

4. Ergebnisse

4.1. Auswertungen der Untersuchungen von Humanblutproben

4.1.1. Untersuchungen auf IgG Phase 2-Antikörper gegen *C. burnetii* mittels ELISA

Untersucht wurden Serumproben von insgesamt 262 Landwirten und deren Angehörigen aus 105 Betrieben auf IgG-Antikörper gegen *C. burnetii* der Phase 2 mit Hilfe der ELISA-Technik. Von diesen untersuchten Personen ergaben sich bei 29 Personen positive Ergebnisse mit Antikörperspiegeln von 20 U/ml bis 480 U/ml. 13 Seren wurden als grenzwertig beurteilt. Seren von 96 Personen, die als städtische Kontrollgruppe dienten, wurden ebenfalls mit diesem Test untersucht. Diese Personen wohnen in Freiburg, arbeiten im öffentlichen Dienst und waren zum Zeitpunkt der Blutabnahme gesund. In dieser Gruppe wiesen vier Seren mit 30-40 U/ml positiv zu bewertende IgG-Antikörperspiegel gegen *C. burnetii* der Phase 2 auf. Keines der Seren ergab ein grenzwertiges Ergebnis (Tabelle 4.1.).

<i>C. burnetii</i> Phase 2-AK-ELISA	Landwirte	Städter
positiv	29	4
grenzwertig	13	0
negativ	220	92

Erreger und Untersuchungsmethode	Zahl der Landwirte mit positiven oder grenzwertigen Antikörperspiegel von 262	Zahl der Städter mit positiven oder grenzwertigen Antikörperspiegel von 96	Odds-Ratio (OR)	p-Wert	Statistische Bewertung
<i>C. burnetii</i> IgG 2-Antikörper-ELISA	42 (16%)	4 (4%)	4,39	0,0029	signifikant

Tabelle 4.1.: Vergleichende Untersuchungen mittels ELISA zum Nachweis von IgG-Antikörpern gegen *C. burnetii* der Phase 2 bei Landwirten und Städtern sowie deren statistische Bewertung.

Der Vergleich zwischen der Gruppe der Landwirte und der städtischen Kontrollgruppe ergab einen p-Wert von 0,0029 und damit einen signifikanten Unterschied beider Gruppen (Tabelle 4.1.).

4.1.2. Untersuchung auf IgG-Antikörper gegen Chlamydien mittels ELISA

Aus der Gruppe der Landwirte wiesen 105 Personen im Chlamydien-Antikörper-ELISA Titerstufen auf. Von diesen wurden 100 als positiv und 5 als grenzwertig beurteilt. Untersuchungen von 96 Seren der städtischen Kontrollgruppe ergaben bei insgesamt 47 positive Ergebnisse. Keines der Seren wurde als grenzwertig beurteilt.

Chlamydien-AK-ELISA	Landwirte	Städter
positiv	100	47
grenzwertig	5	0
negativ	157	49

Erreger und Untersuchungsmethode	Zahl der Landwirte mit positiven oder grenzwertigen Antikörperspiegeln von 262	Zahl der Städter mit positiven oder grenzwertigen Antikörperspiegeln von 96	Odds-Ratio (OR)	p-Wert	statistische Bewertung
IgG-Antikörper gegen Chlamydien mittels ELISA	105 (40%)	47 (48,9%)	0,7 (0,42-1,15)	0,7	nicht signifikant

Tabelle 4.2.: Vergleichende Untersuchungen mittels ELISA zum Nachweis von IgG-Antikörpern gegen Chlamydien mittels ELISA bei Landwirten und Städtern sowie deren statistische Bewertung.

Der Vergleich zwischen der Gruppe der Landwirte und der städtischen Kontrollgruppe ergibt einen p-Wert von 0,7. Der Unterschied beider Gruppen ist somit als nicht signifikant zu beurteilen (Tabelle 4.2.).

4.1.3. Differenzierung von Antikörpern gegen verschiedene *Chlamydia*-Spezies mittels Immunfluoreszenstest

Mit Hilfe der Immunfluoreszenztechnik konnten die im IgG-Antikörper-ELISA positiv beurteilten Seren weiter differenziert werden. 95 der insgesamt 105 im ELISA positiven bzw. grenzwertigen Seren von Landwirten wiesen Antikörper gegen *C. pneumoniae* auf, 18 Personen hatten Antikörper gegen

C. trachomatis und 10 Personen Antikörper gegen *C. psittaci*. In der Kontrollgruppe wiesen von den 47 seropositiven Personen 42 Antikörper gegen *C. pneumoniae*, 12 Antikörper gegen *C. trachomatis* und 2 Personen Antikörper gegen *C. psittaci* auf. In beiden Gruppen konnten bei 18 Personen gleichzeitig Antikörper gegen mehrere Chlamydien-Arten nachgewiesen werden.

<i>Chlamydia-Species</i>	Landwirte	Städter
<i>C. pneumoniae</i>	95	42
<i>C. trachomatis</i>	18	12
<i>C. psittaci</i>	10	2

Tabelle 4.3.: Differenzierung von Antikörpern gegen verschiedene *Chlamydia*-Spezies mit Hilfe der Immunfluoreszenztechnik bei Landwirten und Städtern, die im genusspezifischen Chlamydien-IgG-Antikörper-ELISA positiv reagierten.

Der statistische Vergleich der *C. psittaci*-positiven Personen aus der Gruppe der Landwirte und der Gruppe der städtischen Kontrollgruppe ergab keinen signifikanten Unterschied (p-Wert 0,42).

4.2. Untersuchungen von Rinderserum- und Zervixtupferproben auf *C. burnetii* und Chlamydien

4.2.1. Ergebnisse der Vorversuche für den *C. burnetii*-Antikörper-ELISA des CVUA Stuttgart

Mit Hilfe der Erstellung von Verdünnungsstufen (Titration) konnte die optimale Serumverdünnung für den *C. burnetii*-Antikörper-ELISA ermittelt werden. Eingesetzt wurden für diesen Versuch Seren, deren KBR-Titer zuvor bestimmt worden war. Um eine möglichst hohe Empfindlichkeit des ELISA zu erzielen, wurde für die folgenden Versuche die Verdünnungsstufe (1:100) gewählt, mit der die höchste Differenz zwischen der Nettoextinktion der positiven Seren und des Negativkontrollserums erreicht werden konnte. Die Nettoextinktionen geben

hierbei die Differenz der OD-Werte der Seren in der mit *C. burnetii*-Antigen und -Kontrollantigen beschichteten Kavität wieder.

Verdün- nungstufe	Nettoextinktionen				
	KBR-Titer 1:20	KBR-Titer 1:20	KBR-Titer >1:40	Positiv- kontrolle	Negativ- kontrolle
1:100	1,802	2,041	2,002	2,262	0,017
1:200	1,659	1,911	1,936	2,031	0,012
1:400	1,566	1,809	1,941	1,930	0,009

Tabelle 4.4.: Serumtitrationen KBR-positiver Seren, der Positiv- und Negativkontrollseren im *Coxiella burnetii*-Antikörper-ELISA.

(Werte geben Nettoextinktionen der OD-Werte gemessen bei 405 nm an)

In einem weiteren Versuch wurde für die Verdünnungsstufe der Seren von 1:100 die optimale Tweenkonzentration im Proben- und Konjugatpuffer ausgetestet. Während ein Anstieg der Tweenkonzentration einen deutlichen Abfall der OD-Werte positiver Seren in den mit Coxiellen-Antigen beschichteten Kavitäten bewirkte, sanken die entsprechenden OD-Werte der mit Coxiellen-Kontrollantigen beschichteten Kavitäten nur geringfügig. Um eine möglichst hohe Differenz zwischen den Nettoextinktionen der positiven Seren und der Negativkontrolle zu erreichen, wurde für die weiteren Versuche eine Konzentration von 0,05 % Tween im Proben- und Konjugatpuffer verwendet.

