

abschätzen zu können. Hierfür wurden Blutproben von 262 Personen aus 105 landwirtschaftlichen Betrieben, in denen vermehrt Fortpflanzungsstörungen aufgetreten waren, auf Antikörper gegen *C. burnetii* und Chlamydien untersucht, und die Ergebnisse mit denen einer städtischen Kontrollgruppe verglichen.

Ein weiteres Ziel dieser Arbeit ist es, die zur Verfügung stehenden Testmethoden für den direkten und indirekten Nachweis von *C. burnetii* und Chlamydien bei Rindern zu vergleichen und zu bewerten. Mit Hilfe dieser Testmethoden wurden Proben der Rinder dieser fortpflanzungsgestörten Betriebe, deren Landwirte und Angehörige untersucht worden waren, auf das Vorliegen von *C. burnetii*- und Chlamydien-Infektionen getestet. Nachfolgend wurden die Betriebe auf Grundlage von Seroprävalenzen und dem Nachweis von Erregerantigen in infizierte (Positivbetriebe) und nicht infizierte Bestände (Negativbetriebe) eingeteilt. Darüberhinaus sollen Zusammenhänge zwischen dem Infektionsstatus der Betriebe und dem der Landwirte und Zusammenhänge zwischen Infektionen mit diesen Erregern und dem Konsum von Rohmilch sowie der Haltung anderer landwirtschaftlicher Tiere aufgezeigt werden.

2. Literaturübersicht

2.1. *Coxiella burnetii*

2.1.1. Erreger

Das Q-Fieber wurde von DERRICK 1937 erstmals als Erkrankung des Menschen in Brisbane, Queensland/ Australien beschrieben. Die Bezeichnung Q-Fieber leitet sich von der damals ungeklärten Ätiologie, von "query" (fraglich), ab. Im gleichen Jahr gelang es BURNET und FREEMAN (1937) den Erreger des Q-Fiebers, *Coxiella burnetii* (*C. burnetii*), zu isolieren. *C. burnetii* wurde aufgrund seiner Rickettsiennatur und in Würdigung seines Entdeckers zunächst *Rickettsia burnetii* genannt.

1938 isolierte COX in den USA einen "filtrierbaren Infektionsstoff" aus der Zeckenart *Dermacentor andersoni*, den er *Rickettsia diaporica* nannte. Nachdem sich herausstellte, dass es sich um den gleichen Erreger handelte,

den auch BURNET und FREEMAN isoliert hatten und dieser sich in wesentlichen Eigenschaften von den Rickettsien unterschied, wurde die Gattung *Coxiella* geschaffen.

In Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (WEISS und MOULDER, 1984) wird der Q-Fieber-Erreger wie folgt systematisiert:

Ordnung: *Rickettsiales*
 Familie: *Rickettsiaceae*
 Gattung: *Coxiella*
 Spezies: *Coxiella burnetii*

2.1.2. Morphologie und Pathogenität

C. burnetii ist ein gramvariables, stäbchenförmiges Bakterium mit einer Länge von ca. 0,4-1,0 µm und einem Durchmesser von 0,2-0,4 µm. Aufgrund des pleomorphen Charakters des Erregers treten kokkoide, lanzett- und hantelförmige Formen auf (SCHLIESSER und KRAUSS, 1982).

Coxiellen sind wie auch Chlamydien obligat intrazelluläre Erreger, die vom Energiestoffwechsel ihrer Wirtszelle abhängig sind. Zu Beginn des Entwicklungszyklus wird *C. burnetii* durch Endozytose in die Wirtszelle aufgenommen. In Phagolysosomen finden die Erreger im sauren Milieu (pH<5) optimale Vermehrungsbedingungen (BURTON et al., 1978). Im Laufe des intrazellulären Entwicklungszyklus zeigt *C. burnetii* zwei morphologisch unterschiedliche Formen, die sich durch Dichtegradientenzentrifugation unterscheiden lassen. Zum einen findet man sogenannte Large Cell Variants (LCV), die sich mit einer Größe von ca. 150-500 nm x 500-1000 nm als große Zellvarianten elektronenoptisch aufgelockert darstellen. Zum anderen lassen sich ca. 300 nm große, elektronenoptisch dichte, sogenannte Small Cell Variants (SCV) nachweisen (McCAUL und WILLAMS, 1981). Über das Auftreten von sporenhähnlichen Partikeln berichten erstmals WIEBE et al. (1972) und KHAVKIN et al. (1981). Hierbei handelt es sich um sehr kleine (Ø 130-170 nm), elektronendichte Gebilde, die in ihren Eigenschaften mit Endosporen anderer Eubakterien vergleichbar sind (McCAUL und WILLAMS, 1981).

Ein weiteres besonderes Merkmal von *C. burnetii* ist die sogenannte Phasenvariation (STOCKER und Fiset, 1956). *C. burnetii* besitzt zwei Hauptantigene: das an der Oberfläche des Bakteriums lokalisierte Phase 1-Antigen, dessen Hauptbestandteil ein stark verzweigtes Lipopolysaccharid ist, und das darunter gelegene Phase 2-Antigen, das aus einem nur gering verzweigten Lipopolysaccharid und einem Lipoprotein besteht (KRAUSS et al., 1977). In der Natur vorkommende Coxiellen liegen in der virulenten Phase 1 vor. Durch Vermehrung des Erregers im bebrüteten Hühnerei gehen Phase 1-Coxiellen nach ca. 5-15 Passagen in die Phase 2 über (STOCKER, 1953; STOCKER und Fiset, 1956). Das gleiche Phänomen zeigt sich auch bei Langzeitvermehrungen des Erregers in Zellkulturen. HACKSTADT (1990) vergleicht diese Phasenvariation mit dem Übergang gramnegativer Bakterien von der "glatten" zur "rauen" Wachstumsform. Dieser Vorgang ist reversibel. So gehen die weniger virulenten Coxiellen der Phase 2 durch Tierpassagen wieder in die virulentere Phase 1 über (PINTO, 1963; KAZAR et al. 1974). Beide Phasen weisen neben chromosomaler DNS auch Plasmid-DNS auf (SAMUEL, 1983, O'ROURKE et al., 1984; 1985).

Phylogenetische Untersuchungen von *C. burnetii* und der Vergleich mit anderen Eubakterien, insbesondere durch die Analyse der 16S rRNS, ergab für *C. burnetii*, im Gegensatz zu anderen Rickettsien, die der alpha-1-Untergruppe der Proteobakterien angehören, die Zuordnung zur gamma-Untergruppe, der auch *Rickettsiella grylli*, *Legionella spp.* und *Francisella spp.* zugeordnet werden (MOLLET et al., 1998; WEISBURG et al., 1989).

Die Übereinstimmung mehrerer *C. burnetii* Isolate aus verschiedenen Kontinenten in der genetischen Sequenz beträgt über 99% (MASUZAWA et al., 1997). Dennoch ist es mit Hilfe molekularbiologische Verfahren möglich, verschiedene *C. burnetii*-Stämme zu unterscheiden. HEINZEN et al. (1990) identifizierten mittels Pulsfeldgelelektrophorese (PFGE) sechs verschiedene genomische Gruppen. Er konnte zudem die Ergebnisse von SAMUEL et al. (1985, 1988), HACKSTADT (1986) und MOOS und HACKSTADT (1987) bestätigen, dass die Pathogenität der Stämme, und vor allem das Verursachen akuter oder chronischer Krankheitsverläufe in Zusammenhang mit Plasmid- und Lipopolysaccharidmustern steht. Neuere Untersuchungen ergaben zum einen eine größere Vielzahl genetisch unterschiedlichen Gruppen (20) und den Zusammenhang zwischen genetischer Verwandtschaft und geographischen

Ursprung (THIELE et al., 1993; JAEGER et al., 1998), zum anderen bestätigen diese die Theorie von STEIN u. RAOULT (1993), dass die Virulenz nicht vom Plasmidtyp, sondern viel mehr vom Wirt abhängig sein muss. Ihre Theorie begründet sich darauf, dass Coxiellen ein und desselben Stammes sowohl akute als auch chronische Krankheitsverläufe beim Menschen induzieren können (THIELE et al. 1994). TO et al. (1998) identifizierten ein 28kDa Polypeptid, welches sich als immundominant bei Isolaten von akuten Q-Fieber Erkrankten, aus Milch und aus Zecken erwies, bei Stämmen von chronischen Q-Fieber Erkrankten, jedoch nicht nachgewiesen werden konnte. Die Ursache der Pathogenität verschiedener *C. burnetii* Isolate ist trotz der Analyse des *C. burnetii* Genoms und mehrerer Plasmide nicht vollständig geklärt.

2.1.3. Tenazität von *Coxiella burnetii*

Im Vergleich zu anderen Rickettsien zeichnet sich *C. burnetii* durch eine hohe Widerstandsfähigkeit gegenüber chemischen und physikalischen Einflüssen aus. In getrocknetem Trägermaterial, wie z.B. Zeckenkot, Schafwolle oder Staub und auch bei Temperaturen bis -20°C bleibt die Infektiosität des Erregers bis zu 2 Jahre lang erhalten (SPROCKHOFF, 1980). Die hohe Tenazität spielt in der Epidemiologie und für Bekämpfungsmaßnahmen eine wichtige Rolle. Die folgende Tabelle nach SCHLIESSER (1991) faßt die wichtigsten Daten zusammen:

Art und Beschaffenheit des Milieus	Überlebensdauer
Blut und Organe (nativ) bei 3°C	3-12 Wochen
Blut und Harn (getrocknet) bei 20°C	2 Wochen
Organe bei 32°C	49-182 Tage
Wasser bei 20°C	160 Tage
Milch bei 4-6°C	90-273 Tage
Butter, Weichkäse bei 20°C	42 Tage
Staub und Wolle (trocken) bei 4°C	1-2 Jahre
	bei 20°C
Zeckenkot (trocken) bei 4°C	1-2 Jahre

Desinfektionsmittel	
Formalin 1%	24-48 Stunden
NaOH 0,5%	6 Stunden
NaOH 3%	5 Minuten
Chloramin 3%	1-5 Minuten
Chlorkalk 2%	1-5 Minuten
Phenol 2%	24 Stunden
Tenside (Quatern. Ammon., Amphot.) 2%	24-48 Stunden

Tabelle 1.: Angaben zur Tenazität von *C. burnetii* nach SCHLIESSER (1991).

2.1.4. Epidemiologie und Pathogenese

C. burnetii besitzt ein breites Wirtsspektrum. Überwiegend wird der Erreger jedoch bei Rindern und Schafen, aber auch bei Wildwiederkäuern (KIMMIG et al., 1997) nachgewiesen und stellt für den Menschen einen wichtigen Zoonoseerreger dar. Darüber hinaus kann *C. burnetii* auch bei Hunden, Katzen, Pferden, Schweinen und Vögeln isoliert werden (LIEBISCH, 1977; KRAUSS, 1982). In Naturherden zirkuliert *C. burnetii* zwischen Wildsäugetieren, die das Hauptreservoir bilden, und Zecken, die sowohl als Reservoir als auch als Vektor dienen (LIEBISCH et al., 1978). Über 50 Zeckenarten (BABUDIERY, 1959; KRAUSS et al., 1987; WAAG et al., 1991) werden beschrieben, die unter natürlichen oder experimentellen Bedingungen infiziert werden können. Zecken infizieren sich durch Blutsaugen an einem infizierten, bakteriämischen Warmblüter (MARRIE, 1990). Solche Zecken bleiben lebenslang infiziert und können den Erreger transovariell an ihre Nachkommen weitergeben. Durch transovarielle und transstadiale Übertragung kann *C. burnetii* über Jahre in einer Zeckenpopulation zirkulieren (BREZINA und REHACEK, 1961). Darüber hinaus gibt es Beobachtungen bei Laborinfektionen, die dafür sprechen, dass durch eine Zeckenpassage die Virulenz der Coxiellen stark erhöht wird und dadurch die für die Aufrechterhaltung des Infektionszyklus nötige Virulenz reguliert wird (WEYER, 1950, BALASHOV 1972). Als Hauptvektor für *C. burnetii* fungiert in Süddeutschland die Schafzecke *Dermacentor marginatus* (LIEBISCH, 1976; LIEBISCH et al., 1978; REHACEK et al., 1977).

