493 Greifswald-Insel Riems
T: 038351-7 381
ute.ziegler@rie.bfav.de

Bündelung der Diagnostik – Neue Wege zur effektiveren Tierseuchenbekämpfung am Beispiel der ERL *Dagmar Beier, FLI BIFT Wusterhausen und Renate Lohse, LUA Dresden*

Die Bundesrepublik Deutschland erfüllt seit 1999 die Anforderungen für die amtliche Anerkennung als leukosefreier Mitgliedsstaat nach EU-Recht gemäß Richtlinie 64/432 EWG und Kommissionsentscheidung 1999/465/EG. Demzufolge müssen mindestens 99,8 % der Rinderbestände amtlich anerkannt frei von enzootischer Rinderleukose (ERL) sein. Dieser Status ist durch kontinuierliche diagnostische Untersuchungen aller Rinder über 24 Lebensmonate und durch pathologisch anatomische Abklärung aller Tumorverdachtsfälle aufrecht zu erhalten.

Auf der Grundlage der Leukose-Verordnung von 3/1997 und den Zuständigkeitsregelungen der Bundesländer erfolgt in der Bundesrepublik Deutschland die Diagnostik der ERL durch staatliche Untersuchungseinrichtungen. Amtlich festgelegt ist zur Überwachung der Leukosefreiheit die BLV-Antikörperdiagnostik im Blutserum oder in der Milch mittels zugelassener kommerzieller Testsysteme. Bezüglich des Untersuchungsmodus gilt grundsätzlich die Untersuchungspflicht aller Rinder > 24 LM entweder

- in 2-jährlichem Abstand durch zwei milchserologische Bestandsuntersuchungen oder
- in 3-jährlichem Abstand durch eine blutserologische Untersuchung dieser Altersgruppe:

Unter Verwendung der per TSN gemeldeten Leukosefälle (2003 insgesamt 21) kann eingeschätzt werden, dass der Anteil von Neuinfektionen weiter rückläufig ist, aber eine Erregereradikation noch nicht erfolgt ist. Des Weiteren birgt der vorgegebene Untersuchungsrythmus die Gefahr in sich, dass bei Neuinfektionen und/oder diagnostischen

Lücken (Jungtiere unter 24 LM, Trockensteher, Bullen u. a.) die Infektion sowohl im Bestand (unerkannt) persistieren als auch darüber hinaus sich ausbreiten kann.

Ein Problem für die Untersuchungseinrichtungen, die zuständigen Veterinärämter und den Tierbesitzer stellen die bei den Routineuntersuchungen ermittelten „nicht negativen“ Untersuchungsergebnisse dar, denn...

...hinter der Bezeichnung „nicht negativ“ kann sich entweder ein test- oder laborbedingtes falsches oder ein infektionsbedingtes spezifisches Untersuchungsergebnis verbergen.

Wird ein solcher (infektionsrelevanter spezifischer) Befund ermittelt, zieht das aufwändige (serologische) Abklärungsuntersuchungen unter Einschaltung der zuständigen Veterinärbehörde nach sich. Letztere ist in der Pflicht, eine Bestandssperre und mehrmalige Nachuntersuchungen zu veranlassen.

Nach der gültigen Rechtssetzung können diese Restriktionen frühestens 10 Monate nach Entfernung des letzten Reagenten aufgehoben werden.

Das Aufgabenspektrum des Nationalen und OIE-Referenzlabors für die ERL am FLI umfasst u. a. die

- Entwicklung neuer diagnostischer Methoden und Bekämpfungsmodelle sowie deren
- Wirksamkeitsprüfung mit dem Ziel der Etablierung effektiverer Bekämpfungsstrategien zur Tilgung der anzeigespflichtigen Rinderseuche.

An diesem Punkt beginnen unsere Situationsbetrachtung und die Wirksamkeitsprüfung eines

erweiterten Diagnoseregimes in einem Milchviehbestand mit ERL.

In einem **Milchviehbestand** mit 89 Rindern wurden im Jahre 2003 im Rahmen der Überwachung der Leukose-Freiheit gemäß Leukose-VO alle Tiere über 24 Monate (56 % des Bestandes) blutserologisch auf BLV-Antikörper untersucht. Dabei wurden 5 Reagenten ermittelt. Zeitpunkt und Weg der Virus-Einschleppung waren durch die großen Untersuchungsintervalle und die Tierbewegungen im Bestand nicht zu ermitteln. 1999 geborene Rinder wurden nach 4 Jahren das erste Mal untersucht.

In Zusammenarbeit von LUA Dresden und dem Nationalen Referenzlabor für die ERL des FLI wurden alle zur Verfügung stehenden diagnosti-

schen Möglichkeiten genutzt, um den Betrieb in kürzester Zeit zu sanieren. **Zusätzlich** zur blutserologischen Diagnostik (**BLV-Antikörper-Nachweis**) mittels verschiedener ELISA und des AGID wurden alle Tiere auf **BLV-Provirus** unter Einsatz der PCR untersucht.

- **Abweichend** von der Rinder-Leukose-VO wurden auch Tiere **unter** 6 Lebensmonate in die Untersuchungen einbezogen.
- Die anschließenden Bestandsuntersuchungen erfolgten erst nach 5 Monaten (2 Monate nach Entfernen des letzten Leukose-Reagenten) und nach weiteren 3 Monaten. Hierbei wurden wiederholt „Nachtreter“ (oder Neuinfizierte?) ermittelt.

Die **Ergebnisse** lassen sich wie folgt darstellen:

Untersuchung/ Altersgruppe	Anzahl unters. Rinder	ELISA-; PCR-	ELISA+; PCR+	ELISA+; PCR-	ELISA-; PCR+
06-08/2003					
<6 Monate	5	3	1*	1**	0
<24 Monate	34	32	2	0	0
>24 Monate	50	44	6	0	0
01/ 2004					
<6 Monate	3 von 16	3	0	0	0
<24 Monate	29	28	0	0	1***
>24 Monate	40	37	3	0	0
04/2004					
<6 Monate	11 von 12	11	0	0	0
<24 Monate	24	23	1	0	0
>24 Monate	44	44	0	0	0

* Durch Einbeziehung der neugeborenen Kälber in die Diagnostik konnte ein

intrauterin infiziertes Kalb frühzeitig erkannt und aus dem Bestand entfernt werden.

** Bei einem weiteren Kalb einer leukosepositiven Mutter wurden **maternale AK** nachgewiesen, ohne dass das Tier BLV infiziert ist, wie Verfolgsuntersuchungen zeigen.

*** Das im Januar 2004 mittels PCR als **Virussträger** erkannte Tier **serokonvertierte** erst 4 Wochen später und wäre bis zur nächsten blutserologischen Untersuchung nach weiteren 4 Monaten unerkannt als Virusreservoir im Bestand verblieben.

Das Fallbeispiel unterstreicht die Forderungen nach

- flexiblerer Handhabung des diagnostischen Managements unter Berücksichtigung der heutigen epidemiologischen Bedingungen (niedriger Infektionsdruck),
- gebündeltem Einsatz moderner Diagnoseverfahren,
- intensiver Zusammenarbeit mit den Veterinärbehörden bei Seuchenfeststellung,
- optimaler Gestaltung der flächendeckenden diagnostischen Überwachung,

- Vermeidung von (iatrogenen!) Reinfektionen.

Daraus resultieren notwendige Änderungen und/oder die flexiblere Anwendung der nationalen und internationalen Überwachungsvorschriften.