	Nettoextinktionen				
Tween-Konzentration	KBR-Titer 1:20	KBR-Titer 1:20	KBR-Titer >1:40	Positivkontrollserum	Negativkontrollserum
0,05%	2,457	1,895	2,376	1,835	0,017
0,1%	2,206	1,500	2,204	1,482	0,012
0,2%	1,918	1,358	2,108	1,380	0,007

Tabelle 4.5.: Vergleichende Untersuchungen KBR-positiver Seren, der Positiv- und Negativkontrolle bei steigender Tweenkonzentration im Proben- und Konjugatpuffer für den *C. burnetii*-Antikörper-ELISA. (Werte geben Nettoextinktionen der OD-Werte gemessen bei 405 nm an)

4.2.2. Ergebnisse der Vorversuche für den *C. burnetii*-Antigen-ELISA

4.2.2.1. Abhängigkeit unspezifischer Reaktionen von einem Proteinase K-Verdau der Proben

Bakterien, die Protein G oder A bilden, können durch Bindung des Fc-Rezeptors der Antikörper unspezifische Reaktionen in ELISA-Tests hervorrufen. In Anlehnung an SIMMERT (1999) wurde deshalb der Einfluss des Protein A-bindenden *S. aureus*-Stammes Cowan I und des Protein G-bindenden, α -hämolyisierenden *S. dysgalactiae*-Stammes 9 auf unspezifische Reaktionen ohne und nach Proteinase K-Verdau untersucht. Ohne Proteinase K-Verdau kam es trotz Verwendung des monoklonalen Konjugates zu starken unspezifischen Reaktionen (siehe Tabelle 4.6.) Durch Proteinase K-Verdau konnten diese unspezifischen Reaktionen eliminiert werden.

Darüber hinaus wurden die Keimsuspensionen in zwei verschiedenen Probenmedien eingesetzt. Hierbei zeigte sich, dass der Nachweis von *C. burnetii*-Antigen im Transportmedium der Fa. Dako nicht möglich ist.

	<i>S. dysgalactiae</i>		Cowan I		Kontrollen	
	mit PK	ohne PK	mit PK	ohne PK	positiv	negativ
Proben- puffer r-biopharm	0,034	0,122	0,043	3,221	3,336	0,036
Transport- medium- Dako	0,090	0,005	0,090	0,019	0,007	0,006

Tabelle 4.6.: Austestung des Einflusses der Behandlung verschiedener Bakterien-Spezies mit Proteinase K zur Eliminierung unspezifischer Reaktionen im *C. burnetii*-Antigen-ELISA.

(Werte geben OD-Werte gemessen bei 450 nm an)

4.2.2.2. Vergleich verschiedener Inkubationsbedingungen der Proben unter Verwendung unterschiedlicher Probenmedien

Unter den sieben getesteten Methoden unterschiedlicher Probeninkubationen (siehe Kapitel 3.3.2.) konnten mit Hilfe der Methode VII (Inkubation über Nacht bei 37°C, 1 h Konjugatinkubation bei Raumtemperatur) die höchsten Indexwerte für die eingesetzten Coxiellen-Suspensionen und die Positivkontrolle bei gleichbleibend niedrigen Werten für die Negativkontrolle erzielt werden.

Als Probenmedium für die Zervixtupferproben ist der von der Fa. r-biopharm zur Verfügung gestellte Probenverdünnungspuffer am besten geeignet. Während die Proben in PBS nahezu vergleichbare Ergebnisse zeigten, erwies sich das Transportmedium der Fa. DAKO für den Nachweis von *C. burnetii*-Antigen in dem verwendeten Test als ungeeignet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4.7. dargestellt.

Verdünnung	M I	M II	M III	M IV	M V	M VI	M VII
1:8 in PBS	0,568	0,645	1,149	1,49	0,682	1,625	2,670
1:16 in PBS	0,422	0,434	0,650	0,9	0,956	1,031	2,040
1:8 in Probenverd.- Puffer der Fa. r-biopharm	1,095	1,540	1,517	1,520	0,674	2,120	2,920
1:16 in Probenverd.-Puffer der Fa. r-biopharm	0,683	0,954	0,940	2,276	1,208	1,280	2,320
1:8 in Transport medium der Fa. DAKO	0,070	0,015	0,269	0,298	0,490	0,850	0,347
1:16 in Transportmedium der Fa. DAKO-	0,014	0,014	0,090	0,115	0,980	0,267	0,127
Positivkontrolle	1,753	2,340	1,120	1,268	1,262	1,797	2,430
Negativkontrolle	0,020	0,014	0,050	0,030	0,038	0,025	0,040

Tabelle 4.7.: Verschiedene Probeninkubationsbedingungen unter Verwendung unterschiedlicher Probenmedien für den *C. burnetii*-Antigen-ELISA.

(Werte geben OD-Werte gemessen bei 450 nm an)

4.2.2.3. Bestimmung der Nachweisempfindlichkeit des *C. burnetii*-Antigen-ELISA

Mit Hilfe der bei 420 nm gemessenen Extinktionen der von Herrn Dr. Hennig zur Verfügung gestellten *C. burnetii*-Suspension in einer Verdünnung von 1:100 berechnete sich die hierin enthaltenen Coxiellenmenge wie folgt (siehe Bestimmung der Sensitivitätsgrenze des *C. burnetii*-Antigen-ELISA in Kapitel 3.3.2.):

$$0,025 \times 10,02 + 0,07715 = 0,32764 \times 10^7 \text{ Coxiellen}/\mu\text{l}$$

Für die Ausgangssuspension ergab sich demnach ein Coxiellen-Gehalt von $3,3 \times 10^6/\mu\text{l}$. Mit Hilfe einer Titration dieser Coxiellen-Suspension in Verdünnungsstufen von 1:100 bis 1:25.600 konnte unter Berücksichtigung der eingesetzten Coxiellenmenge und des Cut-off-value eine Nachweisempfindlichkeit von 200.000 Coxiellenpartikeln für den *C. burnetii*-Antigen-ELISA ermittelt werden.

Die Negativkontrolle erreichte bei diesem Ansatz einen OD-Wert von 0,060, so dass sich ein Cut-off-value von 0,180 für grenzwertig und ein Cut-off-value von 0,240 für positiv zu beurteilende Ergebnisse festgelegt wurde.

<i>C. burnetii</i> -Verdünnung	Indexwert	Bewertung
1:100	2,999	positiv
1:200	2,811	positiv
1:400	2,502	positiv
1:800	0,684	positiv
1:1600	0,252	positiv
1:3200	0,124	negativ
1:6400	0,092	negativ
1:12800	0,069	negativ
1:25600	0,065	negativ

Tabelle 4.8.: Bestimmung der Nachweisempfindlichkeit des *C. burnetii*-Antigen-ELISA durch Titration einer Coxiellen-Suspension.

(Werte geben OD-Werte gemessen bei 450nm an)

4.2.3. Ergebnisse der Vorversuche für den Chlamydien-Antikörper-ELISA des CVUA Stuttgart

Mit Hilfe der Erstellung von Verdünnungsstufen (Titration) wurde die optimale Serumverdünnung für den Chlamydien-Antikörper-ELISA ermittelt. Eingesetzt wurden für diesen Versuch Seren, deren KBR-Titer zuvor bestimmt worden waren. Während in der Verdünnungsstufe 1:100 die OD-Werte in den mit Kontrollantigen beschichteten Kavitäten Werte von $>0,200$ erreichten, sanken in der Verdünnungsstufe von 1:400 die Nettoextinktionen der KBR-positiven Seren teilweise deutlich. Um eine möglichst hohe Sensitivität bei gleichzeitig niedriger Hintergrundreaktion zu erreichen, wurde für die folgenden Versuche die Verdünnungsstufe von 1:200 und eine Tweenkonzentration von 0,2% gewählt.

