

Aus dem
Bundesinstitut für Risikobewertung in Berlin

und dem
Institut für Parasitologie und Tropenveterinärmedizin,
Fachbereich Veterinärmedizin,
Freie Universität Berlin

**Epidemiologie, Diagnostik und Überwachung
der Trichinellose:
Untersuchungen zum direkten und indirekten Nachweis
von *Trichinella*-Arten beim Schwein**

Habilitationsschrift zur Erlangung der
VENIA LEGENDI
für Parasitologie
am Fachbereich Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Dr. med. vet. Karsten Nöckler
Berlin 2011

Gutachter:

Prof. Dr. Anja Joachim, Wien

Prof. Dr. Marcus Doherr, Bern

Prof. Dr. Ernst Lücker, Leipzig

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):

trichinellosis, *Trichinella*, epidemiology, diagnosis, control, swine

Tag des öffentlich-wissenschaftlichen Vortrags:

18. Februar 2011

INHALTSVERZEICHNIS

Vorwort	1
1 Einleitung und Ziel der Untersuchungen	4
2 Zusammenfassende Darstellung der Ergebnisse	7
2.1 Analyse zum Vorkommen der <i>Trichinella</i> -Arten und zur Bedeutung der humanen Trichinellose in Europa und Deutschland	7
2.1.1 Epidemiologie, Diagnostik, Behandlung und Überwachung der Trichinellose	7
2.1.2 Vorkommen und Bedeutung von <i>Trichinella</i> in Deutschland	10
2.1.3 Epidemiologie der Trichinellose in Deutschland	13
2.1.4 Aspekte zu Klinik, Diagnostik, Meldung und Rückverfolgung bei zwei Trichinellose-Ausbrüchen in Nordrhein-Westfalen, Deutschland, 1998	15
2.2 Bewertung der Methoden zum Nachweis von <i>Trichinella</i> spp.	17
2.2.1 Nachweis einer <i>Trichinella</i> -Infektion bei lebensmittelliefernden Tieren	17
2.2.2 Mischinfektion von <i>Trichinella spiralis</i> und <i>Trichinella pseudospiralis</i> bei einem Wildschwein (<i>Sus scrofa</i>) in Deutschland	20
2.2.3 Vergleich von drei Methoden der künstlichen Verdauung zum Nachweis von nicht eingekapselten <i>Trichinella pseudospiralis</i> Larven in Schweinefleisch	22
2.3 Entwicklung und Beurteilung serologischer Methoden für den indirekten Nachweis der <i>Trichinella</i> -Infektion beim Schwein	24
2.3.1 Experimentelle Untersuchungen beim Schwein zum Nachweis einer <i>Trichinella</i> -Infektion in verschiedenen diagnostischen Matrices	24
2.3.2 Einfluss von Methoden auf den Nachweis einer <i>Trichinella</i> -Infektion bei Schweinen aus einer endemischen und nicht-endemischen Region Europas	26

2.3.3	Evaluierung von Western Blot und ELISA zum Nachweis von anti- <i>Trichinella</i> -IgG in Schweineseren	28
3	Übergreifende Diskussion	30
3.1	Zur aktuellen Situation der Trichinellose in Europa und in Deutschland	30
3.2	Trichinenuntersuchung: Methoden und Anforderungen	35
3.3	Nutzung der Serologie für den indirekten Nachweis der <i>Trichinella</i> -Infektion beim Schwein	39
4	Schlussfolgerungen	44
5	Zusammenfassung	49
6	Summary	52
7	Literaturverzeichnis	55
8	Abkürzungen und Definitionen	71
9	Darstellung des eigenen Anteils an den Arbeiten	73
10	Danksagung	79
11	Anhang (Mitteilungen 1-10)	

VORWORT

Der Habilitationsschrift liegen zehn Mitteilungen zu Grunde. Einleitend wird auf die Bedeutung der Trichinellose bei Mensch und Tier und auf aktuelle Fragen zur Epidemiologie, Diagnostik, Überwachung und Bekämpfung dieser parasitären Zoonose eingegangen.

Inhaltlich gliedert sich die Arbeit in drei Abschnitte, die folgende thematische Zielsetzungen haben:

1. Analyse zum Vorkommen der *Trichinella*-Arten und zur Bedeutung der humanen Trichinellose in Europa und Deutschland
(Mitteilungen 1-4)
2. Bewertung der Methoden zum Nachweis von *Trichinella* spp.
(Mitteilungen 5-7)
3. Entwicklung und Beurteilung serologischer Methoden für den indirekten Nachweis der *Trichinella*-Infektion beim Schwein
(Mitteilungen 8-10)

Zielsetzung, Versuchsdurchführung und die wesentlichen Ergebnisse der einzelnen Untersuchungen werden in Abfolge der Mitteilungen zusammenfassend dargestellt und anschließend übergreifend diskutiert. Bezüglich der verwendeten Methoden und Materialien wird auf die **Mitteilungen 1-10** im Anhang verwiesen. Die sich aus den Untersuchungen ergebenden Erkenntnisse und Empfehlungen für zukünftige Überwachungs- und Bekämpfungsstrategien werden in den Schlussfolgerungen behandelt.

**PUBLIKATIONEN,
DIE BESTANDTEIL DER HABILITATIONSSCHRIFT SIND**

Mitteilung 1:

Gottstein, B., Pozio, E., Nöckler, K. (2009): Epidemiology, diagnosis, treatment, and control of trichinellosis. Clin. Microbiol. Rev. **22**, 127-145.

Mitteilung 2:

Nöckler, K. (2005): Vorkommen und Bedeutung von *Trichinella* in Deutschland. Wien. Tierärztl. Mschr. **92**, 301-307.

Mitteilung 3:

Jansen, A., Schöneberg, I., Stark, K., Nöckler, K. (2008): Epidemiology of Trichinellosis in Germany, 1996-2006. Vector Borne Zoonotic Dis. **8**, 189-196.

Mitteilung 4:

Nöckler, K., Reiter-Owona, I., Heidrich, J., Protz, D., Rehmet, S., Sinn, G., Ammon, A. (2001): Aspects of clinical features, diagnosis, notification and tracing back in connection with two *Trichinella* outbreaks in North Rhine-Westphalia, Germany, 1998. Parasite **8**, 183-185.

Mitteilung 5:

Nöckler, K., Pozio, E., Voigt, W.P., Heidrich, J. (2000): Detection of *Trichinella* infection in food animals. Vet. Parasitol. **93**, 335-350.

Mitteilung 6:

Nöckler, K., Reckinger, S., Pozio, E. (2006): *Trichinella spiralis* and *Trichinella pseudospiralis* mixed infection in a wild boar (*Sus scrofa*) of Germany. Vet. Parasitol. **137**, 364-368.

Mitteilung 7:

Nöckler, K., Reckinger, S., Szabó, I., Maddox-Hyttel, C., Pozio, E., van der Giessen, J., Vallée, I., Boireau, P. (2009): Comparison of three artificial digestion methods for detection of non-encapsulated *Trichinella pseudospiralis* larvae in pork. Vet. Parasitol. **159**, 341-344.

Mitteilung 8:

Nöckler, K., Serrano Aguilera, F.J., Boireau, P., Kapel, C.M.O., Pozio, E. (2005): Experimental studies in pigs on *Trichinella* detection in different diagnostic matrices. Vet. Parasitol. **132**, 85-90.

Mitteilung 9:

Nöckler, K., Hamidi, A., Fries, R., Heidrich, J., Beck, R., Marinculic, A. (2004): Influence of methods for *Trichinella* detection in pigs from endemic and non-endemic European region. J. Vet. Med. B **51**, 297-301.

Mitteilung 10:

Nöckler, K., Reckinger, S., Broglia, A., Mayer-Scholl, A., Bahn, P. (2009): Evaluation of a Western Blot and ELISA for the detection of anti-*Trichinella*-IgG in pig sera. Vet. Parasitol. **163**, 341-347.

1 Einleitung und Ziel der Untersuchungen

Die Trichinellose ist eine bedeutende, weltweit vorkommende lebensmittelbedingte Zoonose, die durch Fadenwürmer der Gattung *Trichinella* verursacht wird (Eckert und Hiepe, 1998). Die Übertragung auf einen neuen Wirt erfolgt ohne exogene Phase ausschließlich oral-alimentär durch Fleisch, welches die infektiösen Muskellarven (Larve 1) enthält. Nach der Infektion findet die Entwicklung und geschlechtliche Vermehrung im Darm statt (Larve 2-4), gefolgt von der Migration der Wanderlarven über das Blut- und Lymphgefäßsystem und der Manifestation der Larve 1 (Hypobiose) in der quergestreiften Muskulatur (Despommier et al., 1975; Hiepe et al., 1985; Joachim, 2006).

Bisher wurden insgesamt 12 *Trichinella*-Genotypen (T1-T12) und 8 eigenständige Spezies (*T. spiralis*, *T. nativa*, *T. britovi*, *T. pseudospiralis*, *T. nelsoni*, *T. murrelli*, *T. papuae*, *T. zimbabwensis*) identifiziert. Diese haben sich im Laufe der Evolution an bestimmte klimatische Bedingungen (Tropen, gemäßigte Klimazonen, Arktis) adaptiert und können ein breites Wirtsspektrum (Warmblüter, Vögel, Reptilien) befallen (Pozio, 2001; Gottstein et al., 2009). Bei den meisten *Trichinella*-Spezies bzw. Genotypen wird mit Ausnahme von *T. pseudospiralis*, *T. papuae* und *T. zimbabwensis* eine Kollagenkapsel in der transformierten Muskelzelle, auch „Amnienzelle“ genannt, ausgebildet (Zarlenga et al., 2006).

Ursache der humanen Trichinellose ist der Verzehr von Fleisch infizierter Tiere, welches nicht oder nicht ordnungsgemäß auf Trichinellen untersucht bzw. nicht einem geeigneten Inaktivierungsverfahren zur Abtötung der Muskellarven unterzogen wurde (Gamble et al., 2000). In Abhängigkeit von Dosis, Virulenz der *Trichinella*-Spezies und Wirtsprädisposition kann die humane Trichinellose mild bis tödlich verlaufen. Zur Untersuchung der Infektionsketten muss zwischen dem domestischen und silvatischen Zyklus unterschieden werden, in denen verschiedene *Trichinella* (*T.*)-Spezies bzw. –Genotypen zirkulieren (Campbell, 1988).

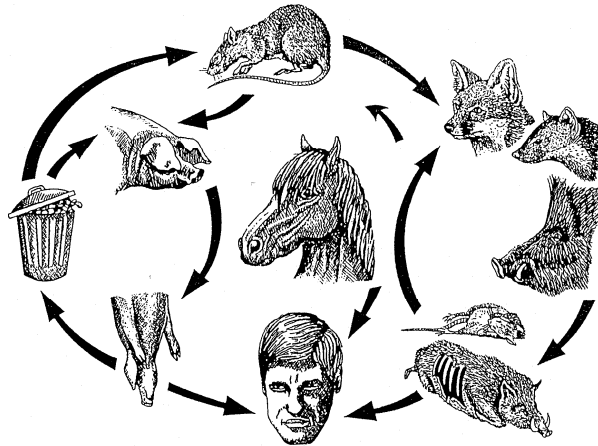


Abbildung 1. Domestischer und sylvatischer Zyklus von *Trichinella* (Soulé, 1991)

Weltweit wird die Anzahl der an Trichinellose erkrankten Personen auf etwa 10 Mio. Fälle geschätzt (Dupouy-Camet, 2000). In Abhängigkeit der Verzehrsgewohnheiten kann neben Schweinefleisch auch das Fleisch von anderen mit Trichinellen infizierten Haustieren (z.B. Pferd und Hund) oder Wildtieren (z.B. Wildschwein, Bär, Puma und Walross) als Infektionsquelle in Betracht kommen (Margolis et al., 1979; Dworkin et al., 1996; Ancelle, 1998; Dubinsky et al., 2001; Nelson et al., 2003; Gallardo et al., 2007).

Unter Berücksichtigung der regional unterschiedlichen epidemiologischen Situation einerseits und der Globalisierung von Handel, Verkehr und Tourismus andererseits sind Maßnahmen auf verschiedenen Ebenen notwendig, um den Menschen vor einer Trichinellose zu schützen. Im Vordergrund stehen fleischhygienische Maßnahmen zur Verhütung dieser parasitären Zoonose beim Menschen. Diese stehen unter der veterinärmedizinischen Kontrolle und erstrecken sich vom Herkunftsbestand der Tiere bis zum Konsumenten nach dem Prinzip from „stable to table“ (Großklaus, 2001; Hiepe und Dauschies, 2006). Zur Überwachung der Trichinellose wurden auf Ebene der EU verschiedene gesetzliche Regelungen erlassen. Im Vordergrund stehen die Zoonosen-Richtlinie (European Community, 2003) und die Verordnung (EG) Nr. 2075/2005 zur Durchführung der Trichinenuntersuchung (European Community, 2005), welche für die einzelnen Mitgliedsländer unmittelbar rechtswirksam sind. Nach

der Zoonosen-Richtlinie ist von den Mitgliedsländern der EU ein Monitoring zur Trichinellose bei Mensch und Tier durchzuführen und die Daten jährlich der EFSA zu übermitteln. Die Verordnung (EG) Nr. 2075/2005 schreibt vor, dass alle geschlachteten Schweine und alle anderen für den menschlichen Verzehr bestimmten Tiere, die Träger von Trichinellen sein können (insbesondere Wildschwein und Pferd), auf diesen Muskelparasiten zu untersuchen sind. Neben der lückenlosen Untersuchung insbesondere solcher Tiere mit einem höheren Infektionsrisiko (z.B. Wildschweine, Hausschweine aus Freilandhaltung) muss die für die Trichinenuntersuchung angewandte Methode eine ausreichende Nachweisempfindlichkeit aufweisen. Unter besonderer Berücksichtigung der Haltungsbedingungen besteht die Möglichkeit einer risikoorientierten Trichinenuntersuchung für Mastschweine aus Beständen mit einem geschlossenen Haltungssystem, wo das Risiko einer Infektion vernachlässigt werden kann. Für diese Bestände ist eine systematische Trichinenuntersuchung der Tierkörper nach der Schlachtung nicht mehr notwendig. Dieser Ansatz setzt jedoch eine umfassende Risikobewertung zum Vorkommen von *Trichinella* und der Bedeutung für den Verbraucher voraus. Im Rahmen der Zertifizierung solcher Betriebe sind spezifische Maßnahmen durch den Lebensmittelunternehmer und die zuständige Behörde zu ergreifen. Nach der Zertifizierung ist der Status eines solchen Bestandes kontinuierlich zu überwachen. Dazu können neben den herkömmlichen Methoden der künstlichen Verdauung auch serologische Methoden eingesetzt werden, welche vorher auf ihre Eignung zu überprüfen sind.

Ziel der eigenen Untersuchungen war es, eine Bewertung zum Vorkommen und zur Bedeutung der Trichinellose mit Blickwinkel auf die epidemiologische Situation in Europa und speziell in Deutschland vorzunehmen sowie die für die Trichinenuntersuchung eingesetzten Methoden für den direkten Erregernachweis bzw. den indirekten serologischen Nachweis nach ihrer Aussagekraft insbesondere für das Schwein anhand von experimentellen und Felduntersuchungen zu beurteilen.