Dr. Dagmar Beier
Friedrich-Loeffler-Institut
Seestraße 5516868 Wusterhausen
Telefon: 033979-80 190
dagmar.beier@wus.bfav.de

Mykobakterien des Mycobacterium-avium-Komplexes: Differenzierung und Pathogenität für Tiere und den Menschen

Petra Möbius und Heike Köhler
Institut für molekulare Pathogenese

Einleitung

Nach der weitgehenden Eradikation der Tuberkulose stellen Mykobakteriosen, die vor allem durch die Spezies des Mycobacterium-avium-Komplexes (MAC) hervorgerufen werden, die häufigsten Mykobakterien-bedingten Erkrankungen landwirtschaftlicher Nutztiere dar. Das Spektrum reicht von schwerwiegenden Erkrankungen, wie der Paratuberkulose des Rindes und der kleinen Wiederkäuer (Johné'sche Krankheit) bis zu klinisch inapparenten lokalen Lymphadenitiden, z. B. beim Schwein. Auch beim Menschen sind Erreger des MAC die am häufigsten mit Erkrankungen assoziierten nicht tuberkulösen Mykobakterienspezies. Vertreter des MAC weisen eine hohe Tenazität auf und werden weit verbreitet in der belebten und unbelebten Natur gefunden, so in Wasser (Oberflächen- und Leitungswasser), im Boden, in Blumenerde, in Einstreu, im Hausstaub, in Futtermitteln und Ausscheidungen von Tieren (Inderlied und Mitarb. 1993).

Taxonomie und Verbreitung der Vertreter des MAC

Gegenwärtig rechnet man dem MAC zwei eng verwandte Spezies, *Mycobacterium (M.) avium* und *Mycobacterium (M.) intracellulare*, und andere noch weniger gut definierte Organismen zu. So wurde erst 2004 eine neue Spezies des MAC charakterisiert: *M. chimaera* sp. nov. (Tortoli und Mitarb., 2004). Basierend auf Unterschieden in der Pathogenität, dem Wirtsspektrum sowie phänotypischen und genotypischen Charakteristika wird die Spezies *M. avium* unter-

teilt in *M. avium* subsp. *avium*, *M. avium* subsp. *hominissuis*, *M. avium* subsp. *silvaticum* (das „Ringeltauben“-Mykobakterium) und *M. avium* subsp. *paratuberculosis*, den Erreger der Paratuberkulose (Thorel und Mitarb., 1990; Mijs und Mitarb., 2002).

Auf der Basis zahlreicher Untersuchungen hat sich die taxonomische Klassifizierung der MAC-Stämme während der letzten 35 Jahre schrittweise verändert, wobei die evolutionären Beziehungen innerhalb der Spezies des *M. avium*-Komplexes immer noch nicht vollständig aufgeklärt sind. Mit der ursprünglichen Standardmethode zur Differenzierung des MAC, der serologischen Typisierung, wurden 28 Serotypen definiert. Unter Verwendung von DNA-DNA-Hybridisierung und/oder Antikörper-basierten Methoden und der High-Performance-Liquid-Chromatographie (HPLC) wurden die Serotypen 1-6, 8-11 und 21 als *M. avium* klassifiziert, die Serotypen 7, 12-17, 19, 20 und 25 als *M. intracellulare* (Saito et al., 1990). Die meisten Stämme der Serotypen 23, 24, 26 und 28 hybridisierten nicht mit den spezifischen DNA-Sonden, aber präsentierten das MAC-spezifische alpha-Antigen. Durch Unterschiede in der 16S-23S rDNA „internal transcribed spacer“- (ITS)-Region können die MAC in verschiedene Sequenaren unterteilt werden (De Smet und Mitarb., 1995; Frothingham und Mitarb., 1993).

Das Vorhandensein spezies- und subspezies-spezifischer Insertions- und Genomsequenzen bildet die Grundlage für die Differenzierung der Vertreter des MAC (s. Tabelle 1).

Tabelle 1: Vorkommen von Insertionssequenzen bei Vertretern des MAC

	IS1245	IS1311	IS901	IS900	IS902
<i>M. a.</i> subsp. <i>avium</i>	X	X	X	–	–
<i>M. a.</i> subsp. <i>hominissuis</i>	X	X	–	–	–
<i>M. a.</i> subsp. <i>paratuberculosis</i>	–	X	–	X	–
<i>M. a.</i> subsp. <i>silvaticum</i>	X	X	X	–	X
<i>M. intracellulare</i>	X (7%)	X	–	–	–

M. avium subsp. *avium* (Serotypen 1-3) verkörpert den primären Erreger der aviären Tuberkulose bei Nutzgeflügel, Wild- und Ziervögeln. Organismen dieser Subspezies wurden auch bei anderen Nutztieren (vorrangig Rind und Schwein) und Wildtieren nachgewiesen, aber nur selten beim Menschen. Sie sind charakterisiert durch das Vorkommen der beiden Insertionssequenzen IS1245 und IS901.

Im Jahre 2002 wurden die Serotypen 4-6, 8-11 und 21 einer neuen Subspezies zugeordnet, die ebenfalls über das Insertionssegment IS1245 verfügt, jedoch nicht über IS901 und als *M. avium* subsp. *hominissuis* bezeichnet wird (Mijs et al., 2002). Die Bezeichnung subsp. *hominissuis* ist begründet durch den bis dahin vorrangigen Nachweis dieser Subspezies in tuberkulösen Läsionen bei Schweinen sowie in Humanisolaten. Inzwischen wurde *M. avium* subsp. *hominissuis* jedoch auch beim Rind, anderen Säugern und in der Umwelt nachgewiesen. Einer geringen Anzahl von *M. avium*-Stämmen fehlt das IS1245-Element, sie reagieren aber positiv auf einen *M. avium*-spezifischen rRNA-Sonden-Test.

M. intracellulare-Stämme enthalten weder das IS1245 noch das IS901 (Ausnahme für das IS1245: ca. 7 %). Sie kommen ubiquitär in der Umwelt vor, wurden in seltenen Fällen aus granulomatösen Lymphknotenveränderungen bei Rindern isoliert (Collins und Mitarb., 1997; Ritacco und Mitarb., 1998) und aus humanen Isolaten vorrangig von Patienten ohne HIV-Infektion. Das Insertionssegment IS1311 konnte bei allen Vertretern des MAC nachgewiesen werden.

M. avium subsp. *paratuberculosis* unterscheidet sich von den anderen Mitgliedern des MAC durch das Vorkommen des Insertionssegmentes IS900. IS900-ähnliche Sequenzen wurden

jedoch auch bei anderen atypischen Mykobakterien beschrieben (Englund und Mitarb., 2002). Das IS-ähnliche Element ISMav2 ist ebenfalls typisch für *M. avium* subsp. *paratuberculosis* (Strommenger und Mitarb., 2001), seine Verbreitung unter den atypischen Mykobakterien wurde allerdings bisher noch nicht umfassend untersucht. *M. avium* subsp. *paratuberculosis* konnte bei Haus- und Wildwiederkäuern, Wildvögeln, wildlebenden Karnivoren und regional begrenzt auch bei Kaninchen nachgewiesen werden (Harris und Mitarb., 2001)

Im Unterschied zu den anderen Mitgliedern des MAC weist *M. avium* subsp. *silvaticum* das Insertionssegment IS902 auf.