		Tweenkonzentration		
KBR-Titer		0,05%	0,1%	0,2%
1:10	1:100	0,644	0,433	0,451
	1:200	0,779	0,679	0,521
	1:400	0,461	0,451	0,449
1:20	1:100	0,743	0,599	0,433
	1:200	0,939	0,791	0,733
	1:400	0,578	0,525	0,378
1:20	1:100	0,721	0,523	0,442
	1:200	0,844	0,627	0,518
	1:400	0,600	0,439	0,492
Positiv- kontrolle	1:100	0,798	0,762	0,631
	1:200	0,818	0,816	0,642
	1:400	0,906	0,799	0,682
Negativ- kontrolle	1:100	0,050	0,049	0,032
	1:200	0,031	0,032	0,017
	1:400	0,028	0,021	0,010

Tabelle 4.9.: Vergleich verschiedener Serumverdünnungen und Tweenkonzentrationen im Proben- und Konjugatpuffer bei Einsatz für den Chlamydien-Antikörper-ELISA des CVUA Stuttgart.

(Werte geben Nettoextinktionen gemessen bei 405 nm)

4.2.4. Ergebnisse der Vorversuche für den Chlamydien-Antikörper-ELISA der BFAV Wusterhausen

Ziel dieser Vorversuche war es, den Einsatz einer Kombination von Anti-Rind-Antikörper-/Anti-Maus-Konjugat der Fa. Sigma bei den Serumverdünnungsstufen 1:200, 1:400 und 1:800 mit einem monoklonalen Anti-Rind-Konjugat der Fa. Bommeli bei gleichen Serumverdünnungen zu vergleichen. Der Einsatz des Anti-Rind-Konjugates der Fa. Bommeli führt aufgrund einer Verkürzung der Inkubationszeiten im Vergleich zu Einsatz der Kombination von Anti-Rind-Antikörper/Anti-Maus-Konjugates zu einer vereinfachten Handhabung im Routineeinsatz geführt. Die Nettoextinktionen sowohl der Positivkontrolle als auch der Seren mit KBR-Titerstufen fielen jedoch bei Verwendung dieses Anti-Rind-Konjugates schon bei einer Verdünnung von 1:200 unterhalb eines Nettoextinktionswertes von 0,5 (Tabelle 4.10.). Bei Einsatz der Kombination von monoklonalem Anti-Rind-IgG-Antikörper und Anti-Maus-IgG-Peroxidase-Konjugat (Sigma) konnten in der Verdünnungsstufe 1:200 gute Ergebnisse erzielt werden (Tabelle 4.11.). Bei einer Verdünnungsstufe von 1:400 zeigten allerdings sowohl die Seren mit KBR-Titerstufen als auch die Positivkontrolle einen deutlichen Abfall der Nettoextinktionen unterhalb von 0,5. Daher wurde der ELISA für die weiteren Versuche mit der Kombination von monoklonalen Anti-Rind-IgG-Antikörper und Anti-Maus-IgG-Peroxidase-Konjugat bei einer Serumverdünnung von 1:200 durchgeführt.

Serumverdün- nung	KBR-Titer 1:10	KBR-Titer 1:10	ohne KBR- Titer	Positiv- kontrolle	Negativ- kontrolle
1:200	0,787	0,397	0,234	0,481	0,044
1:400	0,123	0,041	0,098	0,079	0,021
1:800	0,05	0,025	0,04	0,033	0,016

Tabelle 4.10.: Einsatz des Konjugates der Fa. Bommeli bei verschiedenen Serumverdünnungsstufen im Chlamydien-Antikörper-ELISA der BFAV Wusterhausen.

(Werte geben Nettoextinktionen gemessen bei 450 nm an)

Verdünnungsstufe	KBR-Titer 1:10	KBR-Titer 1:10	ohne KBR-Titer	Positivkontrolle	Negativkontrolle
1:200	0,965	0,914	0,25	1,188	0,062
1:400	0,361	0,385	0,121	0,326	0,072
1:800	0,24	0,223	0,06	0,189	0,023

Tabelle 4.11.: Einsatz von Anti-Rind-Antikörper/Anti-Maus-Konjugat der Fa. Sigma bei verschiedener Serumverdünnungsstufen im Chlamydien-ELISA der BFAV Wusterhausen.

(Werte geben Nettoextinktionen gemessen bei 450 nm an)

4.3. Vergleich von ELISA Testsystemen zum Nachweis von Coxiellen- und Chlamydien-Infektionen beim Rind

4.3.1. *Coxiella burnetii*

4.3.1.1. Vergleich des *C. burnetii*-Antikörper-ELISA des CVUA Stuttgart mit der KBR

In vergleichenden Untersuchungen der KBR mit dem *C. burnetii*-Antikörper-ELISA des CVUA Stuttgart reagierten 108 der insgesamt 1167 untersuchten Seren übereinstimmend positiv. Darüberhinaus erkannte der ELISA weitere 133 seropositive Reagenten, die sich in der KBR hingegen als negativ erwiesen. Dem entgegen reagierten 26 Seren, die in der KBR ein positives Ergebnis zeigten, im ELISA negativ. Dies ergibt mit einem Kappa-Wert von 0,503 eine als deutlich zu bewertende Übereinstimmung beider Methoden.

<i>C. burnetii</i> -KBR	<i>C. burnetii</i> -Antikörper-ELISA	
	positiv	negativ
positiv	108	26
negativ	133	900

Tabelle 4.12.: Vergleich der KBR mit dem *C. burnetii*-Antikörper-ELISA des CVUA Stuttgart.

Eine weitergehende Aufgliederung KBR-positiver Seren nach der Höhe der erzielten Endtiterstufen zeigt einen deutlichen Zusammenhang zwischen Höhe der Endtiterstufe und positiven Reaktionen im ELISA. Mit steigender Endtiterstufe nimmt die Anzahl im ELISA ebenfalls positiver Seren deutlich zu.

KBR-Endtiterstufe	Anzahl KBR positiver Seren	davon positiv im ELISA
10	25	15 (60%)
20	75	61 (81%)
40	34	32 (94%)

Tabelle 4.13.: Anzahl im *C.burnetii*-Antikörper-ELISA positiver Seren in Abhängigkeit von KBR-Endtiterstufen

4.3.1.2. Zusammenhänge zwischen in der KBR nachweisbaren Antikörpern gegen *C.burnetii* und einer Ausscheidung des Erregers über das Genitale

Der Vergleich des Nachweises von Antikörpern gegen *C. burnetii* mittels KBR und der *C. burnetii*-Ausscheidung über das Genitale unter Anwendung des *C. burnetii*-Antigen-ELISA erbrachte bei 1138 untersuchten Rindern nur bei einem Tier ein übereinstimmend positives Ergebnis. Weitere 19 Tiere, bei denen eine Coxiellen-Ausscheidung nachgewiesen werden konnte, zeigten keine nachweisbaren KBR-Titer. Diesen Ergebnissen standen 128 Tiere entgegen, bei denen trotz positiver Reaktion in der KBR keine Ausscheidung von

C. burnetii über das Genitale festzustellen war. Die Untersuchung auf Übereinstimmung beider Methoden ergab einen Kappa-Wert von -0,018, der keinerlei Übereinstimmung der Ergebnisse beider verwendeten Testsysteme angibt.

	<i>C. burnetii</i> -KBR	
<i>C. burnetii</i> -Antigen-ELISA	positiv	negativ
positiv	1	19
negativ	128	990

Tabelle 4.14.: Vergleich der *C. burnetii*-KBR mit dem *C. burnetii*-Antigen-ELISA.

4.3.1.3. Zusammenhänge zwischen im *C. burnetii*-Antikörper-ELISA des CVUA-Stuttgart nachweisbaren Antikörpern und einer Ausscheidung des Erregers über das Genitale

Der Vergleich von insgesamt 1138 Serum- und Zervixtupferproben zeigte, dass lediglich bei 3 Tieren gleichzeitig Antikörper gegen *C. burnetii* und eine Coxiellen-Ausscheidung über das Genitale nachgewiesen werden konnte. Bei weiteren 17 Tieren wurde eine Ausscheidung von Coxiellen nachgewiesen, ohne dass Antikörper im ELISA festgestellt werden konnten. Im Gegensatz hierzu reagierten 231 Tiere im Antikörper-ELISA positiv, ohne eine nachweisbare Coxiellen-Ausscheidung über das Genitale. Der Kappa-Wert beträgt -0,009, so dass keinerlei Übereinstimmung beider verwendeten Methoden nachweisbar ist.