Der klassische Infektionsweg, den COX bereits 1940 nachweisen konnte, ist die Inhalation infizierten Zeckenkotes, der bis zu 10^{11} Coxiellen pro Gramm Kot enthalten kann (SCHLIESSER und KRAUSS, 1982). Die Verbreitung von *C. burnetii* ist jedoch nicht ausschließlich an Zecken gebunden (SCHAAL und SCHÄFER, 1984). Infizierte Tiere können den Erreger mit allen Se- und Exkreten ausscheiden (SCHAAL und KLEINSORGEN, 1973), so dass eine von Zecken unabhängige Übertragung von Tier zu Tier (GOUVERNEUR et al., 1984; SCHAAL, 1983; LOTTHAMMER et al. 1987) bzw. auf den Menschen mehrfach beschrieben werden konnte.

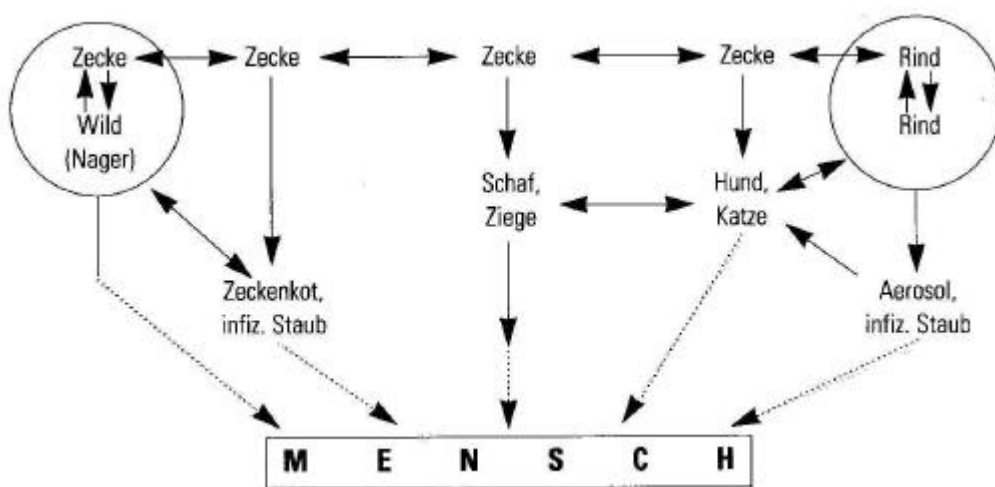


Abbildung 1: Übertragungswege von *C. burnetii* (KRAUSS et al., 1987)

Auch über die Bedeutung von Coxiellen in Lebensmitteln wird viel diskutiert. Besonders die Milch infizierter Rinder steht aufgrund der bereits von SCHAAL (1977) mit Hilfe des Meerschweincheninokulationstestes nachgewiesenen intermittierenden Ausscheidung von 10^1 bis 10^5 infektiösen Einheiten pro Milliliter im Mittelpunkt der Diskussion. Als unbedenklich anzusehen ist Milch, die durch Erhitzungsverfahren wie z.B. Pasteurisierung haltbar gemacht wird, da hierdurch die Coxiellen sicher abgetötet werden (SCHAAL, 1977). Bei Sauermilcherzeugnissen oder Hartkäsen bewirkt der Reifungsvorgang ebenfalls eine Inaktivierung des Erregers (STEINERT, 1983). Über das tatsächliche Risiko einer manifesten Infektion durch den Konsum von Rohmilch sind sich die Autoren nicht einig. Mehrere Autoren (BELL et al. 1950; MARMION und STOCKER, 1956; BROWN et al. 1968) sehen einen direkten Zusammenhang

zwischen dem Konsum coxiellenhaltiger Milch und klinisch manifesten Erkrankungsfällen. LUOTO (1959) ermittelte für Personen, die regelmäßig rohe Milch trinken, ein ca. 7-mal höheres Infektionsrisiko. BENSON et al. (1963) beobachtete deutliche Titeranstiege, allerdings ohne das Auftreten klinischer Symptome. KRUMBIEGEL und WISNIEWSKI (1970) hingegen konnten keine Antikörper nach Genuß kontaminierter Milch nachweisen.

Im Tierversuch gelang es, bei Meerschweinchen durch die orale Gabe coxiellenhaltiger Milch die Bildung von Antikörpern zu induzieren. Durch eine zusätzliche Immunsuppression mittels Injektionen von Prednisolon oder durch Reizung der Magenschleimhaut erhöhte sich der Anteil seropositiver Tiere (SCHAAL und KLEINSORGEN, 1973). Die Autoren kommen aufgrund ihrer Untersuchungen zu dem Schluß, dass besonders immunlabile Personen wie z.B. Kleinkinder und alte Menschen sowie immunsupprimierte Menschen eine Risikogruppe darstellen. WACHENDÖRFER (1983) und KRAUSS (1983) schließen ebenfalls eine potentielle Gefährdung durch Rohmilchkonsum nicht aus und verweisen besonders auf die oben genannte Risikogruppe.

Die in Deutschland in der Milchverordnung §5 vorgeschriebenen Verfahren zur Wärmebehandlung der Milch töten Coxiellen sicher ab. Auch bei der Milch-ab-Hof-Abgabe, die in §8 der Milchverordnung geregelt ist, muss vom abgebenden Landwirt auf einem Schild deutlich darauf hingewiesen werden, dass die Rohmilch vor dem Verzehr abzukochen ist. Daher besteht in erster Linie Handlungsbedarf bei der Überwachung der Vorzugsmilchbetriebe. Die Voraussetzungen für die Gewinnung und Abgabe von Vorzugsmilch regelt §7 der Milchverordnung. Insbesondere in Anlage 9 dieses Paragraphen wird daraufhingewiesen, dass Kühe, die der Gewinnung von Vorzugsmilch dienen, frei von auf den Menschen übertragbaren Krankheiten sein müssen. Auch das BgVV (1994) verweist darauf, dass es sich bei Vorzugsmilch um ein Produkt besonderer Güte handelt und ein infektiöses Risiko durch Coxiellen, wie hoch es auch immer eingeschätzt wird, auszuschließen sei. In Baden-Württemberg erfolgt der Nachweis von *C. burnetii*-Infektionen bei Rindern derzeit mittels indirekter, serologischer Testverfahren (BML, 1995; Stellungnahme Baden-Württemberg 1994). Allerdings stellt BÖHM et al. (1989) in Frage, ob der Nachweis von Antikörpern gegen *C. burnetii* ohne klinische Krankheits-symptome ausreichend ist, um Kühe von der Vorzugsmilchgewinnung auszuschließen.

Für den Menschen bestehen somit folgende potentielle Infektionsrisiken:

1. coxiellenhaltiger Zeckenkot (COX, 1940)
2. akut mit Coxiellen infizierte Schafherden insbesondere während der Ablampperiode (SCHAAL und GOETZ, 1974)
3. Rohmilchkonsum akut oder chronisch mit Coxiellen infizierter Kühe (LUOTO, 1959 u.a.)
4. Coxiellen infizierte Rinder
5. Coxiellen infizierte Haustiere, wie z.B. Hund (BUHARIWALLA et al., 1996) oder Katze (KOSATSKY, 1984)
6. Laborinfektionen (HALL et al., 1982)

Q-Fieber Erkrankungen beim Menschen sind nach dem Bundesseuchengesetz meldepflichtig. Häufig handelt es sich dabei um Einzelfälle. In regelmäßigen Abständen kommt es jedoch zum Ausbruch von Epidemien, deren Ausgangspunkt mutmaßlich mit Wanderschafherden in Verbindung steht. Ein aktuelles Beispiel stellt die in Freiburg 1998 aufgetretene Q-Fieber-Epidemie dar, bei der 101 gemeldete Q-Fieberfälle in den Sommermonaten auftraten, und die in Zusammenhang mit einer auf einem Flugplatz weidenden Schafherde gebracht wurde (KIMMIG und ZÖLLNER, 1998). Über sporadisches und epidemisches Auftreten von Q-Fieber-Erkrankungen liegen Berichte aus fünf Kontinenten und über 50 Ländern vor. Das gehäufte Auftreten solcher Erkrankungen in den 50er Jahren auf dem Balkan und im Mittelmeerraum führte zu dem Namen „Balkan-Grippe“. In der Bundesrepublik treten Epidemien vor allem im süddeutschen Raum auf. LIEBISCH (1976) weist diesbezüglich auf den Zusammenhang mit dem Verbreitungsgebiet der Schafzecke *Dermacentor marginatus* hin, in deren Kot bis zu 10^{11} Coxiellen pro Gramm Kot nachgewiesen werden können. Besonders trockene und warme klimatische Bedingungen fördern durch die höhere Staubentwicklung die Verbreitung der Coxiellen.

Über die Prävalenz von Antikörpern bei Menschen gibt es unterschiedliche Angaben. SCHMATZ et al. (1977) untersuchten mit der KBR 1600 Serumproben von zufällig ausgewählten Personen aus Hessen, ohne einen positiven Nachweis führen zu können. 1611 mittels ELISA untersuchte

Serumproben von Blutspendern aus ganz Deutschland zeigten hingegen eine Seroprävalenz von 22% (SCHMEER, 1988). Untersuchungen von Risikogruppen erbrachten unterschiedliche Ergebnisse. So untersuchte SCHAAL et al. (1986) 1185 Seren von Förstern in Baden-Württemberg aus Gebieten, in denen die Zecke *Dermacentor marginatus* verbreitet ist, und stellte bei 9,6% dieser Personen positive Reaktionen fest. Die bei weitem höchsten Seroprävalenzen mit 65% positiven Reagenten konnte SCHMEER (1988) bei beruflich exponierten Personen, wie Landwirten, Tierärzten und Personen, die in Laboratorien mit diesem Erreger in Kontakt kamen, nachweisen. In Serumproben von Patienten mit ätiologisch unklarem Fieber wurden bei 47% Antikörper gegen *C. burnetii* festgestellt (SCHMEER, 1988). Im Rahmen einer Studie in einem Dorf in Süddeutschland, das in einem Q-Fieber-Endemiegebiet liegt, wurden 948 von 1150 Dorfbewohner, die älter als 14 Jahre waren, untersucht (HEINRICH et al. 1983). Hierbei wurde eine Seroprävalenz von 19% ermittelt. Personen, die anamnestisch an Grippe oder Lungenentzündung erkrankt waren, wiesen sogar eine Seroprävalenz von 24% bzw. 28% auf. Weiterhin konnte ein Zusammenhang zwischen der Häufigkeit des Nachweises von Antikörpertitern und der Nähe des Wohnortes zu einem Bauernhof hergestellt werden.