Identifizierung

Die Identifizierung von Vertretern des MAC erfolgt mit Hilfe phänotypischer und molekularer Methoden. Traditionelle Methoden zur Identifizierung von Mykobakterien umfassen die Wachstumsrate, die Koloniemorphologie, die Pigmentierung, das biochemische Profil sowie die Fettsäureanalytik mit Hilfe der Gaschromatografie (GC), der Dünnschichtchromatografie (DC) und der HPLC. Die konventionelle Kultur und biochemische Tests sind jedoch wenig geeignet, *M. avium* und *M. intracellulare* zu unterscheiden. Die Fettsäureanalytik bietet die Möglichkeit, die beiden eng verwandten Spezies voneinander abzugrenzen, die Methoden sind jedoch sehr aufwändig und kostenintensiv und bleiben Speziallabors vorbehalten.

Die Spezies *M. avium* subsp. *paratuberculosis* lässt sich anhand einer wesentlich längeren Kultivierungszeit und ihrer Abhängigkeit von Mykobaktin im Kulturmedium identifizieren. Auch Stämme von *M. avium* subsp. *silvaticum* benötigen zumindest für die Primärkultur den Zusatz von Mykobaktin.

Tabelle 2: Differenzierung des Genus *Mycobacterium* und der Vertreter des MAC auf DNA-Ebene

Genus/Spezies/ Subspezies	Gen	Methode	Literatur
<i>Mycobacterium</i> sp.	16S rDNA ITS 16S-23S rDNA hsp65 dnaJ	PCR Sequenzanalyse PCR-REA Sequenzanalyse PCR PCR	Böddinghaus und Mitarb. (1990) Kirschner und Bottger (2000) Roth und Mitarb. (2000) Roth und Mitarb. (1998) Telenti und Mitarb. (1993) Nagai und Mitarb. (1990)
<i>M. intracellulare</i>	16S rDNA ITS 16S-23S rDNA hsp65	Multiplex PCR Sequenzanalyse Sequenzanalyse PCR-REA Sequenzanalyse	Wilton und Cousins (1992) Kirschner und Bottger (2000) Frothingham und Wilson (1993) Telenti und Mitarb. (1993) Swanson und Mitarb. (1997)
<i>M. avium</i>	16S rDNA ITS 16S-23S rDNA IS1245 DT6 hsp65 mig Gen	Multiplex PCR Sequenzanalyse Sequenzanalyse PCR PCR PCR-REA Sequenzanalyse PCR	Wilton und Cousins (1992) Kirschner und Bottger (2000) Novi und Mitarb. (2000) Guerrero und Mitarb. (1995) Thierry und Mitarb. (1993) Telenti und Mitarb. (1993) Swanson und Mitarb. (1997) Plum und Mitarb. (1997)
<i>M. avium</i> subsp. <i>avium</i>	IS901 IS1245	PCR RFLP RFLP	Kunze und Mitarb. (1991) Dvorska und Mitarb. (2003) Bono und Mitarb. (1995) Ritacco und Mitarb. (1998)
<i>M. avium</i> subsp. <i>hominis-suis</i>	IS1245	RFLP	Van Soolingen und Mitarb. (1998) Mijs und Mitarb. (2002)
<i>M. avium</i> subsp. <i>silvaticum</i>	IS902 IS1245	PCR RFLP	Moss und Mitarb. (1992) Bono und Mitarb. (1995) Mijs und Mitarb. (2002)
<i>M. avium</i> subsp. <i>paratuberculosis</i>	IS900 ISMav2 F57	PCR RFLP PCR PCR	Green und Mitarb. (1989) Englund und Mitarb. (1999) und andere Pavlik und Mitarb. (1999) Stratmann und Mitarb. (2004) Vansnick und Mitarb. (2004)

Die Eignung der Serotypie zur Differenzierung des MAC ist inzwischen umstritten, da sich häufig Widersprüche zu den Ergebnissen molekularer Methoden ergaben und da bis zu einem Drittel der Isolate nicht typisierbar sind.

Basierend auf der genetischen Diversität zwischen den Organismen des MAC wurden im Verlaufe des letzten Jahrzehnts schnellere, leichtere und sensitivere Methoden zur Differenzierung entwickelt. Mit ihnen können die einzelnen Spezies und Subspezies identifiziert und individuelle Stämme für epidemiologische

Analysen typisiert werden. Dabei handelt es sich um PCR-Verfahren, PCR basierte Methoden mit anschließender reverser Hybridisierung, Restriktionsenzymverdau oder Sequenzierung sowie die Analyse des Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus mit unterschiedlichen Zielsequenzen.

Für die Humanmedizin entwickelte kommerzielle Tests, mit denen auch eine Differenzierung zwischen *M. avium* und *M. intracellulare* möglich ist, basieren auf der 16S- oder 23S-

rDNA bzw. auf der 16S-23S rRNA "internal transcribed spacer" Region und dem Prinzip der reversen Hybridisierung (AccuProbe, Gen-Probe Inc.; GenoType Mykobakterien, Hain Lifescience GmbH und INNO-Lipa MYCOBACTERIA, Innogenetics N.V.). Für die Differenzierung innerhalb der Spezies *M. avium* sind bisher keine Tests auf dem Markt. Eine Übersicht über weitere Methoden zur Differenzierung des MAC gibt Tabelle 2.

Epidemiologie, klinische und pathologische Befunde

In Deutschland spielt die Geflügeltuberkulose (Haupterreger: *M. avium* subsp. *avium*) bei der heutigen Geflügelintensivhaltung praktisch keine Rolle mehr. Zwischen 1996 und 1999 betrafen Meldungen fast ausschließlich kleine Bestände in Privathand oder in zoologischen Gärten (Martin und Schimmel, 2000). Bei den betroffenen Tieren werden tuberkulöse Veränderungen vorwiegend in der Leber, aber auch in der Milz und im Darm gefunden. Die Stämme der Subspezies *hominissuis* sind nur gering virulent für Vögel und gehören wie *M. avium* subsp. *avium* zu opportunistischen Erregern bei Säugetieren.

Vertreter des MAC sind die Hauptursache von tuberkulösen Lymphknotenveränderungen beim Schwein. Bei 24 540 (1,85 %) von 1 326 274 Schlachtschweinen wurden verkäste Läsionen in Lymphknoten festgestellt (Fischer und Mitarb., 2000). 29 % dieser Läsionen wurden durch Vertreter des MAC-Komplexes hervorgerufen, die Mehrheit gehörte der Spezies *M. avium*, nicht *M. intracellulare*, an. Als Infektionsquellen konnten die Aufnahme infizierten Vogelkotes (Schliesser, 1985; Mitro, 1997), kontaminierte Einstreu (Uhlemann und Mitarb., 1975) oder Torf, der an Ferkel als diätetischer Futterzusatz verfüttert wird, nachgewiesen werden (Uhlemann, 1999).

Beim Rind führen Infektionen mit *M. avium* (subsp. *avium*, subsp. *hominissuis*) und *M. intracellulare* im Allgemeinen nicht zu klinischen Erkrankungen. Die veterinärmedizinische Bedeutung der Infektion liegt in einer Sensibilisierung gegenüber Mykobakterien-Antigenen, die zu Kreuzreaktionen bei der Diagnostik der bovinen Tuberkulose und auch der Paratuberkulose führen können.

Bei Schaf und Ziege sind *M. avium*-Infektionen selten, sie können aber intestinale Läsionen und generalisierte Erkrankungen hervorrufen. Hirsche, besonders in Gatterhaltung, sind empfänglich für Infektionen mit *M. avium*. Die Erkrankung ist charakterisiert durch Gewichtsverlust

und Durchfall, sie kann aber ebenso klinisch inapparent verlaufen. *M. avium*-Infektionen des Pferdes sind ebenfalls selten. Sie betreffen den Darmtrakt, die klinischen Symptome äußern sich in Gewichtsverlust, intermittierendem Durchfall und Anorexie. Bei Hund und Katze kann die Infektion auf die Haut beschränkt sein oder sich bis zu einer generalisierten Erkrankung unter Einbeziehung des Verdauungs- oder Atmungstraktes ausbreiten.