2 Zusammenfassende Darstellung der Ergebnisse

2.1 Analyse zum Vorkommen der *Trichinella*-Arten und zur Bedeutung der humanen Trichinellose in Europa und Deutschland

2.1.1 Epidemiologie, Diagnostik, Behandlung und Überwachung der Trichinellose

Mitteilung 1

Gottstein, B., Pozio, E., Nöckler, K. (2009): Epidemiology, diagnosis, treatment, and control of trichinellosis. Clin. Microbiol. Rev. **22**, 127-145.

Am Anfang des Übersichtsartikels wird auf die Biologie und die weltweite Verbreitung der verschiedenen *Trichinella*-Spezies und –Genotypen eingegangen. Nach Auswertung der aktuellen Daten wird gezeigt, dass bezogen auf die Situation in Europa insgesamt 4 *Trichinella*-Spezies (*T. spiralis*, *T. britovi*, *T. nativa* und *T. pseudospiralis*) in bestimmten Regionen von epidemiologischer Bedeutung sind (s. Tabelle 1 sowie Abbildungen 2 und 3). *T. spiralis* stellt dabei die Hauptinfektionsquelle für den Menschen durch den Verzehr des Fleisches infizierter Schweine dar (Pozio and Murrell, 2006). *T. spiralis* ist die natürlicherweise beim Hausschwein vorkommende Spezies, kann aber auch Wildschweine und Wildkarnivoren im silvatischen Zyklus befallen und unter bestimmten Bedingungen (Freilandhaltung, Zufütterung von Wildabfällen) von dort zurück in den domestischen Zyklus eingetragen werden (Pozio, 2001). *T. britovi* ist die zweithäufigste Ursache für Trichinellose-Fälle beim Menschen insbesondere nach dem Verzehr des Fleisches infizierter Wildtiere. Diese Spezies wird im silvatischen Zyklus hauptsächlich bei Wildkarnivoren aber auch bei Wildschweinen nachgewiesen und kann auch Hausschweine infizieren (Pozio et al., 2009a). *T. nativa* verfügt über kältetolerante Eigenschaften und infiziert die in der arktischen und subarktischen Region lebenden Wildtiere, wie Bären, Füchse und Walrösser. Hausschweine dagegen sind gegenüber *T. nativa*

kaum empfänglich. Durch *T. nativa* verursachte Trichinellose-Fälle beim Menschen werden hauptsächlich auf den Verzehr von Bärenfleisch zurückgeführt. *T. pseudospiralis* befällt ebenfalls Wildkarnivoren und -omnivoren, gelegentlich auch Schweine. Diese Spezies wurde in Zusammenhang mit Trichinellose-Fällen beim Menschen nach dem Verzehr von Wildschweinfleisch nachgewiesen (Ranque et al., 2000). Im Vergleich zu den vorgenannten Spezies kann *T. pseudospiralis* neben Säugern auch Vögel infizieren und bildet in der Muskulatur ihrer Wirte keine Kollagenkapsel aus (Pozio, 2005).

Im Weiteren wird in dieser Übersichtsarbeit auf die Grundsätze der Trichinenuntersuchung bezüglich Probenentnahme, Untersuchungsmenge und Methodenwahl bei den Haus- und Wildtieren eingegangen. Die unterschiedlichen Methoden der Trichinenuntersuchung (Direktnachweis), die Probenentnahmen bei den verschiedenen Tierarten und die serologischen Methoden werden unter Punkt 2.2 bzw. 2.3 detailliert beschrieben.

In dieser Mitteilung wird weiterhin gezeigt, dass die Trichinellose im engen Zusammenhang mit den lokalen Verzehrsgewohnheiten (d.h. Verzehr von rohem oder nicht ausreichend erhitztem Fleisch) steht und sich das Risiko durch den Konsum des Fleisches von Wildtieren oder von im Freiland gehaltenen Tieren in Endemiegebieten deutlich erhöht (Pozio, 2007a). Ein Beispiel dafür ist die Häufung von Trichinellose-Fällen in bestimmten ethnischen Gruppen (z.B. in Transsylvanien, Rumänien), die an alten Traditionen zur Herstellung von Rohfleischprodukten festhalten (Blaga et al., 2007). Selbst bei Muslimen, die aufgrund ihrer Religion kein Schweinefleisch verzehren, kam es zu Trichinellose-Fällen, nachdem zur Herstellung eines lokalen Gerichtes Rindergehacktes illegal mit Schweinefleisch gemischt wurde (Akkoc et al., 2009). Es wird auch auf die Bedeutung von Pferdefleisch eingegangen, denn dieses spielte über längere Zeit in Europa eine große Rolle in Zusammenhang mit Trichinellose-Ausbrüchen in Frankreich und Italien, verursacht durch *T. spiralis* und *T. britovi* (Pferde aus Osteuropa, Kanada, Mexiko) sowie *T. murrelli* (Pferde aus USA) (Boireau et al., 2000).

Obgleich gelegentlich eine Kontamination des pflanzlichen Futters mit Fleischresten kontaminierter Nager nicht ganz ausgeschlossen werden kann, basiert die Erklärung der Infektion der Pferde eher darauf, dass die nicht artgerechte Zufütterung von Fleischabfällen vor der Vermarktung die primäre Eintragsquelle ist.

In der Übersichtsarbeit wird darauf hingewiesen, dass sich die Feststellung der humanen Trichinellose im Wesentlichen auf die folgenden drei Elemente stützt: (1) das klinische Bild, (2) die Labordiagnose und (3) den epidemiologischen Zusammenhang. Das klinische Bild der Trichinellose in den ersten Tagen der Infektion ist mit Bauchschmerz, Übelkeit und Fieber (Vermehrungsphase des Parasiten im Darm) eher unspezifisch. Erst mit dem Einsetzen der Muskelschmerzen und ödematösen Veränderungen im Gesicht und den Gliedmaßen (Migrations- und Muskelphase) verhärtet sich der Verdacht auf eine Trichinellose (Dupouy-Camet et al., 2002).

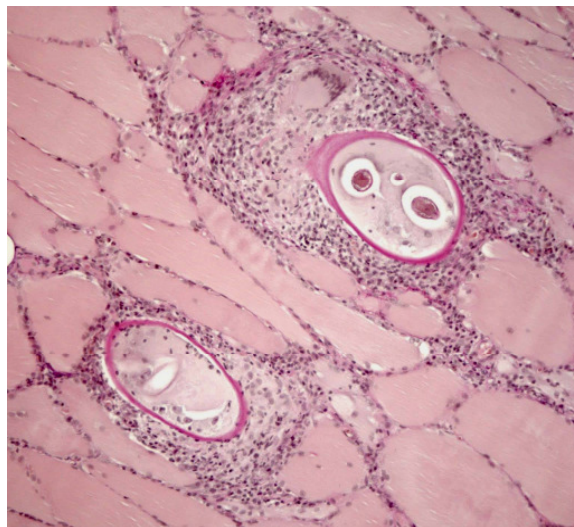


Abbildung 2. Histologisches Präparat aus einer an Trichinellose erkrankten Frau, *Trichinella spiralis*-Larven mit Zellinfiltraten im umliegenden Muskelgewebe (HE-Färbung, Aufnahme: Klinikum Neubrandenburg)

Die Diagnose erfolgt im Wesentlichen durch den Nachweis spezifischer Antikörper (anti-*Trichinella*-IgM und -IgG) im Blutserum des Patienten mit dem ELISA, wobei eine Serokonversion frühestens zwei Wochen nach Infektion auftritt (Brusci et al., 1990). Wenn möglich, sollte ein Western Blot (WB) als Bestätigungstest durchgeführt werden, um falsch-positive Ergebnisse ausschließen zu können (Nuñez et al., 2000). Im Rahmen der epidemiologischen Untersuchungen werden u.a. Informationen zur Reiseanamnese und den Verzehrsgewohnheiten gesammelt und ein möglicher Zusammenhang mit weiteren exponierten bzw. erkrankten Personen geprüft. Für eine erfolgreiche Therapie ist eine frühe Diagnose von entscheidender Bedeutung, da mit längerem Krankheitsverlauf die in der Muskulatur eingekapselten Larven durch den Wirkstoff nicht mehr wirksam abgetötet werden können (Pozio et al., 2001a). Für die Behandlung der Trichinellose wird Mebendazol in einer Dosierung von 200-400 mg (3x täglich) über drei Tage gefolgt von 400-500 mg (3x täglich) über weitere zehn Tage empfohlen. Unterstützend sollten Steroide, wie Prednisolon in einer Dosierung von 30-60 mg pro Tag gegeben werden (Shimoni et al., 2007).

Am Ende des Übersichtsartikels wird auf die Notwendigkeit der Überwachungs- und Bekämpfungsmaßnahmen zum Schutz des Menschen vor Trichinellose eingegangen. Grundlage dafür bilden die nationalen bzw. übergreifenden Rechtsgrundlagen der EU, wobei die Maßnahmen entsprechend der epidemiologischen Situation regional unterschiedlich sein können.

2.1.2 Vorkommen und Bedeutung von *Trichinella* in Deutschland

Mitteilung 2

Nöckler, K. (2005): Vorkommen und Bedeutung von *Trichinella* in Deutschland. Wien. Tierärztl. Mschr. **92**, 301-307.

In dieser Mitteilung wird die aktuelle Situation zum Vorkommen von *Trichinella* spp. bei den Haus- und Wildtieren in Deutschland beschrieben. Es wird dargestellt, welche Bedeutung die

Trichinellose für den Menschen auch unter Berücksichtigung der Globalisierung von Verkehr, Handel und Tourismus mit besonderem Bezug auf die epidemiologische Situation in Europa hat.

Zur Beurteilung des *Trichinella*-Vorkommens in Deutschland wurden die vom Statistischen Bundesamt (Fachserie 4.3) herausgegebenen Daten aus der amtlichen Trichinenuntersuchung für Schwein, Pferd und Wildschwein ausgewertet. Es wird gezeigt, dass die *Trichinella*-Infektion beim Hausschwein in Deutschland praktisch nicht mehr vorkommt. So wurden bei lediglich einem von 210 Mio. untersuchten Schlachtschweinen (Untersuchungszeitraum 1999-2003) Trichinellen nachgewiesen. Es handelte sich um ein im Jahr 2003 geschlachtetes Schwein eines kleinbäuerlichen Betriebes aus dem Landkreis Neuss (Nordrhein-Westfalen). Vermutlich hatte sich das Schwein während der Freilandhaltung über Wildkadaver mit Trichinellen infiziert. Eine Information zur Bestimmung der *Trichinella*-Spezies lag für diesen Fall nicht vor. Alle im oben genannten Zeitraum untersuchten 16.871 Schlachtpferde waren in der Trichinenuntersuchung negativ. Während der domestische Zyklus in Deutschland nicht existiert, sind jedoch verschiedene *Trichinella*-Spezies im silvatischen Zyklus autochthon. Nach den Ergebnissen der Trichinenuntersuchung beim Schwarzwild (*Sus scrofa*) lag die *Trichinella*-Prävalenz in Deutschland zwischen 0,001 und 0,01 % (Untersuchungszeitraum 1991-2003). Aus den Wildschwein-Isolaten wurde dabei ausschließlich *T. spiralis* bestimmt. Es konnte gezeigt werden, dass bezüglich des regionalen Vorkommens von *Trichinella* beim Wildschwein ein Nord-Süd-Gefälle in Deutschland besteht, wobei in Baden-Württemberg und Bayern am häufigsten positive Fälle (12 bzw. 13 auf 100.000 Untersuchungen) auftraten. Im Rahmen verschiedener Monitoringprogramme wurden auch Rotfüchse (*Vulpes vulpes*) und Marderhunde (*Nyctereutes procyonoides*) in verschiedenen Regionen Deutschlands auf Trichinellen untersucht. Die Auswertung der Daten ergab, dass in Abhängigkeit von Untersuchungszeitraum (1985-1998) und Anzahl der Proben (1750-7103) sowie Herkunft (Schles-

wig-Holstein, Niedersachsen, Brandenburg, Hessen, Thüringen, Baden-Württemberg, Bayern) die *Trichinella*-Prävalenz beim Fuchs bis 0,2% betrug (Wagner and Frank, 1989; Wacker et al., 1999; Hoffmann et al., 2000), und es wurde aus den Larvenisolaten neben *T. spiralis* auch *T. britovi* bestimmt. Im Vergleich dazu war die *Trichinella*-Prävalenz (*T. spiralis*) bei den in Brandenburg untersuchten 120 Marderhunden (1998-1999) mit 5% deutlich höher (Thiess et al., 2001).

Im Weiteren wird auf die Rolle der humanen Trichinellose eingegangen, die in Deutschland nach §7 Absatz 1 Infektionsschutzgesetz (IfSG) seit dem Jahr 2001 meldepflichtig bei Erkrankung oder Tod ist. Grundlage der Meldung ist die vom RKI festgelegte Faldefinition, nach welcher eine akute klinische Infektion durch den direkten oder indirekten Nachweis bestätigt werden muss. Nach Auswertung der Daten tritt die Trichinellose in Deutschland mit bis zu 10 gemeldeten Fällen pro Jahr selten auf und steht in der Regel in Zusammenhang mit sogenannten „importierten Erregern“ aus Regionen, wo die Trichinellose im domestischen Zyklus noch endemisch ist (Nöckler et al., 2002). In dieser Mitteilung wird darauf hingewiesen, dass es gelegentlich in Deutschland auch zu größeren autochthonen Trichinellose-Ausbrüchen kam. In diesen Fällen handelte es sich um das Fleisch von infizierten Schweinen aus Freilandhaltung, die nicht ordnungsgemäß einer Trichinenuntersuchung unterzogen wurden. Im Jahr 1967 erkrankten 269 Personen in Diez (Rheinland-Pfalz) an Trichinellose nach dem Verzehr von Hackfleisch (Anders et al., 1969) und im Jahr 1982 wurde über 402 Erkrankungen aus Bitburg (Rheinland-Pfalz) nach dem Verzehr von Mettwurst berichtet (Stein, 1983). Auch das Fleisch infizierter Wildschweine spielte eine Rolle, was aus dem Ausbruch in Ebermannstadt (Bayern) im Jahr 1977 mit 69 Personen nach dem Verzehr von Rohwurst deutlich wird (Teuber et al., 1979).

In der Mitteilung wird auch die Situation für Europa analysiert und festgestellt, dass *Trichinella* spp. in den meisten westeuropäischen Ländern ausschließlich im silvatischen Zyklus bei

verschiedenen Wildtieren vorkommt, wobei mit der Zunahme der Wildpopulation mit einem Anstieg der Prävalenz zu rechnen ist. Lediglich in einigen Regionen Finnlands und Spaniens kommt der domestische Zyklus mit *T. spiralis* beim Schwein vor (Pozio, 1998, 2001). Die bis zum Jahr 2000 über einen Zeitraum von 20 Jahren gesammelten Daten zeigen, dass die meisten Trichinellose-Fälle in der Bevölkerung der EU-Mitgliedsländer auf den Verzehr von Pferdefleisch (mehr als 3300 Fälle in Frankreich und Italien), Schweinefleisch (mehr als 1800 Fälle in Spanien, Frankreich, Österreich und Deutschland) sowie Wildschweinfleisch (mehr als 1300 Fälle in Frankreich, Deutschland, Italien und Spanien) zurückzuführen waren (European Commission, 2001). Während die durch Pferde- und Schweinefleisch verursachten Trichinellosen zumeist importiert wurden, waren die durch Wildschweinfleisch verursachten Fälle in der Mehrzahl auf autochthone Infektionen zurückzuführen.