2.1.5. Q-Fieber beim Menschen

2.1.5.1. Klinische Symptomatik

Menschen infizieren sich vor allem auf aerogenem oder oralem Weg mit *C. burnetii*. Die vermutlich wichtigste Infektionsquelle ist hierbei mit Coxiellen kontaminierter Staub, dessen Ursprung erregerehaltiger Zeckenkot, Nachgeburten, Fruchtwasser oder Lochialsekret infizierter Tiere ist. Beim Menschen treten neben klinischen Erkrankungen, die sich in akute und chronische Verläufe einteilen lassen, vor allem subklinische bzw. inapparente Infektionen auf, die aufgrund fehlender Krankheitssymptome nur durch den Anstieg von Antikörpertitern nachweisbar sind. Subklinische Verläufe können jedoch nach Jahren ohne Symptomatik in gefährdete chronische Verlaufsformen des Q-Fiebers übergehen.

Das **akute Q-Fieber** (TISSOT DUPONT, et al. 1992) ist eine Allgemeininfektion und ähnelt den Symptomen einer Influenza. Die Inkubationszeit beträgt zwei bis vier Wochen. Die Erkrankung zeichnet sich durch plötzliches hohes Fieber (bis $>40^{\circ}\text{C}$) aus, das mehrere Wochen anhalten kann. Hinzu kommen Schüttelfrost und heftige Kopfschmerzen, die anfangs zumeist retrobulbär lokalisiert auftreten, in späterem Krankheitsverlauf aber nicht mehr genau umschrieben werden können. Starke Glieder- und Gelenkschmerzen sowie Lichtempfindlichkeit können ebenfalls in Erscheinung treten. Außerdem ist bei den meisten Patienten ein deutlicher Gewichtsverlust festzustellen. Die klinische Untersuchung der Atemwege ist meist unauffällig, doch zeigt der Röntgenbefund in 30-50% der Fälle eine interstitielle Pneumonie mit milchglasartiger Verschattung. Vergleichbar mit den Symptomen einer Chlamydienpneumonie kommt es zu einer Lungeninfiltration, die sich röntgenmorphologisch und aufgrund fehlender Lungengeräusche den atypischen Pneumonien zuordnen läßt. Häufig ist auch die Leber in Form einer Begleithepatitis und Hepatomegalie betroffen, was sich in erhöhten Leberwerten, v.a. Bilirubin und alkalische Phosphatase und gelegentlich gelblich gefärbten Skleren äußert. In einzelnen Fällen kann das Q-Fieber neben den Hauptmanifestationsorganen Lunge und Leber auch eine Meningoenzephalitis, Myo- und Perikarditis und Orchitis hervorrufen. Bei schwangeren Frauen sind durch eine Plazentitis verursachte Aborte beschrieben worden (STEIN und RAOULT, 1998; DINDINAUD et al. 1991).

Das **chronische Q-Fieber** (EDLINGER, 1987) manifestiert sich klinisch als Endokarditis oder granulomatöse Hepatitis. Die Isolierung von Coxiellen aus Herzklappen und Lebergewebe läßt auf eine Persistenz der Coxiellen im Menschen schließen. Die Q-Fieber Endokarditis folgt einer klinisch apparenten oder auch subklinischen Infektion und befällt vor allem die Mitralklappen und Aortenklappen. Zwischen der Infektion mit Coxiellen und dem Auftreten einer Endokarditis können zwischen 6 Monate und 10 Jahre vergehen. Besonders klassische Endokarditis-Symptome wie mäßiges Fieber, Nachtschweiß, Anämie, Gelenkschmerzen und variable Herzgeräusche bei wiederholt negativem Erregernachweis aus dem Blut können Folgen einer chronischen Q-Fieber-Infektion sein. Bei der Q-Fieber-Hepatitis findet man charakteristisch kleine Granulome mit Epitheloidzellen in ringförmiger Anordnung. Chronische

Q-Fieber Verläufe mit Endokarditiden und Hepatitiden können sogar Todesfälle zur Folge haben (EDLINGER, 1987).

2.1.5.2. Diagnostik

Für die Q-Fieber-Diagnostik des Menschen stehen indirekte, d.h. serologische Methoden im Vordergrund. Die klinische Verdachtsdiagnose des **akuten Q-Fiebers** läßt sich unter Anwendung der Immunfluoreszenz (PEACOCK et al. 1983), die als Referenzmethode dient absichern. Die ELISA-Technik hat sich als gleichwertig erwiesen (PETER et al. 1987) und ist der früher verwendeten Komplementbindungsreaktion deutlich überlegen (FIELD et al., 2000). Eine erste Diagnose ist aufgrund des Nachweises nicht komplementbindender IgM-Antikörper mit einem Antikörpertiter $\geq 1:50$ bereits in der ersten Woche post infectionem möglich. Komplementbindende IgG-Antikörper gegen das Phase 2-Antigen lassen sich hingegen erst nach zwei Wochen nachweisen (SCHMEER et al., 1984). Auch IgA-Antikörper gegen Phase 2-Antigen konnten FOURNIER und RAOULT (1999) entgegen bisherigen Annahmen ebenfalls bei akutem Erkrankungsfällen zu 0,96% nachweisen. Antikörper gegen das Phase 1-Antigen liegen bei akuten Erkrankungsfällen nicht oder nur in geringem Maße vor. Ein vierfacher Titeranstieg in Serumpaaren, die im Abstand von 3 – 6 Wochen entnommen worden sind, ist beweisend für eine stattgefundene Q-Fieber-Infektion.

Beim **chronischem Q-Fieber** können sowohl IgM- als auch IgG- und IgA-Antikörper vorliegen (EDLINGER, 1987). Es handelt sich dabei um Antikörper gegen die Phasen 1 und 2, wobei häufig höhere Titer gegen Phase 1- als gegen Phase 2-Antigen nachgewiesen werden können (PETER et al., 1988). LI et al. (2000) plädieren dafür, eine positive Q-Fieber Serologie als Haupt- anstatt als Nebenkriterium für die Diagnose der infektiösen Endokarditis (IE), in die sogenannten Duke-Kriterien aufzunehmen, um die Erkennung der Erkrankung zu fördern.

Zusammenfassend ist zu sagen, dass der Nachweis von IgG-Antikörpern gegen Phase 2-Antigen bei Personen, die nicht akut erkrankt sind, als Screening-Untersuchung geeignet ist, da diese Antikörper ab der 2. Woche der Erkrankung nachweisbar sind, lange persistieren und auch bei chronischen

Verläufen neben Antikörpern gegen Phase 1 ebenfalls auftreten (SCHMEER et al. 1984; SCHMEER et al. 1987a; PEACOCK et al., 1983).

Neuere Untersuchungen haben gezeigt, dass ein Nachweis der verschiedenen Subklassen der Antikörpergruppen möglich ist. Menschliches IgG besteht aus vier, IgA aus zwei Unterklassen. Während IgG₁- IgG₃- und IgA₂-Antikörper bei akuten als auch bei chronischen Erkrankungsfällen nachgewiesen werden können, die eher typisch für virale oder autoimmune Erkrankungen sind, treten Antikörper der Unterklassen IgG₂ und IgG₄ nicht auf (CAPO et al. 1998). Nach einer Impfung mit *C. burnetii* Phase 1- Extrakt wurden hingegen überwiegend Antikörper der Unterklassen IgG₁, IgG₂ und IgA₁ gebildet (CAMANCHO et al. 2000). Die Ursache dieser unterschiedlichen Immunantwort ist bisher nicht geklärt.

Therapeutisch werden beim Menschen Tetracykline über einen Zeitraum von mindestens 6 Wochen eingesetzt. Für Menschen mit einem hohen Infektionsrisiko wird mittlerweile auch eine Impfung mit Vollantigenextrakt propagiert (MAURIN und RAOULT, 1999).

2.1.6. Q-Fieber bei Rindern und anderen Haustieren

2.1.6.1. Klinische Symptomatik

Bei **Rindern** kann eine Infektion mit *C. burnetii* klinisch sowohl inapparent (SCHOOP, 1953; SCHAAL und SCHAAF, 1969; AITKEN, 1989) als auch apparent verlaufen. Die Krankheitsanzeichen können sehr unterschiedlich ausgeprägt sein. Der Abort ist ein Leitsymptom, welches den Verdacht auf eine Q-Fieber Infektion lenken kann (COCHE, 1980). So beobachteten HENNER et al. (1977), SCHMITTDIEHL et al. (1981) und BAUER (1982) in Rinderbeständen coxiellenbedingte enzootische Aborte. In den Jahren 1981-1988 konnte von SCHWEIGHARDT (1991) bei 418 eingesandten Feten in 0,23% der Fälle *C. burnetii* als Abortursache mikroskopisch nachgewiesen werden. Im Chemischen- und Veterinäruntersuchungsamt Stuttgart lag die Nachweisrate in den Jahren 1995-1998 mittels STAMP-Färbung zwischen 0% und 1,6% (Jahresberichte 1995-1998). In Nordbayern wurde bei 2% der

Abortfälle *C. burnetii* nachgewiesen (HEIL-FRANKE et al., 1993). Einer Coxiellen-Infektion muss jedoch nicht zwangsläufig ein Abortgeschehen folgen. LITTLE (1983) konnte sogar in Nachgeburten von Kühen, deren Kälber gesund geboren worden waren, bis zu 10^8 infektiöse Einheiten pro Gramm Plazenta nachweisen. COCHE (1980) berichtet von „normal“ geborenen Kälbern infizierter Mütter, die jedoch ab dem 3. Lebenstag unter septikämischen Erscheinungen litten oder an Pneumonien oder Arthritiden erkrankten. Über eine ursächliche Beteiligung des Erregers an Fortpflanzungsstörungen in Form von Endometritiden, Vaginitiden, Zyklusstörungen oder Nachgeburtsverhaltung berichten zahlreiche Autoren (COCHE, 1980; WOERNLE und MÜLLER, 1986; LOTTHAMMER, et al. 1987; u.a.). Diese Autoren weisen allerdings darauf hin, dass in diesen Betrieben häufig Polyinfektionen vorliegen. Bei vergleichenden Untersuchungen von Serumproben aus hessischen Betrieben mit und ohne Fortpflanzungsstörungen und Serumproben, die im Rahmen der Leukoseüberwachung entnommen worden waren, konnten GOUVERNEUR et al. (1984) bei 68,6% bzw. 13,4% der Proben Antikörper gegen *C. burnetii* im ELISA nachweisen und somit eine hohe Beteiligung von *C. burnetii* an Fruchtbarkeitsproblemen aufzeigen. WITTENBRINK et al. (1993b) stellten in Niedersachsen in Milchviehherden vergleichsweise unter Anwendung der KBR in Betrieben mit Fruchtbarkeitsproblematik zu 19,3% und in Betrieben ohne Fruchtbarkeitsproblematik zu 9,6% Antikörper gegen *C. burnetii* fest. Auch SIMMERT (1999) wies bei ihren Untersuchungen im nördlichen Baden-Württemberg signifikante Unterschiede zwischen Betrieben mit und Betrieben ohne Fortpflanzungsstörungen nach. Bei Anwendung der KBR reagierten in der Gruppe der Rinder mit Fruchtbarkeitsproblemen 9,0% positiv und 3,4% in der entsprechenden Kontrollgruppe. Bei Anwendung der ELISA-Technik lag dieser Anteil bei 46,2% bzw. 25,4%. Aufgrund dieser Untersuchungen in unterschiedlichen Bundesländern kann davon ausgegangen werden, dass Q-Fieber-Infektionen nicht ausschließlich in Süddeutschland ein Problem darstellen.