	<i>C. burnetii</i> -Antikörper-ELISA	
<i>C. burnetii</i> -Antigen-ELISA	positiv	negativ
positiv	3	17
negativ	231	887

Tabelle 4.15.: Vergleich des *C. burnetii*-Antikörper-ELISA mit dem *C. burnetii*-Antigen-ELISA.

4.3.2. Chlamydien

4.3.2.1. Vergleich des Chlamydien-Antikörper-ELISA des CVUA Stuttgart mit der KBR

Insgesamt wurden 1167 Seren mit der Chlamydien-KBR und dem Chlamydien-Antikörper-ELISA des CVUA Stuttgart vergleichend untersucht. In beiden Testsystemen übereinstimmend positive Ergebnisse zeigten insgesamt 27 Seren. Darüberhinaus wurden 266 KBR-negative Seren im ELISA des CVUA Stuttgart als positiv erkannt. Dem entgegen reagierten 9 Seren, die in der KBR positive, im ELISA jedoch negative Reaktionen zeigten. Mit einem Kappa-Wert von 0,116 ist die Übereinstimmung beider Testsysteme nur als schwach zu beurteilen.

	Chlamydien-Antikörper-ELISA des CVUA Stuttgart	
Chlamydien-KBR	positiv	negativ
positiv	27	9
negativ	266	865

Tabelle 4.16.: Vergleich des Chlamydien-Antikörper-ELISA des CVUA Stuttgart mit der KBR.

4.3.2.2. Vergleich des Chlamydien-Antikörper-ELISA der BFAV Wusterhausen mit der KBR

Im Rahmen dieser Untersuchungen wurden insgesamt 1151 Seren auf Antikörper gegen Chlamydien getestet. Im ELISA der BFAV Wusterhausen reagierten 253 Seren positiv. Von den 36 in der KBR positiven Seren reagierten im ELISA 25 ebenfalls positiv und, abweichend von der KBR, 11 negativ. Der Kappa-Wert von 0,125 bestätigt auch hier nur eine schwache Übereinstimmung beider Testsysteme.

Chlamydien-Antikörper-ELISA der BFAV Wusterhausen		
Chlamydien-KBR	positiv	negativ
positiv	25	11
negativ	228	887

Tabelle 4.17.: Vergleich des Chlamydien-Antikörper-ELISA der BFAV Wusterhausen mit der KBR.

4.3.2.3. Vergleich des kommerziell erhältlichen Chlamydien-ELISA der Fa. Bommeli mit der KBR

Für diese Untersuchungen standen insgesamt 1151 Serumproben zur Verfügung. Der Chlamydien-Antikörper-ELISA der Fa. Bommeli erkannte 254 der 1151 untersuchten Seren als positiv. Von den 36 in der KBR als positiv zu bewertenden Seren reagierten im ELISA 28 Seren ebenfalls positiv, 8 hingegen negativ. Beide Methoden stimmen mit einem Kappa-Wert von 0,146 ebenfalls nur schwach überein.

Chlamydien-Antikörper-ELISA der Fa. Bommeli		
Chlamydien-KBR	positiv	negativ
positiv	28	8
negativ	226	889

Tabelle 4.18.: Vergleich des Chlamydien-Antikörper-ELISA der Fa. Bommeli mit der KBR.

4.3.2.4. Vergleich der Ergebnisse der verschiedenen Chlamydien-Antikörper-ELISA und den in der KBR erzielten Endtiterstufen

Eine Aufgliederung der in der KBR positiven Seren unter Berücksichtigung der KBR-Endtiterstufen zeigt, dass mit steigenden Endtiterstufen die Anzahl positiver Seren aller drei ELISA-Testsysteme deutlich zunimmt.

KBR-Endtiterstufe	Anzahl KBR positiver Seren	davon im ELISA des CVUA Stuttgart erkannt	davon im ELISA der BFAV Wusterhausen erkannt	davon im ELISA der Fa. Bommeli erkannt
1:10	17	11 (64%)	11 (64%)	13 (76%)
1:20	18	15 (83%)	13 (72%)	14 (77%)
1:40	1	1 (100%)	1 (100%)	1 (100%)

Tabelle 4.19.: Zusammenhänge zwischen Ergebnissen verschiedener Chlamydien-Antikörper-ELISA-Tests und KBR-Endtiterstufen.

4.3.2.5. Vergleich der drei verwendeten Chlamydien-Antikörper-ELISA untereinander

Ein Vergleich des Chlamydien-Antikörper-ELISA des CVUA Stuttgart mit dem in der BFAV Wusterhausen entwickelten ELISA-Test ergab bei 168 Seren ein übereinstimmend positive Ergebnisse. Der ELISA des CVUA Stuttgart bewertete allerdings weitere 121 Seren als positiv, die im ELISA der BFAV Wusterhausen negativ reagierten. Der zuletzt genannte ELISA zeigte jedoch bei 85 Seren, die im ELISA des CVUA Stuttgart keine Reaktion aufwiesen, positive Ergebnisse, so dass sich insgesamt mit einem Kappa-Wert von 0,504 eine deutliche Übereinstimmung beider ELISA-Testsysteme ergibt.

Chlamydien-Antikörper-ELISA der BFAV Wusterhausen	Chlamydien-Antikörper-ELISA des CVUA Stuttgart	
	positiv	negativ
positiv	168	85
negativ	121	777

Tabelle 4.20.: Vergleich des Chlamydien-Antikörper-ELISA des CVUA Stuttgart mit dem der BFAV Wusterhausen.

Im selbsthergestellten Chlamydien-Antikörper-ELISA des CVUA Stuttgart und im kommerziell erhältlichen ELISA der Fa. Bommeli reagierten 160 Seren übereinstimmend positiv. Im ELISA des CVUA Stuttgart wurden darüber hinaus 129 Seren als positiv erkannt, im ELISA der Fa. Bommeli 94 Seren. Der Kappa-Wert beträgt 0,463, somit ist die Übereinstimmung dieser ELISA-Testsysteme als deutlich zu bewerten.

Chlamydien-Antikörper-ELISA der Fa. Bommeli	Chlamydien-Antikörper-ELISA des CVUA Stuttgart	
	positiv	negativ
positiv	160	94
negativ	129	769

Tabelle 4.21.: Vergleich des Chlamydien-Antikörper-ELISA des CVUA Stuttgart mit dem der Fa. Bommeli.

Ein Vergleich des kommerziellen ELISA der Fa. Bommeli und dem ELISA der BFAV Wusterhausen ergab bei 131 Seren übereinstimmend positive Ergebnisse. Während im ELISA der Fa. Bommeli 123 Seren positiv reagierten, die im ELISA der BFAV Wusterhausen als negativ bewertet wurden, zeigten 122 Seren im letzteren ELISA positive Ergebnisse, die der ELISA der Fa. Bommeli nicht bestätigen konnte. Ein Vergleich beider ELISA-Testsysteme ergibt mit einem Kappa-Wert von 0,38 eine schwache Übereinstimmung.

	Chlamydien-Antikörper-ELISA der Fa. Bommeli	
Chlamydien-Antikörper-ELISA der BFAV Wusterhausen	positiv	negativ
positiv	131	122
negativ	123	776

Tabelle 4.22.: Vergleich des Chlamydien-Antikörper-ELISA der Fa. Bommeli mit dem der BFAV Wusterhausen.

Die zuvor aufgeführten Tabellen (4.20- 4.22.) zeigen, dass die Anzahl der als positiv erkannten Seren der einzelnen Testsysteme vergleichbar ist

4.3.2.6. Vergleich der Indexwerte der verwendeten Antikörper-ELISA-Testsysteme

Für einen Vergleich der erzielten Indexwerte der zuvor genannten Chlamydien-Antikörper-ELISA wurden diese Indexklassen zugeordnet und gegen die entsprechende Anzahl der Seren aufgetragen. Die erstellte Grafik zeigte für alle drei ELISA-Tests einen ähnlichen Kurvenverlauf (Abbildung 3.).