Auch in Osteuropa ist *Trichinella* spp. im silvatischen Zyklus mit zum Teil hohen Prävalenzen beim Wild verbreitet. So ist z.B. die Befallshäufigkeit bei Wildschwein und Fuchs im Nachbarland Polen mit bis zu 0,5% bzw. 7,5% um ein Vielfaches höher als in Deutschland (Malczewska et al., 1997; Ramisz et al., 2001). Neben dem silvatischen Zyklus existiert in vielen Ländern Osteuropas auch der domestische Zyklus mit *T. spiralis* beim Hausschwein, von welchem wiederum ein Großteil der Trichinellose-Fälle beim Menschen ausgeht (Dupouy-Camet, 2000).

2.1.3 Epidemiologie der Trichinellose in Deutschland

Mitteilung 3

Jansen, A., Schöneberg, I., Stark, K., Nöckler, K. (2008): Epidemiology of Trichinellosis in Germany, 1996-2006. *Vector Borne Zoonotic Dis.* **8**, 189-196.

Bis zum Ende des 19. Jahrhunderts trat die Trichinellose beim Menschen mit mehr als 12.500 Fällen (1861-1890) in Deutschland endemisch auf. Erst nachdem im Jahr 1900 deutschland-

weit die Trichinenuntersuchung beim Schwein eingeführt wurde, konnte mit etwa 700 Trichinellose-Fällen (1910-1939) eine deutliche Verbesserung der Situation erreicht werden (Hinz, 1991). Dank der systematischen Überwachung (Verbesserung der Bestandshygiene, Trichinenuntersuchung, etc.) zählt heutzutage die Trichinellose zu den erfolgreich bekämpften Zoonosen in Deutschland und einer Reihe anderer europäischer Länder (Pozio, 2000).

Zur Untersuchung der Epidemiologie der in Deutschland festgestellten Trichinellose-Fälle beim Menschen wurden die Daten des von 1996-2006 durchgeführten nationalen Surveillance ausgewertet. Von den insgesamt gemeldeten 131 Fällen erfüllten 95 (70%) die Kriterien der Falldefinition (**Mitteilung 2**) und wurden in die Auswertung einbezogen. Bezogen auf den Untersuchungszeitraum des Surveillance lag die durchschnittliche jährliche Inzidenz für die Trichinellose in Deutschland bei 0,01 Fällen auf 100.000 Einwohner. Während das Verhältnis zwischen den an Trichinellose erkrankten Frauen und Männern mit 47 bzw. 53% relativ ausgeglichen war, lag die höchste alterbezogene Inzidenz bei Personen mit 20-29 Jahren (0,02 pro 100,000) und die niedrigste bei Personen mit 70 Jahren oder älter vor (0,001 pro 100,000). Bemerkenswert war der signifikant höhere Anteil der an Trichinellose erkrankten Personen mit Migrationshintergrund (0,3 pro 100,000). Die reiseassoziierten 26 Trichinellosen (27%) wurden in der Mehrzahl der Fälle mit Aufenthalten in den Ländern der ehemaligen Republik Jugoslawien (Serbien-Montenegro, Bosnien-Herzegowina, Kroatien), Rumänien, Polen und der Türkei in Verbindung gebracht. Die mittlere Diagnosedauer für die an Trichinellose erkrankten Personen betrug 49 Tage. Als dominante Symptome wurden Muskelschmerzen (83%), Fieber (69%), Durchfall (53%) und Gesichtssödeme (44%) festgestellt. 46 Personen (48%) mussten während der Zeit ihrer Erkrankung stationär behandelt werden.

72 Trichinellose-Fälle (76%) standen in Zusammenhang mit Ausbrüchen. Insgesamt handelte es sich um 12 Ausbrüche mit 2 bis 23 beteiligten Personen. Für 81 Personen mit Trichinellose (85%) lag eine Information zum ursächlichen Lebensmittel vor, wobei in 75 Fällen (93%) der

Verzehr von Schweinefleisch oder daraus hergestellten Produkten (überwiegend mit Herkunft aus Endemiegebieten) die Hauptinfektionsquelle war. In 6 Fällen (7%) wurde Wildschweinefleisch als Infektionsquelle angegeben (5x importiert, 1x autochthon). Sofern *Trichinella*-Isolate für die Speziesbestimmung zur Verfügung standen, wurde ausschließlich *T. spiralis* identifiziert.

In dieser Mitteilung wird gezeigt, dass in Deutschland die Trichinellose unter bestimmten Bedingungen noch von Bedeutung für die öffentliche Gesundheit ist. Dazu zählen insbesondere Personen mit Auslandsaufenthalten in Risikogebieten, wo *Trichinella* im domestischen Zyklus vorkommt oder wenn Lebensmittel aus solchen Gebieten eingeführt werden. Aber auch mit Trichinellen infizierte einheimische Wildschweine können ein Risiko darstellen, wenn deren Fleisch nicht ordnungsgemäß auf Trichinellen untersucht worden ist (Pozio, 2000).

2.1.4 Aspekte zu Klinik, Diagnostik, Meldung und Rückverfolgung bei zwei Trichinellose-Ausbrüchen in Nordrhein-Westfalen, Deutschland, 1998

Mitteilung 4

Nöckler, K., Reiter-Owona, I., Heidrich, J., Protz, D., Rehmet, S., Sinn, G., Ammon, A. (2001): Aspects of clinical features, diagnosis, notification and tracing back in connection with two *Trichinella* outbreaks in North Rhine-Westphalia, Germany, 1998. *Parasite* **8**, 183-185.

Ogleich die Trichinellose in Deutschland relativ selten auftritt und es sich zumeist um eine importierte Erkrankung handelt, traten gelegentlich größere Trichinellose-Ausbrüche auf, die auf den Verzehr von Schweine- oder Wildschweinefleisch oder daraus hergestellten Rohprodukten zurückzuführen waren (**Mitteilung 2**). In dieser Mitteilung wird über eine Häufung

von Trichinellose-Fällen in 11 Städten von Nordrhein-Westfalen im Jahr 1998 berichtet und auf Fragen zur Diagnostik, Meldung und Ermittlung der Infektionsquelle eingegangen.

Über einen Gesamtzeitraum von etwa 14 Wochen wurde bei 52 Personen eine Trichinellose festgestellt. Die Diagnose erfolgte auf der Grundlage der klinischen Symptome und Laboruntersuchungen. Bei 5 Personen (10%) verlief die Infektion asymptomatisch. Als häufigste Beschwerden bei den an Trichinellose erkrankten 47 Personen traten Muskelschmerzen (77%), Fieber (33%) und Kopfschmerzen (55%), gefolgt von Darmbeschwerden (38%), Muskelschwäche (32%) und Abgeschlagenheit (30%), sowie Gliedmaßenödeme (25%), Gesichtsödeme (23%), Durchfall (23%) und Juckreiz (23%) auf. Der Zeitraum vom Auftreten der klinischen Symptome bei der ersten erkrankten Person bis zur Diagnostik im Labor betrug etwa 5 Wochen. Grundlage der Labordiagnose war die Feststellung einer Eosinophilie und/oder der Nachweis spezifischer *Trichinella*-Antikörper mit den empfohlenen serologischen Methoden ELISA, IFAT oder WB (Robert et al., 1996; Dupouy-Camet et al., 2002). Die Bestätigungsuntersuchung mit dem ELISA im Nationalen Referenzlabor (NRL) für Trichinellose in Berlin ergab Serumtiter von 1:80 bis 1:1280 für anti-*Trichinella*-IgM und 1:80 bis 1:2560 für anti-*Trichinella*-IgG. Vom ersten diagnostizierten Fall vergingen etwa 7 Wochen bis zur Meldung an das zuständige Gesundheitsamt. Der Meldezeitraum für alle 52 betroffenen Personen erstreckte sich dabei über insgesamt 16 Wochen.

Nach den Ergebnissen der durchgeführten Fall-Kontrollstudie wurden zwei Infektionsquellen für die Erkrankungen in Nordrhein-Westfalen ermittelt. Dabei waren 44 Trichinellose-Fälle auf den Verzehr von Mettwurst in zehn Städten Nordrhein-Westfalens und 8 auf Hackfleisch (Mettmann) zurückzuführen (Rehmet et al., 1999). Die fragliche Mettwurstcharge wurde aus gefrorenem Schweinefleisch aus Belgien bzw. Deutschland und aus frischen Sauennackeln aus Spanien hergestellt. Proben von den betreffenden Mettwürsten standen für die Bestätigungsuntersuchung nicht mehr zur Verfügung. Es war jedoch möglich, aus zwei Haushalten tiefge-

forene Reste des in Frage kommenden Hackfleisches durch das zuständige Veterinär- und Lebensmittelüberwachungsamt für eine Untersuchung im NRL für Trichinellose sicherzustellen. Dabei wurden in einer der Hackfleischproben Trichinellen nachgewiesen und als *T. spiralis* identifiziert. Das Hackfleisch stammte aus einem Supermarkt in Mettmann und wurde aus frischem Schweine- und Rindfleisch verschiedener Zulieferer aus Belgien, den Niederlanden und Deutschland hergestellt. Es konnte nicht endgültig geklärt werden, woher das trichinöse Schweinefleisch kam.

2.2 Bewertung der Methoden zum Nachweis von *Trichinella* spp.

2.2.1 Nachweis einer *Trichinella*-Infektion bei lebensmittelliefernden Tieren

Mitteilung 5

Nöckler, K., Pozio, E., Voigt, W.P., Heidrich, J. (2000): Detection of *Trichinella* infection in food animals. *Vet. Parasitol.* **93**, 335-350.

In diesem Übersichtsartikel werden sowohl die klassischen Methoden für den direkten Nachweis von Trichinellen in der Muskulatur als auch die indirekten Methoden zum blutserologischen Nachweis bei den verschiedenen Tierarten beschrieben und deren Anwendung für die Untersuchung bei Schlachttieren zum Zweck der Lebensmittelgewinnung und bei Reserviertieren zur Durchführung epidemiologischer Studien analysiert.

Es wird gezeigt, dass die Zuverlässigkeit der direkten Methoden zum Nachweis der Trichinellen in der Muskulatur im Wesentlichen von den folgenden drei Faktoren abhängt: (1) Stelle der Probenahme, (2) Untersuchungsmenge, (3) Art der Methode.

Zur Ermittlung der Prädilektionsstellen wurden die Daten aus experimentellen Infektionen mit *Trichinella* spp. bei unterschiedlichen Tierarten ausgewertet. Danach waren beim Schwein die Muskulatur von Zwerchfell, Zunge und Masseter (Gamble, 1996; Kapel et al., 1998), beim

Pferd Zunge und Masseter (Soulé et al., 1993; Gamble et al., 1996) und beim Wildschwein die Muskulatur von Zwerchfell, Unterarm und Zunge (Van Knapen et al., 1996; Kapel, 2000) am häufigsten mit Trichinellen befallen. Bei mit *T. spiralis* bzw. *T. nativa* infizierten Silberfüchsen (*Vulpes vulpes fulva*) und Polarfüchsen (*Alopex lagopus*) wurden Zwerchfell- und Unterarmmuskulatur als geeignete Prädilektionsstellen identifiziert (Kapel et al., 1995; Nöckler and Voigt, 1998).

Mit steigender Untersuchungsmenge kann die Sensitivität der Methode erhöht werden. Für die Trichinenuntersuchung beim Schwein sollten mit einer Methode der künstlichen Verdauung mindestens 1g von der Zwerchfellmuskulatur untersucht werden. Mit Erhöhung der Untersuchungsmenge auf 5g, wie für Pferd und Wildschwein empfohlen, wird die Sensitivität der Methode adäquat erhöht (Forbes and Gajadhar, 1999). Auch bei Reservoirtieren, wie z.B. Fuchs und Marderhund, sollten mindestens 5g untersucht werden, da positive Tiere oftmals eine relativ niedrige Larvenbefallsrate in der Muskulatur aufweisen (Gamble et al., 2000).

Bereits in den 60iger Jahren des 19. Jahrhunderts wurde auf maßgebliche Initiative Rudolph Virchows die Trichinoskopie mittels Kompressorium für die Einzeluntersuchung von Schlachtschweinen in Deutschland eingeführt und stellte über mehr als 100 Jahre die Standardmethode dar (Hinz, 1991). Erst mit Einführung der Methode der künstlichen Verdauung von Muskelproben mittels Pepsin wurde Ende der 70iger Jahre des 20. Jahrhunderts eine neue Qualität in der Trichinenuntersuchung erreicht. Mit dieser Methode ist es möglich, Poolproben im Gesamtansatz von 100g zu untersuchen und auch Larven solcher *Trichinella* spp., welche keine Kollagenkapsel in der Muskulatur ihrer Wirte bilden (z.B. *T. pseudospiralis*), problemlos nachzuweisen. Deshalb wird hervorgehoben, dass die Methode der künstlichen Verdauung die Methode der Wahl für die Trichinenuntersuchung bei den relevanten Tierarten darstellt.

Im Übersichtsartikel wird weiterhin auf die Serodiagnostik zum Zweck des indirekten Nachweises einer Infektion mittels *Trichinella*-Antikörper in Blutserum oder Fleischsaft bei verschiedenen Tierarten eingegangen. Methode der Wahl ist dabei ein indirekter ELISA auf Basis eines hochspezifischen exkretorisch-sekretorischen (E/S) Antigens, welches aus *in vitro* kultivierten Muskellarven (Larve 1) gewonnen wird (Gamble et al., 1988). Dieser E/S-ELISA wurde zum Nachweis von anti-*Trichinella*-IgG für Schwein, Pferd und Fuchs entwickelt und evaluiert.

In dieser Mitteilung wird darauf hingewiesen, dass bezüglich Spezifität und Sensitivität des ELISA verschiedene Faktoren beachtet werden müssen. So sollte das verwendete *Trichinella*-Antigen eine hohe Spezifität aufweisen, um Kreuzreaktionen gegen Antikörper, die durch Infektionen mit Helminthen anderer Gattungen induziert werden, auszuschließen. Andererseits sollte innerhalb der Gattung *Trichinella* eine hohe Kreuzantigenität bestehen, so dass Antikörper gegen alle in Frage kommenden Spezies mit nur einem Testantigen nachgewiesen werden können. Nach Auswertung der Ergebnisse experimenteller Studien bei Schwein, Pferd und Fuchs kann die Serokonversion in Abhängigkeit von der Infektionsdosis 2 bis etwa 7 Wochen nach Primärinfektion betragen (Smith and Snowdon, 1989; Gamble, 1996; Gamble et al., 1996; Nöckler and Voigt, 1998). Wie Ergebnisse aus Studien zur Langzeitinfektion zeigen, kann anti-*Trichinella*-IgG bei infizierten Schweinen und Füchsen sehr lange im Blutserum persistieren und problemlos mit dem ELISA nachgewiesen werden (Nöckler et al., 1995; Nöckler and Voigt, 1998). Im Gegensatz dazu kommt es bei experimentell mit *T. spiralis* infizierten Pferden relativ schnell zu einem Titerabfall von anti-*Trichinella*-IgG und falsch-negativen serologischen Ergebnissen im ELISA bei positiven Larvenfunden in der Muskulatur dieser Tiere (Soulé et al., 1989, 1993; Voigt et al., 1998). Auch infizierte Schlachtpferde mit einer relativ hohen Befallsrate von Trichinellen in der Muskulatur waren im ELISA seronegativ (Pozio et al., 1997).

