

Amtliche Methode und Falldefinition

Q-Fieber (*Coxiella burnetii*)

Inhaltsverzeichnis

Amtliche Methode	3
1. Charakterisierung der Infektion	3
1.1 Erreger.....	3
1.2 Klinische Symptomatik.....	3
1.3 Differenzialdiagnose	3
1.4 Diagnostische Indikation.....	4
1.5 Zuständige Untersuchungseinrichtung	4
1.6 Rechtsgrundlagen (in der jeweils geltenden Fassung)	4
2. Untersuchungsmaterial	4
2.1 Erregernachweis	4
2.2 Antikörpernachweis	5
3. Untersuchungsgang	5
3.1 Erregernachweis	5
3.2 Antikörpernachweis	6
3.3 Gesamtgenomsequenzierung und Bioinformatik	7
Literatur.....	8
Falldefinition - Q-Fieber; <i>Coxiella burnetii</i> -Infektion.....	10

Amtliche Methode

1. Charakterisierung der Infektion

1.1 Erreger

Coxiella burnetii, der Erreger des Q-Fiebers, ist ein Gram-negatives, pleomorphes und obligat intrazelluläres Bakterium. Es gehört innerhalb der *Gamma-Proteobakterien* zu den *Legionellales* in die Familie der *Coxiellaceae* als einzige Spezies (Weisburg, 1989). Der Erreger durchläuft einen morphologischen Differenzierungszyklus und kommt in zwei Formen vor: den sporenhähnlichen small-cell-variants (SCVs) und den intrazellulären, replikativen large-cell-variants (LCVs) (Coleman, 2004). *C. burnetii* weist eine hohe Tenazität auf und kann über mehrere Monate infektiös in der Umwelt verbleiben (Eldin, 2017). Es gibt zwei Antigenphasen von *C. burnetii*, die sich in der Länge des Lipopolysaccharids (LPS) unterscheiden. Virulente, in der Natur vorkommende Phase I-Erreger haben ein langkettiges, glattes LPS. Phase II-Erreger können unter Laborbedingungen entstehen, weisen ein stark verkürztes, rauhes LPS auf und sind avirulent (Narasaki, 2012; Andoh, 2005).

1.2 Klinische Symptomatik

Das Hauptreservoir für *C. burnetii* stellen Wiederkäuer dar. Eine Infektion verläuft meist klinisch inapparent und kann aber auch zu Aborten und Unfruchtbarkeit führen. Bei Rindern sind Infektionen mit Metritis und Unfruchtbarkeit assoziiert (Roest, 2013; Agerholm, 2013). Aborte sind selten. Bei Schafen und Ziegen kann eine Infektion zu Spätaborten und zur Geburt lebensschwacher Nachkommen führen. Im Vergleich ist die Abortrate bei Ziegen höher. Die abortierten Feten weisen kaum Veränderungen auf und sind selten autolytisch (Bauer, 2020). Bei Wiederkäuern kann die Erregerausscheidung in Geburtsmaterialien (Nachgeburt, Fruchtwasser, Lochien) mit bis zu 10^9 Erregern pro Gramm Gewebe sehr hoch sein (Arricau Bouvery, 2003). Der Erreger wird ebenfalls über Milch, Urin und Faeces ausgeschieden. Die Übertragung, auch auf den Menschen (Zoonose), findet hauptsächlich durch die Inhalation kontaminierter Aerosole und Stäube statt. Ob eine Übertragung durch orale Aufnahme möglich ist, ist nicht vollständig geklärt. Dies kann jedoch zu einer Serokonversion führen {Cerf, 2006}. Eine venerale Übertragung wurde aufgrund der Detektion von *C. burnetii* in Samenflüssigkeit von Rindern angenommen (Kruszewska, 1997). Eine Mensch-zu-Mensch-Übertragung ist äußerst selten und möglich durch Exposition während der Geburt, durch sexuelle Übertragung oder Bluttransfusion (WOAH, 2018) (OIE Terrestrial Animal Health Code, 2018). Zecken können den Erreger mit dem Kot ausscheiden (Korner, 2020).

1.3 Differenzialdiagnose

Als Differenzialdiagnose kommen andere Abortursachen, z. B. Brucellose, Leptospirose, Neosporose etc. und insbesondere durch Chlamydien bedingte Aborte, in Betracht.

