

**Aus dem Institut für Geflügelkrankheiten
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin**

**Molekularbiologische Untersuchungen
zum Vorkommen verschiedener viraler und
bakterieller Erreger bei Greif- und Rabenvögeln**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin**

**vorgelegt von
Stefanie Gutzer / geb. Klein
Tierärztin aus Münster/Westf.**

**Berlin 2017
Journal-Nr.: 3986**

**Aus dem Institut für Geflügelkrankheiten
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin**

**Molekularbiologische Untersuchungen
zum Vorkommen verschiedener viraler und
bakterieller Erreger bei Greif- und Rabenvögeln**

**Inaugural Dissertation
zur Erlangen des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin**

**vorgelegt von
Stefanie Gutzer / geb. Klein
Tierärztin aus Münster/Westf.**

Berlin 2017

Journal-Nr.: 3986

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Jürgen Zentek
Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Hafez Mohamed Hafez
Zweiter Gutachter: Prof. Dr. Michael Lierz
Dritter Gutachter: Prof. Dr. M. E. Krautwald-Junghans

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):

Accipitridae; Corvidae; Aviadenovirus; avian herpesviruses; Newcastle disease virus; metapneumovirus; mycoplasma; chlamydia psittaci; ornithobacterium rhinotracheale; polymerase chain reaction; fingerprinting

Tag der Promotion: 16.10.2017

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <<http://dnb.ddb.de>> abrufbar.

ISBN: 978-3-86387-862-7

Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2017

Dissertation, Freie Universität Berlin

D 188

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdruckes und der Vervielfältigung des Buches, oder Teilen daraus, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in irgendeiner Form reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Warenbezeichnungen, usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürfen.

This document is protected by copyright law.

No part of this document may be reproduced in any form by any means without prior written authorization of the publisher.

Alle Rechte vorbehalten | all rights reserved

© Mensch und Buch Verlag 2017

Choriner Str. 85 - 10119 Berlin

verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
2. Literaturübersicht.....	3
2.1. Aviäre Adenoviren	3
2.1.1. Taxonomie	3
2.1.2. Ätiologie	4
2.1.3. Vorkommen aviärer Adenoviren bei Greif- und Rabenvögeln	5
2.1.4. Vorkommen aviärer Adenoviren bei Wildvögeln	9
2.2. Aviäre Herpesviren.....	10
2.2.1. Taxonomie	10
2.2.2. Ätiologie	11
2.2.3. Vorkommen aviärer Herpesviren bei Greif- und Rabenvögeln.....	12
2.3. Aviäre Influenzaviren (AIV).....	18
2.3.1. Taxonomie	18
2.3.2. Ätiologie	18
2.3.3. Vorkommen von AIV bei Greif- und Rabenvögeln	19
2.4. <i>Newcastle Disease Virus</i> (NDV).....	26
2.4.1. Taxonomie	26
2.4.2. Ätiologie	27
2.4.3. Vorkommen von NDV bei Greif- und Rabenvögeln.....	28
2.5. Aviäre Metapneumoviren (AMPV).....	35
2.5.1. Taxonomie	35
2.5.2. Ätiologie	36
2.6. Aviäre Mykoplasmen	37
2.6.1. Taxonomie	37
2.6.2. Ätiologie	37
2.6.3. Vorkommen von aviären Mykoplasmen bei Greif- und Rabenvögeln	38
2.7. Aviäre Chlamydien	47
2.7.1. Taxonomie	47

2.7.2. Ätiologie	48
2.7.3. Vorkommen von aviären Chlamydien bei Greif- und Rabenvögeln.....	49
2.8. <i>Ornithobacterium rhinotracheale</i> (ORT)	55
2.8.1. Taxonomie	55
2.8.2. Ätiologie	55
2.8.3. Vorkommen von ORT bei Greif- und Rabenvögeln.....	56
3. Material	58
3.1. Feldproben	58
3.2. Referenzmaterial	61
3.3. Geräte und Verbrauchsmaterialien.....	64
3.4. Kits, Reagenzien und Puffer.....	65
3.5. Verwendete Primer und Sonden für die molekularbiologische Untersuchung	68
4. Methoden.....	71
4.1. Probennahme, Konservierung und Kultivierung der Proben	71
4.2. Molekularbiologische Untersuchung.....	71
4.2.1. DNA-und RNA-Extraktion.....	71
4.2.2. Bestimmung der DNA-Konzentration	71
4.2.3. Nachweis der verschiedene Erreger mittels PCR	72
4.2.3.1 Nachweis von Aviadenoviren.....	72
4.2.3.2 Nachweis von aviären Herpesviren	72
4.2.3.3 Nachweis von aviären Influenzaviren.....	73
4.2.3.4 Nachweis des <i>Newcastle Disease Virus</i> (NDV).....	74
4.2.3.5 Nachweis von aviären Metapneumoviren (AMPV).....	74
4.2.3.6. Nachweis von Mykoplasmen	75
4.2.3.7. Nachweis von <i>Chlamydia psittaci</i>	76
4.2.3.8. Nachweis von <i>Ornithobacterium rhinotracheale</i> (ORT).....	77
4.2.4. Durchführung der Gelelektrophorese	77
4.2.5. Durchführung der Gelextraktion und Sequenzierung	78
4.3. Bakteriologische Untersuchung.....	79
4.3.1. Kulturelle Isolierung von ORT	79

4.3.2. Biochemische Identifizierung	79
4.3.3. Serotypisierung mittels Agar-Gel-Präzipitationstest (AGP)	79
4.3.4. Resistenzverhalten mittels Agardiffusionstest.....	80
4.3.5. Durchführung des Fingerprintings mittels RAPD.....	81
4.4. Statistische Untersuchung.....	82
5. Ergebnisse	83
5.1. Auswertung des Untersuchungsmaterials	83
5.2. Molekularbiologische Untersuchungen.....	87
5.2.1 Untersuchungen zum Vorkommen der verschiedenen Erreger mittels PCR	87
5.2.1.1. Nachweis von Aviadenoviren.....	87
5.2.1.1.1. Spezifität der Aviadenovirus PCR.....	87
5.2.1.1.2. Untersuchungen der Feldproben mittels Aviadenovirus PCR.....	88
5.2.1.2. Nachweis von aviären Herpesviren	89
5.2.1.2.1. Spezifität der HVC-PCR	89
5.2.1.2.2. Untersuchungen der Feldproben mittels HVC-PCR	91
5.2.1.2.3. Sequenzierung von Herpesvirus-Feldproben	92
5.2.1.3. Nachweis aviärer Influenzaviren	93
5.2.1.4. Nachweis vom <i>Newcastle Disease Virus</i> (NDV).....	93
5.2.1.5. Nachweis von aviären Metapneumoviren (AMPV).....	94
5.2.1.6. Nachweis von Mykoplasmen	94
5.2.1.6.1. Spezifität der Mykoplasmen-PCR.....	94
5.2.1.6.2. Untersuchung der Feldproben mittels Mykoplasmen-PCR.....	95
5.2.1.6.3. Sequenzierung von Mykoplasmen-Feldproben	99
5.2.1.7. Nachweis von <i>Chlamydia psittaci</i>	100
5.2.1.8. Nachweis von <i>Ornithobacterium rhinotracheale</i> (ORT).....	101
5.2.1.8.1. Untersuchungen der Feldproben mittels ORT-PCR	101
5.2.1.8.2. Sequenzierung und phylogenetische Analyse	106
5.2.2. Vergleichende Auswertung der PCR-Ergebnisse	108
5.3. Bakteriologische Untersuchung.....	113
5.3.1. Kulturelle Isolierung von ORT	113
5.3.2. Biochemischen ORT-Identifizierung.....	113

5.3.3. ORT-Serotypisierung	113
5.3.4. Resistenzverhalten mittels Agardiffusionstest.....	114
5.3.5. Fingerprinting der Isolate mittels RAPD (random amplified polymorphic DNA).....	114
6. Diskussion	116
6.1. Aviadenoviren.....	117
6.2. Aviäre Herpesviren.....	119
6.3. Aviäre Influenzaviren (AIV).....	121
6.4. Newcastle Disease Virus (NDV).....	123
6.5. Aviäre Metapneumoviren (AMPV).....	124
6.6. Aviäre Mykoplasmen	125
6.7. <i>Chlamydia psittaci</i>	127
6.8. <i>Ornithobacterium rhinotracheale</i> (ORT)	129
6.9. Vergleichende Analyse.....	132
7. Zusammenfassung	134
8. Summary	135
9. Literaturverzeichnis	136
10. Anhang	153

Abkürzungsverzeichnis

Die Abkürzungen aller in dieser Arbeit genannten Viren und Bakterien stehen in Kapitel 2. Literaturübersicht. Folgende weitere Abkürzungen wurden in der vorliegenden Arbeit verwendet:

Abb.	Abbildung
AG	Antigen
AGP	Agar-Gel-Präzipitationstest
AK	Antikörper
Aqua bidest	doppelt destilliertes Wasser
BHQ	Black Hole Quencher
bp	Basenpaare
°C	Grad Celsius
cELISA	Complement-Enzyme-Linked-Immunsorbent-Essay
Cy5	Cyaninefluoreszein
DNA	Desoxyribonukleinsäure (Desoxyribonucleid acid)
EDS	Egg Drop Syndrom
EK	Einschlusskörperchen
EKH	Einschlusskörperchen-Hepatitis
ELISA	Enzyme-Linked-Immunsorbent-Essay
EM	Elektronenmikroskop
GIT	Gastro-Intestinal-Trakt
g	Gramm
h	Stunde
HA	Hämagglutinationstest
HAH	Hämagglutinationshemmtest
HE	Hämorrhagischen Enteritis
IBA	Immunobindung-Assay
ICPI	Intracerebrale Pathogenitätsindex
ICTV	International Committee on Taxonomie of Viruses
IEK	Intranukleären Einschlusskörperchen
IFT	Immunfluoreszenztest
IHC	Immunhistochemie
IIFT	Indirekte Immunfluoreszenztest
IVPI	Intravenöse Pathogenitätsindex
Kbp	Kilobasenpaare
KBE	koloniebildende Einheiten

Abkürzungsverzeichnis

MDT	Mean Death Time = mittlere Zeit zwischen Infektion und Tod infizierter Embryonen
min	Minuten
ml	Milliliter
µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter
NABU	Naturschutzbund Deutschland
NAH	Neuraminidasehemmtest
ng	Nanogramm
OMP	äußere(s) Membranprotein(e) (outer membrane protein)
PCR	Polymerase Kettenreaktion
pmol	pikomol
ppm	Teile einer Million (parts per million)
qRT-PCR	Real-Time Reverse Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion
RAPD	randomly amplified polymorphic DNA (zufällig vervielfältigte polymorphe DNA)
REA	Restriktions-Enzym-Analyse
RFLP	Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus
RNA	Ribonukleinsäure
rpm	Umdrehungen pro Minute (rounds per minute)
RT-PCR	Reverse Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion
SNT	Serumneutralisationstest
Tab.	Tabelle
VNT	Virusneutralisationstest

1. Einleitung

Greifvögel der Familie der Habichtartigen, Falkenartigen und Eulen sowie Rabenvögel, die in der vorliegenden Arbeit als Greif- und Rabenvögel zusammengefasst werden, spielen in unserer Gesellschaft eine große Rolle. Aus unterschiedlichen Gründen werden diese Vögel kurz-, aber auch langfristig in menschlicher Obhut gehalten. Dabei kann es sich um verletzte oder kranke Tiere aus freier Wildbahn handeln, die zufällig gefunden und zum Beispiel in einer Klinik oder auch in einer Auffangstation abgegeben werden. Weiterhin gibt es unterschiedliche Auswilderungsprojekte die sich damit beschäftigen, verschiedene Vogelarten zu erhalten, indem die Tiere zunächst in menschlicher Obhut aufgezogen werden und später dann wieder in der Natur frei gelassen werden. Weiterhin gibt es die Gruppe der Falkner. Diese besitzen oft mindestens einen eigenen Greifvogel und kommen im Rahmen unterschiedlicher Veranstaltungen oft auch in Kontakt mit anderen Vögeln und weiteren Personengruppen.

Verschiedene Literaturangaben belegen, dass zahlreichen viralen und bakteriellen Erregern nicht nur beim Wirtschaftsgeflügel, sondern auch bei Greif- und Rabenvögeln eine wichtige Bedeutung als Ursache verschiedener Erkrankungen zukommt. Das Vorkommen und der Nachweis derartiger Erreger ist nicht nur für den betroffenen Vogel von großer Bedeutung, sondern die Erreger können auch für weitere Vögel eines Bestandes bzw. einer Einrichtung in der sie gehalten werden, eine Bedrohung darstellen. Dazu zählen unter anderem wichtige virale Erreger wie aviäre Adeno- (Deem et al., 2012; Schrenzel et al., 2005; Van Wettere et al., 2005) und Herpesviren (Gailbreath and Oaks, 2008; Phalen et al., 2011) als auch aviäre Influenzaviren (AIV) (Beer et al., 2006; Ellis et al., 2009) und das *Newcastle Disease Virus* (NDV) (Schettler et al., 2001; Wernery et al., 1992), die zu schwerwiegenden Krankheitsverläufen, einhergehend mit Todesfällen, führen können. Wichtige bakterielle Erreger stellen unter anderem aviäre Mykoplasmen sowie Chlamydien dar, die bereits häufig sowohl bei erkrankten als auch bei gesunden Greifvögeln nachgewiesen werden konnten (Lemus et al., 2010; Lierz et al., 2000; Lierz et al., 2002b; Poveda et al., 1990b; Schettler et al., 2003). Weiterhin können bei Greif- und Rabenvögeln vorkommende Erreger mit zoonotischem Potential wie beispielsweise aviäre Influenzaviren oder Chlamydien auch eine Bedrohung für die Menschen, in deren Obhut die Tiere zum Teil zumindest vorübergehend leben, als auch für den Tierarzt darstellen (Capua and Alexander, 2004a, 2006; Kaleta and Taday, 2003; Smith et al., 2005; Zweifel et al., 2009). Andere für das Wirtschaftsgeflügel wichtige Erreger wie aviäre Metapneumoviren (AMPV) oder der bakterielle Erreger *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT) wurden zwar bereits bei verschiedenen Wildvögeln nachgewiesen, über ihr Vorkommen und ihre Bedeutung als

mögliches Pathogen bei Greif- und Rabenvögeln ist bisher aber nur wenig bekannt (Bennett et al., 2004; Cook, 2000; Hafez and Weiland, 1990; Turpin et al., 2008). Zusätzlich ist es bei verschiedenen viralen und bakteriellen Erregern auch nicht auszuschließen, dass infizierte freilebende Greif- und Rabenvögel eine Infektionsquelle für das Wirtschaftsgeflügel darstellen können.

Obwohl Infektionskrankheiten bei Erkrankungen von Greifvögeln schon immer eine große Rolle spielten (Heidenreich, 1995), werden Greif- und Rabenvögel oft nicht auf die oben genannten Erreger hin untersucht, da die Symptome einerseits recht unspezifisch sind und es andererseits große artspezifische Unterschiede in der Ausprägung der Krankheitszeichen gibt. Gleichzeitig finden sich in der Literatur zwar zahlreiche Fallberichte zum Vorkommen einzelner Erreger bei Greif- und Rabenvögeln, es gibt jedoch nur wenige Untersuchungen unter Einbeziehung verschiedener Erreger. Aus diesen Gründen sollten in der vorliegenden Arbeit Greif- und Rabenvögel, die vorwiegend aus Deutschland stammten, darauf hin untersucht werden, ob ausgewählte virale und bakterielle Krankheits- bzw. Infektionserreger bei ihnen diagnostiziert werden können und diese in Abhängigkeit vom zoonotischen Potential des Erregers, eventuell ein Risiko für den Menschen darstellen. Dabei handelt es sich um molekularbiologische Untersuchungen auf aviäre Adenoviren, aviäre Herpesviren, AIV, NDV und AMPV sowie auf aviäre Mykoplasmen, *Chlamydia psittaci* und ORT. Zum Nachweis von ORT wurde parallel die kulturelle Anzucht, in Verbindung mit weiteren Typisierungsverfahren eingesetzt. Die Untersuchung einer größeren Gruppe von Vögeln verschiedener Vogelfamilien aus unterschiedlichen Herkunftsorten sollte darüber hinaus eine Analyse verschiedener Parameter und eventueller Zusammenhänge zwischen den Erregern ermöglichen sowie Rückschlüsse auf das Vorkommen dieser Erreger zulassen.

2. Literaturübersicht

2.1. Aviäre Adenoviren

2.1.1. Taxonomie

Gemäß der Virustaxonomie des International Committee on Taxonomie of Viruses (ICTV) lässt sich die Familie der Adenoviren in fünf verschiedene Genera unterteilen (ICTV, 2012). Das Genus *Aviadenovirus* umfasst die fünf verschiedenen Spezies Hühner-Adenovirus A bis E, das Gänse-Adenovirus A und das Puten-Adenovirus B. Auch das 2005 nachgewiesene Falken-Adenovirus A (Schrenzel et al., 2005) gehört mit in das Genus *Aviadenovirus*. Zwei weitere vogelspezifische Adenoviren wurden dem Genus *Siadenovirus* zugeordnet, das Puten-Adenovirus A und das 2006 zum ersten Mal beschriebene Greifvogel-Adenovirus (Zsivanovits et al., 2006). Das Enten-Adenovirus A wird aktuell dem Genus *Atadenovirus* zugeordnet.

Familie: *Adenoviridae*

Genus: ***Aviadenovirus***

Spezies: ***Falcon aviadenovirus A*** (FaAdV A = Falken-Aviadenovirus A)

Spezies: ***Fowl aviadenovirus A*** (FAdV A = Hühner-Aviadenovirus A)

Serotyp: **Fowl aviadenovirus-1** (FAdV-1)

Spezies: ***Fowl aviadenovirus B*** (FAdV B = Hühner-Aviadenovirus B)

Serotyp: **Fowl aviadenovirus-5** (FAdV-5)

Spezies: ***Fowl aviadenovirus C*** (FAdV C = Hühner-Aviadenovirus C)

Serotyp: **Fowl aviadenovirus-4** (FAdV-4)

Serotyp: **Fowl aviadenovirus-10** (FAdV-10)

Spezies: ***Fowl aviadenovirus D*** (FAdV D = Hühner-Aviadenovirus D)

Serotyp: **Fowl aviadenovirus-2** (FAdV-2)

Serotyp: **Fowl aviadenovirus-3** (FAdV-3)

Serotyp: **Fowl aviadenovirus-9** (FAdV-9)

Serotyp: **Fowl aviadenovirus-11** (FAdV-11)

Spezies: ***Fowl aviadenovirus E*** (FAdV E = Hühner-Adenovirus E)

Serotyp: **Fowl aviadenovirus-6** (FAdV-6)

Serotyp: **Fowl aviadenovirus-7** (FAdV-7)

Serotyp: **Fowl aviadenovirus-8a** (FAdV-8a)

Serotyp: **Fowl aviadenovirus-8b** (FAdV-8b)

Spezies: ***Goose aviadenovirus A*** (GoAdV A = Gänse-Aviadenovirus A)

Spezies: ***Turkey aviadenovirus B*** (TAdV B = Puten-Aviadenovirus B)

Serotyp: **Turkey aviadenovirus-1** (TAdV-1)

Serotyp: **Turkey aviadenovirus-2** (TAdV-2)

Genus: ***Atadenovirus***

Spezies: ***Duck atadenovirus A*** (DAdV A = Enten-Atadenovirus A)

Genus: ***Siadenovirus***

Spezies: ***Raptor siadenovirus A*** (RaAdV = Greifvogel-Siadenovirus A)

Spezies: ***Turkey siadenovirus A*** (TAdV A = Puten-Siadenovirus A)

Serotyp: **Turkey siadenovirus-3** (TAdV-3)

2.1.2. Ätiologie

Adenoviren sind unbehüllte, im Durchmesser 70 bis 90 nm große Viren, die eine ikosaedrische Symmetrie aufweisen. Sie enthalten eine doppelsträngige, lineare 26 - 45 Kilobasenpaare (kbp) lange DNA als Genom und setzen sich aus einem Kapsid und einem Core zusammen (Davison et al., 2003). Das Kapsid wiederum besteht aus 252 Kapsomeren (240 Penton- und 12 Hexonkapsomere) und besitzt eine ikosaedrische Symmetrie. Der Aufbau der Penton- und Hexon-Kapsomere ist charakterisierend für die Virusfamilie (Russell, 2009).

Das Aviadenovirus ist weltweit verbreitet und konnte bei vielen Vogelspezies jeden Alters nachgewiesen werden. Die Übertragung erfolgt sowohl vertikal, als auch horizontal (Hess, 2000). Im Gegensatz zum Puten-Siadenovirus A, dem Auslöser der hämorrhagischen Enteritis (HE) der Pute und dem Enten-Atadenovirus A, welches zum „Egg Drop Syndrom“ (EDS) sowohl beim Wassergeflügel, als auch bei Hühnervögeln führt, ist die Rolle der Aviadenoviren in Bezug auf das Erkrankungsgeschehen nicht genau bestimmt, da es sich häufig um einen subklinischen Verlauf handelt (Ferran et al., 1997; Russell and Kemp, 1995). Hühner-Aviadenoviren sind auch in gesunden Vögeln verbreitet, und markante Unterschiede der Pathogenität zwischen Isolaten desselben Serotypes wurden festgestellt (Cook, 1972). Bei Ausbrüchen von Adenovirus-Infektionen, in denen Papageienvögel involviert waren, blieben andere Vogelspezies derselben Anlage unbeeinträchtigt (Bryant and Montali, 1987; Gerlach, 1994). Einzelne bei Tauben, Enten und Wellensittichen nachgewiesene Adenoviren ähnelten serologisch denen von Hühnervögeln (McFerran and Adair, 1977; McFerran et al., 1976; Takase et al., 1990). Auch spätere molekularbiologische Untersuchungen zeigten Ähnlichkeiten zwischen Adenoviren bei Greif- und Hühnervögeln (Kumar et al., 2010; Schrenzel et al., 2005).

2.1.3. Vorkommen aviärer Adenoviren bei Greif- und Rabenvögeln

In der Literatur finden sich verschiedene Berichte über den Nachweis von Adenoviren bei unterschiedlichen Greifvögeln (Tab. 1). Der erste Verdacht einer Adenovirus-Infektion bei Greifvögeln wurde von Sileo et al. (1983) beschrieben. Im Winter 1978 starben ungewöhnlich viele Vögel einer großen Buntfalkenkolonie im Patuxent Wildlife Research Center in den USA. Es handelte sich dabei sowohl um adulte als auch junge Falken, deren Ernährungszustand von gut bis mäßig variierte. Bei der Sektion von 13 Vögeln konnte bei acht Falken eine HE, eine Splenomegalie und eine Einschlusskörperchen-Hepatitis (EKH) nachgewiesen werden. Sowohl bei histologischen als auch elektronenmikroskopischen Untersuchungen konnten Einschlusskörperchen und Viruspartikel detektiert werden während ein virologischer Nachweis erfolglos blieb (Sileo et al., 1983). Auch für den Tod eines adulten weiblichen Merlins mit mäßigem Ernährungszustand und EKH in den USA wurde nach histologischer Untersuchung eine Adenovirus-Infektion vermutet (Schelling et al., 1989), ebenso wie bei importierten Mauritius-Falken in einer Greifvogel-Station 1992 und 1993 in England. Die verendeten Mauritius-Falken zeigten ähnliche pathologische Veränderungen wie die Buntfalken (Forbes et al., 1997). 1996 gab es einen Ausbruch einer Adenovirus-Infektion in einer Greifvogel-Aufzuchtstation in den USA, in welcher innerhalb von 33 Tagen 72 (65,45 %) von 110 jungen Aplomadofalken und 6 (5,88 %) von 102 jungen Wanderfalken verstarben. Später durchgeführte molekularbiologische Untersuchungen charakterisierten das Falken-Adenovirus als einen neuen Vertreter des Genus *Aviadenovirus*, welches epidemiologisch, phylogenetisch sowie im Hinblick auf seine pathologischen Eigenschaften stark dem FAdV-1 und dem FAdV-4 ähnelte (Schrenzel et al., 2005). Im Anschluss an den Ausbruch 1996 konnte eine Aviadenovirus-Infektion als Todesursache bei weiteren Falkenspezies in verschiedenen US-Bundesstaaten festgestellt werden (Dean et al., 2006; Schrenzel et al., 2005; Tomaszewski and Phalen, 2007; Van Wetters et al., 2005). Bei allen infizierten Falken konnten ähnliche histologische und pathologische Veränderungen, wie bereits von Sileo et al. (1983) beschrieben, festgestellt werden. Klinische Symptome wie Lethargie bzw. Apathie sowie Anorexie waren eher unspezifisch (Dean et al., 2006; Oaks et al., 2005; Schrenzel et al., 2005; Van Wetters et al., 2005).

2006 wurde über Adenovirus-Infektionen bei habichtartigen Greifvögeln und Eulen in England berichtet. In einer Station mit insgesamt 367 Vögeln 87 verschiedener Spezies starben vier junge Wüstenbussarde aus demselben Gelege ohne vorherige Krankheitssymptome. Die Todesursache war zunächst unbekannt. In einer zweiten Station für Eulenvögel mit insgesamt 21 Eulen zehn verschiedener Spezies starben im selben Zeitraum ein einjähriger Bengalen- und ein dreijähriger Milchuhu mit unspezifischer klinischer Symptomatik. Pathologische Befunde ähnelten denen der Falken mit Nephritis, Hepato- und Splenomegalie und zusätzlicher Erweiterung des Drüsen- und des Muskelmagens mit

Hämorrhagien und Ulzeration. Histologisch wurden Entzündungen und Nekrosen der genannten Organe mit basophilen intranukleären Einschlusskörperchen (IEK) nachgewiesen. Auf der Basis molekularbiologischer Untersuchungen wurde das nachgewiesene Virus als neue Spezies dem Genus *Siadenovirus* zugeordnet und als Greifvogel-Siadenovirus A bezeichnet (Zsivanovits et al., 2006). In Indien gelang Kumar et al. (2010) bei 13 verstorbenen wildlebenden Schwarzmilanen, die erfolgreiche Isolierung von Aviadenoviren. Neutralisationstest und eine FAdV-4 spezifische Polymerase Kettenreaktion (PCR) belegten eine nahe Verwandtschaft zu FAdV-4.

Der serologische Nachweis von Antikörper gegen Aviadenoviren gelang Fröhlich et al. (2002) bei lediglich sieben (4,19 %) Mäusebussarden von insgesamt 167 untersuchten frei lebenden Greifvögeln aus Berlin und Brandenburg per Agar-Gel-Präzipitationstest (AGP). Falken und Eulen waren serologisch negativ getestet. Deem et al. (2012) veröffentlichten einen Bericht über die Ergebnisse einer Gesundheitsaufnahme von Galapagos-Habichten, die auf den Galapagos-Inseln endemisch sind. Dabei konnten bei 24 (55,81 %) von 43 untersuchten Vögeln mittels AGP Antikörper gegen Adenoviren festgestellt werden. Ein Jahr später wurden erstmalig Antikörper gegen Adenoviren bei Glanzkrähen in Pakistan nachgewiesen (Manzoor et al., 2013) und Ende 2015 wurde ein Artikel über den Nachweis von Antikörpern gegen Adenoviren bei Truthahngiern und Steinadlern veröffentlicht (Straub et al., 2015).

Tab. 1: Übersicht über Berichte zum Vorkommen von aviären Adenoviren bei Greifvögeln

Vogelspezies	Anzahl unter-suchter Vögel	Positive Vögel	Symptomatik sowie pathologische und histologische Veränderungen	Nachweis-methode und Identifizierung	Referenz / Land
Buntfalke (<i>F. sparverius</i>)	13	8	Mäßiger Ernährungszustand, Splenomegalie, Hämorrhagische Enteritis, EKH ¹	Makroskopie Histologie EM ²	(Sileo et al., 1983) USA
Merlin (<i>F. columbarius</i>)	1	1	Mäßiger Ernährungszustand Nystagmus, EKH ¹	Makroskopie Histologie	(Schelling et al., 1989) USA

Vogelspezies	Anzahl untersuchter Vögel	Positive Vögel	Symptomatik sowie pathologische und histologische Veränderungen	Nachweismethode und Identifizierung	Referenz / Land
Mauritius-Falke (<i>F. punctatis</i>)	13	13	Hämorrhagien im gesamten GIT ³ Hepato- und Splenomegalie EKH ¹	Makroskopie Histologie EM ² Isolierung	(Forbes et al., 1997) England
Habichtartige (<i>Accipitridae</i>)	100	7	<i>Nicht bekannt</i>	AK ⁴ – Nachweis mittels AGP ⁵	(Fröhlich et al., 2002) Deutschland
Falkenartige (<i>Falconidae</i>)	40	0			
Eulen (<i>Stringiformes</i>)	27	0			
Aplomadofalke (<i>F. femoralis</i>)	110	62	Apathie, Anorexie, Dehydratation, Diarrhoe, plötzliche Todesfälle, Splenomegalie, Enteritis, EKH ¹	Makroskopie Histologie In-situ- Hybridisierung IHC ⁶ PCR ⁷ *) Sequenzierung Southern Blot	(Schrenzel et al., 2005) USA
Wanderfalke (<i>F. peregrinus</i>)	102	6			
6 weitere Falkenarten	10	10			
Aplomadofalke (<i>F. femoralis</i>)	18	13	Apathie, Anorexie, Dehydratation, Diarrhoe, plötzliche Todesfälle, Splenomegalie, Enteritis, EKH ¹	Makroskopie Isolierung EM ² PCR ⁷ *) SNT ⁸	(Oaks et al., 2005) USA
Wanderfalke (<i>F. peregrinus</i>)	9	8			
Gerfalke (<i>F. rusticolus</i>)	7	2			
Harpyie (<i>Harpia harpyja</i>)	5	0			
Taita-Falke (<i>F. fasciinucha</i>)	3	3	Lethargie, Anorexie, verstorben, nekrotisierende Hepatitis, Splenitis, Nephritis,	Makroskopie In-situ- Hybridisierung Histologie Isolierung	(Van Wettere et al., 2005) USA
Ger- Wanderfalke (<i>F. rusticolus</i> x <i>F. peregrinus</i>)	3	3			

Vogelspezies	Anzahl untersuchter Vögel	Positive Vögel	Symptomatik sowie pathologische und histologische Veränderungen	Nachweismethode und Identifizierung	Referenz / Land
			Intranukleäre EK ⁹	EM ² PCR ⁷ *)	
Taita-Falke (<i>Falco fasciinucha</i>)	7	7	Lethargie, Anorexie, verstorben, Hepato- und Splénomegalie, EKH ¹	Makroskopie In-situ- Hybridisierung Histologie EM ² PCR ⁷ *) Sequenzierung	(Dean et al., 2006) USA
Wüstenbussard (<i>Parabuteo unicinctus</i>)	1	1	Hepato- und Splénomegalie, erweiterter Drüsen- und Muskelmagen mit Hämorrhagien und Ulzeration, intranukleäre EK ⁹ in den genannten Organen	Makroskopie Histologie PCR ⁷ Sequenzierung	(Zsivanovits et al., 2006) England
Bengalen-Uhu (<i>Bubo bengalensis</i>)	1	1			
Milchuhu (<i>Bubo lacteus</i>)	1	1			
Buntfalke (<i>F. sparverius</i>)	1	1	Splenitis und EKH ¹	Makroskopie Histologie EM ² PCR ⁷ *) Sequenzierung	(Tomaszewski and Phalen, 2007) USA
Schwarzmilan (<i>Milvus migrans</i>)	13	13	Nekrotisierende Hepatomegalie, Enteritis und Nephritis	Makroskopie Isolierung AK ⁴ - Nachweis mittels - AGP ⁵ - IFT ¹⁰ - SNT ⁸ PCR ⁷	(Kumar et al., 2010) Indien
Galapagos-	43	24	Keine Symptome	AK ⁴	(Deem et al.,

Vogelspezies	Anzahl untersuchter Vögel	Positive Vögel	Symptomatik sowie pathologische und histologische Veränderungen	Nachweismethode und Identifizierung	Referenz / Land
Habicht (<i>Buteo galapagoensis</i>)				Nachweis mittels AGP ⁴	2012) Galapagos
Glanzkrähe (<i>Corvus splendens</i>)	10	8	Keine Symptome	HAH ¹¹	(Manzoor et al., 2013) Pakistan
Truthahngeier (<i>Cathartes aura</i>)	26	62	Keine Symptome	AK ⁴ Nachweis	(Straub et al., 2015) USA
Steinadler (<i>Aquila chrysaetos</i>)	19	25		mittels AGP ⁴	

*) Nachweis von Aviadenoviren

¹ EKH = Einschlusskörperchen-Hepatitis

² EM = Elektronenmikroskopie

³ GIT = Gastro-Intestinal-Trakt

⁴ AK = Antikörper

⁵ AGP = Agargel-Präzipitationstest

⁶ IHC = Immunhistochemie

⁷ PCR = Polymerase Kettenreaktion

⁸ SNT = Serum-Neutralisationstest

⁹ EK = Einschlusskörperchen

¹⁰ IFT = Indirekter Fluoreszenz-Antikörpertest

¹¹ HAH = Hämagglutinationshemmtest

2.1.4. Vorkommen aviärer Adenoviren bei Wildvögeln

In der Literatur finden sich auch mehrere Berichte über den Nachweis von Adenoviren beim Wassergeflügel (Brash et al., 2009; Gulka et al., 1984; Hlinak et al., 1998; Kajan et al., 2012). Hierbei handelte es sich meistens um das Enten-Atadenovirus A bzw. das Gänse-Aviadenovirus A handelte. Anfang der achtziger Jahre gelang King et al. (1981) der Nachweis eines Adenovirus bei einer Virginia-Wachtel. In jüngster Zeit wurden Adenoviren elektronenmikroskopisch bei einem Grau-Kranich in Deutschland und per PCR bei Wildtauben in Kalifornien nachgewiesen (Fanke et al., 2011; Hollamby et al., 2003; Phan et al., 2013). Antikörper gegen Adenoviren konnten bei Pfauen in einem Zoo in Michigan festgestellt werden (Hollamby et al., 2003). Über den Nachweis von Adenoviren bei Rabenvögeln liegen bisher keine Daten vor.

2.2. Aviäre Herpesviren

2.2.1. Taxonomie

Gemäß der Virustaxonomie des ICTV lässt sich die Familie der Herpesviren in drei verschiedene Subfamilien unterteilen. Alle aviären Herpesviren werden dem Genus *Iltovirus* bzw. *Mardivirus* der Subfamilie Alphaherpesvirinae zugeordnet. Zum Genus *Iltovirus* gehören das Hühner-Herpesvirus-1 (*GaHV-1*) sowie das Papageien- und Sittich-Herpesvirus-1 (*PsHV-1*). Das Genus *Mardivirus* umfasst fünf verschiedene Spezies: ein Enten-Herpesvirus-1 (*AnHV-1*), ein Tauben-Herpesvirus-1 (*CoHV-1*), zwei Hühner-Herpesviren-2 und -3 (*GaHV-2* und -3) sowie ein Puten-Herpesvirus-1 (*MeHV-1*) (ICTV, 2012).

Frühere Einteilungen der Taxonomie, die unter anderem auf Basis von Wirtsspektrum, Infektions- und Wachstumseigenschaften vorgenommen wurden, führten zu widersprüchlichen Aussagen in Bezug auf die Identifizierung und Klassifizierung von Herpesvirusisolaten von Greifvögeln (Kaleta, 1990; Mare and Graham, 1973; Potgieter et al., 1979; Tantawi et al., 1983). Neuere Untersuchungen, wie z.B. phylogenetische Analysen, hatten einige Reklassifizierungen zur Folge. Da es nicht möglich ist, das Falken-Herpesvirus-1 und das Eulen-Herpesvirus-1 serologisch vom Tauben-Herpesvirus-1 zu unterscheiden, und alle drei identische Sequenzen eines Fragmentes des DNA-Polymerase-Genes aufweisen, wird vermutet, dass es sich bei allen drei Viren um das Tauben-Herpesvirus 1 handelt (Ehlers et al., 1999; Gailbreath and Oaks, 2008; Wellehan et al., 2003).

Familie: Herpesviridae

Subfamilie: **Alphaherpesvirinae**

Genus: ***Iltovirus***

Spezies: ***Gallid herpesvirus 1***
(***GaHV-1*** = Hühner-Herpesvirus-1)

Spezies: ***Psittacid herpesvirus 1***
(***PsHV-1*** = Papageien- und Sittich-Herpesvirus-1)

Genus: ***Mardivirus***

Spezies: ***Columbid herpesvirus 1***
(***CoHV-1*** = Tauben-Herpesvirus-1)

Spezies: ***Anatid herpesvirus 1***
(***AnHV-1*** = Enten-Herpesvirus-1)

Spezies: ***Gallid herpesvirus 2***
(***GaHV-2*** = Hühner-Herpesvirus-1)

Spezies: ***Gallid herpesvirus 3***
(***GaHV-3*** = Hühner-Herpesvirus-1)

Spezies: ***Meleagrid herpesvirus 1***
(***MeHV-1*** = Puten-Herpesvirus-1)

2.2.2. Ätiologie

Herpesviren sind pleomorphe, behüllte, 120 – 200 nm große Viren, die eine doppelsträngige, lineare DNA von 120 – 250 Kbp als Genom enthalten. Sie haben eine doppelschichtige lipidhaltige Membran mit Oberflächenprojektionen. Das Kapsid mit einer Größe von 100 -110 nm, im Inneren des Virions, weist eine ikosaedrische Symmetrie auf und besteht aus 162 Kapsomeren (150 Pentone und 12 Hexone). Der Raum zwischen dem Kapsid und der Hülle wird von einem Gemisch aus Proteinen, dem Tegument, ausgefüllt. Die Proteine unterstützen das Virus bei der Replikation und der Immunevasion (Poultry Diseases, 2013).

Aviäre Herpesviren sind weltweit verbreitet und konnten bei vielen Vogelspezies jeden Alters mit und ohne Krankheitssymptomen nachgewiesen werden (Burtscher and Sibalín, 1975; Greenwood and Cooper, 1982; Mare and Graham, 1973; Phalen et al., 2011; Ramis et al., 1994; Rose et al., 2012; Wozniakowski et al., 2013; Zsivanovits et al., 2004). Im Allgemeinen besitzen Herpesviren ein enges Wirtsspektrum. Die Übertragung erfolgt horizontal aerogen, oral oder durch Kontakt über die Schleimhäute (Poultry Diseases, 2013). Im Gegensatz zum GaHV-1, dem Auslöser der Infektiösen Laryngotracheitis der Hühner und anderer Hühnervögel (Ou and Giambone, 2012), dem GaHV-2 welches zur Marek-Krankheit bei Hühnern (Hassanin et al., 2013) und dem AnHV-1, welches zur Entenpest beim Wassergeflügel (Wang et al., 2013) führt, ist die Rolle der Herpesviren in Bezug auf das Erkrankungsgeschehen anderer Vogelarten nicht genau bestimmt. Bei Wildvögeln wurden Herpesvirus-Infektionen festgestellt, die sich durch eine kurze unspezifische Klinik und eine hohe Lethalität auszeichneten. Pathologisch-histologisch konnten häufig herdförmige Degenerationen und Nekrosen unter Bildung von intranukleären Einschlusskörperchen (IEK) in unterschiedlichen Organen, wie Leber, Milz und Knochenmark festgestellt werden (Gailbreath and Oaks, 2008; Mare and Graham, 1973; Ward et al., 1971). Dabei handelt es sich unter anderem um die Hepatosplenitis bei Eulen, die IEK-Krankheit der Falken mit ähnlichem Krankheitsbild wie bei Storchen, Kranichen und Wachteln, sowie bei Tauben und der Pacheco-Krankheit bei Papageien und Sittichen (Heidenreich, 1995). Oft verursachen Herpesviren in ihren Primärwirten weniger Schaden als in Fehlwirten. Verschiedene Autoren berichten über das Auftreten von Krankheitssymptomen bei Greifvögeln, nachdem diese Tauben als Futter aufgenommen hatten (Gailbreath and Oaks, 2008; Kocan et al., 1977a; Pinkerton et al., 2008; Ward et al., 1971). Es wird vermutet, dass die Prävalenz vom Tauben-Herpesvirus-1 (CoHV-1) in Felsentauben sehr hoch ist (Kaleta, 1990; Vindevogel and Pastoret, 1981) wohingegen die Seroprävalenz bei Greifvögeln signifikant niedriger liegt (Schettler et al., 2001; Zsivanovits et al., 2004).

2.2.3. Vorkommen aviärer Herpesviren bei Greif- und Rabenvögeln

Ein Überblick über den Nachweis von Herpesviren bei verschiedenen Greifvögeln ist in Tabelle 2 dargestellt. In den siebziger Jahren des vergangenen Jahrhunderts wurden erstmals Herpesvirusinfektionen bei Falken und Eulen in den USA und auch in Österreich beschrieben (Burtscher and Sibalin, 1975; Halliwell, 1971; Kocan et al., 1977b; Mare and Graham, 1973; Sileo et al., 1975; Ward et al., 1971). Die Diagnose erfolgte aufgrund typischer pathologisch-anatomischer Organveränderungen, wie multiple Nekroseherde in Leber, Milz und Knochenmark und dem mikroskopischen Nachweis IEK bzw. mittels Virusisolierung. Greenwood und Cooper (1982) berichteten über den Nachweis von Herpesviren bei Bunt- und Turmfalken in England. Später folgten Berichte über den Nachweis von Herpesviren bei verschiedenen Falken und Eulen in Spanien, England, Deutschland, USA, Australien, Kanada und Polen (Gailbreath and Oaks, 2008; Gough et al., 1995; Mozos et al., 1994; Phalen et al., 2011; Rautenschlein and Legler, 2006; Rose et al., 2012; Schettler et al., 2001; Wozniakowski et al., 2013; Zsivanovits et al., 2004). Die Infektion verläuft akut bis perakut. Klinische Symptome sind meist unspezifisch: Lethargie, Schwäche, Unwohlsein, Anorexie und eine hellgrüne Färbung der Harnsäure sind möglich. Hämatologisch lässt sich häufig eine Leukopenie feststellen. Nachweise von Herpesviren bei Greifvögeln aus der Familie der Habichtartigen sind dagegen selten. Docherty et al. (1983) gelang die Isolierung eines Herpesvirus von einem klinisch unauffälligen Weißkopfseeadler-Nestling in den USA. Mittels Neutralisationstest konnte das gewonnene Isolat weder durch Antiseren gegen das AnHV-1, gegen das Herpes-Simplex-Virus, noch gegen zwei Herpesvirus-Isolate von jeweils einem Falken bzw. einem Kranich mit IEK-Krankheit neutralisiert werden. In Spanien wurden bei einem Zwergadler und einem Mäusebussard Herpesviren elektronenmikroskopisch nachgewiesen (Ramis et al., 1994). In Deutschland wiesen Schettler et al. (2001) und Zsivanovits et al. (2004) unter Verwendung von Virusisolaten verschiedener Greifvögel Antikörper gegen Herpesviren mittels Serumneutralisationstest (SNT) bei Vögeln der Familie der Habichtartigen sowie bei Falken und Eulen nach. Im selben Zeitraum konnte Lierz et al. (2002a) Antikörper gegen das Merlinfalkenherpesvirus bei Mäusebussarden, Habichten, Sperbern und schwarzen Milanen nachweisen, während bei den weiterhin untersuchten Falken, Eulen und einem Seeadler keine Antikörpertiter festgestellt werden konnten. Mittels PCR und Sequenzanalyse erfolgte der Nachweis des Tauben-Herpesvirus-1 (CoHV-1) bei weiteren Vertretern der Familie der Habichtartigen, zwei Rundschwanzsperbern in den USA und zwei Mäusebussarden sowie zwei Habichten in Polen (Pinkerton et al., 2008; Wozniakowski et al., 2013). Weitere Sequenzanalysen sprechen dafür, dass das CoHV-1 auch für die IEK-Krankheit bei Falken und Eulen verantwortlich ist (Gailbreath and Oaks, 2008; Gunther et al., 1997; Phalen et al., 2011; Rose et al., 2012; VanDevanter et al., 1996; Wozniakowski et al., 2013). In der Literatur wurde nur in einem Fall über das Vorkommen von Herpesviren bei Rabenvögeln

berichtet. In Polen wurde 2013 bei einer Nebelkrähe per PCR und anschließender Sequenzierung ein Herpesvirus nachgewiesen (Wozniakowski et al., 2013).

Tab. 2: Übersicht über Berichte zum Vorkommen von aviären Herpesviren bei Greif- und Rabenvögeln

Vogelspezies	Anzahl untersuchter Vögel	Positive Vögel	Symptomatik sowie pathologische und histologische Veränderungen	Nachweismethode und Identifizierung	Referenz / Land
Virginia-Uhu (<i>Bubo virginianus</i>)	1	1	Organvergrößerungen und tumoröse Veränderungen in vielen Organen und Nerven	Makroskopie Histologie	(Halliwell, Wh, 1971) USA
Präriefalke (<i>F. mexicanus</i>)	1	1	Nekroseherde in Leber, Milz und Knochenmark, intranukleäre EK ¹	Makroskopie Isolierung Histologie	(Ward et al., 1971) USA
Präriefalke (<i>F. mexicanus</i>)	5	5	Hepato- und Splenomegalie, Nekroseherde in Leber, Milz und Knochenmark, intranukleäre EK ¹	Makroskopie Isolierung Histologie	(Mare and Graham, 1973) USA
Rothalsfalke (<i>F. Chiquera</i>)	1	1			
Wanderfalke (<i>F. peregrinus</i>)	1	1			
Gerfalke (<i>F. rusticolus</i>)	1	1			
Uhu (<i>Bubo bubo</i>)	42	31	Nicht bekannt	Makroskopie Isolierung Histologie	(Burtscher and Sibalín, 1975) Österreich
Waldohreule (<i>Asio otus</i>)	13	8			
Schneeeule (<i>Nyctea scandiaca</i>)	3	2			
Eulen (Spezies nicht bestimmt)	4	2			

Vogelspezies	Anzahl untersuchter Vögel	Positive Vögel	Symptomatik sowie pathologische und histologische Veränderungen	Nachweismethode und Identifizierung	Referenz / Land
<i>weitere untersuchte Eulen</i>	30	0			
Virginia-Uhu (<i>Bubo virginianus</i>)	1	1	Multiple Nekroseherde in Leber, Milz, Pharynx und Darm	Makroskopie Isolierung Histologie EM ²	(Sileo et al., 1975) USA
Buntfalke (<i>F. sparverius</i>)	1	1	Hepato- und Splenomegalie, Nekroseherde in Leber und Milz, intranukleäre EK ¹	Makroskopie Histologie EM ²	(Kocan et al., 1977a) USA
Weißkopf-seeadler (<i>Haliaeetus leucocephalus</i>)	9	1	Nicht bekannt	Isolierung EM ² SNT ³	(Docherty et al., 1983) USA
Hybridfalke, aus Deutschland importiert	1	1	Dehydratation, Niere mit Uratablagerungen, Hepato- und Splenomegalie, Nekroseherde in Leber und Milz, intranukleäre EK ¹	Makroskopie Histologie Isolierung EM ² SNT ³	(Gough et al., 1993) England
Wanderfalke (<i>F. peregrinus</i>)	1	1	Hepatomegalie, Nekroseherde in Leber, Darm und Nierenepithel, intranukleäre EK ¹	Makroskopie Histologie	(Mozos et al., 1994) Spanien
Zwergadler (<i>Aquila pennata</i>)	1	1	Abgemagert, intranukleäre EK ¹	Makroskopie Histologie	(Ramis et al., 1994)
Mäusebussard (<i>Buteo buteo</i>)	1	1	im Lebergewebe		Spanien

Vogelspezies	Anzahl untersuchter Vögel	Positive Vögel	Symptomatik sowie pathologische und histologische Veränderungen	Nachweismethode und Identifizierung	Referenz / Land
Schneeeule (<i>Nyctea scandiaca</i>)	1	1	Anorexie und Apathie, Nekrosen im Oropharynx, Hepatomegalie mit multifokalen Nekrosen, Milz- und Nierenschwellung, Enteritis, intranukleäre EK ¹	Makroskopie Histologie Isolierung SNT ³	(Gough et al., 1995) England
Mäusebussard (<i>Buteo buteo</i>) Waldkauz (<i>Strix aluco</i>) Fischadler (<i>Pandion haliaeetus</i>)	88 17 8	1 1 1	Nicht bekannt	AK ⁴ - Nachweis mittels SNT ³	(Schettler et al., 2001) Deutschland
Mäusebussard (<i>Buteo buteo</i>) Sperber (<i>Accipiter nisus</i>) Habicht (<i>Accipiter gentilis</i>) Schwarzer Milan (<i>Milvus migrans</i>) Seeadler (<i>Haliaeetus albicilla</i>) Falkenartige (<i>Falconidae</i>) Eulen (<i>Strigiformes</i>)	24 6 7 4 1 16 4	14 2 4 2 0 0 0	Vorwiegend Vögel mit einem Trauma	VNT ⁵	(Lierz et al., 2002a) Deutschland

Vogelspezies	Anzahl untersuchter Vögel	Positive Vögel	Symptomatik sowie pathologische und histologische Veränderungen	Nachweismethode und Identifizierung	Referenz / Land
Habichtartige (<i>Accipitridae</i>) Falkenartige (<i>Falconidae</i>) Eulen (<i>Strigiformes</i>)	104 75 73	1 5 4	Nicht bekannt	Isolierung SNT ³	(Zsivanovits et al., 2004) Deutschland
Uhu (<i>Bubo bubo</i>)	1	1	Abgemagert, Hepato- und Splenomegalie, Nekroseherde in Leber und Milz, intranukleäre EK ¹	Makroskopie Histologie Isolierung PCR ⁶ Sequenzierung	(Rautenschlein and Legler, 2006) Deutschland
Virginia-Uhu (<i>Bubo virginianus</i>) Gerfalke (<i>Falco rusticolus</i>)	4 2	4 2	Hepato- und Splenomegalie, Nekroseherde in Leber, Milz und Knochenmark, intranukleäre EK ¹	Makroskopie Histologie Isolierung EM ² PCR ⁶ Sequenzierung	(Gailbreath and Oaks, 2008) USA
Rundschwanzsperber (<i>Accipiter cooperii</i>)	2	2	Intranukleäre EK ¹ in multiplen Organen	Makroskopie Histologie EM ² PCR ⁶ Sequenzierung	(Pinkerton et al., 2008) USA
Kläfferkauz (<i>Ninox connivens</i>) Australischer Baumfalke (<i>F. longipennis</i>) Riesenkauz (<i>Ninox strenua</i>)	2 1 1	2 1 1	Hepato- und Splenomegalie mit multiplen Nekrosen und intranukleären EK ¹ und hämorrhagische Enteritis	Makroskopie Histologie EM ² PCR ⁶ Sequenzierung	(Phalen et al., 2011) Australien
Virginia-Uhu (<i>Bubo</i>)	16	4	Abmagerung, Nekroseherde in Leber und Milz,	Makroskopie Histologie	(Rose et al., 2012)

Vogelspezies	Anzahl untersuchter Vögel	Positive Vögel	Symptomatik sowie pathologische und histologische Veränderungen	Nachweismethode und Identifizierung	Referenz / Land
<i>virginianus</i>)			z.T. nekrotisierende pharyngitis, intranukleäre EK ¹	PCR ⁶ Sequenzierung Phylogenetische Analyse	Kanada
Wanderfalke (<i>F. peregrinus</i>)	2	2	Nicht bekannt	Isolierung PCR ⁶ Sequenzierung Phylogenetische Analyse	(Wozniakowski et al., 2013) Polen
Mäusebussard (<i>Buteo buteo</i>)	11	2			
Habicht (<i>Accipiter gentiles</i>)	19	2			
Turmfalke (<i>F. tinnunculus</i>)	4	1			
Waldkauz (<i>Strix aluco</i>)	6	1			
Nebelkrähe (<i>Corvus cornix</i>)	1	1			
Waldohreule (<i>Asio otus</i>)	1	0			
Seeadler (<i>Haliaeetus albicilla</i>)	2	0			

¹ EK = Einschlusskörperchen² EM = Elektronenmikroskopie³ SNT = Serumneutralisationstest⁴ AK = Antikörper⁵ VNT = Virusneutralisationstest⁶ PCR = Polymerase-Kettenreaktion

2.3. Aviäre Influenzaviren (AIV)

2.3.1. Taxonomie

Gemäß der Virustaxonomie des ICTV lässt sich die Familie der Orthomyxoviren in sechs verschiedene Genera unterteilen. Bei allen aviären Influenzaviren handelt es sich um Viren des Genus Influenzavirus A (ICTV, 2012).

Familie: Orthomyxoviridae
Genus: **Influenzavirus A**
Spezies: **Influenza A Virus**

2.3.2. Ätiologie

Influenza A Viren sind behüllte pleomorphe 80 – 120 nm große Viren mit einem 9 – 15 nm großem helikalen Nukleokapsid, welche eine einzelsträngige, segmentierte RNA von negativer Polarität enthalten. Es lassen sich acht Segmente unterscheiden, die für elf Proteine kodieren (Chen et al., 2001; Cox and Subbarao, 2000). Unter der Lipiddoppelmembran liegen typspezifische Antigene, die Matrix- und die Nukleoproteine. Anhand der Glykoproteine Hämagglutinin (HA) und Neuraminidase (NA), die als „spikeförmige“ Projektionen auf der lipidhaltigen Hülle liegen, werden die Influenza A Viren in Subtypen unterteilt. Für das *Influenza A Virus* wurden bei Vögeln 16 Subtypen für das Hämagglutinin und neun Subtypen für die Neuraminidase nachgewiesen (Fouchier et al., 2005). Durch einen „antigenetic shift“, dem vollständigen Austausch von Genen als „genetic reassortment“ kommt es zur Bildung neuer Varianten von *Influenza A Viren*. Dieser Vorgang ist innerhalb einer Spezies, aber auch speziesübergreifend möglich und führt zur Bildung neuer Subtypen. Erfolgen Änderungen lediglich durch den Austausch einzelner Aminosäuren handelt es sich um einen „antigenic drift“. Bei diesem Vorgang kommt es, vermutlich durch mutagene Selektion unter Druck steigender Immunität, zu Variationen innerhalb eines Subtyps (Cattoli et al., 2011; Hoper et al., 2012; Schmidt et al., 1978; Suarez et al., 2004).

Viele Vogelspezies, vor allem große Ansammlungen von Zugvögeln, dienen als Hauptreservoir für aviäre Influenzaviren (AIV) und bietet auf diese Weise die Möglichkeit für das Reassortment (Arenas et al., 1990; Halvorson et al., 1983; Hatchette et al., 2004; Kocan et al., 1980; Nerome et al., 1978; Philpott et al., 1989; Sharp et al., 1997; Smitka and Maassab, 1981; Stunzner et al., 1980). Hühnervögel gelten als besonders krankheitsanfällig, während Wassergeflügel seit langer Zeit als natürliches Reservoir für AIV bekannt ist (Alexander, 2000; Brown et al., 2006). AIV wird über Sekrete und über den Kot ausgeschieden. Die Übertragung erfolgt aerogen, durch Kontakt und oral, z.B. durch

kontaminiertes Oberflächenwasser (Delogu et al., 2010; Perkins and Swayne, 2001). Im hochempfindlichen Geflügel können niedrigpathogene aviäre Influenzaviren (LPAIV) der Subtypen H5 und H7 durch Tierpassagen eine Virulenzsteigerung erfahren und zu einer hochpathogenen Form mutieren (Banks et al., 2000; Cilloni et al., 2010; Senne et al., 1996; Wood et al., 1993). Die Krankheitsanzeichen nach einer Infektion mit AIV variieren stark je nach Subtyp des AIV. Während in den meisten Fällen eine Infektion mit AIV asymptomatisch verläuft, können hochpathogene aviäre Influenzaviren (HPAIV) schwere Krankheitsverläufe mit hoher Morbidität und Mortalität verursachen. Erkrankte Vögel zeigen häufig zentralnervöse Störungen. Anatomisch-pathologisch wurden häufig Meningoenzephalitis, Blutungen und Nekrosen im Herzmuskel und Pankreas sowie Schwellungen von Milz und Nieren beschrieben (Beer et al., 2006; Ellis et al., 2009; Tanimura et al., 2006; van den Brand et al., 2015; Webster et al., 1992). Die hochpathogene aviäre Influenza (HPAI) ist nach der Geflügelpestverordnung (BGBl. I S. 3538) eine anzeigepflichtige Infektionskrankheit. Es handelt sich um H5- oder H7-Virussubtypen, bei denen im Rahmen einer Nukleotidsequenzanalyse das Vorhandensein multipler basischer Aminosäuren im Spaltbereich des Hämagglutinins nachgewiesen wird, oder die einen intravenösen Pathogenitätsindex (IVPI) in sechs Wochen alten Hühnern von 1,2 oder mehr zeigen. Die HPAI stellt eine der wichtigsten biologischen Bedrohungen nicht nur für Wirtschaftsgeflügel, sondern auch für andere Vogelspezies, Säugetiere und den Menschen dar (Capua and Alexander, 2004b, 2006).

2.3.3. Vorkommen von AIV bei Greif- und Rabenvögeln

Der erste beschriebene Nachweis von Antikörpern gegen AIV bei Greifvögeln erfolgte in den siebziger Jahren des vergangenen Jahrhunderts per AGP bei einem Rotschwanzbussard in den USA (Kocan et al., 1977a). Erst ab der Jahrtausendwende finden sich zahlreiche weitere Berichte über den Nachweis von AIV bei verschiedenen Greif- und Rabenvögeln (Tab. 3).

Im Jahr 2000 wurde zeitgleich bei einem Wanderfalken in den Vereinigten Arabischen Emiraten (VAE) und in Norditalien bei einem Sakerfalken HPAIV des Subtyps H7 isoliert. Während in den VAE keine Hinweise auf eine weitere Verbreitung der Infektion mit AIV H7 in der Region vorhanden waren, gab es zur selben Zeit eine AIV-Epidemie mit H7N3 beim Wirtschaftsgeflügel in Italien. Beide betroffenen Falken verstarben kurze Zeit nachdem sie unspezifische Symptome wie Apathie und Schwäche zeigten. Eine Infektion des Sakerfalken über infizierte Futterküken wurde in Betracht gezogen (Campitelli et al., 2008; Magnino et al., 2000; Manvell et al., 2000). Mit dem letzten HPAIV H5N1 Ausbruch, welcher sich über mehrere Jahre global vollzog, stiegen auch die Berichte über infizierte Greif- und Rabenvögel. In den meisten Fällen handelte es sich dabei um Wildvögel, die verendet aufgefunden worden waren und oft keine weiteren pathologisch-anatomischen

Veränderungen aufwiesen. In Hong Kong gab es zwischen den Jahren 2004 und 2009 vermehrt Fälle von mit HPAIV H5N1 infizierte Wanderfalken, Mäusebussarde, Schopfabichte, Turmfalken, Elstern und Krähen (Ellis et al., 2009; Kwon et al., 2005; Li et al., 2004; Smith et al., 2009). Weitere Berichte über den Nachweis von HPAIV H5N1 bei verschiedenen Greif- und Rabenvögeln folgten aus Japan, Korea, Afrika und Bulgarien (Kim et al., 2012; Shivakoti et al., 2010; Smith et al., 2009; Soda et al., 2013; Tanimura et al., 2006). Am Brüsseler Flughafen in Belgien wurde im Jahr 2004 bei zwei aus Thailand geschmuggelten Haubenadlern ebenfalls HPAIV H5N1 nachgewiesen (Van Borm et al., 2005). Im Jahresbericht des Friedrich-Löffler-Instituts aus dem Jahr 2006 wurde über den Nachweis von HPAIV H5N1 in Deutschland bei insgesamt 343 Wildvögeln berichtet. Neben hauptsächlich betroffenem Wassergeflügel und anderen Wildvögeln konnte der Erreger auch bei Greif- und Rabenvögeln, vor allem Bussarden und Wanderfalken, nachgewiesen werden (Beer et al., 2006). Zu ähnlichen Ergebnissen kamen van den Brand et al. (2015), die insgesamt 624, 2006 in Mecklenburg Vorpommern verendete Greifvögel, auf H5N1 hin untersuchten. Im selben Jahr wurde auch in Dänemark und Schweden HPAIV H5N1 bei acht Bussarden und einem Wanderfalken detektiert. Bei der Sequenzierung ergaben sich große Ähnlichkeiten zu Wildvogel-Isolaten aus Deutschland (Bragstad et al., 2007; Komar and Olsen, 2008). In Saudi Arabien verstarben 10 (62,5 %) von 16 Beizfalken an einer HPAIV H5N1 Infektion, nachdem sie Jagdkontakt zu erkrankten Kragentrappen hatten (Khan et al., 2009). Im Rahmen eines AIV-Wildvogelmonitorings 2006 in Burkina Faso wurden 48 entweder bereits verendete oder mit respiratorischen und neurologischen Symptomen sowie Diarrhoe aufgefundene Kappengeier beprobt. Das nachgewiesene Influenzavirus zeigte nach einer phylogenetischen Sequenzanalyse eine enge Verwandtschaft zu den HPAIV H5N1–Geflügel-Isolaten aus demselben Gebiet (Ducatez et al., 2007a).