2.2.2 Mischinfektion von *Trichinella spiralis* und *Trichinella pseudospiralis* bei einem Wildschwein (*Sus scrofa*) in Deutschland

Mitteilung 6

Nöckler, K., Reckinger, S., Pozio, E. (2006): *Trichinella spiralis* and *Trichinella pseudospiralis* mixed infection in a wild boar (*Sus scrofa*) of Germany. *Vet. Parasitol.* **137**, 364-368.

In dieser Mitteilung wird der Fund einer Mischinfektion von *T. spiralis* und *T. pseudospiralis* in der Zwerchfellmuskulatur eines in Mecklenburg-Vorpommern erlegten Wildschweins beschrieben. Bemerkenswert ist, dass es sich um den ersten Fund von *T. pseudospiralis* in Deutschland überhaupt handelte und eine Mischinfektion speziell für diese zwei Spezies zum ersten Mal weltweit beschrieben werden konnte.

In diesem Fall handelte es sich um ein Wildschwein (weiblich, ca. 40 kg), welches in Zirchow (Insel Usedom) geschossen und in der Trichinenuntersuchung positiv getestet wurde. Zur Bestätigung und Bestimmung der *Trichinella*-Spezies wurden Muskelproben dieses Tieres an das NRL für Trichinellose geschickt. Aus der Muskulatur konnte eine Vielzahl von Trichinen mit der Verdauungsmethode isoliert und eine Befallsrate von 922 Lpg Muskulatur ermittelt werden. Auffällig bei der mikroskopischen Untersuchung der Verdauungsflüssigkeit waren kleinere und größere Larven mit einer durchschnittlichen Länge von 700 bzw. 1100 µm, die in einem Verhältnis von 22% bzw. 78% vorlagen. In der Multiplex-PCR (Pozio and La Rosa, 2003) wurden diese Larven als *T. pseudospiralis* bzw. *T. spiralis* typisiert und vom Europäischen Referenzlabor für Parasiten in Rom bestätigt.

Bezüglich der Genese dieser Mischinfektion wird davon ausgegangen, dass sich das Wildschwein zuerst mit *T. pseudopsiralis* und danach mit *T. spiralis* infiziert hat. Aus Infektionsstudien zu diesen beiden Spezies im Mausmodell ist bekannt, dass nach Primärinfektion mit *T. spiralis* eine Manifestation der Larven in der Muskulatur nach Sekundärinfektion mit *T.*

pseudospiralis nicht erfolgte, jedoch im Fall einer Primärinfektion mit *T. pseudospiralis* eine protektive Immunantwort nach Challenge nicht zu beobachten war, d.h. nach Sekundärinfektion die *T. spiralis* Larven in der Muskulatur nachgewiesen wurden (Ooi et al., 1987).

Bei der Nachuntersuchung von Zwerchfellmuskulatur des Wildschweins mit der Trichinoskopie (Kompressorium) konnten im Muskelgewebe sowohl *Trichinella*-Larven mit einer Kollagenkapsel (*T. spiralis*) als auch Larven ohne Kapselbildung (*T. pseudospiralis*) nachgewiesen werden. Dabei waren die Larven von *T. pseudospiralis* im Vergleich zu denen von *T. spiralis* im Kompressorium aufgrund der fehlenden Kollagenkapsel nur sehr schwer erkennbar.

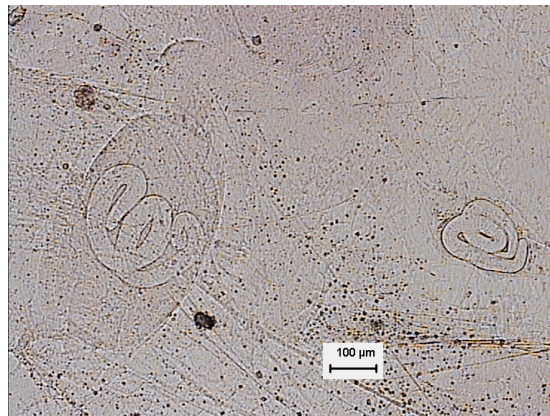


Abbildung 3. Mischinfektion von *Trichinella spiralis* (links) und *Trichinella pseudospiralis* (rechts) in der Zwerchfellmuskulatur eines Wildschweins (Kompressorium, Aufnahme BfR)

In der Mitteilung wird hervorgehoben, dass das Fleisch infizierter Wildschweine ein potentielles Risiko für den Verbraucher darstellen kann, zumal die Befallsrate bei diesem Tier außergewöhnlich hoch war. Deshalb wird empfohlen, dass die für den menschlichen Verzehr geschossenen Wildschweine ausnahmslos auf Trichinellen untersucht werden, wobei für die Trichinenuntersuchung ausschließlich eine Methode der künstlichen Verdauung durchgeführt werden sollte. Mit dieser Methode kann gegenüber der Trichinoskopie durch die Untersuchung einer größeren Probenmenge eine bessere Nachweisempfindlichkeit erreicht und die

Larven von *T. pseudospiralis* problemlos in der Verdauungsflüssigkeit nachgewiesen werden. Weiterhin wird in Zusammenhang mit dem Erstnachweis von *T. pseudospiralis* in Deutschland auf die Notwendigkeit von Wildmonitorings hingewiesen, um zu klären, welche Wildtiere ein natürliches Reservoir für diese *Trichinella*-Spezies sind.

2.2.3 Vergleich von drei Methoden der künstlichen Verdauung zum Nachweis von nicht eingekapselten *Trichinella pseudospiralis* Larven in Schweinefleisch

Mitteilung 7

Nöckler, K., Reckinger, S., Szabó, I., Maddox-Hyttel, C., Pozio, E., van der Giessen, J., Vallée, I., Boireau, P. (2009): Comparison of three artificial digestion methods for detection of non-encapsulated *Trichinella pseudospiralis* larvae in pork. *Vet. Parasitol.* **159**, 341-344.

Nach der Verordnung (EG) Nr. 2075/2005 (European Community, 2005) ist die Trichinenuntersuchung nach dem Prinzip der künstlichen Verdauung durchzuführen, wobei insgesamt vier Methoden zulässig sind. In den EU-Mitgliedsländern werden dabei am häufigsten das Magnetrührverfahren, gefolgt vom Trichomatic-35® und der Stomacher-Methode durchgeführt (Webster et al., 2006). In einer Laborvergleichsuntersuchung mit NRL's aus 5 EU-Mitgliedsländern wurden erstmals diese drei Methoden auf ihre Sensitivität zum Nachweis von *T. pseudospiralis* in Schweinefleisch überprüft.

Zur Gewinnung des trichinösen Fleisches wurde ein 7 Monate altes Schwein mit 40.000 Larven von *T. pseudospiralis* (Stamm ISS 176) experimentell infiziert und 18 Wochen danach getötet. Bei der Sektion wurde Muskulatur von Zwerchfell, Zunge, Masseter, Schulter, Rücken, Vorder- und Hinterbein entnommen und für jeweils 100g die Larvenbefallsrate mit dem Magnetrührverfahren bestimmt. Für die Laborvergleichsuntersuchung wurden die Fleischproben derart aufbereitet, dass pro durchgeführte Methode jeweils 10 Fleischproben zu je 1 g mit

einer Larvenbefallsrate von 7 bzw. 17 Lpg an die 5 Labors (A, B, C, D, E) verschickt wurden. Drei der Labors (A, B, E) führten die Trichinenuntersuchung mit dem Magnetrührverfahren, zwei mit dem Trichomatic-35® (C, D) und eins mit der Stomacher-Methode (B) durch. Die statistische Auswertung der quantitativen Ergebnisse zum Nachweis von *T. pseudospiralis* in den Fleischproben mit 7 bzw. 17 Lpg erfolgte zum einen nach der durchgeführten Methode und zum anderen nach dem teilnehmenden Labor. Für jede der drei durchgeführten Methoden wurde außerdem die Variabilität zur Anzahl der nachgewiesenen Larven in den Fleischproben mit 7 bzw. 17 Lpg untersucht. Zu diesem Zweck wurde für jede der Methoden ein Toleranzbereich (Mittelwert zur Anzahl der nachgewiesenen Larven \pm 1 Standardabweichung) bestimmt und für jede Methode ermittelt, wie oft die Ergebnisse zur Larvenzahl innerhalb bzw. außerhalb dieses Toleranzbereiches lagen.

Die in der Mittelung dargestellten Ergebnisse zeigen, dass in Abhängigkeit von der durchgeführten Methode für die Proben mit 7 Lpg die Anzahl der nachgewiesenen Larven mit der Stomacher-Methode signifikant höher war als mit dem Magnetrührverfahren, wogegen für die Proben mit 17 Lpg keine signifikanten Unterschiede zwischen den drei Methoden festzustellen waren. Wesentlich deutlicher waren die Unterschiede zur Anzahl der nachgewiesenen Larven beim Vergleich der Ergebnisse zwischen den fünf Labors. Dabei wurden für die Proben mit 7 Lpg vom Labor E signifikant weniger Larven nachweisen als vom Labor B. Für die Proben mit 17 Lpg war die Nachweisrate im Labor E im Vergleich zu den Labors A, B und D signifikant niedriger, wobei auch das Labor B signifikant weniger Larven als das Labor D nachwies. Bezüglich der Variabilität zur Anzahl der in den Fleischproben nachgewiesenen Larven traten die geringsten Unterschiede (d.h. quantitative Ergebnisse zur Larvenzahl, welche außerhalb des Toleranzbereiches lagen) mit dem Magnetrührverfahren, gefolgt von der Stomacher-Methode und dem Trichomatic-35® auf.

Insgesamt zeigen die Ergebnisse dieser Studie, dass alle drei nach dem Prinzip der künstlichen Verdauung durchgeführten Methoden geeignet sind, um *T. pseudospiralis* in Fleischproben nachzuweisen. Die Unterschiede zur Anzahl der nachgewiesenen Larven waren dabei weniger auf die Methode sondern auf die individuellen Ergebnisse der teilnehmenden Labors zurückzuführen. In diesem Zusammenhang wird auf die Notwendigkeit der Qualitätssicherung in der Trichinenuntersuchung hingewiesen. Bei abweichenden Ergebnissen muss durch das Labor für die entsprechende Methode eine Identifikation der relevanten Fehlerquellen (CCP's) erfolgen (Gamble et al., 2000).

2.3 Entwicklung und Beurteilung serologischer Methoden für den indirekten Nachweis der *Trichinella*-Infektion beim Schwein

2.3.1 Experimentelle Untersuchungen beim Schwein zum Nachweis einer *Trichinella*-Infektion in verschiedenen diagnostischen Matrices

Mitteilung 8

Nöckler, K., Serrano Aguilera, F.J., Boireau, P., Kapel, C.M.O., Pozio, E. (2005): Experimental studies in pigs on *Trichinella* detection in different diagnostic matrices. Vet. Parasitol. **132**, 85-90.

Ziel dieser experimentellen Studie war es, bei zwei Schweinerassen aus unterschiedlichen Haltungssystemen die Antikörperantwort und die Larvenbefallsrate in der Muskulatur in Abhängigkeit von der *Trichinella*-Spezies und Infektionsdosis zu untersuchen. Zu diesem Zweck wurden insgesamt 72 etwa 10 Wochen alte Schweine aus SPF-Haltung (Deutsches Edelschwein) und aus Freilandhaltung mit Eichelmast (Iberisches Schwein) mit 200, 1000 und 20.000 Larven von *T. spiralis*, *T. nativa*, *T. britovi* bzw. *T. pseudospiralis* infiziert (jeweils 3 Tiere pro Gruppe). Von jedem Tier wurden Blutproben zweimal vor der Infektion und an-

schließlich am 5., 10., 15., 25., 30., 40., 50. und 60. Tag p.i. entnommen und mit dem ELISA auf Basis eines *in vitro* hergestellten E/S-Antigens von *T. spiralis* auf Serumantikörper (anti-*Trichinella*-IgG) untersucht (Nöckler et al., 1995). Nach der Tötung am 60. Tag p.i. wurden von jedem Tier jeweils 50-100g von 9 verschiedenen Muskelpartien (Zwerchfell-, Zungen-, Kau-, Schulter-, Bauch-, Vorder- und Hinterbein-, Zwischenrippen-, sowie Rückenmuskulatur) auf die Lavenbefallsrate mit der Methode der künstlichen Verdauung (Magnetrührverfahren) untersucht (European Community, 2005) und aus der Zwerchfellmuskulatur gewonnener Fleischsaft analog dem Serum mit dem ELISA auf Antikörper getestet.

Mit den Ergebnissen zur Larvenbefallsrate konnte gezeigt werden, dass die Empfänglichkeit für das Iberische Schwein im Vergleich zum Deutschen Edelschwein für *T. spiralis*, ähnlich und für *T. britovi* und *T. pseudospiralis* deutlich höher war. Als Prädilektionsstelle wurde für beide Rassen die Zwerchfellmuskulatur, sowie die Zungen- und Kaumuskulatur ermittelt, wobei die höchste Larvenbefallsrate in der Muskulatur jeweils nach Infektion mit *T. spiralis*, gefolgt von *T. britovi* und *T. pseudospiralis* vorlag. Gegenüber *T. nativa* zeigten beide Rassen selbst bei hoher Infektionsdosis eine sehr geringe, vernachlässigbare Empfänglichkeit.

Für beide Rassen bestand eine Korrelation zwischen Serokonversion (d.h. der Zeitpunkt des Erstnachweises von anti-*Trichinella*-IgG im Blutserum) und Infektionsdosis sowie *Trichinella*-Spezies. Beim Deutschen Edelschwein waren Serumantikörper frühestens 25Tage p.i. bei einer Dosis von 20.000 Larven für *T. spiralis* (durchschnittliche Befallsrate in der Muskulatur: 417 Lpg) sowie 30 und 40 Tage p.i. für *T. britovi* (4 Lpg) bzw. *T. pseudospiralis* (10 Lpg) nachweisbar. Vergleichbare Ergebnisse zur Serokonversion wurden für das Iberische Schwein mit 25 Tagen p.i. für *T. spiralis* (durchschnittliche Befallsrate in der Muskulatur: 539 Lpg) sowie 30 und 40 Tagen p.i. für *T. britovi* (123 Lpg) bzw. *T. pseudospiralis* (99 Lpg) ermittelt, wobei die Larvenbefallsraten für die beiden letzten Spezies beim Iberischen Schwein deutlich höher lagen. Bei einer geringeren Dosis von 1000 bzw. 200 Larven verlängerte sich analog

der Zeitpunkt der Serokonversion auf bis zu 60 Tage p.i. oder Antikörper waren noch nicht nachweisbar. Mit sinkender Dosis nahm die Larvenbefallsrate analog ab und lag nach Infektion mit 200 Larven von *T. britovi* und *T. pseudospiralis* bei den meisten Tieren unter 1Lpg. Im Vergleich dazu führte eine hohe Infektionsdosis mit *T. nativa* nicht zu einer nennenswerten Larvenbefallsrate in der Muskulatur bei beiden untersuchten Schweinerasen. Bemerkenswert war allerdings, dass es nach Infektion mit 20.000 *T. nativa*-Larven zu einer starken Antikörperreaktion mit Serokonversion nach 25 und 30 Tagen p.i. beim Deutschen Edelschwein bzw. Iberischen Schwein kam.