Q-Fieber

1.4 Diagnostische Indikation

Ungeklärte Aborte und Fruchtbarkeitsstörungen.

1.5 Zuständige Untersuchungseinrichtung

Staatliche Veterinäruntersuchungsämter, Tiergesundheitsdienste

Friedrich-Loeffler-Institut (FLI), Nationales Referenzlabor für Q-Fieber, Naumburger Str. 96a, 07743 Jena;
Tel: +49 3641 804 2499; Fax: +49 3641-804 2228 (Ansprechpartner: Dr. K. Mertens-Scholz)

1.6 Rechtsgrundlagen (in der jeweils geltenden Fassung)

- Verordnung (EU) 2016/429 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 9. März 2016 zu Tierseuchen und zur Änderung und Aufhebung einiger Rechtsakte im Bereich der Tiergesundheit („Tiergesundheitsrecht“)
- Durchführungsverordnung (EU) 2018/1882 der Kommission vom 3. Dezember 2018 über die Anwendung bestimmter Bestimmungen zur Seuchenprävention und -bekämpfung auf Kategorien gelisteter Seuchen und zur Erstellung einer Liste von Arten und Artengruppen, die ein erhebliches Risiko für die Ausbreitung dieser gelisteten Seuchen darstellen
- Delegierte Verordnung (EU) 2018/1629 der Kommission vom 25. Juli 2018 zur Änderung der Liste der Seuchen in Anhang II der Verordnung (EU) 2016/429 des Europäischen Parlaments und des Rates zu Tierseuchen und zur Änderung und Aufhebung einiger Rechtsakte im Bereich der Tiergesundheit („Tiergesundheitsrecht“)
- Delegierte Verordnung (EU) 2020/689 der Kommission vom 17. Dezember 2019 zur Ergänzung der Verordnung (EU) 2016/429 des Europäischen Parlaments und des Rates hinsichtlich Vorschriften betreffend Überwachung, Tilgungsprogramme und den Status „seuchenfrei“ für bestimmte gelistete und neu auftretende Seuchen in der jeweils geltenden Fassung.
- Gesetz zur Vorbeugung vor und Bekämpfung von Tierseuchen (Tiergesundheitsgesetz - TierGesG) in der jeweils gültigen Fassung.
- Verordnung über meldepflichtige Tierkrankheiten in der jeweils gültigen Fassung.

2. Untersuchungsmaterial

2.1 Erregernachweis

- Vaginaltupfer frühestmöglich **aber nur** bis maximal 8 Tage nach der Geburt oder dem Abort (Transporttupfer mit physiologischer Kochsalzlösung, Raumtemperatur)
- Plazenta (mindestens drei Kotyledonen beproben, mit Läsionen, nekrotisches Gewebe), Eihaut, Organe (+4 °C bis -20 °C, Trockeneis)
- Organe (Milz, Lunge, Leber) und Mageninhalt von Feten (+4 °C bis -20 °C, Trockeneis)

- Milch, Kolostrum, Tankmilch (+4 °C, 24 bis 48 h nach Probenahme)

C. burnetii ist ein Erreger der Risikogruppe 3. Für die Probenahme sollen entsprechende Schutzmaßnahmen getroffen werden.

2.2 Antikörpernachweis

- Serum, Plasma (+4 °C bis +8 °C)
- Milch (+4 °C, 24 h bis 48 h nach Probenahme)

Einsendungen an das Labor:

Es gelten die entsprechenden Vorschriften für den Probenversand von diagnostischen Proben (siehe Kapitel Probenversand - Diagnostische Proben der amtlichen Methodensammlung). Das auszufüllende Einsendeformular ist auf der Internetseite des NRL Q-Fieber zu finden (<https://www.fli.de/de/institute/institut-fuer-bakterielle-infektionen-und-zoonosen-ibiz/referenzlabore/nrl-fuer-q-fieber/>).

3. Untersuchungsgang

3.1 Erregernachweis

Alle Laborarbeiten müssen entweder in Laboren der biologischen Schutzstufe 2 (BSL2) oder 3 (BSL3) bei gezielten Tätigkeiten und Umgang mit dem Erreger durchgeführt werden.