Während es sich in den meisten Berichten um den Nachweis HPAIV bei bereits verendeten Vögeln handelte, gelang Aly et al. (2010) erstmalig die Isolierung eines LPAIV H7N7 von einem Schwarzmilan in Ägypten, der keinerlei Krankheitssymptome aufwies. Wenig später wurde über den Nachweis von LPAIV bei einem verendeten Mäusebussard in der Türkei berichtet (Albayrak and Ozan, 2010).

Einen wichtigen Mechanismus in der Verbreitung von AIV stellt die Migration infizierter Wildvögeln dar (Keawcharoen et al., 2008). Greifvogelspezies, z.B. Bussarde und Wanderfalken, die sich unter anderem von kleineren Vögeln, Bussarde zum Teil auch von Aas ernähren tragen ein erhöhtes Risiko, sich mit AIV zu infizieren (Brown and Stallknecht, 2008). Kohls et al. (2011) hingegen konnten im Rahmen ihrer Untersuchungen bei Greifvögeln, die mit infizierter Beute in Kontakt kamen keine Infektion feststellen. Ein weiterer wichtiger Aspekt ist der Zoonosecharakter der AIV. In der Falknerei werden Greifvögel in

Gefangenschaft mit engem Kontakt zum Menschen gehalten. Es gibt jedoch keine Berichte einer Virusübertragung von Greifvögeln auf den Menschen.

Tab. 3: Übersicht über Berichte zum Vorkommen von AIV bei Greif- und Rabenvögeln

Vogelspezies	Anzahl untersuchter Vögel	Positive Vögel	Symptomatik sowie pathologische und histologische Veränderungen	Nachweismethode und Identifizierung	Referenz / Land
Rotschwanzbussard (<i>Buteo jamaicensis</i>)	86	1	Nicht bekannt	AK ¹ - Nachweis mittels AGP ²	(Kocan et al., 1977b) USA
Wanderfalke (<i>F. peregrinus</i>)	1	1	Nach kurzer Schwäche und Apathie verendet, Hepato- und Splenomegalie	Makroskopie Histologie Isolierung Serotypisierung mittels HA ³ und HAH ⁴ IVPI ⁵ Test	(Manvell et al., 2000) VAE
Sakerfalke (<i>F. cherrug</i>)	1	1	Nach kurzer Schwäche und Apathie verendet, Hydroperikard und Hämorrhagien im Jejunum	Makroskopie Isolierung Serotypisierung mittels HA ³ und HAH ⁴ IVPI ⁵ Test	(Magnino et al., 2000) Italien
Wanderfalke (<i>F. peregrinus</i>)	1	1	Nicht bekannt, verendet	qRT-PCR ⁶ Sequenzierung Phylogenetische Analyse	(Li et al., 2004) China
Elster (<i>Pica pica sericea</i>)	3	3	Verendet, vergrößerte Leber und Milz, Nekrosen im Pankreas, lymphozytäre Meningo-encephalitis	Makroskopie Histologie Isolierung AK ¹ - Nachweis mittels AGP ² Serotypisierung mittels HA ³	(Kwon et al., 2005) Südkorea

Vogelspezies	Anzahl untersuchter Vögel	Positive Vögel	Symptomatik sowie pathologische und histologische Veränderungen	Nachweismethode und Identifizierung	Referenz / Land
				IVPI ⁵ Test	
Nepal-haubenadler (<i>Spizaetus nipalensis</i>) aus Thailand	2	2	Enteritis, Pneumonie	Makroskopie Isolierung Serotypisierung mittels HAH ⁴ IVPI ⁵ Test qRT-PCR ⁶	(Van Borm et al., 2005) Belgien
Bussard (<i>Buteo spec.</i>)	28	28	Verendet, virusinduzierte Enzephalitis	Makroskopie Histologie qRT-PCR ⁶ Sequenzierung Phylogenetische Analyse	(Beer et al., 2006) Deutschland
Kornweihe (<i>Circus cyaneus</i>)	1	1			
Habicht (<i>Accipiter gentilis</i>)	1	1			
Falke (<i>Falco spec.</i>)	4	4			
Uhu (<i>Bubo bubo</i>)	2	2			
Nebelkrähe (<i>Corvus corone cornix</i>)	1	1			
Dickschnabelkrähe (<i>Corvus macrorhynchos</i>)	307	9	Verendet, petichale Blutungen und Nekrosen im Pankreas, Degeneration und Nekrose von Neuronen und Gliazellen im ZNS und Herzmuskelzellen	Makroskopie Histologie Isolierung IHC ⁷	(Tanimura et al., 2006) Japan
Kappengeier (<i>Necrosyrtes</i>)	48	48	Respiratorische, vereinzelt	Serotypisierung mittels HAH ⁴	(Ducatez et al., 2007b)

Vogelspezies	Anzahl untersuchter Vögel	Positive Vögel	Symptomatik sowie pathologische und histologische Veränderungen	Nachweismethode und Identifizierung	Referenz / Land
<i>monachus</i>)			neurologische Symptome und Diarrhoe	Phylogenetische Analyse	Burkina Faso
Mäusebussard (<i>Buteo buteo</i>)	7	7	Nicht bekannt	Tupferproben getestet auf HPAIV Subtyp H5N1 Methode nicht weiter beschrieben	(Komar and Olsen, 2008) Schweden/ Dänemark
Rauhfußbussard (<i>Buteo lagopus</i>)	1	1			
Wanderfalke (<i>F. peregrinus</i>)	1	1			
Uhu (<i>Bubo bubo</i>)	2	2			
Elster (<i>Pica pica</i>)	1	1			
Falken, versch. Beizfalken	16	10	Nicht bekannt	Isolierung Serotypisierung mittels HA ³ , HAH ⁴ und NAH ⁸ qRT-PCR ⁶ Sequenzierung Phylogenetische Analyse	(Khan et al., 2009) Saudi Arabien
Wanderfalke (<i>F. peregrinus</i>)	4	4	Nicht bekannt	Isolierung Serotypisierung mittels HA ³ und HAH ⁴ qRT-PCR ⁶ Sequenzierung Phylogenetische Analyse	(Smith et al., 2009) China
Mäusebussard (<i>Buteo buteo</i>)	1	1			
Schopfhabicht (<i>accipiter trivirgatus</i>)	1	1			
Turmfalke (<i>F. tinnunculus</i>)	1	1			
Elster (<i>Pica pica</i>)	8	8			
Krähe	3	3			

Vogelspezies	Anzahl untersuchter Vögel	Positive Vögel	Symptomatik sowie pathologische und histologische Veränderungen	Nachweismethode und Identifizierung	Referenz / Land
<i>(Corvus)</i>					
Wanderfalke (<i>F. peregrinus</i>)	2	2	Stauungen in Lunge, z.T. in Leber, Milz und Niere	Makroskopie Isolierung Serotypisierung mittels HA ³ und HAH ⁴ RT-PCR ⁹ qRT-PCR ⁶ Sequenzierung	(Ellis et al., 2009) China
Schopfhabicht (<i>Accipiter trivirgatus</i>)	1	1			
Turmfalke (<i>F. tinnunculus</i>)	1	1			
Elster (<i>Pica pica</i>)	8	8			
Krähe (<i>Corvus</i>)	6	6			
Sperber (<i>Accipiter nisus</i>)	1	1	Nicht bekannt	Isolierung Serotypisierung mittels HA ³ und HAH ⁴ RT-PCR ⁹	(Couacy-Hymann et al., 2009) Elfenbeinküste
Schwarzmilan (<i>Milvus migrans</i>)	8	1	Keine Symptome	Isolierung Serotypisierung mittels HA ³ und HAH ⁴ qRT-PCR ⁶ Sequenzierung	(Aly et al., 2010) Ägypten
Nepalhaubendadler (<i>Spizaetus nipalensis</i>)	1	1	Nicht bekannt	Isolierung Serotypisierung mittels HAH ⁴ und RT-PCR ⁹ Sequenzierung Phylogenetische Analyse	(Shivakoti et al., 2010) Japan
Mäusebussard (<i>Buteo buteo</i>)	2	1	Nicht bekannt	qRT-PCR ⁶ Isolierung HAH ⁴ gegen H5	(Albayrak and Ozan, 2010)

Vogelspezies	Anzahl untersuchter Vögel	Positive Vögel	Symptomatik sowie pathologische und histologische Veränderungen	Nachweismethode und Identifizierung	Referenz / Land
Saatkrähe (<i>corvus frugilegus</i>)	9	0		und H7	Türkei
Uhu (<i>Bubo bubo</i>)	4	4	Nicht bekannt, verwendet	Isolierung Serotypisierung mittels HAH ⁴ und NAH ⁸ RT-PCR ⁹ Sequenzierung Phylogenetische Analyse	(Kim et al., 2012) Korea
Sperber (<i>Accipiter nisus</i>)	1	1			
Turmfalke (<i>F. tinnunculus</i>)	1	1			
Wanderfalke (<i>F. peregrinus</i>)	1	1			
Krähe (<i>Corvus</i>)	1	1			
Mäusebussard (<i>Buteo buteo</i>)	1	1	Nicht bekannt, verwendet	Makroskopie Isolierung Serotypisierung mittels HAH ⁴ IVPI ⁵ Test RT-PCR ⁹ Sequenzierung	(Marinova-Petkova et al., 2012) Bulgarien
Wanderfalke (<i>F. peregrinus</i>)	7	7	Nicht bekannt, verwendet	Isolierung RT-PCR ⁹ Sequenzierung Phylogenetische Analyse	(Soda et al., 2013) Japan
Habichtskauz (<i>Strix uralensis</i>)	1	1			
Mäusebussard (<i>Buteo buteo</i>)	385	12	Verendet, Hämorrhagien im Pankreas und Gehirn, Milz- und Nierenschwellung, Degeneration und Nekrose von Neuronen und Gliazellen im ZNS	Makroskopie RT-PCR ⁹ Histopathologie IHC ⁷	(van den Brand et al., 2015) Deutschland
Sperber (<i>Accipiter nisus</i>)	111	0			
Turmfalke (<i>F. tinnunculus</i>)	38	0			
Seeadler (<i>Haliaeetus</i>)	19	0			

Vogelspezies	Anzahl untersuchter Vögel	Positive Vögel	Symptomatik sowie pathologische und histologische Veränderungen	Nachweismethode und Identifizierung	Referenz / Land
<i>albicilla</i>) Habicht (<i>Accipiter gentilis</i>); Wanderfalke (<i>F. peregrinus</i>)	10 6	0 2	und in Herzmuskelzellen		
Jagdfalken (<i>F. rusticolus</i> , <i>F. peregrinus</i>)	Nicht bekannt	Nicht bekannt	Stauungen in der Lunge und Hämorrhagien im Pankreas	Makroskopie RT-PCR ⁹ Histopathologie Sequenzierung Phylogenetische Analyse	(Naguib et al., 2015) VAE

¹ AK = Antikörper² AGP = Agargel-Präzipitationstest³ HA = Hämagglutinationstest⁴ HAH = Hämagglutinationshemmtest⁵ IVPI = Intravenöse Pathogenitätsindex⁶ qRT-PCR = Real-Time Reverse Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion⁷ IHC = Immunhistochemie⁸ NAH = Neuraminidasehemmtest⁹ RT-PCR = Reverse Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion

2.4. Newcastle Disease Virus (NDV)

2.4.1. Taxonomie

Gemäß der Virustaxonomie des ICTV lässt sich die Familie der Paramyxoviridae in zwei Subfamilien, die Paramyxovirinae und die Pneumovirinae unterteilen. Die Subfamilie der Paramyxovirinae umfasst sieben Genera. Alle aviären Paramyxoviren lassen sich dem Genus *Avulavirus* zuordnen, welcher sich wiederum in neun verschiedene Spezies, *Avian paramyxovirus 2-9* (APMV 2-9) und das NDV, auch bekannt als APMV-1, unterteilt (ICTV, 2012).

Familie: Paramyxoviridae

Subfamilie: Paramyxovirinae

Genus: ***Avulavirus***

Spezies:	<i>Avian paramyxovirus-2</i>	(APMV-2)
Spezies:	<i>Avian paramyxovirus-3</i>	(APMV-3)
Spezies:	<i>Avian paramyxovirus-4</i>	(APMV-4)
Spezies:	<i>Avian paramyxovirus-5</i>	(APMV-5)
Spezies:	<i>Avian paramyxovirus-6</i>	(APMV-6)
Spezies:	<i>Avian paramyxovirus-7</i>	(APMV-7)
Spezies:	<i>Avian paramyxovirus-8</i>	(APMV-8)
Spezies:	<i>Avian paramyxovirus-9</i>	(APMV-9)
Spezies:	<i>Newcastle Disease Virus</i>	(NDV = APMV-1)

2.4.2. Ätiologie

NDV ist ein behülltes, pleomorphes 150 – 250 nm großes Virus mit einem helikalen Nukleokapsid mit einem Durchmesser von 18 nm und einer Länge von bis zu einem μm . Das Nukleokapsid enthält das virale Genom, welches aus einer einzelsträngigen RNA (15 – 19 Kbp) mit negativer Polarität besteht (Saif et al., 2008). In die lipidhaltige Virushülle sind transmembrane Glykoproteine eingelagert, die sogenannte Spikes von 8 – 12 nm Länge bilden. Für das Anheften an eine Zelle ist das Hämagglutinin-Neuraminidase-Protein (HN) und für die Penetration in die Zielzelle das Fusions-Hämolyse-Protein (F) zuständig (Knipe et al., 2007). Basierend auf der Infektion von Hühnern unter Laborbedingungen wird NDV aufsteigend in apathogene, lentogene, mesogene und velogene Stämme eingeteilt. Sowohl die mesogenen als auch die velogenen Pathotypen werden den virulenten Stämmen zugeordnet, welche zu hoher Morbidität und Mortalität beim Nutzgeflügel führen können. Velogene Stämme werden weiterhin entsprechend ihrem Organotropismus in viszerotrope und neurotrope Stämme eingeteilt (Alexander et al., 1997; Alexander et al., 1984).

NDV ist weltweit verbreitet (Spradbrow et al., 1988) und dazu in der Lage, ein großes Wirtsspektrum an Vögeln zu infizieren (Kaleta and Baldauf, 1988). Der Erreger wurde sowohl beim Nutzgeflügel (Jorgensen et al., 2004; Marin et al., 1996; Pedersen et al., 2004; Seal et al., 2005) als auch bei Wildvögeln, vor allem Wassergeflügel, isoliert (Dormitorio et al., 2009; Douglas et al., 2007; Huovilainen et al., 2001; Jindal et al., 2010; Jorgensen et al., 2004; Takakuwa et al., 1998; Zhu et al., 2010). Die Pathogenität, entsprechend der Unterschiede von NDV, variiert mit der Wirtstierart, dem Zeitpunkt und dem Organ der Virusisolierung (Aldous et al., 2003). Die Ausscheidung von NDV findet vor allem über Sekrete des Respirationstraktes, den Kot sowie über vertikal kontaminierte Eier statt. Die Übertragung

erfolgt hauptsächlich direkt aerogen sowie oronasal. Indirekte Übertragungswege über unbelebte und belebte Vektoren spielen in der Regel eine untergeordnete Rolle. Während Infektionen mit lentogenen NDV-Stämmen in den meisten Fällen subklinische Erkrankungen hervorrufen, können mesogene und insbesondere velogene Stämme zu einem perakutem Krankheitsverlauf mit einer schnellen Herdendurchseuchung und plötzlichen Todesfällen mit Mortalitätsraten von bis zu über 90 % führen. Klinische Fälle sind charakterisiert durch respiratorische Symptome wie Rhinitis, Sinusitis und Dyspnoe, grünlich-wässrigen Durchfall, Ödeme und zentralnervöse Störungen wie z.B. Ataxie, Lähmungen, Tremor oder Ophistotonus (Susta et al., 2011). Die Newcastle Krankheit (ND) ist eine epidemisch verlaufende Infektionskrankheit des Nutzgeflügels, die durch NDV-Stämme mit einem „intracerebralen Pathogenitätsindex“ (ICPI) bei Eintagsküken von $> 0,7$ hervorgerufen wird. Sie ist eine Zoonose und nach der Geflügelpest-Verordnung (BGBl. I S. 3538) eine anzeigepflichtige Tierseuche.

2.4.3. Vorkommen von NDV bei Greif- und Rabenvögeln

Ein Überblick über Publikationen, in denen bei Greif- und Rabenvögeln Infektionen mit NDV diagnostiziert wurden, ist in Tabelle 4 dargestellt. Bei den untersuchten Vögeln handelte es sich sowohl um wilde, als auch um in Gefangenschaft lebende Tiere. Die ersten zwei Berichte über den Nachweis von NDV bei Greifvögeln wurden bereits in den 50er Jahren veröffentlicht. Dabei handelte es sich um einen verstorbenen Uhu in den USA und um einen Fischadler aus Holland (Ingalls et al., 1951; Zuydam, 1952). Zwanzig Jahre später berichten Keymer und Dawson (1971) über Infektionen mit NDV bei einem frei lebenden Turmfalken in England sowie bei drei in Gefangenschaft lebenden Schleiereulen. Weitere Berichte über den Nachweis von NDV bei Greifvögeln der Familie der Habichtartigen, Falkenartigen und Eulen folgten aus England, Deutschland, Taiwan, Israel, Korea und den USA (Choi et al., 2008; Chu et al., 1976; Haddas et al., 2014; Jindal et al., 2010; Kou et al., 1999; Lublin et al., 2001; Winteroll, 1976)). Pathologische Veränderungen wie Pneumonie und Aerosacculitis (Ingalls et al., 1951; Keymer and Dawson, 1971; Zuydam, 1952) aber auch Hämorrhagien in Muskelmagen und Darm wurden beschrieben (Choi et al., 2008; Chu et al., 1976; Lublin et al., 2001). Klinische Symptome sind zunächst recht unspezifisch wie z.B. Apathie, Anorexie, Regurgitation und metallisch-grüne Harnsäure. Oft werden ZNS-Symptome wie Lähmungen, klonische Krämpfe, Kopf-Tremor und z.B. Ataxien festgestellt (Forbes and Simpson, 1997; Samour, 2014).

Antikörper gegen NDV konnten in den USA bei einem Rotschwanzbussard (1,16 %) von insgesamt 86 untersuchten frei lebenden Greifvögeln und in Nigeria bei 21 (56,8 %) von 37 in Gefangenschaft lebenden Lanner Falken nachgewiesen werden (Kocan et al., 1977b; Okoh, 1979). In den VAE gelang es Wernery et al. (1992) NDV bei fünf Wander-, zwei

Saker- und einem Gerfalken nachzuweisen. Lierz et al. veröffentlichte (2002a) eine Studie in welcher 84 Greifvögel auf das Vorkommen von NDV Antikörper hin untersucht wurden. Antikörper wurden nur bei einem Sperber (1,19 %) nachgewiesen. Eine deutlich höhere Nachweisrate fand sich dagegen in einer spanischen Studie. So konnten bei der Untersuchung von 700 Plasma-Proben, gewonnen von 31 verschiedenen Spezies gefangener und freilebender Greifvögel, bei 120 Tieren (17,14 %) Antikörper gegen NDV nachgewiesen werden. Darüber hinaus ließen sich bei zehn Vögeln auch Antikörper gegen APMV-2 und bei vier Vögeln Antikörper gegen APMV-3 detektieren. Dabei war die Prävalenz der Antikörper gegen *NDV* bei den gefangenen Greifvögeln signifikant höher als bei den Wildvögeln, sowie bei Falken höher als bei Eulen und Habichtartigen (Höfle et al., 2002). Schettler et al. (2001) untersuchten insgesamt 448 Plasma-Proben von frei lebenden Greifvögeln aus Berlin und Brandenburg. Antikörper gegen NDV konnten in 6 (1,73 %) von 346 Taggreifvögeln, jedoch in keiner der 55 untersuchten Eulen nachgewiesen werden. Zwei Jahre später wurden in einer weiteren Studie Organproben (Gehirn und Lunge) von 331 freilebenden Greifvögeln aus Berlin und Brandenburg per Reverse Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion (RT-PCR) auf NDV hin untersucht. In dieser Studie konnte lediglich bei zwei (0,8 %) von 242 Taggreifvögeln und bei 16 (17,97 %) von insgesamt 89 untersuchten Eulen *NDV*-spezifische RNA nachgewiesen werden (Schettler et al., 2003).

Trotz eines Fallberichtes aus Israel über die erfolgreiche Isolierung eines NDV-Isolates von einem Bartgeier (Lublin et al., 2001) scheinen Geier interessanterweise oft resistent gegenüber Infektionen mit NDV zu sein. Tatsächlich waren Versuche zur experimentellen Infektion von Geiern mit NDV nicht erfolgreich (Jones, 2006). Auch Mary H. Straub (2015) gelang der Nachweis von Antikörpern gegen NDV lediglich bei einem von 46 untersuchten Truthahngeiern.

Vereinzelt gibt es auch Berichte über den Nachweis von NDV bei Rabenvögeln. So konnten in Indien bei 46 (56 %) von 82 untersuchten Glanzkrähen, später bei einer Glanzkrähe, NDV-spezifische Antikörper nachgewiesen werden, wobei eine Infektion über verendetes Nutzgeflügel nicht ausgeschlossen wurde (Roy et al., 1998; Sulochana et al., 1981). Auch in den USA und in Russland konnte NDV bei Krähen und Dohlen nachgewiesen werden (Korotetskii et al., 2010; Pearson and McCann, 1975).

Ein APMV-1 Taubenstamm wurde das erste Mal als ansteckende Krankheit der Tauben 1983 in England nachgewiesen (Alexander et al., 1984). Ausbrüche, vor allem bei ungeimpften Jungtauben treten wiederkehrend jedes Jahr vor allem im Herbst auf. In einer Studie von Wernery et al. (1992) wurde gezeigt, dass Isolate von Tauben denen von Greifvögeln, die an NDV erkrankten, sehr ähnlich waren. Es gibt ausführliche Berichte, dass

Greifvögel durch APMV-1 positive Tauben infiziert werden können. Dies kann sowohl durch engen Kontakt, als auch durch das Verfüttern von Tauben geschehen (Forbes and Simpson, 1997).

Tab. 4: Übersicht über Berichte zum Vorkommen von NDV bei Greif- und Rabenvögeln

Vogelspezies	Anzahl untersuchter Vögel	Positive Vögel	Symptomatik sowie pathologische und histologische Veränderungen	Nachweismethode und Identifizierung	Referenz / Land
Virginia Uhu (<i>Bubo virginianus</i>)	1	1	ZNS-Symptome, Aerosacculitis	Makroskopie Isolierung AK ¹ - Nachweis mittels HAH ² und SNT ³	(Ingalls et al., 1951) USA
Fischadler (<i>Pandion haliaetus</i>)	1	1	Pneumonie und Hepatitis mit Nekroseherden	Makroskopie Isolierung HA ⁴ und HAH ²	(Zuydam, 1952) Holland
Turmfalke (<i>F. tinnunculus</i>)	1	1	ZNS-Symptome, abgemagert, Pneumonie und Aerosacculitis	Makroskopie Isolierung	(Keymer and Dawson, 1971) England
Steinkauz (<i>Athena noctua</i>)	3	3			
Krähe (<i>Corvus</i>)	Nicht bekannt	1	Nicht bekannt	Isolierung	(Pearson and McCann, 1975) USA
Schleiereule (<i>Tyto alba</i>)	19	2	ZNS-Symptome und vereinzelt petichale Blutungen im Muskelmagen	Makroskopie Isolierung HA ⁴ und HAH ²	(Chu et al., 1976) England
Steinkauz (<i>Athena noctua</i>)	Stringiformes	1			
Turmfalke (<i>F. tinnunculus</i>)	25	5			
Rothalsfalke (<i>Falco chicquera</i>)	Falconiformes	1			

Vogelspezies	Anzahl untersuchter Vögel	Positive Vögel	Symptomatik sowie pathologische und histologische Veränderungen	Nachweismethode und Identifizierung	Referenz / Land
Tag-Greifvögel (nicht weiter definiert) Eulen (Strigiformes)	7 20	3 11	Lymphozytäre Meningoencephalitis	Makroskopie Isolierung Histologie	(Winteroll, 1976) (Grimm, 1978) Deutschland
Tag-Greifvögel (nicht weiter definiert) Eulen (Strigiformes)	50 36	1 0	Nicht bekannt	AK ¹ - Nachweis mittels HAH ²	(Kocan et al., 1977b) USA
Lannerfalke (<i>F. biarmicus</i>)	37	21	Keine klinischen Symptome	AK ¹ - Nachweis mittels HAH ²	(Okoh, 1979) Nigeria
Glanzkrähe (<i>Corvus splendens</i>)	82	31	Nicht bekannt	Isolierung AK ¹ - Nachweis mittels HAH ²	(Sulochana et al., 1981) Indien
Wanderfalke (<i>F. peregrinus</i>) Sakerfalke (<i>F. cherrug</i>) Gerfalke (<i>F. rusticolus</i>)	5 2 1	5 2 1	ZNS-Symptome wie Ataxie und Tremor, Schwäche, Anorexie, Erbrechen	Isolierung AK ¹ - Nachweis mittels HAH ²	(Wernery et al., 1992) VAE
Glanzkrähe (<i>Corvus splendens</i>)	1	1	ZNS-Symptome	Makroskopie Isolierung HAH ² ICPI ⁶	(Roy et al., 1998) Indien
Hindu-Halsbandeule (<i>Otus bakkamoena</i>)	1	1	Nicht bekannt	Isolierung EM ⁵ HAH ² ICPI ⁶	(Kou et al., 1999) Taiwan

Vogelspezies	Anzahl untersuchter Vögel	Positive Vögel	Symptomatik sowie pathologische und histologische Veränderungen	Nachweismethode und Identifizierung	Referenz / Land
				IVPI ⁷ RT-PCR ⁸ RFLP ⁹ Sequenzierung Phylogenetische Analyse	
Bartgeier (<i>Gypaetus barbatus</i>)	1	1	Verendet, Hepatomegalie, Hyperämie in Darm, Lunge und Niere mit Hämostase	Makroskopie Histologie Isolierung HA ⁴ und HAH ² ICPI ⁶	(Lublin et al., 2001) Israel
Mäusebussard (<i>Buteo buteo</i>)	110	2	Habichtartigen: Paresen der Ständer und Abmagerung, Fischadler: Keine Symptome	AK ¹ - Nachweis mittels HAH ² und SNT ³	(Schettler et al., 2001) Deutsch- land
Fischadler (<i>Pandion haliaetus</i>)	20	3			
Rohrweihe (<i>Circus aeruginosus</i>)	4	1			
Weitere Habichtartige (<i>Accipitridae</i>)	104	0			
Falkenartige (<i>Falconidae</i>)	108	0			
Eulen (<i>Strigiformes</i>)	55	0			
Sperber (<i>Accipiter nisus</i>)	9	1	Nicht bekannt	AK ¹ - Nachweis mittels HAH ²	(Lierz et al., 2002a) Deutsch- land
Weitere Habichtartige (<i>Accipitridae</i>)	46	0			
Falkenartige (<i>Falconidae</i>)	23	0			

Vogelspezies	Anzahl untersuchter Vögel	Positive Vögel	Symptomatik sowie pathologische und histologische Veränderungen	Nachweismethode und Identifizierung	Referenz / Land
Eulen (<i>Strigiformes</i>)	6	0			
Habichtartige (<i>Accipitridae</i>)	392	56	Nicht bekannt	AK ¹ - Nachweis mittels HAH ²	(Höfle et al., 2002) Spanien
Falkenartige (<i>Falconidae</i>)	141	46			
Eulen (<i>Strigiformes</i>)	165	18			
Fischadler (<i>Pandionidae</i>)	2	0			
Mäusebussard (<i>Buteo buteo</i>)	105	1	Nicht bekannt	RT-PCR ⁸ Sequenzierung	(Schettler et al., 2003) Deutschland
Schleiereule (<i>Tyto alba</i>)	54	15			
Turmfalke (<i>F. tinnunculus</i>)	24	1			
Waldkauz (<i>Strix aluco</i>)	21	1			
Weitere Habichtartige (<i>Accipitridae</i>)	102	0			
Falkenartige (<i>Falconidae</i>)	4	0			
Eulen (<i>Strigidae</i>)	14	0			
Fischadler (<i>Pandionidae</i>)	7	0			
Zwergohreule (<i>Otus scops</i>)	2	2	Diarrhoe, Hämorrhagien im Darm und Drüsenmagen	Makroskopie Isolierung HA ⁴ und HAH ² RT-PCR ⁸ Sequenzierung Phylogene-	(Choi et al., 2008) Korea

Vogelspezies	Anzahl untersuchter Vögel	Positive Vögel	Symptomatik sowie pathologische und histologische Veränderungen	Nachweismethode und Identifizierung	Referenz / Land
				tische Analyse MDT ¹⁰ ICPI ⁶	
Krähe (<i>Corvus</i>) Dohle (<i>Corvus monedula</i>)	Keine weiteren Angaben erhältlich			RT-PCR ⁸ Phylogenetische Analyse	(Korotetskii et al., 2010) Russland
Weißkopfseeadler (<i>Haliaeetus leucocephalus</i>) Virginia-Uhu (<i>Bubo virginianus</i>) Rundschwanzsperber (<i>Accipiter cooperii</i>) Truthahngeier (<i>Cathartes aura</i>)	30 11 10 5	2 1 0 0	Nicht bekannt	Isolierung RT-PCR ⁸ Phylogenetische Analyse	(Jindal et al., 2010) USA
Steinkauz (<i>Athena noctua</i>)	8	6	Klinik nicht beschrieben, keine pathologischen Veränderungen bei den verendeten Eulen	Makroskopie Isolierung HA ⁴ und HAH ² RT-PCR ⁸ Sequenzierung Phylogenetische Analyse ICPI ⁶	(Haddas et al., 2014) Israel
Truthahngeier (<i>cathartes aura</i>)	1	46	Keine Symptome	AK ¹ - Nachweis mittels HAH ²	(Straub et al., 2015) USA

Vogelspezies	Anzahl untersuchter Vögel	Positive Vögel	Symptomatik sowie pathologische und histologische Veränderungen	Nachweismethode und Identifizierung	Referenz / Land
Turmfalke (<i>F. tinnunculus</i>)	9	2	Keine Symptome	cELISA ¹¹	(Pastiu et al., 2016)
Elster (<i>pica pica</i>)	?	1			Rumänien

¹ AK = Antikörper

² HAH = Hämagglutinationshemmtest

³ SNT = Serumneutralisationstest

⁴ HA = Hämagglutinationstest

⁵ EM = Elektronenmikroskop

⁶ ICPI = Intracerebrale Pathogenitätsindex

⁷ IVPI = Intravenöse Pathogenitätsindex

⁸ RT-PCR = Reverse Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion

⁹ RFLP = Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus

¹⁰ MDT = Mean Death Time = mittlere Zeit zwischen Infektion und Tod infizierter Embryonen

¹¹ cELISA = complement-enzyme linked immunosorbent essay

2.5. Aviäre Metapneumoviren (AMPV)

2.5.1. Taxonomie

Gemäß der Virustaxonomie des ICTV lässt sich die Familie der Paramyxoviridae in zwei Subfamilien, die Paramyxovirinae und die Pneumovirinae unterteilen. Die Subfamilie der Pneumovirinae wiederum lässt sich in zwei verschiedene Genera unterteilen. Die aviären Pneumoviren gehören zum Genus *Metapneumovirus*, welches sich nochmals in zwei Spezies, die aviären Metapneumoviren und die humanen Metapneumoviren unterteilen lässt (ICTV, 2012).

Familie: Paramyxoviridae

Subfamilie: Pneumovirinae

Genus: ***Metapneumovirus***

Spezies: ***Avian metapneumovirus* (AMPV)**

(AMPV = Turkey rhinotracheitisvirus (TRT))

2.5.2. Ätiologie

AMPV sind behüllte pleomorphe 80 - 600 nm große kugelförmige oder bis zu 1000 nm große faserförmige Viren. Ihr helikales Nukleokapsid mit einem Durchmesser von 14 nm enthält das virale Genom. Dieses besteht aus einer einsträngigen, nicht segmentierten RNA mit negativer Polarität und einer Länge von ca. 13 Kbp. Basierend auf genetischen und antigenetischen Eigenschaften werden vier Subtypen (A – D) unterschieden (Gough and Jones, 2008).

Die meisten der europäischen-, asiatischen- und südamerikanischen Isolate gehören zum Subtyp A oder B (Banet-Noach et al., 2005; Bâyon-Auboyer et al., 2000; Chacon et al., 2011), während in den USA nachgewiesene Isolate dem Subtyp C angehören (Seal, 1998, 2000). AMPV vom Subtyp C wurde aber auch bei einer Moschusente in Frankreich (Toquin et al., 2006), bei Fasanen auf Vogelmärkten in Korea (Lee et al., 2007) und auch bei Hühnern in China nachgewiesen (Wei et al., 2013). Zwei von Puten in Frankreich gewonnene Isolate wurden 1985 dem Subtyp D zugeordnet, da sie sich keinem der drei Subtypen zuordnen ließen (Bâyon-Auboyer et al., 2000).

Die natürlichen Hauptwirte für AMPV stellen Puten und Hühner dar. In Putenbeständen sind AMPV häufig der auslösende Faktor für eine schwere Rhinotracheitis oft in Verbindung mit bakteriellen Sekundärinfektionen, welche zu einer erhöhten Mortalität führen können (Gulati et al., 2001; Hafez, 1989; Jirjis et al., 2000; Jirjis et al., 2002). Bei Hühnern sind AMPV oft an der multifaktoriellen Erkrankung „Swollen-Head-Syndrom (SHS)“ beteiligt (Aung et al., 2008; Georgiades et al., 2001; Hafez and Löhren, 1990; Kwon et al., 2010).

In Südafrika gab es 1978 den ersten Nachweis eines paramyxovirähnlichen Virus bei Puten mit Atemwegserkrankungen (Buys et al., 1989). Es folgten Berichte über Virusisolate von Puten, Hühnern und Enten aus Europa, Israel; Asien und den USA (Bennett et al., 2004; Cook, 2000; Hafez and Weiland, 1990). 2001 gelang der serologische Nachweis von AMPV bei Fasanen in England und Italien (Catelli et al., 2001; Gough et al., 2001).

Da etwa 80 % aller AMPV-Ausbrüche in den USA saisonal im Frühling und im Herbst auftraten, lag die Vermutung nahe, dass Zugvögel eventuell eine Rolle bei der Verbreitung des Erregers spielten. Tatsächlich wurde bei Sperlingen, Gänsen, Krickenten und Staren AMPV-RNA nachgewiesen, die eine hohe Nukleotidhomologie zu APMV-Stämmen domestizierter Puten aus der jeweiligen Region aufwiesen (Bennett et al., 2005; Bennett et al., 2004; Shin et al., 2000). In einer weiteren Studie konnte ebenfalls nachgewiesen werden, dass AMPV-Subtyp C-Isolate von Puten und Enten eine Nukleotid- und Aminosäuresequenz Identität von über 95 % zeigten (Shin et al., 2002).

Antikörper gegen AMPV vom Subtyp C konnten darüber hinaus bei weiteren Vogelspezies wie Blässhühnern, Kanadagänsen, Kuhreihern, Felsentauben und bei sechs von 51 beprobten Amerikanischen Krähen detektiert werden (Turpin et al., 2008). Krankheitssymptome bei infizierten Wildvögeln wurden nicht beschrieben. In einem Infektionsversuch mit jungen Enten konnten in allen untersuchten Gewebeproben Virusmaterial nachgewiesen werden, obwohl die Tiere keinerlei klinischen Symptome zeigten (Nagaraja et al., 2000). Hinsichtlich des Vorkommens von AMPV bei Greifvögeln gibt es in der vorhandenen Literatur keinerlei Hinweise.

2.6. Aviäre Mykoplasmen

2.6.1. Taxonomie

Zur taxonomischen Einteilung der Mykoplasmen wurde Anfang der Neunzigerjahre des vergangenen Jahrhunderts ein gemischtes System eingeführt, welches sowohl phänotypische Eigenschaften als auch phylogenetische Verwandtschaften berücksichtigt (Tully et al., 1993; Weisburg et al., 1989). Demnach wird die Klasse der Mollicutes in mehrere Ordnungen unterteilt. Die bisher nachgewiesenen aviären Mykoplasma Spezies gehören alle zur Ordnung I Mycoplasmatales, der Familie Mycoplasmataceae und der Gattung *Mycoplasma*.

Ordnung I: Mycoplasmatales

Familie I: Mycoplasmataceae

Gattung I: *Mycoplasma*

2.6.2. Ätiologie

Mykoplasmen sind kleine, sich selbst replizierende Prokaryonten aus der Klasse der Mollicutes (mollis = weich und cutis = Haut). Sie unterscheiden sich von anderen Bakterien durch das Fehlen der Zellwand, eine geringere Zell- und Genomgröße mit nur 600-1350 Kbp und einen meist geringeren Guanin- und Cytosingehalt ihrer DNA. Mykoplasmen leben aerob bis fakultativ anaerob sowohl intra- als auch extrazellulär und sind für ihr natürliches Vorkommen auf das Vorhandensein eines Wirtsorganismus angewiesen. Durch das Fehlen der starren Zellwand kommt es zu pleomorphen Zellformen, die von kokkoiden oder ovoiden Zellen bis zu verzweigten oder helikalen Filamenten reichen (Razin, 1981).

Mykoplasmen spielen eine bedeutende Rolle als Infektionserreger des Wirtschaftsgeflügels, die zu hohen wirtschaftlichen Verlusten führen können. Die Übertragung erfolgt sowohl

vertikal über infizierte Bruteier als auch horizontal. Nicht selten treten Mischinfektionen auf. Wichtige geflügelpathogenen Vertreter sind: *M. gallisepticum*, *M. synoviae*, *M. iowae* und *M. meleagridis* (Tully and Razin, 1983). Bei einer Infektion mit *M. gallisepticum* stehen sowohl bei Hühnern als auch bei Puten respiratorische Symptome infolge chronischer Entzündungen der oberen Luftwege und der Luftsäcke im Vordergrund. Daneben können aber auch Erkrankungen der Gelenke, der Sehnenescheiden oder auch des Genitaltraktes beobachtet werden. Infektionen mit *M. synoviae* führen insbesondere zu entzündlichen Gelenkerkrankungen. Entzündungen der Luftsäcke, des Herzmuskels und des Herzbeutels sind ebenfalls möglich. Durch erhöhte Embryomortalität führt *M. iowae* bei Puten zu verminderten Schlupfraten. Geschlüpfte Tiere zeigen Wachstums- und Befiederungsstörungen sowie Dyschondropathien (Bradbury et al., 1988; Ley et al., 2010; Trampel and Goll, 1994). Auch bei *M. meleagridis* sind vorwiegend Puten betroffen. Das klinische Bild, vorrangig bei Tieren in der 12. Lebenswoche, wird durch Bewegungs- und Befiederungsstörungen, Knochendeformationen und Gelenkschwellungen bestimmt (Hafez and Jodas, 1997).

Zahlreiche Berichte in der Literatur zeigten, dass die oben genannten Mykoplasmen-Spezies auch bei vielen weiteren Vogelspezies nachgewiesen werden konnten. So wurde *M. gallisepticum* bereits bei Wellensittichen (Bozeman et al., 1984), Tauben (Bencina et al., 1987), Finken (Dhondt et al., 1998; Hartup et al., 1998), Kernbeißern (Mikaelian et al., 2001), Krähen (Ganapathy et al., 2007; Pennycott et al., 2005), Wanderfalken und einer Wachtel (Poveda et al., 1990a) festgestellt. Bei Fasanen und Spatzen (Poveda et al., 1990a), Enten und Gänsen (Bencina et al., 1988a, b; Tiong, 1990) sowie bei Tauben konnte *M. synoviae* nachgewiesen werden. Bozeman (Bozeman et al., 1984) gelang der Nachweis von *M. iowae* bei einer Amazone. Weitere Berichte gibt es über die Isolierung von *M. meleagridis* bei Fasanen (Poveda et al., 1990a) und bei Greifvögeln (Lierz et al., 2000; Lierz et al., 2002b).

2.6.3. Vorkommen von aviären Mykoplasmen bei Greif- und Rabenvögeln

In der Literatur finden sich zahlreiche Berichte über das Vorkommen von Mykoplasmen bei Greif- und Rabenvögeln (Tab. 5), wobei es sich aber nur in wenigen Fällen um die oben genannten geflügelpathogenen Erreger handelte. Pathologisch-anatomische Veränderungen wie Luftsackentzündung, serofibrinöse Pneumonie und katarrhalische Tracheitis wurden beschrieben (Bölske and Morner, 1982; Erdelyi et al., 1999; Furr et al., 1977; Lecis et al., 2010; Lierz et al., 2000; Oaks et al., 2004b; Pennycott et al., 2005; Poveda et al., 1994; Poveda et al., 1990b; Ruder et al., 2009) ebenso wie pathologische Veränderungen der Gelenke (Erdelyi et al., 1999; Panangala et al., 1993; Ruder et al., 2009; Van Wettere et al.,

2013). In vielen Fällen zeigten die infizierten Greif- und Rabenvögel jedoch lediglich unspezifische bzw. keine Krankheitssymptome.

Bereits Ende der Siebziger, Anfang der Achtzigerjahre des vergangenen Jahrhunderts wurde über das Vorkommen von Mykoplasmen bei in Gefangenschaft gehaltenen Saker- und Wanderfalken in England (Furr et al., 1977) und Bussarden in Schweden (Bölske and Morner, 1982) berichtet.

Anfang der Neunzigerjahre gelang in Spanien zunächst der Nachweis bekannter geflügelpathogener Mykoplasmen-Spezies bei verschiedenen Greifvögeln. *M. gallisepticum* und das bisher taubenspezifische *M. columborale* wurde bei Wanderfalken, *M. gallinarum* bei einem Mönchsgeier und das bisher entenspezifische *M. anatis* bei einem Sakerfalken nachgewiesen (Poveda et al., 1990a; Poveda et al., 1990b). Bei weiteren Isolaten konnten im Wachstumshemmtest keine Antigen-spezifischen Reaktionen festgestellt werden. Poveda et al. (1994) konnten daraufhin nach umfangreichen weiteren Untersuchungen drei neue Mykoplasmen-Spezies beschreiben. Das Isolat von Mäusebussarden wurde als *M. buteonis*, das Isolat von Sakerfalken als *M. falconis* und das Isolat von Gänsegeiern als *M. gypis* bezeichnet. In Deutschland wurde bei Vögeln aus der Familie der Habichtartigen sowie der Falkenartigen Mykoplasmen der Spezies *M. gypis*, *M. buteonis* und *M. meleagridis* isoliert, während *M. falconis* lediglich bei Vertretern der Familie der Falkenartigen identifiziert werden konnten. Viele der infizierten Greifvögel aus der Wildpopulation zeigten weder respiratorische Symptome noch Gelenksveränderungen (Lierz et al., 2008a; Lierz et al., 2000). Bei 30 klinisch gesunden Falken aus den VAE konnten bei allen Vögeln Mykoplasmen nachgewiesen werden. Häufig handelte es sich dabei um Mischinfektionen mit *M. meleagridis*, *M. falconis*, *M. buteonis* und *M. corogypsi* (Lierz et al., 2002b). *M. buteonis* und *M. falconis* konnten auch zu einem hohen Prozentsatz bei Rötelfalken in Spanien nachgewiesen werden (Lierz et al., 2008d), sowie *M. buteonis* bei einem jungen Sakerfalken in Ungarn (Erdelyi et al., 1999) und einem Buntfalken in den USA (Bezjian et al. 2014). Kurz vor Beendigung dieser Arbeit wurde ein weiterer Artikel veröffentlicht, in welchem bei 42 % unterschiedlicher Greifvögel und Eulen aus Italien Mykoplasmen nachgewiesen werden konnten (Lecis et al., 2010).

In den USA wurde ebenfalls Anfang der Neunzigerjahre bei einem Rabengeier erstmals eine neue Mykoplasmen-Spezies, *M. corogypsi* isoliert (Panangala et al., 1993). Später gelang der Nachweis von *M. corogypsi* auch bei Falken aus den Vereinigten Arabischen Emiraten (VAE) (Lierz et al., 2002b) sowie bei weiteren Rabengeiern aus den USA (Ruder et al., 2009; Van Wettere et al., 2013). Während keiner der Falken Krankheitssymptome aufwies, konnten bei allen betroffenen Geiern deutliche Gelenksveränderungen beobachtet werden.

2004 gelang bei einem Bengalgeier (*Gyps bengalensis*) aus Pakistan die Isolierung einer neuen Mykoplasmen-Spezies, welche als *M. vulturii*, klassifiziert wurde (Oaks et al., 2004a). Auch bei Gänsegeiern aus Spanien und Italien konnten weitere, bisher nicht beschriebene Mykoplasmen-Spezies nachgewiesen werden (Lecis et al., 2010; Loria et al., 2008). Bei sechs Schmutzgeiern in den USA gelang die Anzucht von typischen Mykoplasmen-Kolonien, welche sowohl biochemisch, serologisch als auch mikrobiologisch eine hohe Übereinstimmung der Isolate untereinander zeigten. Eine Zuordnung zu bereits bekannten Mykoplasmen-Spezies war nicht möglich, so dass eine neue Spezies *M. neophronis sp. nov.*, beschrieben wurde (Suarez-Perez et al., 2012).

In der Literatur finden sich auch Berichte über den Nachweis von Mykoplasmen bei verschiedenen Krähenvögeln in den USA, Schottland, Malaysia und kurz vor Beendigung dieser Arbeit auch in Deutschland (Ganapathy et al., 2007; Pennycott et al., 2005; Wellehan et al., 2001; Ziegler et al., 2017). In den USA, in Schottland und in Deutschland konnte *M. sturni*, vereinzelt auch *M. gallisepticum* isoliert werden. *M. sturni* wurde erstmalig 1996 bei europäischen Staren mit Konjunktivitis beschrieben (Forsyth et al., 1996; Frasca et al., 1997). Viele der Mykoplasmen-positiven Krähen aus aktuelleren Studien zeigten dagegen keine Krankheitssymptome.

Tab. 5: Übersicht über Berichte zum Vorkommen von aviären Mykoplasmen bei Greif- und Rabenvögeln

Vogelspezies	Anzahl untersuchter Vögel	Positive Vögel	Symptomatik sowie pathologische und histologische Veränderungen	Nachweismethode und Identifizierung	Referenz / Land
Sakerfalke (<i>F. cherrug</i>)		1	Anorexie, Vomitus, Dispnoe und Tachypnoe		(Furr et al., 1977)
Wanderfalke (<i>F. peregrinus</i>)		2			England
Raufußbussard (<i>Buteo lagopus</i>)	2	2	Katarrhalische Tracheitis und Pneumonie. Aerosacculitis	Makroskopie Isolierung Biochemische Tests IFT ¹ Wachstumshemmtest	(Bölske and Morner, 1982)
Mäusebussard (<i>Buteo buteo</i>)	1	1			Schweden
Wanderfalke	2	2	Keine Symptome	Isolierung	(Poveda et

Vogelspezies	Anzahl untersuchter Vögel	Positive Vögel	Symptomatik sowie pathologische und histologische Veränderungen	Nachweismethode und Identifizierung	Referenz / Land
<i>(F. peregrinus)</i> Gänsegeier <i>(Gyps fulvus)</i>	2	2	bekannt	Biochemische Tests Wachstumshemmtest	al., 1990a) Spanien
Sakerfalke <i>(F. cherrug)</i> Wanderfalke <i>(F. peregrinus)</i> Mäusebussard <i>(Buteo buteo)</i> Mönchsgeier <i>(Aegypius monachus)</i> Gänsegeier <i>(Gyps fulvus)</i>	2 1 1 1 2	2 1 1 1 2	z.T. Anorexie, Dispnoe, Sinusitis, Hyperplasie der mukösen Drüsen, lymphoide Hyperplasie des Lungenparenchyms	Isolierung AG ² -IIFT ³ Wachstumshemmtest	(Poveda et al., 1990b) Spanien
Rabengeier <i>(Coragyps atratus)</i>	1	1	Fußabszess	Isolierung EM ⁴ Biochemische Tests HA ⁵ Wachstumshemmtest Sequenzierung	(Panangala et al., 1993) USA
Sakerfalke <i>(F. cherrug)</i> Mäusebussard <i>(Buteo buteo)</i> Gänsegeier <i>(Gyps fulvus)</i>	6 7 8	6 7 8	Respiratorische Symptome	Isolierung EM ⁴ Biochemische Tests HA ⁵ Wachstumshemmtest IIFT ³ IBA ⁶	(Poveda et al., 1994) Spanien
Sakerfalke	1	1	ZNS-Symptome,	Isolierung	(Erdelyi et

Vogelspezies	Anzahl untersuchter Vögel	Positive Vögel	Symptomatik sowie pathologische und histologische Veränderungen	Nachweismethode und Identifizierung	Referenz / Land
<i>(F. cherrug)</i>			Parese und Perosis des linken Beines, Hepatitis, katarrhalische Pneumonie, Dyschondroplasie	Biochemische Tests PCR ⁷ Sequenzierung IBA ⁶	al., 1999) Ungarn
Mäusebussard <i>(Buteo buteo)</i> Turmfalke <i>(F. tinnunculus)</i> Sperber <i>(Accipiter nisus)</i> Habicht <i>(Accipiter gentilis)</i> Schwarzmilan <i>(Milvus migrans)</i> Wanderfalke <i>(F. peregrinus)</i> Seeadler <i>(Haliaeetus albicilla)</i> Waldkauz <i>(Strix aluco)</i> Waldohreule <i>(Asio otus)</i>	25 16 8 6 4 3 1 4 1	32	Vereinzelt Aerosacculitis	Isolierung IBA ⁶	(Lierz et al., 2000) Deutschland
Amerikanerkrähe <i>(Corvus brachyrhynchos)</i>	12	9	Eine verendete Krähe mit Konjunktivitis, alle anderen zeigten keine Krankheits-symptome	Isolierung IFT ¹ PCR ⁷ Sequenzierung Phylogenetische Analyse RAPD ⁸ – Analyse	(Wellehan et al., 2001) USA

Vogelspezies	Anzahl untersuchter Vögel	Positive Vögel	Symptomatik sowie pathologische und histologische Veränderungen	Nachweismethode und Identifizierung	Referenz / Land
Wanderfalke (<i>F. peregrinus</i>)	5	5	Keine Krankheits-symptome bei den in Gefangenschaft lebenden Falken	Isolierung IBA ⁶	(Lierz et al., 2002b) VAE
Sakerfalke (<i>F. cherrug</i>)	9	9			
Wüstenfalke (<i>F. pelegri-noides</i>)	2	2			
Lannerfalke (<i>F. biarmicus</i>)	2	2			
Gerfalke (<i>F. rusticolus</i>)	2	2			
Ger-Saker-Hybridfalke (<i>F. rusticolus x F. cherrug</i>)	10	10			
Bengalgeier (<i>Gyps bengalensis</i>)	1	1	viszerale Gicht, Tracheitis, Bronchitis	Isolierung Biochemische Tests EM ⁴ PCR ⁷ Sequenzierung Phylogene-tische Analyse	(Oaks et al., 2004b) Parkistan
Saatkrähe (<i>Corvus frugilegus</i>)	13	9	Abgemagert, Perikarditis und Pneumonie	Makroskopie Isolierung PCR ⁷	(Pennycott et al., 2005) Schottland
Aaskrähe (<i>Corvus corone</i>)	6	3			
Elster (<i>Pica pica</i>)	3	2			
Dohle (<i>Corvus monedula</i>)	1	0			

Vogelspezies	Anzahl untersuchter Vögel	Positive Vögel	Symptomatik sowie pathologische und histologische Veränderungen	Nachweismethode und Identifizierung	Referenz / Land
Glanzkrähe (<i>Corvus splendens</i>)	109	34	Keine Krankheits-symptome bekannt	Isolierung IFT ¹ PCR ⁷	(Ganapathy et al., 2007) Malaysia
Gänsegeier (<i>Gyps fulvus</i>)	4	4	Anorexie, Abmagerung	Isolierung PCR ⁷ Sequenzierung	(Loria et al., 2008) Spanien
Wanderfalke (<i>F. peregrinus</i>)	8	8	Keine Krankheits-symptome bei den in Gefangenschaft lebenden Greifvögeln	Isolierung IBA ⁶ PCR ⁷ Sequenzierung	(Lierz et al., 2008c) Deutschland
Sakerfalke (<i>F. cherrug</i>)	2	2			
Wüstenfalke (<i>F. pelegri-noides</i>)	2	2			
Gerfalke (<i>F. rusticolus</i>)	1	1			
Ger- Saker-Hybridfalke (<i>F. rusticolus</i> x <i>F. cherrug</i>)	2	2			
Habicht (<i>Accipiter gentilis</i>)	6	6			
Mäusebussard (<i>Buteo buteo</i>)	1	1			
Gänsegeier (<i>Gyps fulvus</i>)	2	0			
Mönchsgeier (<i>Aegypius monachus</i>)	1	0			
Habicht (<i>Accipiter gentilis</i>)	12	12	Keine Krankheits-symptome	Isolierung IBA ⁶	(Lierz et al., 2008a)

Vogelspezies	Anzahl untersuchter Vögel	Positive Vögel	Symptomatik sowie pathologische und histologische Veränderungen	Nachweismethode und Identifizierung	Referenz / Land
Rohrweihe (<i>Circus aeruginosus</i>)	8	8		PCR ⁷ Sequenzierung REA ⁹	Deutschland
Mäusebussard (<i>Buteo buteo</i>)	7	7			
Rotmilan (<i>Milvus milvus</i>)	5	5			
Turmfalke (<i>F. tinnunculus</i>)	5	5			
Baumfalke (<i>F. subuteo</i>)	1	1			
Schleiereule (<i>Tyto alba</i>)	1	1			
Rötelfalke (<i>F. naumanni</i>) in Gefangenschaft	20	7	Keine Krankheits-symptome	Isolierung IBA ⁶ PCR ⁷ Sequenzierung	(Lierz et al., 2008d)
Rötelfalke (<i>F. naumanni</i>) Wildvögel	41	39			Spanien
Rabengeier (<i>Coragyps atratus</i>)	1	1	Abgemagert, lethargisch, Gelenks- schwellungen, Anämie, Leukozytose, Arthritis, Bronchitis	Makroskopie Histologie PCR ⁷ Sequenzierung Phylogene- tische Analyse	(Ruder et al., 2009) USA
Gänsegeier (<i>Gyps fulvus</i>)	4	4	Zwei Geier: Abmagerung und leichte resp. Symptome	Isolierung IBA ⁶ PCR ⁷ Sequenzierung Phylogene- tische Analyse	(Lecis et al., 2010) Italien

Vogelspezies	Anzahl untersuchter Vögel	Positive Vögel	Symptomatik sowie pathologische und histologische Veränderungen	Nachweismethode und Identifizierung	Referenz / Land
Schmutzgeier (<i>Neophron percnopterus</i>)	6	6	Keine Krankheits-symptome	Isolierung Biochemische Tests EM ⁴	(Suarez-Perez et al., 2012) USA
Rabengeier (<i>Coragyps atratus</i>)	3	3	Lethargisch, Gelenks-schwellungen, Anämie, Leukozytose, fibrinoheterophile Arthritis und Tenosynovitis	Makroskopie Histologie Isolierung PCR ⁷ Sequenzierung	(Van Wettere et al., 2013) USA
Aaskrähe (<i>Corvus corone</i>)	35	1	Nicht bekannt	RT-PCR ¹⁰ ausschließlich Nachweis von M. gallisepticum und M. synoviae ELISA ¹¹	(Michiels et al., 2016) Belgien
Elster (<i>Pica pica</i>)	10	1			
Waldkauz (<i>Strix aluco</i>)	13	0			
Waldohreule (<i>Asio otus</i>)	1	0			
Schleiereule (<i>Tyto alba</i>)	7	0			
Steinkauz (<i>Athene noctua</i>)	6	0			
Mäusebussard (<i>Buteo buteo</i>)	1	0			
Turmfalke (<i>F. tinnunculus</i>)	2	0			
Turmfalke (<i>F. tinnunculus</i>)	12	8	Vorwiegend Anflugtrauma und Flügelbrüche, nur einer der positiven Vögel hatte respiratorische	PCR ⁷ Sequenzierung	(Lecis et al., 2010) Italien
Mäusebussard (<i>Buteo buteo</i>)	7	7			
Wanderfalke	1	1			

Vogelspezies	Anzahl untersuchter Vögel	Positive Vögel	Symptomatik sowie pathologische und histologische Veränderungen	Nachweismethode und Identifizierung	Referenz / Land
<i>(F. peregrinus)</i> Zwergohreule <i>(Otus scops)</i> Sperber <i>(Accipiter nisus)</i> Rohrweihe <i>(Circus aeruginosus)</i>	1 5 5	1 4 3	Symptome		
Aaskräh <i>(Corvus corone)</i> Elster <i>(Pica pica)</i> Saatkräh <i>(Corvus frugilegus)</i>	91 4 1	14 0 0	Einzelne Vögel apathisch oder mit Anflugtrauma, Keine respiratorischen Erkrankungen	Isolierung PCR ⁷ Sequenzierung	(Ziegler et al., 2017) Deutschland

¹ IFT = Immunfluoreszenztest² AG = Antigen³ IIFT = indirekte Immunfluoreszenztest⁴ EM = Elektronenmikroskop⁵ HA = Hämagglutinationstest⁶ IBA = Immunobindung-Assay⁷ PCR = Polymerase-Kettenreaktion⁸ RAPD = randomly amplified polymorphic DNA = zufällig vervielfältigte polymorphe DNA⁹ REA = Restriktions-Enzym-Analyse¹⁰ RT-PCR = Reverse Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion¹¹ ELISA = Enzyme linked immunosorbent essay

2.7. Aviäre Chlamydien

2.7.1. Taxonomie

Seit den Sechzigerjahren des vergangenen Jahrhunderts unterlag die Taxonomie der Chlamydien mit dem Wissenszuwachs über Morphologie, Entwicklung, biologische und molekulare Daten starken Änderungen (Andersen and Tappe, 1989; Andersen and Vanrompay, 2000; Levaditi et al., 1964; Meyer, 1967). Aufgrund der Auswertung

umfangreicher DNA-Sequenzanalysen der 16S und 23S ribosomalen RNA-Genregionen sowie des Outer Membran Proteins A (ompA) -Gens wurde die Ordnung Chlamydiales 1999 unter Berücksichtigung unterschiedlicher Wirte reklassifiziert. Die Gattung *Chlamydia* wurde in die zwei Gattungen *Chlamydia* und *Chlamydophila* unterteilt. *C. trachomatis*, *C. muridarum* und *C. suis* wurden der Gattung *Chlamydia*, *C. psittaci* unter anderem der Gattung *Chlamydophila* zugeordnet (Everett et al., 1999a). Vergleichende Genom-Analysen zeigten jedoch, dass eine auf ribosomalen Sequenzen basierende taxonomische Einteilung der Gattung nicht mit dem natürlichen Werdegang des Organismus zu vereinbaren war. Zum Beispiel wiesen Chlamydienstämme unterschiedlicher Wirte große biologische und epidemiologische Ähnlichkeiten auf. Somit wurde 2009 die Familie der Chlamydiaceae wieder zu einer Gattung, *Chlamydia*, zusammengefasst (Stephens et al., 2009).