Für alle drei untersuchten Infektionsdosen konnte trotz unterschiedlicher Empfänglichkeit zwischen beiden Rassen für das Deutsche Edelschwein und das Iberische Schwein eine hohe Korrelation zwischen den Serumantikörpern in Blutserum (Verdünnung 1:100) und Fleischsaft der Zwerchfellmuskulatur (Verdünnung 1:10) nach Infektion mit *T. spiralis* (0,98/0,89), *T. britovi* (0,94/0,98), *T. pseudospiralis* (0,97/0,90) und *T. nativa* (0,94/0,94) nachgewiesen werden. Allerdings sind in der Frühphase der Infektion aufgrund der verzögerten Serokonversion und späteren Nachweismöglichkeit der Antikörper negative Ergebnisse im ELISA auch bei hoher Larvenbefallsrate in der Muskulatur nicht auszuschließen.

2.3.2 Einfluss von Methoden auf den Nachweis einer *Trichinella*-Infektion bei Schweinen aus einer endemischen und nicht-endemischen Region Europas

Mitteilung 9

Nöckler, K., A. Hamidi, R. Fries, J. Heidrich, R. Beck, A. Marinculic (2004): Influence of methods for *Trichinella* detection in pigs from endemic and non-endemic European region. J. Vet. Med. B **51**, 297-301.

In einer vergleichenden Studie wurden Schlachtschweine aus zwei Regionen mit unterschiedlicher epidemiologischer Situation mittels direkter und indirekter Nachweismethoden auf *Tri-*

chinella spp. untersucht. Zu diesem Zweck wurden von jedem Schwein 10 g Zwerchfellmuskulatur mit der Verdauungsmethode nach dem Magnetrührverfahren (European Community, 2005) getestet und beim Nachweis von Muskellarven die *Trichinella*-Spezies mit der Multiplex-PCR nach einem modifizierten Protokoll von Zarlenga et al. (1999) bestimmt. Außerdem wurden von jedem Tier Blutserum und Fleischsaft der Zwerchfellmuskulatur mit dem ELISA (Nöckler et al., 1995) auf *Trichinella*-Antikörper (IgG) untersucht. In Kroatien, wo der domestische *Trichinella*-Zyklus beim Hausschwein noch existiert (Marinculic et al., 2001; Stojcevic et al., 2004), wurden 163 Schweine aus zwei Betrieben mit geschlossener Haltung und 63 Schweine aus vier kleinbäuerlichen Betrieben mit Freilandhaltung untersucht. In Deutschland ohne einen existierenden domestischen Zyklus beim Hausschwein (**Mitteilung 2**) wurden 1176 Tiere aus zwei Betrieben mit geschlossener Haltung und 225 Tiere aus drei Betrieben mit Freilandhaltung untersucht. Unabhängig von der Haltungsform erwiesen sich alle 1401 Schweine aus den deutschen Betrieben in der Verdauungsmethode *Trichinella*-negativ, was durch die serologischen Ergebnisse im ELISA (mit Ausnahme von vier schwach-positiv reagierenden Fleischsaftproben) bestätigt werden konnte. Ein vergleichbares Ergebnis wurde für die Schweine der kroatischen Betriebe mit geschlossener Haltung festgestellt, wobei lediglich ein Serum im ELISA eine schwach-positive Reaktion zeigte. Im Gegensatz dazu waren bei 11 Schweinen (17%) aus den vier kleinbäuerlichen Betrieben Muskellarven mit Befallsraten von 0,17 Lpg bis 696 Lpg nachweisbar. Mit der Multiplex-PCR wurden die Larven, soweit möglich (die Larven von drei Proben waren bereits degeneriert), als *T. spiralis* identifiziert. Bei 8 bzw. 9 dieser positiven Schweine konnten *Trichinella*-Antikörper im Blutserum und Fleischsaft mit dem ELISA nachgewiesen werden. Unter Annahme, dass die Verdauungsmethode den Goldstandard darstellt, lagen Sensitivität und Spezifität für den Serum- und Fleischsaft-ELISA bei 72,7 und 99,6% bzw. bei 81,8 und 99,3%. Bei der Beurteilung sollte jedoch berücksichtigt werden, dass der Anteil der *Trichinella*-positiven Schweine

an der Gesamtzahl der untersuchten Tiere relativ gering war. Nach den Ergebnissen des ELISA zum Nachweis von *Trichinella*-Antikörpern bestand eine gute Übereinstimmung zwischen den Serum- und Fleischsaftproben der untersuchten Schweine (Kappa-Wert 0,78).

Die Ergebnisse zeigen, dass bei Vorliegen des domestischen Zyklus das Risiko einer Infektion mit Trichinellen bei Schweinen aus kleinbäuerlichen Betrieben deutlich höher ist. Bei Verwendung einer größeren Untersuchungsmenge (in diesem Fall 10g Muskulatur) können auch positive Tiere mit einer geringen Larvenbefallsrate von weniger als 1 Lpg mit der Digestionsmethode *post mortem* identifiziert werden. Außerdem ist es möglich, *Trichinella*-positive Tiere *in vivo* durch die Untersuchung von Serum- bzw. Fleischsaftproben mit dem ELISA zumindest auf Bestandesebene nachzuweisen.

2.3.3 Evaluierung von Western Blot und ELISA zum Nachweis von anti-*Trichinella*-IgG in Schweineseren

Mitteilung 10

Nöckler, K., Reckinger, S., Broglia, A., Mayer-Scholl, A., Bahn, P. (2009): Evaluation of a Western Blot and ELISA for the detection of anti-*Trichinella*-IgG in pig sera. *Vet. Parasitol.* **163**, 341-347.

Zur Überwachung von Schweinebeständen auf die Freiheit von Trichinellen müssen die dafür eingesetzten serologischen Tests eine hohe Sensitivität und Spezifität aufweisen. In einer Studie wurden ELISA (E/S-Antigen von *T. spiralis*) und WB (somatisches Antigen von *T. spiralis*) vergleichend untersucht und deren Eignung als Screening- bzw. Bestätigungstest für die serologische *Trichinella*-Diagnostik bewertet. Die dafür verwendeten Seren stammten von 144 *Trichinella*-freien Schlachtschweinen und von 159 Schweinen, die experimentell mit *T. spiralis*, *T. britovi* oder *T. pseudospiralis* infiziert worden waren. Außerdem wurden Seren von Schweinen, die experimentell mit *Oesophagostomum dentatum*, *Trichuris suis*,

Hyostromylus rubidus und *Strongyloides ransomi* (die beiden letztgenannten als Mono- bzw. Mischinfektion) in die Studie einbezogen. Zur Beurteilung von Sensitivität und Spezifität von ELISA und WB wurden die Ergebnisse der Verdauungsmethode zum Larvennachweis in der Muskulatur als Goldstandard herangezogen.

Nach Auftrennung des somatischen Antigens in der Gelelektrophorese und Silberfärbung zeigte sich ein ähnliches Bandenmuster für *T. spiralis*, *T. britovi* und *T. pseudospiralis*. Wie die weiteren Ergebnisse der Laboruntersuchung zeigten, lagen Sensitivität und Spezifität für ELISA und WB bei 96,8 und 97,9% bzw. bei 98,1 und 100%. Kreuzreaktionen der Seren von Schweinen, die mit den vier anderen Nematodengattungen infiziert wurden, konnten weder im ELISA noch im WB nachgewiesen werden. Im WB reagierten insgesamt 5 Banden mit einem Molekulargewicht von 43, 47, 61, 66 und 102 kDa in insgesamt 12 verschiedenen Kombinationen gegen die Serumantikörper der *Trichinella*-positiven Schweineseren. Das Bandenmuster war dabei weder abhängig von der für die Infektion der Schweine verwendeten *Trichinella*-Spezies noch von der Dosis oder der Dauer der Infektion. Im WB trat die Bande mit 43 kDa mit 97-100% (je nach *Trichinella*-Spezies) am häufigsten auf, wobei alle fünf Banden in 75% der untersuchten positiven Schweine gegen *Trichinella*-Antikörper reagierten. Mit der vergleichenden Studie auf Basis von negativen Feldseren und Seren aus experimentellen Infektionen mit *T. spiralis*, *T. britovi* und *T. pseudospiralis* konnte erstmals gezeigt werden, dass ELISA und WB als Screening bzw. Bestätigungstest für das serologische *Trichinella*-Monitoring beim Schwein aufgrund der hohen Sensitivität und Spezifität gut geeignet sind. Durch Verwendung eines E/S-Antigens für den ELISA und somatischen Antigens für den WB ist es möglich, Serumantikörper beim Schwein sowohl nach homologer Infektion mit *T. spiralis* als auch nach heterologer Infektion mit *T. pseudospiralis* oder *T. britovi* nachzuweisen.

3 Übergreifende Diskussion

3.1 Zur aktuellen Situation der Trichinellose in Europa und in Deutschland

Es konnte gezeigt werden, dass von den weltweit bisher nachgewiesenen zwölf *Trichinella*-Spezies –bzw. Genotypen für Europa insgesamt vier Spezies (*T. spiralis*, *T. nativa*, *T. britovi* und *T. pseudospiralis*) mit unterschiedlicher Wertigkeit von epidemiologischer Bedeutung sind (**Mitteilung 1**). *T. spiralis* spielt dabei für die Trichinellose des Menschen in Europa die größte Rolle und kommt originär im domestischen Zyklus beim Hausschwein vor. Diese Spezies kann aber auch verschiedene Wildtiere im silvatischen Zyklus befallen (Pozio, 2001), was nach den für Deutschland erhobenen Daten aus der Trichinenuntersuchung und aus Wildmonitorings bestätigt werden kann. Danach wurde *T. spiralis* aus Muskel-Isolaten von Wildschwein, Fuchs und Marderhund nachgewiesen (**Mitteilung 2**). Dass *T. spiralis* noch immer im silvatischen Zyklus Deutschlands vorkommt, wird auf die hohe Prävalenz beim Hausschwein in diesem Land bis Ende des 19. Jahrhunderts zurückgeführt und zeigt, dass diese Spezies über lange Zeit im silvatischen Zyklus persistieren kann und eine hohe Wirtsadaptation für verschiedene Wildtiere (z.B. Wildschwein und Fuchs) aufweist (Pozio et al., 2000). Die anderen drei in Europa vorkommenden Spezies sind typische Vertreter für den silvatischen Zyklus, wobei die kältetolerante Spezies *T. nativa* in Deutschland nicht autochthon ist, sondern in arktischen und subarktischen Gebieten z.B. bei Eisbären, Polarfüchsen, Seelöwen und Walrössern vorkommt (Kapel et al., 1995; Forbes, 2000; Gajadhar and Forbes, 2010). Die Infektiosität von *T. nativa* für das Hausschwein ist äußerst gering und spielt epidemiologisch keine Rolle (Kapel et al., 1998). Im Vergleich dazu ist das Hausschwein empfänglich für *T. britovi* und *T. pseudospiralis* (Kapel et al., 1998, **Mitteilung 8**), welche in den gemäßigten Klimazonen Europas bei verschiedenen anderen Wildtieren weit verbreitet sind (Pozio et al., 2009b) und auch in Deutschland beim Fuchs (**Mitteilung 2**) und beim Wildschwein

(**Mitteilung 6**) nachgewiesen wurden. Während in Deutschland verschiedene *Trichinella*-Spezies im Wildzyklus vorkommen, ist *T. britovi* in einigen Nachbarländern wie Italien, Österreich und Schweiz der alleinige Vertreter im silvatischen Zyklus z.B. bei Wolf, Luchs, Fuchs und Wildschwein (Pozio et al., 2001b; Krois et al., 2005; Frey et al., 2009a). Mit dem kontinuierlichen Anstieg der Marderhundpopulation insbesondere im Nordosten Deutschlands (Mecklenburg-Vorpommern und Brandenburg) wird vermehrt über Trichinellenfunde bei dieser Tierart berichtet, wobei neben *T. spiralis* (Thiess et al., 2001) in den letzten Jahren auch *T. pseudospiralis* aus Larvenisolaten identifiziert wurde (Pannwitz et al., 2009). Unter bestimmten Bedingungen können *T. spiralis*, *T. britovi* und *T. pseudospiralis* ausgehend vom silvatischen Zyklus eine Infektionsquelle für das Hausschwein darstellen. Ursache dafür können im Freiland gehaltene Schweine, die Kadaver infizierter Wildtiere fressen, sein. Möglich ist aber auch die Verfütterung von Wildabfällen an Schweine in kleinbäuerlichen Betrieben (Nöckler, 2003; Hurníková et al., 2005). Im Jahr 2008 wurden im Landkreis Ostvorpommern (Mecklenburg-Vorpommern) bei drei von fünf Schweinen aus einer Privathaltung nach der Schlachtung Trichinellen nachgewiesen. Als Infektionsursache wurde hier entweder die Verfütterung von Wildabfällen oder das Fressen infizierter Wildtiere während der Freilandhaltung vermutet (Pannwitz et al., 2009).

Im Vergleich zu Schweinen aus kleinbäuerlichen Betrieben und Freilandhaltungen ist das Risiko einer Infektion bei Tieren in geschlossenen Haltungen zu vernachlässigen. Auf der Grundlage komplexer Maßnahmen bei der Haltung und Fütterung der Tiere ist der Hygienestandard sehr hoch, so dass Eintrag von Trichinellen in den Bestand ausgeschlossen werden kann (Gamble et al., 2007). Die Anforderungen für solche geschlossenen Haltungssysteme wurden durch die International Commission on Trichinellosis (ICT) definiert (Gamble et al., 2000) und entsprechen den Maßnahmen, welche durch die Europäische Kommission im Rahmen einer Risikobewertung zur Trichinellose ausgearbeitet wurden (European Commission,

2001). So kann nach der Verordnung (EG) Nr. 2075/2005 bei Schweinen aus geschlossenen Haltungen, welche diese Hygieneanforderungen erfüllen und für die eine Genehmigung durch die zuständige Behörde vorliegt, auf eine Trichinenuntersuchung verzichtet werden (European Community, 2005). Diese Regelung kann auch für Mastschweine aus einer Region gelten, in welcher das Risiko einer *Trichinella*-Infektion vernachlässigt werden kann. Nach einer im Jahr 2007 durchgeführten Risikobewertung ist allerdings eine Anerkennung Deutschlands als Region mit einem vernachlässigbaren *Trichinella*-Risiko beim Schwein aufgrund des Vorkommens von *Trichinella* spp. im silvatischen Zyklus (Wildschwein und Wildkarnivoren) nicht möglich. Unter Berücksichtigung des hohen Anteils von Mastschweinen in geschlossenen Haltungen wird jedoch die Möglichkeit gesehen, einen Betrieb oder eine Kategorie von Betrieben mit Mastschweinen von der zuständigen Behörde amtlich als trichinenfrei anzuerkennen (Bundesinstitut für Risikobewertung, 2007). Nach der Verordnung (EG) Nr. 2075/2005 hat außerdem die zuständige Behörde sicherzustellen, dass der Status der Betriebe durch ein Monitoring bei den relevanten Haus- und Wildtieren überwacht wird (European Community, 2005). In den USA ist bereits ein vergleichbares Programm für die Zertifizierung von *Trichinella*-freien Schweinebeständen entwickelt und implementiert worden. Die Stausüberwachung dieser zertifizierten Bestände erfolgt durch die serologische Testung (ELISA) einer repräsentativen Auswahl von Blutproben, die zum Zeitpunkt der Schlachtung von den Schweinen gewonnen werden (Pyburn et al., 2005).

