

## Milzbrand – wieder ein Dauerbrenner?

Mandy Elschner und Hanka Brangsch

FLI, Institut für bakterielle Infektionen und Zoonosen,  
Nationales Referenzlabor für Milzbrand



Mandy Elschner  
(© M. Pfau, FLI)



Hanka Brangsch  
(© privat)

Milzbrand oder auch Anthrax ist eine ansteckende und oft tödlich verlaufende Tierkrankheit. Sie ist auf den Menschen übertragbar (Zoonose). Ihr Name ergibt sich aus der Beobachtung, dass bei kranken Tieren die Milz häufig wie „verbrannt“ aussieht.

Milzbrand kommt weltweit vor, bevorzugt in Südosteuropa, Südamerika, Afrika, Südostasien und wird durch das sporen- und toxinbildende Bakterium *Bacillus (B.) anthracis* verursacht. Milzbrandsporen werden weder durch Fäulnis, Eintrocknen noch beim Gerben von Häuten vernichtet. Die Infektion bei Tieren erfolgt meistens durch die Aufnahme von Milzbrandsporen über das Futter, insbesondere bei pflanzenfressenden Tieren, wie Rinder, Schafe, Ziege, Schweine und Pferde. Vor Jahrzehnten war es üblich, verendete Tiere oder tierische Abfälle zu vergraben. Da Milzbrandsporen über Jahrzehnte im Erdboden lebensfähig bleiben, können sie, wenn sie an die Erdoberfläche gelangen (durch Ausgrabungen, Überschwemmungen), erneut Tiere über das Futter infizieren. Milzbrand kann weiterhin durch den Import von tierischen Rohprodukten aus Ausbrechungsgebieten eingeschleppt werden, bspw. über Häute, Felle, Tierhaare, Wolle oder Schweinsborsten. Raubtiere können sich durch Fressen von infizierten Kadavern anstecken. Schweine, Fleischfresser und auch Menschen sind eher mäßig empfänglich und Vögel (Ausnahme Strauß) gelten als nahezu unempfindlich für Milzbrand. Menschen infizieren sich durch



Abb. 1: Nahaufnahme des Kopfes eines an Milzbrand verendeten Weiderindes mit blutigem Ausfluss aus Augen und Nasenloch  
(© C. Otterbein, Staatliches Veterinäramt Rosenheim)

den Kontakt mit erkrankten oder verendeten Tieren bzw. deren Ausscheidungen, Sekreten, Blut und Geweben oder auch den Verzehr von sporenhaltigen Produkten.

Milzbrand ist am lebenden Tier selten mit Sicherheit festzustellen. Die Tiere erkranken vorwiegend nach Aufnahme von erregerehaltigem Futter an Darmmilzbrand, der rasch zum Tode führt. Aus den Körperöffnungen kann es ähnlich wie bei Vergiftungen zum Austritt von dunklem, schlecht gerinnendem Blut kommen (Abb. 1). In vereinzelt Fällen sind Atembeschwerden infolge Rachenentzündung sowie Verfärbung und Schwellung im Bereich des Kehlkopfes zu beobachten.

### Situation in Deutschland

In Deutschland tritt Milzbrand nur noch sporadisch und bevorzugt in bestimmten Gegenden auf. Hierbei handelt es sich bspw. um Flussniederungen, die häufigen Überschwemmungen ausgesetzt sind. Die Krankheit ist in den letzten Jahrzehnten in Deutschland zahlenmäßig beträchtlich zurückgegangen (Abb. 2), weil erkrankte Tiere in den

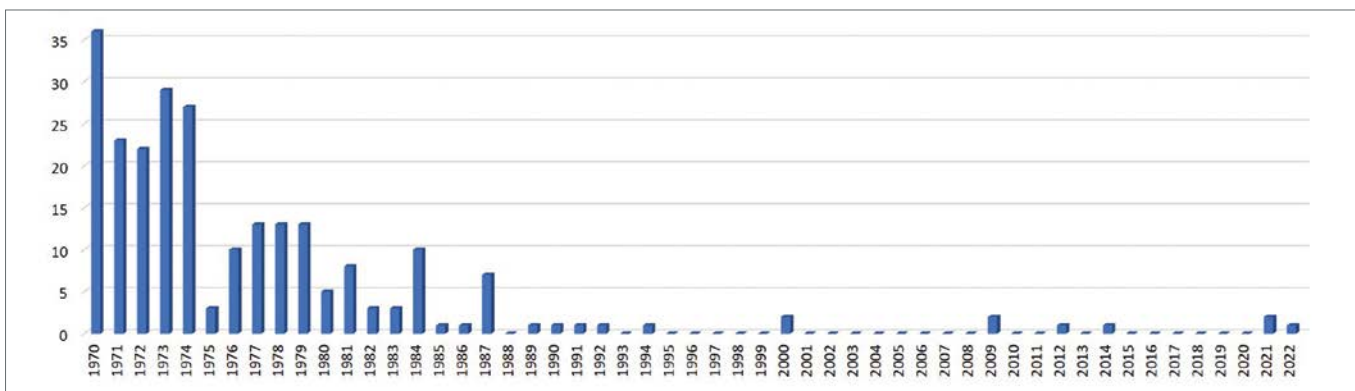


Abb. 2: Milzbrandausbrüche in Deutschland in den letzten 50 Jahren, in TSN gemeldete Fälle