Ordnung: Chlamydiales

Familie: Chlamydiaceae

Gattung: *Chlamydia*

Spezies: *Chlamydia psittaci* (*C. psittaci*)

2.7.2. Ätiologie

Chlamydien sind kleine (0,2 – 1,0 µm) kokkoide, obligat intrazelluläre Bakterien mit einer Zellwand, deren Außenmembran sich aus den als Antigen wirksamen Hauptbestandteilen Major Outer Membran Protein (MOMP), Lipopolysaccharid (LPS) und dem Heat Shock Protein 60 (hsp 60) zusammensetzt (Brade et al., 1987; Caldwell and Judd, 1982; Ward, 1983; Yuan et al., 1992). Die Genomgröße von *Chlamydia psittaci* liegt zwischen 1140 Kbp und 1171 Kbp (Knittler et al., 2015). Der Erreger wird in neun Genotypen (A-F, E/B, M56 und WC) eingeteilt, welche zwar überwiegend, jedoch nicht ausschließlich, bei Vögeln vorkommen (Heddema et al. 2015).

Der Genotyp A wird hauptsächlich Papageien, B den Tauben, C vor allem Enten und Gänsen und D den Puten zugeordnet. Der Genotyp E wurde sowohl bei Tauben als auch bei Laufvögeln nachgewiesen, während der Genotyp E/B hauptsächlich bei Enten vorkommt. Selten wurde in Papageienartigen und Puten der Genotyp F detektiert (Harkinezhad et al., 2009). Anders verhält es sich mit den Genotypen WC und M56 die bisher nur bei Rindern bzw. einer Bisamratte nachgewiesen und nicht mit Vögeln in Verbindung gebracht wurden (Pannekoek et al., 2010).

Die aviäre Chlamydiose wird durch *C. psittaci* ausgelöst und wurde bereits weltweit bei mehr als 465 Vogelspezies aus über 30 Ordnungen (Brand, 1989; Kaleta and Taday, 2003) und

bei einigen Säugetieren, wie z.B. Hasen und Bisamratten (Spalatin et al., 1966) nachgewiesen. Chlamydien-Stämme, die bei Vögeln nachgewiesen wurden, unterscheiden sich von Säugetier-Stämmen (Andersen, 1991a, b). Eine weite geographische Verbreitung von Chlamydien bei verschiedenen Vogelfamilien (Gänse-, Hühner-, Kranich-, Tauben- und Sperlingsvögel sowie Papageien) wird durch zahlreiche Berichte aus den USA und den Philippinen (Maluping et al., 2007; Ruppner et al., 1984) sowie aus Indien und Europa. (Chahota et al., 1997; Pennycott et al., 2009; Vanrompay et al., 1993) deutlich.

C. psittaci als Zoonoseerreger wird in erster Linie durch Haustiere wie vor allem Papageien übertragen (Smith et al., 2005). Aber auch infiziertes Nutzgeflügel und Wildvögel sind ein ernst zu nehmendes Gefahrenpotenzial. Die Übertragung erfolgt aerogen sowohl über direkten als auch indirekten Kontakt (Everett et al., 1999b; Kaleta and Taday, 2003; Zweifel et al., 2009). Chlamydienstämme, die bei Wildvögeln isoliert wurden und für diese nicht pathogen waren, können aber hoch pathogen für andere Vogelspezies und somit auch für Menschen sein (Brand, 1989). In der Regel verläuft eine Infektion mit Chlamydien sowohl bei Wild- als auch bei in Gefangenschaft gehaltenen Vögeln inapparent, wobei es aber trotzdem zu einer intermittierenden Erregerausscheidung kommen kann. Unter bestimmten Umständen, wie z.B. Stress oder einem schlechten Konditionszustand des Wirtes, können Krankheitssymptome, wie Konjunktivitis, Nasenausfluss, Diarrhoe, Polyurie und Anorexie, auftreten (Andersen and Vanrompay, 2000; Fowler et al., 1990; Johns et al., 2009). Vor allem Jungvögel zeigen häufig eher Krankheitssymptome, während gesunde Adulte vermutlich immunologisch besser geschützt sind (Cray and Tatum, 1998; Schettler et al., 2001). Aufgrund ihrer biologischen Eigenschaften können Chlamydien auch zu einer häufig lebenslangen Latenz führen (Gerbermann and Pauels, 1982; Gylstorff et al., 1984; Schachter et al., 1978).

2.7.3. Vorkommen von aviären Chlamydien bei Greif- und Rabenvögeln

In der Literatur finden sich zahlreiche Berichte über den Nachweis von Chlamydien bei Greif- und Rabenvögeln (Tab. 6). Doch trotz verschiedener Berichte zum Vorkommen von Chlamydien bei Greifvögeln aus freier Wildbahn, aus den USA (Jouffroy et al., 2016; Mirande et al., 1992; Straub et al., 2015), Deutschland (Gerbermann and Korbel, 1993; Schettler et al., 2003; Schettler et al., 2001), Spanien (Lemus et al., 2010), den Galapagos Inseln (Deem et al., 2012) und Schweden (Blomqvist et al., 2012), ist nur wenig über die Verbreitung und Pathogenität des Erregers bekannt. Nur vereinzelt gibt es Berichte über pathologisch-anatomische Veränderungen wie Abmagerung, Splenomegalie, Perikarditis, Aerosacculitis und Perihepatitis (Mirande et al., 1992).

Die Methode spielt eine große Rolle beim Nachweis von Chlamydien. Gerbermann et al. (1990) untersuchten klinisch unauffällige Greifvögel einer Greifvogelstation in Deutschland auf Chlamydien. Während ihm der Nachweis von Chlamydien-Antikörpern mittels ELISA bei 70 % der untersuchten Vögel aus den Familien der Habichtartigen, der Falken und der Eulen gelang, konnte er mittels Antigen-ELISA lediglich bei 32 % derselben Vögel Chlamydien-Antigen feststellen. Bei einer späteren Untersuchung frei lebender Greifvögel derselben Familien plus einen Fischadler war die Diskrepanz zwischen dem Nachweis von Chlamydien-Antikörpern mit 85 % und dem Nachweis von Chlamydien-Antigen mit 13 % bei denselben Vögeln sogar noch größer (Gerbermann and Korbel, 1993). Schettler et al. (2001) untersuchten in Deutschland 422 Greifvögel aus freier Wildbahn mittels AK-ELISA und kamen zu ähnliche Ergebnissen. Bei 63 % der Vögel aus den Familien der Habichtartigen, der Falken, der Eulen und der Fischadler gelang der Nachweis von Chlamydien-Antikörper. Entsprechend den Ergebnissen von Gerbermann et al. (1990; 1993) lag die Nachweisrate von Chlamydien-Antigen auch in einer Studie von Lierz et al. (2002a) mit 16,7 % sehr niedrig. Dabei konnte er bei 23,5 % der Habichtartigen, aber nur bei 4,5 % der Falkenartigen Antigen nachweisen. Später untersuchten Schettler et al. (2003) 39 Greifvögel per Chlamydien-PCR. Der Prozentsatz der positiven Vögel bei den Habichtartigen lag bei 83 % (15 von 18 Proben), bei den Falkenartigen sogar bei 100 % (8 von 8 Proben) und bei den Eulen bei 50 % (6 von 12 Proben). Weiterhin gab es einen negativen Fischadler. Die Ergebnisse zeigen, dass Chlamydien in Deutschland durchaus eine wichtige Rolle bei den Greifvögeln spielen. Auch in Spanien gelang Lemus et al. (2010) der Nachweis von Chlamydien bei 51,6 % der untersuchten Falken (47 von 91 Proben). In Schweden und auf den Galapagos Inseln gelang hingegen nur bei jeweils 2 Vögeln von insgesamt 191 Seeadlern, 108 Wanderfalken und 86 Galapagos-Habichten der Nachweis von Chlamydien per PCR (Blomqvist et al., 2012; Deem et al., 2012).

Antikörper gegen Chlamydien konnten auch bei verschiedenen Krähenvögeln in den USA (Ruppanner et al., 1984) und in Japan (Chiba et al., 1984) detektiert werden. Bei einer Antikörperrate von 22 % gelang es Chiba et al. (1984) nicht, den Erreger zu isolieren. Die Isolierung gelang dagegen bei Glanzkrähen in Indien, sowie bei Nebel- und Saatkrähen in Russland (Chahota et al., 1997; Yatsentyuk and Obukhov, 2007). Ähnlich wie bei den Greifvögeln waren auch bei den positiven Krähen keine Krankheitssymptome bekannt.

Tab. 6: Übersicht über Berichte zum Vorkommen von aviären Chlamydien bei Greif- und Rabenvögeln

Vogelspezies	Anzahl untersuchter Vögel	Positive Vögel	Symptomatik sowie pathologische und histologische Veränderungen	Nachweismethode und Identifizierung	Referenz / Land
Elster (<i>Pica pica</i>)	2	2	Nicht bekannt	AK ¹ -ELISA ²	(Ruppanner et al., 1984) USA
Rabe (<i>Corvus corax</i>)	2	1			
Amerikanische Krähe (<i>Corvus Brachyrhynchos</i>)	3	3			
Truthahngerier (<i>Cathartes aura</i>)	2	0			
Steinadler (<i>Aquila chrysaetos</i>)	2	0			
Krähe (<i>Corvus</i>)	82	18	Nicht bekannt	Isolierung Mikroskopie ICFT ³ HAH ⁴	(Chiba et al., 1984) Japan
Habichtartige (<i>Accipitridae</i>)	35*/72**	29*/14**	4 Rotschwanzbussarde starben, Gewichtsverlust, Hepatitis, Splenitis, Aerosacculitis, Perikarditis, Enterocolitis, alle anderen: keine Symptome	Makroskopie Isolierung IFT ⁵ AK ¹ -ELISA ²	(Fowler et al., 1990) USA
Geierartige (<i>Cathartidae</i>)	16*/11**	1*/6**			
Eulen (<i>Strigiformes</i>)	18*/11**	4*/2**			
Falkenartige (<i>Falconidae</i>)	11*/5**	0*/0**			
Habichtartige (<i>Accipitridae</i>)	33*/32**	13*/23**	Klinisch unauffällige Vögel einer Greifvogel-	Isolierung AG ⁶ -ELISA ² * KBR ⁷ AK ¹ -ELISA ² **	(Gerbermann et al., 1990)
Falkenartige (<i>Falconidae</i>)	18*/18**	6*/14**			

Vogelspezies	Anzahl untersuchter Vögel	Positive Vögel	Symptomatik sowie pathologische und histologische Veränderungen	Nachweismethode und Identifizierung	Referenz / Land
Eulen (<i>Stringiformes</i>)	11*/11**	1*/6**	haltung		Deutschland
Rotschwanzbussard (<i>Buteo jamaicensis</i>)	1	1	Verendet, Abmagerung, Splenomegalie, Perikarditis, Aerorsacculitis, Perihepatitis	Makroskopie Mikroskopie Isolierung	(Mirande et al., 1992) USA
Habichtartige (<i>Accipitridae</i>)	69*/60**	11*/55**	Selten traumatisch bedingte Symptomatik ohne spezifische Organveränderungen, freilebende Vögel	Isolierung IFT ⁵ AG ⁶ -ELISA ² * KBR ⁷ AK ¹ -ELISA ² **	(Gerbermann and Korbel, 1993) Deutschland
Falkenartige (<i>Falconidae</i>)	40*/34**	3*/24**			
Eulen (<i>Strigiformes</i>)	42*/26**	6*/23**			
Fischadler (<i>Pandion haliaetus</i>)	1*/1*	0*/1*			
Glanzkrähe (<i>Corvus splendens</i>)	Genauere Zahlen nicht bekannt, 18 % positiv		Nicht bekannt	Isolierung IFT ⁵ AG ⁶ -ELISA ²	(Chahota et al., 1997) Indien
Wanderfalke (<i>F. peregrinus</i>)	6	2	Anorexie, Apathie, Dehydratation, Splenomegalie, Perihepatitis	Makroskopie Histologie Isolierung AG ⁶ -ELISA ²	(Wernery et al., 1998) VAE
Gerfalke (<i>F. rusticolus</i>)	2	2			
Habichtartige (<i>Accipitridae</i>)	228	141	Gesunde und verletzte Vögel aus freier Wildbahn	AK ¹ -ELISA ²	(Schettler et al., 2001) Deutschland
Falkenartige (<i>Falconidae</i>)	118	71			
Eulen (<i>Strigiformes</i>)	56	42			
Fischadler (<i>Pandion</i>)	20	13			

Vogelspezies	Anzahl untersuchter Vögel	Positive Vögel	Symptomatik sowie pathologische und histologische Veränderungen	Nachweismethode und Identifizierung	Referenz / Land
<i>haliaetus</i>)					
Mäusebussard (<i>Buteo buteo</i>)	29	12	Nicht bekannt	AG ⁶ -ELISA ²	(Lierz et al., 2002a) Deutschland
Turmfalke (<i>F. tinnunculus</i>)	19	1			
weitere Habichtartige (<i>Accipitridae</i>)	22	0			
Falkenartige (<i>Falconidae</i>)	3	0			
Eulen (<i>Strigiformes</i>)	5	0			
Habichtartige (<i>Accipitridae</i>)	18	15	Nicht bekannt	PCR ⁸	(Schettler et al., 2003) Deutschland
Falkenartige (<i>Falconidae</i>)	8	8			
Eulen (<i>Strigiformes</i>)	12	6			
Fischadler (<i>Pandion haliaetus</i>)	1	0			
Philippinenadler (<i>Spizaetus philippensis</i>)	5	2	Klinisch unauffällige Vögel eines Naturparks	AK ¹ -ELISA ²	(Maluping et al., 2007) Philippinen
Brahminweih (<i>Haliastur indus</i>)	6	1			
Schlangenweihe (<i>Spilornis cheelea</i>)	2	0			
Afrika-Graseule (<i>Tyto capensis</i>)	2	0			
Streifenuhu (<i>Bubo philippensis</i>)	2	0			

Vogelspezies	Anzahl untersuchter Vögel	Positive Vögel	Symptomatik sowie pathologische und histologische Veränderungen	Nachweismethode und Identifizierung	Referenz / Land
Nebelkrähe (<i>Corvus cornix</i>) Saatkrähe (<i>Corvus frugilegus</i>)	2 1	2 1	Vorgestellt mit Verdacht auf Ornithose	PCR ⁸ RFLP ⁹ Sequenzierung Phylogenetische Analyse	(Yatsentyuk and Obukhov, 2007) Russland
Turmfalke (<i>F. tinnunculus</i>) Rötelfalke (<i>F. naumanni</i>)	44 47	25 22	Nestlinge	Protein-Elektrophorese ELISA ² PCR ⁸ Isolierung IFT ⁵ Sequenzierung	(Lemus et al., 2010) Spanien
Galapagos-Habicht (<i>Buteo galapagoensis</i>)	86	2	Keine Symptome	PCR ⁸	(Deem et al., 2012) Galapagos
Wanderfalke (<i>F. peregrinus</i>) Seeadler (<i>Haliaeetus albicilla</i>)	108 191	2 2	Nestlinge, ein verendeter adulter Seeadler	PCR ⁸ Sequenzierung Phylogenetische Analyse	(Blomqvist et al., 2012) Schweden
Truthahngeier (<i>cathartes aura</i>) Steinadler (<i>Aquila chrysaetos</i>)	4 4	43 24	Keine Symptome	DCFT ¹⁰	(Straub et al., 2015) USA
Fischadler (<i>Pandion haliaetus</i>)	1	82 (Greifvögel)	Nestling mit mehrfachen Frakturen	PCR ⁸	(Jouffroy et al., 2016) USA

* 1983 / ** 1986

- ¹ AK = Antikörper ² ELISA = Enzyme Linked Immunosorbent Assay
³ ICFT = indirect complement fixation test ⁴ HAH = Hämagglutinationshemmtest
⁵ IFT = Immunfluoreszenztest ⁶ AG = Antigen
⁷ KBR = Komplementbindungsreaktion ⁸ PCR = Polymerase-Kettenreaktion
⁹ RFLP = Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus
¹⁰ DCFT = direct complement fixation test

2.8. *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT)

2.8.1. Taxonomie

Der in den frühen Neunziger Jahren des letzten Jahrhunderts entdeckte Erreger wurde zunächst aufgrund seiner bakteriologischen Eigenschaften als Pasteurella- bzw. Kingella-ähnliches Bakterium, Taxon 28 oder auch pleomorphes gram-negatives Stäbchen (PGNR) bezeichnet (Charlton et al., 1993; Du Preez et al., 1992; Hinz und Hafez et al., 1997; van Beek et al., 1994). Nach Durchführung zahlreicher genetischer und taxonomischer Untersuchungen der Eigenschaften des Erregers schlug Vandamme et al. (1994) den Namen *Ornithobacterium* der Gattung vor. Die Spezies *Ornithobacterium rhinotracheale* gehört demnach zur Ordnung der Flavobacteriales, der Familie Flavobacteriaceae sowie der Gattung *Ornithobacterium*.

Ordnung: Flavobacteriales
Familie: Flavobacteriaceae
Gattung: *Ornithobacterium*
Spezies: *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT)

2.8.2. Ätiologie

Ornithobacterium rhinotracheale (ORT) ist ein pleomorphes, gram-negatives, unbewegliches, nicht sporulierendes Stäbchenbakterium. Auf Schafblutagar bildet ORT nach ca. 48 Stunden 1-3 mm große runde graue bis grau-weiße, z.T. mit gelblichem oder rötlichem Schimmer konvexe Kolonien (Hafez and Vandamme, 2011). Verlängert man die Inkubationszeit kann auch Hämolyse beobachtet werden (Tabatabai et al., 2010).

Mittels Agar-Gel-Präzipitationstest (AGP) wurden bisher 18 verschiedene Serotypen A-R differenziert (Hafez und Sting, 1999; van Empel et al., 1996; Vandamme et al., 1994). Der Serotyp A ist der am häufigsten bei Hühnern (97%) und Puten (61%) isolierte Serotyp (van Empel et al., 1997). Auch die Serotypen B, D und E lassen sich relativ häufig bei Puten isolieren (van Empel and Hafez, 1999). Die Übertragung des Erregers erfolgt horizontal

durch direkten und indirekten Kontakt über Aerosole und z.B. Trinkwasser (Lopes et al., 2002).

Anfang der Neunzigerjahre berichten Autoren verschiedener Länder über eine respiratorische Krankheit in Nutzgeflügelbetrieben mit zunächst unbekannter Ursache. Aus Lunge und Luftsack ließen sich gram-negative pleomorphe Stäbchen isolieren (Charlton et al., 1993; Hafez et al., 1993; Hinz et al., 1994; van Beek et al., 1994), welche ab 1994 als ORT bezeichnet wurden (Vandamme et al., 1994). Pathologisch-anatomische Veränderungen sind Tracheitis, Pericarditis, Sinusitis, Aerosacculitis und Pneumonie (Hafez and Vandamme, 2011; van Empel and Hafez, 1999). In vielen Fallberichten wurde von Koinfektionen mit anderen respiratorischen Pathogenen wie z.B. mit *Escherichia coli* (Sakai et al., 2000), NDV (Travers, 1996), *Infektiöses Bronchitis Virus* (IBV) (Erbeck and McMurray, 1998; Odor et al., 1997), *Mykoplasma synoviae* (Zorman-Rojs et al., 2000), AMPV (Bano et al., 2003; Jirjis et al., 2004; Marien et al., 2005) oder *C. psittaci* (Van Loock et al., 2005) berichtet. Auch in experimentellen Studien zeigten sich bei alleiniger ORT-Infektion minimale pathologischen Veränderungen bei Hühnern und Puten welche erst durch eine Koinfektion mit anderen bakteriellen oder viralen Erregern verstärkt werden konnten (van Empel et al., 1997; van Empel and Hafez, 1999; van Veen et al., 2000). Demgegenüber stehen aber Studien, bei denen allein durch ORT hochgradige pathologisch-anatomische Veränderungen hervorgerufen wurden (Ryll et al., 1996; Sprenger et al., 1998; Travers et al., 1996).

ORT wurde bereits weltweit von vielen verschiedenen Vogelspezies, wie Puten, Hühnern, Rebhühnern, Enten, Falken, Gänsen, Perlhühnern, Möwen, Straußen, Fasanen, Tauben, Wachteln und Krähen isoliert (Charlton et al., 1993; Hafez and Lierz, 2010; van Empel and Hafez, 1999; Vandamme et al., 1994).

2.8.3. Vorkommen von ORT bei Greif- und Rabenvögeln

In der Literatur finden sich kaum Hinweise auf den Nachweis von ORT bei Greif- und Rabenvögeln. In zwei Studien zum Vorkommen von ORT bei Wildvögeln wurden unter anderen drei Isolate von Krähen, die 1983 in Deutschland isoliert wurden, erwähnt (Amonsin et al., 1997; Vandamme et al., 1994). Chou et al. (2009) verwendete für seine Untersuchung mittels *randomly amplified polymorphic DNA* (RAPD) ein Isolat eines Schopfabichs (*Accipiter trivirgatus*) aus Taiwan neben 92 weiteren ORT-Isolaten von hauptsächlich Hühnern, Tauben und Puten. Hafez und Lierz (2010) veröffentlichten einen Fallbericht über den Nachweis von ORT bei jungen Falken in einer Aufzuchtstation. Während 20 % der jungen Falken respiratorische Symptome zeigten, kurz nachdem sie zurück zu ihren Elterntieren gesetzt wurden, zeigten die älteren Falken keinerlei Symptome. Bei zwei verstorbenen Falkenküken konnte ORT vom Serotyp A aus Lunge und Luftsack isoliert

werden. Ein weiteres Falkenküken verstarb, während bei allen anderen Vögeln die Symptome kurze Zeit nach einer Tetracyclin-Behandlung verschwanden. Per ORT-PCR konnte auch bei zehn untersuchten Futterküken ORT-DNA nachgewiesen werden, während die Futterrattenbabys ORT-negativ waren. Kurz vor Beendigung dieser Arbeit veröffentlichten Lecis et al. (2010) einen Artikel über den Nachweis von Mykoplasmen bei freilebenden Greifvögeln in Italien. In diesem Zusammenhang, wurden die beprobten Vögel nicht nur auf Mykoplasmen, sondern ebenfalls auf ORT hin untersucht. Der Nachweis von ORT gelang bei 27 % der untersuchten Greifvögel.

3. Material

3.1. Feldproben

Im Zeitraum von Juni 2010 bis Juni 2011 wurden von 257 verschiedenen Greif- und Rabenvögeln aus unterschiedlichen Herkunftsn jeweils zwei Rachen- und ein Kloakentupfer als Probenmaterial entnommen. Darüber hinaus wurde im Institut für Geflügelkrankheiten bereits vorhandenes Probenmaterial aus Rachen- und Kloakentupfern von 21 verschiedenen Beizvögeln aus verschiedenen Bundesländern Deutschlands in die Untersuchung mit einbezogen. Insgesamt wurden 30 verschiedene Vogelspezies, die zu sieben verschiedenen Vogelfamilien gehörten, untersucht (Tabelle 7).

Tabelle 7: Familie und Spezieszugehörigkeit der beprobten Vögel

Familie	Anzahl	Spezies	Anzahl
Habichtartige (Accipitridae)	121	Mäusebussard (<i>Buteo buteo</i>)	46
		Wespenbussard (<i>Pernis apivorus</i>)	3
		Rauhfußbussard (<i>Buteo lagopus</i>)	1
		Wüstenbussard (<i>Parabuteo unicinctus</i>)	5
		Habicht (<i>Accipiter gentilis</i>)	24
		Sperber (<i>Accipiter nisus</i>)	22
		Seeadler (<i>Haliaeetus albicilla</i>)	10
		Rotmilan (<i>Milvus milvus</i>)	5
		Rohrweihe (<i>Circus aeruginosus</i>)	2
		Steppenweihe (<i>Circus macrourus</i>)	1
		Adlerbussard (<i>Buteo rufinus</i>)	1
Steppenadler (<i>Aquila nipalensis</i>)	1		
Falkenartige (Falconidae)	57	Turmfalke (<i>Falco tinnunculus</i>)	39
		Wanderfalke (<i>Falco peregrinus</i>)	13
		Sakerfalke (<i>Falco cherrug</i>)	4
		Rötelfalke (<i>Falco naumanni</i>)	1
Eulen* (Strigidae)	53	Steinkauz (<i>Athene noctua</i>)	20
		Waldkauz (<i>Strix aluco</i>)	14
		Rauhfußkauz (<i>Aegolius funereus</i>)	2
		Schneeeule (<i>Nyctea scandiaca</i>)	1
		Waldohreule (<i>Asio otus</i>)	11
		Sumpfohreule (<i>Asio flammeus</i>)	1
Uhu (<i>Bubo bubo</i>)	4		

Familie	Anzahl	Spezies	Anzahl
Eulen* <i>(Tytonidae)</i>	3	Schleiereule (<i>Tyto alba</i>)	3
Rabenartige <i>(Corvidae)</i>	40	Nebelkrähe (<i>Corvus corone cornix</i>)	17
		Rabenkrähe (<i>Corvus corone</i>)	10
		Elster (<i>Pica pica</i>)	8
		Kolkrabe (<i>Corvus corax</i>)	5
Fischadler <i>(Pandionidae)</i>	2	Fischadler (<i>Pandion haliaetus</i>)	2
Neuweltgeier <i>(Cathartidae)</i>	2	Truthahngeier (<i>Cathartes aura</i>)	2
	278		278

* im Folgenden wird die Familie der Eulen unter der Ordnung Strigiformes zusammengefasst

Für die eigene Beprobung wurde in dem oben genannten Zeitraum einmal wöchentlich bei den neu eingelieferten Wildvögeln in der Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere, sowie im Institut für Geflügelkrankheiten der Freien Universität (FU) Berlin, im Folgenden zusammengefasst als Klinik bezeichnet, Tupferproben entnommen. Insgesamt handelte es sich hierbei um 163 beprobte Vögel aus fünf verschiedenen Familien (Abb.1). Kloaken- und Rachtupfer von vier Milanen, einem Mäusebussard und einem Uhu wurden vom Landesuntersuchungsamt Rheinland-Pfalz (LUA RP) zur Verfügung gestellt. Vier weitere Vögel, ein Falke und drei Eulen wurden in Maison Alfort, einer Wildvogelklinik in Paris, Frankreich beprobt. Weiteres Probenmaterial wurde von 48 unterschiedlichen Vögeln aus vier verschiedenen Familien in einer Auffangstation des Naturschutzbundes Deutschlands (NABU), dem Artenschutzzentrum Leiferde in Niedersachsen sowie von 19 Steinkäuzen im Rahmen eines Auswilderungsprojektes in der Nuthe-Nieplitz-Niederung in Brandenburg gewonnen. Aus einer falknerischen Haltung (Falkenhof) in Potsdam, Brandenburg wurden weitere 17 Vögel vier verschiedener Familien beprobt. Das im Institut bereits vorhandene Probenmaterial stammte von Beizvögeln verschiedener Spezies aus Niedersachsen, Rheinland-Pfalz, Nordrhein-Westfalen, Hamburg, Baden-Württemberg, Berlin/Brandenburg, Hessen und Bayern. Insgesamt wurde Probenmaterial von 278 unterschiedlichen Vögeln aus sieben verschiedenen Quellen für die Untersuchungen verwendet (Abb.1).

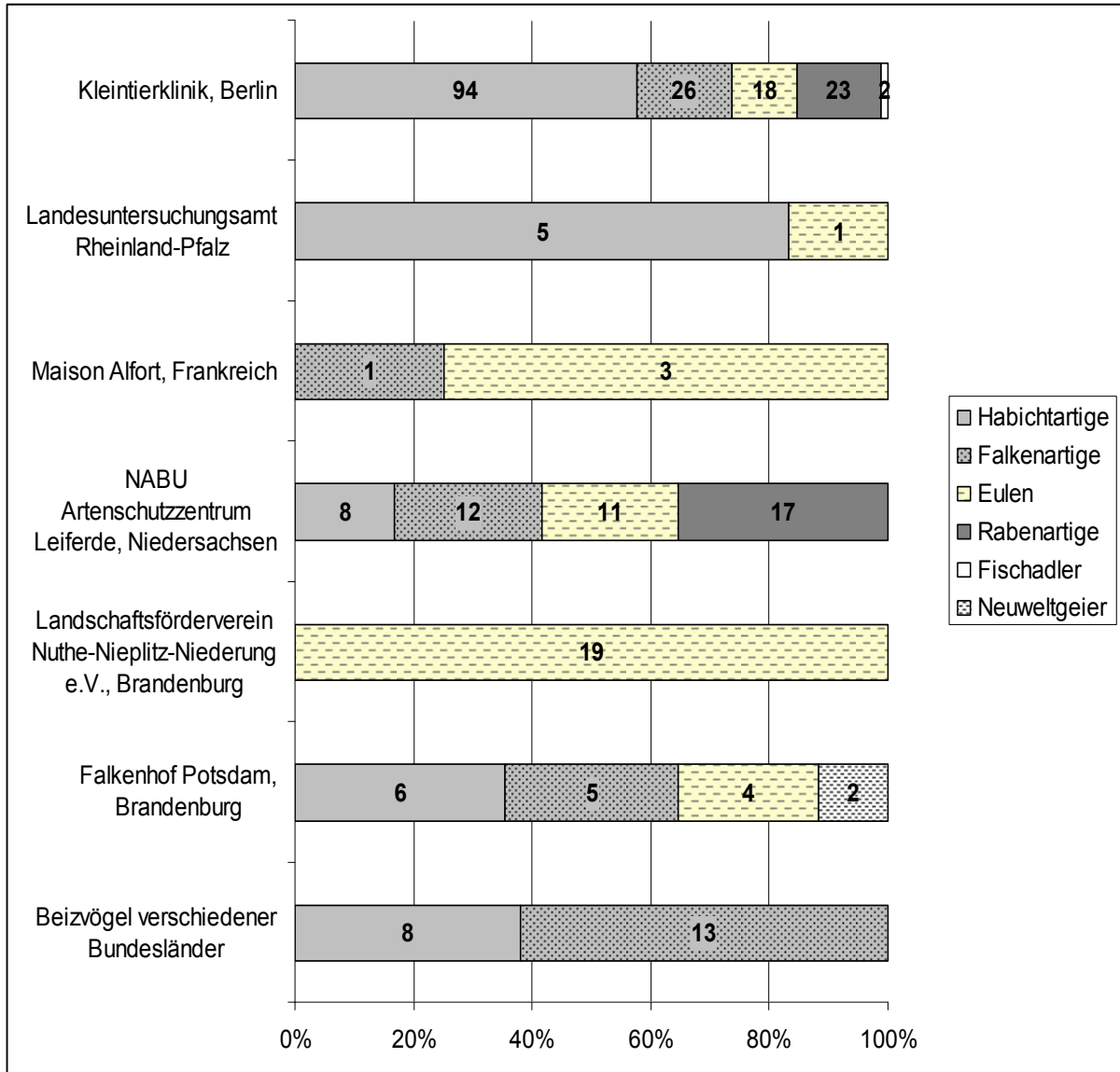


Abbildung 1: Familienzugehörigkeit der beprobten Vögel der jeweiligen Herkunft (absolut und %)

3.2. Referenzmaterial

Die als Referenzmaterial verwendeten Virus- und Bakterienstämme sowie Feldisolate sind in der Tab. 8, Referenzdaten zu Sequenzen in Tab. 9 zusammengestellt.

Tabelle 8: Verwendete Virus- und Bakterienstämme

Virus / Bakterium	Serotyp / Bezeichnung	Material	Herkunft
Aviadenoviren			
Hühner-Avidenovirus A	FAdV ¹ -1: Celo	Referenzstamm	Institutsammlung
Hühner-Avidenovirus D	FAdV-2: SR 48	Referenzstamm	Institutsammlung
	FAdV-3: SR 49	Referenzstamm	Institutsammlung
Hühner-Avidenovirus C	FAdV-4: KR 5	Referenzstamm	Institutsammlung
Hühner-Avidenovirus B	FAdV-5: 340	Referenzstamm	Institutsammlung
Hühner-Avidenovirus E	FAdV-6: CR 119	Referenzstamm	Institutsammlung
	FAdV-7: YR 36	Referenzstamm	Institutsammlung
	FAdV-8b: Hungary IV	Referenzstamm	Institutsammlung
Hühner-Avidenovirus D	FAdV-9: A 2	Referenzstamm	Institutsammlung
Hühner-Avidenovirus C	FAdV-10: C 2B	Referenzstamm	Institutsammlung
Hühner-Avidenovirus D	FAdV-11: UF 71	Referenzstamm	Institutsammlung
Greifvogel- Aviadenovirus	Z2/02	Feldisolat	Institutsammlung
Tauben-Avidenovirus	PiAdV ² : PiAV	Laborstamm	Institutsammlung
Gänse-Avidenovirus	GoAdV ³ : GAV 2	Laborstamm	Institutsammlung
Puten-Avidenovirus B	TAdV-B ⁴	Laborstamm	Institutsammlung
Papageien-Avidenovirus	PsAdV ⁵ : 818-3 PAV	Laborstamm	Institutsammlung
Atadenovirus			
Enten-Atadenovirus A	DAdV ⁶ -A: EDS ⁷ -Virus f	Referenzstamm	Institutsammlung
Siadenoviren			
Puten Siadenovirus A = Hämorrhagische Enteritis der Pute	TAdV-A ⁸ = HEV ⁹ HE AG 5/95	Feldprobe	Institutsammlung
Herpesviren			
Hühner-Herpesvirus-1	GaHV ¹⁰ -1: ASL	Laborstamm	Institutsammlung
	GaHV-1: AviPro ILT ¹¹	Impfstoff	Lohmann Animal Health
Hühner-Herpesvirus-2	GaHV-2 = MDV ¹² Marek-AG	Impfstoff	Lohmann Animal Health
Herpesvirus	FHV ¹³	Feldisolat: Merlin	Institutsammlung
	Z100/03	Feldisolat: Falke	Institutsammlung
	Z121/03	Feldisolat: Uhu	Institutsammlung

Virus / Bakterium	Serotyp / Bezeichnung	Material	Herkunft
	Z49/04	Feldisolat: Gerfalken	Institutsammlung
	Z95/04	Feldisolat: Ger-Wanderfalken	Institutsammlung
Pockenvirus			
Hühner-Pockenvirus	FPV ¹⁴ : HP 1	Impfstoff	Lohmann Animal Health
Retrovirus			
Aviäres Leukosevirus (ALV)	Untergruppe J	Laborstamm	Institutsammlung
Rous Sarkoma Virus (RSV)		Laborstamm	Institutsammlung
Orthomyxovirus			
Aviäres Influenza Virus (AIV)	AIV H6N2	Laborstamm	Institutsammlung
Paramyxovirus			
Newcastle Disease Virus (NDV)	AviPro ND LASOTA	Impfstoff	Lohmann Animal Health
Pneumovirus			
AMPV ¹⁵ : Subtyp A	STG 761/88	Laborstamm	Institutsammlung
AMPV: Subtyp B	STG 1493	Laborstamm	Institutsammlung
Mykoplasmen-Spezies			
Mykoplasmen-Spezies	M 64	Laborstamm	Institutsammlung
Chlamydien			
Chlamydomphila psittaci		DNA	LUA Sachsen
Ornithobacterium rhinotracheale (ORT)			
ORT A	B3263/91	Referenzstamm	Institutsammlung
ORT F	ORV-94084K858	Referenzstamm	Institutsammlung
ORT H	E-94063 4.2.	Referenzstamm	Institutsammlung
ORT I	BAC-96-8334	Referenzstamm	Institutsammlung
ORT J	O-97091 HEN81-2	Referenzstamm	Institutsammlung

¹FadV = Fowl avidenovirus

³GoAdV³ = Goose aviadenovirus

⁵PsAdV = Psittacide aviadenovirus

⁷EDS = Egg Drop Syndrom

⁹HEV = Hämorrhagisches Enteritis Virus

¹¹ILT = Infektiöse Laryngotracheitis

¹³FHV = Falcon herpesvirus

¹⁵AMPV = Avian Metapneumovirus

²PiAdV = Pigeon aviadenovirus

⁴TadV - B = Turkey aviadenovirus B

⁶DadV - A = Duck atadenovirus A

⁸TadV - A = Turkey siaviadenovirus A

¹⁰GaHV = Gallid herpesvirus

¹²MDV = Marek Disease Virus

¹⁴FPV = Fowl poxvirus

Tabelle 9: Referenzdaten zu Sequenzen

Virus / Bakterium	Herkunft	Bezeichnung
Herpesviren		
Papageien- und Sittich-Herpesvirus (<i>PsHV-1: Psittacid herpesvirus 1</i>)	Feldisolat: Amazone	AY372243 ¹
	Feldisolat: Graupapagei	AY623128 ¹
Herpesvirus	Feldisolat: Bussard	FJ797653 ¹
	Feldisolat: Gänsegeier	AY571851 ¹
Tauben-Herpesvirus (<i>CoHV-1 = Columbid herpesvirus 1</i>)	Feldisolat: Rundschwanzsperber	EF623994 ¹
	Feldisolat: Taube	EF522960 ¹
	Feldisolat: Taube	AF141890 ¹
	Feldisolat: Eule	EF522952 ¹
Hühner-Herpesvirus-1 (<i>GaHV-1 = Gallid herpesvirus 1</i>)	Feldisolat: Huhn	JX458822 ¹
<i>Ornithobacterium rhinotracheale</i> (ORT)		
ORT	Feldisolat: Taube	DQ 195242 ¹
		DQ 195245 ¹
		DQ 195247 ¹
		DQ 195248 ¹
		DQ 195249 ¹
		DQ 195250 ¹
		DQ 195252 ¹
		190 ²
		209 ²
		390 ²
	356 ²	
	427 ²	
	Feldisolat: Pute	2 ²
		3 ²
		11 ²
		24 ²
		26 ²
		1032 ²
	Typstamm	DSM 15997 ²

¹ Genbank-Accessions-Nummer

² Sequenzen aus der Institutssammlung

Die zur Serotypisierung verwandten Antikörper gegen die ORT-Serotypen A – L entstammten der Institutssammlung.

3.3. Geräte und Verbrauchsmaterialien

Tabelle 10: Geräte und Verbrauchsmaterialien

Geräte und Verbrauchsmaterialien	Hersteller
Ableselampe für AGP-Platten (= Lampe mit indirektem Licht)	
Bakteriette®	EM-TE Vertrieb, Hamburg, Deutschland
Basisagar Bacto™ Agar für den Agar-Gel-Präzipitationstest (AGP)	Becton, Dickinson and Company, Sparks, USA
Biophotometer	Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
Blutagar Basis Nr. CM 0271B für die Gentamycinplatten	Oxoid GmbH, Wesel, Deutschland
Brutschrank (Mykoplasmenlabor)	Heraeus Instruments GmbH, Hanau, Deutschland
Bunsenbrenner	Fireboy eco, Integra Biosciences AG, Wallisellen, Schweiz
Columbia Agar mit Schafblut	Fertigplatte, Oxoid GmbH, Wesel, Deutschland
Drehverschlussröhrchen Cellstar®	Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen, Deutschland
Drigalskispatel	
Elektrophoresesystem: Gelkammern und Power Supply	Bio-Rad Laboratories GmbH, München, Deutschland
Fetales Kälberserum	Biochrom AG, Berlin, Deutschland
FlexCycler	Analytikjena
Gassner-Nährboden	Fertigplatte, Oxoid GmbH, Wesel, Deutschland
Gentamycin (10mg/ml) Nr. A2710 für Gentamycinplatten	Biochrom Ag, Berlin, Deutschland
iCycler iQ™	BioRad Laboratories GmbH
Impfösen	Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Deutschland
Küvetten	Bio-Rad, München
Lamina HeraSafe	Heraeus, Hanau, Deutschland
Densitometer	BioMérieux Deutschland GmbH, Nürtingen, Deutschland
Mikroskop	Leica Microsystems Ltd., Heerbrugg, Schweiz
Mikrowelle	Severin, Deutschland
Mx 3005 PTM	Stratagene®
Objekträger	Menzel-Gläser, Braunschweig, Deutschland
Pasteurpipetten	Brand GmbH+Co, Wertheim, Deutschland

Geräte und Verbrauchsmaterialien	Hersteller
Petrischalen 94/16	Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen, Deutschland
Pipetten und Pipettenspitzen	Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
QIAcube	Qiagen GmbH, Hilden, Deutschland
Safe-Lock Zentrifugengefäße (1,5 ml)	Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
Safe-Lock Zentrifugengefäße (2 ml)	Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
Schafblut SR 0051D für Gentamycin-platten	Oxoid GmbH, Wesel, Deutschland
SeaKem® LE Agarose	Biozym, Hessisch Oldendorf, Deutschland
Thermoblock (Thermomixer comfort)	Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
Thermomixer comfort	Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
Vakuumpumpe Typ MZ2C	Vacuubrand GmbH+Co, Wertheim, Deutschland
Vakuumentopf	
Videodokumentationssystem Gel DocXR und Software Quantity One® 4.6.1.	Bio-Rad Laboratories, Inc., USA
Vortex-Genie™	Bender & Hobein AG, Zürich, Schweiz
Wasserbad	GFL, Burgwedel, Deutschland
Zentrifuge 5417 R	Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
Zentrifuge 5424	Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland

3.4. Kits, Reagenzien und Puffer

Tabelle 11: Kits, Reagenzien und Puffer

Kits, Reagenzien und Puffer	Hersteller
Antibiotische Wirkstoffplättchen: Erythromycin 15 µg, Tiamulin 30 µg, Ampicillin 10 µg, Enrofloxacin 5 µg, Tetracyclin 30 µg, Spectinomycin 100 µg, Colistin 10 µg, Sulfamethoxazol / Trimethoprim 23,75 µg / 1,25 µg, Gentamycin 10 µg, Neomycin 30 µg	Oxoid GmbH, Wesel, Deutschland
API 20 NE-System (Test zur Identifizierung gramnegativer, nicht fermentierender Bakterien [nicht Enterobacteriaceae])	BioMérieux Deutschland GmbH, Nürtingen, Deutschland

Kits, Reagenzien und Puffer	Hersteller
Zusatzreagenzien: JAMES-Reagenz Nit 1 & Nit 2 Zinkpulver	
Ethidiumbromid 1 %	Carl-Roth GmbH & Co.KG, Karlsruhe, Deutschland
Gramfärbung Color Gram 2: Kristallviolett-Oxalat-Lösung stabilisierte Lugol-PVP-Lösung Entfärber Safranin-Lösung	BioMérieux Deutschland GmbH, Nürtingen, Deutschland
Größenstandard 1 kbp 1 kbp-DNA Ladder Probenladepuffer Aqua bidest.	Lifetechnologies TMGibco Brl, Galthersburg, USA
Größenstandard 100 bp 100 bp-DNA Ladder Probenladepuffer Aqua bidest.	New England Biolabs, Frankfurt am Main, Deutschland
Illustra™ puReTaq Ready-To-Go PCR Beads: PCR-Gefäße mit Puffer-, Nukleotid- und Polymerasemix in lyophilisierter Form. PuReTaq-DNA-Polymerase Tris-HCL (pH 9,0) KCL MgCl ₂ Bovines Serumalbumin (BSA) dNTP (Desoxyribonukleosidtriphosphat; dATP, dGTP, dCTP, dTTP)	GE Healthcare, Freiburg, Deutschland
MinElute Gel Extractions Kit Puffer QG Puffer PE Puffer Puffer EB Säulen und Auffangbehälter	Qiagen GmbH, Hilden, Deutschland
OneStep RT-PCR Kit 5x Puffer dNTP-Mix Q Solution RT-PCR Enzymemix	Qiagen GmbH, Hilden, Deutschland

Kits, Reagenzien und Puffer	Hersteller
Oxidase-Test: BD BBLTMDrySlide™ Oxidase	Becton, Dickinson and Company, Sparks, USA
PBS (Phosphatgepufferte Kochsalz- lösung) mit einem pH von 7,4 Natriumchlorid Kaliumchlorid Di-Natriumhydrogenphosphat Kaliumhydrogenphosphat	
Probenladepuffer in TBE-Puffer (10x) Bromphenolblau 0,25 % Xylencyanol 0,25 % Glycerin 30,0 %	
QIAamp® MinElute® Virus Spin Kit: QIAamp MinElute Columns Collection Tubes (2 ml) AL Puffer AW1 Puffer (Konzentrat) AW2 Puffer (Konzentrat) Protease Resuspensionspuffer Carrier RNA QIAGEN® Protease	Qiagen GmbH, Hilden, Deutschland
QuantiTect Multiplex-PCR Kit: QuantiTect Multiplex PCR Master Mix : HotStarTaq® DNA Polymerase QuantiTect Multiplex PCR Puffer dNTP Mix mit dUTP MgCl ₂ RNase-freies Wasser	Qiagen GmbH, Hilden, Deutschland
QuantiTect Probe RT-PCR Kit: QuantiTect Probe RT-PCR Mix : HotStarTaq® DNA Polymerase QuantiTect Probe RT-PCR Puffer dNTP Mix mit dUTP ROX™ MgCl ₂ QuantiTect RT-Mix : Omniscript® Reverse Transcriptase Sensiscript® Reverse Transcriptase RNase-freies Wasser	Qiagen GmbH, Hilden, Deutschland

Kits, Reagenzien und Puffer	Hersteller
TBE-Puffer (Tris-Borat-Elektrophorese-puffer) mit einem pH von 7,5 Tris Borsäure EDTA Dinatriumsalz	

3.5. Verwendete Primer und Sonden für die molekularbiologische Untersuchung

Tabelle 12: Primer und Sonden für die molekularbiologischen Untersuchungen

Methode	Nachweis / Zielgen	Primer	Polarität	Sequenz (5'-3')	Referenz
PCR	Aviadenovirus / Hexon-Gen	HEX L1-s	vorwärts	ATGGGAGCSACCTAYTT CGACAT	(Raue et al., 2005)
		HEX L1-as	rückwärts	AAATTGTCCCKRAANCC GATGTA	
Nested PCR	Herpesvirus / Polymerasegen	HVC 1	vorwärts	GAYTTYGCNAGYYTNTA YCC	(Ehlers et al., 1999)
		HVC 2	vorwärts	TCCTGGACAAGCAGCA RNYSGCNMTNAA	
		HVC 5	vorwärts	TGTAACCTCGGTGTAYGG NTTYACNGGNGT	
		HVC 7	rückwärts	GTCTTGCTCACCAGNTC NACNCCYTT	
		HVC 9	rückwärts	CACAGAGTCCGTRTCN CCRTADAT	
RT-qPCR	Influenza A Virus / Matrixgen	M+25	vorwärts	AGATGAGTCTTCTAACC GAGGTCG	(Spackman et al., 2002)
		M-124 mod ¹	rückwärts	FAM ² - TGCAAAAACATCTTCAA GTCTCTG-BHQ1 ³	
		S-M+64	vorwärts	TCAGGCCCCCTCAAAG CCGA	
RT-qPCR	Newcastle Disease	M+4100	vorwärts	AGTGATGTGCTCGGAC CTTC	(Wise et al., 2004)

Methode	Nachweis / Zielgen	Primer	Polarität	Sequenz (5'-3')	Referenz
	Virus / Matrixgen	M-4220	rückwärts	CCTGAGGAGAGGCATT TGCTA	
		S + M 4169	vorwärts	FAM ² - TTCTCTAGCAGTGGGAC AGCCTGC-TAMRA ⁴	
Nested RT-PCR	Aviäres Metapneumo- virus Subtyp A und B / Glykoprotein- gen	G3++	vorwärts	GGGACAAGTATCTCTAT GGGGTC	(Bäyon- Auboyer et al., 1999)
		G446-	rückwärts	TCTCGCTGACAAATTGG TCCTGA	
		A+	vorwärts	AGGAGATAGAGATTGGT GGTC	(Haarländer, 2005)
		B+mod	vorwärts	GAGCCAAAAAATACTGT TAGGACT	
		X-	rückwärts	ACAATCAAACCCACCCA GTACA	
PCR	Mykoplasmen / 16S rRNA-Gen	GPF +	vorwärts	GCTGGCTGTGTGCCTA ATACA	(Hagen, 2007; van Kuppeveld et al., 1992)
		MGSO -	rückwärts	TGCACCATCTGTCACTC TGTTAACCTC	
qPCR	Chlamydia psittaci / ompA- Gen	Cpps-F	vorwärts	CACTATGTGGGAAGGT GCTTCA	amtliche Methoden- sammlung FLI (de Quadros, 2011; Hoffmann et al., 2006)
		Cpps-R	rückwärts	CTGCGCGGATGCTAAT GG	
		Cpps-S	vorwärts	FAM ² - CGCTACTTGGTGTGAC- BHQ ³ 1	
	Interne Kontrolle	EGFP- 12-F	vorwärts	TCGAGGGCGACACCCT G	(Hoffmann et al., 2006)
		EGFP- 10-R	rückwärts	CTTGTACAGCTCGTCCA TGC	
		EGFP-S- Cy5 ⁵	vorwärts	Cy5 ⁵ - AGCACCCAGTCCGCC TGAGCA-BH Q ³ 2	
PCR	Ornithobac- terium rhino- tracheale	OR16S- F1	vorwärts	GAGAATTAATTTACGGA TTAAG	(van Empel and van den Bosch, 1998)
		OR16S-	rückwärts	TTCGCTTGGTCTCCGAA	

Methode	Nachweis / Zielgen	Primer	Polarität	Sequenz (5'-3')	Referenz
		R1		GAT	
RAPD ⁶		M 13	vorwärts	GAGGGTGGCGTTCT	(Gräser et al., 1993; Hafez and Beyer, 1997)

¹ modifiziert durch Hoffmann, FLI, persönliche Mitteilung an D. Lüscho

² FAM: Karboxifluoreszein

³ BHQ: Black Hole Quencher

⁴ TAMRA: Carboxytetramethylrhodamine

⁵ Cy5: Cyaninefluoreszein

⁶ RAPD: random amplified polymorphic DNA

4. Methoden

4.1. Probennahme, Konservierung und Kultivierung der Proben

Die zu beprobenden Vögel wurden an Kopf und Ständer fixiert. Von jedem Tier wurden unter Verwendung von Bakterietten zwei Rachentupfer und ein Kloakentupfer entnommen. Durch Einführen des Zeigefingers in den Schnabelwinkel wurde der Schnabel des Vogels geöffnet und es konnten zwei Rachenabstriche entnommen werden. Danach wurde nach Scheiteln der Federn um die Kloake ein Kloakenabstrich durchgeführt. Unmittelbar nach der Probennahme wurden ein Rachen- sowie der Kloakentupfer in 600 µl PBS in 2 ml Safe-Lock Zentrifugengefäße aufgenommen und bei -80° C aufbewahrt.

Die Bearbeitung des zweiten Rachentupfers wird später unter dem Punkt 4.3. Bakteriologische Untersuchung beschrieben.

4.2. Molekularbiologische Untersuchung

4.2.1. DNA- und RNA-Extraktion

Die DNA- und RNA-Extraktion wurde simultan unter Verwendung des QIAamp® MinElute® Virus Spin Kits automatisiert im QIAcube durchgeführt. Eingesetzt wurden jeweils 200 µl der in PBS aufgenommenen Tupferproben. Auch für die DNA-Extraktion der ORT-Isolate wurden mit einem Tupfer ca. zehn Kolonien in jeweils 200 µl PBS verbracht und dann identisch weiterbearbeitet.

Die Bestückung des QIAcubes erfolgte laut Protokoll des Herstellers unter Verwendung der im Kit mitgelieferten Reagenzien. In jedem Lauf wurde eine negative Extraktionskontrolle unter Verwendung von 200 µl PBS mitgeführt. Die Elution der Nukleinsäuren erfolgte mittels 50 µl AVE-Puffer. Zur Erhöhung des zur Verfügung stehenden Volumens wurde das Eluat mit AVE-Puffer auf ein Volumen von 100 µl verbracht und bei -80° C aufbewahrt.

4.2.2. Bestimmung der DNA-Konzentration

Mit dem Eppendorf Bio Photometer wurde die DNA-Konzentration der Proben bei einer Wellenlänge von 260 nm gegen destilliertes Wasser als Leerwert gemessen. Zur Messung wurde die DNA 1:50 mit destilliertem Wasser verdünnt.

4.2.3. Nachweis der verschiedene Erreger mittels PCR

4.2.3.1 Nachweis von Aviadenoviren

Die Untersuchung auf Aviadenovirus-spezifische DNA erfolgte mittels einer konventionellen PCR unter Verwendung der von Raue et al. (2005) beschriebenen und im Hexongen lokalisierten Primern HEX L1-s und HEX L1-as und der Illustra™PuReTaq Ready-To-Go PCR Beads.

In die Gefäße mit den darin enthaltenen PCR-Beads wurden 2 µl des Primerpaarmixes (je 25 pmol/µl) und max. 10 µl DNA-Template (bei einer maximalen Konzentration von 100 ng/µl) pipettiert. Der Reaktionsansatz wurde mit nukleasefreiem Wasser auf ein Gesamtvolumen von 25 µl verbracht. Bei jeder Durchführung wurden die Extraktionsnegativkontrolle, eine PCR-Negativ- und eine PCR-Positivkontrolle mitgeführt. Die Amplifizierung erfolgte in einem Thermozykler mit folgendem Temperaturprofil:

Initiale Denaturierung	5 min bei	95° C
40 Zyklen: Denaturierung:	30 sec bei	94° C
Anlagerung:	30 sec bei	56° C
Synthese:	45 sec bei	72° C
Finale Synthese:	5 min bei	72° C

Die entstandenen PCR-Produkte wurden mittels Gelelektrophorese (4.2.4) unter Verwendung eines 1,5 %igen Agarosegels analysiert. Im positiven Fall war ein Amplifikat von 590 bp nachweisbar.

4.2.3.2 Nachweis von aviären Herpesviren

Zum Nachweis aviärer Herpesviren wurde eine konventionelle Herpesvirus Consensus PCR (HVC-PCR) im nested-Verfahren angewandt (Ehlers et al., 1999). Die im Polymerasegen lokalisierten degenerierten Primer ermöglichen eine Amplifikation verschiedener Herpesviren. Für die Durchführung wurden die Illustra™PuReTaq Ready-To-Go PCR Beads eingesetzt. In der ersten HVC-PCR wurden die Primer HVC 1, 2 und 7 (je 25 pmol/µl) genutzt. Die Durchführung erfolgte wie unter 4.2.3.1 beschrieben, nur mit dem Unterschied, dass in diesem Fall nur 1 µl des Primermixes verwendet wurde.

Für die zweiten PCR wurden die Primer HVC 5 und 9 eingesetzt. In die Gefäße mit den darin enthaltenen PCR-Beads des Kits wurden 2 µl des Primerpaarmixes (je 25 pmol/µl), 1 µl PCR-Produkt der ersten PCR und 22 µl nukleasefreies Wasser pipettiert. Die Durchführung beider PCR-Runden erfolgte in einem Thermozykler mit folgendem Temperaturprofil:

Initiale Denaturierung	3 min bei	95° C
40 Zyklen: Denaturierung:	20 sec bei	95° C
Anlagerung:	30 sec bei	46° C
Synthese:	30 sec bei	72° C
Finale Synthese:	10 min bei	72° C

Bei jeder Durchführung wurden die Extraktionskontrolle, eine PCR-Negativ- und eine PCR-Positivkontrolle mitgeführt. Die entstandenen PCR-Produkte wurden mittels Gelelektrophorese (4.2.4) unter Verwendung eines 2 %igen Agarosegels analysiert. Im positiven Fall war in Abhängigkeit von der nachgewiesenen Herpesviruspezies ein Amplifikat mit einer Größe von ca. 215 – 235 bp nachweisbar.

Um ein größeres Amplifikat von ca. 550 bp zu erhalten, wurde positives DNA-Material zum Teil mit weiteren Primerkombinationen bearbeitet. Dabei wurde für die erste HVC-PCR das Primerpaar HVC 1 und HVC 7 und für die zweite PCR das Primerpaar HVC 1 und HVC 9 verwendet.

4.2.3.3 Nachweis von aviären Influenzaviren

Zum Nachweis aviärer Influenzaviren wurde eine Influenza A Virus real-time RT-PCR (RT-qPCR) genutzt. Die eingesetzten Primer und die FAM-markierte Sonde sind im Matrixgen lokalisiert (Spackman et al., 2002). Die Durchführung erfolgte unter Verwendung des QuantiTect® Probe RT-PCR Kits.

Der Ansatz enthielt jeweils 20 µl des Mastermixes, welcher sich aus 12,5 µl QuantiTect Probe RT-PCR Mix, 0,25 µl QuantiTect RT-Mix, 5,25 µl nukleasefreiem Wasser und 2 µl Primer-Sonden-Mix (10 pmol/µl Primer M + 25, 15 pmol/µl Primer M – 124 und 1,25 pmol/µl Sonde M + 64) zusammensetzte sowie 5 µl RNA-Template. Bei jeder Durchführung wurden die Extraktions-negativkontrolle, eine PCR-Negativ- und eine PCR-Positivkontrolle mitgeführt. Die Durchführung der RT-qPCR erfolgte im iCycler iQ™ mit folgendem Temperaturprofil:

Reverse Transkription	30 min bei	50° C
Initiale PCR Aktivierung	15 min bei	94° C
45 Zyklen: Denaturierung:	30 sec bei	94° C
Anlagerung und Synthese*:	60 sec bei	60° C

*Die Emissionswellenlänge für die mit dem Fluoreszenzfarbstoff 6-FAM markierte Sonde betrug 490 nm, die Detektion der Emission erfolgte während der kombinierten Anlagerungs- und Synthesephase.

4.2.3.4 Nachweis des *Newcastle Disease Virus* (NDV)

Der Nachweis von NDV-spezifischer RNA erfolgte über eine NDV RT-qPCR nach Wise et al. (2004) unter Verwendung des QuantiTect® Probe RT-PCR Kits. Primer und FAM-markierte Sonde sind im Matrixgen lokalisiert (Wise et al., 2004).