WAGENSEIL und ROMER (1993) stellten im Rahmen ihrer Tätigkeit für den Rindergesundheitsdienst Baden-Württemberg fest, dass Haltungs- und Fütterungsmängel dem Angehen von Infektionen und damit einer Verschlechterung der Fruchtbarkeit im Bestand Vorschub leisten. Sowohl WITTENBRINK et al. (1993b) als auch GOUVERNEUR et al. (1984) konnten

nachweisen, dass besonders in Betrieben mit großer Tierzahl mit hohen Infektionsraten des Erregers *C. burnetii* zu rechnen ist. Bei einer Tierzahl von größer 60 waren 100% der von WITTENBRINK et al. (1993b) untersuchten Bestände infiziert, was die Ergebnisse von GOUVERNEUR et al. (1984), die in 58% der untersuchten Bestände mit mehr als 30 Tieren Seroreagenten nachwiesen, bestätigt. In anderen Untersuchungen wurde übereinstimmend festgestellt, dass unter den ausnahmslos im Stall gehaltenen Tieren der Anteil der Seroreagenten deutlich höher war als bei Tieren, denen regelmäßig Weidegang ermöglicht wurde (SCHÄFER, 1983; LOTTHAMMER et al., 1987).

C. burnetii weist nicht nur einen Tropismus für den Uterus, sondern ganz besonders auch für die Milchdrüse auf. Chronisch infizierte Tiere scheiden über Monate oder Jahre kontinuierlich oder intermittierend Coxiellen mit der Milch aus (GRIST, 1959; LUOTO, 1959; SCHAAF, 1961; BECHT und HESS, 1964). MIRRI (1951) beschreibt neben Endometritiden und Aborten auch Fälle von katarrhalischer Mastitis. SCHAAL (1982) hingegen gelang in infizierten Drüsenvierteln mit einem Coxiellengehalt von $10^{0.5}$ - 10^3 infektiösen Einheiten pro Gramm Gewebe nicht der Nachweis pathologisch-anatomischer Veränderungen. Weiterhin konnte er auch keinen erhöhten Zellgehalt der Milch bei diesen Tieren feststellen. ROLLE und MAYR (1993) und SCHAAL (1985) berichten allerdings von einem Sistieren der Milchleistung bei Q-Fieber Infektionen, während BABUDIARI (1959) und LITTLE (1983) keinen Einfluss auf die Milchleistung feststellen konnten.

Bei **Schafen** verursachen Erstinfektionen mit *C. burnetii* in einer Herde seuchenhaftes Verlammen und Geburten lebensschwacher Lämmer (WALDHAM et al., 1978; CROWTHER und SPICER, 1976; POLYDOROU, 1981). Aber auch Polyarthritiden bei Lämmern wurden beobachtet.

Bei **Hunden** und **Katzen** verläuft die Infektion meistens inapparent. Gelegentlich werden Milzschwellung und Bronchopneumonie beobachtet (REUSSE, 1960). Dies konnte durch einen Infektionsversuch von WERTH (1989) bei Hunden und Katzen bestätigt werden. LIEBISCH und LIEBISCH (1999) konnten für Hunde eine Seroprävalenz von bis zu 30% in Endemiegebieten feststellen. Besonders betroffen waren Hütehunde infizierter Schafherden. Die Autoren gehen jedoch davon aus, dass auch bei einer von einer Schafherde ausgelösten Epidemie klinische Infektionen bei Hütehunden meist nicht diagnostiziert werden.

2.1.6.2. Infektionsverlauf

C. burnetii Infektionen beim Tier verlaufen unter dem Bild einer zyklischen Infektionskrankheit mit den Stadien Inkubation, Generalisation, Organmanifestation und Ausbildung einer Immunität (SCHAAL, 1982). Wie beim Menschen erfolgt die Infektion in der Regel aerogen (Staub- oder Tröpfcheninfektion). Nach einer ersten Vermehrung des Erregers im lymphatischen Rachenring folgt eine hämatogene Verbreitung in alle Organe. In dieser bakteriämischen Phase können die Coxiellen über alle Se- und Exkrete ausgeschieden werden. Coxiellen haben einen besonderen Tropismus zum weiblichen Genitale, insbesondere zum graviden Uterus, wo sie sich im Epithel der Kotyledonen vermehren. Je nach Trächtigkeitsstatus kommt es beim Rind entweder zu normalen oder verfrühten Geburten, aber auch zu Spätaborten. In beiden Fällen werden mit den Lochien und der Nachgeburt massiv bis zu 10^9 Coxiellen/g ausgeschieden (HUEBNER und BELL, 1951). Weiterhin kommt es zu einer Besiedelung der Milchdrüse. SCHAAL (1985) konnte in diesem Zusammenhang bei 83 von 97 (83%) mit Q-Fieber infizierten Kühen eine Ausscheidung von Coxiellen über die Milch nachweisen. SCHAAL (1982) sieht deshalb auch das Euter des Rindes als Prädilektionsorgan für Coxiellen an. Die Besiedelung des Euters mit dem Erreger erfolgt seiner Meinung nach lymphohämatogen, da bei 21 der von ihm untersuchten Kühe die supramammären Lymphknoten mit 67% häufiger befallen waren als mit 57% das Euter selbst. Die Erregerausscheidung über die Milch erfolgt kontinuierlich oder intermittierend über Monate bis Jahre (GRIST, 1959; LUOTO; 1959; BECHT und HESS, 1964, SCHLEINZER, 1992).

Zwischen Erregerausscheidung über das Genitale oder die Milch und der Bildung von Antikörpern muss jedoch kein direkter Zusammenhang bestehen (SIMMERT, 1999; SCHLEINZER, 1992). So konnte SIMMERT (1999) in ihren vergleichenden Untersuchungen nur bei 24 von 826 untersuchten Tieren eine Übereinstimmung zwischen Antikörper- und Antigennachweis feststellen. Während bei 78 Tieren Antikörper, nicht aber Coxiellen im Genitale nachgewiesen werden konnten, schieden 46 Tiere Coxiellen aus bei gleichzeitig negativem serologischen Befund. Vergleichbare Ergebnisse konnte auch SCHLEINZER (1992) in seinen vergleichenden Untersuchungen von KBR-Titern und Coxiellenausscheidung über die Milch bestätigen. 22% der von ihm

untersuchten Kühe schieden im Meerschweincheninokkulationstest (MIT) nachweisbar Coxiellen mit der Milch aus, obwohl die KBR-Titer dieser Kühe mit $<1:5$ als negativ bewertet worden waren. Der prozentuale Anteil der Ausscheider stieg allerdings mit der Höhe der KBR-Titers an. Bei Titern von $>1:40$ betrug der Anteil der Ausscheider beachtliche 78%. Eine Korrelation zwischen Höhe der KBR-Titer und der Coxiellen-Ausscheidung mit der Milch konnten auch SCHAAL und SCHÄFER (1984) bestätigen. Der Anteil der Coxiellen-ausscheidenden Kühe stieg bei ihren Untersuchungen von 14% bei einem KBR-Titer von 1:5 über 65% bei Titern von 1:20 und 1:40 bis zu 100% bei Titern von 1:160 und größer. SCHAAL (1982), REUSCH (1982) und SCHÄFER (1983) hingegen, konnten keinen direkten Zusammenhang zwischen Antikörpertitern und Coxiellenausscheidung über die Milch feststellen. In ihren Untersuchungen fanden sie sowohl Rinder ohne meßbaren Antikörpertiter in der KBR, und dennoch Coxiellen-Ausscheidungen in der Milch, als auch Tiere mit hohen KBR-Titern ohne nachweisbaren Coxiellengehalt in der Milch.

Auf eine Infektion mit Coxiellen folgend werden beim Rind nach einigen Tagen IgM-Antikörper gebildet, die in der 4. Woche zunehmend von IgG₁-Antikörpern gegen Phase 2 später auch gegen Phase 1 abgelöst werden, welche die dominierenden Antikörpersubklasse einer natürlichen Infektion darstellen (SCHMEER, 1988). IgG₂-Antikörper lassen sich jedoch beim Rind nicht zu einem frühen Zeitpunkt der Infektion nachweisen. Im Gegensatz dazu wird die Immunantwort nach einer Impfung durch IgG₂-Antikörper dominiert.

Bei Verlaufsuntersuchungen konnte festgestellt werden, dass bei Kühen, die vor der Trächtigkeit infiziert worden waren, der Antikörperanstieg biphasisch verlief. Im ersten und letzten Drittel der Trächtigkeit waren die Antikörperspiegel jeweils höher als in der Mitte der Trächtigkeit (LANGE et al. 1992), wobei die IgG₁-Antikörper dominierten (SCHMEER, 1985). Insgesamt gesehen überwiegt im Infektionsgeschehen jedoch bei der Q-Fieber Infektion die zelluläre Immunantwort, unterstützt durch spezifische Antikörper, die die Phagozytose und den Abbau der Coxiellen durch Makrophagen des Wirtes begünstigen (HUMPHRES et al., 1981).

2.1.6.3. Diagnostik

Die klinischen Symptome einzelner oder mehrerer Tier eines Bestandes können allenfalls diagnostische Anhaltspunkte für eine Coxiellen-Infektion geben. Das Absichern eines klinischen Verdachtes ist nur über labordiagnostische Untersuchungen möglich.

Der **direkte Erregernachweis** ist die Methode der Wahl. Die Zellkultur bietet über den direkten Erregernachweis die Möglichkeit, das Isolat weiter z.B. mittels Pulsfeldgelelektrophorese (PFGE) zu charakterisieren. Die Nachweisgrenze ist hierbei stark von der zusätzlichen bakteriellen Kontamination des Probenmaterials abhängig. Der mikroskopische Erregernachweis ist durch Anfärbung der Coxiellen nach STAMP, GIMENEZ oder GIEMSA insbesondere aus Nachgeburten möglich. Die Nachweisgrenze liegt nach KNAB (1979) bei $5,8 \times 10^6$ Coxiellen/ml.

SCHMEER et al. (1987b) verwendete nach Anzüchtung der Coxiellen in der BGM-Zellkultur die Immunperoxidase Technik, um den Vermehrungszyklus der Coxiellen besser studieren zu können. In dieser Technik sehen die Autoren auch eine Möglichkeit, Coxiellen in Milch oder Organen nachzuweisen. Weitere Erregeranzüchtungen sind mit embryonierten Hühnereiern und dem sogenannten Meerschweincheninokulationstest durchführbar. Von letzterer Methode wird aus Tierschutzgründen und nunmehr zur Verfügung stehender ausreichend sensitiver Alternativmethoden zunehmend Abstand genommen.

Weiterhin ist mit Hilfe spezifischer FITC markierter Antikörper oder einer Behandlung mit Auramin ein Erregernachweis im Fluoreszenzmikroskop möglich (URBACH und SPRÖSIG, 1954).

Die Entwicklung eines Capture-ELIFA/ELISA (DACKAU, 1993; THIELE et al. 1992a; SIMMERT, 1999) bietet den Vorteil, auf Tierversuche verzichten und zahlreiche Proben mit geringem Aufwand untersuchen zu können. DACKAU (1993) konnte für ihren ELIFA zum Nachweis von Coxiellen in der Milch eine Nachweisgrenze von 4×10^3 Coxiellen/ml Milch bestimmen. SIMMERT (1999) gibt eine Nachweisgrenze von 2×10^5 Coxiellen für das von ihr eingesetzte ELISA-Testsystem an.

Mit Hilfe molekularbiologischer Untersuchungsmethoden wie der PCR ist es mittlerweile möglich, die Nachweisgrenze deutlich abzusenken. JAEGER et al.