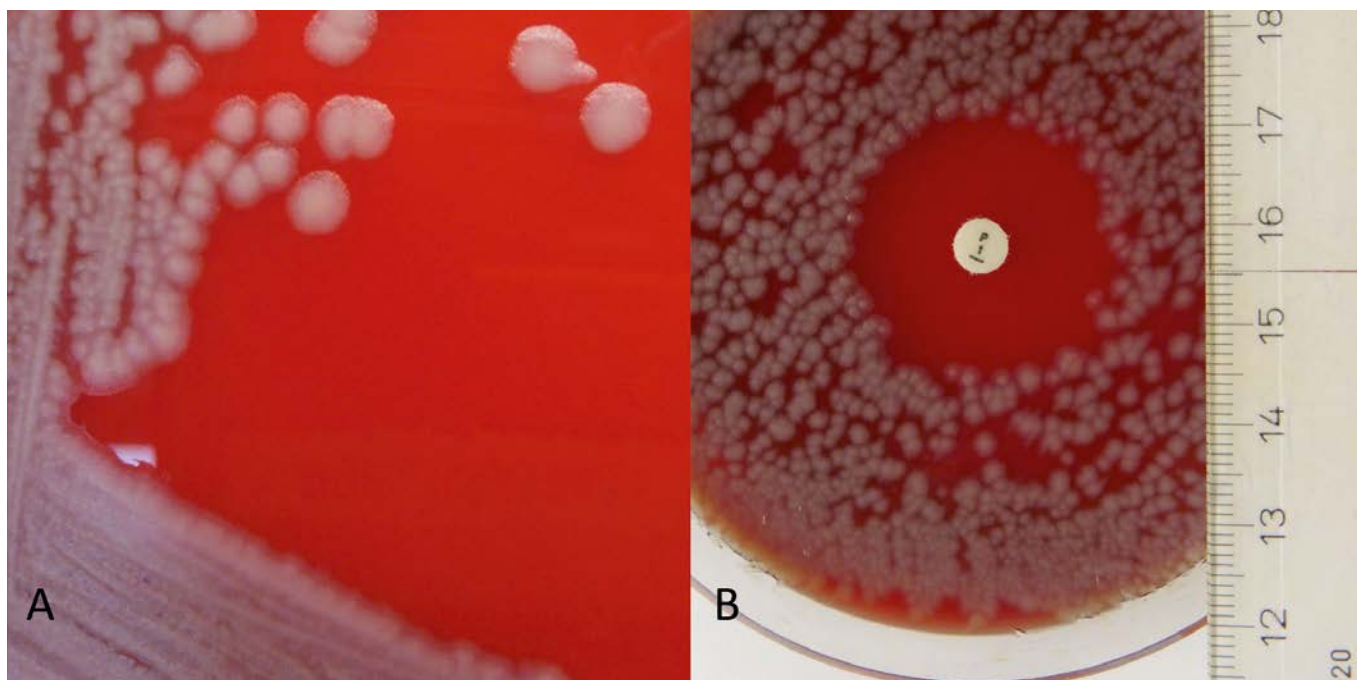


Abb. 3: Isolat 22RA24318 - Typische *B. anthracis* Kolonien auf Blutagar (A); Test auf Penicillin-Empfindlichkeit (B), (© FLI)

Tierkörperbeseitigungsanstalten beseitigt werden, die Einfuhr von Tierhäuten und Knochen überwacht wird und die Einfuhr von Knochen-, Fleisch- und Tierkörpermehlen verboten ist. Deshalb ist es besonders auffällig, dass nach den letzten Ausbrüchen in Sachsen-Anhalt 2012 und 2014, in Bayern gleich drei Primärausbrüche in relativ kurzen Abständen (25.08.2021, 19.11.2021, 18.02.2022) gemeldet wurden. Alle drei Ausbrüche ereigneten sich im gleichen Betrieb, wo im August und November 2021 sowie im Februar 2022 insgesamt drei Tiere an Milzbrand verendeten (TSN online).