Vergleich der Indexwerte

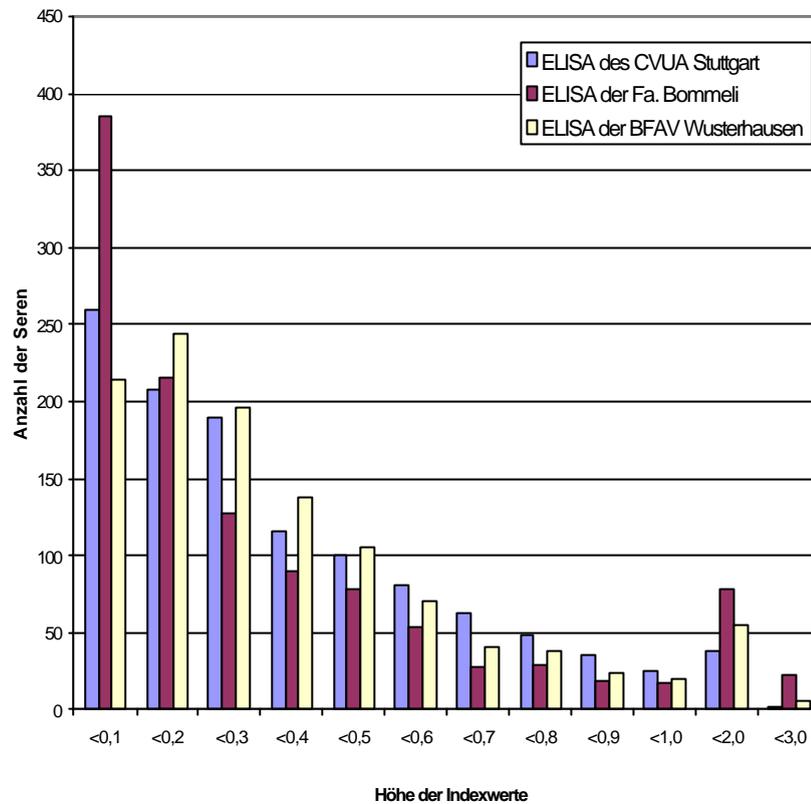


Abbildung 3.: Zuordnung der in den verwendeten Chlamydien-Antikörper-ELISA-Testsystemen erzielten Indexwerten zu definierten Indexklassen.

4.3.2.7. Zusammenhänge zwischen in der KBR nachweisbaren Antikörpern gegen Chlamydien und der Ausscheidung dieser Erreger über das Genitale

Vergleichende Untersuchungen zwischen der Bildung von KBR-Antikörpern gegen Chlamydien und der Ausscheidung dieses Erregers über das Genitale wurden mit Hilfe von insgesamt 1138 Proben durchgeführt. Während 13 Rinder sowohl in der KBR Antikörper gegen Chlamydien als auch Ausscheidungen dieser Erreger über das Genitale aufwiesen, zeigten 338 Tiere Chlamydien-Ausscheidungen ohne serologisch positive Ergebnisse. Weitere 18 Tiere, die in der KBR Antikörper gegen Chlamydien aufwiesen, schieden allerdings zum Zeitpunkt der Probennahme keine Chlamydien über das Genitale aus. Es besteht somit bei einem Kappa-Wert von 0,019 keine Übereinstimmung beider Testsysteme.

Chlamydien-Antigen-ELISA	Chlamydien-KBR	
	positiv	negativ
positiv	13	338
negativ	18	769

Tabelle 4.23.: Vergleich der Chlamydien-KBR mit dem Chlamydien-Antigen-ELISA.

4.3.2.8. Zusammenhänge zwischen im ELISA des CVUA Stuttgart nachweisbaren Antikörpern gegen Chlamydien und der Ausscheidung dieser Erreger über das Genitale

Im Rahmen der Untersuchung von 1138 Rindern auf Antikörper gegen Chlamydien mittels des ELISA des CVUA Stuttgart und der Ausscheidung von Chlamydien über das Genitale mittels Antigen-ELISA wurden bei 102 Tieren Antikörper bei gleichzeitiger Erregerausscheidung nachgewiesen. Während 183 Rinder zum Zeitpunkt der Probennahme ausschließlich Antikörper gegen Chlamydien aufwiesen, zeigten 249 Tiere eine Erregerausscheidung über das Genitale ohne positive Ergebnisse im Antikörper-ELISA. Bei einem Kappa-Wert

von 0,061 ist keine statistische Übereinstimmung der Ergebnisse beider Methoden nachweisbar.

	Chlamydien-Antikörper-ELISA des CVUA Stuttgart	
Chlamydien-Antigen-ELISA	positiv	negativ
positiv	102	249
negativ	183	604

Tabelle 4.24.: Vergleich des Chlamydien-Antikörper-ELISA mit dem Chlamydien-Antigen-ELISA.

4.3.2.9. Zusammenhänge zwischen im ELISA der BFAV Wusterhausen nachweisbaren Antikörpern gegen Chlamydien und der Ausscheidung der Erreger über das Genitale

Vergleichende Untersuchungen zu Zusammenhängen zwischen im ELISA der BFAV Wusterhausen nachweisbaren Antikörpern gegen Chlamydien und der Ausscheidung von Chlamydien über das Genitale wurden bei 1125 Proben durchgeführt. Übereinstimmende positive Ergebnisse wurden bei 94 der untersuchten Rinder erzielt. Diesen Ergebnissen stehen 159 Rinder gegenüber, die Antikörper gegen Chlamydien aufwiesen, jedoch keine Ausscheidung dieser Erreger über das Genitale zeigten. Bei 254 Tieren waren weder Antikörper noch Chlamydien-Ausscheidungen über das Genitale nachweisbar. Die Ergebnisse beider Testsysteme wiesen mit einem Kappa-Wert von 0,071 keine Übereinstimmung auf.

Chlamydien-Antikörper-ELISA der BFAV Wusterhausen		
Chlamydien-Antigen-ELISA	positiv	negativ
positiv	94	254
negativ	159	618

Tabelle 4.25.: Vergleich des Chlamydien-Antikörper-ELISA der BFAV Wusterhausen mit dem Chlamydien-Antigen-ELISA

4.3.2.10. Zusammenhänge zwischen im ELISA der Fa. Bommeli nachweisbaren Antikörpern gegen Chlamydien und der Ausscheidung dieser Erreger über das Genitale

Für die Untersuchungen von Zusammenhängen zwischen im ELISA der Fa. Bommeli nachweisbaren Antikörpern und der Erregerausscheidung über das Genitale wurden die Proben von 1125 Tieren herangezogen. Übereinstimmende Ergebnisse zwischen dem Nachweis von Antikörpern und einer Erregerausscheidung wurden bei 90 Tieren erzielt. Während bei 164 Rindern ausschließlich Antikörper nachgewiesen werden konnten, zeigten 258 Tiere eine Erregerausscheidung bei negativem serologischem Ergebnis im ELISA. Diese Ergebnisse ergaben einen Kappa-Wert von 0,051 und somit keine Übereinstimmung der Testergebnisse.

Chlamydien-Antikörper-ELISA der Fa. Bommeli		
Chlamydien-Antigen-ELISA	positiv	negativ
positiv	90	258
negativ	164	613

Tabelle 4.26.: Vergleich des Chlamydien-Antikörper-ELISA der Fa. Bommeli mit dem Chlamydien-Antigen-ELISA.