(1999) entwickelten eine PCR, mit der es gelang, 500 Coxiellen/ml Milch nachzuweisen. EDNGLOH et al. (1999) geben die Empfindlichkeit ihrer Multiplex-PCR mit 4 Coxiellen/ml an, und WILLAMS et al. (1994) können mittels PCR sogar 1 Coxielle/ml nachweisen. THIELE et al. (1992b) sehen den Vorteil der PCR in der Möglichkeit, nicht nur die Erreger nachzuweisen, sondern die Coxiellen auch anhand von Plasmiden genomischen Gruppen zuordnen zu können. Die Autoren weisen jedoch auch auf die Gefahr der Kontamination mit Ziel-DNA hin, die zu falsch positiven Ergebnissen führen kann. Die PCR-Technik stellt deshalb hohe Anforderungen an die Laboreinrichtung und das Personal.

Der **indirekte Erregernachweis** beim Tier erfolgt mit Hilfe des Nachweises spezifischer Antikörper im Serum. Dafür stehen verschiedene Techniken zur Verfügung. Zu den in der Q-Fieber-Diagnostik vorgeschlagenen direkten serologischen Nachweismethoden gehören nach Empfehlung der Weltgesundheitsorganisation (WHO) (1982):

- Komplementbindungsreaktion (KBR)
- Capillaragglutination (CAT)
- Mikroagglutination (MA)
- indirekte Immunfluoreszenz (IFL)

Die KBR ist als Routinemethode am weitesten verbreitet und wird für die Q-Fieber Diagnostik des Rindes von dem OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES (O.I.E.) (1992) als Standardverfahren angegeben. Die Anwendung der KBR in der Routinediagnostik erfolgt in der Regel mit Phase 2-Antigen (SCHMEER, 1988) in der sogenannten Kältebindung nach KOLMER und BOERNER (1945). Komplementbindende Antikörper sind 7 bis 14 Tage post infectionem nachweisbar und können über Jahre persistieren (SCHAAL 1972; DÖLLER 1985). Ein Titeranstieg in Serumpaaren gilt als beweisend. Der Grenztiter für positiv zu bewertende Seren variiert von Autor zu Autor. So gibt SCHÄFER (1983) einen Titer von 1:5 an, während ROJAHN (1979) erst einen Titer von 1:40 als positiv bewertet. Die Mehrzahl der Autoren bewerten einen Titer von 1:20 als positiv und 1:10 als grenzwertig. Im O.I.E Manual (1992) wird empfohlen, Titer ab 1:10 als positiv zu bewerten. Titer zwischen 1:10 und 1:40

werden hierbei als Indikator einer zurückliegenden Infektion gewertet, während Titer von 1:160 bis 1:1280 als Zeichen für eine akute Coxiellen-Infektion beurteilt werden.

Neben der KBR wird zunehmend die ELISA-Technik angewendet. Diese Methode ist nicht nur weniger aufwendig als die KBR, sondern auch sensitiver, da zu den komplementbindenden IgG1-Antikörpern, zusätzlich nichtkomplementbindende Antikörper nachgewiesen werden können. Dies konnte SCHMEER (1985) zeigen, dessen ELISA neben IgG1-Antikörpern auch Antikörper der IgM- und IgG2-Klasse beim Rind nachweisen konnte. Im O.I.E. Manual (1992) wird die ELISA-Technik als Methode für Massenuntersuchungen empfohlen. Der Nachweis einer Q-Fieber Infektion eines Bestandes ist serologisch auch über Milchserum aus Tankmilchproben möglich. In England wurde bei 21% von zufällig ausgewählten Tankmilchproben mittels eines ELISA zum Nachweis von IgG-Antikörpern, der serologische Nachweis einer *C. burnetii* Infektion im Betrieb geführt (PAIBA et al., 1999).

2.1.6.4. Bekämpfung und Therapie

Die Bekämpfung des Q-Fiebers erweist sich aufgrund der besonderen Eigenschaften von *C. burnetii* als ausgesprochen schwierig. Die Behandlung eines Bestandes sollte vor der Therapie des Einzeltieres im Vordergrund stehen. Es stehen neben der möglichen Ausmerzungen infizierter Tiere die antibiotische Behandlung und die Impfung zur Verfügung. Für die antibiotische Behandlung werden Tetracykline, die beim Menschen und im Tierversuch gut wirksam sind, empfohlen. Es hat sich in verschiedenen Studien gezeigt, dass jedoch keine sichere Eliminierung des Erregers erfolgt, sondern einzelne Tiere trotz erfolgter Antibiose weiterhin Coxiellen mit der Milch ausscheiden können (LUOTO, 1959; WOERNLE und MÜLLER, 1986; SCHMEER et al. 1987d). Impfungen mit dem mittlerweile vom Markt genommenen Coxiellen/Chlamydien-Impfstoff Aborstop[®]FQ der Fa. Rhone-Merieux/ Albrecht, eine Vakzine aus Formalin- und Hitze-inaktiviertem Phase 2-Coxiellenantigen mit Öl-Adjuvans und Chlamydienantigenzusatz, garantieren nach Untersuchungen von WOERNLE und MÜLLER (1986) und SCHMEER et al.

(1987d) weniger einen therapeutischen Erfolg als vielmehr einen Infektionsschutz für nicht bereits infizierte Färsen. BEHYMER et al. (1975) konnten jedoch auch bei tragenden Tieren einen Impferfolg nachweisen. So konnten bei vakzinierten tragenden Tieren auch durch Gaben von 4×10^8 Coxiellen Aborte nicht ausgelöst werden. Widersprüchlich sind Untersuchungen zur Ausscheidung von Coxiellen nach Impfungen. Während einerseits BIBERSTEIN et al. (1977) nach Vakzinierung die Ausscheidung von Coxiellen über die Milch bis unterhalb der Nachweisgrenze reduzierten konnten, stieg in einer Studie von SCHMEER (1988) trotz Impfungen eines mit Coxiellen infizierten Bestandes der Anteil der Kühe, die Coxiellen über die Milch ausschieden, an. Aufgrund dieser möglichen Ausscheidung von *C. burnetii* über die Milch wird vor allem für Vorzugsmilchbetriebe die Ausmerzung infizierter Tiere empfohlen. Zu einer grundsätzlichen Ausmerzung serologisch positiver Tiere kann jedoch nicht geraten werden, da Neuinfektionen über kontaminiertes Futter oder Vögel besonders in Gebieten mit infizierten Zeckenpopulationen, den sogenannten Naturherden, die ein Reservoir für freilebende Vertebraten und ein entscheidendes Glied in der Infektionskette bei der Übertragung der Infektion auf Haussäugetiere bilden, nicht ausgeschlossen werden können (SCHLIESSER und KRAUSS, 1982; SCHLIESSER, 1991). Das bestätigen auch die Untersuchungen von REHACEK et al. (1977), die in der Umgebung infizierter Betriebe Infektionsherde in Kleinsäugerpopulationen nachweisen konnten.

Als Bekämpfungsprogramm wurden von KRAUSS (1995) folgende Empfehlungen für Vorzugsmilchbetriebe ausgesprochen:

1. serologische Untersuchung der Herden mit der ELISA-Technik
2. bei negativem Testergebnis aller Rinder Freigabe des Bestandes und Vorschlag jährlicher Impfungen an den Tierhalter
3. Entfernung serologisch positiv reagierender Rinder aus dem Bestand und 4 Wochen nach Entfernen der Reagenten erneute serologische Untersuchungen unter Anwendung der ELISA-Technik
4. Nach Impfungen zur Dokumentation des coxiellenfreien Status halbjährliche Untersuchung auf Coxiellenausscheidung über die Milch mittels Erregeranzüchtung.

In Baden-Württemberg wurden 1994 vergleichbare Empfehlungen ausgesprochen, alle zur Vorzugsmilchgewinnung bestimmten Tiere mit Aborstop[®] FQ der zu impfen. Die Erstimpfung wird besonders für juvenile Tiere vor der Geschlechtsreife und Tiere mit negativem KBR-Titer empfohlen. Zugekaufte Tiere sollten zuerst in Quarantäne genommen werden und vornehmlich mittels ELISA-Technik untersucht und negativ reagierende Tiere anschließend geimpft werden. Tiere, die nach bzw. trotz Impfung einen KBR-Titer >1:20 aufweisen, sollen aus dem Betrieb entfernt werden, da bei diesen Tieren eine Coxiellanausscheidung als wahrscheinlich angenommen wird. Eine jährliche Kontrolle des Bestandes durch serologische Untersuchung wird zusätzlich empfohlen. Aus tierschutzrechtlichen Gründen soll aber auf den Meerschweincheninokkulationstest als Nachweis von Coxiellanausscheidungen mit der Milch verzichtet werden.

2.2. Chlamydien

2.2.1. Erreger

In den Dreißiger Jahren untersuchte Sir Bedson Mikroorganismen, die Pneumonien bei Menschen verursachten. Diese in Einschlußkörperchen vorliegenden Erreger ähnelten denen, die drei Jahrzehnte zuvor von deutschen Ophthalmologen bei Neugeborenen mit Konjunktivitis gefunden wurden. Bei Rindern berichteten McNUTT und WALLER 1940 über sporadisch auftretende Encephalomyelitis-Fälle, bei denen 1953 WENNER et al. *C. psittaci* als ursächlichen Erreger nachweisen konnten. 1950 berichteten STAMP et al. in Schottland über den Chlamydienabort des Schafes. Aufgrund ihres von lebenden Zellen abhängigen Vermehrungszyklus wurden sie zunächst für „große Viren“ gehalten, worauf der bis heute verwendete Begriff „Virusabort des Schafes“ hinweist. Chlamydien sind obligat intrazelluläre Bakterien, die jedoch aufgrund ihrer Abhängigkeit vom Energiestoffwechsel eukaryontischer Zellen eine Sonderstellung einnehmen. Die Zuordnung zu den Bakterien erfolgte aufgrund des Vorkommens von DNS und RNS, ihrer Empfindlichkeit gegenüber Antibiotika wie Tetrazyklinen, des Aufbaus ihrer Zellwand, die der

gramnegativer Bakterien am nächsten kommt und ihrer Vermehrung durch einfache Zellteilung.

Nach Bergey`s Manual of Systemic Bacteriology (MOULDER et al., 1984) werden die Chlamydien wie folgt taxonomisch eingeordnet:

Ordnung:	<i>Chlamydiales</i>
Familie:	<i>Chlamydiaceae</i>
Gattung:	<i>Chlamydia</i>
Species:	<i>C. psittaci</i>
	<i>C. trachomatis</i>
	<i>C. pneumoniae</i>

Eine weitergehende Einteilung von *C. psittaci* in Gruppen erfolgte durch ANDERSEN (1991a) mit Hilfe von Restriktionsendonuklease-Analysen und in Serovare mit Hilfe monoklonaler Antikörper (ANDERSEN, 1991a; ANDERSEN, 1991b; VANROMPAY et al., 1993):

Vogelgruppe mit Psittaciden-(A), Tauben-(B), Enten-(C) und Puten-(D) Serovar Abortgruppe (Serotyp 1)

Polyarthritits-Konjunktivitis-Gruppe (Serotyp 2, *C. pecorum*)

Meerschweinchen-Konjunktivitis-Gruppe

Bisamratten-Konjunktivitis-Gruppe

Die Vogelgruppe beinhaltet *C. psittaci*-Stämme, die abhängig vom Serovar, bevorzugt bei Psittaciden, Tauben, Enten und Puten isoliert werden können. Infektionen mit *C. psittaci* der Meerschweinchen- und der Bisamratten-Konjunktivitis-Gruppe bleiben auf die entsprechende Tierart beschränkt.

Die bei Wiederkäuern vorkommenden Chlamydien wurden in drei Serotypen unterteilt. Serotyp 1 wird häufig bei latenten Darminfektionen isoliert und verursacht Aborte, Entzündungen des Genitaltraktes und Bronchopneumonien (PEREZ-MARTINEZ und STORZ, 1985a). Serotyp 2, den SCHMEER (1988) für sehr virulent hält, verursacht Polarthritits/Serositis, Enzephalomyelitis, Konjunktivitis und klinisch manifeste Darminfektionen. Ein wenig virulenter

Serotyp 3 verursacht nur gelegentlich Krankheitssymptome bei Kälbern (SCHMEER, 1988).