3.1.1 Kultureller Nachweis

Alle Arbeiten zur Isolierung und Vermehrung von *C. burnetii* aus Probenmaterialien müssen in einem Labor der Schutzstufe 3 durchgeführt werden. Methode nach Henning und Sting 2000 {Henning, 2000}.

Zellkultur:

- Buffalo Green Monkey, Vero u. a. Zelllinien, nahezu konfluent in 75 cm² Zellkulturflaschen.
- Zellkulturmedien z. B. antibiotikumfreies Minimal Essential Medium (MEM) Eagle mit Earle's Salzen und Zusatz von 5 % neonatalem Kälberserum, 1 % nicht-essentiellen Aminosäuren (100x), 1 % Vitaminen (100x) sowie 2 mmol L-Glutamin.
- Mediumwechsel bei Bedarf oder wöchentlich.

Organmaterial:

- Ca. 10 g Probenmaterial in 40 bis 50 ml Zellkulturmedium homogenisieren und feste Bestandteile sedimentieren (500 x g).
- Überstand abnehmen, filtrieren (5 µm bis 0,45 µm, ggf. 0,2 µm) und das Filtrat auf eine nahezu konfluente Zellkultur geben. Nach 24 h einen Mediumwechsel durchführen.
- Für ca. 6 Wochen mit regelmäßigem Mediumwechsel inkubieren, nicht passagieren.

Q-Fieber

- Regelmäßige visuelle Kontrolle (Mikroskop, 400-fache Vergrößerung) auf das Vorhandensein von für *C. burnetii* typischen Vakuolen.
- Abschließende Bestätigung einer positiven Kultur durch den Nachweis *C. burnetii*-spezifischer DNA mittels Echtzeit-Polymerasekettenreaktion (qPCR).

Milch:

- Ca. 5 ml Milch durch Zentrifugation entrahmen (500 - 1.000 x g, 10 min).
- Rahm entfernen und 2 ml entrahmte Milch erneut zentrifugieren (16.000 x g, 10 min), Überstand verwerfen.
- Pellet in 10 ml Zellkulturmedium resuspendieren, filtrieren (5 µm bis 0,45 µm, ggf. 0,2 µm) und das Filtrat auf eine konfluente Zellkultur geben. Nach 24 h einen Mediumwechsel durchführen.
- Für ca. 6 Wochen mit regelmäßigem Mediumwechsel inkubieren, nicht passagieren.
- Regelmäßige visuelle Kontrolle (Mikroskop, 400-fache Vergrößerung) auf das Vorhandensein von für *C. burnetii* typischen Vakuolen.
- Abschließende Bestätigung einer positiven Kultur durch den Nachweis *C. burnetii*-spezifischer DNA mittels qPCR.

Kontamination:

- Beim Auftreten von Kontaminationen wird das Zellkulturmedium abgenommen und der Zellrasen zweimal mit Zellkulturmedium gewaschen.
- Zugabe von 5 ml frischem Zellkulturmedium und bei mindestens -30 °C für 12 h einfrieren.
- Zellkulturmaterial auftauen lassen, filtrieren (5 µm bis 0,45 µm, ggf. 0,2 µm) und das Filtrat auf eine nahezu konfluente Zellkultur geben. Nach 24 h einen Mediumwechsel durchführen.
- Prozess ggf. wiederholen.

3.1.2 Nachweis von *C. burnetii*-spezifischer DNA mittels Echtzeit-Polymerasekettenreaktion (qPCR)

Für den Nachweis von *C. burnetii*-spezifischer DNA aus Probenmaterialien wird das Insertionselement IS1111 mittels qPCR nachgewiesen. Dieses Element ist im Genom von *C. burnetii*, je nach Isolat, 7- bis 110-mal vorhanden {Klee, 2006}. Die DNA-Extraktion erfolgt mittels kommerzieller DNA-Isolierungskits nach Angaben des Herstellers. Für den Nachweis *C. burnetii*-spezifischer DNA stehen zugelassene kommerzielle Testkits zur Verfügung:

https://www.fli.de/fileadmin/FLI/Service/Zulassungsstelle/deutsch/02_d_Zul_Mittel.pdf

3.2 Antikörpernachweis

Für den Nachweis von Antikörpern gegen *C. burnetii* in Serum, Plasma und Milch stehen zugelassene kommerzielle ELISA Testkits zur Verfügung:

https://www.fli.de/fileadmin/FLI/Service/Zulassungsstelle/deutsch/02_d_Zul_Mittel.pdf