4.4. Auswertung der vorberichtlich erfaßten Krankheitssymptome der Rinder unter Berücksichtigung der Untersuchungsergebnisse der indirekten und direkten Coxiellen- und Chlamydien-Nachweise

Als häufigste Krankheitssymptome in den aufgrund von Fortpflanzungsstörungen untersuchten Betrieben gaben die Tierhalter mit 14,9% vaginalen Ausfluss an. Da in vielen Fällen bei der vaginoskopischen Untersuchung während der Probennahme nicht zwischen einer Vaginitis und einer Endometritis unterschieden werden konnte, wurden beide Erkrankungskomplexe unter „Vaginalausfluss“ zusammengefaßt ausgewertet. Mehrfach erfolgreiche Besamungen (mehr als drei Besamungen pro Tier) ohne deutliche klinische Symptomatik von Seiten des Tieres wurde als zweithäufigstes Problem (12,8%) genannt. Der Punkt „mehrfach erfolgreiche Besamung“ ist weniger als Krankheitssymptom zu bewerten, als eine Folge verschiedener Ursachen, welche sowohl infektiöser Natur, als auch nicht infektiöser Natur, wie z.B. Managementfehler, sein können. Da sich hinter diesen Angaben ein großer wirtschaftlicher Verlust für den Landwirt verbirgt, wurden diese Angaben ebenfalls ausgewertet. Als dritthäufigstes Fortpflanzungsproblem wurden Aborte, die insgesamt 6,0% aller untersuchten Tiere betrafen, genannt. In der folgenden Tabelle 4.27. wurden die vom Tierhalter beobachteten Krankheitserscheinungen der Einzeltiere bzw. die vom behandelnden Tierarzt festgestellten Befunde in Bezug zu den Ergebnissen verschiedener Testverfahren zum Nachweis von *C. burnetii*- und Chlamydien-Infektionen gesetzt und statistisch bewertet. Zusätzlich aufgenommen wurden Angaben zu Nachgeburtsverhaltungen, die bei 2,9% der untersuchten Rinder aufgetreten waren.

Krankheits- erschein- ungen laut Vorbericht	insges. 1167	serologisch positiv in der <i>C. burnetii</i> KBR (insges. 134)	serologisch positiv im <i>C.burnetii</i> ELISA (insges. 241)	positiv im <i>C. burnetii</i> - Antigen ELISA (insges. 20)	serologisch positiv in der Chlamydien -KBR (insges. 34)	serologisch positiv im Chlamydien -ELISA des CVUA Stuttgart (insges. 293)	serologisch positiv im Chlamydien -ELISA der Fa. Bommeli (insges. 254)	serologisch positiv im Chlamydien -ELISA der BFAV Wusterhaus en (insges. 253)	positiv im Chlamydien -Antigen ELISA (insges. 349)
Vaginalaus- fluss	199 (14,9%)	11 (8,2%)	35 (14,5%)	6 (30%)	6 (17,6%)	77 (26,3%)	33 (12,9%)	40 (15,8%)	61 (17,4%)
Odds-Ratio		0,4 (0,2- 0,78)	0,79 (0,52- 1,19)	2,05 (0,70- 5,80)	1,04 (0,38- 2,69)	2,2 (1,57- 3,07)	0,66 (0,43- 1,00)	0,87 (0,59- 1,29)	1,0 (0,71- 1,41)
p-Wert		0,0038	0,2412	0,1372	0,9254	<0,0001	0,0402	0,4812	0,9961
statist. Beurteilung		hoch signifikant	nicht signifikant	nicht signifikant	nicht signifikant	hoch signifikant	signifikant	nicht signifikant	nicht signifikant

Mehrfach erfolglose Besamung	149 (12,8%)	23 (17,1%)	34 (14,1%)	0%	7 (20,5%)	52 (17,7%)	34 (13,3%)	28 (11,1%)	31 (8,9%)
Odds-Ratio		1,26 (0,75- 2,09)	1,16 (0,75- 1,78)	nicht definiert	1,81 (0,7- 4,46)	1,73 (0,18- 2,53)	1,05 (0,68- 1,61)	0,8 (0,5- 1,26)	0,58 (0,37- 0,89)
p-Wert		0,3483	0,4840	0,0589*	0,1655	0,0032	0,8127	0,3137	0,0085
statist. Beurteilung		nicht signifikant	nicht signifikant	nicht signifikant	nicht signifikant	hoch signifikant	nicht signifikant	nicht signifikant	hoch signifikant
Abort	77 (6%)	10 (7,4%)	26 (10,7%)	4 (20%)	2 (5,8%)	18 (6%)	19 (7,4%)	22 (8,7%)	23 (6,6%)
Odds-Ratio		1,16 (0,55- 2,41)	2,07 (1,23- 3,49)	3,58 (0,98- 11,86)	0,88	0,9 (0,50- 1,60)	1,17 (0,66- 2,06)	1,46 (0,84- 2,51)	0,96 (0,56- 1,63)
p-Wert		0,6683	0,0033	0,0370	0,6082*	0,7171	0,5679	0,1483	0,8751
statist. Beurteilung		nicht signifikant	hoch signifikant	signifikant	nicht signifikant	nicht signifikant	nicht signifikant	nicht signifikant	nicht signifikant

Nachgeburt -verhaltung	39 (2,9%)	6 (4,5%)	3 (1,2%)	3 (15,%)	1 (2,9%)	10 (3,4%)	5 (1,9%)	6 (2,4%)	11 (3,2%)
Odds-Ratio		1,42 (0,52- 3,63)	0,31 (0,08- 1,07)	5,30 (1,18- 20,42)	0,87	1,03 (0,46- 2,24)	0,51 (0,17- 1,38)	0,64 (0,24- 1,61)	1,42 (0,65- 3,03)
p-Wert		0,4368	0,0420	0,0283*	0,6844*	0,9377	0,1566	0,3115	0,3310
statist. Beurteilung		nicht signifikant	signifikant	signifikant	nicht signifikant	nicht signifikant	nicht signifikant	nicht signifikant	nicht signifikant

Tabelle 4.27.: Auswertung der vorberichtlichen Krankheitserscheinungen in Bezug auf in den jeweiligen Methoden positiven Tiere.

Die mit * gekennzeichneten p-Werte wurden aufgrund der geringen Probenanzahl mittels Fischer-Exakt-Test berechnet.

In der Tabelle 4.27. werden Ergebnisse der Rinder dargestellt, die ein bestimmtes Symptom aufweisen und positiv in der jeweiligen Untersuchungsmethode reagierten, im Vergleich zu den Rindern, die ohne dieses Symptom in der jeweiligen Untersuchung positiv reagierten.

Die Rinder, die vaginalen Ausfluss zeigten, reagierten hoch signifikant häufiger positiv in der *C. burnetii*-KBR ($p=0,0038$) und im Chlamydien-ELISA des CVUA Stuttgart ($p<0,0001$) sowie signifikant häufiger im Chlamydien-ELISA der Fa. Bommeli, als Rinder ohne Vaginalausfluss ($p=0,0402$)

Weiterhin konnte ein statistisch hoch signifikanter Zusammenhang zwischen dem Symptom „mehrfach erfolglose Besamung“ und dem Nachweis von Antikörpern gegen Chlamydien im ELISA des CVUA Stuttgart ($p=0,0032$) sowie dem Nachweis von Chlamydien-Antigen im Genitale mittels ELISA hergestellt werden ($p=0,0085$).

Rinder, die einen Abort hatten, reagierten hoch signifikant häufiger positiv im *C. burnetii*-Antikörper-ELISA ($p=0,0033$) sowie signifikant häufiger im *C. burnetii*-Antigen-ELISA ($p=0,0370$). Auch Rinder, die Nachgeburtsverhaltung zeigten, wiesen signifikant häufiger positive Reaktionen im *C. burnetii*-Antikörper-ELISA ($p=0,0420$) und -Antigen-ELISA ($p=0,0283$) auf, als Rinder ohne Nachgeburtsverhaltung.