Zu den nach MOULDER et al. (1984) erfaßten Chlamydien-Spezies *C. psittaci* und *C. trachomatis* beschrieben FUKUSHI und HIRAI (1992) eine neue Art, *C. pecorum*, welche dem Serotyp 2 entspricht.

EVERETT et al. hingegen veröffentlichten 1999a eine Neuorganisation der Ordnung Chlamydiales, die anhand von phylogenetischen Analysen des 16S und 23SrRNS-Gens erfolgte. Mittels PCR-RFLP gelang es, zwei Gattungen zu unterscheiden, denen neun Spezies zugeordnet werden (EVERETT et al. 1999b):

Ordnung:	<i>Chlamydiales</i>	
Familie:	<i>Chlamydiaceae</i>	
Gattung:	<i>Chlamydia</i>	<i>Chlamydophila gen. nov.</i>
Spezies:	<i>C. trachomatis</i>	<i>C. pecorum comb. nov.</i>
	<i>C. muridarum</i>	<i>C. pneumoniae comb. nov.</i>
	<i>C. suis</i>	<i>C. psittaci comb. nov.</i>
		- <i>C. abortus gen. nov., sp. nov.</i>
		- <i>C. caviae gen. nov., sp. nov.</i>
		- <i>C. felis gen. nov., sp. nov.</i>

Der neu benannten Spezies *Chlamydophila psittaci* werden zur Zeit acht bekannte Serovare zugeteilt (A-F, M56, WC).

C. abortus werden die Abortstämme zugerechnet, die in der vorherigen Ordnung zu *Chlamydia psittaci* zugeordnet wurden. Auch die Stämme von *C. caviae*, zu dem jetzt auch der Stamm der Meerschweinchen-einschlußkonjunktivitis gehört und *C. felis* gehörten zuvor *Chlamydia psittaci* an.

Der neu benannten Spezies *Chlamydophila pneumoniae* werden drei Biovare zugeordnet, zum einen das human pathogenen Biovar TWR sowie die tierpathogenen Biovare Koala und Equine.

2.2.2. Morphologie

Chlamydien kommen in zwei verschiedenen morphologischen Formen vor. Man unterscheidet Elementarkörperchen (Größe 200-400 nm) und Retikularkörperchen (Größe 600-1500 nm). Mit Hilfe der Elektronenmikroskopie lassen sich bei den Elementarkörperchen elektronendichte und elektronentransparente Regionen unterscheiden. Elektronendicht und kompakt stellen sich Nukleoid und Ribosomen dar. Bei dem Zellkernäquivalent handelt es sich um eine elektronentransparente Zone. Die Zellwand der Elementarkörperchen lässt sich elektronenmikroskopisch kaum darstellen. Es handelt sich dabei um eine dreischichtige Plasmamembran und eine dreischichtige Zellwand. Im Gegensatz zu den Retikularkörperchen sind die Elementarkörperchen sehr widerstandsfähig, stoffwechsellinaktiv und infektiös. Die Retikularkörperchen hingegen haben eine wesentlich dünnere und weniger stabile Zellwand. Ihr Kernäquivalent stellt sich aufgelockert dar und sie enthalten mehr Ribosomen. Der Entwicklungszyklus der Chlamydien besteht aus einem Wechsel von Elementarkörperchen und Retikularkörperchen. Die Elementarkörperchen können außerhalb eukaryontischer Zellen überleben. Im Falle einer Infektion heften sie sich an Rezeptoren der Wirtszelle (BAGHIAN und SCHNORR, 1992), werden durch Endozytose von der Wirtszelle aufgenommen und verhindern dort die Fusion von Phagosomen mit Lysosomen zu Phagolysosomen. In den Phagosomen entwickeln sich die Elementarkörperchen zu Retikularkörperchen, die sich daraufhin zu teilen beginnen. Nach mehreren Teilungsvorgängen werden die Retikularkörperchen wieder zu infektiösen, stoffwechsellinaktiven Elementarkörperchen. Diese Elementarkörperchen werden entweder durch eine Zelllyse oder durch Exozytoseprozesse permanent infizierter Zellen freigesetzt (SCHIEFER und KRAUSS, 1982).

Die antigenen Eigenschaften der Chlamydien werden durch die Hauptoberflächenantigene bestimmt. Chlamydien besitzen ein hitzestabiles, genuspezifisches Lipopolysaccharid- (LPS) Antigen (BRADE et al., 1986; MONSIRE et al., 1989), dessen immundominanter Bestandteil, ein Trisaccharid aus 3-desoxy-D-manno-Octulonsäure (KDO), durch milde Säurehydrolyse zerstört werden kann. SCHMEER und KRAUSS (1982) wiesen nach, dass das LPS mindestens drei Antigen-Domänen besitzt. Bei den Elementarkörperchen befindet sich das LPS im Bereich der Hauptmembranproteine (MOMP)

(JENSEN et al., 1990; MONSIRE et al., 1989). Die MOMP machen über 50% aller Membranproteine aus, weisen ein einheitliches Molekulargewicht von ca. 40 KD auf und bewirken, dass das LPS weniger Oberflächen-exponiert ist. Die hitzelablen Proteinantigene sind typspezifisch und befinden sich vorwiegend im Bereich der MOMP (CALDWELL und SCHACHTER; 1982). Diese Proteinantigene ermöglichen nach Oxidation des LPS mit Hilfe von Natriumperiodat oder durch Extraktion des LPS mit Triton X-100 (OSSEWAARDE et al., 1994) eine Unterscheidung typspezifischer Chlamydien-Antikörper mittels Mikroimmunfluoreszenz. Die Aminosäuresequenz der MOMP lassen deutliche Unterschiede zwischen den Chlamydien Spezies erkennen (EVERETT et al., 1999).

2.2.3. Pathogenität verschiedener Chlamydienstämme

Chlamydien sind nicht streng wirtsspezifisch, dennoch läßt sich eine Bevorzugung der unterschiedlichen Stämme für bestimmte Wirte erkennen (ANDERSEN, 1991a; VANROMPAY et al., 1994). Die Pathogenität der unterschiedlichen Chlamydien-Stämme kann hierbei erheblich variieren. So sind Stämme von Vögeln, insbesondere von Psittaziden, für den Menschen virulenter als Stämme von Säugetieren (MEYER, 1965; WACHENDÖRFER und LOHRBACH, 1980; DEDIE et al. 1993). Dies führte zu der Unterscheidung in die anzeigepflichtige Psittacose, deren Überträger Psittaziden darstellen, und die meldepflichtige Ornithose, die alle anderen durch *C. psittaci* verursachten Erkrankungen umfaßt. Stämme, die von Rind, Schaf und Ziege isoliert werden, sind für Menschen, aber auch für Puten, nicht aber für Psittaziden pathogen. Bei Wiederkäuern wurden vor der Neuorganisation der Gattung im Jahr 1999 drei verschieden pathogene Serotypen unterschieden (PEREZ-MARTINEZ und STORZ, 1985a; SCHMEER, 1988).

RODOLAKIS und SOURIAU (1989) unterscheiden zwischen invasiven ovinen Abortstämme und nicht invasiven Stämmen, die aus dem Kot gesunder Schafe isoliert werden können. Versuche beim Schaf hierzu zeigten, dass nach intradermaler Injektion mit einem nicht invasiven Stamm eine bestehende Trächtigkeit nicht gefährdet wurde, während ein invasiver Stamm bei 24 von 25 infizierten Tieren Aborte auslöste. Zwischen beiden Chlamydien-Stämmen

konnte auch ein Unterschied im Proteinmuster ermittelt werden (BUZONI-GATEL et al. 1989), wobei alle im Mäusemodell als invasiv ermittelten Stämme in der SDS-Page-Elektrophorese eine Bande bei 90 KD zeigten, die bei den als nicht invasiv eingestuften Stämmen fehlte (BUZONI-GATEL und RODOLAKIS, 1983). Neuere Untersuchungen der acht Serovare von *Chlamydophila psittaci* haben ergeben, dass einige der Serovare die Fähigkeit besitzen mehr als einen Wirt zu infizieren (ANDERSEN, 1997; CDC, 1997).

2.2.4. Tenazität von Chlamydien

Die Tenazität von Chlamydien nimmt mit zunehmender Temperatur ab. So bleiben Chlamydien bei -20°C ein Jahr, bei Raumtemperatur (22°C) einen Monat, bei 37°C 2 Tage und bei 56°C nur 5 Minuten lebensfähig. Auf Federn und in Kotstaub bleibt *C. psittaci* allerdings wochenlang infektiös (PAGE, 1978a; STORZ und KRAUSS, 1985). DIEHL (1961) ermittelte infektiöse Elementarkörperchen in der Außenwelt noch nach 20 Tagen in Stroh und bis zu 6 Monaten im Erdboden. Eine erfolgreiche Desinfektion erfolgt innerhalb weniger Minuten mit Lipidlösungsmitteln, quaternären Ammoniumverbindungen, Benzalkoniumchlorid, alkoholischer Jodlösung, 70% Ethanol oder 0,1% Formalin. Weniger gut wirksam sind proteindenaturierende Chemikalien wie Säuren und Basen (GRIMES und WYRICH, 1991).

2.2.5. Epidemiologie und Pathogenese

C. psittaci ist weltweit verbreitet. Das Wirtsspektrum umfaßt neben Papageien ca. 130 weitere Vogelarten, den Menschen, Haus- und Wildsäugetiere, Beuteltiere sowie Mollusken und Athropoden (STORZ und KRAUSS, 1985). Ein wichtiges Erregerreservoir stellt der Darmtrakt von Vögeln und Säugetieren dar (STORZ, 1971; WITTENBRINK et al., 1987). Der Erreger kann über Kot, Genitalsekrete, infizierte Nachgeburten, Harn, Sperma und Konjunktivalsekrete ausgeschieden werden (PEREZ-MARTINEZ und STORZ, 1985b; WITTENBRINK, 1991a).

Die häufigsten Infektionsquellen für den Menschen stellen Psittaziden, Tauben und Schafe dar, die den Erreger über Jahre kontinuierlich oder intermittierend mit Kot oder Körperflüssigkeiten ausscheiden können. Aber auch andere Vogelarten, besonders Nutzgeflügel, und auch Rinder und Katzen kommen als Überträger in Frage. Die infektiösen Elementarkörperchen überstehen eine Austrocknung und werden dann meist mit dem Staub eingeatmet. Schmierinfektionen mit Ausscheidungen infizierter Tiere sind ebenfalls möglich. Prädisponiert sind vor allem Personen- und Berufsgruppen, die engen Kontakt mit diesen Tieren haben, wie z.B. Schlachthofpersonal, Tierärzte und in der Landwirtschaft tätige Personen. BAZALA und RENDA (1992) sehen vor allem Personen, die in der Tierproduktion tätig sind als gefährdet an und beschreiben latente Chlamydien-Infektionen bei Schweine-, Rinder- und Schafzüchtern. Gehäufte *C. psittaci*-Infektionen bei Menschen treten in Zusammenhang mit Nutzgeflügelhaltungen auf (ANONYM, 1998), während einzelne Erkrankungsfälle eher bei Haltern von Papageienvögeln vorkommen. In England häufen sich die gemeldeten Fälle chlamydienbedingter Aborte bei Frauen, die engen Kontakt zu Schafen besonders in der Ablammperiode hatten (BAKER und COOPER, 1983; JOHNSON et al. 1985; u.a.). Aufgrund dieser Fälle raten der Chairman of the Farm Animal Committee und der Chairman of the Small Ruminantes Subcommittee Großbritanniens (EDDY und MARTIN, 1986) sowie HELM et al. (1989) Frauen, während einer Schwangerschaft jeglichen Kontakt mit Schafen zu vermeiden. Weitere Autoren nehmen an, dass Chlamydien-Infektionen bei Menschen durch an Bronchopneumonie erkrankte Rinder (FIOCRE, 1959) und Kälber (SARATEANU, 1961) verursacht werden können. KRÜGER-HANSEN-SCHOOP und SCHOOP (1966) vermuteten die Ursache einer Chlamydiose eines Melkers bei einer mit Chlamydien infizierten Kuh. Aber auch Katzen dürfen als potentielle Überträger einer durch Chlamydien verursachten Konjunktivitis nicht außer Acht gelassen werden (SCHACHTER et al., 1969; und SHEWEN et al. 1978).