3.3 Gesamtgenomsequenzierung und Bioinformatik

Gesamtgenomsequenzierung (whole genome sequencing, WGS) von *Coxiella burnetii*-Isolaten mit anschließender bioinformatischer Datenanalyse ist bei der Isolat-basierten Feintypisierung, bei Ausbruchsanalysen und zur Detektion genetischer Marker (Typ IV Sekretionssystem, Repertoire von Effektorproteinen, Lipopolysaccharidsynthese) hilfreich. Aktuell befindet sich die Sequenzierung mittels Verfahren der zweiten Generation (Next Generation Sequencing) in der Validierungsphase, während auch schon Verfahren der dritten Generation getestet werden. DNS-Isolierung und Erstellung von Sequenzierbibliotheken (engl. Libraries) sollten nach Herstellerangaben durchgeführt werden. Für Sequenzierung und Datenanalyse sollte der Leitfaden ISO: 23418 in der jeweiligen aktuellen Fassung beachtet werden. Dieser bezieht sich zwar auf Lebensmittel, gibt aber hilfreiche allgemeine Hinweise (Logging, Versionskontrolle, QC, Libraries etc.). Die wichtigsten Schritte der WGS-Datenanalyse sind die Qualitätskontrolle der Sequenzier-Rohdaten (QC), die Genomassemblierung, die In-silico-Typisierung, SNP-Analysen, phylogenetische Analysen und die Vorhersage von Phänotypen. Die Qualitätskontrolle umfasst die Lesequalität, die Berechnung des coverage und die Überprüfung der Datenkontamination. Für die Qualitätskontrolle wird empfohlen, dass 70 % der Basen einer Probe einen Qualitätsscore (Phred Score) von mindestens 30 aufweisen (Q30-Parameter). In quantitativer Hinsicht sollte eine Genomabdeckung von mindestens 30 angestrebt werden. Um Kontaminationen auszuschließen, sollten 70 % der Sequenz-Reads taxonomisch der Gattung *Coxiella* zugeordnet werden. Es folgt die de-novo-Genomassemblierung und deren Qualitätsbewertung.

Die assemblierten Genome sollten eine Größe von 1,9 bis 2,1 Mb und einen N50-Wert von 15 kB aufweisen {Abou Abdallah, 2022}. Basierend auf den assemblierten Genomen können genetische Faktoren für Virulenz und mobile genetische Elemente durch Vergleich mit entsprechenden Datenbanken detektiert werden (z.B. VFDB für die Vorhersage von Virulenzfaktoren). Die Annotation der Genome ermöglicht die Identifizierung offener Leserahmen (Open Reading Frames, ORFs) und deren funktionelle Analyse. Hochauflösende Typisierung kann durch die Bestimmung von Einzelnukleotidänderungen (Single Nucleotide Polymorphism, SNPs) durchgeführt werden. Anhand der SNPs-Analyse können phylogenetische Bäume erstellt und epidemiologische Zusammenhänge von Ausbruchsisolaten untersucht werden. Eine Möglichkeit zur automatischen Analyse von Gesamtgenomdaten für *Coxiella burnetii* ist die kostenfrei verfügbare Linux-basierte Pipeline: https://gitlab.com/FLI_Bioinfo/WGSBAC

In der Vergangenheit wurde wiederholt von *C. burnetii* Isolaten berichtet, die im *Shell-vial* Test gegenüber Antibiotika unterschiedliche Empfindlichkeiten aufweisen (Rolain, 2005; Musso, 1996; Raoult, 1991; Eldin, 2015). Entsprechende Einordnung nach EUCAST oder CSLI ist jedoch nicht verfügbar und somit fehlen standardisierte Kriterien für eine Resistenzprüfung.