4.5. Zusammenhänge zwischen serologischen Befunden der Gruppe der Landwirte und den in den Betrieben nachgewiesenen *C. burnetii*- und Chlamydien-Infektionen sowie deren statistische Bewertung

4.5.1. Zusammenhänge zwischen dem Nachweis von Antikörpern gegen *C. burnetii* der Gruppe der Landwirte und *C. burnetii*-Infektion der Rinder

Für eine weitergehende Auswertung der Ergebnisse der Untersuchungen der Serumproben der Landwirte wurden die Betriebe in Positiv- und Negativbetriebe eingeteilt. Als Positivbetriebe galten Betriebe, in denen mit Hilfe der erhobenen Stichproben eine Seroprävalenz für *C. burnetii* von $\geq 20\%$ ermittelt werden konnte, als Negativbetriebe mit einer Seroprävalenz von $< 20\%$. Von 105 der untersuchten Betrieben wurden 49 unter Anwendung der KBR den Positivbetrieben zugerechnet, mit Hilfe der ELISA-Technik waren es hingegen 69 Betriebe. Für statistische Auswertungen wurde die Einteilung der Betriebe in Positiv- und Negativbetriebe auf Grundlage der ELISA-Ergebnisse vorgenommen. Zu den Positivbetrieben wurden weiterhin Betriebe gerechnet, in denen der serologische Nachweis von Antikörpern nicht gelang, aber eine Coxiellenausscheidung im Genitale mittels Coxiellen-Antigen-Capture-ELISA nachgewiesen werden konnte. Dies traf auf zwei Betrieb zu.

Insgesamt konnten bei 35 Personen aus landwirtschaftlichen Betrieben IgG-Antikörper gegen *C. burnetii* der Phase 2 nachgewiesen werden. Bei sieben Personen handelte es sich dabei um grenzwertige Titer. Sechs Personen, die einen positiven oder grenzwertigen Antikörpertiter aufwiesen, kamen allerdings aus Betrieben, in denen die Seroprävalenz der Rinder $< 20\%$ lag und kein Antigen aus Genitalupferproben nachgewiesen werden konnte.

C. burnetii IgG2- Antikörper- ELISA	Landwirte aus Q-Fieber- Positivbetrieben	Landwirte aus Q-Fieber- Negativbetrieben
positiv	28	1
grenzwertig	7	5
negativ	152	69

Erreger und Untersuchungs- methode	Zahl der positiven und grenzwertigen Landwirte aus Positivbetrieben von 187	Zahl der positiven und grenzwertigen Landwirte aus Negativ- betrieben von 75	Odds- Ratio (OR)	p-Wert	statistische Bewertung
<i>C. burnetii</i> IgG2- Antikörper- ELISA	36 (19,25%)	6 (8%)	2,65 (1,00- 7,37)	0,0309	signifikant

Tabelle 4.30.: Serologische Untersuchungen auf Q-Fieber-Infektionen mittels ELISA bei Landwirten aus sogenannten Positiv- im Vergleich zu Negativbetrieben.

Statistisch verglichen wurden Landwirte, deren Betriebe eine Seroprävalenz für *C. burnetii* von $\geq 20\%$ oder deren Rinder *C. burnetii*-Antigen im Zervixtupfer aufwiesen (Positivbetriebe) und Landwirte, deren Betriebe eine maximale Seroprävalenz von $< 20\%$ zeigten und bei deren Rindern kein *C. burnetii*-Antigen nachgewiesen werden konnte (Negativbetriebe). Landwirte aus Positivbetrieben zeigten signifikant häufiger Antikörper gegen *C. burnetii* auf als Landwirte aus Negativbetrieben ($p=0,0309$) (Tabelle 4.30.).

4.5.2. Zusammenhänge zwischen dem Nachweis von Antikörpertitern gegen *C. burnetii* bei Landwirten und dem Konsum betriebseigener Rohmilch

Von den 262 untersuchten und befragten Personen aus landwirtschaftlichen Betrieben konsumieren 207 nicht erhitzte Milch (Rohmilch) aus ihrem eigenen Betrieb. 28 von diesen Personen reagierten im *C. burnetii*-IgG-Antikörper-ELISA positiv und 6 grenzwertig. Von den 55 Personen, die nur abgekochte Milch trinken, zeigte lediglich eine Person mit 200 U/ml ein serologisch positives Ergebnis und 3 Personen serologisch grenzwertige Ergebnisse (Tabelle 4.31.).

<i>C. burnetii</i> IgG2-Antikörper-ELISA	Landwirte, die Rohmilch trinken	Landwirte, die keine Rohmilch trinken
positiv	28	1
grenzwertig	6	3
negativ	173	51

Erreger und Untersuchungsmethode	Zahl der serologisch positiven und grenzwertigen Landwirte, die Rohmilch trinken von 201	Zahl der serologisch positiven und grenzwertigen Landwirte, die nur abgekochte Milch trinken von 61	Odds-Ratio (OR)	p-Wert	statistische Bewertung
<i>C. burnetii</i> IgG 2-Antikörper-ELISA	34 (16,9%)	4 (6,5%)	2,9 (0,93-10,09)	0,0440	signifikant

Tabelle 4.31.: Vergleichende serologische Untersuchungen mittels IgG-Antikörper-ELISA bei Landwirten mit oder ohne Rohmilchkonsum.

Die statistische Berechnung ergibt für Landwirte, die regelmäßig Rohmilch trinken, mit einem OR von 2,9 und einem p-Wert von 0,0440 im Vergleich zu Landwirten, die nur abgekochte Milch konsumieren, signifikant häufiger Infektionen mit *C. burnetii*.

4.5.3. Zusammenhänge zwischen dem Nachweis von Antikörpern gegen *C. psittaci* in der Gruppe der Landwirte und Chlamydien-Infektionen der Rinder

Für weitere Auswertungen der Ergebnisse der Untersuchung der Serumproben der Landwirte wurden die Betriebe entsprechend ihrer Seroprävalenz von $\geq 20\%$ bzw. $< 20\%$ und dem Nachweis von Chlamydien-Antigen aus Zervixtupferproben in Positiv- und Negativbetriebe eingeteilt. In 88 der 105 untersuchten Betriebe konnten mit Hilfe des Chlamydien-Antikörper-ELISA des CVUA Stuttgart eine Chlamydien-Infektion der Rinder nachgewiesen werden, bei Anwendung der KBR wurde hingegen nur bei 24 Betrieben eine Infektion erkannt. In 9 Betrieben konnte bei negativem serologischen Ergebnis Chlamydien-Antigen in Tupferproben festgestellt werden. Nur in 8 Betrieben reagierten alle untersuchten Rinder im Chlamydien-Antikörper-ELISA des CVUA Stuttgart und dem Chlamydien-Antigen-ELISA IDEIA[®] (Fa. DAKO, Hamburg) negativ. Für weiter statistische Auswertungen wurde die Einteilung der Betriebe aufgrund der Ergebnisse des Chlamydien-Antikörper- und des Chlamydien-Antigen-ELISA durchgeführt. 238 der insgesamt 262 untersuchten Landwirte entstammten Positivbetrieben, 24 Negativbetrieben. Landwirte aus Positivbetrieben wiesen mit 3,36% (8 Personen) nicht signifikant häufiger ($p=0,2300$) serologisch positive Ergebnisse im *C. psittaci*-spezifischen IFT auf als Landwirte aus Negativbetrieben, deren Anteil bei 8,33% (2 Personen) lag (Tabelle 4.32).

<i>C. psittaci</i> -IFT	Landwirte aus Chlamydien-Positivbetrieben (97)	Landwirte aus Chlamydien-Negativbetrieben (8)
positiv	8	2
negativ	230	22

Erreger und Untersuchungsmethode	Zahl der Landwirte aus Chl.-Positivbetrieben mit positiven oder grenzwertigen Antikörpertitern von 238	Zahl der Landwirte aus Chl.-Negativbetrieben mit positiven oder grenzwertigen Antikörpertitern von 24	Odds-Ratio (OR)	p-Wert im Fisher-Exakt-Test	Statistische Bewertung
<i>C. psittaci</i> -IFT	8 (3,36%)	2 (8,33%)	0,38 (0,07-2,79)	0,2300	nicht signifikant

Tabelle 4.32.: Serologische Untersuchungen auf *C. psittaci* mittels *C. psittaci*-spezifischen-IFT bei Landwirten aus Positiv- im Vergleich zu Negativbetrieben.

Die statistische Auswertung ergibt einen OR von 0,38 (0,07-2,79) und einen p-Wert von 0,2300. Es konnte somit kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen nachgewiesen werden (Tabelle 4.32.).