Der Ansatz enthielt jeweils 20 µl des Mastermixes, welcher sich aus 12,5 µl QuantiTect Probe RT-PCR Mix, 0,25 µl QuantiTect RT-Mix, 6,25 µl nukleasefreiem Wasser und 1 µl Primer-Sonden-Mix (10 pmol/µl Primer M + 4100, 10 pmol/µl Primer M – 4220 und 6 pmol/µl Sonde M – 4169) zusammensetzte sowie 5 µl RNA-Template. Bei jeder Durchführung wurden die Extraktions-negativkontrolle, eine PCR-Negativ- und eine PCR-Positivkontrolle mitgeführt. Die Durchführung der RT-qPCR erfolgte im iCycler iQ™ mit folgendem Temperaturprofil:

Reverse Transkription:	30 min bei	50° C
Initiale PCR-Aktivierung:	15 min bei	95° C
40 Zyklen:	Denaturierung:	10 sec bei 94° C
	Anlagerung*:	30 sec bei 52° C
	Synthese:	10 sec bei 72° C

*Die Emissionswellenlänge für die mit dem Fluoreszenzfarbstoff 6-FAM markierte Sonde betrug 490 nm, die Detektion der Emission erfolgte während der Anlagerungsphase.

4.2.3.5 Nachweis von aviären Metapneumoviren (AMPV)

Zum Nachweis AMPV-spezifischer RNA wurde eine konventionelle nested AMPV RT-PCR nach Haarländer (2005) und Bâyon-Auboyer (1999) in modifizierter Form verwendet. Bei dieser PCR sind die Primer im Glykoproteingen lokalisiert. Die in der zweiten Runde eingesetzten Primer ermöglichen eine Unterscheidung der AMPV Subtypen A und B.

Für die erste PCR wurde der One Step RT-PCR Kit und die Primer G3++ und G446- (25 pmol/µl) verwendet. Der Ansatz enthielt jeweils 7,5 µl des Mastermixes, welcher sich aus 2,5 µl 5x Puffer, 0,5 µl dNTP-Mix, 2,5 µl Q Solution, 0,5 µl RT-PCR Enzymemix, 0,5 µl nukleasefreiem Wasser und 1 µl des Primerpaarmixes zusammensetzte und 5 µl RNA-Template. Das Gesamtvolumen betrug 12,5 µl.

Für die zweite PCR wurden die Illustra™ PuReTaq Ready-To-Go PCR Beads sowie die Primer A+, B+ mod und X- verwendet. Zu den Ready-To-Go Beads wurden 2 µl des Primermixes (je 25 pmol/µl), 1 µl RT-PCR-Produkt und 22 µl nukleasefreies Wasser zugefügt. Bei jeder Durchführung wurden die Extraktionsnegativkontrolle, eine PCR-Negativ- und eine PCR-Positivkontrolle mitgeführt. Die Durchführung beider PCRs erfolgte in einem Thermozykler mit folgenden Temperaturprofilen:

1. AMPV-PCR:	Reverse Transkription:	30 min bei	50° C	
	Initiale PCR-Aktivierung:	15 min bei	95° C	
	30 Zyklen:	Denaturierung:	1 min bei	95° C
		Anlagerung:	1 min bei	60° C
		Synthese:	2 min bei	72° C
	Finale Synthese:	2 min bei	72° C	
2. AMPV-PCR:	Initiale Denaturierung	2 min bei	94° C	
	30 Zyklen:	Denaturierung:	1 min bei	94° C
		Anlagerung:	1 min bei	63° C
		Synthese:	2 min bei	72° C
	Finale Synthese:	10 min bei	72° C	

Die entstandenen PCR-Produkte wurden mittels Gelelektrophorese (4.2.4) unter Verwendung eines 1,5 %igen Agarosegels analysiert. Je nach AMPV-Subtyp war im positiven Fall war ein Amplifikat von 187 bp (Typ A) bzw. 316 bp (Typ B) nachweisbar.

4.2.3.6. Nachweis von Mykoplasmen

Ein genereller Nachweis von Mykoplasmen-spezifischer DNA erfolgte mittels einer konventionellen PCR unter Verwendung der von van Kuppeveld et al. (1992) und Hagen (2007) beschriebenen und im 16S rRNA-gen lokalisierten Primer GFP und MGSO und der Illustra™ PuReTaq Ready-To-Go PCR Beads.

In die Gefäße mit den darin enthaltenen PCR-Beads wurden 2 µl des Primerpaarmixes (je 25 pmol/µl) und maximal 10 µl DNA-Template (bei einer maximalen Konzentration von 100 ng/µl) pipettiert. Der Reaktionsansatz wurde mit nukleasefreiem Wasser auf ein Gesamtvolumen von 25 µl verbracht. Bei jeder Durchführung wurden die Extraktionsnegativkontrolle, eine PCR-Negativ- und eine PCR-Positivkontrolle mitgeführt. Die Amplifizierung erfolgte im Thermozykler mit folgendem Temperaturprofil:

Initiale Denaturierung	4 min bei	94° C
35 Zyklen: Denaturierung:	30 sec bei	94° C
Anlagerung:	30 sec bei	56° C
Synthese:	30 sec bei	72° C
Finale Synthese:	10 min bei	72° C

Die entstandenen PCR-Produkte wurden mittels Gelelektrophorese (4.2.4) unter Verwendung eines 1 %igen Agarosegels analysiert. Im positiven Fall war ein Amplifikat von 1013 bp nachweisbar.

4.2.3.7. Nachweis von *Chlamydia psittaci*

Der Nachweis von *Chlamydia psittaci*-spezifischer DNA erfolgte mit einer real time PCR (qPCR) unter Verwendung von im ompA-Gen lokalisierten Primern und einer FAM-markierten Sonde (amtliche Methodensammlung FLI). Zum Ausschluss falsch negativer Ergebnisse infolge PCR-Inhibitoren wurde eine interne Kontrolle (IK) basierend auf einer Plasmid-DNA des grün fluoreszierenden Proteins (GFP) unter Nutzung GFP spezifischer Primer und einer Cy5- markierten Sonde koamplifiziert (Hoffmann et al., 2006). Die Herstellung der internen Kontrolle erfolgte wie bei de Quadros (2011) beschrieben. Für die Durchführung der qPCR wurde der QuantiTect® Multiplex-PCR Kit verwendet.

Der Ansatz enthielt jeweils 20 µl des Mastermixes, welcher sich aus 12,5 µl QuantiTect® Multiplex PCR Master Mix, 2 µl des Primerpaares Cpps-F und Cpps-R (je 10 pmol/µl), 1 µl der Sonde Cpps-S (5 pmol/µl), 1 µl GFP-Plasmid-DNA, 1,5 µl nukleasefreiem Wasser und 2 µl IK Primer-Sonden-Mixes (je 2,5 pmol/µl Primer EGFP-12-F und EGFP-10-R sowie 1,25 pmol/µl Sonde EGFP-S-Cy5) zusammensetzte und 5 µl DNA-Template. Bei jeder Durchführung wurden die Extraktions-negativkontrolle, eine PCR-Negativ- und eine PCR-Positivkontrolle mitgeführt. Die Durchführung der qPCR erfolgte im iCycler iQ™ mit folgendem Temperaturprofil:

Initiale PCR-Aktivierung:	15 min bei	95° C
42 Zyklen: Denaturierung:	1 min bei	94° C
Anlagerung und Synthese*:	1 min bei	60° C

*Die Emissionswellenlänge für die mit dem Fluoreszenzfarbstoff 6-FAM markierte Sonde betrug 490 nm, die Detektion der Emission erfolgte während der kombinierten Anlagerungs- und Synthesephase.

4.2.3.8. Nachweis von *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT)

Die Untersuchung auf ORT-spezifischer DNA erfolgte mittels einer konventionellen PCR unter Verwendung der von van Empel (1998) beschriebenen und im 16S rRNA-gen lokalisierte Primern OR16S-F1 und OR16S-R1 und der Illustra™PuReTaq Ready-To-Go PCR Beads.

In die Gefäße mit den darin enthaltenen PCR-Beads wurden 2 µl des Primerpaarmixes (je 25 pmol/µl) und maximal 10 µl DNA-Template (bei einer maximalen Konzentration von 100 ng/µl) pipettiert. Der Reaktionsansatz wurde mit nukleasefreiem Wasser auf ein Gesamtvolumen von 25 µl verbracht. Bei jeder Durchführung wurden die Extraktionsnegativkontrolle, eine PCR-Negativ- und eine PCR-Positivkontrolle mitgeführt. Die Amplifizierung erfolgte im Thermozykler mit folgendem Temperaturprofil:

Initiale Denaturierung	5 min bei	94° C
45 Zyklen: Denaturierung:	30 sec bei	94° C
Anlagerung:	60 sec bei	52° C
Synthese:	90 sec bei	72° C
Finale Synthese:	7 min bei	72° C

Die entstandenen PCR-Produkte wurden mittels Gelelektrophorese (4.2.4) unter Verwendung eines 1 %igen Agarosegels analysiert. Im positiven Fall war ein Amplifikat von 784 bp nachweisbar.

4.2.4. Durchführung der Gelelektrophorese

Zunächst wurde ein der Größe des entstandenen PCR-Produktes angepasstes Gel hergestellt. Hierfür wurde eine dem Prozentgehalt des Geles entsprechende Menge Agarose in 100 ml 1x TBE-Puffer gelöst und für ca. 4 min in der Mikrowelle aufgeköcht. Im Anschluss wurden 2 µl Ethidiumbromid hinzugefügt und nach dem Abkühlen auf 60° C die Agarose in einen horizontalen Gelträger gegossen. Nach Polymerisation des Gels wurden 5 µl der PCR-Produkte mit 0,5 µl des Probenladepuffers vermischt und in die entsprechenden Probenaschen des Gels verbracht. 8 µl des 100 bp- bzw. 1 kbp-Ladders wurden als Größenstandard in jedem Durchgang mitgeführt. Als Laufpuffer wurde 1x TBE-Puffer verwendet. Die Gelelektrophorese wurde bei 75 Volt über ca. 45 Minuten durchgeführt. Zur Auswertung wurde das Gel im Anschluss in eine Videodokumentations-Einrichtung verbracht, in der mittels UV-Licht die Banden sichtbar gemacht wurden. Bei einem positiven Ergebnis wurden die restlichen 20 µl des PCR-Produktes bei -20° C für weitere Untersuchungen aufbewahrt.

4.2.5. Durchführung der Gelextraktion und Sequenzierung

Zur Vorbereitung für die Sequenzierung wurde das entsprechende PCR-Produkt gelgereinigt. Hierzu wurden 20 µl des PCR-Produktes mit 2 µl des Probenladepuffers vermischt und auf ein Agarosegel aufgetragen. Nach der Auftrennung wurde die Bande mittels UV-Licht sichtbar gemacht, mit einem sterilen Skalpell aus dem Agarosegel ausgeschnitten und mittels des MinElute Gel Extraktions Kits weiterbearbeitet. Die ausgeschnittene Bande wurde in ein 2 ml Safe-Lock Zentrifugengefäß überführt und mit der dreifachen Menge des im Kit enthaltenen Puffers QG versetzt. Anschließend wurde der Ansatz 10 min bei 50° C auf einem Thermoblock inkubiert und alle 2 - 3 min gevortext bis eine vollständige Verflüssigung der Agarose eingetreten war. Schließlich wurde die einfache Menge Isopropanol hinzugefügt und die Zentrifugengefäße per Hand geschwenkt. Das gesamte Reaktionsvolumen wurde auf die ebenfalls im Kit enthaltene MinElute Filtersäule überführt und bei 20800 x g für 1 min zentrifugiert. Der Durchfluss wurde verworfen und es folgte ein Waschschrift mit 500 µl Puffer QG. Es folgte wieder eine Zentrifugation für 1 min bei 20800 x g, in deren Anschluss der Durchfluss verworfen wurde. Für den zweiten Waschschrift wurden 700 µl Puffer PE auf die Säule gegeben und 5 min bei Raumtemperatur inkubiert. Danach wurde die Säule zwei Mal bei 20800 x g für 1 min zentrifugiert und der Durchfluss jeweils verworfen. Im Anschluss wurde die Säule in ein 1,5 ml Safe-Lock Zentrifugengefäß überführt und bei Raumtemperatur mit 11 µl Elutionspuffer (Puffer EB) für 1 min equilibriert und dann bei 20200 x g für 1 min zentrifugiert. Das Elutionsprodukt von 11 µl wurde im Zentrifugengefäß aufgefangen. Zur Kontrolle und Abschätzung des DNA-Gehaltes wurde 1 µl PCR-Produkt gelelektrophoretisch aufgetrennt. Als Größenstandard wurden 8 µl des 100 bp-Ladders mit bekanntem DNA-Gehalt mit aufgetragen.

Die Sequenzierung der PCR-Proben erfolgte unter Verwendung der jeweiligen vorwärts bzw. rückwärts gerichteten Primer in einem kommerziellen Sequenzierungslabor (LGC Genomics GmbH, Berlin). Eine anschließende Auswertung der Sequenzen erfolgte mittels der Software Chromas LITE der Version 2.1.1. (www.technelysium.com.au) und einer BLAST-Analyse (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) (Altschul, S.F., Gish, W., Miller, W., Myers, E.W. & Lipman, D.J. (1990) "Basic local alignment search tool." J. Mol. Biol. 215:403-410).

4.3. Bakteriologische Untersuchung

4.3.1. Kulturelle Isolierung von ORT

Der zweite Rachentupfer wurde auf Columbia Agar mit 7 % Schafblut und auf Gassner-Agar (Oxoid) ausgestrichen und unter mikroaeroben Bedingungen (5 % CO₂) für 48 Stunden bei 37° C bebrütet. ORT-verdächtige Kolonien aus PCR-positiv getesteten Proben wurden auf Columbia Blutagar mit und ohne Zusatz von Gentamicin (10 mg/ml) subkultiviert und unter den genannten Bedingungen inkubiert.

Die Gentamycin-Platten wurden selbst hergestellt indem zunächst 20 g Blutagar-Basis Nr. CM 0271B in 500 ml Aqua Dest. autoklaviert und dann im Wasserbad ca. 1,5 Stunden auf 50° C abgekühlt wurden. Wenn die Temperatur erreicht war, konnte man 25 ml Schafblut und 250 ml Gentamycin (10 mg/ml) hinzugeben und die Platten gießen. Dabei wurden pro Platte 16 ml verwendet. Nach einer weiteren Stunde konnten die Platten geschlossen und im Kühlschrank gelagert werden.

Von den Reinkulturen wurde eine Gram-Färbung angefertigt, um das Gram-Verhalten der Bakterien zu beurteilen. Für die Gram-Färbung wurden 1 - 2 Kolonien auf einen Objektträger gegeben und in einen Tropfen physiologischer Kochsalzlösung verteilt. Der Objektträger wurde an der Luft getrocknet und hitzefixiert. Auf der Färbekbank wurde nacheinander mit Kristallviolett-Oxalat-Lösung, Stabilisierter Lugol-PVP-Lösung, Entfärber und Safranin-Lösung gefärbt. Jede Färbelösung hatte eine Einwirkzeit von einer Minute und wurde im Anschluss mit destilliertem Wasser abgespült. Nach Trocknung wurde das Präparat unter Verwendung der Ölimmersion mikroskopisch begutachtet und beurteilt.

4.3.2. Biochemische Identifizierung

Gramnegative, ORT-verdächtige Bakterienisolate wurden mit dem DrySlide™ Oxidase Test auf das Vorhandensein der Cytochrom-c-Oxidase untersucht.

Die Identifizierung der Reinkulturen erfolgte mittels der kommerziell erhältlichen biochemischen Teststreifen API 20 NE, welche nach Herstellerangaben beladen und bei 29° C inkubiert wurden. Das Ergebnis der Teststreifen wurde nach 24 und nach 48 Stunden abgelesen. Frisches Koloniematerial bestätigter ORT-Isolate wurde in 1 ml fetalem Kälberserum aufgenommen und bei -80° C als Gefrierkultur aufbewahrt.

4.3.3. Serotypisierung mittels Agar-Gel-Präzipitationstest (AGP)

Die im API 20 NE bestätigten ORT-Isolate wurden mittels AGP nach der Methode von Hafez und Sting (1999) serotypisiert. Jedes Isolat wurde auf drei Columbia Agarplatten mikroaerob

bei 37° C für 48 Stunden angezüchtet und das Koloniematerial mit insgesamt 6 ml PBS abgeschwemmt. Die Suspension wurde in ein Reagenzröhrchen überführt und 30 min bei 600 x g zentrifugiert. Der Überstand wurde abgegossen und der Bodensatz dreimal mit 3 ml PBS resuspendiert und jeweils einer gleichtourigen Zentrifugation unterzogen. Im Anschluss erfolgte die Resuspension des Sediments in PBS, bis eine optische Dichte von 0,5 bei einer Wellenlänge von 600 nm erreicht wurde mit nachfolgender Erhitzung im Wasserbad bei 100° C für eine Stunde. Die Suspension wurde für 30 min bei 20800 x g zentrifugiert, der Überstand in ein Eppendorf-Gefäß verbracht und als hitzestabiles Antigen im AGP eingesetzt.

Mittels einer Stanze wurden zweimal nebeneinander sieben hexagonal angeordnete Löcher aus einer Basisagarplatte gestanzt. In die zentralen Vertiefungen wurden jeweils 25 µl des Antigens pipettiert und in die peripheren Löcher je 25 µl der antikörperhaltigen Seren A - L gegeben. Der bei Raumtemperatur inkubierte AGP wurde nach 24, 48 und 72 Stunden abgelesen.

4.3.4. Resistenzverhalten mittels Agardiffusionstest

Zur Empfindlichkeitstestung der ORT-Isolate wurde ein Agardiffusionstest mit elf verschiedenen antimikrobiellen Wirkstoffen durchgeführt, die in der Routinediagnostik für das Nutzgeflügel eingesetzt werden. Verwendete Antibiotika-Testblättchen: Enrofloxacin (5 µg), Ampicillin (10 µg), Penicillin (10 IE), Erythromycin (15 µg), Gentamicin (10 µg), Neomycin (30 µg), Spectinomycin (100 µg), Tetracyclin (30 µg), Tiamulin (30 µg), Colistin (10 µg), Sulfamethoxazol / Trimethoprim (23,75 / 1,25 µg).

Da die Anzucht von ORT nur auf bluthaltigen Nährmedien unter Erreger-spezifischen Inkubationsbedingungen und -zeiten gelingt, erfolgte die Durchführung des Agardiffusionstests angelehnt an die in der CLSI-Norm M31-A3 (CLSI 2008) aufgeführten Kriterien für die Testung von Bakterien der Familie der Pasteurellaceae. Die ORT-Isolate wurden mikroaerob bei 37° C für 24 - 48 Stunden auf Columbia Blutagar angezüchtet. Mit einer sterilen Impföse wurde Koloniematerial abgenommen und in 2 ml PBS homogen verteilt. Es wurden unterschiedlich dichte Suspensionen mit McFarland-Trübungsstandards 0,5, 1, 2 und >7 hergestellt und für die Resistenztestung verwendet. Jeweils 100 µl, 200 µl oder 1 ml der Bakteriensuspension wurden mit einem sterilen Drigalskispatel auf Mueller-Hinton Agar mit 5 % Schafblut und auf Columbia Blutagar mit 7 % Schafblut gleichmäßig verteilt. Nach Trocknung des Inokulums wurden die Wirkstoffblättchen mittels eines Dispensers auf die Agaroberfläche aufgebracht, die Agarplatte für 24 – 48 Stunden bei 37° C unter mikroaeroben Bedingungen bebrütet und anschließend visuell ausgewertet. Als Kontrolle wurde der Referenzstamm ORT DSM 15997 mitgeführt.

4.3.5. Durchführung des Fingerprintings mittels RAPD

Die DNA von ORT-Isolaten (4.3.1) wurde unter Verwendung von Illustra™PuReTaq Ready-To-Go PCR Beads in einer RAPD-PCR nach Hafez (1997), modifiziert nach Waldow (2009) untersucht. Der für diese Untersuchung verwendete Primer M 13 bindet zufallsbedingt an unterschiedliche Stellen polymorpher DNA.

In die Gefäße mit den darin enthaltenen PCR-Beads wurden 2 µl des Primers M 13 (25 pmol/µl) und 5 µl DNA-Template (bei einer maximalen Konzentration von 100 ng/µl) pipettiert. Der Reaktionsansatz wurde mit nukleasefreiem Wasser auf ein Gesamtvolumen von 25 µl verbracht. Bei der Durchführung wurde eine Extraktions- und eine PCR-Negativkontrolle sowie zum Vergleich DNA der Standardserotypen A, H, I, J und F (4.3.3) mitgeführt. Die Amplifizierung erfolgte in einem Thermozykler mit folgendem Temperaturprofil:

Initiale Denaturierung	5 min bei	94° C
4 Zyklen:	Denaturierung:	30 sec bei 94° C
	Anlagerung:	2 min bei 43° C
	Synthese:	2 min bei 72° C
30 Zyklen:	Denaturierung:	20 sec bei 94° C
	Anlagerung:	1 min bei 50° C
	Synthese:	30 sec bei 72° C
Finale Synthese:	5 min bei	72° C

Die PCR-Produkte wurden zusammen mit jeweils 8 µl der Größenstandards 100 bp-Ladder und 1 kbp-Ladder auf ein 1 %iges Agarosegel aufgetragen, siehe Punkt 4.2.4. Die Elektrophorese erfolgte bei 40 Volt über 5 Stunden. Zur Auswertung der Bandenmuster wurde das Gel im Anschluss in eine Videodokumentations-Einrichtung verbracht, in der mittels UV-Licht die Banden sichtbar gemacht wurden.

4.4. Statistische Untersuchung

Die statistische Untersuchung bestimmter Zusammenhänge bei Mykoplasmen- und ORT-positiven Vögeln wurde mit dem Pearson Chi-Quadrat-Test mittels der GNU PSPP Statistical Analysis Software, Release 0.8.3 durchgeführt.

Die phylogenetische Analyse der Sequenzen erfolgte mittels des Programms MEGA6 (Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A., and Kumar S. (2013). MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution* 30: 2725-2729) unter Verwendung der Maximum-Likelihood Methode basierend auf dem Tamura-Nei Modell (Tamura K. and Nei M. (1993). Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution* 10:512-526).

5. Ergebnisse

5.1. Auswertung des Untersuchungsmaterials

121 der 278 untersuchten Vögel (43 %) gehörten zur Familie der Habichtartigen, 57 Vögel (21 %) zur Familie der Falkenartigen, 56 Vögel (20 %) zur Familie der Eulen, 40 Vögel (14 %) zu den Rabenartigen und knapp 1 % mit jeweils zwei Tieren zur Familie der Fischadler und zu den Neuweltgeiern (Tab. 7).

In Abbildung 2 wird dargestellt, wie sich die untersuchten Vögel der verschiedenen Vogelfamilien entsprechend ihrer Herkunft in drei Kategorien einteilen ließen.

Kategorie 1, 169 Vögel, beinhaltete alle Wildvögel, die aufgrund verschiedener Ursachen, häufig Verletzungen durch ein Anflugtrauma oder andere gesundheitlichen Einschränkungen in der Klinik der FU-Berlin abgegeben und dort beprobt wurden. Desweiteren wurden dieser Kategorie die fünf Tupferproben verendeter Wildvögel aus dem Landesuntersuchungsamt Rheinland-Pfalz (LUA RP) zugeordnet. Hinsichtlich der Familienzugehörigkeit waren in dieser Kategorie, bis auf die Neuweltgeier, Mitglieder aller beprobten Vogelfamilien insbesondere aber Mitglieder der Familie der Habichtartigen (99) vertreten.

Kategorie 2, 71 Vögel, waren ursprünglich wildlebende Vögel, die sich zum Zeitpunkt der Tupferprobennahme bereits länger als zwei Wochen in menschlicher Obhut befanden. Hierzu gehörten alle Vögel, die beim NABU Artenschutzzentrum Leiferde in Niedersachsen, beim Landschaftsförderverein Nuthe-Nieplitz-Niederung e.V. in Brandenburg und in Maison Alfort in Frankreich beprobt wurden. Darunter Vertreter der Familien der Raben- (17), der Falken- (13) und der Habichtartigen (8), insbesondere aber Vertreter der Eulen (33).

Kategorie 3, 38 Vögel, waren Vögel in menschlicher Obhut. In diesem Fall handelte es sich um Tupferproben, die bei unterschiedlichen Greifvögeln auf dem Falkenhof in Potsdam gewonnen werden konnten, sowie die im Institut bereits vorhandenen Materialien von Beizvögeln aus verschiedenen Bundesländern Deutschlands. Diese Kategorie umfasst vor allem Vertreter der Familien der Habicht- (14) und der Falkenartigen (18), aber auch Eulen (4) und Neuweltgeier (2).

Ergebnisse

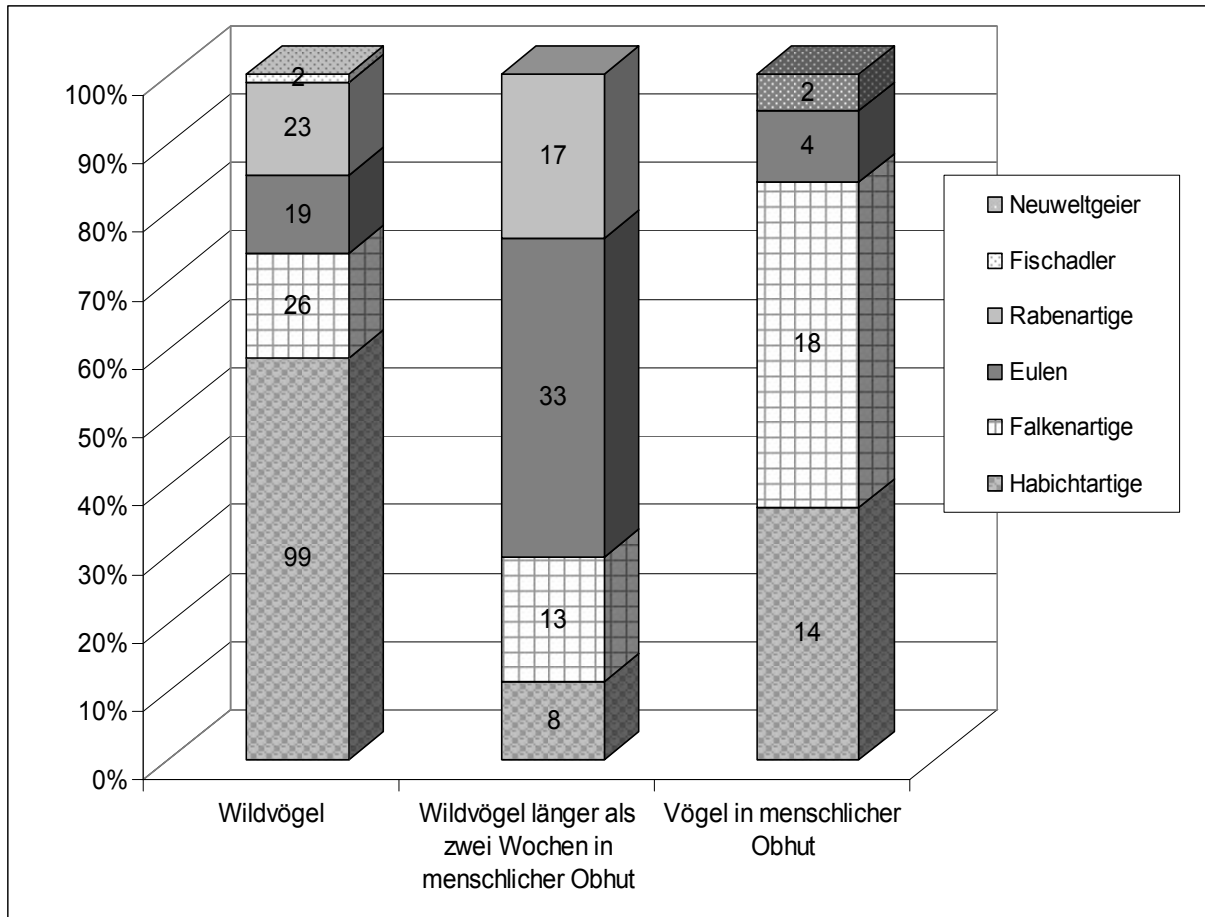


Abbildung 2: Einteilung der Herkunft und Familienzugehörigkeit der beprobten Vögel in Kategorien (absolut und % Anteile)

22 % der untersuchten Vögel waren männlich, 29 % weiblich. Bei den restlichen 49 % war eine Geschlechtsbestimmung nicht möglich.

Die weitere Analyse des Probenmaterials zeigte, dass die juvenilen Vögel mit 43 % den größten Anteil aller beprobten Vögel ausmachten. 39 % der untersuchten Tiere waren zum Zeitpunkt der Tupferprobennahme bereits adult. Bei 18 % der beprobten Vögel war die Altersbestimmung nicht möglich.

Hinsichtlich der jahreszeitlichen Verteilung der Probennahmen ergab sich, dass 43 % der Vögel im Zeitraum Juli bis September (3. Quartal) und 25 % der Vögel im zweiten Quartal von April bis Juni beprobt wurden. In den Winter- und den Herbstmonaten waren es 15 % bzw. 16 % der beprobten Vögel. Bei zwei Vögeln, deren Material bereits vorlag, ist der Zeitpunkt der Probennahme nicht bekannt (Abb.3).

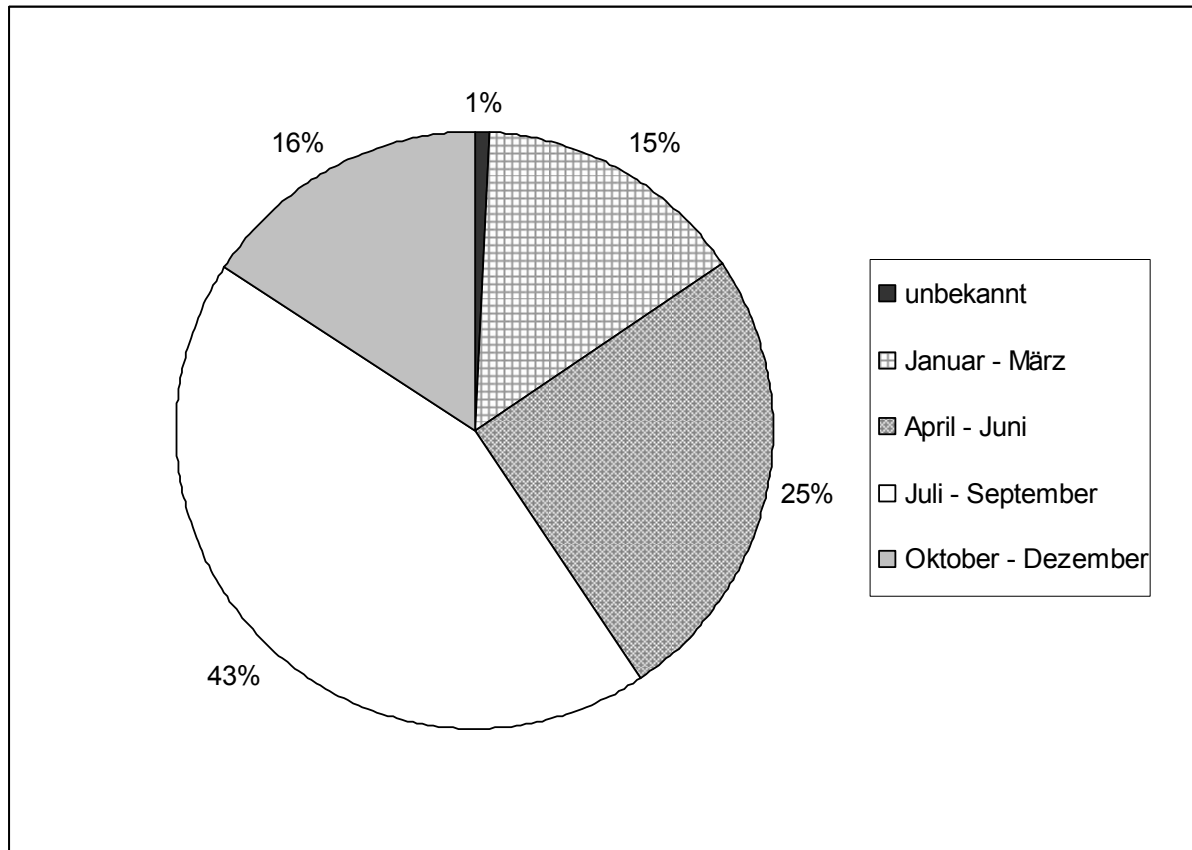


Abbildung 3: Prozentualer Anteil der beprobten Vögel pro Quartal

Eine Übersicht der vorliegenden Krankheitssymptome bzw. der klinischen Befunde der untersuchten Vögel, sofern bekannt, ebenso wie eine Zuordnung ihrer Herkunft, eingeteilt in Kategorien ist in Abbildung 4 dargestellt. 26 % der beprobten Tiere zeigten keine offensichtlichen Krankheitssymptome. Lediglich 4 % (12 Vögel) zeigten respiratorische Symptome. In fünf Fällen konnte das Vorliegen einer Aspergillose, bei drei Tieren ein Befall mit *Syngamus trachea* und bei weiteren vier Tieren eine unspezifische verstärkte Schnabelatmung diagnostiziert werden. Sowohl bei den Vögeln ohne Krankheitssymptome als auch den Vögeln mit respiratorischen Symptomen handelte es sich um Vertreter aller drei Kategorien. 26 % der untersuchten Vögel wiesen Frakturen und Luxationen auf. Hinsichtlich der Herkunft waren in diesem Fall vor allem Vögel der Kategorie 1 betroffen, ebenso wie bei 28 % der untersuchten Vögel welche Symptome eines Anflugtraumas zeigten. Bei 12 % der untersuchten Tiere handelte es sich um flugunfähige Jungvögel (Ästlinge), von denen die meisten mit 9 % zur Kategorie 2 und nur 3 % zur Kategorie 1 gehörten. 4 % der untersuchten Vögel, bei denen es sich hauptsächlich um Seeadler aus der Kategorie 1 handelte, wiesen Vergiftungserscheinungen auf.

Ergebnisse

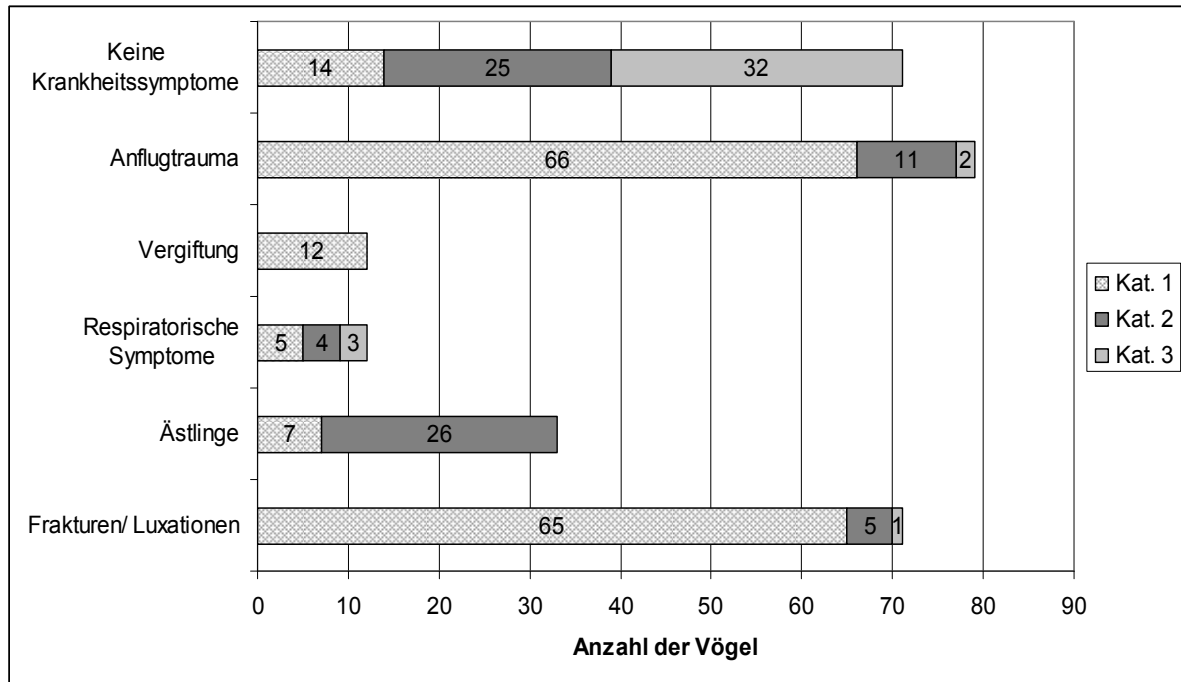


Abbildung 4: Befunde zu den beprobten Vögeln in Zusammenhang mit ihrer Herkunft

5.2. Molekularbiologische Untersuchungen

5.2.1 Untersuchungen zum Vorkommen der verschiedenen Erreger mittels PCR

5.2.1.1. Nachweis von Aviadenoviren

Für den Nachweis aviadenovirus-spezifischer DNA wurden Primer verwendet, die innerhalb konservierter Bereiche des Hexongens lokalisiert waren und eine Amplifikation der variablen Loop 1 Region des Hexongens ermöglichten (Raue et al., 2005). Damit sollte nicht nur eine sichere Detektion verschiedener Aviadenoviren, sondern auch eine Typisierung mittels anschließender Sequenzierung ermöglicht werden.

5.2.1.1.1. Spezifität der Aviadenovirus PCR

Um die Eignung des verwendeten Primerpaares Hex L1-s und Hex L1-as zu überprüfen, wurden zunächst verschiedene Hühner-Avidenoviren der Serotypen FAdV 1-11 untersucht. In allen Fällen ließ sich ein Amplifikat der erwarteten Größe von 590 bp nachweisen (Abb. 7).

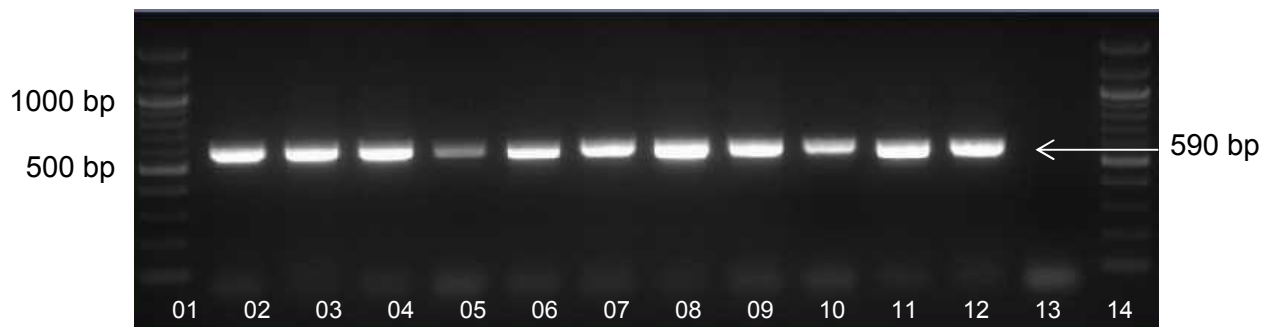


Abbildung 7: Überprüfung der Spezifität der Aviadenovirus PCR

Spur 01: Größenstandard 100 bp; Spur 02: FAdV-1;
 Spur 03: FAdV-2; Spur 04: FAdV-3; Spur 05: FAdV-4;
 Spur 06: FAdV-5; Spur 07: FAdV-6; Spur 08: FAdV-7;
 Spur 09: FAdV-8b; Spur 10: FAdV-9; Spur 11: FAdV-10;
 Spur 12: FAdV-11; Spur 13: Extraktionsnegativkontrolle/
 PCR-Negativkontrolle; Spur 14: Größenstandard 100 bp

Um die Multispezifität der verwendeten PCR in Bezug auf weitere Aviadenoviren unterschiedlicher Vogelspezies hin zu überprüfen, wurde die DNA weiterer Adenovirus-Isolate in die Untersuchungen mit einbezogen. Die Aviadenovirus-Isolate stammten von einer Pute (TAdV B), einer Taube (PiAdV), einem Papageien (818-3 PAV), einer Gans (GAV2) und einem Greifvogel (Z2/02). Bei allen Isolaten konnte ebenfalls ein Fragment der

erwarteten Größe von 590 bp nachgewiesen werden. Auch das Egg Drop Syndrom Virus (EDS-Virus), ein Enten-Atadenovirus A (DAdV A), welches dem Genus *Atadenovirus* angehört, wurde entgegen unserer Erwartungen detektiert. Kein Amplifikat ergab sich hingegen bei der Untersuchung des *Hämorrhagischen Enteritis Virus* (HEV), einem Puten-Siadenovirus A (TAdV-A), welches dem Genus *Siadenovirus* zuzuordnen ist (Abb. 8).

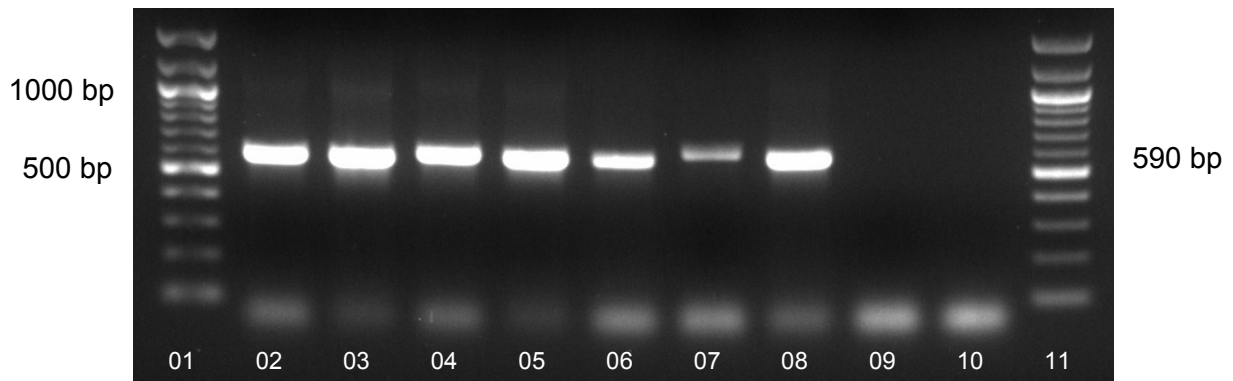


Abbildung 8: Nachweis Aviadenovirus-spezifischer DNA bei weiteren Vogelspezies
 Spur 01: Größenstandard 100 bp; Spur 02: PCR-Positivkontrolle;
 Spur 03: TAdV B; Spur 04: PiAdV; Spur 05: Papagei = 818-3 PAV;
 Spur 06: Gans = GAV2; Spur 7: Greifvogel = Z2/02; Spur 8: EDS;
 Spur 9: HEV; Spur 10: PCR-Negativkontrolle;
 Spur 11: Größenstandard 100 bp

Das Amplifikat aus dem Greifvogelisolat Z2/02 wurde in einem weiteren Schritt unter Verwendung des Vorwärts-Primers sequenziert. Durch die Auswertung eines 540 bp langen Fragmentes konnte das Isolat mit einer Nukleotid-Homologie von 99 % als Tauben-Adenovirus (PiAdV-1) zugehörig zum Genus Aviadenovirus identifiziert werden.

5.2.1.1.2. Untersuchungen der Feldproben mittels Aviadenovirus PCR

Die Kloakentupferproben der 278 verschiedenen Greif- und Rabenvögel wurden mit der Aviadenovirus PCR untersucht. Bei keiner der untersuchten Proben konnte aviadenovirus-spezifische DNA nachgewiesen werden (Abb. 9).

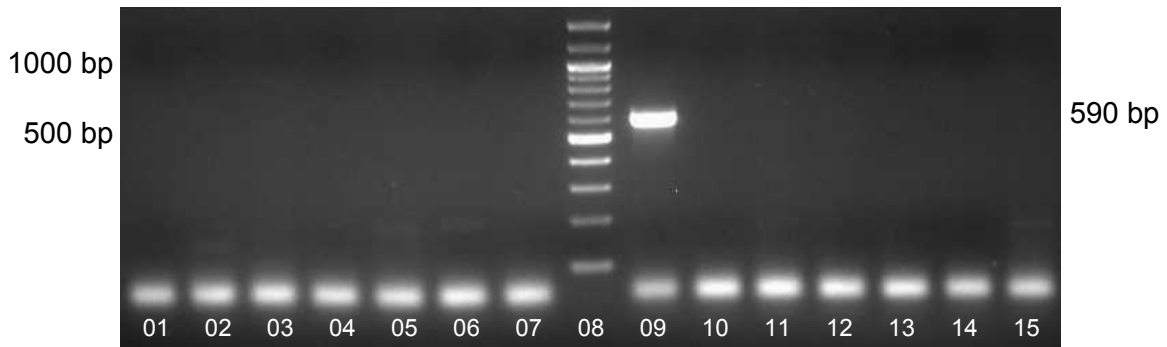


Abbildung 9: Untersuchung von Feldproben mittels Aviadenovirus PCR
 Spur 01: Extraktionsnegativkontrolle; Spur 02: Raufußbussard (Nr.169);
 Spur 03: Habicht (Nr. 170); Spur 04-07: Mäusebussarde (Nr. 171 – 174);
 Spur 08: Größenstandard 100 bp; Spur 09: PCR-Positivkontrolle;
 Spur 10: PCR-Negativkontrolle; Spur 11/12: Sperber (Nr. 175/176);
 Spur 13: Waldohreule (Nr. 177); Spur 14: Sperber (Nr. 178);
 Spur 15: Mäusebussard (Nr. 179)

5.2.1.2. Nachweis von aviären Herpesviren

Für den Nachweis herpesvirus-spezifischer DNA wurde eine Herpesvirus Consensus PCR (HVC-PCR) angewandt. Unter Verwendung der im Polymerasegen lokalisierten, degenerierten Primer konnte bereits eine Vielzahl verschiedener Herpesviren nachgewiesen werden (Ehlers et al., 1999; VanDevanter et al., 1996).

5.2.1.2.1. Spezifität der HVC-PCR

Um die Spezifität der verwendeten Primer auch hinsichtlich weiterer aviärer Viren zu überprüfen, wurden sowohl Herpesviren verschiedener Vogelarten, als auch weitere aviäre virale Erreger mittels HVC-PCR untersucht. Dabei konnte bei Isolaten von Hühner-Herpesviren-1 und -2 (GaHV-1 und -2) sowie von Herpesvirus-Isolaten eines Merlins (FHV), drei verschiedener Falken (Z100/03, Z49/04, Z95/04) und eines Uhus (Z121/03) ein Amplifikat der erwarteten Größe nachgewiesen werden (Abb. 10). Die Untersuchung weiterer aviärer Viren, wie das Hühner-Aviadenovirus-1 (FAvV-1), das Egg Drop Syndrom-Virus (EDS-Virus), das Hämorrhagische Enteritis-Virus (HEV), das Hühner-Pockenvirus (FPV) und das Rous Sarcoma Virus (RSV) erbrachte hingegen negative Ergebnisse (Abb. 10).

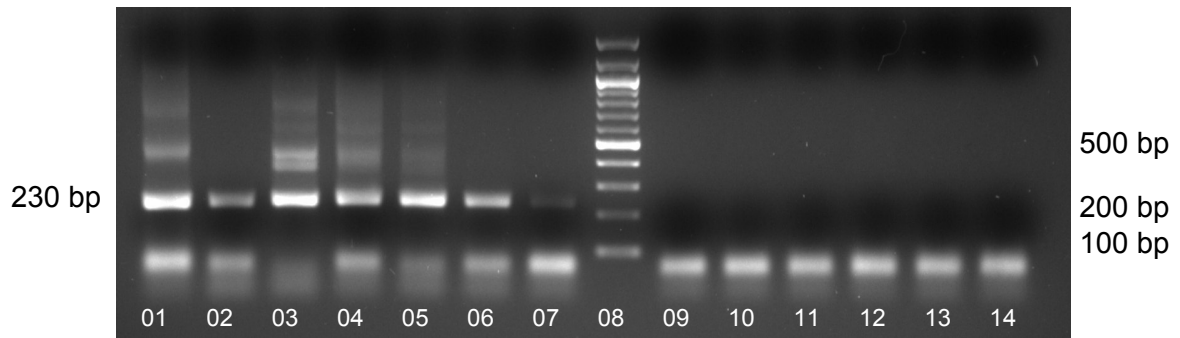


Abbildung 10: Überprüfung der Spezifität der HVC-PCR

Spur 01: GaHV-1; Spur 02: GaHV-2; Spur 03: FHV vom Merlin;
 Spur 04: Falke = Z100/03; Spur 05: Uhu = Z121/03;
 Spur 06: Gerfalke = Z49/04; Spur 07: Ger-Wanderfalke = Z95/04;
 Spur 08: Größenstandard 100 bp; Spur 09: FAdV-1; Spur 10: EDS-Virus;
 Spur 11: HEV; Spur 12: FPV; Spur 13: RSV; Spur 14: PCR-Negativkontrolle

Die erhaltenen Amplifikate der Isolate wurden in einem weiteren Schritt sequenziert. Bei drei Isolaten wurde versucht, unter Verwendung einer weiteren Primerkombination (1/7) ein größeres Fragment für die Sequenzierung zu erhalten (Tab. 13). Mittels der sich anschließenden BLAST-Analyse wurden alle untersuchten Isolate eindeutig als Herpesviren identifiziert. Die Isolate der Falken (Z100/03, Z121/03, Z95/04) als auch des Uhus (Z121/03) wurden dabei als Tauben-Herpesvirus-1 (CoHV-1) typisiert. Das Isolat des Merlins zeigte dagegen eine nahe Verwandtschaft zum Papageien-Herpesvirus-1 (PsHV-1).

Tabelle 13: Ergebnisse der Sequenzierung

Nr.	Vogelspezies	Analysiertes PCR Produkt	BLAST-Analyse		
			Höchste Genbank Übereinstimmung	Homologie	Nachgewiesen bei
FHV	Merlin	HVC 5/9	PsHV-1 AY623128 ¹	170/174 bp (98%)	Graupapagei
Z 100/03	Falke	HVC 5/9	CoHV-1 AF141890 ¹	157/157 (100%)	Taube
Z 121/03	Uhu	HVC 1/7	CoHV-1 AF141890 ¹	426/431 (99%)	Taube
Z 49/04	Gerfalke	HVC 1/7	CoHV-1 AF141890 ¹	432/431 (99%)	Taube
Z 95/04	Ger-Wanderfalke	HVC 1/7	CoHV-1 AF141890 ¹	275/279 (99%)	Taube

¹Genbank-Accession-Nummer

5.2.1.2.2. Untersuchungen der Feldproben mittels HVC-PCR

Bei der Untersuchung der DNA aus den Kloakentupfern der 278 Greif- und Rabenvögel konnte bei sieben Vögeln (2,5 %) herpesvirus-spezifische DNA nachgewiesen werden. Bei 28 Proben war ein z.T. schwaches Amplifikat im annähernd erwarteten Größenbereich von ca. 215 bp – 235 bp nachweisbar (Abb. 11). Zur Abklärung wurden fünf dieser 28 fraglichen Proben exemplarisch sequenziert. Dabei konnten in keiner Probe herpesvirus-spezifische Sequenzen nachgewiesen werden, so dass schließlich alle 28 fraglichen Proben als negativ beurteilt wurden.

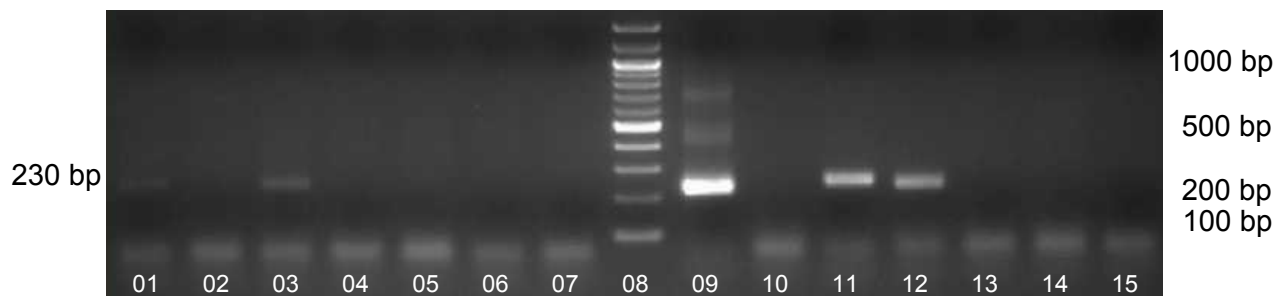


Abbildung 11: Untersuchung von Feldproben mittels HVC-PCR. In den Spuren 1 und 3 handelt es sich jeweils um ein unspezifisches Amplifikat. Nachweis eines spezifischen Amplifikates in den Spuren 11 und 12.

Spur 01/02: Waldohreule (Nr. 154/155); Spur 03: Mäusebussard (Nr. 156);
 Spur 04/05: Sperber (Nr. 157/158); Spur 06: Habicht Nr.159);
 Spur 07: Sperber (Nr. 160); Spur 08: Größenstandard 100 bp;
 Spur 09: PCR-Positivkontrolle; Spur 10: PCR-Negativkontrolle;
 Spur 11/12: Mäusebussard (Nr. 161/162); Spur 13: Nebelkrähe (Nr. 163);
 Spur 14: Seeadler (Nr. 164); Spur 15: Extraktionsnegativkontrolle

Bei den sieben positiven Vögeln handelte es sich um drei Mäusebussarde (Nr. 161, 162, 242) aus der Familie der Habichtartigen, drei Vertreter der Eulen (zwei Waldohreulen Nr. 133, 195 und ein Uhu Nr. 221) und um einen Kolkraben (Nr. 117) aus der Familie der Rabenartigen. Bis auf eine Eule der Kategorie 2 handelte es sich bei allen anderen Vögeln um Wildvögel der Kategorie 1. Der Beprobungszeitraum der positiven Vögel verteilte sich über das gesamte Jahr, wobei drei bzw. zwei Vögel im 1. bzw. 3. Quartal beprobt worden waren. Die Analyse der erhobenen klinischen Befunde der positiven Vögel zeigte, dass bei allen Tieren Frakturen und Luxationen bzw. Anzeichen von Anflugtraumata nachgewiesen worden waren. Fünf der Vögel waren bereits adult, bei zwei Mäusebussarden (Nr. 161, 242) war das Alter nicht bekannt. Bei fünf Vögeln war das Geschlecht nicht bekannt, während es sich bei dem Uhu und einem Mäusebussard (Nr. 242) um männliche Vögel handelte.

5.2.1.2.3. Sequenzierung von Herpesvirus-Feldproben

Wie bereits unter Punkt 5.2.1.2.1 beschrieben, wurden die erhaltenen Amplifikate in einem weiteren Schritt zur näheren Typisierung sequenziert. Unter Verwendung der Primerkombination HVC 1/7 wurde bei diesen Proben ebenfalls versucht, ein größeres Fragment für die Sequenzierung zu erhalten, was aber nur bei zwei Vögeln gelang (Tab. 14). Die sich anschließende BLAST-Analyse der erhaltenen Nukleotid-Sequenzen bestätigte in allen Fällen das Vorliegen von Herpesviren. Die Sequenz des Kolkraben konnte nicht eindeutig zugeordnet werden. Die höchste Übereinstimmung ergab sich mit 79% zum Papageien-Herpesvirus-1 (PsHV-1). Nicht näher auswertbar waren die Sequenzen einer Waldohreule (Nr. 133) und eines Mäusebussards (Nr. 161). Die Sequenz eines weiteren Mäusebussards (Nr. 162) zeigte dagegen eine 100 %ige Homologie zu einem bisher nicht klassifizierten und bei einem Mäusebussard nachgewiesenen Herpesvirus. Die Sequenz einer weiteren Waldohreule (Nr. 195) konnte ebenfalls nicht eindeutig zugeordnet werden, die höchste Übereinstimmung ergab sich mit 71 % zu einem bisher nicht klassifizierten und bei einem Gänsegeier nachgewiesenen Herpesvirus, welches wiederum eine hohe Übereinstimmung zur Sequenz eines dritten Mäusebussards (Nr. 242) aufwies. Die Sequenz des Uhus (Nr. 221) zeigte dagegen eine nahe Verwandtschaft zu dem Tauben-Herpesvirus-1 (CoHV-1).

Tabelle 14: Ergebnisse der Sequenzierung von Herpesvirus-Feldproben

Nr.	Vogel- spezies	Analysier- tes PCR Produkt	BLAST-Analyse		
			Höchste Genbank Übereinstimmung	Homologie	Nachge- wiesen bei
117	Kolkrabe	HVC 1/7	PsHV-1 AY372243 ¹	376/475 (79%)	Amazone
133	Waldohreule	HVC 5/9	Nicht auswertbar		
161	Mäusebussard	HVC 5/9	Nicht auswertbar		
162	Mäusebussard	HVC 5/9	Common buzzard alphaherpes² FJ797653 ¹	131/131 (100%)	Mäusebussard
195	Waldohreule	HVC 1/7	Vulture herpesvirus² AY571851 ¹	266/373 (71%)	Gänsegeier
221	Uhu	HVC 5/9	CoHV-1 EF623994 ¹ EF522960 ¹ EF522952 ¹	154/155 (99%)	Rundschwanz- sperber Tauben Eule
242	Mäusebussard	HVC 5/9	Vulture herpesvirus² AY571851 ¹	166/170 (98%)	Gänsegeier

¹ Genbank Accession Nummer

² nicht klassifiziertes Alphaherpesvirus

5.2.1.3. Nachweis aviärer Influenzaviren

Zum Nachweis aviärer Influenzaviren wurde eine Influenza A Virus RT-qPCR, die einen Bereich innerhalb des Matrixprotein-Gens amplifiziert, verwendet. In keiner der 278 Kloakentupfer verschiedener Greif- und Rabenvögel konnte Influenza A Virus-spezifische RNA nachgewiesen werden (Abb.12).

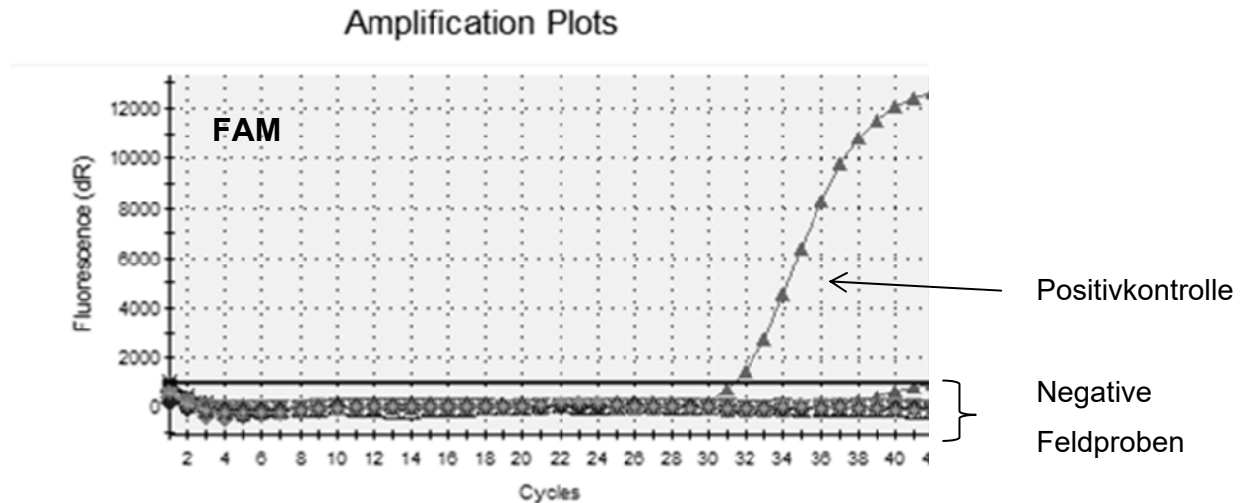


Abbildung 12: Untersuchung von Feldproben mittels Influenza A Virus-spezifischer RT-qPCR

5.2.1.4. Nachweis vom *Newcastle Disease Virus* (NDV)

Zum Nachweis von NDV wurde eine NDV RT-qPCR, die einen Bereich innerhalb des Matrixprotein-Gens amplifiziert, verwendet. In keinem der 278 Rachtupfer verschiedener Greif- und Rabenvögel konnte NDV-spezifische RNA nachgewiesen werden (Abb. 13).