Literatur

- Abou Abdallah, R., M. Million, J. Delerce, H. Anani, A. Diop, A. Caputo, R. Zgheib, E. Rousset, K. Sidi Boumedine, D. Raoult and P. E. Fournier (2022). "Pangenomic analysis of *Coxiella burnetii* unveils new traits in genome architecture." *Front Microbiol* 13: 1022356.
- Agerholm, J. S. (2013). "Coxiella burnetii associated reproductive disorders in domestic animals--a critical review." *Acta Vet Scand* 55: 13.
- Andoh, M., K. E. Russell-Lodrigue, G. Zhang and J. E. Samuel (2005). "Comparative virulence of phase I and II *Coxiella burnetii* in immunodeficient mice." *Ann N Y Acad Sci* 1063: 167-170.
- Arricau Bouvery, N., A. Souriau, P. Lechopier and A. Rodolakis (2003). "Experimental *Coxiella burnetii* infection in pregnant goats: excretion routes." *Vet Res* 34(4): 423-433.
- Babudieri, B. and C. Moscovici (1950). "[Research on the behavior of *Coxiella burnetii* in relation to various physical and chemical agents]." *Rend Ist Sup Sanit* 13(9-10): 739-748.
- Bauer, B. U., M. Runge, A. Campe, K. Henning, K. Mertens-Scholz, K. Boden, K. Sobotta, D. Frangoulidis, M. R. Knittler, S. Matthiesen, C. Berens, A. Lührmann, S. F. Fischer, S. Ulbert, G. R. Makert and M. Ganter (2020). "Coxiella burnetii: Ein Übersichtsartikel mit Fokus auf das Infektionsgeschehen in deutschen Schaf- und Ziegenherden." *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*.
- Cerf, O. and R. Condron (2006). "Coxiella burnetii and milk pasteurization: an early application of the precautionary principle?" *Epidemiol Infect* 134(5): 946-951.
- Coleman, S. A., E. R. Fischer, D. Howe, D. J. Mead and R. A. Heinzen (2004). "Temporal analysis of *Coxiella burnetii* morphological differentiation." *J Bacteriol* 186(21): 7344-7352.
- Dörner, J. (2011). Wirksamkeitsprüfung chemischer Verfahren zur Desinfektion von *Coxiella burnetii* in kontaminierten Bodenmatrizes. Dr. med. vet. INAUGURAL-DISSERTATION, Justus-Liebig-Universität Gießen.
- Eldin, C., C. Melenotte, O. Mediannikov, E. Ghigo, M. Million, S. Edouard, J. L. Mege, M. Maurin and D. Raoult (2017). "From Q Fever to *Coxiella burnetii* Infection: a Paradigm Change." *Clin Microbiol Rev* 30(1): 115-190.
- Eldin, C., C. Perreal, A. Mahamat, F. Djossou, S. Edouard and D. Raoult (2015). "Antibiotic susceptibility determination for six strains of *Coxiella burnetii* MST 17 from Cayenne, French Guiana." *Int J Antimicrob Agents* 46(5): 600-602.
- Henning, K. and R. Sting (2000). "Isolation and cultivation of *Coxiella burnetii* in cell culture. ." *Tierärztliche Umschau* 55: 140-144.
- Kirberger, E. (1951). "Die Resistenz der *Coxiella burnetii* in vitro." *Z. Tropenmed. Parasitol.* 3(1): 77-86.
- Klee, S. R., J. Tyczka, H. Ellerbrok, T. Franz, S. Linke, G. Baljer and B. Appel (2006). "Highly sensitive real-time PCR for specific detection and quantification of *Coxiella burnetii*." *BMC Microbiol* 6: 2.
- Korner, S., G. R. Makert, K. Mertens-Scholz, K. Henning, M. Pfeffer, A. Starke, A. M. Nijhof and S. Ulbert (2020). "Uptake and fecal excretion of *Coxiella burnetii* by *Ixodes ricinus* and *Dermacentor marginatus* ticks." *Parasit Vectors* 13(1): 75.
- Kruszewska, D. and S. Tylewska-Wierzbanowska (1997). "Isolation of *Coxiella burnetii* from bull semen." *Res Vet Sci* 62(3): 299-300.
- Little, J. S., R. A. Kishimoto and P. G. Canonico (1980). "In vitro studies of interaction of rickettsia and macrophages: effect of ultraviolet light on *Coxiella burnetii* inactivation and macrophage enzymes." *Infect Immun* 27(3): 837-841.
- Musso, D., M. Drancourt, S. Osscini and D. Raoult (1996). "Sequence of quinolone resistance-determining region of *gyrA* gene for clinical isolates and for an in vitro-selected quinolone-resistant strain of *Coxiella burnetii*." *Antimicrob Agents Chemother* 40(4): 870-873.
- Narasaki, C. T. and R. Toman (2012). "Lipopolysaccharide of *Coxiella burnetii*." *Adv Exp Med Biol* 984: 65-90.
- Ransom, S. E. and R. J. Huebner (1951). "Studies on the resistance of *Coxiella burnetii* to physical and chemical agents." *Am J Hyg* 53(1): 110-119.