2.2.6. Chlamydiosen bei Menschen

Für den Menschen gelten vier Chlamydien Spezies als pathogen. Während *C. trachomatis*- und *C. pneumoniae* (Biovar TWR)-Infektionen auf den Menschen beschränkt bleiben, gelten *C. psittaci* und *C. pecorum* als tier- und menschenpathogen, wobei vor allem *C. psittaci* beim Menschen schwere Erkrankungen hervorrufen kann. Sowohl die Psittacose, d.h. die durch Papageien übertragene Chlamydien-Infektionen, als auch die Ornithose, d.h. durch andere Vogelarten oder Säugetiere übertragene Chlamydien, sind nach dem Bundesseuchengesetz § 3 bei Menschen meldepflichtig.

C. trachomatis hingegen verursacht Erkrankungen wie das Trachom und das Lymphogranuloma inguinale, Urogenitalinfektionen bei Männern und Frauen, die Unfruchtbarkeit und besonders bei Neugeborenen Konjunktividen zur Folge haben können. Bei ca. 8% der Durchschnittsbevölkerung lassen sich Antikörper gegen *C. trachomatis* nachweisen ohne gleichzeitig klinische Symptome (MARDH und EICHMANN, 1986). *C. pneumoniae* wurde 1989 als eigene Spezies anerkannt. Dieser durch Tröpfcheninfektion übertragene Keim kann akute, oft langwierige Infektionen des oberen und unteren Respirationstraktes hervorrufen, und werden der CAP (Community-acquired-Pneumonia) zugeordnet, die auch durch andere Bakterien wie z. B. *Mycoplasma pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae* und *Haemophilus influenzae* hervorgerufen wird (PATEL et al. 2000). Die Durchseuchung der Normalbevölkerung ist hoch. In Europa liegt die Seroprävalenz im Erwachsenenalter bei ca. 60,0% (FREIDANK, 1992). Männer sind mit 58,8% häufiger infiziert als Frauen mit 39,6% (FERRARI et al. 2000). Eine ursächliche Beteiligung von *C. pneumoniae* am Herzinfarktgeschehen wird vermutet, ist aber bisher nicht hinreichend geklärt.

2.2.6.1. Klinische Symptomatik

Das klinische Bild einer *C. psittaci*-Infektion ist sehr variabel. Infektionen können abhängig von der Virulenz des Erregers und der Immunlage des Menschen subklinisch verlaufen. Die Symptome apparenter Infektionen reichen von leichten „grippeähnlichen“ Erscheinungen bis hinzu schweren,

lebensbedrohlichen Verläufen im Rahmen einer atypischen Pneumonie (KRAUSS et al. 1997). Die Inkubationszeit beträgt 7-21 Tage. Initiale Symptome sind entweder hohes Fieber und Schüttelfrost oder ein sich langsam steigerndes Krankheitsgefühl mit Husten, ansteigender Temperatur und Abgeschlagenheit. Ebenfalls können Muskel- und Gelenksschmerzen auftreten. Neben diesen klassischen immer wieder auftretenden Ornithose/Psittakose-Infektionen (LEDERER und MUELLER, 1999) durch Vogelstämme treten auch Infektionen mit Säugetierstämmen auf. Schafe, Katzen und Rinder kommen in erster Linie als Überträger in Frage. Als Symptome sind neben grippeähnlichen Erkrankungen und Pneumonien auch Konjunktivitiden und Fehlgeburten beschrieben. Neben diesen klassischen Symptomen einer Chlamydien-Infektion werden auch vereinzelt Fälle von reaktiver Arthritis (sterile Begleitarthritis) beschrieben. Diese reaktive Arthritis kann sowohl während einer akuten als auch als Folge einer chronischen Chlamydien-Infektion auftreten (TSAPAS et al., 1991). COOPER und FERRISS (1996) beschreiben einen Fall, bei dem 10 Jahre nach einer diagnostizierten Psittakose diese Form der Arthritis nachgewiesen wurde.

2.2.6.2. Diagnostik

Der **indirekte Erregernachweis** erfolgt durch den Nachweis spezifischer Antikörper mit Hilfe der KBR, der Immunfluoreszenz-(IFT) oder der ELISA-Technik. Als beweisend gilt ein Titeranstieg in Serumpaaren. Die serologische Untersuchung steht bei Infektionen mit *C. psittaci* und *C. pneumoniae* im Vordergrund. Ein Vergleich eines rELISA- und eines MIF-Testes ergab eine gute Übereinstimmung beider Verfahren (PERSSON und HAIDL, 2000). Als Screeninguntersuchung eignet sich die Bestimmung von IgG-Antikörpern, da IgM- und IgA-Antikörper bei Erwachsenen nicht immer nachweisbar sind. Der Nachweis der letztgenannten Immunglobuline spricht für ein akutes Stadium der Infektion. Bei Neugeborenen mit Verdacht einer Chlamydien-Infektion sollte jedoch auf die Untersuchung auf IgM- und IgA-Antikörper nicht verzichtet werden (PICKERT und DÖLLER, 1988). Die Differenzierung der Immunglobulinklassen ist mittels IFT möglich. Seit Anfang der neunziger Jahre sind auch IFT-Testkits kommerziell erhältlich, mit denen Antikörper gegen die

verschiedenen Chlamydien-Spezies unterschieden werden können. Ein **direkter Erregernachweis**, der vor allem bei *C. trachomatis*-Infektionen aus Genitalabstrichen aber auch bei *C. pneumoniae*-Infektionen aus Sputumproben durchgeführt wird, ist sowohl über die Zellkultur als auch mittels Antigen-ELISA oder PCR möglich.

2.2.7. Chlamydiose bei Rindern und anderen Haustieren

Als Ausdruck der Heterogenität der Chlamydien werden bei Rindern und anderen Haustieren neben symptomlosen Infektionen eine Vielzahl klinischer Ausprägungen der Chlamydiose beschrieben. Die nachfolgende Tabelle faßt die wesentlichen Erkrankungserscheinungen zusammen:

Tierart	Klinik
Rind	Pneumonie Aborte Vaginitis, Endometritis Mastitis Polyarthritiden, Keratokonjunktivitis Enzephalitis Infektion des Harnapparates Enteritis Latente Infektionen
Schaf/Ziege	Pneumonie Aborte, Mastitiden Polyarthritiden, Keratokonjunktivitis Infektionen des Verdauungsapparates Latente Infektionen
Pferd	Pneumonie Aborte Polyarthritiden, Enzephalitis Hepatopathien Gastrointestinale Infektionen Latente Infektionen
Schwein	Pneumonie Aborte, Orchitis Vaginitis, Endometritis Polyarthritiden, Polyserositis Pericarditis Latente Infektionen
Hund/Katze	Pneumonie Keratokonjunktivitis Polyarthritiden Enteritis, Enzephalitis

Tabelle 2.: Krankheitserscheinungen durch Chlamydien-Infektionen verschiedener Tierarten modifiziert nach BISPING und AMTSBERG, (1988).

Weiterhin werden Chlamydien-Infektionen bei Bullen nachgewiesen. Diese führen zu einer verminderten Spermaqualität und stellen eine potentielle Infektionsquelle der zu bedeckenden bzw. zu besamenden Kühen dar (PEREZ-MARTINEZ und STORZ, 1985b). Chlamydien-Infektionen von Rindern in Milchviehbetrieben können zu hohen finanziellen Einbußen führen. Ursachen hierfür sind einerseits Aborte und damit verbundene Verluste der Nachzucht sowie geringere Milchleistung und andererseits Fortpflanzungsstörungen (Endometritiden, Vaginitiden, gehäuftes Umrindern und Mastitiden), die sich in schlechten Besamungsergebnissen und verlängerten Zwischenkalbezeiten bemerkbar machen. Allerdings konnten WITTENBRINK et al. (1988) auch im Genitale von Rindern Chlamydien nachweisen, ohne dass sich histologisch Entzündungen feststellen liessen.

SIMMERT (1999) stellte einen signifikanten Unterschied zwischen Kühen aus Betrieben mit (Positivbetrieb) und ohne Fortpflanzungsstörungen (Negativbetrieb) unter Anwendung der KBR fest. In diesen sogenannten Positivbetrieben wiesen 28,3% der untersuchten Tiere Antikörpertiter gegen Chlamydien auf, in sogenannten Negativbetrieben waren es hingegen nur 15,8% der Tiere, die positiv reagierten. Außerdem wurden bei Kühen mit Endometritis prozentual häufiger Chlamydien direkt nachgewiesen als bei Tieren ohne diese Symptome.

Der Anteil der in Nordbayern untersuchten abortierten Rinderfeten, bei denen *C. psittaci* als Ursache diagnostiziert werden konnte, lag bei 0,5% (HEIL-FRANKE et al., 1993). Bei den von SCHWEIGHARDT (1991) im Zeitraum von 1981-1988 untersuchten Feten bzw. Nachgeburtsteilen lag der Anteil *C. psittaci*-positiver-Proben bei 2,87%. Im Chemischen- und Veterinäruntersuchungsamt Stuttgart wurden in den Jahren 1996-1998 mittels STAMP-Färbung bei 0-1,4% der aufgrund von Aborten eingesendeten Feten bzw. Nachgeburtsteilen *C. psittaci* diagnostiziert, während die mittels Chlamydien-Antigen ELISA im gleichen Zeitraum untersuchten Proben zu 62-88% als positiv bewertet wurden.

Aber auch latente Darminfektionen mit Chlamydien können nach Penetration der Darmmukosa und einer biphasischen Bakteriämie Aborte auslösen. Die Nachweisrate von Chlamydien im Kot lag bei einer Untersuchung von WITTENBRINK et al. (1987) bei 20%, so dass der Verbreitung von Chlamydien durch Kot eine wichtige Bedeutung beigemessen werden kann.

Bei Chlamydien handelt es sich um plazentotrophe Bakterien (BOSTEDT, 1990), die eine Plazentitis auslösen können. Die Plazenta ist hierbei hochgradig ödematisiert und die Kotyledonen sind von gelblicher Farbe, teilweise nekrotisch oder mit fibrinösem Exsudat bedeckt. Die abortierten Feten zeigen ein subkutanes Ödem und Flüssigkeitsansammlungen in den Körperhöhlen (GERBERMANN, 1991). Die klinische Manifestation der Chlamydiose ist abhängig vom Infektionszeitpunkt während der Trächtigkeit. Bei Infektionen zu Beginn einer Trächtigkeit kommt es zu Geburten lebensschwacher Kälber. Findet die Infektion jedoch im zweiten Drittel der Trächtigkeit statt, wird meistens ein Abort ausgelöst. Späte Infektionen können aber auch nur eine Plazentitis ohne nachfolgenden Abort hervorrufen (STORZ et al., 1971). Durch Chlamydien bedingte Aborte können sowohl sporadisch als auch gehäuft auftreten. Bis >30% Aborte in einer Herde wurden hierbei beobachtet (AHLERS u. GRUNERT, 1997), wobei es sich in den meisten Fällen um Spätverkalbungen (6.–9. Trächtigkeitsmonat) handelte. Auch nach Besamungen mit Chlamydien-infiziertem Sperma konnten Endometritiden und nachfolgender Fruchttod beobachtet werden (SCHMEER, 1988).