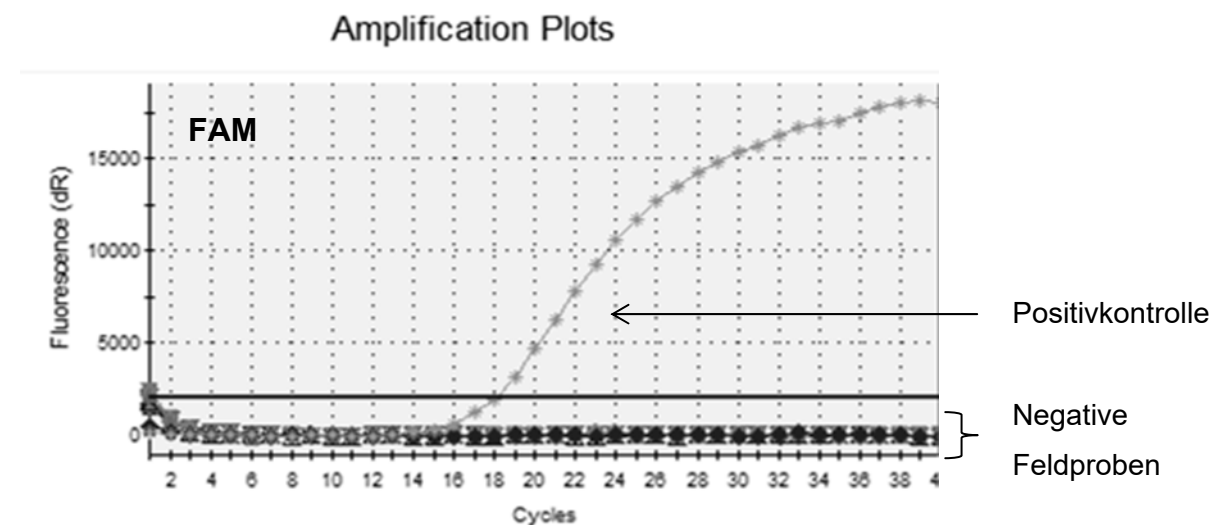


Abbildung 13: Untersuchung von Feldproben mittels NDV RT-qPCR

5.2.1.5. Nachweis von aviären Metapneumoviren (AMPV)

Zum Nachweis aviärer Metapneumoviren (AMPV) wurde eine nested AMPV RT-PCR, die einen Bereich innerhalb des Glykoprotein-Gens amplifiziert, verwandt. Bei der Untersuchung der 278 Rachtupfer konnte weder AMPV Subtyp A noch Subtyp B -spezifische RNA nachgewiesen werden (Abb. 14).

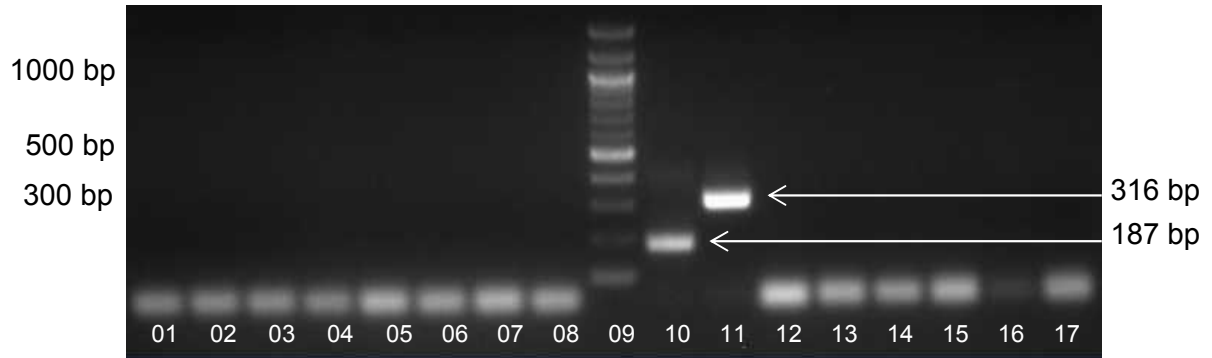


Abbildung 14: Untersuchung von Feldproben mittels nested AMPV RT-PCR
 Spur 01: Rabenkrähe (Nr. 73); Spur 02: Elster (Nr. 74);
 Spur 03/04: Waldkauz (Nr. 75/76); Spur 05: Turmfalke;
 Spur 06/07: Sperber (Nr. 78/86); Spur 08: Habicht (Nr. 80);
 Spur 09: Größenstandard 100 bp; Spur 10: PCR-Positivkontrolle Subtyp A;
 Spur 11: PCR-Positivkontrolle Subtyp B; Spur 12: PCR-Negativkontrolle;
 Spur 13: Habicht (Nr. 81); Spur 14: Mäusebussard (Nr. 82);
 Spur 15: Sperber (Nr. 83); Spur 16: Mäusebussard (Nr. 84);
 Spur 17: Extraktionsnegativkontrolle

5.2.1.6. Nachweis von Mykoplasmen

Für den Nachweis mykoplasmen-spezifischer DNA wurde eine Mykoplasmen-PCR angewandt bei welcher die Primer im 16S rRNA-Gen lokalisiert sind. Unter Verwendung dieser PCR konnten bereits eine Vielzahl verschiedener Mykoplasmen nachgewiesen werden (Hagen, 2007).

5.2.1.6.1. Spezifität der Mykoplasmen-PCR

Die Spezifität der verwendeten Primer zum Nachweis mykoplasmen-spezifischer DNA, insbesondere greifvogel-spezifischer Mykoplasmen-Spezies wie *M. iowa*, *M. falconis*, *M. gypis* und *M. buteonis* wurde bereits beschrieben (Hagen, 2007; Lierz et al., 2008b).

5.2.1.6.2. Untersuchung der Feldproben mittels Mykoplasmen-PCR

Bei der Untersuchung der DNA aus den Rachentupfern der 278 Greif- und Rabenvögel konnte bei 162 Vögeln (58 %) mykoplasmen-spezifische DNA nachgewiesen werden. In allen Fällen war ein Amplifikat im erwarteten Größenbereich von ca. 1013 bp nachweisbar (Abb. 15).

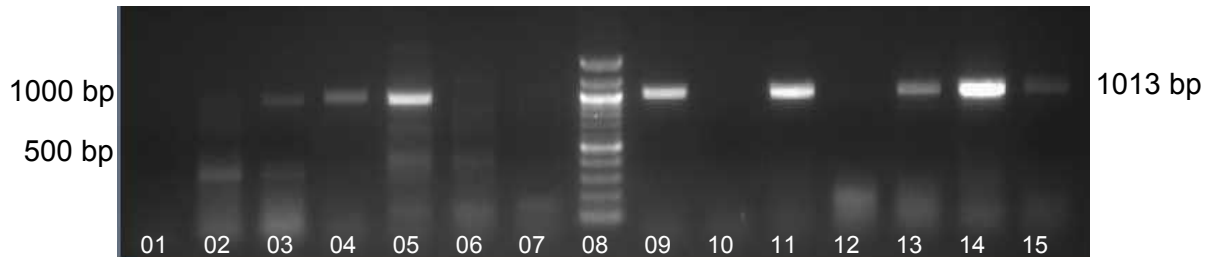


Abbildung 15: Untersuchung der Feldproben mittels Mykoplasmen-PCR

Spur 01: Extraktionsnegativkontrolle; Spur 02/03: Waldkauz (Nr. 243/244);
 Spur 04: Mäusebussarde (Nr. 245); Spur 05: Wespenbussard (Nr. 246);
 Spur 06: Uhu (Nr. 247); Spur 07: Rohrweihe (Nr. 248);
 Spur 08: Größenstandard 100 bp; Spur 09: PCR-Positivkontrolle;
 Spur 10: PCR-Negativkontrolle; Spur 11: Turmfalke (Nr. 249);
 Spur 12: Kolkkrabe (Nr. 250); Spur 13-15: Rabenkrähe (Nr. 251 – 253)

Mykoplasmen-spezifische DNA konnte bei Vertretern vier verschiedener Vogelfamilien unterschiedlicher Spezies und Kategorien nachgewiesen werden. Bei den Habicht- und Falkenartigen lag die Nachweisrate mit 69 % und 68 % weit höher als bei den Eulen mit 38 % und den Rabenartigen mit 45 %. Die meisten, 65 %, der positiven Vögel waren Greif- und Rabenvögel der Kategorie 1 während sich 26 % bzw. 9 % der Kategorie 2 bzw. 3 zuordnen ließen. Sowohl Vogelfamilie als auch Kategorie hatten einen signifikanten Einfluss auf die Nachweisrate von Mykoplasmen (Tabelle 15 und 16).

Bei 69 % der untersuchten Vögel aus der Familie der Habichtartigen wurde mykoplasmen-spezifische DNA nachgewiesen. Dabei konnte eine hohe Prävalenz bei den Adlern mit 91 %, den Bussarden mit 86 % und den Sperbern mit 73 % festgestellt werden. Über die Hälfte (3 von 5) der Rotmilane waren positiv, während bei den Habichten nur 29 % betroffen waren.

Mykoplasmen-spezifische DNA konnte bei 68 % der untersuchten Vögel der Familie der Falkenartigen nachgewiesen werden. Bei allen untersuchten Sakerfalken sowie bei 82 % der beprobten Turmfalken ließen sich Mykoplasmen nachweisen. Von den Wanderfalken waren lediglich 23 % positiv.

Bei den Eulen ließ sich bei 38 % der untersuchten Vögeln mykoplasmen-spezifische DNA detektieren. Dabei handelte sich um 65 % der untersuchten Steinkäuze, 36 % der Waldohreule, 21 % der Waldkäuze und eine von drei Schleiereulen.

Bei 45 % der Vertreter der Familie der Rabenartigen konnte mykoplasmen-spezifische DNA nachgewiesen werden, dabei waren vor allem Rabenkrähen (90 %) und Elstern (62,5 %) aber auch Nebelkrähen (23,5 %) betroffen. Bei den untersuchten Kolkraben, ebenso wie bei den Vögeln aus den Familien der Fischadler und Neuweltgeier konnte keine mykoplasmen-spezifische DNA detektiert werden.

Tabelle 15: Zusammenhang zwischen Vogelfamilie und Infektionsstatus mit Mykoplasmen-Spezies (absolut und %)

Vogelfamilie	Mykoplasmen		Gesamt
	Negativ	Positiv	
Rabenartige	22	18	40
	55 %	45 %	100 %
Habichtartige	37	84	121
	30,58%	69,42%	100 %
Falkenartige	18	39	57
	31,58%	68,42%	100 %
Eulenartige	35	21	56
	62,50%	37,50%	100 %
Fischadler	2	0	2
	100 %	0 %	100 %
Truthahngeier	2	0	2
	100 %	0 %	100 %
Gesamt	116	162	278
	41,73%	58,27%	100 %

Pearson Chi-Quadrat: 27,02; Signifikanz: 0,000

Tabelle 16: Zusammenhang zwischen Kategorie und Infektionsstatus mit Mykoplasmen-Spezies (absolut und %)

Kategorie	Mykoplasmen		Gesamt
	Negativ	Positiv	
Kategorie 1	63	106	169
	37,28%	62,72%	100,00%
Kategorie 2	30	42	72
	41,67%	58,33%	100 %
Kategorie 3	23	14	37
	62,16%	37,84%	100 %
Gesamt	116	162	278
	41,73%	58,27%	100 %

Pearson Chi-Quadrat: 7,73; Signifikanz: 0,021

Statistisch wurden die Zusammenhänge zwischen dem Geschlecht (Tab. 17), dem Alter (Tab. 18), dem Beprobungszeitraum (Quartal) (Tab. 19) sowie der Krankheitssymptomatik (Tab. 20) und dem Infektionsstatus der untersuchten Vögel mit Mykoplasmen spp. analysiert. Die Fälle, in denen das Merkmal nicht bekannt war, wurden nicht berücksichtigt. Der prozentuale Anteil Mykoplasmen infizierter Vögel lag bei den weiblichen Vögeln bei 56 % und bei den männlichen Vögeln bei 58 %. Vor allem bei den juvenilen Vögeln (63 %) ließ sich Mykoplasmen-DNA nachweisen, aber auch 51 % der adulten Tiere waren betroffen. Im zweiten bzw. dritten Quartal waren mit 60 % bzw. 62 % mehr der beprobten Tiere mykoplasmen-positiv als im ersten und vierten Quartal in welchem bei 51 % bzw. 52 % der beprobten Vögel mykoplasmen-spezifische DNA nachgewiesen werden konnte. Bei 83 % der Vögel mit respiratorischen Symptomen ließ sich mykoplasmen-spezifische DNA nachweisen, während es bei den Vögeln mit Vergiftungen noch 75 % waren. 65 % bzw. 64 % betrug der Anteil an mykoplasmen-positiven Vögeln, bei denen ein Trauma vorlag, bzw. der flugunfähigen Jungvögel. Von den Vögeln, bei denen keine Symptome festgestellt werden konnte, war mehr als die Hälfte (54 %) mykoplasmen-positiv. Bei den Vögeln, die mit Frakturen bzw. Luxationen vorgestellt wurden konnte bei knapp der Hälfte (46 %) mykoplasmen-spezifische DNA nachgewiesen werden. Bis auf die Vogelfamilie und die Kategorie hatte keiner der weiterhin untersuchten Zusammenhänge einen signifikanten Einfluss auf die Nachweisrate von Mykoplasmen.

Tabelle 17: Zusammenhang zwischen dem Geschlecht und dem Infektionsstatus der untersuchten Vögel mit Mykoplasmen-Spezies (absolut und %)

Geschlecht	Mykoplasmen		Gesamt
	Negativ	Positiv	
Männlich	26 41,94%	36 58,06%	62 100 %
Weiblich	36 44,44%	45 55,56%	81 100 %
Gesamt	62 43,36%	81 56,64%	143* 100 %

Pearson Chi-Quadrat: 0,764; Signifikanz: 0,09

*135 fehlende Werte, da Geschlecht unbekannt

Tabelle 18: Zusammenhang zwischen dem Alter und dem Infektionsstatus der untersuchten Vögel mit Mykoplasmen-Spezies (absolut und %)

Alter	Mykoplasmen		Gesamt
	Negativ	Positiv	
Juvenil	44	74	118
	37,29%	62,71%	100 %
Adult	53	56	109
	48,62%	51,38%	100 %
Gesamt	97	130	227*
	42,73%	57,27%	100 %

Pearson Chi-Quadrat: 2,98; Signifikanz: 0,085

*51 fehlende Werte, da Alter unbekannt

Tabelle 19: Zusammenhang zwischen dem Quartal und dem Infektionsstatus der untersuchten Vögel mit Mykoplasmen-Spezies (absolut und %)

Quartal	Mykoplasmen		Gesamt
	Negativ	Positiv	
Januar - März	19	20	39
	48,72%	51,28%	100 %
April - Juni	28	42	70
	40 %	60 %	100 %
Juli - September	46	75	121
	38,02%	61,98%	100 %
Oktober - Dezember	21	23	44
	47,73%	52,27%	100 %
Gesamt	114	160	274*
	41,61%	58,39%	100 %

Pearson Chi-Quadrat: 2,21; Signifikanz: 0,531

*4 fehlende Werte, da Beprobungszeitraum (Quartal) unbekannt

Tabelle 20: Zusammenhang zwischen dem Gesundheitszustand (Symptome) und dem Infektionsstatus der untersuchten Vögel mit Mykoplasmen-Spezies (absolut und %)

Symptome	Mykoplasmen		Gesamt
	Negativ	Positiv	
Frakturen/Luxationen	38	33	71
	53,52%	46,48%	100 %
Nicht flugfähige	12	21	33
	36,36%	63,64%	100 %
Respiratorische	2	10	12
	16,67%	83,33%	100 %
Vergiftung	3	9	12
	25 %	75 %	100 %
Anflugtrauma/ Sonstiges	28	51	79
	35,44%	64,56%	100 %

Keine Symptome	33	38	71
	46,48%	53,52%	100 %
Gesamt	116	162	278
	41,73%	58,27%	100 %

Pearson Chi-Quadrat: 10,87; Signifikanz: 0,054

5.2.1.6.3. Sequenzierung von Mykoplasmen-Feldproben

Zur näheren Typisierung wurden exemplarisch elf Amplifikate verschiedener Vögel, von denen fünf zur Familie der Habichtartigen und fünf zur Familie der Falkenartigen gehörten sowie eine Schleiereule unter Verwendung des rückwärts gerichteten Primers MGSO sequenziert. Die sich anschließende BLAST-Analyse der erhaltenen Nukleotid-Sequenzen bestätigte in allen Fällen das Vorliegen von Mykoplasma spp. (Tab. 21). Eine 100 %ige Homologie zu einer bisher nicht klassifizierten bei einem Gerfalken nachgewiesenen Mykoplasmen-Spezies zeigte das Amplifikat des Wanderfalke (Nr. 1). Die Sequenz des Mäusebussards (Nr. 31) wies eine 100 %ige Homologie zu *M. buteonis* auf, während die Sequenz eines Rothabichts zu 99 % mit der Sequenz einer nicht klassifizierten und bei einem Spanischen Kaiseradler nachgewiesenen Mykoplasmen-Spezies übereinstimmte. Die Sequenzen der Turmfalke (Nr. 35, 51, 77, 104) und Sperber (Nr. 78, 86) zeigten jeweils eine nahe Verwandtschaft von 97 – 100 % Homologie zu nicht klassifizierten Mykoplasmen-Spezies, die vorwiegend bei Falken nachgewiesen wurden. Für die erhaltenen Sequenzen der Schleiereule (Nr. 17) und des Seeadlers (Nr. 37) konnte aufgrund mangelnder Qualität keine Zuordnung getroffen werden.

Tabelle 21: BLAST-Analyse der ermittelten Mykoplasmensequenzen

Nr.	Vogelspezies	BLAST-Analyse		
		Höchste Genbank Übereinstimmung	Homologie	Nachgewiesen bei
V 1	Wanderfalke	M. sp. ARNO ¹ EU544230 ²	649/649 bp (100 %)	Gerfalke
17	Schleiereule	Nicht auswertbar		
31	Mäusebussard	M. buteonis EF577506 ²	649/649 bp (100 %)	Wanderfalke
35	Turmfalke	M. sp. M222-5 ¹ EU684058 ²	638/649 bp (98 %)	Turmfalke
37	Seeadler	Nicht auswertbar		
39	Rothabicht	M. sp. 1449 ¹ FM196532 ²	644/649 bp (99 %)	Spanischer Kaiseradler
51	Turmfalke	M. sp. M222-5 ¹ EU684058 ²	649/649 bp (100 %)	Turmfalke
77	Turmfalke	M. sp. M26 ¹ EU660528 ²	649/649 bp (100 %)	Wanderfalke

Nr.	Vogelspezies	BLAST-Analyse		
		Höchste Genbank Übereinstimmung	Homologie	Nachgewiesen bei
78	Sperber	M. sp. M222-5¹ EU684058 ²	632/649 bp (97 %)	Turmfalke
86	Sperber	M. sp. M222-5¹ EU684058 ²	630/649 bp (97 %)	Turmfalke
104	Turmfalke	M. sp. M222-5¹ EU684058 ²	637/649 bp (98 %)	Turmfalke

¹nicht klassifizierte Mykoplasmen-Spezies

²Genbank-Accession-Nummer

5.2.1.7. Nachweis von *Chlamydia psittaci*

Zum Nachweis von *Chlamydia psittaci*-spezifischer DNA wurde eine qPCR unter Verwendung von im ompA-Gen lokalisierten Primern eingesetzt. Zusätzlich wurde in dem angewandten Verfahren eine heterologe interne Kontrolle koamplifiziert.

Wie exemplarisch in Abb. 16a dargestellt, konnte bei der Untersuchung der 278 Rachentupfer verschiedener Greif- und Rabenvögel mittels *Chlamydia psittaci* qPCR in fünf Proben (2 %) *Chlamydia psittaci*-spezifische DNA detektiert werden. Der Nachweis der heterologen internen Kontrolle in allen Proben erlaubte einen Ausschluss falsch negativer Ergebnisse aufgrund von PCR-Inhibitoren (Abb. 16b). Die positiven Vögel gehörten zu den drei Vogelfamilien, der Falken- und der Habichtartigen sowie zu den Eulen. Bei der Familie der Falkenartigen handelte es sich um zwei Turmfalken (Nr. 35 und 36) und einen Wanderfalken (Nr. V5), bei den Habichtartigen um einen Sperber (Nr. 176) und bei den Eulen um einen Waldkauz (Nr. 47). Vögel der Familien der Rabenartigen, Fischadler und Neuweltgeier wiesen dagegen negative Ergebnisse auf.

Die zwei positiven Turmfalken und der Sperber ließen sich der Kategorie 1, der Waldkauz der Kategorie 2 und der Wanderfalke der Kategorie 3 zuordnen. Beim Wanderfalken handelte es sich um einen adulten Vogel, während die anderen vier Tiere juvenile Vögel waren. Das Geschlecht war lediglich von zwei Vögeln, dem Sperber (weiblich) und dem Wanderfalken (männlich), bekannt. Die Turmfalken und der Waldkauz wurden im 3. Quartal beprobt, während die Probenentnahme beim Sperber im 1. Quartal und beim Wanderfalken im 4. Quartal stattgefunden hat. Respiratorische Symptome, die eventuell in Zusammenhang mit einer Chlamydieninfektion auftreten könnten, ließen sich bei keinem der positiven Vögel feststellen. Während es sich bei dem Waldkauz um einen flugunfähigen Ästling handelte, lag bei den anderen vier Vögeln ein Anflugtrauma vor.

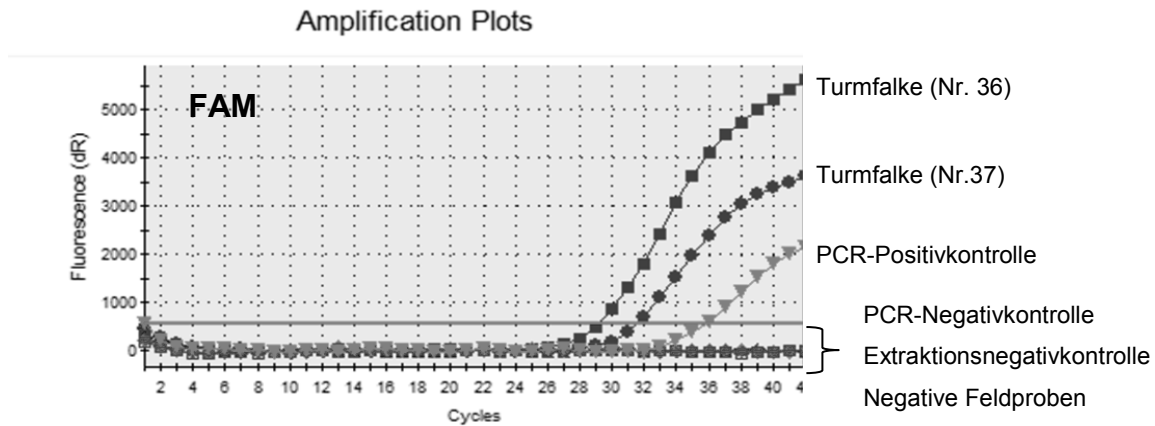


Abbildung 16a: Untersuchung der Feldproben mittels *Chlamydia psittaci* qRT-PCR
Chlamydia psittaci Amplifikationskurve

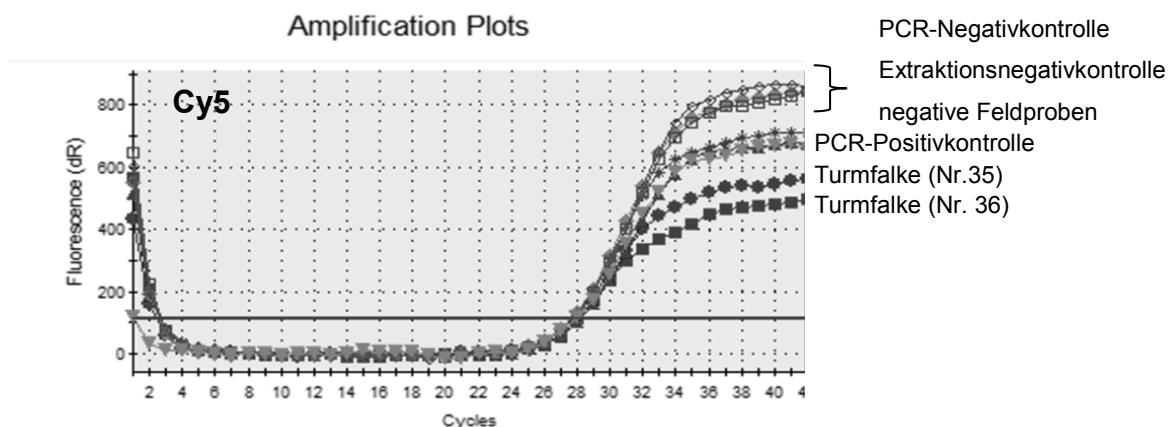


Abbildung 16b: Untersuchung der Feldproben mittels *Chlamydia psittaci* qRT-PCR.
 Amplifikationskurve der internen heterologen Kontrolle

5.2.1.8. Nachweis von *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT)

Für den Nachweis ORT-spezifischer DNA wurde eine ORT-PCR angewandt, bei welcher die Primer im 16S rRNA-Gen lokalisiert sind.

5.2.1.8.1. Untersuchungen der Feldproben mittels ORT-PCR

Bei der Untersuchung der DNA aus den Rachentupfern der 278 Greif- und Rabenvögel konnte bei 62 Vögeln (22 %) ORT-spezifischer DNA nachgewiesen werden. In allen Fällen war ein Amplifikat im erwarteten Größenbereich von ca. 784 bp detektierbar (Abb.17).

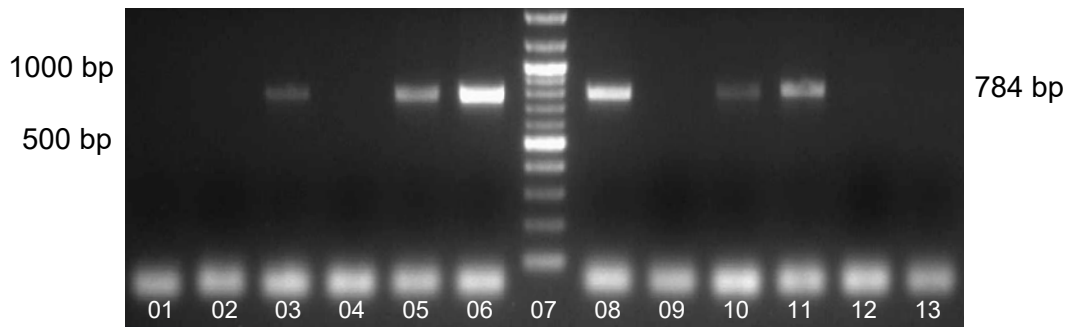


Abbildung 17: Untersuchung der Feldproben mittels ORT-PCR

Spur 01: Mäusebussard (Nr. 31); Spur 02: Nebelkrähe (Nr. 32);
 Spur 03-06: Turmfalken (Nr. 33-36); Spur 07: Größenstandard 100 bp;
 Spur 08: PCR-Positivkontrolle; Spur 09: PCR-Negativkontrolle;
 Spur 10: Seeadler (Nr. 37); Spur 11: Fischadler (Nr. 38);
 Spur 12: Habicht (Nr. 39); Spur 13: Extraktionsnegativkontrolle

ORT-spezifische DNA konnte bei Vertretern aller untersuchten Vogelfamilien unterschiedlicher Spezies und Kategorien nachgewiesen werden. Bei den Falkenartigen lag die Nachweisrate mit 49 % dabei deutlich höher als bei den Rabenartigen mit 20 % und den Habichtartigen mit 19 %. Aus der Familie der Eulen, der Fischadler und der Neuweltgeier wurde jeweils nur bei einem Vogel ORT-spezifische DNA detektiert. Die Vogelfamilie hatte einen signifikanten Einfluss auf die Nachweisrate von ORT (Tabelle 22). Die meisten, 52 %, der positiven Vögel waren Greif- und Rabenvögel der Kategorie 1, während sich 27 % bzw. 21 % der Kategorie 2 bzw. 3 zuordnen ließen. In Bezug auf die Kategorie konnte keine signifikante Abhängigkeit festgestellt werden (Tabelle 23).

Bei der Betrachtung der einzelnen Spezies innerhalb der Vogelfamilien konnte in der Familie der Habichtartigen eine relativ hohe Nachweisrate ORT-spezifischer DNA bei den Sperbern und Adlern mit ca. 30 % festgestellt werden, während sie bei den Bussarden 19 % und bei den Habichten 12 % betrug. Weiterhin waren zwei von fünf Milanen ORT positiv, wohingegen alle Weihen negativ waren.

In der Familie der Falkenartigen konnte ORT-spezifische DNA bei 54 % der beprobten Turmfalken sowie bei 31 % der Wanderfalken detektiert werden. Bei den Sakerfalken waren drei von vier Vögeln positiv, während sich beim Rötelfalken keine ORT-spezifische DNA nachweisen ließ. Auffällig war, dass alle fünf Falken, die auf dem Falkenhof (Kategorie 3) beprobt worden waren, positive Ergebnisse zeigten.

Vor allem bei den Rabenkrähen (40 %) aber auch bei den Elstern (25 %) und den Nebelkrähen (12 %) konnte ORT-spezifische DNA bei Vertretern der Familie der Rabenartigen nachgewiesen werden. Die beprobten Kolkraben waren negativ.

Aus der Familie der Eulen war lediglich eine Rachtentupferprobe eines Waldkauzes ORT-positiv. Bei den zwei Fischadlern und den zwei Neuweltgeier konnte bei jeweils einem Vogel ORT-spezifische DNA nachgewiesen werden.

Tabelle 22: Zusammenhang zwischen der Vogelfamilie und dem Infektionsstatus der untersuchten Vögel mit ORT (absolut und %)

Vogelfamilie	ORT		Gesamt
	Negativ	Positiv	
Rabenartige	32	8	40
	80 %	20 %	100 %
Habichtartige	98	23	121
	80,99%	19,01%	100 %
Falkenartige	29	28	57
	50,88%	49,12%	100 %
Eulenartige	55	1	56
	98,21%	1,79%	100 %
Fischadler	1	1	2
	50 %	50 %	100 %
Truthahngeier	1	1	2
	50 %	50 %	100 %
Gesamt	216	62	278
	77,70%	22,30%	100 %

Pearson Chi-Quadrat: 39,92; Signifikanz: 0,000

Tabelle 23: Zusammenhang zwischen der Kategorie und dem Infektionsstatus der untersuchten Vögel mit ORT (absolut und %)

Kategorie	ORT		Gesamt
	Negativ	Positiv	
Kategorie 1	137	32	169
	81,07%	18,93%	100 %
Kategorie 2	55	17	72
	76,39%	23,61%	100 %
Kategorie 3	24	13	37
	64,86%	35,14%	100 %
Gesamt	216	62	278
	77,70%	22,30%	100 %

Pearson Chi-Quadrat: 4,69; Signifikanz: 0,096

Statistisch wurden die Zusammenhänge zwischen dem Geschlecht (Tab. 24), dem Alter (Tab. 25), dem Beprobungszeitraum (Quartal) (Tab. 26) sowie der Krankheitssymptomatik

(Tab. 27) und dem Infektionsstatus der untersuchten ORT-positiven Vögel analysiert. Die Fälle, in denen das Merkmal nicht bekannt war, wurden nicht berücksichtigt. Der prozentuale Anteil der ORT-positiven Vögel lag bei den weiblichen Vögeln bei 26 % und bei den männlichen Vögeln bei 24 %. Bei 27 % der juvenilen Vögel ließ sich ORT-spezifische DNA nachweisen, aber auch 24 % der adulten Tiere waren betroffen. Die meisten der ORT-positiven Vögel, 25 % aller beprobten Tiere, wurden im dritten Quartal beprobt, aber auch im ersten, zweiten und vierten Quartal waren 18 %, 21 % bzw. 23 % aller untersuchten Vögel ORT-positiv. Bei einem hohen Prozentsatz (42 %) der flugunfähigen Jungvögel konnte ORT-spezifische DNA nachgewiesen werden, während es bei den Vögeln mit respiratorischen Symptomen bzw. ohne erkennbare Krankheitssymptome 25 % bzw. 23 % waren. Zwischen 17 % und 19 % lag der Anteil an ORT-positiven Vögeln, bei denen Frakturen oder Luxationen, Vergiftungen oder ein Trauma festgestellt wurden. war keiner der untersuchten Zusammenhänge signifikant. Bis auf die Vogelfamilie hatte auch in diesem Fall keiner der weiterhin untersuchten Zusammenhänge einen signifikanten Einfluss auf die Nachweisrate von ORT.

Tabelle 24: Zusammenhang zwischen dem Geschlecht und dem Infektionsstatus der untersuchten Vögel mit ORT (absolut und %)

Geschlecht	ORT		Gesamt
	Negativ	Positiv	
Männlich	47	15	62
	75,81%	24,19%	100 %
Weiblich	60	21	81
	74,07%	25,93%	100 %
Gesamt	107	36	143*
	74,83%	25,17%	100 %

Pearson Chi-Quadrat: 0,06; Signifikanz: 0,813

*135 fehlende Werte, da Geschlecht unbekannt

Tabelle 25: Zusammenhang zwischen dem Alter und dem Infektionsstatus der untersuchten Vögel mit ORT (absolut und %)

Alter	ORT		Gesamt
	Negativ	Positiv	
Juvenil	86	32	118
	72,88%	27,12%	100 %
Adult	83	26	109
	76,15%	23,85%	100 %
Gesamt	169	58	227*
	74,45%	25,55%	100 %

Pearson Chi-Quadrat: 0,32; Signifikanz: 0,573

*51 fehlende Werte, da Alter unbekannt

Tabelle 26: Zusammenhang zwischen dem Beprobungszeitraum (Quartal) und dem Infektionsstatus der untersuchten Vögel mit ORT (absolut und %)

Quartal	ORT		Gesamt
	Negativ	Positiv	
Januar - März	32	7	39
	82,05%	17,95%	100 %
April - Juni	55	15	70
	78,57%	21,43%	100 %
Juli - September	91	30	121
	75,21%	24,79%	100 %
Oktober - Dezember	34	10	44
	77,27%	22,73%	100 %
Gesamt	212	62	274*
	77,37%	22,63%	100 %

Pearson Chi-Quadrat: 0,87; Signifikanz: 0,833

*4 fehlende Werte, da Beprobungszeitraum (Quartal) unbekannt

Tabelle 27: Unabhängigkeit zwischen dem Gesundheitszustand (Symptome) und dem Infektionsstatus der untersuchten Vögel mit ORT (absolut und %)

Symptome	ORT		Gesamt
	Negativ	Positiv	
Frakturen/Luxationen	59	12	71
	83,10%	16,90%	100 %
Nicht flugfähige Jungvögel	19	14	33
	57,58%	42,42%	100 %
Respiratorische Symptome	9	3	12
	75 %	25 %	100 %
Vergiftung	10	2	12
	83,33%	16,67%	100 %
Anflugtrauma/ Sonstiges	64	15	79
	81,01%	18,99%	100 %
Keine Symptome	55	16	71
	77,46%	22,54%	100 %
Gesamt	216	62	278
	77,70%	22,30%	100 %

Pearson Chi-Quadrat: 9,68; Signifikanz: 0,085

5.2.1.8.2. Sequenzierung und phylogenetische Analyse

Zur näheren Typisierung wurden exemplarisch 24 Amplifikate verschiedener Vögel, von denen acht zur Familie der Habichtartigen, zwölf zur Familie der Falkenartigen und zwei zur Familie der Rabenartigen gehörten sowie die eines Fischadlers und eines Truthahngaiers, sowohl mit den vorwärts als auch rückwärts gerichteten Primern OR16S-F1 und OR16S-R1 sequenziert. Die sich anschließende BLAST-Analyse der erhaltenen Nukleotid-Sequenzen bestätigte in allen Fällen das Vorliegen von ORT. Bei einem Vergleich aller verwendeten Sequenzen mit einer einheitlichen Länge von 632 bp konnte eine Nukleotid-Homologie von 98 – 100 % festgestellt werden.

Im Anschluss wurde eine phylogenetische Analyse der erhaltenen Sequenzen durchgeführt. Zum Vergleich wurden die Sequenzen des ORT Typstamms DSM 15997, der ORT-Referenzstämme A bis H und O, die Sequenzen von sechs ORT-Feldstämmen von Puten sowie zwölf ORT-Taubensequenzen in die Untersuchung mit einbezogen.

Die phylogenetische Analyse ergab eine Gruppierung in zwei unterschiedliche Hauptcluster, die sich wiederum in jeweils zwei Subcluster unterteilen ließen (Abb. 18). Cluster I umfasste, neben den einbezogenen Sequenzen der Referenzstämme und den Sequenzen der Puten, alle ORT-Sequenzen der Falken-, der Raben- und, mit Ausnahme der Seeadler, auch der Habichtartigen. Dabei gruppierte sich der Großteil der Sequenzen in Subcluster Ia, während Subcluster Ib nur drei Sequenzen enthielt. Innerhalb des Subclusters Ia zeigte sich darüber hinaus eine Gruppierung nahezu aller untersuchten Sequenzen der Falken, unabhängig von Herkunft und Beprobungszeiträumen. Cluster II ließ sich in die Subcluster IIa und IIb unterteilen. Subcluster IIa beinhaltete die ORT-Sequenzen der zwei Seeadler, während Subcluster IIb mit einer Ausnahme alle einbezogenen Sequenzen der Taube umfasste.

Ergebnisse

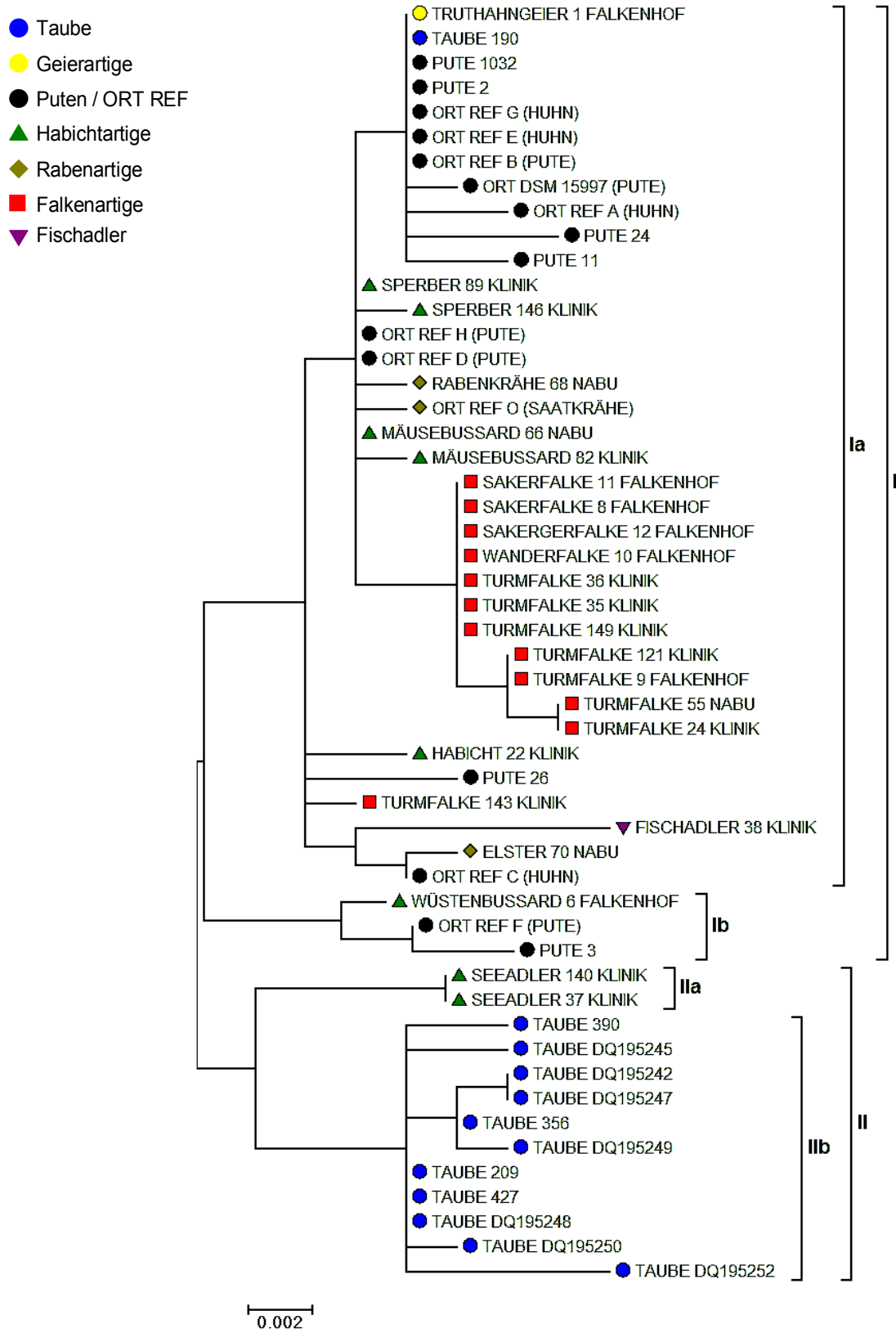


Abbildung 18: Phylogenetische Analyse von ORT-Sequenzen verschiedener Greif- und Rabenvögel, basierend auf einem 629 bp großen 16S rRNA-Gen Fragment. Zum Vergleich wurden die Sequenzen des ORT-Typstamms DSM 15997, der ORT-Referenzstämme A bis H und O, die Sequenzen von sechs ORT-Feldstämmen von Puten sowie zwölf ORT-Taubensequenzen in die Untersuchung mit einbezogen. Genbanksequenzen sind mit ihren entsprechenden Genbank Accession Nummern gekennzeichnet. Die weiteren Vergleichssequenzen lagen im Institut vor. Die farblichen Markierungen entsprechen der Familienzugehörigkeit der untersuchten Vögel.

5.2.2. Vergleichende Auswertung der PCR-Ergebnisse

Bei 183 von 278 der untersuchten Vögel (66 %) konnte spezifische DNA von einem oder mehreren der getesteten Erreger festgestellt werden (Tab. 28).

Am häufigsten ließ sich ausschließlich mykoplasmen-spezifische DNA bei 62 % der positiven Vögel nachweisen, während bei weiteren 24 % eine Doppelinfektion mit ORT vorlag. Nur bei 8 % der positiven Vögel ließ sich ausschließlich ORT-spezifische DNA detektieren. Drei weitere Vögel wiesen Mehrfachinfektionen mit Mykoplasmen, ORT und einem weiteren untersuchten Erreger auf. Doppelinfektionen konnten weiterhin bei zwei Vögeln mit Mykoplasmen und Herpes sowie bei einem Vogel mit ORT und *Chlamydia psittaci* festgestellt werden (Tab. 28).

Die statistische Analyse zeigt eine Abhängigkeit zwischen den mykoplasmen-positiven und ORT-positiven Vögeln (Tab. 30). Eine weitere Abhängigkeit konnte zwischen den ORT-positiven und den *Chlamydia psittaci*-infizierten Vögeln festgestellt werden (Tab. 31). Diese Analyse ist aber kritisch zu betrachten, da die Anzahl mit fünf *Chlamydia psittaci*-positiven Vögeln, von denen drei eine Koinfektion mit ORT aufwiesen, klein ist. Zwischen den anderen Erregern ließen sich statistisch keine weiteren Abhängigkeiten feststellen (Tab. 32 – 35).

Bezogen auf die Vogelfamilien konnten vor allem bei den Greifvögeln Erreger-spezifische DNA nachgewiesen werden. Die meisten, 41 % der infizierten Tiere gehörten zur Familie der Habichtartigen, 22 % zur Familie der Falkenartigen und 28 % zur Familie der Eulen. Weiterhin waren 8 % der Rabenartigen sowie ein Fischadler und ein Neuweltgeier betroffen. In Bezug auf die Herkunft handelte es sich um Vögel aus allen Kategorien. Die meisten mit 62 % der positiven Vögel waren Vertreter der ersten Kategorie, während aus der zweiten und dritten Kategorie 27 % bzw. 11 % betroffen waren (Tab. 29).

Tabelle 28: Erregernachweise in Bezug auf die untersuchten Vogelfamilien (absolut und %)

Vogelfamilie	Infektionsstatus (n ¹ / %)									Gesamt n ¹ / %
	Infektionsstatus mit ausschließlich:				Doppelinfektion mit:			Mehrfachinfektion mit:		
	Mykopl. ²	ORT	Herpes	C. psittaci ³	Mykopl. ² / ORT	Mykopl. ² / Herpes	C. psittaci ³ / ORT	Mykopl. ² / ORT / C. psittaci ³	Mykopl. ² / ORT / Herpes	
Habichtartige (n=121)	63 / 34	2 / 1	0	0	6 / 3	2 / 1	1 / 0,5	0	1 / 0,5	75 / 41
Falkenartige (n=57)	17 / 9	3 / 2	0	1 / 0,5	18 / 10	0	0	2 / 1	0	41 / 22
Eulen (n=56)	21 / 11	6 / 3	3 / 2	1 / 0,5	20 / 11	0	0	0	0	51 / 28
Rabenartige (n=40)	12 / 7	1 / 0,5	1 / 0,5	0	0	0	0	0	0	14 / 8
Fischadler (n=2)	0	1 / 0,5	0	0	0	0	0	0	0	1 / 0,5
Neuweltgeier (n=2)	0	1 / 0,5	0	0	0	0	0	0	0	1 / 0,5
Gesamt	113 / 62	14 / 8	4 / 2	2 / 1	44 / 24	2 / 1	1 / 0,5	2 / 1	1 / 0,5	183 / 100

¹ n = absolute Zahl

² Mykopl. = Mykoplasmen

³ C. psittaci = *Chlamydia psittaci*

Tabelle 29: Erregernachweise in Bezug auf die Kategorien (absolut und %)

Vogelfamilie	Infektionsstatus (n ¹ / %)									Gesamt n ¹ / %
	Infektionsstatus mit ausschließlich:				Doppelinfektion mit:			Mehrfachinfektion mit:		
	Mykopl. ²	ORT	Herpes	C. psittaci ³	Mykopl. ² / ORT	Mykopl. ² / Herpes	C. psittaci ³ / ORT	Mykopl. ² / ORT / C. psittaci ³	Mykopl. ² / ORT / Herpes	
Kategorie 1 (n=169)	76 / 42	4 / 2	3 / 2	0	24 / 13	2 / 1	1 / 0,5	2 / 1	1 / 0,5	113
Kategorie 2 (n=71)	30 / 16	5 / 3	1 / 0,5	1 / 0,5	12 / 7	0	0	0	0	49
Kategorie 3 (n=38)	7 / 4	5 / 3	0	1 / 0,5	8 / 4	0	0	0	0	21
Gesamt	113 / 62	14 / 8	4 / 2	2 / 1	44 / 24	2 / 1	1 / 0,5	2 / 1	1 / 0,5	183 / 100

¹ n = absolute Zahl

² Mykopl. = Mykoplasmen

³ C. psittaci = *Chlamydia psittaci*

Tabelle 30: Zusammenhang zwischen dem Infektionsstatus mit Mykoplasmen-Spezies und ORT der untersuchten Vögel (absolut und %)

Mykoplasmen	ORT		Gesamt
	Negativ	Positiv	
Negativ	101	15	116
	87,07%	12,93%	100 %
Positiv	115	47	162
	70,99%	29,01%	100 %
Gesamt	216	62	278
	77,70%	22,30%	100 %

Pearson Chi-Quadrat: 10,09; Signifikanz: 0,001

Tabelle 31: Zusammenhang zwischen dem Infektionsstatus mit ORT und *Chlamydia psittaci* der untersuchten Vögel (absolut und %)

ORT	<i>Chlamydia psittaci</i>		Gesamt
	Negativ	Positiv	
Negativ	213	2	215
	99,07%	0,93%	100 %
Positiv	57	3	60
	95 %	5,00%	100 %
Gesamt	270	5	275*
	98,18%	1,82%	100 %

Pearson Chi-Quadrat: 4,35; Signifikanz: 0,037

*3 fehlende Werte, da Wert nicht beurteilbar

Tabelle 32: Zusammenhang zwischen dem Infektionsstatus mit Mykoplasmen-Spezies und *Chlamydia psittaci* der untersuchten Vögel (absolut und %)

Mykoplasmen	<i>Chlamydia psittaci</i>		Gesamt
	Negativ	Positiv	
Negativ	112	3	115
	97,39%	2,61%	100 %
Positiv	158	2	160
	98,75%	1,25%	100 %
Gesamt	270	5	275*
	98,18%	1,82%	100 %

Pearson Chi-Quadrat: 0,69; Signifikanz: 0,406

*3 fehlende Werte, da Wert nicht beurteilbar

Tabelle 33: Zusammenhang zwischen dem Infektionsstatus mit Mykoplasmen-Spezies und Herpesviren der untersuchten Vögel (absolut und %)

Mykoplasmen	Herpesviren		Gesamt
	Negativ	Positiv	
Negativ	111	4	115
	96,52%	3,48%	100 %
Positiv	159	3	162
	98,15%	1,85%	100 %
Gesamt	270	7	277*
	97,47%	2,53%	100 %

Pearson Chi-Quadrat: 0,72; Signifikanz: 0,395

*1 fehlender Wert, da Wert nicht beurteilbar

Tabelle 34: Zusammenhang zwischen dem Infektionsstatus mit ORT und Herpesviren der untersuchten Vögel (absolut und %)

ORT	Herpesviren		Gesamt
	Negativ	Positiv	
Negativ	209	6	215
	97,21%	2,79%	100 %
Positiv	61	1	62
	98,39%	1,61%	100 %
Gesamt	270	7	277*
	97,47%	2,53%	100 %

Pearson Chi-Quadrat: 0,27; Signifikanz: 0,603

*1 fehlender Wert, da Wert nicht beurteilbar

Tabelle 35: Zusammenhang zwischen dem Infektionsstatus mit Chlamydia psittaci und Herpesviren der untersuchten Vögel (absolut und %)

<i>Chlamydia psittaci</i>	Herpesviren		Gesamt
	Negativ	Positiv	
Negativ	262	7	269
	97,40%	2,60%	100 %
Positiv	5	0	5
	100 %	0 %	100 %
Gesamt	267	7	274*
	97,45%	2,55%	100 %

Pearson Chi-Quadrat: 0,13; Signifikanz: 0,715

*4 fehlende Werte, da Wert nicht beurteilbar

5.3. Bakteriologische Untersuchung

5.3.1. Kulturelle Isolierung von ORT

62 Rachentupfer der PCR-positiven Vögel wurden zusätzlich mittels Anzucht auf das Vorkommen von ORT hin untersucht. Aus den Rachentupfern von neun verschiedenen Vögeln gelang die Isolierung und nachfolgende Identifizierung (siehe 5.3.2) von ORT auf Columbia Agar mit 7 % Schafblut und Gentamicin-Zusatz unter mikroaeroben Bedingungen. Sieben Isolate stammten von Vögeln, die auf dem Falkenhof in Potsdam beprobt wurden. Dabei handelte es sich um vier Falken der Familie der Falkenartigen (Isolat Nr. 9 - 12), einen Rotmilan (Isolat Nr. 13) und einen Wüstenbussard (Isolat Nr. 6) der Familie der Habichtartigen sowie um einen Truthahngerier (Isolat Nr. 1) der Familie der Neuweltgeier. Zwei weitere Isolate stammten von zwei Turmfalken (Isolat Nr. 143 und 149) der Familie der Falkenartigen, welche in der Klinik beprobt worden waren (Tab. 35).

5.3.2. Biochemischen ORT-Identifizierung

Die ORT-Identifizierung erfolgte mit dem API® 20 NE Testverfahren. Alle neun Isolate zeigten positive Reaktionen für die Enzyme β -Galactosidase und Cytochrom-c-Oxidase. Mit Ausnahme von Isolat Nr. 143 waren alle Isolate auch Urease-positiv. Die API 20 NE Reaktionsprofile waren demzufolge 0-2-2-0-0-0-4 (acht Isolate) und 0-0-2-0-0-0-4 (Isolat Nr. 143) (Tab. 35).

5.3.3. ORT-Serotypisierung

Zur Serotypisierung wurden die Isolate im Agar-Gel-Präzipitationstest (AGP) mit spezifischen Antikörpern gegen die ORT-Serotypen A – L getestet. Dabei konnten fünf verschiedene Serotypen nachgewiesen werden (Tab. 35). Bei einem der Turmfalken (Isolat Nr. 149) wurde eine Kreuzreaktion der Serotypen H und J festgestellt. Zwei weitere Falkenisolate (Nr. 9 und 11) zeigten keine Reaktion mit den Antiseren A - L.

Tabelle 36: Identifizierung und Serotypisierung der ORT-Isolate

Nummer	Vogelspezies	Herkunft	Identifizierung	Serotyp
1	Truthahngerier	Falkenhof	0220004	H
6	Wüstenbussard			I
9	Turmfalke			Kein Ergebnis
10	Wanderfalke			A
11	Sakerfalke			Kein Ergebnis
12	Saker-Gerfalke			H
13	Rotmilan			F
143	Turmfalke	Klinik	0020004	J
149	Turmfalke		0220004	H/J

5.3.4. Resistenzverhalten mittels Agardiffusionstest

Das Resistenzverhalten der Isolate sollte im Agardiffusionstest ermittelt werden. Auf Mueller-Hinton Agar mit 5 % Schafblut zeigten die Isolate und der mitgeführte Referenzstamm bereits ohne Wirkstoffblättchen ein unterdrücktes Wachstum, was darauf schließen lässt, dass das Medium in seiner für die Resistenztestung definierten Zusammensetzung nicht für ORT geeignet ist. Auf Columbia Blutagar mit 7 % Schafblut zeigte der Referenzstamm für mehrere Wirkstoffe deutliche, klar abgegrenzte Hemmhöfe, während die inokulierten Blutplatten der Greifvogelisolat erneut nicht ausgewertet werden konnten. Einzelne Isolate ließen bei der Verwendung eines Inokulums mit hohem McFarland-Standard auf Blutagar lediglich Hemmhöfe erahnen. Unabhängig von der verwendeten Dichte und Menge des Inokulums sowie der Inkubationszeit konnte die Resistenztestung nicht ausgewertet werden.

5.3.5. Fingerprinting der Isolate mittels RAPD (random amplified polymorphic DNA)

Um die gewonnenen Isolate (Punkt 5.3.1) genotypisch zu charakterisieren wurde die genomische DNA der neun ORT-Isolate (Tab. 35) sowie die der Referenzstäme A, H, I, J und F, entsprechend der zuvor im Agar-Gel-Präzipitationstest (AGP) bestimmten Serotypen, mittels RAPD-PCR näher untersucht.

Das Bandenmuster der verwendeten Standardserotypen sowie das der neun Isolate, erhalten durch Amplifizierung mit dem Primer M 13 und nach erfolgter Gelelektrophorese, ist in Abbildung 19 dargestellt. Zwischen den Bandenmustern der DNA der ORT-Standardserotypen und der DNA der gewonnenen ORT-Isolate konnten keine Übereinstimmungen festgestellt werden. Ähnlichkeiten waren innerhalb der Isolatgruppe vorhanden, welche aber nicht den im AGP nachgewiesenen Serotypen entsprachen.

Sowohl zwischen Vögeln unterschiedlicher Familienzugehörigkeit, dem Wüstenbussard (Nr. 6; Spur 10) und dem Saker-GERfalke (Nr. 12; Spur 14) sowie dem Wanderfalken (Nr. 10; Spur 12) und dem Rotmilan (Nr. 13; Spur 15) als auch Vögeln unterschiedlicher Herkunft, den Turmfalken (Nr. 9 und Nr. 149; Spur 11 und 17) und dem Sakerfalke (Nr. 11, Spur 13) waren jeweils Ähnlichkeiten im Bandenmuster festzustellen.

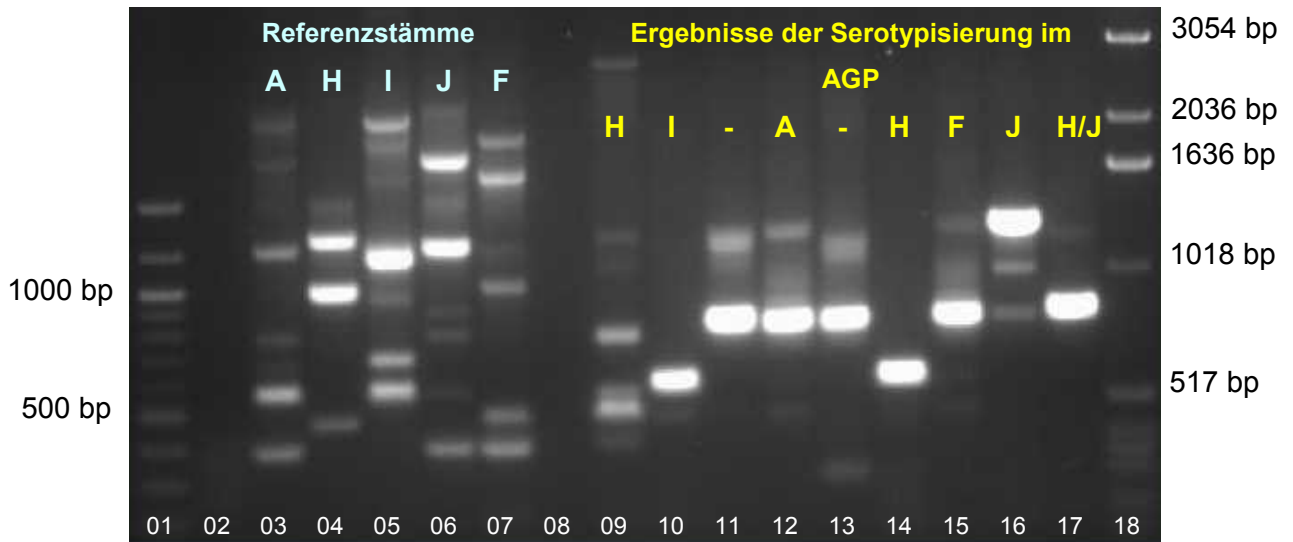


Abbildung 19: Fragment-Muster der untersuchten Isolate im Vergleich zu Referenzstämmen

Spur 01: Größenstandard 100 bp; Spur 02: PCR-Negativkontrolle;
 Spur 03: Standardserotyp A; Spur 04: Standardserotyp H;
 Spur 05: Standardserotyp I; Spur 06: Standardserotyp J;
 Spur 07: Standardserotyp F; Spur 08: Extraktionsnegativkontrolle;
 Spur 09: Truthahngeier (Nr. 1; Serotyp H); Spur 10: Wüstenbussard
 (Nr. 6; Serotyp J/I); Spur 11: Turmfalke (Nr. 9; Serotyp k.E.*);
 Spur 12: Wanderfalke (Nr. 10; Serotyp A); Spur 13: Sakerfalke
 (Nr. 11; Serotyp k.E.*); Spur 14: Saker-Gerfalke (Nr. 12; Serotyp H);
 Spur 15: Rotmilan (Nr. 13; Serotyp F); Spur 16: Turmfalke
 (Nr. 143; Serotyp J); Spur 17: Turmfalke (Nr. 149; Serotyp H);
 Spur 18: Größenstandard 1000 bp

*k.E. = Kein Ergebnis

6. Diskussion

Wie verschiedene Berichte aus der Literatur zeigen, spielen verschiedene virale und bakterielle Erreger nicht nur beim Wirtschaftsgeflügel sondern auch bei Greif- und Rabenvögeln eine wichtige Rolle als Ursache verschiedener Erkrankungen. Bestimmte Erreger wie aviäre Influenzaviren (AIV), das *Newcastle Disease Virus* (NDV) und *Chlamydia psittaci* stellen darüber hinaus aufgrund ihres zoonotischen Potentials auch eine Bedrohung für den Menschen dar (Capua and Alexander, 2004a, 2006; Kaleta and Taday, 2003; Smith et al., 2005; Zweifel et al., 2009). In der vorliegenden Arbeit wurden Greif- und Rabenvögel darauf hin untersucht, ob ausgewählte virale (aviäre Adenoviren, aviäre Herpesviren, AIV, NDV, aviäre Metapneumoviren (AMPV)) und bakterielle Erreger (aviäre Mykoplasmen, *Chlamydia psittaci*, *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT)) bei den Tieren als Krankheitserreger diagnostiziert werden konnten.

Die Untersuchung einer größeren Gruppe von Vögeln aus unterschiedlichen Herkünften auf verschiedene Erreger ermöglichte darüber hinaus eine weitere Analyse verschiedener Parameter und eventueller Zusammenhänge zwischen den Erregern.

Probenmaterial von insgesamt 278 verschiedenen Vögeln aus sieben unterschiedlichen Vogelfamilien (121 Habichtartige, 57 Falkenartige, 53 Eigentliche Eulen, 3 Schleiereulen, 40 Rabenartige, zwei Fischadler, zwei Neuweltgeier) wurde mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) auf das Vorhandensein der oben genannten Erreger hin untersucht. Zur weiteren Typisierung wurde bei einigen eine Sequenzierung erhaltener PCR-Produkte angeschlossen.

Die untersuchten Vögel ließen sich entsprechend ihrer Herkunft in drei Kategorien einteilen. Bei 169 Vögeln handelte es sich um Wildvögel, die spätestens eine Woche nach Einlieferung in eine Klinik beprobt worden waren. 71 Vögel entstammten ebenfalls der freien Natur, befanden sich zum Zeitpunkt der Probennahme aber bereits länger als 14 Tage in menschlicher Obhut. Bei 38 Tieren handelte es sich um Greifvögel und zwei Truthahngerier in menschlicher Obhut. Diese Unterteilung wurde vorgenommen, um Einflüsse der Haltungsbedingungen auf den Infektionsdruck der Vögel zu berücksichtigen.

6.1. Aviadenoviren

Über das Vorkommen von Aviadenoviren bei Greif- und Rabenvögeln mit nachweisbaren Krankheitssymptomen wie Apathie und Anorexie, häufig mit Todesfolge, liegen verschiedene Berichte, insbesondere aus den USA, vor (Dean et al., 2006; Oaks et al., 2005; Schelling et al., 1989; Schrenzel et al., 2005; 1983; Tomaszewski and Phalen, 2007; Van Wettere et al., 2005). Bei allen verendeten Vögeln konnten entzündliche Veränderungen von Leber und Milz festgestellt werden sowie bei den histologisch untersuchten Tieren eine intranukleäre Einschlusskörperchen-Hepatitis (EKH). Auch verendete Greifvögel aus England und Indien zeigten die genannten pathologischen und histologischen Veränderungen (Forbes et al., 1997; Kumar et al., 2010; Zsivanovits et al., 2006). Studien in Deutschland und auf den Galapagosinseln belegten darüber hinaus das Vorkommen von Antikörpern gegen Aviadenoviren bei Bussarden in Deutschland sowie bei Galapagos-Habichten, ohne dass die betroffenen Vögel Krankheitssymptome zeigten (Deem et al., 2012; Fröhlich et al., 2002).

Um zu untersuchen, ob Aviadenoviren auch als Krankheitserreger bei den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Greif- und Rabenvögeln eine Rolle spielen, wurden die Kloakentupfer auf das Vorhandensein aviadenovirus-spezifischer DNA untersucht. Zu diesem Zweck wurde eine PCR gewählt, deren Primer innerhalb konservierter Bereiche des Hexongens lokalisiert waren und eine Amplifikation der variablen Loop 1 Region des Hexongens ermöglichten (Raue et al., 2005). Damit sollte nicht nur eine sichere Detektion verschiedener Aviadenoviren, sondern auch eine Typisierung mittels anschließender Sequenzierung möglich gemacht werden. Die Eignung der verwendeten PCR wurde zunächst durch den Nachweis aviadenovirus-spezifischer DNA bei den Hühner-Aviadenoviren der Serotypen FAdV-1 bis FAdV-11, dem Puten-Aviadenovirus B (TAdV B) sowie bei Virus-Isolaten eines Greifvogels, einer Taube, eines Papageien und einer Gans belegt. Entgegen den Erwartungen wurde ein Fragment der erwarteten Größe auch bei der Untersuchung des Enten-Aviadenovirus A (DAdV A) und dem Egg Drop Syndrom Virus (EDS-Virus), welches dem Genus *Atadenovirus* angehört, nachgewiesen. Die anschließende Sequenzierung belegte die eindeutige Identifizierung des EDS-Virus (Ergebnisse nicht gezeigt). Das spricht dafür, dass die verwendeten Primer nicht nur Vertreter des Genus *Aviadenovirus*, sondern auch des Genus *Atadenovirus* amplifizieren. Das Hämorrhagische Enteritis Virus (HEV), das Puten-Siadenovirus A (TAdV A) als Vertreter des Genus *Siadenovirus*, wurde dagegen nicht amplifiziert.

Bei keinem der untersuchten Greif- und Rabenvögel konnte aviadenovirus-spezifische DNA nachgewiesen werden. Verschiedene Gründe könnten für dieses Ergebnis eine Rolle spielen. In den oben genannten amerikanischen Studien wurde mit einer PCR nach Schrenzel et al. (2005) gearbeitet, die darauf ausgerichtet war, Probenmaterial exklusiv auf

ein Falken-Aviadenovirus hin zu untersuchen. In der vorliegenden Studie hingegen wurden aufgrund der großen Speziesvielfalt der untersuchten Vögel und der Möglichkeit des Vorkommens verschiedener Aviadenoviren Primer gewählt, die möglichst alle Aviadenoviren nachweisen sollten. Dabei ist nicht auszuschließen, dass die breite Spezifität zu einer geringeren Sensitivität geführt haben könnte. Weiterhin wurden die Untersuchungen zur Spezifität der verwendeten PCR anhand von Virus-Isolaten durchgeführt, während von den untersuchten Greif- und Rabenvögeln nur Tupferproben verwendet wurden, in denen eine deutlich geringere Menge an Virusmaterial zu erwarten war.

Das negative Ergebnis könnte aber auch auf eine niedrige Prävalenz von Aviadenoviren bei Greif- und Rabenvögeln zum Zeitpunkt der Probenentnahme zurückzuführen sein. Diese Annahme steht im Einklang mit den Ergebnissen von Fröhlich et al. (2002). So konnten über einen Zeitraum von drei Jahren lediglich bei sieben (4 %) der untersuchten Greifvögel in Berlin und Brandenburg Antikörper gegen Aviadenoviren nachgewiesen werden. Deem et al. (2012) hingegen wiesen bei 55,8 % der untersuchten Galapagos-Habichte Antikörper gegen Aviadenoviren nach. Diese hohe Seroprävalenz lässt sich eventuell durch den begrenzten Lebensraum der Habichte erklären. Oaks et al. (2005) zeigten, dass verschiedene Greifvögel mit unterschiedlicher Empfindlichkeit Träger von Aviadenoviren sein können. Weitere Studien zeigen bei Tieren in Gefangenschaft eine hohe Morbidität unter Greifvögeln einer Spezies, wenn diese besonders empfänglich gegenüber bestimmten Aviadenoviren sind, während sich Greifvögel einer anderen Spezies derselben Anlage nicht infizieren (Dean et al., 2006; Forbes et al., 1997; Schrenzel et al., 2005; Sileo et al., 1983; Van Wetters et al., 2005). In diesem Zusammenhang wäre auch die Fragestellung im Hinblick auf eventuelle Prävalenzen bei bestimmten Vogelfamilien interessant gewesen. In den USA wurde der Erreger hauptsächlich bei Vögeln der Familie der Falkenartigen nachgewiesen (Dean et al., 2006; Oaks et al., 2005; Schrenzel et al., 2005; Tomaszewski and Phalen, 2007; Van Wetters et al., 2005), während aus Deutschland, Indien und den Galapagos Inseln einzelne Berichte über den Nachweis von Adenoviren bei Vögeln der Familie der Habichtartigen und aus England auch bei Eulen vorliegen (Fröhlich et al., 2002; Kumar et al., 2010; Zsivanovits et al., 2006). Inwieweit Adenoviren anderer Genera eine Rolle spielen, wie z.B. der Nachweis von Siadenoviren bei einem Wüstenbussard und zwei Uhus, die mit den typischen pathologisch-histologischen Veränderungen aufgefunden wurden (Zsivanovits et al., 2006), wurde im Rahmen dieser Arbeit nicht untersucht.

6.2. Aviäre Herpesviren

Das Vorkommen von Herpesviren wurde bereits ab den Siebziger Jahren des vergangenen Jahrhunderts vorwiegend bei Falken und Eulen in Fallberichten aus den USA, Österreich, England und Spanien beschrieben (Burtscher and Sibalin, 1975; Gough et al., 1995; Gough et al., 1993; Kocan et al., 1977a; Mare and Graham, 1973; Mozos et al., 1994). Später folgten Berichte aus Deutschland, den USA, Australien, Kanada und Polen, in denen bei verschiedenen Greifvögeln, darunter vereinzelt auch erstmalig bei Habichtartigen, Herpesviren unter Verwendung verschiedener Methoden nachgewiesen werden konnten (Gailbreath and Oaks, 2008; Phalen et al., 2011; Pinkerton et al., 2008; Rautenschlein and Legler, 2006; Rose et al., 2012; Wozniakowski et al., 2013). Als pathologische bzw. histologische Veränderungen wurden häufig Nekroseherde in Leber und Milz sowie intranukleäre Einschlusskörperchen (EK) nachgewiesen. Klinische Symptome waren unspezifisch. Um herauszufinden, ob Herpesviren auch bei den in dieser Arbeit beprobten Greif- und Rabenvögeln eine Rolle als Krankheitserreger spielten, wurden die vorliegenden Kloakentupfer auf das Vorhandensein herpesvirus-spezifischer DNA hin untersucht. Zum Nachweis wurde eine nested PCR unter Verwendung degenerierter Primer, lokalisiert im Polymerasegen, verwandt, die eine sichere Detektion verschiedener Alphaherpesviren gewährleisten sollten. Der erfolgreiche Nachweis alphaherpesvirus-spezifischer DNA beim Menschen, verschiedenen Säugetieren (z.B. Zebra, Tapir, Esel, Schwein, Rind, Hund, Katze und Hase), einem Fisch, bei Taube und Papagei sowie der Nachweis der Hühnerherpesviren-1 und -2, wurde bereits gezeigt (Ehlers et al., 1999; VanDevanter et al., 1996). In der vorliegenden Arbeit wurde die Eignung der verwendeten nested PCR weiterhin durch den Nachweis herpesvirus-spezifischer DNA verschiedener, im Institut für Geflügelkrankheiten bereits vorliegender Isolate von Greifvögeln unterlegt, während andere aviäre Viren nicht detektiert werden konnten. Die anschließende Sequenzierung belegte interessanterweise bei vier der fünf vorhandenen Isolate der Greifvögel das Vorliegen des Tauben-Herpesvirus-1 (CoHV-1).

Im Rahmen der eigenen Untersuchungen konnte nur bei sieben der 278 (2,5 %) untersuchten Greif- und Rabenvögel herpesvirus-spezifischer DNA nachgewiesen werden, während Wozniakowski et al. (2013) der Nachweis von CoHV-spezifischer DNA bei ca. 20 % der untersuchten Greif- und Rabenvögeln in Polen gelang. Ob dies auf einer eventuell geringeren Sensitivität der verwandten PCR gegenüber der von Wozniakowski et al. (2013) eingesetzten spezifischen PCR zum Nachweis von CoHV-1 beruhte, ist nicht sicher auszuschließen. Serologische Studien bei Vögeln aus Deutschland und England zeigten jedoch ebenfalls deutlich unterschiedliche Seroprävalenzen zwischen 2,6 % und 35,5 % abhängig vom jeweils verwendetem Antigen (Lierz et al., 2002a; Schettler et al., 2001; Zsivanovits et al., 2004).

Bei den sieben positiven Vögeln handelte es sich um Vertreter der Habichtartigen, der Eulen und um einen Kolkraben. Nach Kenntnisstand des Autors ist das der erste Bericht über den Nachweis von herpesvirus-spezifischer DNA bei einem Kolkraben. Nur in Polen wurde bisher bei einem weiteren Rabenvogel, einer Nebelkrähe, eine Infektion mit Herpesviren beschrieben (Wozniakowski et al., 2013). Aufgrund der geringen Anzahl positiv getesteter Vögel ist eine Bewertung eher schwierig. Während es in der Literatur häufig Berichte über das Vorkommen von Herpesviren bei Vertretern der Falkenartigen und Eulen gibt (Burtscher and Sibalin, 1975; Gailbreath and Oaks, 2008; Gough et al., 1995; Phalen et al., 2011; Rautenschlein and Legler, 2006; Rose et al., 2012; Schettler et al., 2001; Wozniakowski et al., 2013; Zsivanovits et al., 2004), konnte in der vorliegenden Arbeit zwar bei Eulen, jedoch bei keinem der Falken herpesvirus-spezifische DNA nachgewiesen werden. Andererseits gelang der Nachweis bei Vertretern der Habichtartigen, was bisher nur selten in der Literatur beschrieben wurde (Docherty et al., 1983; Pinkerton et al., 2008; Ramis et al., 1994). Ein vergleichbares Ergebnis, allerdings mit einer sehr viel höheren positiven Probenanzahl, findet sich bei Lierz et al. (2002a). Ihnen gelang der serologische Nachweis von Antikörpern ausschließlich bei verschiedenen Vertretern der Familie der Habichtartigen.

Bei sechs der positiven Vögel handelte es sich um Tiere der Kategorie 1, während ein Vogel der Kategorie 2 angehörte. Somit handelte es sich bei allen Vögeln um Wildvögel, von denen sich lediglich einer bereits länger als 14 Tage in menschlicher Obhut befand. Bis auf einen Vogel wiesen alle der vorwiegend adulten Tiere ein Anflugtrauma in Form von Augenbefunden oder gebrochenen Gliedmaßen auf. Die geringe Anzahl positiver Proben lässt jedoch leider keine nähere Analyse dieser Parameter zu. Interessanterweise entsprachen die vom Landesuntersuchungsamt Rheinland-Pfalz erhobenen histologisch-pathologische Befunde, vorliegend von einem Mäusebussard und einem Uhu mit Nachweis intranukleärer EK und multipler Nekrosen in Leber und Milz, beim Uhu auch im Rachen, genau den Beschreibungen der Literatur (Gough and Alexander, 1993; Kocan et al., 1977a; Mare and Graham, 1973; Phalen et al., 2011; Rautenschlein and Legler, 2006; Rose et al., 2012; Sileo et al., 1975).

Die anschließende Sequenzanalyse bestätigte bei allen Vögeln das Vorliegen von Herpesviren. Leider waren nicht alle Sequenzen eindeutig auswertbar. Während bei den Referenzisolaten in vier von fünf Fällen eindeutig CoHV-1 identifiziert werden konnte, wurde bei den eigenen Proben nur in einem Fall CoHV-1 nachgewiesen. Bei zwei Mäusebussarden konnte jeweils ein bisher nicht klassifiziertes Mäusebussard-Alphaherpesvirus und ein Geier-Herpesvirus nachgewiesen werden, welche deutlich unterscheidbar vom CoHV-1 waren.

Schon frühere Untersuchungen deuteten darauf hin, dass es sich bei dem Falken-, Eulen- und Tauben-Herpesvirus-1 um dasselbe Virus handelte, mit einer niedrigen Pathogenität für die Taube als Hauptwirt und einer hohen Pathogenität für Falken und Eulen als Fehlwirte (Aini et al., 1993; Gunther et al., 1997). Die Sequenzanalyse im Rahmen der vorliegenden Arbeit zeigte jedoch auch das Vorkommen zwei weiterer nicht klassifizierter Herpesviren, die nicht mit dem CoHV-1 übereinstimmen. Dies unterstreicht die Ergebnisse zu Untersuchungen aus den USA und England zum Vorkommen weiterer Herpesviruspezies (Cardoso et al., 2005; Spatz et al., 2014). Um diese Aussage zu untermauern, sind jedoch weitere Untersuchungen nötig.

6.3. Aviäre Influenzaviren (AIV)

Seit der Jahrtausendwende liegen vermehrt Fallberichte zum Nachweis von AIV bei Greif- und Rabenvögeln vor. In den meisten Fällen handelte es sich um verendet aufgefundene Vögel, bei denen hochpathogene aviäre Influenzaviren (HPAIV) nachgewiesen werden konnten. Dabei handelte es sich in der freien Natur vor allem um Aasfresser, wie Bussarde, Krähen und Geier, aber auch Falken waren betroffen. Wahrscheinlich ist häufig eine Infektion über infiziertes Wasser- oder Nutzgeflügel (Beer et al., 2006; Brown and Stallknecht, 2008; Ducatez et al., 2007b; Tanimura et al., 2006; van den Brand et al., 2015). Greifvögel wie Sperber oder auch Turmfalken, die sich vorwiegend von kleinen Vögeln und Säugetieren ernähren, sind hingegen kaum betroffen (van den Brand et al., 2015).

Im November 2016 begann in Deutschland ein HPAIV Ausbruchsgeschehen, welches innerhalb von zwei Monaten ein nie zuvor beobachtetes Ausmaß angenommen hat. So konnten in Deutschland und weiteren europäischen Staaten eine stetig steigende Anzahl von HPAIV H5N8 Infektionen bei Wildvögeln, darunter auch Greifvögeln, einhergehend mit zahlreichen Ausbrüchen beim Wirtschaftsgeflügel nachgewiesen werden. Zu Ausbrüchen kam es auch in Tierparks und zoologischen Gärten (Risikoeinschätzung | FLI | Stand 13.02.2017 | <https://www.fli.de/de/aktuelles/tierseuchengeschehen/klassische-gefluegelpest>). Ein Abflauen des Infektionsgeschehens war bei Beendigung dieser Arbeit nicht in Sicht.

Der Verlauf einer Erkrankung variiert und ist abhängig davon, ob es sich um eine Infektion mit niedrig- oder hochpathogenen aviären Influenzaviren (L- oder HPAIV) handelt, zwischen symptomlos oder milden Krankheitssymptomen bis hin zu perakuten Todesfällen mit einer Mortalität von bis zu 100 % (Alexander, 2000; Stallknecht and Shane, 1988; Webster et al., 1992). Bei der hochpathogenen aviären Influenza handelt es sich nicht nur um eine anzeigepflichtige Tierseuche, sondern auch um eine Zoonose, die eine biologische Bedrohung nicht nur für andere Vögel und Säugetiere, sondern insbesondere auch für den Menschen darstellen könnte (Capua and Alexander, 2004a, 2006). Aus diesem Grund

wurden Kloakentupfer aller beprobten Vögel der vorliegenden Arbeit auf das Vorkommen von AIV hin untersucht. Zum Nachweis AIV-spezifischer RNA wurde eine real-time RT-PCR (RT-qPCR), die einen Bereich innerhalb des Matrixprotein-Gens amplifiziert, verwendet (Spackman et al., 2002).

Bei keinem der untersuchten Vögel konnte AIV-spezifische RNA nachgewiesen werden. Auch in verschiedenen AIV-Monitoring-Programmen, die infolge der vermehrt auftretenden HPAIV H5N1-Ausbrüche in Asien und Europa in den Jahren 2003 bis 2009 eingerichtet worden waren, wurden negative Ergebnisse erzielt. In Hong Kong waren 2004 trotz vermehrter AIV H5N1-Ausbrüche beim Wirtschaftsgeflügel alle 2200 Vögel, die im Rahmen eines Wildvogel-Monitorings untersucht worden waren, AIV-negativ (Sabirovic et al., 2005). Auch in Schweden konnte in einem Zeitraum von 2003 bis 2007 weder bei Seeadlern noch bei Wanderfalken AIV-Infektionen nachgewiesen werden (Gunnarsson et al., 2010). Im Gegensatz dazu konnte im Jahr 2006 in Deutschland, Dänemark und Schweden bei einer Vielzahl anderer Greif- und Wildvögel HPAIV H5N1 nachgewiesen werden (Beer et al., 2006; Bragstad et al., 2007; Komar and Olsen, 2008).

Dem eigenen Ergebnis können verschiedene Ursachen zugrunde liegen. Da zum Zeitpunkt der Untersuchung aus Europa lediglich ein Bericht über einen 2010 an HPAIV H5N1 verendeten Mäusebussard vorliegt (Marinova-Petkova et al., 2012), ist es wahrscheinlich, dass der Infektionsdruck bei Wildvögeln in Europa im zur Frage stehenden Zeitraum nicht so hoch war wie z.B. im Jahr 2006 (Beer et al., 2006; Bragstad et al., 2007; Komar and Olsen, 2008). Darüber hinaus ist eine weite Verbreitung von HPAIV über Greif- und Rabenvögel eher unwahrscheinlich, da betroffene Tiere innerhalb kurzer Zeit versterben (Beer et al., 2006; Kwon et al., 2005; Magnino et al., 2000; Manvell et al., 2000; Tanimura et al., 2006). Dies zeigten auch Infektionsversuche an Ger-, Saker- und Buntfalken in Deutschland, den USA und Spanien (Bertran et al., 2012; Hall et al., 2009; Lierz et al., 2007a). Diese Erkenntnisse werden auch durch neuere Untersuchungen mit den HPAIV H5N8 und H5N2, welche während eines Influenza-Ausbruchs in den USA in den Jahren 2014-2015 von einem in Gefangenschaft verstorbenen Gerfalken und einer Spießente gewonnen wurden, untermauert. Während vor allem Wildvögel, zum größten Teil Wassergeflügel, aber auch vier Greifvögel, betroffen waren, gab es kaum Verluste beim Nutzgeflügel. Infektionsversuche bestätigten eine geringe Adaption der isolierten Viren an das Nutzgeflügel (Bertran et al., 2016). Anders könnte die Situation bei Infektionen mit LPAIV aussehen. Bei einem Infektionsversuch mit LPAIV vom Subtyp H7N2 konnte gezeigt werden, dass die infizierten Falken weder klinische Symptome noch histopathologische Veränderungen aufwiesen, aber dennoch Virus ausschieden (Bertran et al., 2012). In der Literatur gibt es jedoch lediglich zwei Berichte über den Nachweis von LPAIV bei Greifvögeln. Dabei handelte es sich um

einen Schwarzmilan in Ägypten und einen Mäusebussard in der Türkei (Albayrak and Ozan, 2010; Aly et al., 2010). Auch das negative Ergebnis der vorliegenden Arbeit unterstreicht, dass LPAIV bei Greif- und Rabenvögeln wohl eher selten vorkommen. Das mit großer Dynamik verlaufende Infektionsgeschehen von HPAIV H5N8 in Deutschland und anderen europäischen Staaten (Risikoeinschätzung | FLI | Stand 13.02.2017 | <https://www.fli.de/de/aktuelles/tierseuchengeschehen/klassische-gefluegelpest>) unterstreicht jedoch die Bedeutsamkeit regelmäßiger Untersuchungen auf AIV auch bei Greifvögeln.

6.4. Newcastle Disease Virus (NDV)

Bereits in den Siebziger Jahren des vergangenen Jahrhunderts wurde in verschiedenen Ländern über den Nachweis von NDV bei Greif- und Rabenvögeln berichtet (Chu et al., 1976; Grimm, 1978; Heidenreich, 1978; Keymer and Dawson, 1971; Okoh, 1979; Sulochana et al., 1981). Während es sich anfangs insbesondere um serologische Nachweise handelte, folgten später Berichte über den Nachweis NDV-spezifischer RNA (Choi et al., 2008; Haddas et al., 2014; Jindal et al., 2010; Korotetskii et al., 2010; Schettler et al., 2003). Diese Berichte zeigten, dass Vertreter aller untersuchten Greif- und Rabenvögel für eine Infektion mit NDV empfänglich waren. Dennoch scheint es Unterschiede hinsichtlich des Verlaufs einer Infektion verschiedener Spezies, auch innerhalb einer Vogelfamilie zu geben, wie bereits Heidenreich (1978) feststellte und die Studien von Choi et al. (2008) und Haddas et al. (2014) belegen. Auch die Symptomatik einer NDV-Infektion kann dabei stark variieren. Während in einigen Fällen von schweren ZNS-Symptomen berichtet wurde (Chu et al., 1976; Ingalls et al., 1951; Keymer and Dawson, 1971; Roy et al., 1998; Wernery et al., 1992) konnten bei anderen infizierten Vögeln keine Symptome festgestellt werden (Haddas et al., 2014; Okoh, 1979; Schettler et al., 2001).

Auch bei der Newcastle Krankheit (ND) handelt es sich um eine anzeigepflichtige Tierseuche. Der Erreger besitzt darüber hinaus zoonotisches Potential und stellt somit nicht nur eine Bedrohung für andere Vogelspezies, sondern auch für den Menschen dar. Vor diesem Hintergrund wurden die Greif- und Rabenvögel auch auf NDV untersucht. Für den Nachweis wurden Rachentupfer aller Vögel mittels einer RT-qPCR, die einen Bereich des Matrixprotein-Gens amplifiziert, auf das Vorkommen NDV-spezifischer RNA hin getestet (Wise et al., 2004).

Bei keinem der untersuchten Greif- und Rabenvögel konnte NDV-spezifische RNA detektiert werden. Dieses Ergebnis ist nicht weiter überraschend. In der Literatur wird diskutiert, dass Greifvögel sich hauptsächlich über betroffene Futtertiere infizieren (Choi et al., 2008; Höfle et al., 2002; Jindal et al., 2010; Sulochana et al., 1981; Winteroll, 1976). Diese Möglichkeit ist zumindest bei den in Gefangenschaft gehaltenen Greifvögeln aufgrund eines niedrigen

Infektionsdruckes ausgehend vom Wirtschaftsgeflügel, z.B. als Futtertiere seit der 1993 in Deutschland bestehenden Impfpflicht für Hühner und Puten gering. Vergleichbare Ergebnisse zeigen auch serologische Studien bei verschiedenen Greifvögeln in Deutschland mit niedrigen Seroprävalenzen zwischen 1,2 % und 5,4 % (Lierz et al., 2002a; Schettler et al., 2001). Dementgegen wurde als Todesursache von knapp einem Fünftel untersuchter Eulen aus der freien Wildbahn eine Infektion mit dem toten Impfstamm „La Sota“ vermutet. Dieser könnte, nach Schettler et al. (2003), durch Mäuse, welche die Hauptnahrungsquelle der Tiere darstellen, übertragen worden sein. Von den anderen 242 per PCR untersuchten Greifvögeln derselben Studie konnte lediglich bei einem Mäusebussard und einem Turmfalke NDV-positive RNA nachgewiesen werden.

6.5. Aviäre Metapneumoviren (AMPV)

AMPV kommen weltweit vor und können zu schweren Atemwegserkrankungen mit erhöhter Mortalität bei Puten (Gulati et al., 2001; Hafez, 1989; Jirjis et al., 2000; Jirjis et al., 2002) sowie dem „Swollen Head Syndrom“ (SHS) bei Hühnern führen (Aung et al., 2008; Georgiades et al., 2001; Hafez and Löhren, 1990; Kwon et al., 2010). Weiterhin konnten die Erreger vor allem bei Wassergeflügel wie Enten, Gänsen, Reiher und Blässhühnern, aber auch bei Sperlingen, Staren, Tauben und Krähen nachgewiesen werden (Bennett et al., 2005; Bennett et al., 2004; Felipe et al., 2011; Shin et al., 2002; Turpin et al., 2008). Aufgrund des weltweiten Vorkommens von AMPV auch bei Wildvögeln und ihrer Bedeutung für das Wirtschaftsgeflügel, wurden alle beprobten Greif- und Rabenvögel in der vorliegenden Arbeit auf das Vorliegen von AMPV hin untersucht. Zu diesem Zweck wurde eine nested RT-PCR, die einen Bereich innerhalb des Glykoproteins-Gens amplifiziert und eine Differenzierung der Subtypen A und B erlaubt, in modifizierter Form nach Haarländer (2005) verwandt. Die in der ersten PCR eingesetzten Primer beruhen dabei auf einer Publikation von Bâyon-Auboyer et al. (1999).

Weder AMPV vom Subtyp A noch vom Subtyp B konnte bei den untersuchten Vögeln nachgewiesen werden. Da es sich weltweit, mit Ausnahme der USA, vorwiegend um AMPV vom Subtyp A oder B handelt (Banet-Noach et al., 2005; Bâyon-Auboyer et al., 2000; Jones, 2010) wurden die Greif- und Rabenvögel in der vorliegenden Arbeit ausschließlich auf diese Subtypen hin untersucht. Die dabei ermittelten negativen Ergebnisse decken sich mit der vorhandenen Literatur, in der sich keinerlei Hinweise hinsichtlich des Vorkommens von AMPV bei Greif- oder Rabenvögeln in Europa ergaben. In den USA, in denen vorwiegend AMPV vom Subtyp C vorkommen, gelang es Turpin et al. (2008) hingegen bei sechs von 51 (12 %) untersuchten Krähen, Antikörper gegen AMPV vom Subtyp C nachzuweisen, was die Möglichkeit des Vorkommens von AMPV bei Rabenvögeln belegt. Demgegenüber gelang Shin et al. (2000) zwar der Nachweis von AMPV-RNA bei Gänsen, Sperlingen und Staren in

den USA, während zwei Eulen, wie in der vorliegenden Arbeit bereits beschrieben, AMPV-negativ waren. Inwieweit andere Subtypen eine Rolle spielen, wie z.B. der in Frankreich bei zwei Puten nachgewiesene Subtyp D (Bäyon-Auboyer et al., 2000) bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten.

6.6. Aviäre Mykoplasmen

Ab den 1980er Jahren, vereinzelt auch schon früher, gab es bereits Berichte über den Nachweis von Mykoplasmen bei Wildvögeln (Poveda et al., 1990a) sowie bei verschiedenen Greifvögeln (Bölske and Morner, 1982; Furr et al., 1977; Panangala et al., 1993; Poveda et al., 1994; Poveda et al., 1990b). Dabei handelte es sich vorwiegend um Fallberichte, in denen die betroffenen Vögel häufig eine respiratorische Symptomatik aufwiesen. Ab der Jahrtausendwende folgten dann weitere umfangreiche Studien zum Nachweis von Mykoplasmen bei Greif- und Rabenvögeln (Erdelyi et al., 1999; Lecis et al., 2010; Lecis et al., 2016; Lierz et al., 2000; Loria et al., 2008; Oaks et al., 2004a; Pennycott et al., 2005; Ruder et al., 2009; Van Wettere et al., 2013; Ziegler et al., 2017). Dabei zeigte sich, dass bei vielen der mykoplasmen-positiven Vögel keine Krankheitssymptome festgestellt werden konnten (Ganapathy et al., 2007; Lierz et al., 2008a; Lierz et al., 2008b; Lierz et al., 2008d; Lierz et al., 2002b; Suarez-Perez et al., 2012; Van Wettere et al., 2013; Wellehan et al., 2001).

Um zu klären, ob Mykoplasmen auch bei den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Greif- und Rabenvögeln eine Rolle als Infektionserreger spielten, wurden die vorliegenden Rachentupfer auf das Vorhandensein mykoplasmen-spezifischer DNA hin untersucht. Zu diesem Zweck wurde eine genus-spezifische PCR verwandt, deren Eignung zum Nachweis greifvogel-spezifischer Mykoplasmenart bereits bei Lierz et al. (2007b; 2008b) beschrieben worden war.

In der vorliegenden Studie konnte bei 162 der beprobten Vögel (58 %) mykoplasmen-spezifische DNA nachgewiesen werden. Damit lag die Nachweisrate unter Verwendung dergleichen Nachweismethode weit niedriger als bei vergleichbaren Studien in Deutschland (Hagen, 2007; Lierz et al., 2008a; Lierz et al., 2008c). Mögliche Ursachen dafür könnten in der Probenherkunft sowie der Probenzusammensetzung liegen. So handelt es sich zum Beispiel in der Arbeit von Hagen (2007) bei fast einem Drittel der untersuchten Greifvögel um Nestlinge, die zu 100 % mykoplasmen-positiv waren. In der vorliegenden Arbeit lag der Anteil der nicht flugfähigen Jungvögel dagegen nur bei knapp 12 % aller beprobten Vögel.

Bis auf die Geier und Fischadler konnten bei Vertretern aller untersuchten Greifvogel-Familien Mykoplasmen nachgewiesen werden. In Übereinstimmung mit Untersuchungen von

Hagen (2007) wurde die höchste Prävalenz bei Vertretern der Familien der Habicht- und der Falkenartigen festgestellt. Der verfügbaren Literatur zufolge konnte aber in dieser Arbeit erstmalig explizit bei neun Seeadlern und 16 Sperbern eine hohe Mykoplasmen-Nachweisrate festgestellt werden. Ähnliches zeigte sich bei der Untersuchung der Eulen. So wurde bei über einem Drittel der beprobten Eulen mykoplasmen-spezifische DNA detektiert. Betroffen waren Steinkäuze, Waldohreulen, Waldkäuze und eine Schleiereule. In der verfügbaren Literatur wurde hingegen nur in einem Fall eine positive Schleiereule beschrieben (Lierz et al., 2008a). Erst kurz vor Beendigung dieser Arbeit veröffentlichten Lecis et al. (2016) eine Studie zum Nachweis von Mykoplasmen bei verschiedenen Greifvögeln in Italien per PCR. Wie in der vorliegenden Arbeit gelang ihnen der Nachweis Mykoplasmen-spezifischer DNA bei 42 % aller beprobten Vögel. Darunter auch bei einer Zwergohreule sowie drei Sperbern. Weiterhin konnte bei knapp der Hälfte der beprobten Rabenvögel mykoplasmen-spezifische DNA nachgewiesen werden. Dies unterstreicht die bereits in anderen Studien dargelegte Bedeutung sowie weite Verbreitung von Mykoplasmen auch bei Rabenvögeln (Ganapathy et al., 2007; Pennycott et al., 2005; Wellehan et al., 2001; Ziegler et al., 2017).

Mykoplasmen-positive Vögel konnten in allen Kategorien detektiert werden. Mit 65 % stammten aber über die Hälfte der positiven Vögel aus der Kategorie 1. Ähnliche Beobachtungen zeigten sich auch in den Arbeiten von Hagen (2007), Lierz et al. (2008d) und Lecis et al. (2016), in denen Fundtiere, welche in etwa der Kategorie 1 entsprechen, deutlich häufiger Mykoplasmen aufwiesen, als Bestandstiere. Hagen (2007) beschreibt als mögliche Ursachen dieser Diskrepanz, dass bei Bestandsvögeln bessere Haltungsbedingungen vorliegen, sie z.B. nicht wie Wildvögel dem Kontakt zu Wildtieren ausgesetzt sind und in vielen Fällen evtl. schon einmal medikamentös behandelt worden sind. Demgegenüber steht z.B. eine Untersuchung von Lierz et al. (2002b), in welcher bei allen untersuchten Falken in einem Bestand in den Vereinigten Arabischen Emiraten Mykoplasmen nachgewiesen werden konnte. Auch in der vorliegenden Studie konnte bei Sakerfalken und Steinkäuzen, die jeweils aus einem Bestand stammten, hohe Nachweisraten festgestellt werden. Erklären lassen sich diese Ergebnisse durch den engen Kontakt der Vögel untereinander, der eine horizontale Übertragung der Erreger begünstigen kann (Gerlach, 1994).

Die statistische Analyse der vorliegenden Ergebnisse zeigt, dass die Faktoren Vogelfamilie und Kategorie signifikant für die Nachweisrate sind. Weitere signifikante Zusammenhänge in Bezug auf das Geschlecht, das Alter, den Zeitpunkt der Probenentnahme oder auch auf den Gesundheitsstatus der mykoplasmen-positiven Vögel ergaben sich nicht. Vergleichende Bewertungen sowie die Interpretation untersuchter Merkmale der eigenen sowie anderer

Studien sind schwierig. Auffällig war, dass ebenso, wie bereits häufig in der Literatur beschrieben (Ganapathy et al., 2007; Lierz et al., 2008a; Lierz et al., 2008b; Lierz et al., 2008d; Lierz et al., 2002b; Suarez-Perez et al., 2012; Wellehan et al., 2001), lediglich 6 % der mykoplasmen-positiven Vögel respiratorische Symptome aufwiesen. Dieses Ergebnis unterstützt die Annahme von Hagen (2007), dass bei Greifvögeln, im vorliegenden Fall auch bei Rabenvögeln, häufig klinisch inapparente Infektionen vorliegen bzw. die Vermutung von Lierz (1999), dass Mykoplasmen eventuell zur natürlichen Atemwegsflora von Greifvögeln gehören.

Zur näheren Typisierung wurden 11 Proben von Vertretern der Habicht- und der Falkenartigen sowie einer Schleiereule exemplarisch sequenziert. Während die Ergebnisse der Schleiereule und eines Seeadlers leider nicht auswertbar waren, konnte in allen anderen Fällen dabei das Vorliegen von Mykoplasmen spezie bestätigt werden. Dabei wurden Homologien zwischen 97 und 100 % zu verschiedenen, bei Greifvögeln nachgewiesenen Mykoplasmen festgestellt, während geflügelpathogenen Mykoplasmen dagegen bei keinem der exemplarisch sequenzierten Greifvogelproben nachgewiesen werden konnte.

6.7. *Chlamydia psittaci*

Chlamydia psittaci, als Auslöser der bis vor wenigen Jahren anzeigepflichtigen Psittakose bei Papageien bzw. der meldepflichtigen Ornithose beim Geflügel, ist hoch infektiös für eine große Anzahl verschiedener Vogelspezies aus über 30 Ordnungen (Brand, 1989; Kaleta and Taday, 2003). In Bezug auf die Empfindlichkeit der unterschiedlichen Wirtsspezies gegenüber Chlamydien gibt es jedoch große Unterschiede (Gerlach, 1994). Chlamydienstämme, die bei Wildvögeln isoliert wurden, für welche sie nicht pathogen waren, können hoch pathogen für andere Vogelspezies und somit auch für Menschen sein (Brand, 1989). Obwohl Chlamydien bereits bei zahlreichen Wildvögeln nachgewiesen wurden, ist es aufgrund limitierter Daten aber schwierig, Ergebnisse von bereits untersuchten Spezies auf andere Spezies zu übertragen (Blomqvist et al., 2012; Kaleta and Taday, 2003).

Als Zoonoseerreger stellt *Chlamydia psittaci* weiterhin ein ernst zu nehmendes Gefahrenpotential für den Menschen dar (Kaleta and Taday, 2003; Smith et al., 2005; Zweifel et al., 2009). Da alle Vögel in der vorliegenden Studie mehr oder weniger intensiven Kontakt zu Menschen hatten und festgestellt werden sollte, ob *Chlamydia psittaci* auch bei den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Vögeln eine Rolle als Krankheitserreger spielen könnte, wurden die Rachentupfer aller beprobten Greif- und Rabenvögel auf das Vorhandensein *Chlamydia psittaci*-spezifischer DNA mittels einer qPCR unter Verwendung von im ompA-Gen lokalisierten Primern untersucht (Hoffmann et al., 2006). Zum Ausschluss

falsch negativer Ergebnisse infolge von PCR-Inhibitoren wurde zusätzlich eine heterologe interne Kontrolle koamplifiziert (de Quadros, 2011).

Bei lediglich fünf (2 %) der 278 untersuchten Greif- und Rabenvögeln konnte *Chlamydia psittaci*-spezifische DNA nachgewiesen werden. Ähnliche Ergebnisse zeigte eine Studie aus jüngerer Zeit welche in Schweden durchgeführt wurde, bei der auch nur in 1,3 % der untersuchten Proben von Greifvögeln Chlamydien mittels PCR detektiert wurden (Blomqvist et al., 2012). Ältere Studien in Deutschland belegen dagegen deutlich höhere Nachweisraten. So konnten bei der Untersuchung von Greifvögeln mittels Antigen-ELISA Nachweisraten zwischen 13 % und 32 % ermittelt werden. Bei der Untersuchung auf Antikörper ergaben sich in denselben Studien sogar Seroprävalenzen zwischen 63 % und 85 % (Gerbermann et al., 1990; Gerbermann and Korbel, 1993). Auch unter Verwendung der PCR konnte bei 74 % von 39 untersuchten Greifvögel aus der freien Wildbahn *Chlamydia psittaci*-spezifische DNA detektiert werden (Schettler et al., 2003), was in Übereinstimmung mit den anderen Studien die weite Verbreitung des Erregers bei Greifvögeln in den untersuchten Regionen Deutschlands belegt. Welche Ursachen der niedrigen Nachweisrate in der vorliegenden Arbeit zugrunde lagen, konnte nicht geklärt werden. Falsch negative Ergebnisse aufgrund von PCR-Inhibitoren wurden durch die Amplifikation der internen Kontrolle sicher ausgeschlossen. Eine mögliche Ursache mag in dem zur Untersuchung herangezogenen Probenmaterial liegen. In Rahmen dieser Arbeit wurden Rachentupfer untersucht, während Schettler et al. (2003) Lungenmaterial verendeter Greifvögel verwendeten. Eventuell hätte die Einbeziehung von Kloakentupfern, wie in vorangegangenen Studien verwendet, zu einer höheren Nachweisrate geführt, Organproben standen nicht zur Verfügung. Weiterhin werden Chlamydien intermittierend ausgeschieden (Gerbermann and Korbel, 1993), was ebenfalls eine mögliche Ursache für negative Ergebnisse in Tupferproben darstellen könnte. Darüber hinaus müssen unterschiedliche Sensitivitäten und Spezifitäten der verschiedenen Testsysteme beachtet werden. So wurde in der Untersuchung von Schettler et al. (2003) eine nested PCR zum Nachweis verwandt, die eventuell einen sensitiveren Nachweis erlaubte, als die in den vorliegenden Untersuchungen eingesetzte qPCR. Weiterhin muss berücksichtigt werden, dass das Probenmaterial von Schettler und Gerbermann und Korbel bereits vor der Jahrtausendwende gewonnen wurde. Ein Zeitraum, zu dem der Infektionsdruck mit Chlamydien noch eine größere Rolle als heute gespielt haben könnte. Dafür sprechen auch die Ergebnisse von Blomqvist et al. (2012), mit einer niedrigen Chlamydien-Prävalenz von 1,3 %, deren Probenmaterial aus den Jahren 2006-2007 stammte.

Aufgrund der niedrigen Probenanzahl ist eine weitere Bewertung der Ergebnisse schwierig. Vergleichbar zu anderen Studien konnte bei Vertretern aus den drei Vogelfamilien der

Habichtartigen, Falkenartigen und der Eulen *Chlamydia psittaci*-spezifische DNA nachgewiesen werden. Dabei handelte es sich um drei Vögel der Kategorie 1 sowie jeweils einen Vogel der Kategorie 2 und 3. Da als Infektionsquelle kleine Nager (Sabisch, 1977) und Tauben (Pennycott et al., 2009) diskutiert werden, weisen gerade Greifvögel, als selektive Jäger in freier Wildbahn, die sich oft von kranker oder angeschlagener Beute ernähren, ein erhöhtes Risiko auf, sich zu infizieren (Gunnarsson et al., 2010). Weiterhin handelte es sich bei vier der fünf Chlamydien-positiven Tiere um juvenile Vögel. Ein Ergebnis, das den Untersuchungen von Cray und Tatum (1998) und Schettler et al. (2001) entspricht, die gezeigt haben, dass es sich häufig um Jungvögel handelte, wenn eine Erkrankung nachgewiesen werden konnte, während adulte Vögel vermutlich immunologisch besser geschützt sind.

Bis auf die Veröffentlichungen um die Jahrtausendwende aus Deutschland sind Berichte über den Nachweis von Chlamydien-Infektionen bei frei lebenden Greifvögeln, insbesondere PCR-basierte Studien (Blomqvist et al., 2012) selten. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit sowie die Ergebnisse aus Schweden unterstützen die Annahme einer niedrigen Chlamydien-Prävalenz bei Greif- und Rabenvögeln in freier Wildbahn, die aber in Abhängigkeit von Spezies, Alter und Sozialverhalten variieren kann. Im Gegensatz zu vorausgegangenen Studien aus Australien und England (Pennycott et al., 2009; Telfer et al., 2005; Williams et al., 1998) sprechen die Ergebnisse von Blomqvist et al. (2012) als auch die eigenen dafür, dass die Gefahr einer Übertragung von Chlamydien von Wildvögeln auf den Menschen zwar relativ gering ist, aber trotzdem immer mit bedacht werden muss.

6.8. *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT)

ORT ist weltweit verbreitet, und es gibt viele Berichte über ORT sowohl als Primär- als auch Sekundärerreger beim Wirtschaftsgeflügel (Hafez and Vandamme, 2011; van Empel and Hafez, 1999). Nachgewiesen wurde ORT bereits bei vielen verschiedenen Vertretern der Ordnung Galliformes und Anseriformes sowie bei Möwen, Straußen und Tauben (Charlton et al., 1993; Hafez and Vandamme, 2011; van Empel and Hafez, 1999; Vandamme et al., 1994). Hinweise auf das Vorkommen von ORT bei Greif- und Rabenvögeln sind hingegen selten in der Literatur zu finden. Lediglich in einem Fallbericht wurde ORT als ätiologisches Agens einer respiratorischen Erkrankung bei jungen Falken in einer Zuchtstation beschrieben (Hafez and Lierz, 2010). Drei von Krähen stammende ORT-Isolate wurden einer weiteren geno- und phänotypischen Charakterisierung unterzogen (Amonsin et al., 1997; Vandamme et al., 1994). Erst kurz vor Beendigung dieser Arbeit veröffentlichten Lecis et al. (2016) den Nachweis von ORT-spezifischer DNA bei verschiedenen Greifvögeln. Umfangreichere Studien zum Vorkommen von ORT bei diesen Vögeln fehlen jedoch gänzlich.

Um zu klären, ob ORT auch bei den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Greif- und Rabenvögeln eine Rolle als Krankheits- bzw. Infektionserreger spielte, wurden die vorliegenden Rachentupfer in einem ersten Schritt auf das Vorhandensein ORT-spezifischer DNA hin untersucht. Zu diesem Zweck wurde eine PCR verwandt, bei welcher die Primer im 16S rRNA-Gen lokalisiert sind (van Empel and van den Bosch, 1998).

Unter Verwendung dieser PCR konnte bei 62 der beprobten Vögel (22 %) ORT-spezifische DNA detektiert werden. Damit gelang es erstmalig eine hohe ORT-Prävalenz bei Greif- und Rabenvögeln in Deutschland nachzuweisen.

Positive Ergebnisse fanden sich, analog zu den Untersuchungen von Lecis et al. (2016), bei allen untersuchten Vogelfamilien. Die höchste Nachweisrate ergab sich mit nahezu 50 % bei Vertretern der Familie der Falkenartigen, deren generelle Empfänglichkeit für ORT bereits durch den Bericht von Hafez und Lierz (2010) gezeigt worden war. Bis auf den Rötelfalke konnte bei jeder der untersuchten Spezies ORT nachgewiesen werden. Deutlich niedriger lag die ORT-Prävalenz bei Vertretern der Familie der Habicht- und der Rabenartigen mit ca. 20 % und von den Eulen war lediglich ein Waldkauz ORT-positiv. Positive Ergebnisse fanden sich aber dennoch bei nahezu allen Spezies der Familie der Habicht- und der Rabenartigen. Aus der Familie der Fischadler und Neuweltgeier war ebenfalls jeweils nur ein Vogel positiv. Allerdings wurden jeweils auch nur zwei Vertreter der entsprechenden Familie untersucht.

ORT-positive Vögel konnten ebenfalls in allen Kategorien detektiert werden, wobei die meisten positiven Vögel der Kategorie 3 und die wenigsten der Kategorie 1 angehörten. Interessanterweise konnte bei neun der insgesamt 17 beprobten Vögel des Falkenhofs Potsdam, darunter alle untersuchten Falken sowie drei weitere Vögel der Familie der Habichtartigen und einem Truthahngerier, ORT nachgewiesen werden, was die Möglichkeit einer Infektion über Futtertiere, wie bei Hafez und Lierz (2010) vermutet, nahelegt. Eine Überprüfung der Futterküken verlief jedoch mit negativem Ergebnis (Ergebnis nicht gezeigt). Es ist aber möglich, dass eine einmal in einen Bestand eingetragene ORT-Infektion lange zirkulieren kann, ohne dass infizierte Vögel Symptome zeigen (Hafez and Lierz, 2010).

Die statistische Analyse der vorliegenden Ergebnisse zeigte, dass lediglich der Faktor Vogelfamilie einen signifikanten Einfluss auf die Nachweisrate hatte. Weitere signifikante Zusammenhänge in Bezug auf die Kategorie, das Geschlecht, das Alter, den Zeitpunkt der Probenentnahme und insbesondere auch auf den Gesundheitsstatus der ORT-positiven Vögel ergaben sich dagegen nicht. So bleibt offen, ob ORT tatsächlich eine Rolle als Krankheitserreger bei Greifvögeln, wie bei Hafez und Lierz (2010) beschrieben, eventuell

auch erst in Kombination mit weiteren Noxen, spielt, oder eventuell zur physiologischen Flora bei diesen Tieren gehört.

Zur weiteren Typisierung der vorkommenden ORT-Stämme wurden exemplarisch 24 Amplifikate von Vertretern aus den Familien der Habichtartigen, der Falkenartigen und der Rabenartigen sowie jeweils ein Amplifikat eines Fischadlers und eines Truthahngießers sequenziert und unter Einbeziehung verschiedener ORT-Sequenzen von Puten und Tauben als auch mit den zur Verfügung stehenden Referenzstämmen vergleichend analysiert. In Übereinstimmung mit vorherigen Untersuchungen von van Empel et al. (1999), Chou et al. (2009) und Tsai und Huang (2006) wurde auch in der vorliegenden Arbeit eine hohe Nukleotid-Homologie von 98-100 % innerhalb des untersuchten 16S rRNA-Gen Fragmentes festgestellt. Interessanterweise konnten trotz dieser hohen Homologie in der phylogenetischen Analyse zwei eindeutige Hauptcluster unterschieden werden. Während der Großteil der einbezogenen Sequenzen der Greif- und Rabenvögel neben Sequenzen der Referenzstämmen sowie der Puten sich in Cluster I gruppierte, enthielt Cluster II neben zwei ORT-Sequenzen von Seeadlern nahezu alle ORT-Sequenzen von Tauben. Ein vergleichbares Ergebnis hinsichtlich der Gruppierung der Tauben wurde bereits von Chou et al. (2009) sowie Tsai und Huang (2006) beschrieben. Darüber hinaus waren innerhalb des Clusters I mit einer Ausnahme alle Sequenzen der Falken, unabhängig von Herkunft und Beprobungszeitraum, innerhalb einer eigenständigen Untergruppe zu finden. Für die weiteren Sequenzen der untersuchten Vögel ergaben sich keine eigenständigen Gruppierungen. Welche Bedeutung diese Ergebnisse, z.B. hinsichtlich der Evolution von ORT oder eines möglichen Eintrages aus der Wildvögelpopulation in das Wirtschaftsgeflügel haben, bleibt bislang jedoch ungeklärt. Fortführende Untersuchungen unter Verwendung weiterer Methoden wie z.B. verschiedener Fingerprint-Techniken oder der bei ORT bereits genutzten Multi Locus Sequenz Typisierung (MLST) (Thieme et al., 2016) könnten hier näheren Aufschluss geben. Allerdings ist für die Durchführung dieser Techniken auch jeweils eine vorherige Erregerisolierung unumgänglich.

Neben der Untersuchung mittels PCR wurden die Proben der 62 ORT-positiven Vögel auch kulturell auf das Vorkommen von ORT hin untersucht. Insgesamt konnten lediglich neun Isolate, insbesondere von Falken aus zwei unterschiedlichen Herkünften, unter Gentamicin-Zusatz gewonnen werden, was die Aussagekraft der weiterführenden Analyse dieser Isolate einschränkt. Die biochemische Identifizierung erfolgte mittels des API® 20 NE Testverfahren. Die dabei nachgewiesenen zwei Reaktionsprofile deckten sich mit den in größeren Studien nachgewiesenen Profilen (Chou et al., 2009; Hafez and Vandamme, 2011).

Bei der sich anschließenden Serotypisierung der neun Isolate im AGP ergab sich mit dem Nachweis von fünf verschiedenen Serotypen bereits eine breite Heterogenität. Dies steht im Gegensatz zu Ergebnissen bei Hühnern, Puten und auch Tauben bei denen der Serotyp A als deutlich dominierender Serotyp nachgewiesen werden konnte (Numee et al., 2012; Tsai and Huang, 2006; van Empel et al., 1997).

In einem weiteren Schritt wurden die gewonnenen Isolate auch in einer Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)-Analyse im Vergleich zu den jeweilig nachgewiesenen Serotypen unterzogen. Diese Methode wurde bereits in verschiedenen Arbeiten erfolgreich zur ORT-Typisierung bzw. Charakterisierung eingesetzt (Chou et al., 2009; Leroy-Setrin et al., 1998). Bei Verwendung des Primers M13 (Hafez and Beyer, 1997; Waldow, 2009) ergaben sich zwar keine übereinstimmenden Bandenmuster im Vergleich zu den nachgewiesenen Serotypen, Ähnlichkeiten zeigten sich jedoch innerhalb der Isolate. Insgesamt war jedoch die Anzahl untersuchter Isolate zu gering, um Schlussfolgerungen aus diesen Ergebnissen ziehen zu können.

6.9. Vergleichende Analyse

In der vorliegenden Arbeit konnte weder Adenovirus-spezifische DNA noch Influenza A Virus-, NDV-, AMPV-spezifische RNA bei den untersuchten Greif- und Rabenvögeln nachgewiesen werden. Bei einzelnen Vögeln konnte aber sowohl Herpesvirus-DNA als auch *Chlamydia psittaci*-DNA nachgewiesen werden. Vergleichende Ergebnisse zeigten, dass bei vier Vögeln ausschließlich Herpesvirus-DNA detektiert werden konnte, während zwei weitere Vögel eine Doppelinfektion mit Mykoplasmen und ein Vogel eine Dreifachinfektion mit Mykoplasmen und ORT aufwies. In der Literatur liegen einige Berichte über den Nachweis von Herpesvirusinfektionen bei Greif- und Rabenvögeln vor bei denen es sich ebenfalls vorwiegend um Einzeltiere handelte (Lierz et al., 2002a; Rautenschlein and Legler, 2006; Schettler et al., 2001; Zsivanovits et al., 2004). Ähnliche Ergebnisse konnten beim Nachweis von *Chlamydia psittaci* festgestellt werden.

Insgesamt konnte bei 66 % der beprobten Vögel ein oder mehrere der untersuchten Erreger, insbesondere aber Mykoplasmen und ORT, nachgewiesen werden.

Analog zu früheren Berichten in der Literatur (Hagen, 2007; Lecis et al., 2016; Lierz et al., 2008a) konnte ein hohes Mykoplasmen-Vorkommen von 58 % aller untersuchten Vögel nachgewiesen werden. Ausgehend von den Mykoplasmen-positiven Vögeln konnten bei über 60 % ausschließlich Mykoplasmen detektiert werden, während 25 % Doppelinfektionen und 2 % sogar Dreifachinfektionen mit den untersuchten Erregern aufwies. Dieses Ergebnis unterstützt die vorangegangene Vermutung von Hagen und Lierz (Hagen, 2007;

Lierz et al., 2000), dass Mykoplasmen zur natürlichen Bakterienfauna von Greifvögeln gehören könnten.

Bis zum Ende des letzten Jahres (Lecis et al., 2016) waren die Ergebnisse der Untersuchung der Greif- und Rabenvögel auf ORT in der Literatur noch nicht beschrieben. Bei 22 % aller untersuchten Vögel konnte ORT-spezifische DNA nachgewiesen werden. Das bedeutet, dass knapp bei einem Drittel, 33 % aller Vögel bei denen einer der untersuchten Erreger festgestellt werden konnte, mit ORT infiziert war. Im Gegensatz zu den mit Mykoplasmen infizierten Vögeln konnte in diesem Fall nur bei einem kleinen Prozentsatz, 8 %, ausschließlich ORT nachgewiesen werden. Die meisten mit ORT infizierten Vögel wiesen Doppelinfektionen vor allem mit Mykoplasmen auf. Das Ergebnis unterstützt die Annahme von Hafez und Lierz (2010), dass für den Ausbruch von ORT oft ein Trigger, zum Beispiel eine Vorinfektion mit anderen Erregern, notwendig ist. In der statistischen Analyse konnte zusätzlich eine signifikante Abhängigkeit zwischen ORT-infizierten und Mykoplasmen-infizierten Vögel festgestellt werden. Kurz vor Beendigung dieser Arbeit veröffentlichten Lecis et al. (2016) eine Untersuchung, in welcher sie zu ähnlichen Ergebnissen bei der Beprobung einer kleinen Anzahl von Greifvögeln in Italien kamen.

7. Zusammenfassung

Molekularbiologische Untersuchungen zum Vorkommen verschiedener viraler und bakterieller Erreger bei Greif- und Rabenvögeln

In der vorliegenden Studie wurden Proben (Rachen- und Kloakentupfer) von 278 verschiedenen Greif- und Rabenvögeln, welche vorwiegend aus Deutschland stammten, auf das Vorkommen acht verschiedener viraler und bakterieller Infektionserreger hin untersucht. Bei den Erregern handelte es sich um aviäre Adenoviren, aviäre Herpesviren, aviäre Influenzaviren (AIV), *Newcastle Disease Virus* (NDV), aviäre Metapneumoviren (AMPV), aviäre Mykoplasmen, *Chlamydia psittaci* und *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT). Die Vögel gehörten zu sieben verschiedenen Vogelfamilien unterschiedlicher Herkunft und wurden im Jahr 2010/2011 beprobt.

Die erzielten Ergebnisse zeigten, dass von den untersuchten Viren, lediglich bei einzelnen Vögeln Herpesvirus-DNA detektiert werden konnte, während weder Adenovirus-spezifische DNA noch Influenza A Virus-, NDV-, AMPV-spezifische RNA bei den untersuchten Greif- und Rabenvögeln nachgewiesen werden konnte.

Anders stellt sich das Ergebnis bei der Untersuchung auf die bakteriellen Infektionserreger dar. Während *Chlamydia psittaci*, ähnlich wie die Herpesviren, nur bei wenigen Vögeln nachgewiesen werden konnte, wiesen die meisten positiven Vögel eine Infektion mit Mykoplasmen und ORT auf.

Wie erwartet, wurde ein hohes Mykoplasmen-Vorkommen von über 50 % aller untersuchten Greif- und Rabenvögel festgestellt. Analog zu vorausgegangenen Studien konnte auch in dieser Arbeit kein Zusammenhang zwischen Mykoplasmen-Infektion und Gesundheitszustand eines Vogels festgestellt werden.

Neue Erkenntnisse konnten in dieser Arbeit über das Vorkommen von ORT bei Greif- und Rabenvögeln erzielt werden. ORT-DNA konnte bei 22 % der untersuchten Vögel detektiert werden. Auch in diesem Fall ließ sich kein Zusammenhang zwischen respiratorischer Symptomatik und ORT-Infektion feststellen. Weiterhin sprechen die Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchung dafür, dass es sich bei den nachgewiesenen ORT-Isolaten der Greif- und Rabenvögel um andere als die bei Hühnern und Puten nachgewiesenen Serotypen handelte. Weitere Untersuchungen zur Bedeutung der verschiedenen Serotypen sind erforderlich.

8. Summary

Molecularbiological investigations on the occurrence of different viral and bacterial agents by raptors and corvid birds

In the present investigation samples (pharyngeal and cloacal swabs) were collected from 278 raptors and corvid birds raised mainly in Germany. All the samples were tested for the presence of eight different viral and bacterial pathogens, namely avian adenovirus, avian herpes viruses, avian influenza viruses (AIV), *Newcastle disease virus* (NDV), aviary metapneumoviruses (AMPV), Avian mykoplasma, *Chlamydia psittaci* and *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT). The samples were collected in 2010/2011 from birds belonged to seven different families of different origin.

The obtained results showed, that from the examined viruses only herpesvirus-DNA could be detected in some birds. Neither adenovirus-DNA nor Influenza A virus-, NDV- or AMPV-specific RNA could be detected.

Quite different results were obtained by the investigations on the bacterial pathogens. While *Chlamydia psittaci*-DNA like the herpesvirus-DNA, only with few birds could be detected, showed most positive birds an infection with mycoplasma and ORT.

As expected a high mycoplasma prevalence of over 50 % of examined birds could be detected. As determined by previous studies no correlation could be determined between mycoplasma infection and health state of the bird.

However, new findings were obtained in relation to the infection with ORT. In 22 % of all examined birds, ORT-specific DNA could be detected. Also in this case no correlation between respiratory symptomatology and ORT-infection could be determined. Furthermore the results of the bacteriological investigation showed that the ORT isolates obtained from investigated birds belongs to different serotypes than those detected in chickens and turkeys. Further studies on the importance of different serotypes are required.

9. Literaturverzeichnis

- Aini, I., Shih, L.M., Castro, A.E., Zee, Y.C., 1993. Comparison of herpesvirus isolates from falcons, pigeons and psittacines by restriction endonuclease analysis. *J Wildl Dis* 29, 196-202.
- Albayrak, H., Ozan, E., 2010. Molecular detection of avian influenza virus but not West Nile virus in wild birds in northern Turkey. *Zoonoses Public Health* 57, e71-75.
- Aldous, E.W., Mynn, J.K., Banks, J., Alexander, D.J., 2003. A molecular epidemiological study of avian paramyxovirus type 1 (Newcastle disease virus) isolates by phylogenetic analysis of a partial nucleotide sequence of the fusion protein gene. *Avian Pathol* 32, 239-256.
- Alexander, D.J., 2000. A review of avian influenza in different bird species. *Vet Microbiol* 74, 3-13.
- Alexander, D.J., Manvell, R.J., Lowings, J.P., Frost, K.M., Collins, M.S., Russell, P.H., Smith, J.E., 1997. Antigenic diversity and similarities detected in avian paramyxovirus type 1 (Newcastle disease virus) isolates using monoclonal antibodies. *Avian Pathology* 26, 399-418.
- Alexander, D.J., Russell, P.H., Collins, M.S., 1984. Paramyxovirus Type-1 Infections of Racing Pigeons .1. Characterization of Isolated Viruses. *Veterinary Record* 114, 444-446.
- Aly, M.M., Arafa, A., Kilany, W.H., Sleim, A.A., Hassan, M.K., 2010. Isolation of a low pathogenic avian influenza virus (H7N7) from a black kite (*Milvus migrans*) in Egypt in 2005. *Avian Dis* 54, 457-460.
- Amonsin, A., Wellehan, J.F., Li, L.L., Vandamme, P., Lindeman, C., Edman, M., Robinson, R.A., Kapur, V., 1997. Molecular epidemiology of *Ornithobacterium rhinotracheale*. *J Clin Microbiol* 35, 2894-2898.
- Andersen, A.A., 1991a. Comparison of avian *Chlamydia psittaci* isolates by restriction endonuclease analysis and serovar-specific monoclonal antibodies. *J Clin Microbiol* 29, 244-249.
- Andersen, A.A., 1991b. Serotyping of *Chlamydia psittaci* isolates using serovar-specific monoclonal antibodies with the microimmunofluorescence test. *J Clin Microbiol* 29, 707-711.
- Andersen, A.A., Tappe, J.P., 1989. Genetic, Immunological, and Pathologic Characterization of Avian Chlamydial Strains. *J Am Vet Med Assoc* 195, 1512-1516.
- Andersen, A.A., Vanrompay, D., 2000. Avian chlamydiosis. *Rev Sci Tech* 19, 396-404.
- Arenas, A., Carranza, J., Perea, A., Miranda, A., Maldonado, A., Hermoso, M., 1990. Type-a Influenza-Viruses in Birds in Southern Spain - Serological Survey by Enzyme-Linked-Immunosorbent-Assay and Hemagglutination Inhibition Tests. *Avian Pathology* 19, 539-546.
- Aung, Y.H., Liman, M., Neumann, U., Rautenschlein, S., 2008. Reproducibility of swollen sinuses in broilers by experimental infection with avian metapneumovirus subtypes A and B of turkey origin and their comparative pathogenesis. *Avian Pathol* 37, 65-74.
- Banet-Noach, C., Simanov, L., Perk, S., 2005. Characterization of Israeli avian metapneumovirus strains in turkeys and chickens. *Avian Pathol* 34, 220-226.
- Banks, J., Speidel, E.C., McCauley, J.W., Alexander, D.J., 2000. Phylogenetic analysis of H7 haemagglutinin subtype influenza A viruses. *Arch Virol* 145, 1047-1058.
- Bano, S., Naeem, K., Malik, S.A., 2003. Evaluation of pathogenic potential of avian influenza virus serotype H9N2 in chickens. *Avian Dis* 47, 817-822.
- Bäyon-Auboyer, M.H., Arnauld, C., Toquin, D., Eterradossi, N., 2000. Nucleotide sequences of the F, L and G protein genes of two non-A/non-B avian pneumoviruses (APV) reveal a novel APV subgroup. *J Gen Virol* 81, 2723-2733.
- Bäyon-Auboyer, M.H., Jestin, V., Toquin, D., Cherbonnel, M., Eterradossi, N., 1999. Comparison of F-, G- and N-based RT-PCR protocols with conventional virological procedures for the detection and typing of turkey rhinotracheitis virus. *Arch Virol* 144, 1091-1109.
- Beer, M., Conraths, F.J., Globig, A., Harder, T., Hoffmann, B., Mettenleiter, T.C., Starick, E., Staubach, C., Unger, F., Werner, O., Werner, F., 2006. Untersuchungen des Friedrich-Loeffler-Instituts zu Ausbrüchen hochpathogener aviärer Influenza bei Wildvögeln, Säugetieren und einem Hausgeflügelbestand in Deutschland 2006. *Jahresbericht des Friedrich-Loeffler-Instituts 2006*, 1-248.

- Bencina, D., Dorrer, D., Tadina, T., 1987. Mycoplasma species isolated from six avian species. *Avian Pathol* 16, 653-664.
- Bencina, D., Tadina, T., Dorrer, D., 1988a. Natural infection of ducks with *Mycoplasma synoviae* and *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma* egg transmission. *Avian Pathol* 17, 441-449.
- Bencina, D., Tadina, T., Dorrer, D., 1988b. Natural Infection of Geese with *Mycoplasma-Gallisepticum* and *Mycoplasma-Synoviae* and Egg Transmission of the Mycoplasmas. *Avian Pathology* 17, 925-928.
- Bennett, R.S., LaRue, R., Shaw, D., Yu, Q., Nagaraja, K.V., Halvorson, D.A., Njenga, M.K., 2005. A wild goose metapneumovirus containing a large attachment glycoprotein is avirulent but immunoprotective in domestic turkeys. *J Virol* 79, 14834-14842.
- Bennett, R.S., Nezworski, J., Velayudhan, B.T., Nagaraja, K.V., Zeman, D.H., Dyer, N., Graham, T., Lauer, D.C., Njenga, M.K., Halvorson, D.A., 2004. Evidence of avian pneumovirus spread beyond Minnesota among wild and domestic birds in central North America. *Avian Dis* 48, 902-908.
- Bertran, K., Busquets, N., Abad, F.X., Garcia de la Fuente, J., Solanes, D., Cordon, I., Costa, T., Dolz, R., Majo, N., 2012. Highly (H5N1) and low (H7N2) pathogenic avian influenza virus infection in falcons via nasopharyngeal route and ingestion of experimentally infected prey. *PLoS One* 7, e32107.
- Bertran, K., Swayne, D.E., Pantin-Jackwood, M.J., Kapczynski, D.R., Spackman, E., Suarez, D.L., 2016. Lack of chicken adaptation of newly emergent Eurasian H5N8 and reassortant H5N2 high pathogenicity avian influenza viruses in the U.S. is consistent with restricted poultry outbreaks in the Pacific flyway during 2014-2015. *Virology* 494, 190-197.
- Blomqvist, M., Christerson, L., Waldenstrom, J., Lindberg, P., Helander, B., Gunnarsson, G., Herrmann, B., Olsen, B., 2012. *Chlamydia psittaci* in birds of prey, Sweden. *Infect Ecol Epidemiol* 2.
- Bölske, G., Morner, T., 1982. Isolation of a *Mycoplasma* sp. from three buzzards (*Buteo* spp.). *Avian Dis* 26, 406-411.
- Bozeman, L.H., Kleven, S.H., Davis, R.B., 1984. *Mycoplasma* challenge studies in budgerigars (*Melopsittacus undulatus*) and chickens. *Avian Dis* 28, 426-434.
- Bradbury, J.M., Ideris, A., Oo, T.T., 1988. *Mycoplasma iowae* infection in young turkeys. *Avian Pathol* 17, 149-171.
- Brade, H., Brade, L., Nano, F.E., 1987. Chemical and serological investigations on the genus-specific lipopolysaccharide epitope of *Chlamydia*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 84, 2508-2512.
- Bragstad, K., Jorgensen, P.H., Handberg, K., Hammer, A.S., Kabell, S., Fomsgaard, A., 2007. First introduction of highly pathogenic H5N1 avian influenza A viruses in wild and domestic birds in Denmark, Northern Europe. *Virology* 4, 4.
- Brand, C.J., 1989. Chlamydial Infections in Free-Living Birds. *J Am Vet Med Assoc* 195, 1531-1535.
- Brash, M.L., Swinton, J.N., Weisz, A., Ojkic, D., 2009. Isolation and identification of duck adenovirus 1 in ducklings with proliferative tracheitis in Ontario. *Avian Dis* 53, 317-320.
- Brown, J.D., Stallknecht, D.E., 2008. Wild bird surveillance for the avian influenza virus. *Methods Mol Biol* 436, 85-97.
- Brown, J.D., Stallknecht, D.E., Beck, J.R., Suarez, D.L., Swayne, D.E., 2006. Susceptibility of North American ducks and gulls to H5N1 highly pathogenic avian influenza viruses. *Emerg Infect Dis* 12, 1663-1670.
- Bryant, W.M., Montali, R.J., 1987. An outbreak of a fatal inclusion body hepatitis in zoo psittacines. *Proceedings International Conference on Avian Medicine* 1, 473.
- Burtscher, H., Sibalín, M., 1975. Herpesvirus strigis: host spectrum and distribution in infected owls. *J Wildl Dis* 11, 164-169.
- Buys, S.B., Dupreez, J.H., Els, H.J., 1989. The Isolation and Attenuation of a Virus Causing Rhinotracheitis in Turkeys in South-Africa. *Onderstepoort J Vet* 56, 87-98.
- Caldwell, H.D., Judd, R.C., 1982. Structural-Analysis of Chlamydial Major Outer-Membrane Proteins. *Infect Immun* 38, 960-968.
- Campitelli, L., Di Martino, A., Spagnolo, D., Smith, G.J., Di Trani, L., Facchini, M., De Marco, M.A., Foni, E., Chiapponi, C., Martin, A.M., Chen, H., Guan, Y., Delogu, M., Donatelli, I., 2008. Molecular analysis of avian H7 influenza viruses circulating in Eurasia in 1999-2005: detection of multiple reassortant virus genotypes. *J Gen Virol* 89, 48-59.

- Capua, I., Alexander, D.J., 2004a. Avian influenza: recent developments. *Avian Pathology* 33, 393-404.
- Capua, I., Alexander, D.J., 2004b. Human health implications of avian influenza viruses and paramyxoviruses. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 23, 1-6.
- Capua, I., Alexander, D.J., 2006. The challenge of avian influenza to the veterinary community. *Avian Pathol* 35, 189-205.
- Cardoso, M., Hyatt, A., Selleck, P., Lowther, S., Prakash, V., Pain, D., Cunningham, A.A., Boyle, D., 2005. Phylogenetic analysis of the DNA polymerase gene of a novel alphaherpesvirus isolated from an Indian Gyps vulture. *Virus Genes* 30, 371-381.
- Catelli, E., De Marco, M.A., Delogu, M., Terregino, C., Guberti, V., 2001. Serological evidence of avian pneumovirus infection in reared and free-living pheasants. *Vet Rec* 149, 56-58.
- Cattoli, G., Milani, A., Temperton, N., Zecchin, B., Buratin, A., Molesti, E., Aly, M.M., Arafa, A., Capua, I., 2011. Antigenic drift in H5N1 avian influenza virus in poultry is driven by mutations in major antigenic sites of the hemagglutinin molecule analogous to those for human influenza virus. *J Virol* 85, 8718-8724.
- Chacon, J.L., Mizuma, M., Vejarano, M.P., Toquin, D., Eterradossi, N., Patnayak, D.P., Goyal, S.M., Ferreira, A.J., 2011. Avian metapneumovirus subtypes circulating in Brazilian vaccinated and nonvaccinated chicken and turkey farms. *Avian Dis* 55, 82-89.
- Chahota, R., Katoch, R.C., Batta, M.K., 1997. Prevalence of *Chlamydia psittaci* among feral birds in Himachal Pradesh, India. *J Appl Anim Res* 12, 89-94.
- Charlton, B.R., Channing-Santiago, S.E., Bickford, A.A., Cardona, C.J., Chin, R.P., Cooper, G.L., Droual, R., Jeffrey, J.S., Meteyer, C.U., Shivaprasad, H.L., et al., 1993. Preliminary characterization of a pleomorphic gram-negative rod associated with avian respiratory disease. *J Vet Diagn Invest* 5, 47-51.
- Chen, W., Calvo, P.A., Malide, D., Gibbs, J., Schubert, U., Bacik, I., Basta, S., O'Neill, R., Schickli, J., Palese, P., Henklein, P., Bennink, J.R., Yewdell, J.W., 2001. A novel influenza A virus mitochondrial protein that induces cell death. *Nat Med* 7, 1306-1312.
- Chiba, N., Arikawa, J., Takashima, I., Hashimoto, N., 1984. Isolation and serological survey of chlamydiosis in feral pigeons and crows in Hokkaido. *Nihon Juigaku Zasshi* 46, 243-245.
- Choi, K.S., Lee, E.K., Jeon, W.J., Nah, J.J., Kim, Y.J., Lee, M.Y., Lee, H., Kwon, J.H., 2008. Isolation of a recent Korean epizootic strain of Newcastle disease virus from Eurasian Scops Owls affected with severe diarrhea. *J Wildl Dis* 44, 193-198.
- Chou, C.H., Lin, S.Y., Chen, C.L., Tsai, H.J., 2009. Use of random amplified polymorphic DNA analysis and single-enzyme amplified fragment length polymorphism in molecular typing of *Ornithobacterium rhinotracheale* strains. *Avian Dis* 53, 108-114.
- Chu, H.P., Trow, E.W., Greenwood, A.G., Jennings, A.R., Keymer, I.F., 1976. Isolation of Newcastle disease virus from birds of prey. *Avian Pathol* 5, 227-233.
- Cilloni, F., Toffan, A., Giannecchini, S., Clausi, V., Azzi, A., Capua, I., Terregino, C., 2010. Increased pathogenicity and shedding in chickens of a wild bird-origin low pathogenicity avian influenza virus of the H7N3 subtype following multiple in vivo passages in quail and turkey. *Avian Dis* 54, 555-557.
- Cook, J.K., 2000. Avian pneumovirus infections of turkeys and chickens. *Vet J* 160, 118-125.
- Cook, J.K.A., 1972. Avian Adenovirus Alone or Followed by Infectious Bronchitis Virus in Laying Hens. *J Comp Pathol* 82, 119-8.
- Couacy-Hymann, E., Danho, T., Keita, D., Bodjo, S.C., Kouakou, C., Koffi, Y.M., Beudje, F., Tripodi, A., de Benedictis, P., Cattoli, G., 2009. The first specific detection of a highly pathogenic avian influenza virus (H5N1) in Ivory Coast. *Zoonoses Public Hlth* 56, 10-15.
- Cox, N.J., Subbarao, K., 2000. Global epidemiology of influenza: Past and present. *Annual Review of Medicine* 51, 407-421.
- Cray, C., Tatum, L.M., 1998. Applications of protein electrophoresis in avian diagnostics. *J Avian Med Surg* 12, 4-10.
- Davison, A.J., Benko, M., Harrach, B., 2003. Genetic content and evolution of adenoviruses. *J Gen Virol* 84, 2895-2908.

- de Quadros, V.L., 2011. Das Infektiöse Bronchitis Virus (IBV): Molekularbiologische Untersuchungen zur Diagnostik und zum Vorkommen sowie zur Pathogenität des Genotyps IBV QX in spezifisch pathogenfreien (SPF) Broilern. Inaugural-Dissertation, Freie Universität Berlin 3518.
- Dean, J., Latimer, K.S., Oaks, J.L., Schrenzel, M., Redig, P.T., Wunschmann, A., 2006. Falcon adenovirus infection in breeding Taita falcons (*Falco fasciinucha*). *J Vet Diagn Invest* 18, 282-286.
- Deem, S.L., Rivera-Parra, J.L., Parker, P.G., 2012. Health evaluation of Galapagos Hawks (*Buteo galapagoensis*) on Santiago Island, Galapagos. *J Wildl Dis* 48, 39-46.
- Delogu, M., De Marco, M.A., Di Trani, L., Raffini, E., Cotti, C., Puzelli, S., Ostanello, F., Webster, R.G., Cassone, A., Donatelli, I., 2010. Can preening contribute to influenza A virus infection in wild waterbirds? *PLoS One* 5, e11315.
- Dhondt, A.A., Tessaglia, D.L., Slothower, R.L., 1998. Epidemic mycoplasmal conjunctivitis in house finches from eastern North America. *J Wildl Dis* 34, 265-280.
- Docherty, D.E., Romaine, R.I., Knight, R.L., 1983. Isolation of a herpesvirus from a bald eagle nestling. *Avian Dis* 27, 1162-1165.
- Dormitorio, T.V., Giambrone, J.J., Guo, K., Hepp, G.R., 2009. Detection and characterization of avian influenza and other avian paramyxoviruses from wild waterfowl in parts of the southeastern United States. *Poultry Sci* 88, 851-855.
- Douglas, K.O., Lavoie, M.C., Kim, L.M., Afonso, C.L., Suarez, D.L., 2007. Isolation and genetic characterization of avian influenza viruses and a Newcastle disease virus from wild birds in Barbados: 2003-2004. *Avian Dis* 51, 781-787.
- Ducatez, M.F., Olinger, C.M., Owoade, A.A., Tarnagda, Z., Tahita, M.C., Sow, A., De Landtsheer, S., Ammerlaan, W., Ouedraogo, J.B., Osterhaus, A.D.M.E., Fouchier, R.A.M., Muller, C.P., 2007a. Molecular and antigenic evolution and geographical spread of H5N1 highly pathogenic avian influenza viruses in western Africa. *Journal of General Virology* 88, 2297-2306.
- Ducatez, M.F., Tarnagda, Z., Tahita, M.C., Sow, A., de Landtsheer, S., Londt, B.Z., Brown, I.H., Osterhaus, D.M., Fouchier, R.A., Ouedraogo, J.B., Muller, C.P., 2007b. Genetic characterization of HPAI (H5N1) viruses from poultry and wild vultures, Burkina Faso. *Emerg Infect Dis* 13, 611-613.
- Ehlers, B., Borchers, K., Grund, C., Frolich, K., Ludwig, H., Buhk, H.J., 1999. Detection of new DNA polymerase genes of known and potentially novel herpesviruses by PCR with degenerate and deoxyinosine-substituted primers. *Virus Genes* 18, 211-220.
- Ellis, T.M., Dyrting, K.C., Wong, C.W., Chadwick, B., Chan, C., Chiang, M., Li, C., Li, P., Smith, G.J., Guan, Y., Malik Peiris, J.S., 2009. Analysis of H5N1 avian influenza infections from wild bird surveillance in Hong Kong from January 2006 to October 2007. *Avian Pathol* 38, 107-119.
- Erbeck, D.H., McMurray, B.L., 1998. Isolation of Georgia variant (Georgia isolate 1992) infectious bronchitis virus but not *Ornithobacterium rhinotracheale* from a Kentucky broiler complex. *Avian Dis* 42, 613-617.
- Erdelyi, K., Tenk, M., Dan, A., 1999. Mycoplasmosis associated perosis type skeletal deformity in a saker falcon nestling in Hungary. *J Wildl Dis* 35, 586-590.
- Everett, K.D., Bush, R.M., Andersen, A.A., 1999a. Emended description of the order Chlamydiales, proposal of Parachlamydiaceae fam. nov. and Simkaniaceae fam. nov., each containing one monotypic genus, revised taxonomy of the family Chlamydiaceae, including a new genus and five new species, and standards for the identification of organisms. *Int J Syst Bacteriol* 49 Pt 2, 415-440.
- Everett, K.D., Hornung, L.J., Andersen, A.A., 1999b. Rapid detection of the Chlamydiaceae and other families in the order Chlamydiales: three PCR tests. *J Clin Microbiol* 37, 575-580.
- Fanke, J., Wibbelt, G., Krone, O., 2011. Mortality factors and diseases in free-ranging Eurasian cranes (*Grus grus*) in Germany. *J Wildl Dis* 47, 627-637.
- Felippe, P.A., Silva, L.H., Santos, M.B., Sakata, S.T., Arns, C.W., 2011. Detection of and phylogenetic studies with avian metapneumovirus recovered from feral pigeons and wild birds in Brazil. *Avian Pathol* 40, 445-452.
- Ferran, C., Stroka, D.M., Badrichani, A.Z., Cooper, J.T., Bach, F.H., 1997. Adenovirus-mediated gene transfer of A20 renders endothelial cells resistant to activation: a means of evaluating the role of endothelial cell activation in xenograft rejection. *Transplant P* 29, 879-880.

- Forbes, N.A., Simpson, G.N., 1997. A review of viruses affecting raptors. *Vet Rec* 141, 123-126.
- Forbes, N.A., Simpson, G.N., Higgins, R.J., Gough, R.E., 1997. Adenovirus infection in Mauritius kestrels (*Falco punctatus*). *J Avian Med Surg* 11, 31-33.
- Forsyth, M.H., Tully, J.G., Gorton, T.S., Hinckley, L., Frasca, S., Jr., van Kruiningen, H.J., Geary, S.J., 1996. *Mycoplasma sturni* sp. nov., from the conjunctiva of a European starling (*Sturnus vulgaris*). *Int J Syst Bacteriol* 46, 716-719.
- Fouchier, R.A., Munster, V., Wallensten, A., Bestebroer, T.M., Herfst, S., Smith, D., Rimmelzwaan, G.F., Olsen, B., Osterhaus, A.D., 2005. Characterization of a novel influenza A virus hemagglutinin subtype (H16) obtained from black-headed gulls. *J Virol* 79, 2814-2822.
- Fowler, M.E., Schulz, T., Ardans, A., Reynolds, B., Behymer, D., 1990. Chlamydiosis in captive raptors. *Avian Dis* 34, 657-662.
- Frasca, S., Jr., Hinckley, L., Forsyth, M.H., Gorton, T.S., Geary, S.J., Van Kruiningen, H.J., 1997. Mycoplasmal conjunctivitis in a European starling. *J Wildl Dis* 33, 336-339.
- Fröhlich, K., Prusas, C., Schettler, E., Hafez, H.M., 2002. Antibodies to adenoviruses in free-living common buzzards from Germany. *J Wildl Dis* 38, 633-636.
- Furr, P.M., Cooper, J.E., Taylor-Robinson, D., 1977. Isolation of mycoplasmas from three falcons (*Falco* spp). *Vet Rec* 100, 72-73.
- Gailbreath, K.L., Oaks, J.L., 2008. Herpesviral inclusion body disease in owls and falcons is caused by the pigeon herpesvirus (columbid herpesvirus 1). *J Wildl Dis* 44, 427-433.
- Ganapathy, K., Saleha, A.A., Jaganathan, M., Tan, C.G., Chong, C.T., Tang, S.C., Ideris, A., Dare, C.M., Bradbury, J.M., 2007. Survey of campylobacter, salmonella and mycoplasmas in house crows (*Corvus splendens*) in Malaysia. *Vet Rec* 160, 622-624.
- Georgiades, G., Iordanidis, P., Koumbati, M., 2001. Cases of swollen head syndrome in broiler chickens in Greece. *Avian Dis* 45, 745-750.
- Gerbermann, H., Jakoby, J.R., Kosters, J., 1990. [Chlamydia isolation from a large aviary for birds of prey]. *Zentralbl Veterinarmed B* 37, 739-748.
- Gerbermann, H., Korbelt, R., 1993. [The occurrence of *Chlamydia psittaci* infections in raptors from wildlife preserves]. *Tierarztl Prax* 21, 217-224.
- Gerbermann, H., Pauels, F.J., 1982. The Influence of the Immune-System on the Defense of a Chlamydia Infection. *Praktische Tierarzt* 63, 458-&.
- Gerlach, H. 1994. Viruses, In: Ritchie, B.W., Harrison, B. J., Harrison, L. R. (eds.) (Ed.) *Avian Medicine: Principles and Applications*. Wingers Publishing, Lake Worth, FL, 862-948.
- Gough, R.E., Alexander, D.J., 1993. Pacheco's Disease in Psittacine Birds in Great-Britain 1987 to 1991. *Veterinary Record* 132, 113-115.
- Gough, R.E., Drury, S.E., Aldous, E., Laing, P.W., 2001. Isolation and identification of avian pneumovirus from pheasants. *Vet Rec* 149, 312.
- Gough, R.E., Drury, S.E., Higgins, R.J., Harcourt-Brown, N.H., 1995. Isolation of a herpesvirus from a snowy owl (*Nyctea scandiaca*). *Vet Rec* 136, 541-542.
- Gough, R.E., Drury, S.E.N., George, A.D., Randall, C.J., 1993. Isolation and Identification of a Falcon Herpesvirus. *Veterinary Record* 132, 220-221.
- Gough, R.E., Jones, R.C. 2008. Avian metapneumoviruses. In Y.M. Saif, A.M. Fadly, J.R. Glisson, L.R. McDougald, L.K. Nolan and D.E. Swayne (eds), *Diseases of Poultry*, (Blackwell:Ames), 100-110.
- Gräser, Y., Klare, I., Halle, E., Gantenberg, R., Buchholz, P., Jacobi, H.D., Presber, W., Schonian, G., 1993. Epidemiological study of an *Acinetobacter baumannii* outbreak by using polymerase chain reaction fingerprinting. *J Clin Microbiol* 31, 2417-2420.
- Greenwood, A.G., Cooper, J.E., 1982. Herpesvirus Infections in Falcons. *Veterinary Record* 111, 514-514.
- Grimm, F., 1978. Newcastle-Disease in Birds of Prey. *Praktische Tierarzt* 59, 641-642.
- Gulati, B.R., Munir, S., Patnayak, D.P., Goyal, S.M., Kapur, V., 2001. Detection of antibodies to U.S. isolates of avian pneumovirus by a recombinant nucleocapsid protein-based sandwich enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Microbiol* 39, 2967-2970.

- Gulka, C.M., Piela, T.H., Yates, V.J., Bagshaw, C., 1984. Evidence of exposure of waterfowl and other aquatic birds to the hemagglutinating duck adenovirus identical to EDS-76 virus. *J Wildl Dis* 20, 1-5.
- Gunnarsson, G., Jourdain, E., Waldenstrom, J., Helander, B., Lindberg, P., Elmberg, J., Latorre-Margalef, N., Olsen, B., 2010. Zero prevalence of influenza A virus in two raptor species by standard screening. *Vector Borne Zoonotic Dis* 10, 387-390.
- Gunther, B.M., Klupp, B.G., Gravendyck, M., Lohr, J.E., Mettenleiter, T.C., Kaleta, E.F., 1997. Comparison of the genomes of 15 avian herpes-virus isolates by restriction endonuclease analysis. *Avian Pathol* 26, 305-316.
- Gylstorff, I., Jakoby, J.R., Gerbermann, H., 1984. [Comparative studies of psittacosis control on a drug basis. II. Efficacy trial of different drugs in different dosage forms in experimentally infected parrots (*Amazona viridigenalis*)]. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 97, 91-99.
- Haarländer, R., 2005. Epidemiologische Untersuchung über das Vorkommen der Subtypen A und B des aviären Pneumovirus in Geflügelbeständen in Deutschland. Inaugural-Dissertation, Freie Universität Berlin.
- Haddas, R., Meir, R., Perk, S., Horowitz, I., Lapin, E., Rosenbluth, E., Lublin, A., 2014. Newcastle disease virus in little owls (*Athene noctua*) and African penguins (*Spheniscus demersus*) in an Israeli zoo. *Transbound Emerg Dis* 61, e79-82.
- Hafez, H.M. 1989. Turkey Rhinotracheitis: Field observation and serology in Baden-Württemberg, West Germany. In: 38th Western Poultry Disease Conference, Arizona Tempe, 152-156.
- Hafez, H.M., Beyer, W., 1997. Preliminary investigation on *Ornithobacterium rhinotracheale* isolates using PCR-fingerprints. Proceedings of the XIth International Congress of the World Veterinary Poultry Association, Budapest 51.
- Hafez, H.M., Jodas, S., 1997. Putenkrankheiten. Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart.
- Hafez, H.M., Kruse, W., Emele, J., Sting, R., 1993. Eine Atemwegsinfektion bei Mastputen durch *Pasteurella*-ähnliche Erreger: Klinik, Diagnostik und Therapie. Proceedings of the International Conference on Poultry Diseases, Potsdam, 105-112.
- Hafez, H.M., Lierz, M., 2010. *Ornithobacterium rhinotracheale* in nestling falcons. *Avian Dis* 54, 161-163.
- Hafez, H.M., Löhren, U., 1990. Swollen Head Syndrome: Clinical observations and Serology in West Germany. *Dtsch. tierärztl. Wschr.* 97, 322-324.
- Hafez, H.M., Vandamme, P., 2011. Genus XXXIX. *Ornithobacterium Vandamme*, Segers, Vancanneyt, Van Hove, Mutters, Hommez, Dewhirst, Paster, Kersters, Falsen, Devrise, Bisgaard, Hinz and Mannheim 1994b, 35VP. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* 4, 250-254.
- Hafez, H.M., Weiland, F., 1990. Isolierung des Virus der Rhinotracheitis der Puten (TRT). *Tierärztl. Umschau* 45, 103-111.
- Hagen, N., 2007. Ein Beitrag zum Vorkommen von Mykoplasmen bei Greifvögeln mittels konventioneller und molekularbiologischer Methoden. Inaugural-Dissertation, Freie Universität Berlin 3143.
- Hall, J.S., Ip, H.S., Franson, J.C., Meteyer, C., Nashold, S., TeSlaa, J.L., French, J., Redig, P., Brand, C., 2009. Experimental infection of a North American raptor, American Kestrel (*Falco sparverius*), with highly pathogenic avian influenza virus (H5N1). *PLoS One* 4, e7555.
- Halliwel, Wh., 1971. Lesions of Marek's Disease in a Great Horned Owl. *Avian Dis* 15, 49-&.
- Halvorson, D., Karunakaran, D., Senne, D., Kelleher, C., Bailey, C., Abraham, A., Hinshaw, V., Newman, J., 1983. Epizootiology of Avian Influenza - Simultaneous Monitoring of Sentinel Ducks and Turkeys in Minnesota. *Avian Dis* 27, 77-85.
- Hartup, B.K., Mohammed, H.O., Kollias, G.V., Dhondt, A.A., 1998. Risk factors associated with mycoplasmal conjunctivitis in house finches. *J Wildl Dis* 34, 281-288.
- Hassanin, O., Abdallah, F., El-Araby, I.E., 2013. Molecular characterization and phylogenetic analysis of Marek's disease virus from clinical cases of Marek's disease in Egypt. *Avian Dis* 57, 555-561.
- Hatchette, T.F., Walker, D., Johnson, C., Baker, A., Pryor, S.P., Webster, R.G., 2004. Influenza A viruses in feral Canadian ducks: extensive reassortment in nature. *J Gen Virol* 85, 2327-2337.

- Heidenreich, M., 1978. Newcastle-Disease in Birds of Prey and Owls - Prevalence, Epizootology, Clinical Course, Diagnosis and Immune Prophylaxis. *Praktische Tierarzt* 59, 650-&.
- Heidenreich, M., 1995. Greifvögel. Blackwell Verlag, Berlin, Wien.
- Hess, M., 2000. Detection and differentiation of avian adenoviruses: a review. *Avian Pathol* 29, 195-206.
- Hinz, K.H., Blome, C., Ryll, M., 1994. Acute exudative pneumonia and airsacculitis associated with *Ornithobacterium rhinotracheale* in turkeys. *Vet Rec* 135, 233-234.
- Hlinak, A., Muller, T., Kramer, M., Muhle, R.U., Liebherr, H., Ziedler, K., 1998. Serological survey of viral pathogens in bean and white-fronted geese from Germany. *J Wildl Dis* 34, 479-486.
- Hoffmann, B., Depner, K., Schirrmeier, H., Beer, M., 2006. A universal heterologous internal control system for duplex real-time RT-PCR assays used in a detection system for pestiviruses. *J Virol Methods* 136, 200-209.
- Höfle, U., Blanco, J.M., Kaleta, E.F., 2002. Seroprevalence of avian paramyxovirus 1, 2, and 3 in captive and free-living birds of prey in Spain (preliminary results): implications for management of wild and captive populations. *Ann N Y Acad Sci* 969, 213-216.
- Hollamby, S., Sikarskie, J.G., Stuht, J., 2003. Survey of peafowl (*Pavo cristatus*) for potential pathogens at three Michigan zoos. *J Zoo Wildl Med* 34, 375-379.
- Hoper, D., Kalthoff, D., Hoffmann, B., Beer, M., 2012. Highly pathogenic avian influenza virus subtype H5N1 escaping neutralization: more than HA variation. *J Virol* 86, 1394-1404.
- Huovilainen, A., Ek-Kommone, C., Manvell, R., Kinnunen, L., 2001. Phylogenetic analysis of avian paramyxovirus 1 strains isolated in Finland. *Arch Virol* 146, 1775-1785.
- ICTV 2012. Virus Taxonomy. In Ninth Report of International Committee on Taxonomie of Viruses, International Union of Microbiological Societies Virology Division, King, A.M.Q., Adams, M.J., Carstens, E.B., Lewkowitz, E.J., eds. (United States of America, Elsevier Inc.).
- Ingalls, W.L., Vesper, R.W., Mahoney, A., 1951. Isolation of Newcastle disease virus from the great horned owl. *J Am Vet Med Assoc* 119, 71.
- Jindal, N., Chander, Y., Primus, A., Redig, P.T., Goyal, S.M., 2010. Isolation and molecular characterization of Newcastle disease viruses from raptors. *Avian Pathol* 39, 441-445.
- Jirjis, F.E., Noll, S.L., Halvorson, D.A., Nagaraja, K.V., Townsend, E.L., Sheikh, A.M., Shaw, D.P., 2000. Avian pneumovirus infection in Minnesota turkeys: experimental reproduction of the disease. *Avian Dis* 44, 222-226.
- Jirjis, F.F., Noll, S.L., Halvorson, D.A., Nagaraja, K.V., Martin, F., Shaw, D.P., 2004. Effects of bacterial coinfection on the pathogenesis of avian pneumovirus infection in turkeys. *Avian Dis* 48, 34-49.
- Jirjis, F.F., Noll, S.L., Halvorson, D.A., Nagaraja, K.V., Shaw, D.P., 2002. Pathogenesis of avian pneumovirus infection in turkeys. *Vet Pathol* 39, 300-310.
- Johns, J.L., Luff, J.A., Shooshtari, M.P., Zehnder, A.M., Borjesson, D.L., 2009. What is your diagnosis? Blood smear from an injured red-tailed hawk. *Vet Clin Pathol* 38, 247-252.
- Jones, M.P., 2006. Selected infectious diseases of birds of prey. *Journal of Exotic Pet Medicine* 15, 5-17.
- Jones, R.C., 2010. Viral respiratory diseases (ILT, aMPV infections, IB): are they ever under control? *British poultry science* 51, 1-11.
- Jorgensen, P.H., Handberg, K.J., Ahrens, P., Therkildsen, O.R., Manvell, R.J., Alexander, D.J., 2004. Strains of avian paramyxovirus type 1 of low pathogenicity for chickens isolated from poultry and wild birds in Denmark. *Vet Rec* 154, 497-500.
- Jouffroy, S.J., Schlueter, A.H., Bildfell, R.J., Rockey, D.D., 2016. *Rhabdochlamydia* spp. in an Oregon raptor. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 28, 473-476.
- Kajan, G.L., Davison, A.J., Palya, V., Harrach, B., Benko, M., 2012. Genome sequence of a waterfowl aviadenovirus, goose adenovirus 4. *J Gen Virol* 93, 2457-2465.
- Kaleta, E.F., 1990. Herpesviruses of birds--a review. *Avian Pathol* 19, 193-211.
- Kaleta, E.F., Baldauf, C. 1988. Newcastle disease in free-living and pet birds, In: Alexander, D.J. (Ed.) Newcastle Disease. Kluwer Academic Publishers, Boston, Massachusetts, 197-246.

- Kaleta, E.F., Taday, E.M., 2003. Avian host range of *Chlamydophila* spp. based on isolation, antigen detection and serology. *Avian Pathol* 32, 435-461.
- Keawcharoen, J., van Riel, D., van Amerongen, G., Bestebroer, T., Beyer, W.E., van Lavieren, R., Osterhaus, A.D., Fouchier, R.A., Kuiken, T., 2008. Wild ducks as long-distance vectors of highly pathogenic avian influenza virus (H5N1). *Emerg Infect Dis* 14, 600-607.
- Keymer, I.F., Dawson, P.S., 1971. Newcastle disease in birds of prey. *Vet Rec* 88, 432.
- Khan, O.A., Shuaib, M.A., Rhman, S.S., Ismail, M.M., Hammad, Y.A., Baky, M.H., Fusaro, A., Salviato, A., Cattoli, G., 2009. Isolation and identification of highly pathogenic avian influenza H5N1 virus from Houbara bustards (*Chlamydotis undulata macqueenii*) and contact falcons. *Avian Pathol* 38, 35-39.
- Kim, H.R., Lee, Y.J., Park, C.K., Oem, J.K., Lee, O.S., Kang, H.M., Choi, J.G., Bae, Y.C., 2012. Highly pathogenic avian influenza (H5N1) outbreaks in wild birds and poultry, South Korea. *Emerg Infect Dis* 18, 480-483.
- King, D.J., Pursglove, S.R., Jr., Davidson, W.R., 1981. Adenovirus isolation and serology from wild bobwhite quail (*Colinus virginianus*). *Avian Dis* 25, 678-682.
- Knipe, David, M., Howley, Peter, M., 2007. *Fields Virology*, 5th Edition. Raven Press New York.
- Kocan, A.A., Hinshaw, V.S., Daubney, G.A., 1980. Influenza a Viruses Isolated from Migrating Ducks in Oklahoma. *J Wildl Dis* 16, 281-285.
- Kocan, A.A., Potgieter, L.N.D., Kocan, K.M., 1977a. Inclusion Body Disease of Falcons (Herpesvirus Infection) in an American Kestrel. *J Wildl Dis* 13, 199-201.
- Kocan, A.A., Snelling, J., Greiner, E.C., 1977b. Some infectious and parasitic diseases in Oklahoma raptors. *J Wildl Dis* 13, 304-306.
- Kohls, A., Hafez, H.M., Harder, T., Jansen, A., Lierz, P., Luschow, D., Schweiger, B., Lierz, M., 2011. Avian influenza virus risk assessment in falconry. *Virologia* 8.
- Komar, N., Olsen, B., 2008. Avian influenza virus (H5N1) mortality surveillance. *Emerg Infect Dis* 14, 1176-1178.
- Korotetskii, I.S., Bogoiavlenskii, A.P., Prilipov, A.G., Usachev, E.V., Usacheva, O.V., Turgambetova, A.S., Zaitseva, I.A., Kydyrmanov, A., Shakhvorostova, L.I., Saiatov, M., Borisov, V.V., Pchelkina, I.P., Gerilovich, A.P., Berezin, V.E., 2010. [Molecular genetic characteristics of the newcastle disease virus velogenic strains isolated in Russia, Ukraine, Kazakhstan, and Kirghizia]. *Vopr Virusol* 55, 29-32.
- Kou, Y.T., Chueh, L.L., Wang, C.H., 1999. Restriction fragment length polymorphism analysis of the F gene of Newcastle disease viruses isolated from chickens and an owl in Taiwan. *J Vet Med Sci* 61, 1191-1195.
- Kumar, R., Kumar, V., Asthana, M., Shukla, S.K., Chandra, R., 2010. Isolation and identification of a fowl adenovirus from wild Black Kites (*Milvus migrans*). *J Wildl Dis* 46, 272-276.
- Kwon, J.S., Lee, H.J., Jeong, S.H., Park, J.Y., Hong, Y.H., Lee, Y.J., Youn, H.S., Lee, D.W., Do, S.H., Park, S.Y., Choi, I.S., Lee, J.B., Song, C.S., 2010. Isolation and characterization of avian metapneumovirus from chickens in Korea. *J Vet Sci* 11, 59-66.
- Kwon, Y.K., Joh, S.J., Kim, M.C., Lee, Y.J., Choi, J.G., Lee, E.K., Wee, S.H., Sung, H.W., Kwon, J.H., Kang, M.I., Kim, J.H., 2005. Highly pathogenic avian influenza in magpies (*Pica pica sericea*) in South Korea. *J Wildl Dis* 41, 618-623.
- Lecis, R., Chessa, B., Cacciotto, C., Addis, M.F., Coradduzza, E., Berlinguer, F., Muzzeddu, M., Lierz, M., Carcangiu, L., Pittau, M., Alberti, A., 2010. Identification and characterization of novel *Mycoplasma* spp. belonging to the hominis group from griffon vultures. *Res Vet Sci* 89, 58-64.
- Lecis, R., Secci, F., Mandas, L., Muzzeddu, M., Pittau, M., Alberti, A., 2016. Molecular Identification and Sequence Characterization of *Mycoplasmas* in Free-Living Birds of Prey. *J Zoo Wildl Med* 47, 917-922.
- Lee, E., Song, M.S., Shin, J.Y., Lee, Y.M., Kim, C.J., Lee, Y.S., Kim, H., Choi, Y.K., 2007. Genetic characterization of avian metapneumovirus subtype C isolated from pheasants in a live bird market. *Virus Res* 128, 18-25.
- Lemus, J.A., Fargallo, J.A., Vergara, P., Parejo, D., Banda, E., 2010. Natural cross chlamydial infection between livestock and free-living bird species. *PLoS One* 5, e13512.

- Leroy-Setrin, S., Flaujac, G., Thenaisy, K., Chalus-Dancla, E., 1998. Genetic diversity of *Ornithobacterium rhinotracheale* strains isolated from poultry in France. *Lett Appl Microbiol* 26, 189-193.
- Levaditi, J.C., Roger, F., Destombes, P., 1964. [Attempt at Classification of the Chlamydiaceae (Rake 1955) Taking into Account Their Tissular Affinities and Their Epidemiology]. *Ann Inst Pasteur (Paris)* 107, 656-662.
- Ley, D.H., Marusak, R.A., Vivas, E.J., Barnes, H.J., Fletcher, O.J., 2010. *Mycoplasma iowae* associated with chondrodystrophy in commercial turkeys. *Avian Pathol* 39, 87-93.
- Li, K.S., Guan, Y., Wang, J., Smith, G.J., Xu, K.M., Duan, L., Rahardjo, A.P., Puthavathana, P., Buranathai, C., Nguyen, T.D., Estoepongastie, A.T., Chaisingh, A., Auewarakul, P., Long, H.T., Hanh, N.T., Webby, R.J., Poon, L.L., Chen, H., Shortridge, K.F., Yuen, K.Y., Webster, R.G., Peiris, J.S., 2004. Genesis of a highly pathogenic and potentially pandemic H5N1 influenza virus in eastern Asia. *Nature* 430, 209-213.
- Lierz, M., 1999. Untersuchungen zum Krankheitsspektrum aufgefundenener Greifvögel und Eulen in Berlin und Brandenburg. Freie Universität Berlin.
- Lierz, M., Gobel, T., Kaleta, E.F., 2002a. Investigations on the prevalence of *Chlamydophila psittaci*, falcon herpesvirus and paramyxovirus 1 in birds of prey and owls found injured or debilitated. *Tierarztl Prax K H* 30, 139-144.
- Lierz, M., Hafez, H.M., Klopffleisch, R., Luschow, D., Prusas, C., Teifke, J.P., Rudolf, M., Grund, C., Kalthoff, D., Mettenleiter, T., Beer, M., Hardert, T., 2007a. Protection and virus shedding of falcons vaccinated against highly pathogenic avian influenza A virus (H5N1). *Emerg Infect Dis* 13, 1667-1674.
- Lierz, M., Hagen, N., Harcourt-Brown, N., Hernandez-Divers, S.J., Luschow, D., Hafez, H.M., 2007b. Prevalence of mycoplasmas in eggs from birds of prey using culture and a genus-specific mycoplasma polymerase chain reaction. *Avian Pathol* 36, 145-150.
- Lierz, M., Hagen, N., Hernandez-Divers, S.J., Hafez, H.M., 2008a. Occurrence of mycoplasmas in free-ranging birds of prey in Germany. *J Wildl Dis* 44, 845-850.
- Lierz, M., Hagen, N., Lueschow, D., Hafez, H.M., 2008b. Species-specific polymerase chain reactions for the detection of *Mycoplasma buteonis*, *Mycoplasma falconis*, *Mycoplasma gypis*, and *Mycoplasma corogypsi* in captive birds of prey. *Avian Dis* 52, 94-99.
- Lierz, M., Hagen, N., Lueschow, D., Hafez, H.M., 2008c. Use of polymerase chain reactions to detect *Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma imitans*, *Mycoplasma iowae*, *Mycoplasma meleagridis* and *Mycoplasma synoviae* in birds of prey. *Avian Pathol* 37, 471-476.
- Lierz, M., Obon, E., Schink, B., Carbonell, F., Hafez, H.M., 2008d. The role of mycoplasmas in a conservation project of the lesser kestrel (*Falco naumanni*). *Avian Dis* 52, 641-645.
- Lierz, M., Schmidt, R., Brunnberg, L., Runge, M., 2000. Isolation of *Mycoplasma meleagridis* from free-ranging birds of prey in Germany. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health* 47, 63-67.
- Lierz, M., Schmidt, R., Runge, M., 2002b. *Mycoplasma* species isolated from falcons in the Middle East. *Vet Rec* 151, 92-93.
- Lopes, V.C., Velayudhan, B., Halvorson, D.A., Nagaraja, K.V., 2002. Survival of *Ornithobacterium rhinotracheale* in sterilized poultry litter. *Avian Dis* 46, 1011-1014.
- Loria, G.R., Ferrantelli, E., Giardina, G., Li Vecchi, L., Sparacino, L., Oliveri, F., McAuliffe, L., Nicholas, R.A., 2008. Isolation and characterization of unusual *Mycoplasma* spp. from captive Eurasian Griffon (*Gyps fulvus*) in Sicily. *J Wildl Dis* 44, 159-163.
- Lublin, A., Mechani, S., Siman-Tov, Y., Weisman, Y., Horowitz, H.I., Hatzofe, O., 2001. Sudden death of a bearded vulture (*Gypaetus barbatus*) possibly caused by Newcastle disease virus. *Avian Dis* 45, 741-744.
- Magnino, S., Fabbri, M., Moreno, A., Sala, G., Lavazza, A., Ghelfi, E., Gandolfi, L., Pirovano, G., Gasperi, E., 2000. Avian influenza virus (H7 serotype) in a saker falcon in Italy. *Veterinary Record* 146, 740-740.
- Maluping, R.P., Oronan, R.B., Toledo, S.U., 2007. Detection of *Chlamydophila psittaci* antibodies from captive birds at the Ninoy Aquino Parks and Wildlife Nature Center, Quezon City, Philippines. *Ann Agric Environ Med* 14, 191-193.

- Manvell, R.J., McKinney, P., Wernery, U., Frost, K., 2000. Isolation of a highly pathogenic influenza A virus of subtype H7N3 from a peregrine falcon (*Falco peregrinus*). *Avian Pathology* 29, 635-637.
- Manzoor, S., Hussain, Z., Rahman, S.U., Hussain, I., 2013. Identification of antibodies against hydropericardium syndrome in wild birds. *British poultry science* 54, 325-328.
- Mare, C.J., Graham, D.L., 1973. Falcon Herpesvirus, Etiologic Agent of Inclusion Body Disease of Falcons. *Infect Immun* 8, 118-126.
- Marien, M., Decostere, A., Martel, A., Chiers, K., Froyman, R., Nauwynck, H., 2005. Synergy between avian pneumovirus and *Ornithobacterium rhinotracheale* in turkeys. *Avian Pathol* 34, 204-211.
- Marin, M.C., Villegas, P., Bennett, J.D., Seal, B.S., 1996. Virus characterization and sequence of the fusion protein gene cleavage site of recent Newcastle disease virus field isolates from the southeastern United States and Puerto Rico. *Avian Dis* 40, 382-390.
- Marinova-Petkova, A., Georgiev, G., Seiler, P., Darnell, D., Franks, J., Krauss, S., Webby, R.J., Webster, R.G., 2012. Spread of influenza virus A (H5N1) clade 2.3.2.1 to Bulgaria in common buzzards. *Emerg Infect Dis* 18, 1596-1602.
- McFerran, J.B., Adair, B.M., 1977. Avian adenoviruses--a review. *Avian Pathol* 6, 189-217.
- McFerran, J.B., Connor, T.J., McCracken, R.M., 1976. Isolation of adenoviruses and reoviruses from avian species other than domestic fowl. *Avian Dis* 20, 519-524.
- Meyer, K.F., 1967. The host spectrum of psittacosis-lymphogranuloma venereum (PL) agents. *Am J Ophthalmol* 63, Suppl:1225-1246.
- Michiels, T., Welby, S., Vanrobaeys, M., Quinet, C., Rouffaer, L., Lens, L., Martel, A., Butaye, P., 2016. Prevalence of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* in commercial poultry, racing pigeons and wild birds in Belgium. *Avian Pathol*, 1-28.
- Mikaelian, I., Ley, D.H., Claveau, R., Lemieux, M., Berube, J.P., 2001. Mycoplasmosis in evening and pine grosbeaks with conjunctivitis in Quebec. *J Wildl Dis* 37, 826-830.
- Mirande, L.A., Howerth, E.W., Poston, R.P., 1992. Chlamydiosis in a red-tailed hawk (*Buteo jamaicensis*). *J Wildl Dis* 28, 284-287.
- Mozos, E., Hervas, J., Moyano, T., Diaz, J., Gomezvillamandos, J.C., 1994. Inclusion-Body Disease in a Peregrine Falcon (*Falco-Peregrinus*) - Histological and Ultrastructural-Study. *Avian Pathology* 23, 175-181.
- Nagaraja, K.V., Shin, H.J., Halvorson, D.A., 2000. Avian pneumovirus of turkeys and its host range. *Proceeding of 3rd International Symposium of Turkey Diseases*, 208-213.
- Naguib, M.M., Kinne, J., Chen, H.L., Chan, K.H., Joseph, S., Wong, P.C., Woo, P.C.Y., Wernery, R., Beer, M., Wernery, U., Harder, T.C., 2015. Outbreaks of highly pathogenic avian influenza H5N1 clade 2.3.2.1c in hunting falcons and kept wild birds in Dubai implicate intercontinental virus spread. *Journal of General Virology* 96, 3212-3222.
- Nerome, K., Nakayama, M., Ishida, M., Fukumi, H., Butterfield, W.K., Webster, R.G., Campbell, C.H., 1978. Isolation and Serological Characterization of Influenza-a Viruses from Birds That Were Dead on Arrival at Tokyo Airport. *Arch Virol* 57, 261-270.
- Nume, S., Hauck, R., Hafez, H.M., 2012. Detection and typing of *Ornithobacterium rhinotracheale* from German poultry flocks. *Avian Dis* 56, 654-658.
- Oaks, J.L., Donahoe, S.L., Rurangirwa, F.R., Rideout, B.A., Gilbert, M., Virani, M.Z., 2004a. Identification of a novel mycoplasma species from an Oriental white-backed vulture (*Gyps bengalensis*). *J Clin Microbiol* 42, 5909-5912.
- Oaks, J.L., Gilbert, M., Virani, M.Z., Watson, R.T., Meteyer, C.U., Rideout, B.A., Shivaprasad, H.L., Ahmed, S., Chaudhry, M.J., Arshad, M., Mahmood, S., Ali, A., Khan, A.A., 2004b. Diclofenac residues as the cause of vulture population decline in Pakistan. *Nature* 427, 630-633.
- Oaks, J.L., Schrenzel, M., Rideout, B., Sandfort, C., 2005. Isolation and epidemiology of falcon adenovirus. *J Clin Microbiol* 43, 3414-3420.
- Odor, E.M., Salem, M., Pope, C.R., Sample, B., Primm, M., Vance, K., Murphy, M., 1997. Isolation and identification of *Ornithobacterium rhinotracheale* from commercial broiler flocks on the Delmarva peninsula. *Avian Dis* 41, 257-260.
- Okoh, A.E., 1979. Newcastle disease in falcons. *J Wildl Dis* 15, 479-480.

- Ou, S.C., Giambrone, J.J., 2012. Infectious laryngotracheitis virus in chickens. *World J Virol* 1, 142-149.
- Panangala, V.S., Stringfellow, J.S., Dybvig, K., Woodard, A., Sun, F., Rose, D.L., Gresham, M.M., 1993. *Mycoplasma-Corogypsi* Sp-Nov, a New Species from the Footpad Abscess of a Black Vulture, *Coragyps-Atratus*. *Int J Syst Bacteriol* 43, 585-590.
- Pastiu, A.I., Pap, P.L., Vagasi, C.I., Niculae, M., Pall, E., Domsa, C., Brudasca, F.G., Spinu, M., 2016. Wild Birds in Romania Are More Exposed to West Nile Virus Than to Newcastle Disease Virus. *Vector Borne Zoonotic Dis*.
- Pearson, G.L., McCann, M.K., 1975. The role of indigenous wild, semidomestic, and exotic birds in the epizootiology of velogenic viscerotropic Newcastle disease in southern California, 1972-1973. *J Am Vet Med Assoc* 167, 610-614.
- Pedersen, J.C., Senne, D.A., Woolcock, P.R., Kinde, H., King, D.J., Wise, M.G., Panigrahy, B., Seal, B.S., 2004. Phylogenetic relationships among virulent Newcastle disease virus isolates from the 2002-2003 outbreak in California and other recent outbreaks in North America. *J Clin Microbiol* 42, 2329-2334.
- Pennycott, T.W., Dagleish, M.P., Wood, A.M., Garcia, C., 2009. *Chlamydophila psittaci* in wild birds in the UK. *Vet Rec* 164, 157-158.
- Pennycott, T.W., Dare, C.M., Yavari, C.A., Bradbury, J.M., 2005. *Mycoplasma sturni* and *Mycoplasma gallisepticum* in wild birds in Scotland. *Vet Rec* 156, 513-515.
- Perkins, L.E., Swayne, D.E., 2001. Pathobiology of A/chicken/Hong Kong/220/97 (H5N1) avian influenza virus in seven gallinaceous species. *Vet Pathol* 38, 149-164.
- Phalen, D.N., Holz, P., Rasmussen, L., Bayley, C., 2011. Fatal columbid herpesvirus-1 infections in three species of Australian birds of prey. *Aust Vet J* 89, 193-196.
- Phan, T.G., Vo, N.P., Boros, A., Pankovics, P., Reuter, G., Li, O.T., Wang, C., Deng, X., Poon, L.L., Delwart, E., 2013. The viruses of wild pigeon droppings. *PLoS One* 8, e72787.
- Philpott, M.S., Easterday, B.C., Hinshaw, V.S., 1989. Antigenic and Phenotypic Variants of a Virulent Avian Influenza-Virus Selected during Replication in Ducks. *J Wildl Dis* 25, 507-513.
- Pinkerton, M.E., Wellehan, J.F., Jr., Johnson, A.J., Childress, A.L., Fitzgerald, S.D., Kinsel, M.J., 2008. Columbid herpesvirus-1 in two Cooper's hawks (*Accipiter cooperii*) with fatal inclusion body disease. *J Wildl Dis* 44, 622-628.
- Potgieter, L.N.D., Kocan, A.A., Kocan, K.M., 1979. Isolation of a Herpesvirus from an American Kestrel with Inclusion Body Disease. *J Wildl Dis* 15, 143-149.
- Poveda, J.B., Carranza, J., Miranda, A., Garrido, A., Hermoso, M., Fernandez, A., Domenech, J., 1990a. An Epizootiological Study of Avian Mycoplasmas in Southern Spain. *Avian Pathology* 19, 627-633.
- Poveda, J.B., Giebel, J., Flossdorf, J., Meier, J., Kirchhoff, H., 1994. *Mycoplasma-Buteonis* Sp-Nov *Mycoplasma-Falconis* Sp-Nov and *Mycoplasma-Gypis* Sp-Nov 3 Species from Birds of Prey. *Int J Syst Bacteriol* 44, 94-98.
- Poveda, J.B., Giebel, J., Kirchhoff, H., Fernandez, A., 1990b. Isolation of Mycoplasmas from a Buzzard, Falcons and Vultures. *Avian Pathology* 19, 779-783.
- Ramis, A., Majo, N., Pumarola, M., Fondevila, D., Ferrer, L., 1994. Herpesvirus hepatitis in two eagles in Spain. *Avian Dis* 38, 197-200.
- Raue, R., Gerlach, H., Muller, H., 2005. Phylogenetic analysis of the hexon loop 1 region of an adenovirus from psittacine birds supports the existence of a new psittacine adenovirus (PsAdV). *Arch Virol* 150, 1933-1943.
- Rautenschlein, S., Legler, M., 2006. Eulen herpes virus infection (Hepatosplenitis infectiosa strigum) with additionally present Trichomonadosis (*Trichomonas gallinae*) und Aspergillosis (*Aspergillus fumigatus*) in an eagle owl (*Bubo bubo*) from avian breeding. *Praktische Tierarzt* 87, 688-694.
- Razin, S., 1981. Mycoplasmas: the smallest pathogenic procaryotes. *Isr J Med Sci* 17, 510-515.
- Rose, N., Warren, A.L., Whiteside, D., Bidulka, J., Robinson, J.H., Illanes, O., Brookfield, C., 2012. Columbid herpesvirus-1 mortality in great horned owls (*Bubo virginianus*) from Calgary, Alberta. *Can Vet J* 53, 265-268.
- Roy, P., Venugopalan, A.T., Manvell, R., 1998. Isolation of Newcastle disease virus from an Indian house crow. *Trop Anim Health Prod* 30, 177-178.

- Ruder, M.G., Feldman, S.H., Wunschmann, A., McRuer, D.L., 2009. Association of *Mycoplasma corogypsi* and Polyarthritis in a Black Vulture (*Coragyps atratus*) in Virginia. *J Wildl Dis* 45, 808-816.
- Ruppanner, R., Behymer, D.E., DeLong, W.J., 3rd, Franti, C.E., Schulz, T., 1984. Enzyme immunoassay of Chlamydia in birds. *Avian Dis* 28, 608-615.
- Russell, W.C., 2009. Adenoviruses: update on structure and function. *J Gen Virol* 90, 1-20.
- Russell, W.C., Kemp, G.D., 1995. Role of adenovirus structural components in the regulation of adenovirus infection. *Curr Top Microbiol Immunol* 199 (Pt 1), 81-98.
- Ryll, M., Hinz, K.H., Salisch, H., Kruse, W., 1996. Pathogenicity of *Ornithobacterium rhinotracheale* for turkey poults under experimental conditions. *Vet Rec* 139, 19.
- Sabirovic, M., Raw, L., Hall, S., Coulson, N., 2005. International disease surveillance. International disease monitoring, October to December 2004. *Vet Rec* 156, 193-196.
- Sabisch, G., 1977. [Ornithosis in the mouse buzzard (*Buteo buteo*)]. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 90, 441-442.
- Saif, Y.M., Fadly, A.M., Glisson, L.R., McDougald, L.K., Nolan, L.K., Swayne, D.E., 2008. Diseases of poultry, 12th Edition. University press, Ames, Iowa State.
- Sakai, E., Tokuyama, Y., Nonaka, F., Ohishi, S., Ishikawa, Y., Tanaka, M., Taneno, A., 2000. *Ornithobacterium rhinotracheale* infection in Japan: preliminary investigations. *Vet Rec* 146, 502-503.
- Samour, J., 2014. Newcastle disease in captive falcons in the Middle East: a review of clinical and pathologic findings. *J Avian Med Surg* 28, 1-5.
- Schachter, J., Sugg, N., Sung, M., 1978. Psittacosis: the reservoir persists. *J Infect Dis* 137, 44-49.
- Schelling, S.H., Garlick, D.S., Alroy, J., 1989. Adenoviral hepatitis in a merlin (*Falco columbarius*). *Vet Pathol* 26, 529-530.
- Schettler, E., Fickel, J., Hotzel, H., Sachse, K., Streich, W.J., Wittstatt, U., Frolich, K., 2003. Newcastle disease virus and *Chlamydia psittaci* in free-living raptors from eastern Germany. *J Wildl Dis* 39, 57-63.
- Schettler, E., Langgemach, T., Sommer, P., Streich, J., Frolich, K., 2001. Seroepizootiology of selected infectious disease agents in free-living birds of prey in Germany. *J Wildl Dis* 37, 145-152.
- Schmidt, J., Suss, J., Stelzner, A., 1978. Immunological Aspects of Influenza-Virus Infection. *Archiv fur experimentelle Veterinarmedizin* 32, 377-390.
- Schrenzel, M., Oaks, J.L., Rotstein, D., Maalouf, G., Snook, E., Sandfort, C., Rideout, B., 2005. Characterization of a new species of adenovirus in falcons. *J Clin Microbiol* 43, 3402-3413.
- Seal, B.S., 1998. Matrix protein gene nucleotide and predicted amino acid sequence demonstrate that the first US avian pneumovirus isolate is distinct from European strains. *Virus Res* 58, 45-52.
- Seal, B.S., 2000. Avian pneumoviruses and emergence of a new type in the United States of America. *Anim Health Res Rev* 1, 67-72.
- Seal, B.S., Wise, M.G., Pedersen, J.C., Senne, D.A., Alvarez, R., Scott, M.S., King, D.J., Yu, Q.Z., Kapczynski, D.R., 2005. Genomic sequences of low-virulence avian paramyxovirus-1 (Newcastle disease virus) isolates obtained from live-bird markets in North America not related to commonly utilized commercial vaccine strains. *Vet Microbiol* 106, 7-16.
- Senne, D.A., Panigrahy, B., Kawaoka, Y., Pearson, J.E., Suss, J., Lipkind, M., Kida, H., Webster, R.G., 1996. Survey of the hemagglutinin (HA) cleavage site sequence of H5 and H7 avian influenza viruses: amino acid sequence at the HA cleavage site as a marker of pathogenicity potential. *Avian Dis* 40, 425-437.
- Sharp, G.B., Kawaoka, Y., Jones, D.J., Bean, W.J., Pryor, S.P., Hinshaw, V., Webster, R.G., 1997. Coinfection of wild ducks by influenza A viruses: distribution patterns and biological significance. *J Virol* 71, 6128-6135.
- Shin, H.J., Nagaraja, K.V., McComb, B., Halvorson, D.A., Jirjis, F.F., Shaw, D.P., Seal, B.S., Njenga, M.K., 2002. Isolation of avian pneumovirus from mallard ducks that is genetically similar to viruses isolated from neighboring commercial turkeys. *Virus Res* 83, 207-212.

- Shin, H.J., Njenga, M.K., McComb, B., Halvorson, D.A., Nagaraja, K.V., 2000. Avian pneumovirus (APV) RNA from wild and sentinel birds in the United States has genetic homology with RNA from APV isolates from domestic turkeys. *J Clin Microbiol* 38, 4282-4284.
- Shivakoti, S., Ito, H., Otsuki, K., Ito, T., 2010. Characterization of H5N1 highly pathogenic avian influenza virus isolated from a mountain hawk eagle in Japan. *J Vet Med Sci* 72, 459-463.
- Sileo, L., Carlson, H.C., Crumley, S.C., 1975. Inclusion body disease in a great horned owl. *J Wildl Dis* 11, 92-96.
- Sileo, L., Franson, J.C., Graham, D.L., Domermuth, C.H., Rattner, B.A., Pattee, O.H., 1983. Hemorrhagic enteritis in captive American kestrels (*Falco sparverius*). *J Wildl Dis* 19, 244-247.
- Smith, G.J., Vijaykrishna, D., Ellis, T.M., Dyrting, K.C., Leung, Y.H., Bahl, J., Wong, C.W., Kai, H., Chow, M.K., Duan, L., Chan, A.S., Zhang, L.J., Chen, H., Luk, G.S., Peiris, J.S., Guan, Y., 2009. Characterization of avian influenza viruses A (H5N1) from wild birds, Hong Kong, 2004-2008. *Emerg Infect Dis* 15, 402-407.
- Smith, K.A., Bradley, K.K., Stobierski, M.G., Tengelsen, L.A., 2005. Compendium of measures to control *Chlamydia psittaci* (formerly *Chlamydia psittaci*) infection among humans (psittacosis) and pet birds, 2005. *J Am Vet Med Assoc* 226, 532-539.
- Smitka, C.W., Maassab, H.F., 1981. Ortho-Myxoviruses and Paramyxoviruses in the Migratory Waterfowl of Michigan. *J Wildl Dis* 17, 147-151.
- Soda, K., Ito, H., Usui, T., Nagai, Y., Ozaki, H., Yamaguchi, T., Ito, T., 2013. Incursion and spread of H5N1 highly pathogenic avian influenza viruses among wild birds in 2010-11 winter in Japan. *J Vet Med Sci* 75, 605-612.
- Spackman, E., Senne, D.A., Myers, T.J., Bulaga, L.L., Garber, L.P., Perdue, M.L., Lohman, K., Daum, L.T., Suarez, D.L., 2002. Development of a real-time reverse transcriptase PCR assay for type A influenza virus and the avian H5 and H7 hemagglutinin subtypes. *J Clin Microbiol* 40, 3256-3260.
- Spalatin, J., Fraser, C.E., Connell, R., Hanson, R.P., Berman, D.T., 1966. Agents of psittacosis-lymphogranuloma venereum group isolated from muskrats and snowshoe hares in Saskatchewan. *Can J Comp Med Vet Sci* 30, 260-264.
- Spatz, S.J., Volkening, J.D., Ross, T.A., 2014. Molecular characterization of the complete genome of falconid herpesvirus strain S-18. *Virus Res* 188, 109-121.
- Spradbrow, P.B., Samuel, J.L., Ibrahim, A.L., 1988. Serological response of chickens to oral vaccination with Newcastle disease virus. *Vet Microbiol* 16, 255-262.
- Sprenger, S.J., Back, A., Shaw, D.P., Nagaraja, K.V., Roepke, D.C., Halvorson, D.A., 1998. *Ornithobacterium rhinotracheale* infection in turkeys: experimental reproduction of the disease. *Avian Dis* 42, 154-161.
- Stallknecht, D.E., Shane, S.M., 1988. Host Range of Avian Influenza-Virus in Free-Living Birds. *Vet Res Commun* 12, 125-141.
- Stephens, R.S., Myers, G., Eppinger, M., Bavoil, P.M., 2009. Divergence without difference: phylogenetics and taxonomy of *Chlamydia* resolved. *FEMS Immunol Med Microbiol* 55, 115-119.
- Straub, M.H., Kelly, T.R., Rideout, B.A., Eng, C., Wynne, J., Braun, J., Johnson, C.K., 2015. Seroepidemiologic Survey of Potential Pathogens in Obligate and Facultative Scavenging Avian Species in California. *PLoS One* 10.
- Stunzner, D., Thiel, W., Potsch, F., Sixl, W., 1980. Isolation of influenza viruses from exotic and Central European birds. *Zentralblatt für Bakteriologie. 1. Abt. Originale. A: Medizinische Mikrobiologie, Infektionskrankheiten und Parasitologie* 247, 8-17.
- Suarez-Perez, A., Ramirez, A.S., Rosales, R.S., Calabuig, P., Poveda, C., Rossello-Mora, R., Nicholas, R.A.J., Poveda, J.B., 2012. *Mycoplasma neophronis* sp nov., isolated from the upper respiratory tract of Canarian Egyptian vultures (*Neophron percnopterus majorensis*). *Int J Syst Evol Micr* 62, 1321-1325.
- Suarez, D.L., Senne, D.A., Banks, J., Brown, I.H., Essen, S.C., Lee, C.W., Manvell, R.J., Mathieu-Benson, C., Moreno, V., Pedersen, J.C., Panigrahy, B., Rojas, H., Spackman, E., Alexander, D.J., 2004. Recombination resulting in virulence shift in avian influenza outbreak, Chile. *Emerg Infect Dis* 10, 693-699.

- Sulochana, S., Pillai, R.M., Nair, G.K., Sudharma, D., Abdulla, P.K., 1981. Epizootology of Newcastle disease in Indian house crows. *Vet Rec* 109, 249-251.
- Susta, L., Miller, P.J., Afonso, C.L., Brown, C.C., 2011. Clinicopathological characterization in poultry of three strains of Newcastle disease virus isolated from recent outbreaks. *Vet Pathol* 48, 349-360.
- Tabatabai, L.B., Zimmerli, M.K., Zehr, E.S., Briggs, R.E., Tatum, F.M., 2010. *Ornithobacterium rhinotracheale* North American field isolates express a hemolysin-like protein. *Avian Dis* 54, 994-1001.
- Takakuwa, H., Ito, T., Takada, A., Okazaki, K., Kida, H., 1998. Potentially virulent Newcastle disease viruses are maintained in migratory waterfowl populations. *Jpn J Vet Res* 45, 207-215.
- Takase, K., Yoshinaga, N., Egashira, T., Uchimura, T., Yamamoto, M., 1990. Avian adenovirus isolated from pigeons affected with inclusion body hepatitis. *Nihon Juigaku Zasshi* 52, 207-215.
- Tanimura, N., Tsukamoto, K., Okamatsu, M., Mase, M., Imada, T., Nakamura, K., Kubo, M., Yamaguchi, S., Irishio, W., Hayashi, M., Nakai, T., Yamauchi, A., Nishimura, M., Imai, K., 2006. Pathology of fatal highly pathogenic H5N1 avian influenza virus infection in large-billed crows (*Corvus macrorhynchos*) during the 2004 outbreak in Japan. *Vet Pathol* 43, 500-509.
- Tantawi, H.H., Iman, Z.I., Mare, C.J., Elkaramany, R., Shalaby, M.A., Tayeb, F., 1983. Antigenic Relatedness of Pigeon Herpes Encephalomyelitis Virus to Other Avian Herpesviruses. *Avian Dis* 27, 563-568.
- Telfer, B.L., Moberley, S.A., Hort, K.P., Branley, J.M., Dwyer, D.E., Muscatello, D.J., Correll, P.K., England, J., McAnulty, J.M., 2005. Probable psittacosis outbreak linked to wild birds. *Emerg Infect Dis* 11, 391-397.
- Thieme, S., Muhldorfer, K., Luschow, D., Hafez, H.M., 2016. Molecular Characterization of the Recently Emerged Poultry Pathogen *Ornithobacterium rhinotracheale* by Multilocus Sequence Typing. *PLoS One* 11, e0148158.
- Tiong, S.K., 1990. Mycoplasmas and acholeplasmas isolated from ducks and their possible association with pasteurellas. *Vet Rec* 127, 64-66.
- Tomaszewski, E.K., Phalen, D.N., 2007. Falcon adenovirus in an American kestrel (*Falco sparverius*). *J Avian Med Surg* 21, 135-139.
- Toquin, D., Guionie, O., Jestin, V., Zwingelstein, F., Allee, C., Etteradossi, N., 2006. European and American subgroup C isolates of avian metapneumovirus belong to different genetic lineages. *Virus Genes* 32, 97-103.
- Trampel, D.W., Goll, F., Jr., 1994. Outbreak of *Mycoplasma iowae* infection in commercial turkey poults. *Avian Dis* 38, 905-909.
- Travers, A.F., 1996. Concomitant *Ornithobacterium rhinotracheale* and Newcastle disease infection in broilers in South Africa. *Avian Dis* 40, 488-490.
- Travers, A.F., Coetzee, L., Gummow, B., 1996. Pathogenicity differences between South African isolates of *Ornithobacterium rhinotracheale*. *Onderstepoort J Vet Res* 63, 197-207.
- Tsai, H.J., Huang, C.W., 2006. Phenotypic and molecular characterization of isolates of *Ornithobacterium rhinotracheale* from chickens and pigeons in Taiwan. *Avian Dis* 50, 502-507.
- Tully, J.G., Bove, J.M., Laigret, F., Whitcomb, R.F., 1993. Revised Taxonomy of the Class Mollicutes - Proposed Elevation of a Monophyletic Cluster of Arthropod-Associated Mollicutes to Ordinal Rank (Entomoplasmatales Ord-Nov), with Provision for Familial Rank to Separate Species with Nonhelical Morphology (Entomoplasmataceae Fam-Nov) from Helical Species (Spiroplasmataceae), and Emended Descriptions of the Order Mycoplasmatales, Family Mycoplasmataceae (Vol 43, Pg 383, 1993). *Int J Syst Bacteriol* 43, 630-630.
- Tully, J.G., Razin, S. 1983. Methods in Mykoplasmology. In Recovery and identification of avian mykoplasmata, Jordan, F.T., ed. (New York, Academic Press), 69-79.
- Turpin, E.A., Stallknecht, D.E., Slemmons, R.D., Zsak, L., Swayne, D.E., 2008. Evidence of avian metapneumovirus subtype C infection of wild birds in Georgia, South Carolina, Arkansas and Ohio, USA. *Avian Pathol* 37, 343-351.
- van Beek, P.N., van Empel, P.C., van den Bosch, G., Storm, P.K., Bongers, J.H., du Preez, J.H., 1994. [Respiratory problems, growth retardation and arthritis in turkeys and broilers caused by a

- Pasteurella-like organism: *Ornithobacterium rhinotracheale* or 'Taxon 28']. Tijdschr Diergeneeskd 119, 99-101.
- Van Borm, S., Thomas, I., Hanquet, G., Lambrecht, N., Boschmans, M., Dupont, G., Decaestecker, M., Snacken, R., van den Berg, T., 2005. Highly pathogenic H5N1 influenza virus in smuggled Thai eagles, Belgium. *Emerg Infect Dis* 11, 702-705.
- van den Brand, J.M., Krone, O., Wolf, P.U., van de Bildt, M.W., van Amerongen, G., Osterhaus, A.D., Kuiken, T., 2015. Host-specific exposure and fatal neurologic disease in wild raptors from highly pathogenic avian influenza virus H5N1 during the 2006 outbreak in Germany. *Vet Res* 46, 24.
- van Empel, P., van den Bosch, H., 1998. Vaccination of chickens against *Ornithobacterium rhinotracheale* infection. *Avian Dis* 42, 572-578.
- van Empel, P., van den Bosch, H., Loeffen, P., Storm, P., 1997. Identification and serotyping of *Ornithobacterium rhinotracheale*. *J Clin Microbiol* 35, 418-421.
- van Empel, P., Vrijenhoek, M., Goovaerts, D., van den Bosch, H., 1999. Immunohistochemical and serological investigation of experimental *Ornithobacterium rhinotracheale* infection in chickens. *Avian Pathology* 28, 187-193.
- van Empel, P.C.M., Hafez, H.M., 1999. *Ornithobacterium rhinotracheale*: a review. *Avian Pathology* 28, 217-227.
- van Kuppeveld, F.J., van der Logt, J.T., Angulo, A.F., van Zoest, M.J., Quint, W.G., Niesters, H.G., Galama, J.M., Melchers, W.J., 1992. Genus- and species-specific identification of mycoplasmas by 16S rRNA amplification. *Appl Environ Microbiol* 58, 2606-2615.
- Van Loock, M., Geens, T., De Smit, L., Nauwynck, H., Van Empel, P., Naylor, C., Hafez, H.M., Goddeeris, B.M., Vanrompay, D., 2005. Key role of *Chlamydia psittaci* on Belgian turkey farms in association with other respiratory pathogens. *Vet Microbiol* 107, 91-101.
- van Veen, L., Gruys, E., Frik, K., van Empel, P., 2000. Increased condemnation of broilers associated with *Ornithobacterium rhinotracheale*. *Vet Rec* 147, 422-423.
- Van Wettere, A.J., Ley, D.H., Scott, D.E., Buckanoff, H.D., Degernes, L.A., 2013. *Mycoplasma corogypsi*-associated polyarthritis and tenosynovitis in black vultures (*Coragyps atratus*). *Vet Pathol* 50, 291-298.
- Van Wettere, A.J., Wunschmann, A., Latimer, K.S., Redig, P.T., 2005. Adenovirus infection in taita falcons (*Falco fasciinucha*) and hybrid falcons (*Falco rusticolus* x *Falco peregrinus*). *J Avian Med Surg* 19, 280-285.
- Vandamme, P., Segers, P., Vancanneyt, M., van Hove, K., Mutters, R., Hommez, J., Dewhirst, F., Paster, B., Kersters, K., Falsen, E., et al., 1994. *Ornithobacterium rhinotracheale* gen. nov., sp. nov., isolated from the avian respiratory tract. *Int J Syst Bacteriol* 44, 24-37.
- VanDevanter, D.R., Warrener, P., Bennett, L., Schultz, E.R., Coulter, S., Garber, R.L., Rose, T.M., 1996. Detection and analysis of diverse herpes-viral species by consensus primer PCR. *J Clin Microbiol* 34, 1666-1671.
- Vanrompay, D., Andersen, A.A., Ducatelle, R., Haesebrouck, F., 1993. Serotyping of European isolates of *Chlamydia psittaci* from poultry and other birds. *J Clin Microbiol* 31, 134-137.
- Vindevoel, H., Pastoret, P.P., 1981. Pathogenesis of Pigeon Herpesvirus-Infection. *J Comp Pathol* 91, 415-426.
- Waldow, K., 2009. Untersuchung zur Embryoletalität, Genotypisierung und Resistenzlage aktueller *Ornithobacterium rhinotracheale*-Isolate. Inaugural-Dissertation, Freie Universität Berlin.
- Wang, G., Qu, Y., Wang, F., Hu, D., Liu, L., Li, N., Yue, R., Li, C., Liu, S., 2013. The comprehensive diagnosis and prevention of duck plague in northwest Shandong province of China. *Poult Sci* 92, 2892-2898.
- Ward, F.P., Fairchild, D.G., Vuicich, J.V., 1971. Inclusion body hepatitis in a prairie falcon. *J Wildl Dis* 7, 120-124.
- Ward, M.E., 1983. Chlamydial classification, development and structure. *Br Med Bull* 39, 109-115.
- Webster, R.G., Bean, W.J., Gorman, O.T., Chambers, T.M., Kawakita, Y., 1992. Evolution and ecology of influenza A viruses. *Microbiol Rev* 56, 152-179.

- Wei, L., Zhu, S., Yan, X., Wang, J., Zhang, C., Liu, S., She, R., Hu, F., Quan, R., Liu, J., 2013. Avian metapneumovirus subgroup C infection in chickens, China. *Emerg Infect Dis* 19, 1092-1094.
- Weisburg, W.G., Tully, J.G., Rose, D.L., Petzel, J.P., Oyaizu, H., Yang, D., Mandelco, L., Sechrest, J., Lawrence, T.G., Vanetten, J., Maniloff, J., Woese, C.R., 1989. A Phylogenetic Analysis of the Mycoplasmas - Basis for Their Classification. *J Bacteriol* 171, 6455-6467.
- Wellehan, J.F., Calsamiglia, M., Ley, D.H., Zens, M.S., Amonsin, A., Kapur, V., 2001. Mycoplasmosis in captive crows and robins from Minnesota. *J Wildl Dis* 37, 547-555.
- Wellehan, J.F.X., Gagea, M., Smith, D.A., Taylor, W.M., Berhane, Y., Bienzle, D., 2003. Characterization of a herpesvirus associated with tracheitis in Gouldian finches (*Erythrura [Chloebia] gouldiae*). *J Clin Microbiol* 41, 4054-4057.
- Wernery, U., Remple, J.D., Neumann, U., Alexander, D.J., Manvell, R.J., Kaaden, O.R., 1992. Avian Paramyxovirus Serotype-1 (Newcastle-Disease Virus) - Infections in Falcons. *Journal of Veterinary Medicine Series B-Zentralblatt Fur Veterinarmedizin Reihe B-Infectious Diseases and Veterinary Public Health* 39, 153-158.
- Wernery, U., Wernery, R., Zachariah, R., Kinne, J., 1998. Salmonellosis in relation to chlamydiosis and pox and Salmonella infections in captive falcons in the United Arab Emirates. *Zentralbl Veterinarmed B* 45, 577-583.
- Williams, J., Tallis, G., Dalton, C., Ng, S., Beaton, S., Catton, M., Elliott, J., Carnie, J., 1998. Community outbreak of psittacosis in a rural Australian town. *Lancet* 351, 1697-1699.
- Winteroll, G., 1976. Newcastle-Disease bei Greifen und Eulen. *Praktische Tierarzt* 2, 76-78.
- Wise, M.G., Suarez, D.L., Seal, B.S., Pedersen, J.C., Senne, D.A., King, D.J., Kapczynski, D.R., Spackman, E., 2004. Development of a real-time reverse-transcription PCR for detection of Newcastle disease virus RNA in clinical samples. *J Clin Microbiol* 42, 329-338.
- Wood, G.W., McCauley, J.W., Bashiruddin, J.B., Alexander, D.J., 1993. Deduced amino acid sequences at the haemagglutinin cleavage site of avian influenza A viruses of H5 and H7 subtypes. *Arch Virol* 130, 209-217.
- Wozniakowski, G.J., Samorek-Salamonowicz, E., Szymanski, P., Wencel, P., Houszka, M., 2013. Phylogenetic analysis of Columbidae herpesvirus-1 in rock pigeons, birds of prey and non-raptorial birds in Poland. *BMC Vet Res* 9, 52.
- Yatsentyuk, S.P., Obukhov, I.L., 2007. Molecular genetic characterization of avian *Chlamydia psittaci* isolates. *Russ J Genet+* 43, 1215-1220.
- Yuan, Y., Lyng, K., Zhang, Y.X., Rockey, D.D., Morrison, R.P., 1992. Monoclonal antibodies define genus-specific, species-specific, and cross-reactive epitopes of the chlamydial 60-kilodalton heat shock protein (hsp60): specific immunodetection and purification of chlamydial hsp60. *Infect Immun* 60, 2288-2296.
- Zhu, W., Dong, J., Xie, Z., Liu, Q., Khan, M.I., 2010. Phylogenetic and pathogenic analysis of Newcastle disease virus isolated from house sparrow (*Passer domesticus*) living around poultry farm in southern China. *Virus Genes* 40, 231-235.
- Ziegler, L., Moller Palau-Ribes, F., Schmidt, L., Lierz, M., 2017. Occurrence and Relevance of *Mycoplasma sturni* in Free-Ranging Corvids in Germany. *J Wildl Dis*.
- Zorman-Rojs, O., Zdovc, I., Bencina, D., Mrzel, I., 2000. Infection of turkeys with *Ornithobacterium rhinotracheale* and *Mycoplasma synoviae*. *Avian Dis* 44, 1017-1022.
- Zsivanovits, P., Forbes, N.A., Zvonar, L.T., Williams, M.R., Lierz, M., Prusas, C., Hafez, M.M., 2004. Investigation into the seroprevalence of falcon herpesvirus antibodies in raptors in the UK using virus neutralization tests and different herpesvirus isolates. *Avian Pathol* 33, 599-604.
- Zsivanovits, P., Monks, D.J., Forbes, N.A., Ursu, K., Raue, R., Benko, M., 2006. Presumptive identification of a novel adenovirus in a Harris hawk (*Parabuteo unicinctus*), a Bengal eagle owl (*Bubo bengalensis*), and a Verreaux's eagle owl (*Bubo lacteus*). *J Avian Med Surg* 20, 105-112.
- Zuydam, D.M., 1952. Isolation of Newcastle disease virus from the osprey and the parakeet. *J Am Vet Med Assoc* 120, 88-89.

Zweifel, D., Hoop, R., Sachse, K., Pospischil, A., Borel, N., 2009. Prevalence of *Chlamydophila psittaci* in wild birds-potential risk for domestic poultry, pet birds, and public health? *Eur J Wildlife Res* 55, 575-581.

10. Anhang**Habichtartige (Accipitridae)**

Identifikations-Nr.	Spezies	Geschlecht ¹	Alter ²	Herkunft ³	Kategorie ⁴	Quartal ⁵	Befund ⁶	Erreger ⁷							
								Mykoplasmen	NDV	ORT	TRT	Chlamydien	Herpesviren	Aviadenoviren	AIV
3	Adlerbussard	1	2	3	3	2	6	2	1	2	1	1	1	1	1
4	Steppenadler	2	2	3	3	2	6	2	1	1	1	1	1	1	1
5	Wüstenbussard	2	2	3	3	2	3	2	1	1	1	1	1	1	1
6	Wüstenbussard	1	2	3	3	2	3	2	1	2	1	1	1	1	1
7	Wüstenbussard	2	2	3	3	2	6	2	1	1	1	1	1	1	1
13	Rotmilan	2	1	3	3	2	6	2	1	2	1	1	1	1	1
22	Habicht	1	1	1	1	2	1	1	1	2	1	1	1	1	1
23	Habicht	1	2	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
30	Seeadler	1	2	1	1	3	5	2	1	2	1	1	1	1	1
31	Mäusebussard	0	1	1	1	3	5	2	1	1	1	1	1	1	1
37	Seeadler	0	1	1	1	3	5	2	1	2	1	1	1	1	1
39	Rothabicht	1	1	1	1	3	5	2	1	1	1	1	1	1	1
41	Seeadler	2	2	1	1	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1
65	Mäusebussard	1	1	2	2	3	2	2	1	2	1	1	1	1	1
66	Mäusebussard	2	1	2	2	3	2	2	1	2	1	1	1	1	1
67	Mäusebussard	1	2	2	2	3	6	2	1	1	1	1	1	1	1
78	Sperber	2	1	1	1	3	5	2	1	1	1	1	1	1	1
80	Habicht	0	1	1	1	3	3	1	1	1	1	1	1	1	1
81	Habicht	1	1	1	1	3	1	2	1	1	1	1	1	1	1
82	Mäusebussard	2	2	1	1	2	3	2	1	2	1	1	1	1	1
83	Sperber	1	1	1	1	2	1	2	1	1	1	1	1	1	1
84	Mäusebussard	0	1	1	1	3	1	2	1	1	1	1	1	1	1

Anhang

Identifikations-Nr.	Spezies	Geschlecht ¹	Alter ²	Herkunft ³	Kategorie ⁴	Quartal ⁵	Befund ⁶	Erreger ⁷							
								Mykoplasmen	NDV	ORT	TRT	Chlamydien	Herpesviren	Aviadenoviren	AIV
85	Rothabicht	1	1	1	1	3	5	2	1	1	1	1	1	1	1
86	Sperber	1	1	1	1	3	5	2	1	1	1	1	1	1	1
87	Wespenbussard	0	1	1	1	3	5	2	1	1	1	1	1	1	1
89	Sperber	2	2	1	1	3	5	2	1	2	1	1	1	1	1
93	Sperber	2	1	1	1	3	5	2	1	1	1	1	1	1	1
94	Sperber	2	1	1	1	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1
95	Habicht	1	1	1	1	3	6	1	1	1	1	1	1	1	1
96	Habicht	2	2	1	1	3	5	1	1	1	1	1	1	1	1
97	Habicht	2	1	1	1	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1
98	Sperber	2	2	1	1	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1
100	Mäusebussard	2	2	1	1	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1
101	Habicht	2	2	1	1	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1
103	Rohrweihe	2	1	1	1	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1
106	Seeadler	1	1	1	1	3	4	2	1	1	1	1	1	1	1
107	Mäusebussard	0	1	1	1	3	3	2	1	1	1	1	1	1	1
108	Mäusebussard	0	0	1	1	3	5	2	1	1	1	1	1	1	1
109	Mäusebussard	0	1	1	1	3	5	2	1	1	1	1	1	1	1
112	Sperber	2	1	1	1	3	1	2	1	2	1	1	1	1	1
113	Habicht	0	1	1	1	3	1	2	1	2	1	1	1	1	1
114	Wespenbussard	2	1	1	1	3	1	2	1	1	1	1	1	1	1
116	Habicht	1	1	1	1	3	5	2	1	1	1	1	1	1	1
120	Seeadler	2	2	1	1	4	4	2	1	1	1	1	1	1	1
122	Mäusebussard	0	1	1	1	4	1	2	1	1	1	1	1	1	1
123	Mäusebussard	2	2	1	1	4	6	2	1	1	1	1	1	1	1
125	Mäusebussard	1	2	1	1	4	5	1	1	1	1	1	1	1	1
128	Habicht	2	2	1	1	4	6	1	1	1	1	1	1	1	1
131	Sperber	2	2	1	1	4	1	2	1	1	1	1	1	1	1
132	Mäusebussard	0	1	1	1	4	1	2	1	1	1	1	1	1	1

Anhang

Identifikations-Nr.	Spezies	Geschlecht ¹	Alter ²	Herkunft ³	Kategorie ⁴	Quartal ⁵	Befund ⁶	Erreger ⁷							
								Mykoplasmen	NDV	ORT	TRT	Chlamydien	Herpesviren	Aviadenoviren	AIV
134	Mäusebussard	0	1	1	1	4	5	2	1	1	1	1	1	1	1
135	Mäusebussard	1	1	1	1	4	1	2	1	1	1	1	1	1	1
136	Mäusebussard	2	2	1	1	4	5	1	1	1	1	1	1	1	1
137	Sperber	2	1	1	1	4	5	2	1	2	1	1	1	1	1
138	Sperber	2	1	1	1	4	1	2	1	2	1	1	1	1	1
139	Mäusebussard	2	2	1	1	4	5	2	1	1	1	1	1	1	1
140	Seeadler	0	2	1	1	4	4	2	1	2	1	1	1	1	1
141	Sperber	2	1	1	1	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1
142	Mäusebussard	1	2	1	1	4	5	2	1	1	1	1	1	1	1
144	Mäusebussard	2	2	1	1	4	5	2	1	1	1	1	1	1	1
145	Mäusebussard	2	1	1	1	4	1	2	1	1	1	1	1	1	1
146	Sperber	0	1	1	1	4	5	2	1	2	1	1	1	1	1
147	Sperber	1	1	1	1	4	5	2	1	1	1	1	1	1	1
151	Seeadler	1	2	1	1	1	4	2	1	1	1	1	1	1	1
153	Mäusebussard	1	2	1	1	1	5	2	1	1	1	1	1	1	1
156	Mäusebussard	2	2	1	1	1	6	2	1	1	1	1	1	1	1
157	Sperber	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1
158	Sperber	2	2	1	1	1	6	2	1	1	1	1	1	1	1
159	Habicht	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1
160	Sperber	2	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
161	Mäusebussard	0	0	1	1	1	1	2	1	2	1	1	2	1	1
162	Mäusebussard	0	2	1	1	1	5	2	1	1	1	1	2	1	1
164	Seeadler	2	0	1	1	1	4	2	1	1	1	1	1	1	1
166	Habicht	2	2	1	1	1	5	2	1	1	1	1	1	1	1
167	Mäusebussard	0	0	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1
168	Sperber	1	2	1	1	1	1	2	1	2	1	1	1	1	1
169	Rauhfußbussard	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
170	Habicht	1	0	1	1	1	3	1	1	1	1	1	1	1	1

Anhang

Identifikations-Nr.	Spezies	Geschlecht ¹	Alter ²	Herkunft ³	Kategorie ⁴	Quartal ⁵	Befund ⁶	Erreger ⁷							
								Mykoplasmen	NDV	ORT	TRT	Chlamydien	Herpesviren	Aviadenoviren	AIV
171	Mäusebussard	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
172	Mäusebussard	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
173	Mäusebussard	2	2	1	1	1	4	2	1	1	1	1	1	1	1
174	Mäusebussard	0	0	1	1	1	6	2	1	1	1	1	1	1	1
175	Sperber	2	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1
176	Sperber	2	1	1	1	1	5	1	1	2	1	2	1	1	1
178	Sperber	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
179	Mäusebussard	2	2	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1
182	Mäusebussard	0	2	1	1	2	5	2	1	1	1	1	1	1	1
184	Mäusebussard	2	2	1	1	2	1	2	1	2	1	1	1	1	1
185	Seeadler	0	0	1	1	2	1	2	1	1	1	1	1	1	1
188	Mäusebussard	2	1	1	1	2	1	2	1	1	1	1	1	1	1
190	Habicht	2	2	1	1	2	5	1	1	1	1	1	1	1	1
192	Habicht	1	2	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
193	Steppenweihe	2	2	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
204	Sperber	1	1	1	1	2	5	2	1	1	1	1	1	1	1
205	Mäusebussard	0	2	1	1	2	1	2	1	1	1	1	1	1	1
209	Mäusebussard	0	2	1	1	2	1	2	1	1	1	1	1	1	1
210	Mäusebussard	0	2	1	1	2	1	2	1	1	1	1	1	1	1
211	Mäusebussard	0	2	1	1	2	5	2	1	1	1	1	1	1	1
212	Mäusebussard	0	2	1	1	2	1	2	1	1	1	1	1	1	1
215	Mäusebussard	0	2	1	1	2	5	2	1	1	1	1	1	1	1
216	Mäusebussard	0	0	1	1	2	5	2	1	1	1	1	1	1	1
220	Seeadler	0	1	1	1	2	4	2	1	1	1	1	1	1	1
241	MB	1	1	1	1	3	1	2	1	1	1	1	1	1	1
242	Mäusebussard	1	0	7	1	3	1	2	1	1	1	1	2	1	1
245	Mäusebussard	1	1	2	2	3	5	2	1	1	1	1	1	1	1
246	Wespenbussard	0	1	2	2	3	2	2	1	1	1	1	1	1	1

Anhang

Identifikations-Nr.	Spezies	Geschlecht ¹	Alter ²	Herkunft ³	Kategorie ⁴	Quartal ⁵	Befund ⁶	Erreger ⁷							
								Mykoplasmen	NDV	ORT	TRT	Chlamydien	Herpesviren	Aviadenoviren	AIV
248	Rohrweihe	0	1	2	2	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1
254	Mäusebussard	2	2	2	2	3	5	2	1	1	1	1	1	1	1
255	Mäusebussard	1	2	2	2	3	5	2	1	1	1	1	1	1	1
264	Milan	1	0	7	1	1	4	1	1	1	1	1	1	1	1
265	Milan	1	0	7	1	1	4	1	1	1	1	1	1	1	0
266	Milan	1	0	7	1	1	4	2	1	2	1	1	1	1	0
267	Milan	2	0	7	1	2	4	2	1	1	1	1	1	1	1
V 6	Habicht	2	2	6	3	4	6	1	1	1	1	1	1	1	1
V 12	Wüstenbussard	1	2	6	3	4	6	2	1	1	1	1	1	1	1
V 17	Habicht	2	2	6	3	1	6	1	1	2	1	1	1	1	1
V 21	Habicht	2	2	6	3	1	6	1	1	1	1	1	1	1	1
V 25	Habicht	1	2	6	3	4	6	1	1	1	1	1	1	1	1
V 38	Habicht	2	1	6	3	1	6	1	1	1	1	1	1	1	1
V 43	Wüstenbussard	1	1	6	3	0	6	1	1	1	1	1	1	1	1
V 45	Habicht	2	2	6	3	4	6	1	1	1	1	1	1	1	1

Falkenartige (Falconidae)

Identifikations-Nr.	Spezies	Geschlecht ¹	Alter ²	Herkunft ³	Kategorie ⁴	Quartal ⁵	Befund ⁶	Erreger ⁷							
								Mykoplasmen	NDV	ORT	TRT	Chlamydien	Herpesviren	Aviadenoviren	AIV
8	Sakerfalke	2	2	3	3	2	6	2	1	2	1	1	1	1	1
9	Turmfalke	2	1	3	3	2	6	2	1	2	1	1	1	1	1
10	Wanderfalke	2	2	3	3	2	6	1	1	2	1	1	1	1	1
11	Sakerfalke	2	2	3	3	2	6	2	1	2	1	1	1	1	1
12	Saker-Gerfalke	1	2	3	3	2	3	2	1	2	1	1	1	1	1
19	Turmfalke	0	2	1	1	2	6	1	1	1	1	1	1	1	1
24	Turmfalke	0	1	1	1	2	6	2	1	2	1	1	1	1	1

Anhang

Identifikations-Nr.	Spezies	Geschlecht ¹	Alter ²	Herkunft ³	Kategorie ⁴	Quartal ⁵	Befund ⁶	Erreger ⁷							
								Mykoplasmen	NDV	ORT	TRT	Chlamydien	Herpes-viren	Aviadenoviren	AIV
25	Turmfalke	0	1	1	1	2	2	2	1	2	1	1	1	1	1
26	Turmfalke	0	1	1	1	2	5	2	1	2	1	1	1	1	1
33	Turmfalke	2	1	1	1	3	5	2	1	2	1	1	1	1	1
34	Turmfalke	0	1	1	1	3	2	2	1	1	1	1	1	1	1
35	Turmfalke	0	1	1	1	3	5	2	1	2	1	2	1	1	1
36	Turmfalke	0	1	1	1	3	5	2	1	2	1	2	1	1	1
50	Turmfalke	2	2	2	2	3	6	2	1	2	1	1	1	1	1
51	Turmfalke	1	2	2	2	3	6	2	1	1	1	1	1	1	1
54	Turmfalke	1	2	2	2	3	6	1	1	2	1	1	1	1	1
55	Turmfalke	0	1	2	2	3	2	2	1	2	1	1	1	1	1
56	Turmfalke	0	1	2	2	3	2	2	1	2	1	1	1	1	1
57	Turmfalke	0	1	2	2	3	2	1	1	2	1	1	1	1	1
58	Turmfalke	0	1	2	2	3	2	1	1	2	1	1	1	1	1
59	Turmfalke	0	1	2	2	3	2	2	1	1	1	1	1	1	1
60	Turmfalke	2	2	2	2	3	6	2	1	1	1	1	1	1	1
61	Turmfalke	2	2	2	2	3	6	2	1	2	1	1	1	1	1
63	Turmfalke	2	2	2	2	3	1	2	1	2	1	1	1	1	1
77	Turmfalke	0	1	1	1	3	2	2	1	2	1	1	1	1	1
92	Turmfalke	1	1	1	1	3	5	1	1	1	1	1	1	1	1
104	Turmfalke	2	1	1	1	3	1	2	1	1	1	1	1	1	1
105	Turmfalke	1	2	1	1	3	1	2	1	2	1	1	1	1	1
111	Turmfalke	0	0	1	1	3	5	2	1	1	1	1	1	1	1
115	Saker-Falke	2	2	1	1	3	5	2	1	1	1	1	1	1	1
121	Turmfalke	1	2	1	1	4	5	2	1	2	1	1	1	1	1
130	Turmfalke	1	2	1	1	4	5	2	1	2	1	1	1	1	1
143	Turmfalke	0	1	1	1	4	6	2	1	2	1	1	1	1	1
149	Turmfalke	1	0	1	1	4	5	2	1	2	1	1	1	1	1
181	Turmfalke	1	2	1	1	2	1	2	1	1	1	1	1	1	1

Anhang

Identifikations-Nr.	Spezies	Geschlecht ¹	Alter ²	Herkunft ³	Kategorie ⁴	Quartal ⁵	Befund ⁶	Erreger ⁷							
								Mykoplasmen	NDV	ORT	TRT	Chlamydien	Herpesviren	Aviadenoviren	AIV
187	Turmfalke	1	2	1	1	2	5	1	1	1	1	1	1	1	1
189	Turmfalke	2	2	1	1	2	5	2	1	1	1	1	1	1	1
191	Turmfalke	1	2	1	1	2	1	2	1	1	1	1	1	1	1
198	Turmfalke	2	2	4	2	2	5	1	1	1	1	1	1	1	1
214	Turmfalke	0	1	1	1	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1
217	Turmfalke	0	1	1	1	2	6	2	1	1	1	1	1	1	1
218	Turmfalke	0	1	1	1	2	5	2	1	1	1	1	1	1	1
219	Turmfalke	0	1	1	1	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1
249	Turmfalke	1	2	2	2	3	5	2	1	1	1	1	1	1	1
V 1	Wanderfalke	2	2	6	3	1	6	2	1	2	1	inhibiert	1	1	1
V 3	Wanderfalke	2	2	6	3	4	6	1	1	2	1	1	1	1	1
V 5	Wanderfalke	1	2	6	3	4	5	1	1	1	1	2	1	1	1
V 7	Rotfalke	0	0	6	3	0	6	1	1	1	1	1	1	1	1
V 10	Wanderfalke	2	1	6	3	1	6	2	1	1	1	1	1	1	1
V 18	Wanderfalke	2	1	6	3	4	6	1	1	1	1	1	1	1	1
V 19	Wanderfalke	2	2	6	3	4	6	1	1	1	1	1	1	1	1
V 28	Wanderfalke	0	0	6	3	1	6	2	1	1	1	1	1	1	1
V 36	Wanderfalke	2	1	6	3	3	6	1	1	1	1	1	1	1	1
V 41	Wanderfalke	1	2	6	3	4	6	1	1	1	1	1	1	1	1
V 42	Wanderfalke	2	2	6	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
V 44	Wanderfalke	2	2	6	3	4	6	1	1	2	1	1	1	1	1
V 49	Wanderfalke	1	2	6	3	4	6	1	1	1	1	1	1	1	1

Eulen (Strigidae)

Identifikations-Nr.	Spezies	Geschlecht ¹	Alter ²	Herkunft ³	Kategorie ⁴	Quartal ⁵	Befund ⁶	Erreger ⁷							
								Mykoplasmen	NDV	ORT	TRT	Chlamydien	Herpesviren	Aviadenoviren	AIV
14	Uhu	1	2	3	3	2	6	1	1	1	1	1	1	1	1
16	Waldkauz	1	2	3	3	2	6	1	1	1	1	1	1	1	1
46	Waldkauz	0	1	2	2	3	5	1	1	2	1	1	1	1	1
47	Waldkauz	0	1	2	2	3	2	1	1	1	1	2	1	1	1
48	Waldohreule	0	1	2	2	3	2	1	1	1	1	1	1	1	1
49	Waldkauz	0	2	2	2	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1
62	Waldkauz	1	2	2	2	3	5	1	1	1	1	1	1	1	1
75	Waldkauz	0	1	2	2	3	2	1	1	1	1	1	1	1	1
76	Waldkauz	0	1	2	2	3	2	1	1	1	1	1	1	1	1
110	Waldohreule	0	0	1	1	3	5	2	1	1	1	1	1	1	1
126	Waldkauz	0	0	1	1	4	5	1	1	1	1	1	1	1	1
127	Waldkauz	2	0	1	1	4	1	2	1	1	1	1	1	1	1
129	Rauhfußkauz	2	0	1	1	4	5	1	1	1	1	1	1	1	1
133	Waldohreule	0	2	1	1	4	1	1	1	1	1	1	2	1	1
148	Sumpfohreule	0	0	1	1	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1
150	Waldohreule	0	0	1	1	4	5	2	1	1	1	1	1	1	1
152	Waldohreule	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
154	Waldohreule	2	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
155	Waldohreule	0	2	1	1	1	5	2	1	1	1	1	1	1	1
165	Waldohreule	0	0	1	1	1	4	1	1	1	1	1	1	1	1
177	Waldohreule	0	0	1	1	1	5	2	1	1	1	1	1	1	1
183	Steinkauz	0	1	1	1	2	5	1	1	1	1	1	1	1	1
186	Rauhfußkauz	0	0	1	1	2	5	1	1	1	1	1	1	1	1
194	Waldohreule	0	2	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
195	Waldohreule	0	2	4	2	2	5	1	1	1	1	1	2	1	1
196	Waldkauz	0	2	4	2	2	5	1	1	1	1	1	1	1	1

Anhang

Identifikations-Nr.	Spezies	Geschlecht ¹	Alter ²	Herkunft ³	Kategorie ⁴	Quartal ⁵	Befund ⁶	Erreger ⁷							
								Mykoplasmen	NDV	ORT	TRT	Chlamydien	Herpes-viren	Aviadeno-viren	AIV
197	Waldkauz	0	1	4	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1
202	Waldkauz	2	0	1	1	2	5	2	1	1	1	1	1	1	1
208	Schneeeule	0	0	3	3	2	5	1	1	1	1	1	1	1	1
213	Uhu	0	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
221	Uhu	1	2	7	1	1	5	1	1	1	1	1	2	1	1
222	Steinkauz	0	0	5	2	3	6	1	1	1	1	1	1	1	1
223	Steinkauz	0	0	5	2	3	6	2	1	1	1	1	1	1	1
224	Steinkauz	0	0	5	2	3	6	2	1	1	1	1	1	1	1
225	Steinkauz	0	0	5	2	3	6	2	1	1	1	1	1	1	1
226	Steinkauz	0	0	5	2	3	6	2	1	1	1	1	1	1	1
227	Steinkauz	0	0	5	2	3	6	2	1	1	1	1	1	1	1
228	Steinkauz	0	0	5	2	3	6	1	1	1	1	1	1	1	1
229	Steinkauz	0	0	5	2	3	6	2	1	1	1	1	1	1	1
230	Steinkauz	0	0	5	2	3	6	2	1	1	1	1	1	1	1
231	Steinkauz	0	0	5	2	3	6	1	1	1	1	1	1	1	1
232	Steinkauz	0	0	5	2	3	6	2	1	1	1	1	1	1	1
233	Steinkauz	0	0	5	2	3	6	2	1	1	1	1	1	1	1
234	Steinkauz	0	0	5	2	3	6	1	1	1	1	1	1	1	1
235	Steinkauz	0	0	5	2	3	6	2	1	1	1	1	1	1	1
236	Steinkauz	0	0	5	2	3	6	1	1	1	1	1	1	1	1
237	Steinkauz	0	0	5	2	3	6	2	1	1	1	1	1	1	1
238	Steinkauz	0	0	5	2	3	6	2	1	1	1	1	1	1	1
239	Steinkauz	0	0	5	2	3	6	1	1	1	1	1	1	1	1
240	Steinkauz	0	0	5	2	3	6	2	1	1	1	1	1	1	1
243	Waldkauz	0	1	2	2	3	5	1	1	1	1	1	1	1	1
244	Waldkauz	0	1	2	2	3	2	2	1	1	1	1	1	1	1
247	Uhu	2	2	2	2	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Eulen (Tytonidae)

Identifikations-Nr.	Spezies	Geschlecht ¹	Alter ²	Herkunft ³	Kategorie ⁴	Quartal ⁵	Befund ⁶	Erreger ⁷							
								Mykoplasmen	NDV	ORT	TRT	Chlamydien	Herpesviren	Aviadenoviren	AIV
15	Schleiereule	2	2	3	3	2	6	1	1	1	1	1	1	1	1
17	Schleiereule	0	1	1	1	2	6	2	1	1	1	1	1	1	1
64	Schleiereule	0	1	2	2	3	2	1	1	1	1	1	1	1	1

Rabenartige (Corvidae)

Identifikations-Nr.	Spezies	Geschlecht ¹	Alter ²	Herkunft ³	Kategorie ⁴	Quartal ⁵	Befund ⁶	Erreger ⁷							
								Mykoplasmen	NDV	ORT	TRT	Chlamydien	Herpesviren	Aviadenoviren	AIV
18	Kolkrabe	1	1	1	1	2	6	1	1	1	1	1	1	1	1
27	Nebelkrähe	0	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
28	Nebelkrähe	0	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
29	Nebelkrähe	0	0	1	1	2	6	2	1	1	1	1	1	1	1
32	Nebelkrähe	0	1	1	1	3	2	1	1	1	1	1	1	1	1
42	Nebelkrähe	0	2	1	1	3	5	2	1	2	1	1	1	1	1
43	Rabenkrähe	0	1	2	2	3	2	2	1	2	1	1	1	1	1
44	Rabenkrähe	0	1	2	2	3	2	2	1	2	1	1	1	1	1
45	Rabenkrähe	0	1	2	2	3	2	2	1	2	1	1	1	1	1
52	Elster	0	1	2	2	3	2	2	1	1	1	1	1	1	1
53	Elster	0	1	2	2	3	2	2	1	1	1	1	1	1	1
68	Rabenkrähe	0	1	2	2	3	2	2	1	2	1	1	1	1	1
69	Rabenkrähe	0	1	2	2	3	3	2	1	1	1	1	1	1	1
70	Elster	0	1	2	2	3	2	2	1	2	1	1	1	1	1
71	Elster	0	1	2	2	3	2	1	1	1	1	1	1	1	1
72	Rabenkrähe	0	1	2	2	3	2	2	1	1	1	1	1	1	1

Anhang

Identifikations-Nr.	Spezies	Geschlecht ¹	Alter ²	Herkunft ³	Kategorie ⁴	Quartal ⁵	Befund ⁶	Erreger ⁷							
								Mykoplasmen	NDV	ORT	TRT	Chlamydien	Herpesviren	Aviadenoviren	AIV
73	Rabenkrähe	0	1	2	2	3	2	1	1	1	1	1	1	1	1
74	Elster	0	1	2	2	3	2	1	1	2	1	1	1	1	1
88	Nebelkrähe	0	1	1	1	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1
90	Nebelkrähe	0	2	1	1	3	5	1	1	1	1	1	1	1	1
91	Elster	0	1	1	1	3	5	1	1	1	1	1	1	1	1
99	Nebelkrähe	0	2	1	1	3	1	1	1	2	1	1	1	1	1
102	Nebelkrähe	0	2	1	1	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1
117	Kolkrabe	0	2	1	1	3	1	1	1	1	1	1	2	1	1
118	Nebelkrähe	0	1	1	1	4	5	1	1	1	1	1	1	1	1
119	Nebelkrähe	0	2	1	1	4	5	1	1	1	1	1	1	1	1
124	Nebelkrähe	0	2	1	1	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1
163	Nebelkrähe	0	1	1	1	1	6	1	1	1	1	1	1	1	1
180	Nebelkrähe	0	0	1	1	1	5	2	1	1	1	1	1	1	1
199	Nebelkrähe	0	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
200	Elster	0	2	1	1	2	3	2	1	1	1	1	1	1	1
201	Kolkrabe	0	1	1	1	2	5	1	1	1	1	1	1	1	1
203	Elster	0	1	1	1	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1
206	Nebelkrähe	0	1	1	1	2	5	1	1	1	1	1	1	1	1
207	Nebelkrähe	0	1	1	1	2	5	2	1	1	1	1	1	1	1
250	Kolkrabe	1	2	2	2	3	5	1	1	1	1	1	1	1	1
251	Rabenkrähe	0	1	2	2	3	3	2	1	1	1	1	1	1	1
252	Rabenkrähe	0	1	2	2	3	3	2	1	1	1	1	1	1	1
253	Rabenkrähe	0	1	2	2	3	3	2	1	1	1	1	1	1	1
256	Kolkrabe	2	1	2	2	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Fischadler (Pandionidae)

Identifikations-Nr.	Spezies	Geschlecht ¹	Alter ²	Herkunft ³	Kategorie ⁴	Quartal ⁵	Befund ⁶	Erreger ⁷							
								Mykoplasmen	NDV	ORT	TRT	Chlamydien	Herpesviren	Aviadenoviren	AIV
38	Fischadler	1	1	1	1	3	1	1	1	2	1	1	1	1	1
40	Fischadler	0	1	1	1	3	5	1	1	1	1	1	1	1	1

Neuweltgeier (Cathartidae)

Identifikations-Nr.	Spezies	Geschlecht ¹	Alter ²	Herkunft ³	Kategorie ⁴	Quartal ⁵	Befund ⁶	Erreger ⁷							
								Mykoplasmen	NDV	ORT	TRT	Chlamydien	Herpesviren	Aviadenoviren	AIV
1	Truthahngeier	1	2	3	3	2	6	1	1	2	1	1	1	1	1
2	Truthahngeier	2	2	3	3	2	6	1	1	1	1	1	1	1	1

¹ **Geschlecht:** 0 = nicht bestimmt 1 = männlich 2 = weiblich

² **Alter:** 0 = nicht bestimmt 1 = juvenil 2 = adult

³ **Herkunft:**
 1 = Kleintierklinik, Berlin
 2 = NABU Artenschutzzentrum Leiferde, Niedersachsen
 3 = Falkenhof Potsdam, Brandenburg
 4 = Maison Alford, Frankreich
 5 = Landschaftsförderverein Nuthe-Nieplitz-Niederung e.V., Brandenburg
 6 = Beizvögel verschiedener Bundesländer
 7 = Landesuntersuchungsamt Rheinland-Pfalz

⁴ **Kategorie:**
 1 = Wildvögel, in einer Klinik beprobt
 2 = Wildvögel länger als zwei Wochen in menschlicher Obhut
 3 = Vögel in menschlicher Obhut

⁵ **Quartal:**
 0 = unbekannt
 1 = Januar - März
 2 = April - Juni
 3 = Juli - September
 4 = Oktober - Dezember

⁶ **Befund:**
 1 = Frakturen / Luxationen
 2 = Ästlinge
 3 = Respiratorische Symptome
 4 = Vergiftung
 5 = Anflugtrauma
 6 = Keine Krankheitssymptome

⁷ **Erreger:** 1 = negativ 2 = positiv

Publikationsverzeichnis

- Gutzer, S., D. Lüschoff und H.M. Hafez (2011): Molekularbiologische Untersuchungen zum Vorkommen verschiedener viraler und bakterieller Erreger bei Greif- und Wildvögeln, 6. Doktorandensymposium & DRS Präsentationsseminar „Biomedical Sciences“, Berlin, 1. Juli 2011, Vortrag S. 15
- Gutzer, S., D. Lüschoff und H.M. Hafez (2011): Untersuchungen zum Vorkommen von *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT) bei Wildvögeln, 2. DVG-Tagung über Vogel- und Reptilienkrankheiten, Hannover, 16. bis 18. Sept. 2011, Vortrag S. 141
- Gutzer, S., H.M. Hafez und D. Lüschoff (2011): Molekularbiologische Untersuchungen zum Vorkommen verschiedener viraler und bakterieller Erreger bei Greif- und Wildvögeln, 2. DVG-Tagung über Vogel- und Reptilienkrankheiten, Hannover, 16. - 18. Sept. 2011, Poster S. 261
- Gutzer, S., D. Lüschoff und H.M. Hafez (2012): Molekularbiologische Untersuchungen zum Vorkommen von *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT) bei Greif- und Wildvögeln mittels molekularer und bakteriologischer Verfahren, 7. Doktorandensymposium & DRS Präsentationsseminar „Biomedical Sciences“, Berlin, 13. Juli 2012, Vortrag S. 15
- Gutzer, S., D. Lüschoff und H.M. Hafez (2013): Untersuchung zum Vorkommen von ORT bei Wildvögeln, 85. Fachgespräch über Geflügelkrankheiten, Hannover, 07. – 08. November 2013, Vortrag S. 32-34

Danksagung

Herrn Prof. Dr. Dr. H.M. Hafez danke ich für die Überlassung des Dissertationsthemas sowie die großzügige Bereitstellung sämtlicher für diese Arbeit benötigten Materialien, Geräte und Räumlichkeiten. Mein ganz besonderer Dank gilt ihm aber vor allem für die stets offene Tür, seine uneingeschränkte Hilfsbereitschaft und einen großen Wissenszuwachs auf dem Gebiet der Geflügelkrankheiten sowie der Mikrobiologie.

Frau Dr. Dörte Lüschow möchte ich für ihre umfassende Betreuung dieser Arbeit, inklusive aller fachlichen und logistischen Fragestellungen, herzlich danken. Vor allem aber möchte ich ihr für Ihre wiederholten Ermutigungen, die Geduld, die sie beim Korrekturlesen bewies aber auch für jede kritische Anmerkung herzlich danken.

Weiterhin bedanken möchte ich mich bei allen Mitarbeitern des Institutes für Geflügelkrankheiten der Freien Universität Berlin für die herzliche Aufnahme und die gute Zusammenarbeit. Mein besonderer Dank gilt insbesondere den Mitarbeitern der Bakteriologie und der Molekularbiologie, Frau Birgit Göllner, Frau Gabi Grotehenn, Frau Monika Hildebrandt und Frau Carola Kelz für das Einarbeiten und die fortlaufende Unterstützung bei der Laborarbeit. Bei Frau Dr. Kristin Mühldorfer möchte ich mich für ihre kompetente und stets freundliche Unterstützung bei der Auswertung der bakteriologischen Ergebnisse herzlich bedanken. Herrn Rüdiger Hauck danke ich für seine Unterstützung bei allen statistischen Fragenstellungen.

Mein besonderer Dank gilt Frau PD Dr. Kerstin Müller und ihrem Team der Kleintierklinik der Freien Universität Berlin, Frau Ilka Simm-Schönholz vom Falkenhof Potsdam, Frau Bärbel Rogoschik vom Artenschutzzentrum in Leiferde, Herrn Pascal Arne aus Maison Alford, Dr. Andrea Kohls und den Mitarbeitern des Landesuntersuchungsamtes Rheinland Pfalz für das freundliche zur Verfügung stellen der zahlreichen Greif- und Rabenvögel zur Probenentnahme, die tatkräftige Unterstützung sowie für direktes Probenmaterial verschiedener Vögel.

Von Herzen danke ich meiner Familie für ihre Hilfe und Unterstützung. Mein besonderer Dank gilt dabei meinen Eltern für ihre ständigen Aufmunterungen und das Korrekturlesen des Manuskriptes.

Selbständigkeitserklärung

Hiermit bestätige ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig angefertigt habe.
Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen in Anspruch genommen habe.

Berlin, den 16.10.2017

Stefanie Gutzer



mbvberlin mensch und buch verlag

29,90 Euro | ISBN: 978-3-86387-862-7