- Raoult, D., H. Torres and M. Drancourt (1991). "Shell-vial assay: evaluation of a new technique for determining antibiotic susceptibility, tested in 13 isolates of *Coxiella burnetii*." *Antimicrob Agents Chemother* 35(10): 2070-2077.

Falldefinition - Q-Fieber; *Coxiella burnetii*-Infektion

Klinisches Bild

Unter der Bezeichnung Q-Fieber (Coxiellose) werden Infektionen mit dem Bakterium *Coxiella burnetii* verstanden. Die Krankheitserscheinungen beim Tier sind meistens gering. Seine Hauptbedeutung hat der Erreger als Auslöser von Unfruchtbarkeit und Aborten beim Wiederkäuer sowie als Zoonoseerreger.

Labordiagnostischer Nachweis

Positiver Befund mit mindestens einer der beiden folgenden Methoden:

Erregernachweis:

- Erregerisolierung (z. B. über Zellkultur)
- PCR

Indirekter Nachweis:

- ELISA

Zusatzinformation

Der serologische Nachweis ergibt für sich allein nicht den geforderten labordiagnostischen Nachweis einer bestehenden Q-Fieber-Infektion.

Epidemiologischer Zusammenhang

Ein Verdacht auf eine Q-Fieber-Infektion im Bestand besteht, wenn serologische oder milchserologische Untersuchungsergebnisse insbesondere im Zusammenhang mit einem klinischen Verdacht auf das Vorhandensein des Erregers hinweisen.

Voraussetzung für den Verdacht

Auftreten von Aborten und Unfruchtbarkeit, auch in Verbindung mit Antikörpernachweis (ELISA)

Durch TSN zu übermittelnder Fall

Voraussetzung für die Feststellung eines Falles:

Labordiagnostische Bestätigung durch direkten Erregernachweis bei Proben von Wiederkäuern wie Bison, Rindern, Büffel, Schafen und Ziegen (*Bison* spp.; *Bos* spp.; *Babulus* spp.; *Ovis* spp.; *Capra* spp.). Der serologische Nachweis reicht allein nicht zur Feststellung von Q-Fieber aus.

Rechtsgrundlagen (in der jeweils geltenden Fassung)

- Verordnung (EU) 2016/429 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 9. März 2016 zu Tierseuchen und zur Änderung und Aufhebung einiger Rechtsakte im Bereich der Tiergesundheit („Tiergesundheitsrecht“)
- Durchführungsverordnung (EU) 2018/1882 der Kommission vom 3. Dezember 2018 über die Anwendung bestimmter Bestimmungen zur Seuchenprävention und -bekämpfung auf Kategorien gelisteter Seuchen und zur Erstellung einer Liste von Arten und Artengruppen, die ein erhebliches Risiko für die Ausbreitung dieser gelisteten Seuchen darstellen
- Delegierte Verordnung (EU) 2018/1629 der Kommission vom 25. Juli 2018 zur Änderung der Liste der Seuchen in Anhang II der Verordnung (EU) 2016/429 des Europäischen Parlaments und des Rates zu Tierseuchen und zur Änderung und Aufhebung einiger Rechtsakte im Bereich der Tiergesundheit („Tiergesundheitsrecht“)
- Delegierte Verordnung (EU) 2020/689 der Kommission vom 17. Dezember 2019 zur Ergänzung der Verordnung (EU) 2016/429 des Europäischen Parlaments und des Rates hinsichtlich Vorschriften betreffend Überwachung, Tilgungsprogramme und den Status „seuchenfrei“ für bestimmte gelistete und neu auftretende Seuchen in der jeweils geltenden Fassung.
- Gesetz zur Vorbeugung vor und Bekämpfung von Tierseuchen (Tiergesundheitsgesetz - TierGesG) in der jeweils gültigen Fassung
- Verordnung über meldepflichtige Tierkrankheiten in der jeweils gültigen Fassung