2.2.7.1. Infektionsverlauf

Die Erregeraufnahme ist auf aerogenem, oralem, genitalem und konjunktivalem Weg möglich (HORSCH, 1980). Allerdings ist GERBERMANN (1991) der Ansicht, dass unter natürlichen Bedingungen der fäka-orale Infektionsweg die größte Bedeutung hat. Im Kot von Rindern konnten Chlamydienkonzentrationen von 10^5 bis 10^7 LD₅₀/g Kot nachgewiesen werden (SCHACHTER et al., 1975). Es wird davon ausgegangen, dass neben latenten Darminfektionen mit *C. psittaci* auch Infektionen mit *C. pecorum* auftreten (WITTENBRINK et al., 1987). Die erste Vermehrungsphase der aufgenommenen Chlamydien findet besonders in den Gefäßendothelzellen statt. Von hieraus gelangen die Chlamydien über Blut und Lymphe in die Leber und in die Mesenteriallymphknoten. Nach einem weiteren Vermehrungszyklus entsteht eine generalisierte Chlamydämie mit einer Erregermanifestation in der Milz, dem Knochenmark, der Lunge und den Geschlechtsorganen. In diesen Organen kommt es zu einer weiteren Erregervermehrung mit anschließender

zweiten Chlamydämie, bei der die Erreger in die Manifestationsorgane Euter, Lunge, Darm, Gelenke, ZNS, Plazenta und von dort aus gegebenenfalls zum Fetus gelangen (GERBERMANN, 1991). Als Eintrittspforte und ersten Vermehrungsort der Chlamydien werden einerseits intestinale Epithelzellen angesehen, was Versuche mit Polyarthritiden-Stämmen bei Kälbern nahe legten (DOUGHRI et al., 1972). Andererseits erkannten JONES und ANDERSON (1988) die Tonsillen aufgrund von Versuchen mit Abortstämmen bei tragenden Schafen als primäre Eintrittspforte.

Bei Rindern konnten akute eitrige Endometritiden durch experimentelle Infektionen ausgelöst werden, die in ein chronisches, symptomloses Stadium übergingen und vermehrtes Umrindern zur Folge hatten (WITTENBRINK et al. 1993c). Durch histologisch nachweisbare chronische Entzündungsprozesse wurde vermutlich die Nidation der Oozysten verhindert. Chlamydien als Ursache eitriger Endometritiden konnte WITTENBRINK (1991a) nachweisen, dem es gelang, aus 63 Proben eitrigem Vaginalausfluss mit Hilfe der ELISA-Technik in 44 Proben (69,8%) Chlamydien festzustellen. Auch STING und MANDL (1995) konnten bei 66% der untersuchten Genitalsekrete von Kühen eine Erregerausscheidung nachweisen, wobei 15% dieser Tiere auch Chlamydien mit der Milch ausschieden. Im Gegensatz dazu gelang THOMAS et al. (1990) bei infizierten Schafen mit dem gleichen ELISA der Nachweis von Chlamydien in nur einer von 26 Milchproben, während die Zellkultur in allen Fällen negativ ausfiel. JONES und ANDERSON (1989) versuchten ebenfalls ohne Erfolg Chlamydien aus Schafmilch in der Zellkultur anzuzüchten. Allerdings wurden die Proben vor der Kultivierung bei -70°C eingefroren. Insgesamt gesehen gibt es in der Literatur keine Hinweise auf eine potentielle Infektionsgefahr durch Chlamydien in nicht pasteurisierter Milch oder anderen Lebensmitteln.

Nach experimenteller Infektion kommt es bei Rindern sowohl nach intravenöser (LINCOLN et al., 1969) als auch nach intrauteriner Inokulation (WITTENBRINK et al., 1993c) zu einem initialen Temperaturanstieg für wenige Tage. Nach intravenöser Infektion konnten Chlamydien bis zu vier Tage aus dem Blut isoliert werden (STORZ et al., 1968), während nach intrauteriner Infektion die Chlamydien die Uterus/Blut-Schranke nicht überwinden konnten. Schwere klinische Allgemeinsymptome wurden bei erwachsenen Rindern mit Chlamydien-Infektion nicht beschrieben. Chlamydien begünstigen durch Zellzerstörung das

Angehen weiterer bakterieller Infektionen besonders in Beständen mit hohem Infektionsdruck (WITTENBRINK, 1994), so dass latente Chlamydien-Infektionen auch in akute Verläufe übergehen können. LOTTHAMMER (1992) ist daher der Meinung, dass zur Bekämpfung der bovinen Chlamydiose eine Verbesserung der Haltungsbedingungen einen entscheidenden Beitrag leistet.

Bei der Abwehr von Chlamydien-Infektionen überwiegen zelluläre Mechanismen, wobei insbesondere Makrophagen und Chlamydien-spezifische T-Lymphozyten eine wichtige Rolle spielen (ROTHERMEL et al., 1989). Die humorale Immunantwort nach einer Chlamydien-Infektion verhält sich konträr zu der einer Coxiellen-Infektion. Nach initialem Anstieg von nicht komplementbindenden IgM-Antikörpern dominieren IgG₂-Antikörper (SCHMEER et al., 1987c). Die IgG₂-Antikörper besitzen eine Zytophilie zu Monozyten und neutrophilen Granulozyten und wirken dadurch als opsonierender Faktor, der die zelluläre Immunabwehr verstärkt (McGUIRE et al. 1979). IgG₁-Antikörper ließen sich bei natürlich infizierten Rindern nur in sehr geringem Maße nachweisen, wobei allerdings bei experimentell infizierten Rindern nach induziertem Abort ein Titeranstieg für eine kurze Zeit nachweisbar ist. SCHMEER et al. (1987c) sehen in dem kurzzeitigen Anstieg der IgG₁-Antikörper nach einer akuten Infektion die Möglichkeit, akut von chronisch infizierten Rindern zu unterscheiden. Die IgG₂-Dominanz in der humoralen Abwehr bei Chlamydien-Infektionen scheint auch die Ursache für den mangelhaften Schutz vor Chlamydien-Infektionen bei Kälbern zu sein (SCHMEER et al., 1987c), da mit der Kolostralmilch überwiegend IgG₁-Antikörper auf das Kalb übertragen werden. Die mit der KBR nachweisbaren genuspezifischen IgG₁-Antikörper korrelieren allerdings nicht mit einer belastbaren Immunität (STORZ und KRAUSS, 1985; LINCOLN et al., 1969). In vitro konnten CALDWELL und SCHACHTER (1982) und LUCERO und KUO (1985) nachweisen, dass genuspezifische Antikörper gegen LPS die Vermehrung von Chlamydien nicht zu hemmen vermochten, während gegen MOMP gerichtete Antikörper die Vermehrung von Chlamydien verhinderten, aber jedoch in der Regel diagnostisch nicht erfaßt werden.

2.2.7.2. Diagnostik

Wie bei Coxiellen-Infektionen können auch bei Chlamydien-Infektionen klinische Symptome nur Anhaltspunkte für eine Diagnose geben. Eine Verdachtsdiagnose kann somit nur mit Hilfe labordiagnostischer Verfahren abgesichert werden.

Der **direkte Erregernachweis** ist mikroskopisch nach Anfärbung von Abstrichpräparaten nach STAMP, GIEMSA oder GIMENEZ möglich. Auch hier ist eine hohe Erregerdichte ($>10^6/g$) notwendig. Weiterhin können die Einschlußkörperchen mit Hilfe immunfluoreszenzserologischer Methoden unter Verwendung kommerziell erhältlicher Konjugate (IMAGEN[®], Fa. DAKO) nachgewiesen werden. Die Zellkultur hingegen ist eine aufwendige Methode des Erregernachweises, deren Sensitivität mit 31,6% im Vergleich zur Brutei-Technik (WITTENBRINK et al., 1993a) als relativ niedrig einzuordnen ist. Der Vorteil der Erregeranzucht besteht vor allem darin, die Erreger anschließend weiter klassifizieren zu können. Allerdings ist die Zellkultur sehr empfindlich gegenüber bakteriellen Kontaminationen, wie sie in Nachgeburtspuren häufig auftreten, so dass eine besondere Behandlung des Probenmaterials notwendig wird (HENNING und STING, 1999). Mit der Capture-ELISA-Technik steht eine in der Durchführung einfache und schnelle Methode zur Verfügung, die es ermöglicht, auch ein großes Probenaufkommen schnell bearbeiten zu können. Der kommerziell erhältliche IDEIA[®] Test der Fa. DAKO, der für humanmedizinische Zwecke für den Nachweis von *C. trachomatis* entwickelt wurde, hat sich aufgrund des Nachweises genusspezifischer Antigene auch für veterinärmedizinische Zwecke als ausreichend spezifisch und sensitiv erwiesen (SOURIAU und RODOLAKIS, 1986; WILLS et al. 1986; WITTENBRINK, 1991a; GERBERMANN, 1997). Die Nachweisgrenze liegt bei ca. 2000 Chlamydienpartikeln/ml. Eine vergleichbare Sensitivität zeigte ein Latex-Test der Fa. Unipath (STING und MANDL, 1995). Mit Entwicklung der PCR konnte auch in der Chlamydiendiagnostik die Nachweisgrenze weiter gesenkt werden (THIELE et al., 1992; HEWINSON et al., 1991).

Der **indirekte Erregernachweis** ist durch den Nachweis spezifischer Antikörper möglich. Routinemäßig wird die KBR angewendet, mit der komplementbindende Antikörper nachgewiesen werden. Hierbei stehen IgG₁-

Antikörper im Vordergrund, die nach akuten, klinisch manifesten Chlamydien-Infektionen, wie z.B. Aborten, gebildet werden können. Die dominierenden IgG2-Antikörper, die vorallem auch bei latenten oder chronischen Chlamydien-Infektionen gebildet werden, lassen sich mittels ELISA nachweisen, der der KBR an Sensitivität, Spezifität und Praktikabilität überlegen ist. Diagnostisch beweisend für eine Infektion des Einzeltieres ist auch hier ein Titeranstieg von Serumpaaren. Ein negativer Chlamydientiter schließt jedoch eine Infektion nicht aus.

2.2.7.3. Bekämpfung und Therapie

Die Bekämpfung und Therapie der bovinen Chlamydiose gestaltet sich schwierig. Für die antibiotische Therapie werden Tetrazykline empfohlen. Aufgrund der intrazellulären Lokalisation des Erregers muss aber bei den Chlamydien damit gerechnet werden, dass eine vollständige Elimination des Erregers selten gelingt. Da auch eine belastbare Immunität bisher nicht sicher nachgewiesen wurde, muss stets mit der Möglichkeit einer Reinfektion gerechnet werden. Über die Wirksamkeit des Kombinationsimpfstoffes Aborstop[®] F.Q. der Fa. Rhone-Merieux/ Albrecht in Hinblick auf Chlamydien-Infektionen bei Rindern ist wenig bekannt. Da eine Optimierung der Haltungsbedingungen eine Verbesserung der allgemeinen Immunabwehr mit sich führt, sollte diese in jedem Fall eine Therapie begleiten.