In Europa stellt sich das Risiko für den Menschen, an einer Trichinellose zu erkranken, sehr unterschiedlich dar. Wie die Auswertung der Daten für Westeuropa zeigt, kommt *Trichinella* spp. mit Ausnahme einiger weniger Regionen Norwegens und Spaniens im silvatischen Zyklus bei verschiedenen Wildtieren (Wildschwein und Wildkarnivoren, wie Bär, Luchs, Fuchs und Marderhund) jedoch nicht im domestischen Zyklus beim Hausschwein vor (**Mitteilung 1**). Daher sind Trichinellose-Fälle beim Menschen in Westeuropa zumeist auf importierte

Fälle aus Ländern zurückzuführen, wo diese Zoonose noch endemisch ist. So sind auch die jährlich für Deutschland gemeldeten Trichinellose-Fälle zumeist importiert (**Mitteilungen 2 und 3**). Anfang 2007 erkrankten beispielsweise drei Personen in Bayern an Trichinellose nach ihrer Rückkehr aus Rumänien, wo nach einer Hausschlachtung eines Schweins dessen Fleisch in verschiedenen Zubereitungen (Rohwurst) verzehrt wurde (Nöckler et al., 2007). Immigranten, die aus Ländern kommen, wo diese Zoonose im domestischen Zyklus noch endemisch ist, erkranken dabei häufiger an Trichinellose. Auch für Deutschland konnte gezeigt werden, dass die Trichinellose-Inzidenz für diese Gruppe im Vergleich zur Normalbevölkerung signifikant höher ist (**Mitteilung 3**). Im Vergleich zu den überwiegend auftretenden importierten Fällen sind die autochthon erworbenen Trichinellose-Fälle in einigen westeuropäischen Ländern auf den Verzehr von Wildfleisch zurückzuführen. So wurde Wildschweinfleisch, das vor dem Verzehr nicht ordnungsgemäß auf Trichinellen untersucht wurde, als potentielle Infektionsquelle für den Menschen ermittelt (**Mitteilung 3**, Gallardo et al., 2007). Sofern einheimisches Schweinefleisch die Ursache für Trichinellose-Fälle war, stammten diese Tiere nie aus geschlossenen Haltungen sondern aus kleinbäuerlichen Betrieben mit Freilandhaltung (**Mitteilung 1**). In solchen Fällen erweist sich die Ermittlung der Infektionsquelle oftmals als kompliziert, was ein Ausbruch mit 16 Erkrankungen bei Mitgliedern einer Großfamilie in Deutschland in Mecklenburg-Vorpommern (Landkreis Uecker-Randow) im Jahr 2006 zeigt. Als Infektionsquelle wurde das Fleisch eines privat gehaltenen Schweins vermutet (Littmann et al., 2006). Die endgültige Aufklärung war jedoch trotz umfangreicher Untersuchungen durch die zuständigen Behörden nicht mehr möglich. Auch am Beispiel der Trichinellose-Ausbrüche in Nordrhein-Westfalen im Jahr 1998 wird deutlich, wie schwer die Ermittlung der Infektionsquelle ist, wenn die in Frage kommenden Produkte (Mettwurst, Hackfleisch) aus Fleischchargen unterschiedlicher Zulieferer hergestellt worden sind und bereits eine relativ lange Zeit von der Exposition (d.h. dem Zeitpunkt des Verzehrs des Lebensmit-

tels) bis zur Meldung der Trichinellose-Fälle an das Gesundheitsamt bzw. das Veterinär- und Lebensmittelüberwachungsamt vergangen ist (**Mitteilung 4**).

In Europa gibt es nur wenige Länder (Großbritannien, Zypern, Malta) in denen *Trichinella* spp. bisher weder im silvatischen noch im domestischen Zyklus nachgewiesen wurde (**Mitteilung 1**, Pozio, 2007b). Allerdings kann sich in Ländern oder Regionen mit diesem Status die epidemiologische Situation ändern, wie einige Beispiele der letzten Jahre zeigen. So galt neben den Britischen Inseln auch Irland über lange Zeit als frei von diesem Parasiten bis in Nordirland bei einem Monitoring *T. spiralis* beim Rotfuchs nachgewiesen wurde (Rafter et al., 2005). Auch auf Sardinien wurde im Jahr 2005 nach mehr als 60 Jahren *T. britovi* beim Wildschwein nachgewiesen und in Zusammenhang mit einem Trichinellose-Ausbruch bei 11 Personen gebracht (Pozio et al., 2006). Es wird vermutet, dass sich *T. britovi* über infizierte Wildschweine bis zur Nachbarinsel Korsika ausbreiten konnte (Pozio et al., 2009). Deshalb kann der Status „*Trichinella*-frei“ für eine bestimmte Region nur gelten wenn durch ein systematisches Monitoring bei Indikatortieren die Freiheit von diesem Parasiten nachgewiesen werden kann (Pozio, 2007b).

In vielen Ländern Osteuropas ist *Trichinella* spp. sowohl im silvatischen als auch im domestischen Zyklus mit dem Hausschwein als Reservoir autochthon und ist auf die politischen und ökonomischen Veränderungen seit Beginn der 90iger Jahre zurückzuführen (**Mitteilung 1**). Mit dem Strukturwandel in der Landwirtschaft und dem Wechsel von den industriemäßig produzierenden geschlossenen Haltungen hin zu kleinbäuerlichen Schweinebetrieben kam es in vielen dieser Länder zu drastischen Einschnitten in der Haltungs- und Fütterungshygiene, Defiziten bei der Tierkörperbeseitigung und zu einer unzureichenden Trichinenuntersuchung (Murrell and Pozio, 2000; Marinculic et al., 2001; Cuperlovic et al., 2005). Für das östlich angrenzende Nachbarland Polen wird für das Hausschwein eine *Trichinella*-Prävalenz von <0,01% angegeben (European Food Safety Authority, 2009) und liegt damit um ein Vielfa-

ches höher als in Deutschland, wo *T. spiralis* im domestischen Zyklus nicht mehr vorkommt (**Mitteilung 2**). Wesentliche Ursache für die Infektion von Hausschweinen mit Trichinellen ist die Verfütterung von Schlacht- bzw. Wildabfällen in den kleinbäuerlichen Schweinebetrieben und Privathaltungen (Ramisz et al., 2001). Als natürliches *Trichinella*-Reservoir spielt dabei neben dem Fuchs auch das Wildschwein eine wichtige Rolle, wie die Ergebnisse einer Studie in einer nord-westlichen Region Polens zeigen (Balicka-Ramisz et al., 2007).

Nach den Ergebnissen eines Surveys der ICT wurden im Jahr 2004 für Europa mehr als 1100 Trichinellose-Fälle gemeldet. Davon entfielen etwa 90% der Erkrankungen auf Serbien, Rumänien, Bulgarien, Kroatien und Polen (Dupouy-Camet, 2006). Für Rumänien, einem osteuropäischen Land, das kürzlich der Europäischen Union (EU) beitrug, wurde nach der Erhebung von Daten für den Zeitraum 1990-2004 eine Trichinellose-Inzidenz von 51 Fällen auf 100.000 Einwohner ermittelt (Blaga et al., 2007). Nach einer aktuelleren Bewertung der Europäischen Lebensmittelbehörde (EFSA) betrug im Jahr 2007 die Trichinellose-Inzidenz bei der überwiegenden Mehrheit der EU-Mitgliedsländer weniger als 0,1 Fälle, wogegen die Inzidenz für Rumänien, Bulgarien und Polen mit 2, 0,8 bzw. 0,6 Fällen auf 100.000 Einwohner um ein Mehrfaches höher lag (European Food Safety Authority, 2009).

3.2 Trichinenuntersuchung: Methoden und Anforderungen

Mit der Trichinenuntersuchung, d.h. der Untersuchung der Muskulatur auf Trichinellen, werden im Wesentlichen zwei Ziele verfolgt: Zum einen geht es darum, das Fleisch der relevanten Tierarten nach der Schlachtung bzw. Jagd (z.B. Haus- bzw. Wildschwein) zum Zweck der Lebensmittelgewinnung auf diesen Parasiten zu untersuchen. Bei einem positiven Ergebnis in der Trichinenuntersuchung wird der Tierkörper untauglich für den Verzehr gemacht, um den Verbraucher vor einer Erkrankung zu schützen. Zum anderen werden Muskelproben empfänglicher Wildtiere, die als natürliches Reservoir von epidemiologischer Bedeutung sind

(z.B. Fuchs und Marderhund) im Rahmen von Monitorings auf diesen Parasiten untersucht (**Mitteilung 5**).

Zum Schutz des Verbrauchers vor einer Trichinellose sollte die Nachweisempfindlichkeit in der Trichinenuntersuchung bei mindestens 1-3 Trichinellen pro g Muskulatur liegen. Geringere Befallsraten im Fleisch, die in der Trichinenuntersuchung nicht mehr nachweisbar sind, würden zu einer Infektion, jedoch nicht zu einer klinischen Erkrankung des Menschen führen (Gamble et al., 2000; Nöckler and Kapel, 2007). Die Infektionsdosis für die Auslösung einer klinischen Erkrankung ist nicht genau bekannt, es wird jedoch davon ausgegangen, dass bereits 100-300 aufgenommene Muskellarven zu einer Trichinellose des Menschen führen können (Dupouy-Camet and Bruschi, 2007). Zur Erreichung der geforderten Sensitivität muss daher eine Mindestmenge an Muskulatur von der für die Tierart spezifischen Prädilektionsstelle mit der Verdauungsmethode untersucht werden (**Mitteilung 5**), wobei für das Schlachtschwein eine Probenmenge von 1 g der Zwerchfellmuskulatur als ausreichend angesehen wird, um diese Nachweisempfindlichkeit zu erreichen (Gamble et al., 2000). Beim Wildschwein sind aufgrund des höheren Infektionsrisikos insgesamt 5 g Muskulatur auf Trichinellen zu untersuchen. Bei dieser Probenmenge wird unter Berücksichtigung der ungleichen Verteilung der Larven im Muskelgewebe eine Sensitivität von mindestens 1 Lpg erreicht (Forbes and Gajadhar, 1999).

Wie Ergebnisse aus verschiedenen Monitorings zum Vorkommen von *Trichinella* spp. bei Indikatortieren (z.B. Luchs, Marderhund, Fuchs) zeigen, kann die Larvenbefallsrate auch deutlich unter 1 Lpg liegen und ist mit den sonst üblichen Probenmengen kaum nachweisbar (Schynts et al., 2006; Malakauskas et al., 2007; Frey et al., 2009a). Deshalb sollten beim Wildmonitoring mehr als 5g Muskulatur von den Prädilektionsstellen mit der Verdauungsmethode untersucht werden, um auch schwach mit Trichinellen befallene Tiere besser identifizieren zu können (Gamble et al. 2000, Nöckler and Kapel, 2007). Für die Untersuchung von

Wildtieren ist außerdem zu beachten, dass die Muskulatur insbesondere älterer Tiere in der Verdauungsflüssigkeit schwerer aufgeschlossen werden kann und daher die Einwirkzeit auf das Doppelte verlängert werden sollte (Kapel et al., 2005).

Die über viele Jahre angewandte Trichinoskopie wird für die routinemäßige Trichinenuntersuchung nicht mehr empfohlen, da zum einen die Probenmenge limitiert ist und zum anderen die *Trichinella*-Spezies ohne Bildung einer Kollagenkapsel in der Muskulatur im Kompressorium kaum nachgewiesen werden können (Nöckler and Kapel, 2007). Nach den Ergebnissen einer Studie mit 1769 infizierten Schweinen lag die Nachweisgrenze in der Trichinoskopie bei lediglich 6 Lpg, wobei diese Befallsrate im Fall des Rohverzehrs ausreichen würde, um beim Verbraucher eine Trichinellose zu verursachen (Beck et al., 2005). Mit dem Erstdnachweis von *T. pseudospiralis* in Deutschland bei einem Wildschwein (**Mitteilung 6**) wurde deshalb vom BfR auf die Notwendigkeit hingewiesen, dass alle Wildschweine in Deutschland mit einer Methode der künstlichen Verdauung auf Trichinellen zu untersuchen sind (Bundesinstitut für Risikobewertung, 2006).

Mischinfektionen, wie in diesem Fall für *T. pseudospiralis* und *T. spiralis* erstmalig beim Wildschwein nachgewiesen (**Mitteilung 6**), sind auch in anderen Kombinationen bei verschiedenen Tierarten, wie z.B. für *T. spiralis* und *T. nativa* sowie *T. britovi* und *T. nativa* beim Marderhund (Kapel et al., 2001), *T. spiralis* und *T. britovi* beim Wildschwein (Rodríguez et al. 2008) und Pferd (Liciardi et al., 2009), beschrieben worden. Wie häufig solche Mischinfektionen bei welchen Tierarten vorkommen, ist jedoch kaum zu beurteilen. Eine Speziesdifferenzierung anhand morphologischer Eigenschaften der Larven ist nicht möglich und muss deshalb auf der Grundlage genetischer Eigenschaften des Erregers erfolgen (Zarlenga et al., 1999). Das Ergebnis zur Speziesdifferenzierung in der Multiplex-PCR ist wiederum von der Qualität und Anzahl der Larven abhängig. Prinzipiell kann die PCR bereits mit nur einer intakten Larve durchgeführt werden (Zarlenga and La Rosa, 2000). Zum Nachweis

von eventuell vorliegenden Mischinfektionen müssen jedoch mehrere Larven - nach eigenen Erfahrungen 5-10 Larven pro Isolat - mit der Multiplex-PCR untersucht werden.