#### Erregernachweis und -vergleich

Die Identifizierung von *B. anthracis* basiert neben der Kultur (Abb. 3) auf der parallelen Amplifikation spezifischer Sequenzabschnitte unterschiedlicher kodierender Regionen auf dem Plasmid pX01 (*cya*-Gen; Anthrax-Toxin Komponente), auf dem Plasmid pX02 (*capB*-Gen, Komponente notwendig für die Polyglutamatsynthese) sowie auf dem bakteriellen Chromosom (Prophage lambdaBa03-PL3 (Wielinga et al., 2011; Agren et al., 2013).

Isolat FLI-Nr.	Bestand	Bundesland	Monat/Jahr des Ausbruchs
09RA5721	Bestand A LK Rosenheim	Bayern	2009
21RA23352	Bestand A LK Rosenheim	Bayern	08/2021
21RA23353	Bestand A LK Rosenheim	Bayern	08/2021
22RA24318	Bestand A LK Rosenheim	Bayern	11/2021
12RA1944	Betrieb B Stendal	Sachsen-Anhalt	2012
12RA1945	Betrieb B Stendal	Sachsen-Anhalt	2012
12RA1949	Betrieb B Stendal	Sachsen-Anhalt	2012
14RA5914	Betrieb C Dobichau	Sachsen-Anhalt	2014
14RA5915	Betrieb C Dobichau	Sachsen-Anhalt	2014
14RA5916	Betrieb C Dobichau	Sachsen-Anhalt	2014

Tab. 1: Analytierte *B. anthracis*-Isolate aus Deutschland

Der Vergleich der Isolate erfolgte anhand ihrer Genomsequenzen, die mittels Illumina-Technologie ermittelt wurden. Auf dieser Grundlage wurden Einzelnukleotidmutationen (SNPs) identifiziert und eine Analyse mittels core genome MLST (Abdel Glil et al. 2021) durchgeführt. Für diese Untersuchung standen dem NRL bisher lediglich die Isolate der Ausbrüche 2009, 08/2021 und 11/2021 zur Verfügung.

Sowohl die SNP-Analyse als auch das cgMLST ergaben, dass die Isolate aus den drei Ausbrüchen in Bayern 2009, 08/2021 und 11/2021 nahezu identisch sind, sich aber deutlich von den Isolaten aus Sachsen-Anhalt unterscheiden (Abb. 4). Die bayerischen Isolate weisen weiterhin eine hohe Ähnlichkeit zu Isolaten aus dem österreichischen Bundesland Tirol auf (siehe auch Braun et al. 2022), während die anderen deut-

schen Ausbruchsisolate mit Stämmen aus Frankreich und Dänemark clustern. Es kann vermutet werden, dass die Infektionsquelle für die drei Ausbrüche in Bayern identisch ist. Bereits 2009 verendeten im gleichen sowie in einem angrenzenden Betrieb drei Rinder infolge einer Infektion mit *B. anthracis*. Der Ausbruch ereignete sich auch damals nach starken Regenfällen, die die Weiden sehr tief durchnässten. Auf der Weide war zwei bis drei Jahre zuvor Erdaushub aus einem Stallbau ausgebracht worden. Die angesprochenen Stellen wurden damals rasterartig beprobt, ebenso die Fundstellen der Tiere auf der Weide bzw. die Ablageorte der Kadaver, und am Konsiliarlabor der Universität Hohenheim untersucht. Hier wurde eine enorme Kontamination der Weide mit Sporen nachgewiesen (Lagebericht zum Ausbruch, Veterinäramt Rosenheim, 2009).

Auch vor den Ausbrüchen im August und November 2021 hatte es stark geregnet, wodurch es vermutlich wieder zum Aufschwimmen von Sporen kam. Der in den Bodenproben nachgewiesene *B. anthracis*-Genotyp stimmte mit dem Isolat aus dem verendeten Tier überein (Braun et al. 2022). Das Isolat aus dem Ausbruch im November 2021 kann als identisch zum Ausbruchsisolat vom August 2021 angesehen werden. Der Ausbruch im Februar, bei dem wieder ein Rind nach sehr kurzer Krankheitsphase verstarb, konnte noch nicht durch das NRL analysiert werden, da das Isolat noch nicht zur Verfügung steht.

Nachdem ein Milzbrandausbruch amtlich festgestellt wurde, werden von den zuständigen Veterinärämtern gemäß der Verordnung zum Schutz gegen Milzbrand und Rauschbrand die erforderlichen Maßnahmen eingeleitet (<https://www.gesetze-im-internet.de/milzbrbv/BJNRO11720991.html>). Dazu gehören beispielsweise die Desinfektion im Stall, auf der Weide, wo die Kadaver lagen mit 50 Liter 10%igem Formaldehyd auf einer Fläche von je ca. 5 auf 5 Meter und die Desinfektion von Gülle und Mist aus dem betroffenen Stall mit Formalin (50–100 kg pro m<sup>3</sup> Gülle). Außerdem erfolgen die Beobachtung und prophylaktische Antibiotikabehandlung der anderen Rinder. Nach 14 Tagen können die Schutz- bzw. Sperrmaßnahmen in der Regel aufgehoben werden.