Infektionen des Menschen durch Vertreter des MAC-Komplexes betreffen überwiegend immunsupprimierte Personen. Bei immunkompetenten Menschen sind derartige Infektionen sehr selten und prägen sich als chronische Lungenerkrankungen bei alten Menschen, zervikale Lymphadenitis bei Kindern und Weichteilinfektionen aus, aber selten als disseminierte Erkrankungen. Während der frühen Jahre der weltweiten AIDS-Epidemie besaßen Infektionen durch Mykobakterien des MAC eine große Bedeutung als Ursache für systemische bakterielle Infektionen, wobei 85 % der Isolate von HIV positiven Patienten der Spezies *M. avium*, nicht *M. intracellulare* zugeordnet werden konnten. Obwohl die Entwicklung der antiretroviralen Kombinationstherapie (HAART-Therapie: highly active antiretroviral therapy) einen Rückgang aller opportunistischen Infektionen bei HIV-Infizierten und Patienten mit AIDS hervorrief und die Sterblichkeit an Mykobakterieninfektionen deutlich reduzierte, bleiben MAC-Infektionen weiterhin weltweit eine große Gefahr für HIV-infizierte Patienten ohne Zugang zur HAART-Therapie oder mit HIV-Neuinfektion.

M. avium subsp. *paratuberculosis* verursacht eine chronische granulomatöse Darmentzündung bei Haus- und Wildwiederkäuern. Die Erkrankung führt zu Abmagerung, Leistungseinbußen und vor allem beim Rind, seltener bei kleinen und Wildwiederkäuern zu chronischen Durchfällen. Bei Vögeln und anderen Wildtieren wurde der Erreger zwar nachgewiesen, war aber meist nicht mit pathologischen Veränderungen assoziiert.

Literaturverzeichnis bei den Autoren erhältlich

Dr. Petra Möbius
Friedrich-Loeffler-Institut
Naumburger Straße 96 A
Telefon: 03641-804280
petra.moebius@jena.bfav.de

Untersuchungen zum gehäuften Auftreten von klinisch apparenten humanen Hantavirusinfektionen in östlichen Landkreisen Niederbayerns im Sommer/Herbst 2004

R. Ulrich¹, S. Essbauer², J. Schmidt^{1,3}, R. Friedrich¹, F. J. Conraths¹, G. Dobler², R. Wölfel², M. Pfeffer², M. Köhler², J. Koch⁴ und W. Hautmann⁵

¹ Friedrich-Loeffler-Institut, Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit, Institut für Epidemiologie, 16868 Wusterhausen; ² Institut für Mikrobiologie, Bundeswehr, 80937 München; ³ Institut für Virologie, Charité, Campus Mitte, 10098 Berlin; ⁴ Robert Koch-Institut, 13353 Berlin; ⁵ Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit, 85764 Oberschleißheim

1. Einleitung

Bei den Hantaviren handelt es sich um behüllte Viren mit einem segmentierten Negativstrang-RNA-Genom (Genomsegmente S, M und L), die taxonomisch zur Familie der Bunyaviridae gehören. In der zellabgeleiteten Virushülle befinden sich die M-Segment-kodierten Hüllproteine G1 und G2. Im Inneren des Viruspartikels befindet sich die L-Segment-kodierte RNA-abhängige RNA-Polymerase. Das S-Segment-kodierte Nukleokapsid (N)-Protein ist im Viruspartikel mit dem viralen RNA-Genom assoziiert (Übersicht in Ulrich et al., 2003). Das S-Genomsegment trägt bei bestimmten Hantaviren noch einen überlappenden zweiten Leserahmen, der ein Nichtstrukturprotein (NSs) kodiert, das möglicherweise in der Virus-infizierten Zelle als Interferonantagonist wirkt (Tulimäki et al., 2004).

Beim Menschen können Hantavirusinfektionen zur Ausbildung von zwei unterschiedlichen Krankheitsbildern führen. Die in Europa und Asien vorkommenden Hantaviren rufen Erkrankungen hervor, die bereits seit der ersten Hälfte des 20. Jahrhunderts bekannt sind und heute als Hämorrhagisches Fieber mit renalem Syndrom (HFRS) zusammengefasst werden. Die Schwere der Infektionen wird durch die verursachende Hantavirusspezies determiniert und reicht von asymptomatischen und grippeähnlichen bis zu schweren Verläufen mit einer Letalität von 0,1 - 12 %. Das auf dem amerikanischen Kontinent vorkommende und erstmals 1993 beschriebene Hantavirale cardiopulmonale Syndrom (HCPS) wird von Neuwelt-Hantaviren hervorgerufen. Die Letalität des HCPS beträgt ca. 36 % (CDC, 2004).

Hantaviren werden von persistent infizierten Nagetieren mit Urin, Speichel und Fäzes ausgeschieden. Die Übertragung zwischen Nagetieren

und auf den Menschen erfolgt vor allem durch Inhalation von Virus-kontaminierten Aerosolen.

Der Mensch stellt für Hantaviren aus epidemiologischer Sicht einen Fehlwirt (dead-end host) dar; nur für das hochvirulente südamerikanische Andesvirus (ANDV) gibt es Hinweise für eine Mensch-zu-Mensch-Übertragung.

Die Diagnostik von Hantavirusinfektionen beim Menschen basiert auf serologischen Verfahren (indirekte Immunfluoreszenz, ELISA, Immunoblot), da nur in der frühen akuten Infektionsphase eine Virämie beobachtet wird. Für einen hochsensitiven Nachweis von Hantavirus-spezifischen Antikörpern ist die Verwendung eines entsprechend homologen Antigens notwendig (Übersicht in Ulrich et al., 2004a).

In Deutschland sind mild bis moderat aber auch schwer verlaufende Hantavirusinfektionen beobachtet worden (Krüger et al., 2002; siehe Ulrich et al., 2004b). Die durchschnittliche Seroprävalenz der Normalbevölkerung beträgt ca. 1 - 2 %, weist jedoch regionale, geschlechts- und altersspezifische Unterschiede auf (Zöller et al., 1995; Ulrich et al., 2004b). Seit Einführung des Infektionsschutzgesetzes (IfSG) am 1. Januar 2001 sind in Deutschland jährlich ca. 150 - 200 Hantavirusinfektionen übermittelt worden, die die Referenzdefinition erfüllen, das heißt „klinisch und labordiagnostisch“ oder „klinisch-epidemiologisch“ bestätigt sind (2001: 185; 2002: 228; 2003: 144; 2004: 194; Stand 1.12. 2004; Robert Koch-Institut). Die größte Zahl an Fällen wurde in allen Jahren aus Baden-Württemberg gemeldet (2001: 59; 2002: 164; 2003: 65; 2004: 107), wo sich auf der Schwäbischen Alb ein Endemiegebiet für Hantavirusinfektionen befindet (Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten; Robert Koch-Institut, Berlin, 2002, 2003, 2004).