Im Rahmen einer Laborvergleichsuntersuchung konnte am Beispiel von *T. pseudospiralis* in Schweinefleisch gezeigt werden, dass alle gebräuchlichen Methoden der künstlichen Verdauung (Magnetrührverfahren, Trichomatic-35® und Stomacher-Methode) für den Nachweis von Trichinellen gut geeignet sind (**Mitteilung 7**). Die Ergebnisse zeigen aber auch, dass bezüglich der quantitativen Ergebnisse zur Anzahl der nachgewiesenen Larven, zwischen einigen Teilnehmern signifikante Unterschiede auftraten. Auch bei den deutschlandweit jährlich durchgeführten Ringversuchen zur Überprüfung der Qualität der Trichinenuntersuchung traten zwischen den Labors teilweise große Unterschiede auf. Während ein Teil der Labors alle Proben richtig beurteilten, traten bei anderen Labors falsch-negative und/oder falsch-positive Ergebnisse auf, wobei es bei den meisten Teilnehmern Probleme bei der korrekten Quantifizierung der Trichinellen gab (Nöckler and Reckinger, 2008; Mayer-Scholl et al., 2009). Demzufolge ist das Personal regelmäßig zu schulen und die Qualität der Trichinenuntersuchung zu überprüfen, so wie es auch durch die Verordnung (EG) Nr. 2075/2005 vorgeschrieben ist (European Community, 2007). Bei Abweichungen vom Erwartungswert muss das Labor eine systematische Analyse der kritischen Punkte des vollständigen Untersuchungsganges („Critical Control Points“), beginnend mit der Probe (Herkunft, Kennzeichnung, Aufbereitung), über die Nachweismethode bis hin zur Dokumentation durchführen, um mögliche Fehlerquellen zu identifizieren (Gamble et al., 2000; Gajadhar et al., 2009). Grundsätzlich sollte jedes Labor auch eine interne Validierung der Verdauungsmethode auf der Grundlage eines Panels von definiertem Probenmaterial durchführen (Forbes et al., 2005). Das Panel sollte Probengruppen verschiedener Befallsraten mit 3-5, 10-20 und 20-50 Lpg enthalten, wobei aus den Fleisch der erstgenannten Gruppe mindestens eine Larve und in den anderen beiden Gruppen mindestens

75% der Larven (95% Konfidenzintervall) mit der Verdauungsmethode aus dem Fleisch isoliert werden sollten (Forbes et al., 1998).

Alternative direkte Verfahren wie z.B. der Nachweis von *Trichinella*-DNA in Fleisch haben sich bisher in der Routinediagnostik nicht durchgesetzt, da aufgrund des hohen DNA-Gehaltes der Muskelzellen ein inhibitorischer Effekt auf die nachzuweisende *Trichinella*-DNA in der Matrix zu erwarten ist (Nöckler and Kapel, 2007). Die Ergebnisse einer jüngeren experimentellen Studie mit einer real-time PCR zeigen jedoch, dass ein DNA-Nachweis in Schweinefleisch bis zu einer Befallsstärke von 0,1 Lpg möglich ist und auf Basis der mitochondrialen rRNA (*rrnL*-Gen) die Spezies *T. spiralis*, *T. brotovi* und *T. pseudospiralis* identifiziert werden können (Guenther et al., 2008).

3.3 Nutzung der Serologie für den indirekten Nachweis der *Trichinella*-Infektion beim Schwein

Wie die Analyse der Ergebnisse aus experimentellen Studien und Felduntersuchungen zeigt, ist der ELISA als serologische Methode grundsätzlich geeignet, um eine *Trichinella*-Infektion bei Haus- und Wildtieren (z.B. Schwein, Wildschwein, Fuchs) über *Trichinella*-Antikörper im Blutserum nachzuweisen. Neben den testspezifischen Merkmalen, wie Sensitivität und Spezifität sind Kenntnisse zur wirtsspezifischen Immunantwort, wie Dynamik der Antikörperreaktion (Serokonversion, Titerpersistenz) wichtig für den korrekten Einsatz serologischer Tests (**Mitteilung 5**). Im Gegensatz zu den vorgenannten Tierarten kann die serologische Untersuchung von Pferden auf *Trichinella*-Antikörper nicht empfohlen werden (Gamble et al., 2004), da der Antikörpertiter (anti-*Trichinella*-IgG) nach stattgefundenener Infektion relativ schnell abfällt und unter Berücksichtigung der langen Lebenserwartung von Schlachtpferden ein großer Anteil von falsch-negativen Ergebnissen im ELISA die Folge wäre (Voigt et al., 1998).

Durch Verwendung des E/S-Antigens kann mit dem ELISA eine hohe Sensitivität und Spezifität beim Nachweis von *Trichinella*-Antikörpern erreicht werden (**Mitteilung 5**). Bei diesem Antigen handelt es sich um Stoffwechselmetaboliten aus *in vitro* kultivierten *Trichinella*-Larven. Gewinnung, Aufreinigung und Einstellung des E/S-Antigens lassen sich jedoch nur schwer standardisieren. Aus diesem Grund gab es verschiedene Ansätze, synthetische Produkte, wie Tyvelose (Wisnewski et al., 1993; Reason et al., 1994), oder rekombinante *Trichinella*-Antigene (Jung et al., 2007; Nagano et al., 2008) für den indirekten *Trichinella*-ELISA herzustellen. Die Etablierung eines praxistauglichen Tests für die Serodiagnostik war bisher jedoch nicht möglich. Somit stellt das E/S-Antigen gegenwärtig das Mittel der Wahl dar und wurde für die eigenen serologischen Untersuchungen im ELISA zum Nachweis von *Trichinella*-Antikörpern beim Schwein eingesetzt.

Wie die ELISA-Ergebnisse der Infektionsstudie unter Verwendung der vier in Europa vorkommen *Trichinella*-Spezies (*T. spiralis*, *T. britovi*, *T. pseudospiralis*, *T. nativa*) zeigen, bestand eine hohe Kreuzreaktivität zwischen dem E/S-Antigen von *T. spiralis* und den durch *T. britovi*, *T. pseudospiralis* und *T. nativa* induzierten Serumantikörpern. Serokonversion und Antiköpertiterverlauf waren zwischen den beiden untersuchten Schweinerassen vergleichbar, obgleich die Larvenbefallsrate in der Muskulatur zwischen dem Deutschen Edelschwein und dem Iberischen Schwein zum Teil erheblich variierte (**Mitteilung 8**). Neben der Beobachtung, dass die Empfänglichkeit für *Trichinella* nicht nur von der Parasitenspezies sondern auch von der Schweinerasse abhängig ist, konnten die Ergebnisse anderer experimenteller Studien (Kapel et al., 1998; Kapel and Gamble, 2000) dahingehend bestätigt werden, dass sich die Larven von *T. nativa* nur sehr schwer in der Muskulatur des Schweins manifestieren. Die Ursachen für dieses Phänomen sind noch nicht endgültig geklärt. Es wird angenommen, dass die neugeborenen *T. nativa* Larven aufgrund der starken Immunreaktion im Schweinedarm frühzeitig abgetötet werden (Marinculic et al., 1991). Diese Annahme würde auch erklä-

ren, weshalb in der eigenen Studie nach Infektion mit *T. nativa* im ELISA eine starke während der Darmphase induzierte Antikörperantwort bei den Schweinen beider Rassen messbar war (**Mitteilung 8**). In Übereinstimmung mit den Beobachtungen anderer Studien zur Antikörperantwort nach *Trichinella*-Infektion beim Schwein (Gamble, 1996; Kapel and Gamble, 2000) und bei anderen Tierarten, wie Wildschwein (Van Knapen et al., 1996) und Fuchs (Nöckler and Voigt, 1998) konnte gezeigt werden, dass *Trichinella*-Antikörper in Abhängigkeit der Infektionsdosis frühestens 3-4 Wochen p.i. im Blutserum mit dem ELISA nachgewiesen werden können (**Mitteilung 8**). Dabei ist die Serokonversion, d.h. der Zeitraum bis zum Erstnachweis von anti-*Trichinella*-IgG im Blutserum umso länger, je niedriger die Infektionsdosis ist. Somit besteht natürlicherweise in der Frühphase der *Trichinella*-Infektion ein sog. „diagnostisches Fenster“. In dieser Phase sind *Trichinella*-Antikörper im Blutserum noch nicht nachweisbar, jedoch schon infektiöse Larven in der Muskulatur des Wirtes vorhanden. Aus den genannten Gründen kann der ELISA die herkömmliche Trichinenuntersuchung nicht ersetzen, sondern ist vielmehr ein geeigneter Screeningtest für Bestands- und Wildmonitorings im Rahmen epidemiologischer Untersuchungen (Office International des Epizooties, 2008).

Wie die Ergebnisse aus experimentellen Studien zur *Trichinella*-Infektion beim Schwein weiterhin zeigen, kann auch der aus Zwerchfellmuskulatur gewonnene Fleischsaft eine geeignete Matrix für den Nachweis von *Trichinella*-Antikörpern im ELISA sein (Gamble and Patrascu, 1996; Kapel et al., 1998). Bei einer Verdünnung von Blutserum und Fleischsaft aus der Zwerchfellmuskulatur mit 1:100 bzw. 1:10 gab es beim Vergleich der ELISA-Ergebnisse zwischen beiden Matrices eine sehr gute Korrelation von mehr als 90% (**Mitteilung 8**). Diese Beobachtung konnte auch durch die Ergebnisse einer Feldstudie zum *Trichinella*-Vorkommen bei Schlachtschweinen aus Deutschland und Kroatien bestätigt werden, wo beim Vergleich der ELISA-Ergebnisse für Blutserum und Fleischsaft eine gute Übereinstimmung (Kappa-

Wert=0,8) bestand (**Mitteilung 9**). Von besonderem Interesse ist dabei der Fleischsaft für das serologische Monitoring bei Wildtieren (z.B. Fuchs und Wildschwein), da nach dem Erlegen der Tiere das Blutserum oftmals nicht in der gewünschten Qualität verfügbar ist und somit eine gute Alternative für die serologische Untersuchung im ELISA darstellt (Møller et al., 2005). Wie die Ergebnisse verschiedener Wildmonitorings zur *Trichinella*-Prävalenz z.B. beim Wildschwein zeigen, gibt es in der Population einen relativ großen Anteil an positiven Tieren, bei denen ein Nachweis von Muskellarven nicht möglich ist (Sukura et al., 2001; Frey et al., 2009b). Eine Erklärung dafür könnte sein, dass die Tiere durch die ein- oder mehrmalige Aufnahme von trichinösem Fleisch eine Immunität gegen *Trichinella* ausgebildet haben. Es wäre auch denkbar, dass aufgrund einer geringeren Spezifität des ELISA falsch-positive Ergebnisse bei der serologischen Untersuchung auftreten. Eine weitere Erklärung wäre, dass die Nachweissensitivität der Verdauungsmethode in Abhängigkeit der untersuchten Probenmenge limitiert ist und Tiere mit einer geringen Befallsrate nicht nachgewiesen werden können. So konnte gezeigt werden, dass experimentell mit *T. spiralis* infizierte Schweine mit einer sehr geringen Befallsrate von etwa 0,01 Lpg im ELISA seropositiv waren (Gamble et al., 1996). Nach den Ergebnissen der eigenen Feldstudie lagen die Befallsraten für die im ELISA positiv getesteten Schweine zwischen 0,2 und 696 Lpg (**Mitteilung 9**). Aus den genannten Gründen ist aus einem seropositiven Ergebnis kein Rückschluss darauf möglich, ob sich Larven in der Muskulatur des Wirtes befinden oder wie hoch die Befallsrate ist.

Zur Bestätigung der positiven Ergebnisse aus dem *Trichinella*-ELISA und zur Abklärung von falsch-positiven Reaktionen ist ein hochspezifischer Test, erforderlich (Nöckler and Kapel, 2007). Zu diesem Zweck wurde ein WB auf der Basis eines somatischen Antigens von *T. spiralis* entwickelt und anhand von *Trichinella*-positiven und negativen Seren insbesondere für die Serodiagnostik beim Schwein (Frey et al., 2009c) und beim Menschen (Yera et al., 2003) evaluiert. In der eigenen Studie wurde für den WB ebenfalls ein somatisches Antigen von *T.*

spiralis verwendet, wobei zur Überprüfung der Kreuzreaktivität eine größere Auswahl an definierten Seren von Schweinen, die experimentell mit *T. spiralis*, *T. britovi* oder *T. pseudospiralis* in unterschiedlichen Dosen über verschiedene Zeiträume infiziert waren, mit dem ELISA und WB vergleichend untersucht. Wie die Ergebnisse des WB zeigen, war das 43 kDa Protein die dominierende immunogene Fraktion für alle drei *Trichinella*-Spezies, wobei als Reaktionsmuster eine Kombination dieses Proteins mit bis zu vier weiteren immunogenen Fraktionen unabhängig von *Trichinella*-Spezies, Dosis und Infektionsdauer auftrat (**Mitteilung 10**). Dieses 43 kDa Protein wird von der Larve 1 sezerniert, über die transformierte Muskelzelle in das umliegende Gewebe abgegeben und stimuliert dort das Immunsystem des Wirtsorganismus (Vassilatis et al., 1992). Mit dieser Studie konnte bestätigt werden, dass bei Verwendung eines somatischen Antigens von *T. spiralis*, eine hohe Kreuzreaktivität zu den durch *T. britovi* und *T. pseudospiralis* induzierten Serumantikörpern besteht. Wie erwartet, konnte im WB im Vergleich zum ELISA eine höhere Spezifität erreicht werden. Bemerkenswert ist, dass auch die Sensitivität im WB höher war als im ELISA (**Mitteilung 10**). Dennoch ist der WB aufgrund der Kosten und Arbeitsintensität ausschließlich als Bestätigungstest für die *Trichinella*-Serodiagnostik geeignet (Gamble et al., 2004; Nöckler and Kapel, 2007).

4 Schlussfolgerungen

Aus der Bewertung zum Vorkommen der *Trichinella*-Arten im domestischen und silvatischen Zyklus und zur Bedeutung der Trichinellose für den Menschen in Europa und speziell in Deutschland und unter Berücksichtigung der Ergebnisse der eigenen Studien zu den direkten und indirekten Methoden für die *Trichinella*-Diagnostik beim Schwein lassen sich folgende Schlussfolgerungen für die Überwachung und Bekämpfung der Trichinellose ableiten:

- Da in den meisten westeuropäischen Ländern einschließlich Deutschland *Trichinella* spp. im domestischen Zyklus beim Hausschwein nicht mehr vorkommt, liegt das Hauptaugenmerk auf dem silvatischen Zyklus, in dem verschiedene Wildkarnivoren (z.B. Fuchs und Marderhund) und Wildschweine als natürliches *Trichinella*-Reservoir aus epidemiologischer Sicht von Bedeutung sein können (**Mitteilung 1 und 2**).
- In diesem Zusammenhang sind verschiedene Grundsätze zu beachten, um den Verbraucher vor einer Trichinellose zu schützen und eine Ausbreitung dieses Parasiten im silvatischen Zyklus zu verhindern. Da Wildschweine vorrangig für die Gewinnung von Lebensmitteln erlegt werden, sind diese entsprechend der Verordnung (EG) Nr. 2075/2005 (European Commission, 2005) und der Empfehlung der ICT lückenlos einer Trichinenuntersuchung zu unterziehen. Das gilt prinzipiell auch für Wildschweinfleisch, das ausschließlich für den privaten Konsum bestimmt ist (**Mitteilung 1 und 2**).
- Bei der Jagd von anderem fleischfressenden Wild, wie Fuchs und Marderhund, sollten die Kadaver so entsorgt werden, dass diese keine Infektionsquelle für andere Tiere darstellen können (Kapel et al., 1997; Pozio et al., 2001c). Wildkarnivoren, wie Fuchs und Marderhund sind aufgrund ihres Fressverhaltens (Aasfresser, Kannibalismus) gute Indikatortiere für das Vorkommen von *Trichinella* spp. im silvatischen Zyklus. Im Ergebnis der erfolgreichen Tollwutbekämpfung ist in vielen westeuropäischen Ländern die Fuchspopulation verhältnismäßig groß und in einigen Regionen (z.B. Nordostdeutschland) nimmt die Popu-

lation der Marderhunde kontinuierlich zu. Aus diesen Gründen sollten die bereits erwähnten lebensmittelhygienischen und jagdhygienischen Maßnahmen durch ein kontinuierliches Monitoring bei Wildkarnivoren ergänzt werden, um bessere Informationen zum Vorkommen der *Trichinella*-Arten zu erhalten und Veränderungen in der epidemiologischen Situation rechtzeitig erkennen zu können (**Mitteilung 2**).