4.5.4. Zusammenhänge zwischen dem Nachweis von Antikörpern gegen *C. psittaci* in der Gruppe der Landwirte und der Haltung anderer landwirtschaftlicher Nutztiere als Rinder

Aufgrund der möglichen Übertragung von *C. psittaci* von anderen landwirtschaftlichen Nutztieren auf den Menschen wurde dies bei der Befragung der Landwirte berücksichtigt. Am häufigsten wurden in 56 Betrieben mit insgesamt 138 Personen zusätzlich Hühner für den Eigenbedarf gehalten. Nur 48 Landwirte aus 21 Betrieben gaben an, auch Schweine zu halten. Schafhaltungen spielten hingegen keine Rolle.

4.5.4.1. Zusammenhänge zwischen dem Nachweis von Antikörpern gegen *C. psittaci* in der Gruppe der Landwirten und der Haltung von Hühnern

Serologische Untersuchungen der Landwirte, die zusätzlich zu Rindern täglichen Kontakt zu Hühnern hatten, ergaben bei 10 Personen nachweisbare Antikörper gegen *C. psittaci*. Personen, die keine Hühner hielten und Antikörper gegen *C. psittaci* aufwiesen, konnten nicht ermittelt werden. Der p-Wert wurde mit Hilfe des Fisher-Exakt-Test errechnet und betrug 0,003. Dieser p-Wert ist als statistisch hoch signifikant und deutet daraufhin, dass Landwirte mit eigener Hühnerhaltung häufiger Antikörper gegen *C. psittaci* aufweisen als Landwirte ohne zusätzliche Hühnerhaltung.

<i>C. psittaci</i> -IFT	Landwirte mit Hühnerhaltung	Landwirte ohne Hühnerhaltung
positiv	10	0
negativ	128	124

Erreger und Untersuchungsmethode	Zahl der Landwirte mit Hühnerhaltung und positiven <i>C. psittaci</i> -Antikörpertitern von 138	Zahl der Landwirte ohne Hühnerhaltung und positiven <i>C. psittaci</i> -Antikörpertitern von 124	Odds-Ratio (OR)	p-Wert im Fisher-Exakt-Test	Statistische Bewertung
<i>C. psittaci</i> -IFT	10	0	nicht definiert	0,003	signifikant

Tabelle 4.33.: Vergleichende Untersuchung auf *C. psittaci*-Antikörper mittels *C. psittaci*-spezifischem IFT bei Landwirten mit oder ohne Hühnerhaltung.

4.5.4.2. Zusammenhänge zwischen dem Nachweis von Antikörpertiter gegen *C. psittaci* in der Gruppe der Landwirte und der Haltung von Schweinen

Von 48 Landwirten, die neben Rindern auch Schweine halten, konnten nur bei 3 Landwirten Antikörper gegen *C. psittaci* nachgewiesen werden. Bei 207 Landwirten, die keine Schweine halten, reagierten insgesamt 7 serologisch positiv.

	Landwirte mit Schweinehaltung	Landwirte ohne Schweinehaltung
positiv	3	7
negativ	45	207

Erreger und Untersuchungsmethode	Zahl der Landwirte mit Schweinehaltung und positiven <i>C. psittaci</i> -Antikörpertitern von 48	Zahl der Landwirte ohne Schweinehaltung und positiven <i>C. psittaci</i> -Antikörpertitern von 214	Odds-Ratio (OR)	p-Wert	Statistische Bewertung
<i>C. psittaci</i> -IFT	3 (6,3%)	7 (3,3%)	1,97 (0,39-8,92)	0,33	nicht signifikant

Tabelle 4.34.: Vergleichende Untersuchung auf *C. psittaci*-Antikörper mittels *C. psittaci*-spezifischen IFT bei Landwirten mit und ohne Schweinehaltung.

Der Vergleich zwischen Landwirten mit und Landwirten ohne Schweinehaltung ließ sich einen OR von 1,97 (0,39-8,92) errechnen. Der p-Wert von 0,33 ergibt keinen signifikanten Unterschied beider Gruppen.

4.5.5. Zusammenhänge zwischen vorberichtlich erfassten Krankheitserscheinungen der Landwirte und dem Nachweis von Antikörpern gegen *C. burnetii* und *C. psittaci*

Mit Hilfe eines Fragebogens sollten besonders typische Symptome einer Q-Fieber-bzw. Chlamydien-Infektion erfaßt werden. Daher wurde insbesondere nach schweren grippeähnlichen Erkrankungen, Lungenentzündungen, Gelenksbeschwerden sowie nach Herz- und Lebererkrankungen gefragt. Zum Zeitpunkt der Blutabnahme hatte keiner der Landwirte oder deren Angehörige Fieber oder andere Krankheitsanzeichen, die einen Hinweis auf eine akute grippeähnliche oder andere fieberhafte Erkrankung rechtfertigten.

31 Personen gaben jedoch an, in den letzten Jahren an einer schweren grippeähnlichen Erkrankung gelitten zu haben. Bei sechs dieser Personen wurden positive oder grenzwertige Antikörperspiegel gegen *C. burnetii* festgestellt und bei zwei dieser Personen vom behandelnden Arzt eine Lungenentzündung diagnostiziert. Eine weitere Person gab an, an einer Lungenentzündung erkrankt gewesen zu sein. Antikörper gegen Coxiellen oder Chlamydien konnten allerdings nicht nachgewiesen werden.

Über chronische Gelenkschmerzen klagten 36 Personen. Drei Personen waren vor längerer Zeit an einer Lungenentzündung erkrankt. Bei einer der Personen wurde vom behandelnden Arzt eine chronische Borreliose diagnostiziert, ein Landwirt hatte Rheuma und ein weiterer litt unter Morbus Bechterew, einer chronischen, entzündlich-degenerativen, wahrscheinlich rheumatischen Erkrankung der Wirbelsäulengelenke, die bevorzugt bei Männern auftritt. Von den 36 Personen, die angaben an chronischen Gelenksproblemen zu leiden, hatten 7 Antikörper gegen *C. burnetii* und 2 Antikörper gegen *C. psittaci*.

Von fünf Personen, die angaben, an einer Erkrankung des Herz-Kreislaufapparates zu leiden, waren bereits zwei vom behandelnden Arzt auf Q-Fieber mit negativem Ergebnis untersucht worden. Bei zwei der Personen konnten allerdings Antikörper gegen *C. pneumoniae* nachgewiesen werden.

Ein weiterer Landwirt war vor Jahren an einer schweren Hepatitis erkrankt und zu dieser Zeit mit negativem Ergebnis auf Q-Fieber untersucht worden.

Die Untersuchung einer Frau vor zwei Jahren durch den behandelnden Arzt auf Q-Fieber aufgrund andauernden Unterleibsschmerzen ergab einen grenzwertigen serologischen Befund. Trotz antibiotischer Behandlung wies sie immer noch einen Titer von 40 U/ml auf, war aber zum Zeitpunkt der Blutentnahme wieder beschwerdefrei.

Eine Person, die einen grenzwertigen Titer gegen *C. burnetii* aufwies, war vor 15 Jahren als Kind schwer an Q-Fieber erkrankt, hatte aber seither keine Krankheitssymptome, die auf eine chronische Q-Fieberinfektion hinweisen.

Eine statistische Auswertung ergab keine signifikanten Zusammenhänge zwischen den angegebenen Krankheitssymptomen und den ermittelten serologischen Befunden.

Krankheitssymptome	Anzahl der Personen insgesamt	Anzahl der Personen mit <i>C. burnetii</i> -Titer	Anzahl der Personen mit <i>C. psittaci</i> -Titer	sonstiges
Grippeähnliche, fieberhafte Allgemeinerkrankung	31	4	2	
Lungenentzündung	3	2	0	
Chronische Gelenksprobleme	36	7	2	1 x chron. Borreliose 1 x M. Bechterew 1x Rheuma
Herz- Kreislauferkrankung	5	0	0	
Lebererkrankung	1	0	0	
Unterleibsbeschwerden	1	1	0	

Tabelle 4.35.: Auswertung der Fragebögen nach vorberichtlichen Krankheitssymptomen.