In Westeuropa und Skandinavien dominieren Infektionen mit dem Rötelmaus-assoziierten

Puumalavirus (PUUV). In Mitteleuropa sind hingegen neben PUUV zwei genetische Linien des Dobravavirus (DOBV), die mit Brandmaus (*Apodemus agrarius*; DOBV-Aa) und Gelbhalsmaus (*A. flavicollis*; DOBV-Af) assoziiert sind, und Feldmaus-übertragenes Tulavirus (TULV) als humanpathogene Erreger nachgewiesen. Serologische und molekularbiologische Daten haben für Deutschland das Vorkommen von humanen Infektionen mit PUUV, DOBV und, in sehr seltenen Fällen, TULV gezeigt. Molekularbiologische Untersuchungen bei Nagetierreservoirwirten in Deutschland belegten bisher das Vorkommen von PUUV in der Rötelmaus und des TULV in der Feldmaus. Serologische Untersuchungen haben auch Hinweise auf Hantavirus-spezifische Antikörper in anderen Nagetierspezies (z. B. Bisam, Hausmaus, Schermaus) geliefert, ohne dass daraus eine Rolle dieser Nagetiere als Reservoirwirte und Überträger abgeleitet werden kann (Übersicht in Ulrich et al., 2004b). Für den Zeitraum April bis November 2004 wurde erstmals über ein gehäuftes Auftreten von klinischen Fällen von Hantavirusinfektionen aus Niederbayern berichtet (Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit, LGL, 2004). Die Gesamtzahl der Fälle in Bayern war damit bereits im November doppelt so hoch wie in den vorangegangenen Jahren. In den betroffenen Landkreisen (Lkr. Freyung-Grafenau, Regen, Passau, Deggendorf, Rottal-Inn) waren derartige Infektionen seit Einführung der Meldepflicht bisher nur in sehr geringer Zahl (2002; n=3) beobachtet worden.

Ziel der hier vorgestellten Studien ist eine epidemiologische Charakterisierung des Verlaufs des Hantavirusausbruchs in Niederbayern im Sommer/Herbst 2004 und die Aufklärung seiner möglichen Ursachen.

2. Material und Methoden

2.1. Erfassung der klinischen Fälle von Hantavirusinfektionen

Jeder labordiagnostische Nachweis einer Hantavirusinfektion bei ambulanten oder stationär behandelten Patienten wurde gemäß IfSG vom untersuchenden Labor an das örtlich zuständige Gesundheitsamt gemeldet. Die Gesundheitsämter ermittelten durch Befragung der Patienten bzw. ihrer Angehörigen und der behandelnden Ärzte weitere demografische und klinische Daten entsprechend dem vom Robert Koch-Institut (RKI) vorgegebenen elektronischen Fallerfassungsformular für Hantavirusinfektionen. Dieses umfasst Angaben zu Wohnort, Alter, Geschlecht,

klinischem Bild, labordiagnostischem Nachweis, stationärer Behandlung und mutmaßlichem Infektionsort. Sofern sich bei der Ermittlung des möglichen Infektionsortes Hinweise auf direkte oder indirekte Kontakte zu Nagetieren oder deren Ausscheidungen ergaben, wurden diese in freier Form dokumentiert. Die so erhobenen Daten wurden nach IfSG wöchentlich an das LGL und von dort weiter an das RKI übermittelt. Bei der Auswertung erfolgte die zeitliche Zuordnung nach der Meldeweche, die regionale Zuordnung nach dem Wohnort auf Ebene der Lkr., so dass bei gegebener Bezugsbevölkerung eine Inzidenzberechnung möglich ist.

2.2. Nagetierfang

Aufgrund von Daten aus dem LGL, den Gesundheitsämtern in den Lkr. Freyung-Grafenau und Regen, behandelnden Ärzten und persönlichen Kontakten zu Patienten wurden 7 Fangorte in Niederbayern, 5 im Lkr. Freyung-Grafenau (Mutzenwinkel, Langenfurth, Schöfweg, Glashütte und Raimundsreuth) und 2 im Lkr. Regen (Hangenleithen, Falkenstein), ausgewählt.

Zur Erhöhung der Wildnagetier-Fangquote wurde bei den Fängen in Niederbayern eine Vorködertechnik eingesetzt (Abb. 1A). An den ausgewählten Fangorten wurden in 3 Fangnächten vom 12. bis 15. Oktober 2004 jeweils etwa 5 - 15 Lebendfallen (Shermanfallen) ausgebracht (Abb. 1B), die zwei- bis dreimal täglich auf gefangene Tiere überprüft wurden. Die Speziesbestimmung der Tiere (Abb. 1C) erfolgte morphologisch mit einem Bestimmungsschlüssel (Heitland und Bäumler, 2000). Die Tiere wurden vor Ort tierschutzgerecht mittels CO₂ getötet. Anschließend wurden die biometrischen Werte der Tiere (Geschlecht; Alter; Gewicht; Länge) bestimmt. Für die serologischen Untersuchungen wurde Blut durch Herzpunktion entnommen, Serum abgetrennt und Blutzellen und Serum bei -40 °C gelagert. Die Tierkörper wurden sofort auf Trockeneis eingefroren. Die Sektion der Tiere erfolgte in Sicherheitswerkbänken der Klasse 2. Hierbei wurden verschiedene Organe (Leber, Niere, Lunge u.a.) entnommen und bis zur Aufarbeitung bei -70 °C gelagert.

2.3. Serologische Untersuchungen an Nagetierproben

Als Screening-Tests für die serologische Charakterisierung der Nagetierserumproben wurden parallel ein kommerzieller indirekter PUUV-

Immunfluoreszenztest (IFA; Progen Biotechnik, Heidelberg) und indirekte in-house IgG-ELISAs und IgG-Western blots auf der Basis Hefe-exprimierter N-Proteine von PUUV und DOBV verwendet (Razanskiene et al., 2004). Seren wurden bei einer Verdünnung von 1/200 im ELISA als positiv gewertet, wenn sie den cut off-Wert von 0,120 (Mittelwert der OD-Werte der Negativseren + 3fache Standardabweichung) überstiegen. Zur Bestimmung von ELISA-Endpunkttitern wurden die Proben, beginnend mit einer Ausgangsverdünnung von 1/200, in 2er-Stufen verdünnt. Der Endpunkttiter entspricht der höchsten Verdünnungsstufe, bei der der entsprechende OD-Wert noch über dem cut off-Wert lag. Alle im Screening reaktiven Proben wurden anschließend im Western blot-Bestätigungstest überprüft. Als Kontrollen wurden in ELISA und Blot gepoolte anti-PUUV-N- und anti-DOBV-N-positive und negative Kontrollseren von C57BL/6-Labormäusen verwendet (Geldmacher et al., 2004).

3. Ergebnisse

3.1. Epidemiologie der Erkrankungsfälle

In Bayern wurden im Jahr 2004 bis zur 49. Kalenderwoche (KW) 58 klinisch apparente humane Hantavirusinfektionen gemeldet (LGL, Stand 8. 12. 2004), die sich unterschiedlich auf die Regierungsbezirke verteilten (Abb. 2A). Im Zeitraum April bis November 2004 wurde in Niederbayern eine im Vergleich zu den Vorjahren deutlich erhöhte Zahl von klinisch apparenten Hantavirusinfektionen beobachtet. Während in den Jahren 2001 und 2003 in Niederbayern keine und im Jahr 2002 nur einzelne Hantavirusinfektionen gemeldet wurden, wurden bis zur 49. KW 2004 insgesamt 36 Fälle registriert. Die ersten Fälle wurden im Lkr. Freyung-Grafenau in der 17. KW beobachtet. Seit der 34. KW wurden nahezu kontinuierlich 2 und mehr Fälle pro Woche übermittelt. Die Inzidenz war am höchsten in den Lkr. Regen, Passau und Freyung-Grafenau (Abb. 2B).