- Da in vielen westeuropäischen Ländern wie Deutschland *Trichinella* spp. im domestischen Zyklus nicht mehr vorkommt, ist das Risiko für den Menschen sehr gering, an einer Trichinellose zu erkranken. Eine Exposition des Verbrauchers kann jedoch beim Verzehr des Fleisches von Mast- und Zuchtschweinen aus Freilandhaltung nicht ausgeschlossen werden, da sich die Tiere durch das Fressen von Wildkadavern mit Trichinellen infizieren können. Auch bei Schweinen aus Privat- bzw. kleinbäuerlichen Haltungen mit einem fehlenden Barriere- und Hygieneregime, ist der Eintrag von *Trichinella* spp. in den domestischen Zyklus nicht auszuschließen (Pozio, 1998). Aus den genannten Gründen sind auch Schweine aus diesen Haltungssystemen einer lückenlosen Trichinenuntersuchung zu unterziehen (**Mitteilung 1 und 2**).
- Bei Schweinen aus geschlossenen Haltungen ist dagegen das Risiko einer *Trichinella*-Infektion zu vernachlässigen, wobei in Deutschland die Mehrheit der zur Mast gehaltenen Schlachtschweine aus diesen Haltungssystemen kommt. Daher sollte auch für Deutschland der Ansatz für eine risikoorientierte Trichinenuntersuchung dahingehend geprüft werden, dass Mastschweine, die nach einem strikten Hygienemanagement (Barriersystem, Schadnagerkontrolle, Fütterungs- und Haltungshygiene) gehalten werden, nicht mehr systematisch einer Trichinenuntersuchung unterliegen. Zu diesem Zweck sind die mit der Verordnung (EG) Nr. 2075/2005 definierten Anforderungen durch den Produzenten zu erfüllen und durch die zuständige Behörde zu kontrollieren. Nach der Zertifizierung von Mastbeständen, in welchen das Risiko einer *Trichinella*-Infektion beim Schwein zu vernachlässi-

gen ist, muss der Status durch ein Monitoring regelmäßig überwacht werden. Alle dafür notwendigen Maßnahmen sind zwischen den verschiedenen Interessengruppen (Schweineproduzenten, Schlachthöfe, wissenschaftliche Einrichtungen, Behörden) abzustimmen.

- Obwohl die Trichinellose in Deutschland relativ selten vorkommt, besteht ein signifikant höheres Expositionsrisiko für bestimmte Bevölkerungsgruppen mit regelmäßigem Aufenthalt in Ländern, wo diese Erkrankung noch endemisch ist. Da es zur Diagnostik und Therapie dieser Erkrankung nur wenige Erfahrungen gibt, sollten die Ärzte über Ursache und Wesen dieser parasitären Zoonose informiert werden. Je schneller die Trichinellose auf Grundlage der Falldefinition diagnostiziert wird, umso früher kann eine wirksame Therapie beim Patienten eingeleitet werden (**Mitteilung 3 und 4**).
- Wie die Erfahrungen aus Ausbruchsuntersuchungen in Deutschland zeigen, ist eine schnelle Meldung der diagnostizierten Trichinellose-Fälle an das zuständige Gesundheits- und Veterinäramt wichtig für die Identifikation der Infektionsquelle und die Sicherstellung von in Frage kommenden Lebensmitteln, von denen eine Gefahr für den Verbraucher ausgehen kann (**Mitteilung 4**).
- In Ländern mit einem endemischen Vorkommen von *Trichinella* spp. im domestischen und/oder sylvatischen Zyklus ist eine lückenlose Trichinenuntersuchung aller relevanten Haus- und Wildtiere unverzichtbar. Die Bevölkerung ist darüber zu informieren, dass ein erhöhtes Gesundheitsrisiko beim Verzehr von rohem Fleisch oder daraus hergestellten Rohprodukten bestehen kann. Ein hohes Risiko besteht insbesondere dann, wenn die Herkunft des Fleisches oder der daraus hergestellten Produkte unklar ist oder eine ordnungsgemäße Trichinenuntersuchung nicht sicher belegt werden kann. Dieser Aspekt ist auch beim Aufenthalt von Touristen in Risikogebieten von großer Bedeutung (**Mitteilung 1 und 2**). Die Gefahr, an einer Trichinellose zu erkranken, lässt sich am besten dadurch reduzieren, dass das Fleisch vor dem Verzehr einer geeigneten Behandlung unterzogen wird, um

eventuell vorhandene Larven wirksam abzutöten. Am zuverlässigsten ist das Erhitzen des Fleisches auf mehr als 70°C über mindestens eine Minute, so dass sich im Kern die Farbe von rosa nach grau verändert (Gamble et al., 2000).

- Um die Infektkette von *T. spiralis* in Endemiegebieten mit einem domestischen Zyklus beim Hausschwein wirksam zu unterbrechen, müssen die hygienischen Bedingungen in den Schweinehaltungen durch geeignete Maßnahmen wie, Barriersystem, Schadnagerkontrolle, Futterkontrolle, Tierkörperbeseitigung, etc. verbessert werden (Gamble et al., 2007).
- Der Direktnachweis (d.h. die Untersuchung der quergestreiften Muskulatur auf Trichinen) hat sich als Methode für die lebensmittelhygienische Beurteilung des Fleisches bei den relevanten Haus- und Wildtieren bewährt. Dieser Ansatz kann auch empfohlen werden für die Durchführung von Monitorings, um Indikatortiere auf das Vorkommen von *Trichinella* und die Verbreitung im silvatischen Zyklus zu untersuchen. Dazu sollte Muskulatur von den tierartspezifischen Prädilektionsstellen ausschließlich mit einer Methode der künstlichen Verdauung (z.B. Magnetrührverfahren) untersucht werden, um eine hohe Nachweis-sicherheit zu erreichen (**Mitteilung 5 und 6**). Im Vergleich zu den im Rahmen der Trichinenuntersuchung für Schwein, Wildschwein und Pferd verwendeten 1g bzw. 5g, sollte die Probenmenge bei Indikatortieren, die im Wildmonitoring untersucht werden, höher sein (z.B. 10g), um auch niedrigere Larvenbefallsraten in der Muskulatur nachweisen zu können (Kapel and Nöckler, 2007).
- Bei einem positiven Ergebnis im Direktnachweis ist im Referenzlabor die Larvenbefallsrate in der Muskulatur zu ermitteln und die *Trichinella*-Spezies mit der Multiplex-PCR für weitergehende epidemiologische Untersuchungen zu bestimmen (**Mitteilung 6**). In Ergänzung zum vorgenannten Verfahren des Direktnachweises (Verdauungsmethode) wird empfohlen, in weiteren experimentellen Studien die Eignung einer real-time PCR auf der

Grundlage spezifischer Sonden (Taqman PCR) für den Nachweis von *Trichinella*-DNA aus Muskelproben zu überprüfen (Guenther et al., 2008).

- Die Trichinenuntersuchungslabors müssen auf der Grundlage von Qualitätsstandards arbeiten, damit die Ergebnisse eine hohe Aussagekraft haben. Dazu zählen z.B. die Schulung des Untersuchungspersonals, die interne Validierung der Untersuchungsmethode, und die regelmäßige Teilnahme an Ringversuchen (**Mitteilung 7**). Ein wichtiger Schritt dafür ist die gemäß der Verordnung (EG) Nr. 882/2004 (European Community, 2004) einzuführende Akkreditierung der Trichinenuntersuchungslabors.
- Der ELISA, konfiguriert auf der Grundlage eines E/S-Antigens von *T. spiralis*, ist eine geeignete Methode, um eine *Trichinella*-Infektion beim Schwein über den indirekten Nachweis spezifischer Antikörper aus Blutserum oder Fleischsaft nachzuweisen. Aufgrund des diagnostischen Fensters in der Frühphase der Infektion kann jedoch der ELISA die Trichinenuntersuchung beim Einzeltier nicht ersetzen, sondern kann für das Monitoring von Schweinen auf Bestandsebene eingesetzt werden (**Mitteilung 8 und 9**). Beim kommerziellen Einsatz des ELISA für das Monitoring in Schweinebeständen müssen Referenzseren und standardisierte Protokolle zur Antigenherstellung verfügbar sein, um die Ergebnisse zwischen den Tests vergleichen zu können.
- Beim Einsatz des ELISA als Screeningtest für das Monitoring in zertifizierten Schweinebeständen, wo das Risiko einer *Trichinella*-Infektion vernachlässigt werden kann, sind geeignete Stichprobenpläne zu entwickeln, um den Status des Bestandes effizient überwachen zu können. Für das Monitoring muss der ELISA als Screeningtest über eine hohe Sensitivität und Spezifität verfügen, wobei positive Ergebnisse mit Hilfe eines geeigneten Bestätigungstest abzuklären sind. Zu diesem Zweck sollte der WB auf Grundlage eines gereinigten somatischen Antigens von *T. spiralis* eingesetzt werden (**Mitteilung 10**).

5 Zusammenfassung

Die Trichinellose des Menschen zählt zu den bedeutenden lebensmittelbedingten Zoonosen und unterliegt deshalb in den Mitgliedsländern der EU und in anderen Ländern Europas der amtlichen Überwachung. Faktoren, wie das Vorkommen von *Trichinella* im domestischen Zyklus beim Hausschwein und im silvatischen Zyklus bei Wildkarnivoren und -omnivoren, die regionale Verzehrsgewohnheiten und die Durchführung effizienter Kontrollmaßnahmen sind ausschlaggebend dafür, wie hoch das Risiko für den Verbraucher ist, an einer Trichinellose zu erkranken.

Das Ziel der eigenen Untersuchungen bestand darin, die aktuelle Situation zur Trichinellose für Europa und speziell für Deutschland zu bewerten und Schlussfolgerungen für die zukünftige Überwachung abzuleiten. Zu diesem Zweck wurden experimentelle Studien und Felduntersuchungen zur Eignung und Aussagekraft von Methoden für den direkten und indirekten Nachweis einer *Trichinella*-Infektion beim Schwein durchgeführt.

Die in Deutschland gemeldeten Trichinellose-Fälle beim Menschen sind zumeist auf den Import dieses Parasiten aus Ländern zurückzuführen, wo diese Zoonose noch ein Problem im domestischen Zyklus beim Schwein darstellt (z.B. Rumänien, Bulgarien, ehemalige Länder Jugoslawiens, Polen). Nach Auswertung der Daten ist die Inzidenz der Trichinellose bei Immigranten mit regelmäßigen Aufenthalten in Risikogebieten (0,3/100.000) im Vergleich zur Inzidenz in der Durchschnittsbevölkerung (0,01/100.000) signifikant höher. Daher sollten Rohprodukte, die aus Schweine- oder Wildschweinfleisch hergestellt wurden und aus Risikogebieten stammen, nicht verzehrt werden. Außerdem müssen die Ärzte über die Besonderheiten dieser Erkrankung gut informiert sein, um eine schnelle Diagnose und eine wirksame Therapie der Trichinellose gewährleisten zu können.

Nach den Ergebnissen der amtlichen Fleischuntersuchung in Deutschland kommt *T. spiralis* im domestischen Zyklus beim Hausschwein nicht mehr vor. Jedoch können sich Schweine

mit Freilandhaltung oral-alimentär über den Kadaver infizierter Wildtiere mit *Trichinella* spp. infizieren. Aus diesen Gründen ist für Deutschland ein risikobasierter Ansatz für die Trichinenuntersuchung beim Schwein gemäß der Verordnung (EG) Nr. 2075/005 denkbar. Das bedeutet, dass Schweine mit Freilandhaltung (einschließlich Zuchtschweine) weiterhin lückenlos einer Trichinenuntersuchung unterliegen, wogegen die Untersuchung von Mastschweinen aus geschlossener Haltung nicht erforderlich ist, sofern der Status des Bestandes durch ein Monitoring kontinuierlich überwacht wird.

Die Ergebnisse regionaler Studien bei Wildtieren zeigen, dass neben Marderhunden (deren Population nimmt in Nordostdeutschland stetig zu) auch Füchse ein natürliches Reservoir für *T. spiralis*, *T. pseudospiralis* und *T. britovi* sind und für die Aufrechterhaltung des silvatischen Zyklus (*Trichinella*-Prävalenz bis zu 5% bzw. 0,2%) eine wichtige Rolle spielen. Deshalb wird ein systematisches Wildmonitoring zum Vorkommen von *Trichinella* spp. bei diesen Wildkarnivoren empfohlen, um die aktuelle epidemiologische Situation in Deutschland besser bewerten zu können. Da auch Wildschweine mit *Trichinella* spp. infiziert sein können (durchschnittliche Prävalenz 0,01%), sind erlegte Tiere ebenfalls lückenlos der Trichinenuntersuchung zuzuführen, um den Verbraucher zuverlässig zu schützen.

Das Verfahren zum direkten Nachweis der Muskellarve wird vorrangig bei der Trichinenuntersuchung und für das Wildmonitoring eingesetzt. Wie die Ergebnisse verschiedener Studien verdeutlichen, muss eine Methode der künstlichen Verdauung (z.B. Magnetrührverfahren) verwendet werden, um alle relevanten *Trichinella*-Spezies (einschließlich *T. pseudospiralis*) in den Muskelproben mit der notwendigen Sensitivität nachweisen zu können. In weiteren Studien ist auch die Eignung einer real-time PCR zum Direktnachweis von *Trichinella*-DNA aus Muskelproben zu überprüfen.

Weiterhin konnte anhand experimenteller Studien und Felduntersuchungen nachgewiesen werden, dass der ELISA auf Basis eines E/S-Antigens ein gut geeigneter indirekter Test ist,

um *Trichinella*-Antikörper aus dem Blutserum oder Fleischsaft von infizierten Schweinen nachzuweisen. Wegen des diagnostischen Fensters zu Beginn der Infektion (Serokonversion frühestens 2-3 Wochen p.i.) kann jedoch der ELISA die Trichinenuntersuchung am einzelnen Schwein nicht ersetzen, sondern ist gut geeignet als Screeningtest für das serologische Monitoring auf Bestandsebene zur Kontrolle des Status „vernachlässigbares Risiko einer *Trichinella*-Infektion“. Ein positives Ergebnis im ELISA ist mit einem hochspezifischen serologischen Test abzuklären. Als Bestätigungstest wird der Western Blot (WB) auf Basis eines gereinigten somatischen Antigens von *T. spiralis* empfohlen. Neben der dominanten 43 kDa Fraktion beinhaltet das Bandenmuster bis zu vier weitere *Trichinella*-spezifische Fraktionen (47, 61, 66, 102 kDa), mit denen die Abklärung von *Trichinella*-positiven Serum- oder Fleischsaftproben im WB möglich ist. In weiteren Studien sind ELISA und WB auf ihre Eignung und Aussagekraft für das serologische Monitoring zum Vorkommen von *Trichinella* spp. bei Wildschweinen, Füchsen und Marderhunden zu überprüfen.

6 Summary

Human trichinellosis is one of the most important foodborne zoonoses and is therefore subjected to official control in the EU Member States and other European countries. