

# Inhaltsverzeichnis

	Seiten
<b>1. Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>2. Literatur</b>	<b>5</b>
<b>2.1. Virus der Klassischen Schweinepest (KSP)</b>	<b>5</b>
<b>2.2. Epizootiologie</b>	<b>6</b>
<b>2.3. Klinik</b>	<b>8</b>
<b>2.4. Pathogenese und Pathologie der KSP</b>	<b>11</b>
<b>2.5. Maßnahmen zur Bekämpfung der KSP</b>	<b>12</b>
<b>2.5.1. Gesetzliche Grundlagen auf EU-Ebene</b>	<b>12</b>
<b>2.5.2. Gesetzliche Grundlagen auf Bundesebene</b>	<b>14</b>
<b>2.5.3. Orale Immunisierung (o.I.) des Schwarzwildes als Bekämpfungsstrategie</b>	<b>15</b>
<b>2.5.3.1. Allgemeine Anforderungen an die o.I.</b>	<b>15</b>
<b>2.5.3.2. Immunisierungsverfahren und jagdliche Maßnahmen</b>	<b>17</b>
<b>2.5.3.3. Impfvirus</b>	<b>19</b>
<b>2.5.3.4. Köder</b>	<b>20</b>
<b>2.5.3.5. Zusammenfassung der bisherigen o.I. Erfahrungen und Ergebnisse</b>	<b>21</b>
<b>2.5.4. KSP-Impfstoffe für die o.I.</b>	<b>24</b>
<b>3. Material und Methoden</b>	<b>32</b>
<b>3.1. Material</b>	<b>32</b>
<b>3.1.1. Zelllinien</b>	<b>32</b>
<b>3.1.2. Virusstämme</b>	<b>33</b>
<b>3.1.3. Anzucht- (AZM) und Erhaltungsmedien (EM) für die Zellkultivierung</b>	<b>34</b>
<b>3.1.4. Antikörper (Ak) und Konjugate</b>	<b>36</b>
<b>3.1.5. Chemikalien und Testkits</b>	<b>36</b>
<b>3.1.6. Medikamente</b>	<b>38</b>
<b>3.1.7. Puffer und Lösungen</b>	<b>39</b>
<b>3.1.8. Geräte und Verbrauchsmaterialien</b>	<b>42</b>

<b>3.2. Methoden</b>	<b>45</b>
<b>3.2.1. Probenmaterial</b>	<b>45</b>
<b>3.2.1.1. Probenart und Probengewinnung</b>	<b>45</b>
<b>3.2.1.2. Probenaufarbeitung</b>	<b>45</b>
<b>3.2.1.2.1. Blutbild</b>	<b>45</b>
<b>3.2.1.2.2. Serum</b>	<b>45</b>
<b>3.2.1.2.3. Leukozytenpräparation (Buffy coat)</b>	<b>46</b>
<b>3.2.1.2.4. Tupferproben</b>	<b>46</b>
<b>3.2.1.2.5. Organe</b>	<b>46</b>
<b>3.2.2. Zellkultivierung</b>	<b>47</b>
<b>3.2.2.1. Zellkulturflaschen</b>	<b>47</b>
<b>3.2.2.2. Zellkulturplatten</b>	<b>47</b>
<b>3.2.3. Nachweismethoden für Virus, Antigen (Ag) und virale RNA</b>	<b>47</b>
<b>3.2.3.1. Indirekter Immunperoxidase-Test (IPT)</b>	<b>47</b>
<b>3.2.3.1.1. Virusisolierung aus Organmaterial, Tupferpassagen und Vollblut pi</b>	<b>48</b>
<b>3.2.3.1.2. Virusisolierung aus Vollblut und Serum pv</b>	<b>49</b>
<b>3.2.3.1.3. Titration von Impfvirus</b>	<b>49</b>
<b>3.2.3.1.4. Titration von Challengevirus</b>	<b>50</b>
<b>3.2.3.2. Indirekter Immunfluoreszenztest (IIFT)</b>	<b>50</b>
<b>3.2.3.3. PCR-Methoden</b>	<b>51</b>
<b>3.2.3.3.1. RT-PCR</b>	<b>51</b>
<b>3.2.3.3.1.1. RNA-Isolierung</b>	<b>51</b>
<b>3.2.3.3.1.2. PCR</b>	<b>53</b>
<b>3.2.3.3.1.3. Nested PCR (nPCR)</b>	<b>53</b>
<b>3.2.3.3.1.4. Gelelektrophorese</b>	<b>54</b>
<b>3.2.3.3.2. Real-Time RT-PCR</b>	<b>54</b>
<b>3.2.4. Antikörpernachweis (Ak)</b>	<b>56</b>
<b>3.2.4.1. Virusneutralisationstest (VNT)</b>	<b>56</b>
<b>3.2.4.1.1 Ak gegen KSPV</b>	<b>56</b>
<b>3.2.4.1.2. Ak gegen weitere Pestiviren</b>	<b>57</b>
<b>3.2.4.2. Ak-ELISA</b>	<b>57</b>
<b>3.2.4.2.1. Anti-E2-ELISA “CHEKIT CSF-SERO” (Bommeli)</b>	<b>57</b>
<b>3.2.4.2.2. Anti-E2-ELISA “Ceditest<sup>®</sup> CSFV 2.0” (Cedi-Diagnostics B. V.)</b>	<b>58</b>

3.2.4.2.3. Anti-E <sup>ns</sup> -ELISA “CEDITEST”(Cedi-Diagnostics B. V.)	58
3.2.5. Biostatistische Analyse	59
4. Experimentelle Studien	60
4.1. Köderherstellung und Köderaufnahme	60
4.1.1. Köderentwicklung und Ködervarianten	60
4.1.2. Köderaufnahme	61
4.1.2.1. Ergebnisse	63
4.1.3. Vakzinekapsel	65
4.2. Lyophilisation	66
4.3. Untersuchungen zur Stabilität des Vakzinevirus vom Stamm „C“ und der Chimäre CP7_E2alf	67
4.3.1. „C“-Vakzine: Vergleich der Stabilität von lyophilisierter und flüssiger Vakzine	67
4.3.2. CP7_E2alf: Vergleich der Stabilität von lyophilisierter und flüssiger Vakzine	71
4.4. Tierexperimentelle Studien	75
4.4.1. Untersuchungen zur Wirksamkeit von flüssiger und lyophilisierter „C“-Stamm-Vakzine bei Haus- und Wildschweinen	75
4.4.1.1. Wirksamkeit nach geringer Belastungsinfektion (100 KID <sub>50</sub> /ml)	75
4.4.1.1.1. Versuchsaufbau	75
4.4.1.1.1.1. Ziel des Versuchs	75
4.4.1.1.1.2. Tiermaterial	75
4.4.1.1.1.3. Vakzination	75
4.4.1.1.1.4. Challenge	76
4.4.1.1.1.5. Probenahme	76
4.4.1.1.2. Ergebnisse und Diskussion	77
4.4.1.1.2.1. Klinisches Bild pv und pi	77
4.4.1.1.2.2. Leukozytenwerte	78
4.4.1.1.2.3. Virologische Befunde	81
4.4.1.1.2.4. Serologische Befunde	83
4.4.1.1.2.5. Pathologisch-anatomische Befunde	85
4.4.1.2. Wirksamkeit nach höherer Belastungsinfektion (1.000 KID <sub>50</sub> /ml)	86

<b>4.4.1.2.1. Versuchsaufbau</b>	<b>86</b>
4.4.1.2.1.1. Ziel des Versuchs	86
4.4.1.2.1.2. Tiermaterial	86
4.4.1.2.1.3. Vakzination	87
4.4.1.2.1.4. Challenge	87
4.4.1.2.1.5. Probenahme	87
<b>4.4.1.2.2. Ergebnisse und Diskussion</b>	<b>87</b>
4.4.1.2.2.1. Klinisches Bild pv und pi	88
4.4.1.2.2.2. Leukozytenwerte	90
4.4.1.2.2.3. Virologische Befunde	91
4.4.1.2.2.4. Serologische Befunde	93
4.4.1.2.2.5. Pathologisch-anatomische Befunde	95
<b>4.4.2. Vergleichende Untersuchungen zur Wirksamkeit des lyophilisierten chimären Pestivirus CP7_E2alf und der lyophilisierten „C“-Stamm-Vakzine</b>	<b>96</b>
<b>4.4.2.1. Versuchsaufbau</b>	<b>96</b>
4.4.2.1.1. Ziel des Versuchs	96
4.4.2.1.2. Tiermaterial	96
4.4.2.1.3. Vakzination	97
4.4.2.1.4. Challenge	97
4.4.2.1.5. Probenahme	98
<b>4.4.2.2. Ergebnisse und Diskussion</b>	<b>98</b>
4.4.2.2.1. Klinisches Bild pv und pi	98
4.4.2.2.2. Leukozytenwerte	102
4.4.2.2.3. Virologische Befunde	104
4.4.2.2.4. Serologische Befunde	107
4.4.2.2.5. Pathologisch-anatomische Befunde	110
<b>4.4.3. Untersuchungen zur Effektivität des chimären Pestivirus CP7_E1E2alf im Vergleich mit CP7_E2alf und der „C“-Stamm-Vakzine nach parenteraler Applikation</b>	<b>112</b>
<b>4.4.3.1. Versuchsaufbau</b>	<b>112</b>
4.4.3.1.1. Ziel des Versuchs	112
4.4.3.1.2. Tiermaterial	113
4.4.3.1.3. Vakzination	113

<b>4.4.3.1.4. Challenge</b>	<b>113</b>
<b>4.4.3.1.5. Probenahme</b>	<b>113</b>
<b>4.4.3.2. Ergebnisse und Diskussion</b>	<b>114</b>
<b>4.4.3.2.1. Klinisches Bild pv und pi</b>	<b>114</b>
<b>4.4.3.2.2. Leukozytenwerte</b>	<b>117</b>
<b>4.4.3.2.3. Virologische Befunde</b>	<b>117</b>
<b>4.4.3.2.4. Serologische Befunde</b>	<b>120</b>
<b>4.4.3.2.5. Pathologisch-anatomische Befunde</b>	<b>125</b>
<b>5. Zusammenfassende Diskussion</b>	<b>126</b>
<b>6. Zusammenfassung</b>	<b>140</b>
<b>7. Summary</b>	<b>143</b>
<b>8. Literaturverzeichnis</b>	<b>146</b>
<b>9. Anhang</b>	<b>178</b>
<b>10. Danksagung</b>	<b>179</b>
<b>11. Selbständigkeitserklärung</b>	<b>181</b>