3.2. Klinik und Infektionsquellen

Die Klinik dieser symptomatischen Hantavirusinfektionen war durch Fieber, Nierenfunktionsstörungen, Glieder-, Kopf- und Muskelschmerzen sowie Übelkeit und Erbrechen gekennzeichnet. Von den 36 bis zur 49. KW 2004 gemeldeten Fällen in Niederbayern mussten 30 stationär behandelt werden, bei 24 Erkrankten trat eine Nierenbeteiligung auf (LGL, Stand 8.12. 2004).

Bei zwei der 36 Patienten wurden als mutmaßliche Infektionsorte Österreich und Italien angegeben; bei allen anderen Patienten ist von einer Infektion am Wohn-/Arbeitsort in Niederbayern auszugehen. Angaben zu den möglichen individuellen Risikofaktoren der betroffenen Patienten liegen nur begrenzt vor. Die meisten Befragten hatten ein rurales Lebensumfeld, lebten in Bauernhäusern, Häusern mit angebauten Schuppen oder hatten Kontakte zu Forst-/Landwirtschaft. Bei einigen Erkrankten konnte ein direkter oder indirekter Kontakt zu Nagetieren bzw. deren Ausscheidungen recherchiert werden. Untersuchungen mit unterschiedlichen serologischen Tests zeigten bei 35 der 36 Patienten PUUV-Infektionen an; in einem Fall konnte die Hantavirusinfektion nicht weiter spezifiziert werden (Dr. W. Hautmann, LGL, persönliche Mitteilung). Der überwiegende Teil der Infektionen wurde am Nationalen Referenzzentrum für tropische Infektionserreger (Bernhard-Nocht-Institut für Tropenmedizin, Hamburg) in Zusammenarbeit mit dem Konsiliarlaboratorium für Hantaviren (Institut für Virologie, Universitätsklinikum Charité, Berlin) diagnostiziert und typisiert (PD Dr. S. Günther, Hamburg; persönliche Mitteilung). Die gemeldeten Erkrankungen betrafen in etwa drei Viertel der Fälle Männer (Männer/Frauen: 2,6). Der Altersgipfel der Patienten lag in der Altersgruppe 30-49 Jahre.

3.3. Nagetieruntersuchungen

Um den Ursprung des Hantavirusausbruchs in Niederbayern näher zu charakterisieren, wurden Nagetiere in den Lkr. Regen und Freyung-Grafenau an 7 Orten gefangen, an denen die meisten klinischen Hantavirusinfektionen beobachtet worden sind (Abb. 2). Durch Vorködern wurde in den ausgelegten Shermanfallen eine bis zu 50 %-ige Fangquote erreicht. Insgesamt wurden während 3 Fangnächten 43 Tiere, d.h. 29 Rötelmäuse (*Clethrionomys glareolus*), 11 Gelbhalsmäuse (*Apodemus flavicollis*), 2 Waldmäuse (*Apodemus sylvaticus*) und eine Hausmaus (*Mus musculus*), gefangen. Die meisten Nagetiere (17/43) wurden dabei in der Gemeinde Raimundsreuth in einem Waldstück (Buchen-, Eichen-, Nadelmischwald) mit dichtem Brombeerunterbewuchs, einem bevorzugten Lebensraum vor allem von Rötelmäusen, gefangen (siehe Abb. 1A).

Beim Screening von 29 Serumproben der in Niederbayern gefangenen Nagetiere mittels DOBV- und PUUV-IgG-ELISA wurden 7 seroreaktive Proben identifiziert, die in mindestens

einem ELISA reagierten. Bei paralleler Analyse aller 29 Proben im PUUV-IFA wurden nur die IgG-ELISA-reaktiven Seren detektiert (siehe Abb. 1D). In anschließenden Western blot-Analysen wurde die Reaktivität dieser 7 Serumproben mit mindestens einem Antigen bestätigt. Bei vier der 6 seropositiven Rötelmäuse war der ELISA-Endpunkttiter für PUUV-N-Protein mindestens doppelt so hoch als der für DOBV-N-Protein. Bei zwei Rötelmäusen waren die Endpunkttiter für DOBV und PUUV identisch. Bei der einzigen seropositiven Gelbhalsmaus wurden in ELISA, Blot und IFA PUUV-N-reaktive Antikörper nachgewiesen. Drei dieser Antikörperpositiven Mäuse stammten aus der unmittelbaren Umgebung von im August schwer erkrankten Patienten. Aus der Gemeinde Raimundsreuth war in der Woche vor dem Nagetierfang ein Erkrankungsfall gemeldet worden. Hier waren 4 von 17 Nagetieren (24 %) serologisch reaktiv (siehe Abb. 2C).

Alle als negativ eingestuften 22 Nagetier-Serumproben aus Niederbayern und Negativkontrollseren von Labormäusen reagierten in keinem der verwendeten Tests. Die als Positivkontrollen eingesetzten Seren von experimentell mit DOBV- oder PUUV-N-Proteinderivaten immunisierten C57/BL6-Labormäusen zeigten eine unterschiedlich starke Reaktion im PUUV-IFA (Abb. 1D).

4. Diskussion

Die Seroprävalenz der Normalbevölkerung beträgt in Bayern ca. 1,6 % (Zöller et al., 1995). Seit Einführung der Meldepflicht im Jahre 2001 wurden in Bayern insgesamt 122 Fälle gemeldet, von denen nur im Jahre 2002 einzelne Fälle (3 Fälle, 2 im Lkr. Freyung-Grafenau und einer im Lkr. Deggendorf) auf Niederbayern entfielen. In den Jahren 2001 bis 2003 waren bis zu 90 % der in Bayern gemeldeten Fälle im Raum Würzburg, Regierungsbezirk Unterfranken, aufgetreten, der seit Jahren als ein bayerisches Endemiegebiet für Hantavirusinfektionen bekannt ist (Pilaski et al., 1991; Kulzer et al., 1993).

In diesem Jahr wurden in Bayern bis KW 49 bereits 58 Fälle registriert (LGL; Stand 8.12. 2004), d.h. doppelt so viele wie durchschnittlich in den letzten drei Jahren beobachtet worden waren, von denen 36 auf Niederbayern entfielen. Dabei sind insbesondere die östlich gelegenen Lkr. Freyung-Grafenau, Passau und Regen betroffen. In den mittleren Lkr. (Deggendorf, Rottal-Inn) wurden nur vereinzelte Fälle registriert,

während in den westlich gelegenen Lkr. Straubing, Dingolfing-Landau, Kelheim und Landshut keine Infektionen beobachtet wurden.