Die Ausbruchsserie zeigt eindrucksvoll, dass einmal kontaminierte Gebiete für lange Zeit ein Risiko für die Weidetiere darstellen können und auch nach durchgeführten Desinfektionsmaßnahmen keine absolute Sicherheit erreicht werden kann. Bisher konnte die Infektionsquelle nicht identifiziert werden und die Ermittlungen dazu laufen noch im zuständigen Veterinäramt.

### Danksagung

Die Autoren bedanken sich beim LGL Oberschleißheim (J. Riehm) für die Überlassung der Isolate und dem Veterinäramt Rosenheim (Christian Otterbein) für die Zuarbeit epidemiologischer Daten und Bereitstellung von Bildmaterial.

### Literatur

Wielinga PR, Hamidjaja RA, Ågren J, Knutsson R, Segerman B, Fricker M et al. A multiplex real-time PCR for identifying and differentiating *B. anthracis* virulent types. International Journal of Food Microbiology. 2011 Mar 1;145(SUPPL. 1):S137-S144. Doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2010.07.039.

Ågren J, Hamidjaja RA, Hansen T, Ruuls R, Thierry S, Vigre H et al. In silico and in vitro evaluation of PCR-based assays for the detection of bacillus anthracis chromosomal signature sequences virulence 4:8, 671–685; November 15, 2013.

Braun P, Beyer W, Hanczaruk M, Riehm JM, Antwerpen M, Otterbein C, Oesterheld J, Grass G. Reoccurring Bovine Anthrax in Germany on the Same Pasture after 12 Years. J Clin Microbiol. 2022 Mar 16;60(3): e0229121. Doi: 10.1128/jcm.02291-21. Epub 2022 Mar 16. PMID: 35195442; PMCID: PMC8925895.

Abdel-Gliil MY, Thomas P, Linde J, Jolley KA, Harmsen D, Wieler LH, Neubauer H, Seyboldt, C. Establishment of a publicly available core genome multilocus sequence typing scheme for *Clostridium perfringens*. Microbiol Spectr 2021, 9, e0053321. Doi: 10.1128/Spectrum.00533-21.

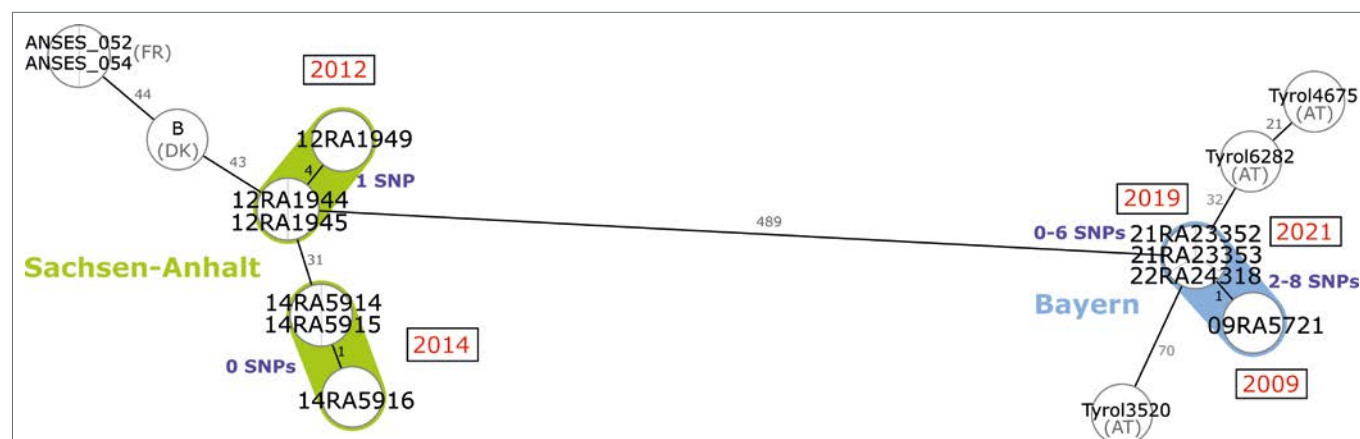


Abb. 4: Minimum Spanning-Baum basierend auf cgMLST-Allelunterschieden, erstellt mit Ridom SeqSphere+ v7.7. Die Zahlen an den Strichen geben Allelunterschiede an, die lila Angaben sind die Ergebnisse der SNP-Analyse.