In verschiedenen Studien ist eine Korrelation der Häufigkeit von Hantavirusinfektionen beim Menschen mit der Populationsgröße der jeweiligen Hantavirusreservoirwirte aufgezeigt worden (Niklasson et al., 1995; Hjelle and Glass, 2000). In Deutschland wurde in der Vergangenheit über ein gehäuftes Auftreten von Hantavirusinfektionen insbesondere in Baden-Württemberg berichtet (Kimmig et al., 2002; Kunz et al., 2002; Rasche et al., 2004). So wurde während eines Militärmanövers in der Nähe von Ulm ein Hantavirusausbruch beobachtet (Clement et al., 1996). Die erhöhte Zahl von Hantavirusinfektionen in Baden-Württemberg im Jahre 2002 wurde durch eine überdurchschnittlich starke Vermehrung der Rötelmaus erklärt (Kimmig et al., 2002). Möglicherweise kann das hier dargestellte gehäufte Auftreten von Hantavirusinfektionen in Niederbayern im Jahre 2004 auch dadurch erklärt werden; nach Mitteilungen der örtlichen Forstbehörden in Niederbayern (Dr. Graf, Forstamt Freyung) kam es als Folge einer besonders ausgeprägten Fruchtbildung bei Buchen und Eichen im Herbst 2003 zu einer starken Vermehrung der Mäuse in den betroffenen Regionen. In Österreich wurden in diesem Jahr bisher 75 humane PUUV-Infektionen beobachtet (Stand 2.12. 2004; Prof. S. Aberle, Wien, persönliche Mitteilung). Dieser enorme Anstieg gegenüber den Vorjahren (von 1993-2003 jährlich weniger als 20 Fälle) wird einerseits durch eine verbesserte Aufklärungsrate bei den behandelnden Ärzten aber auch sehr wahrscheinlich durch eine Zunahme der Populationsdichte der Rötelmaus erklärt (Prof. S. Aberle, persönliche Mitteilung; Aberle, 2004). Auch in der Ostslowakei wurde im Jahr 2004 eine erhöhte Zahl von humanen Hantavirusinfektionen beobachtet (Dr. B. Klempe, Berlin, Bratislava, und Dr. M. Labuda, Bratislava, persönliche Mitteilung). Im Gegensatz dazu wurden in Belgien im Jahre 2004 bisher deutlich weniger Fälle als im Vorjahr beobachtet (P. Heyman, Brüssel, persönliche Mitteilung). Bei fast allen aus Niederbayern gemeldeten klinischen Fällen wurde durch unterschiedliche serologische Tests eine PUUV-Infektion detektiert (Dr. W. Hautmann, LGL, persönliche Mitteilung; PD Dr. S. Günther, Hamburg, persönliche Mitteilung). Diese Daten stehen in Übereinstimmung mit der in unseren Untersuchungen beobachteten Dominanz PUUV-reaktiver Antikörper in Rötelmäusen, dem natürlichen Wirt

und Überträger des PUUV.

Der Nachweis von PUUV-reaktiven Antikörpern in einer Gelbhalsmaus aus Niederbayern könnte für eine „spill over“-Infektion sprechen. Daneben konnten bei einer Untersuchung auf einem Truppenübungsplatz in Bayern TULV-infizierte Feldmäuse detektiert werden (Dr. J.J. Scharninghausen, persönliche Mitteilung). In einer anderen serologischen Studie von Nagetierproben aus Bayern konnten wir in mehreren Gelbhalsmäusen DOBV-N-reaktive Antikörper nachweisen (Schmidt, Ulrich und Essbauer, unveröffentlichte Daten). In unterschiedlichen Seroprävalenzstudien in der Normalbevölkerung und bei chronischen Dialysepatienten aus Bayern und speziell aus dem Raum Würzburg wurden ebenfalls nicht nur PUUV- sondern auch Hantaanvirus-kreuzreaktive Antikörper nachgewiesen (Zöller et al., 1995), die wahrscheinlich auf DOBV-Infektionen zurückzuführen sind.

5. Zusammenfassung und Ausblick

Der in Niederbayern im Sommer/Herbst 2004 beobachtete Hantavirusausbruch ist auf Infektionen mit dem PUUV zurückzuführen. Die in Rötelmäusen nachgewiesenen Infektionen sollen jetzt insbesondere durch Hantavirus-spezifische RT-PCRs, Sequenzanalyse und anschließende phylogenetische Analyse genauer charakterisiert werden.

Auch in Niederbayern scheint der Ausbruch durch eine starke Vermehrung der Nagetierreservoirpopulation hervorgerufen worden zu sein. Diesbezüglich sollen die Untersuchungen zur Populationsdynamik von Nagetieren in Bayern verstärkt werden. Aus diesem Grunde sind wir auch gegenwärtig dabei, mit zahlreichen Kooperationspartnern ein deutschlandweites Netzwerk zum Monitoring von Hantavirusinfektionen bei potentiellen Nagetierwirten als Infektionsquelle für Hantaviren zu etablieren, um das gegenwärtige und mögliche zukünftige Infektionsrisiko der Bevölkerung einschätzen zu können.

Obgleich inaktivierte Hantavirusimpfstoffe in Tierversuchen und klinischen Studien vielversprechende Ergebnisse gezeigt haben (Krüger et al., 2001), ist bisher zur Immunprophylaxe von humanen Hantavirusinfektionen in Europa kein zugelassener Impfstoff verfügbar. Aus diesem Grunde kommt den Maßnahmen der Expositionsprophylaxe sehr große Bedeutung zu (siehe homepages des Robert Koch-Instituts:

www.rki.de/INFEKT/HANTA/MBLHANTA.HTM und des Instituts für Virologie: www.charite.de/virologie/hantapraev.pdf). Auch der Aufklärung der Ärzteschaft und Bevölkerung über die Gefahren von Nagetier-übertragenen Pathogenen soll in Zukunft weiterhin große Aufmerksamkeit gewidmet werden.

Danksagung

Wir möchten uns ganz herzlich bei Aileene Lorber, Andreas Knoche und Florian Goldberg für den hochmotivierten Einsatz beim Mäusefang und Harald Weber, Peter Klein, Gudrun Zöller, Aileene Lorbeer und Roswitha Mattis für die exzellente technische Assistenz bedanken. Für die Mitteilung von unveröffentlichten Daten danken wir PD Dr. Stephan Günther (Hamburg), Prof. Dr. Stephan Aberle (Wien), Paul Heyman (Brüssel), Dr. Jerrold J. Scharninghausen (Würzburg), Dr. Graf (Freyung), Dr. Boris Klempa (Berlin, Bratislava) und Dr. Milan Labuda (Bratislava), und für die Angaben zu Patienten und Infektionsorten Dr. Böer vom Gesundheitsamt Regen, Dr. Schraml vom Gesundheitsamt Freyung-Grafenau und Dr. Schoder aus Schöfweg. Sherman-Lebendfallen und Kontrollseren von immunisierten Labormäusen wurden freundlicherweise von Prof. Dr. Walter Bäumler (München) und Astrid Geldmacher (Berlin) zur Verfügung gestellt. Die Untersuchungen wurden von einer Reihe von Kolleginnen und Kollegen in Deutschland und Litauen unterstützt, von denen hier Dr. Petra Emmerich, Prof. Dr. Herbert Schmitz (Hamburg), Dr. Manfred Weidmann (Freiburg), Dr. Kirsten Tackmann, Lieselotte Minke, Dr. Thomas Müller (Wusterhausen), Dr. Helga Meisel, Prof. Dr. Detlev H. Krüger (Berlin), Prof. Dr. Angela Rösen-Wolff (Dresden), Dr. Sabine Ludwig (Oberschleißheim), Dr. Ausra Razanskiene, Dr. Kestutis Sasnauskas und Rasa Petraityte (Vilnius) genannt seien.

Literaturverzeichnis bei den Autoren erhältlich

PD Dr. R. Ulrich
 Friedrich-Loeffler-Institut
 Institut für Epidemiologie,
 Seestraße 55, 16868 Wusterhausen
 Tel.: 033979-80162,
rainer.ulrich@wus.bfav.de

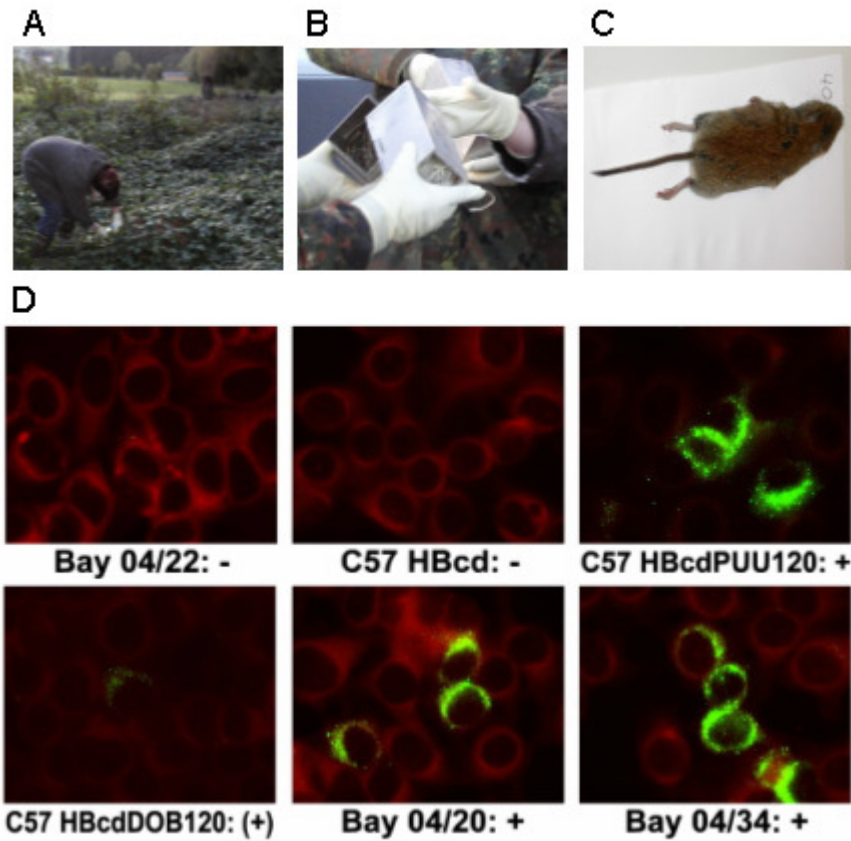


Abb. 1: Fang, Speziesbestimmung und serologische Analyse der Nagetiere

A: Überprüfung von Vorköderbechern im Brombeergestrüpp, dem bevorzugten Biotop von Rötelmäusen

B: Ausbringen der Sherman-Lebendfallen

C: Ganzkörperansicht einer gefangenen Rötelmaus (*C. glareolus*)

D: Indirekter PUUV-Immunfluoreszenztest ausgewählter Nagetierseren

Gezeigt sind die Reaktivitäten von zwei reaktiven Nagetierseren (Bay 04/20, Bay 04/34) und eines negativen Serums aus Niederbayern (Bay 04/22). Als Kontrollen wurden Seren von C57BL/6-Mäusen (C57) verwendet, die mit Hepatitis B Virus-Corepartikeln (HBcd) oder chimären Corepartikeln mit einem aminoterminalen Segment des PUUV-N-Proteins (HBcdPUU120) oder des DOBV-N-Proteins (HBcdDOB120) immunisiert worden sind (Geldmacher et al., 2004).

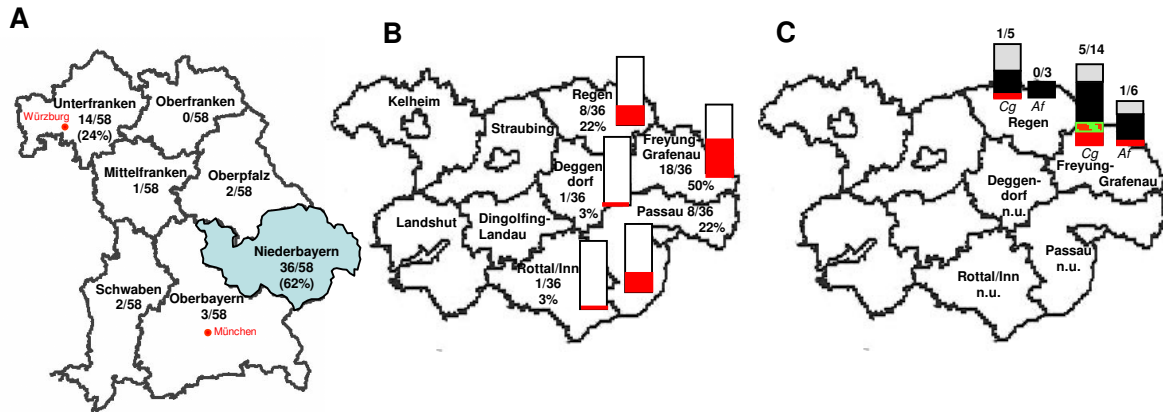


Abb. 2: Geographische Lokalisation der Herkunftsorte von Hantavirus-infizierten Patienten aus Niederbayern sowie Fangorte von Nagetieren

A: Karte mit Regierungsbezirken Bayerns: Angabe der Zahl der im Jahr 2004 pro Regierungsbezirk im Vergleich zur Gesamtzahl der Fälle in Bayern (Stand: 8.12. 2004)

B: Übersicht über das Auftreten von klinischen Hantavirusfällen in den östlichen Landkreisen (Lkr.) Niederbayerns im Verhältnis zur Gesamtzahl der Patienten in Niederbayern. Bei fast allen gemeldeten Patienten wurden durch unterschiedliche serologische Tests PUUV-Infektionen diagnostiziert (Dr. W. Hautmann, LGL, persönliche Mitteilung; PD Dr. S. Günther, Hamburg, persönliche Mitteilung).

C: Übersicht über den Anteil von Hantavirus-Antikörper-positiven Rötelmäusen (*C. glareolus*; Cg) und Gelbhalsmäusen (*A. flavicollis*; Af) in den beiden untersuchten Lkr. an der Gesamtzahl der jeweils gefangenen Tiere der beiden Spezies. rot, Endpunkttiter PUUV>DOBV; rot/grün schraffiert, Endpunkttiter PUUV=DOBV; schwarz, serologisch negativ; grau, nicht untersucht, da kein Serum zur Verfügung stand. n.u., nicht untersuchte Lkr.

Kurznachrichten

KSP-Diagnostik am Gefrierschnitt Aktuelle Anwendungshinweise zur Immunfluoreszenz

Jens P. Teifke
Institut für Infektionsmedizin

Ab sofort steht auch wieder ein zugelassenes KSP-Diagnostikum für die **direkte Immunfluoreszenz** am Gefrierschnitt zur Verfügung. Die eben zugelassene Charge des **Anti-CSFV FITC Konjugat (ChB: FCSF04B09) der Firma BioX Diagnostics** ist in einer **Arbeitsverdünnung 1 : 30** unter Verwendung von 0,005% Evans Blue sowohl bei Gewebeproben von Haus- als auch besonders von Wildschweinen zum Nachweis von KSPV-Antigenen anwendbar. Die bei der indirekten Immunfluoreszenz, in Abhängigkeit vom verwendeten sekundären Antikörper, gelegentlich auftretenden unspezifischen Reaktionen in Follikelzentren oder in großen zytoplasmareichen dendritischen Zellen werden bei Verwendung der direkten Immunfluoreszenz nicht beobachtet. Die Effizienz und Spezifität des FITC-Konjugats ist vergleichbar mit dem inzwischen nicht mehr für die Diagnostik zugelassenen VMO Gamakon. Für die indirekte Immunfluoreszenz am Gefrierschnitt (empfohlene Arbeitsverdünnung 1:100) wurde zuletzt die Charge **aCSF04L04** des „**Anti-CSFV monoklonale Antikörper BIO 275**“ zugelassen.

PD Dr. Jens P. Teifke, DACVP
Friedrich-Loeffler-Institut
Institut für Infektionsmedizin
Boddenblick 5 a
17493 Greifswald-Insel Riems
Telefon: 038351-7 253
teifke@rie.bfav.de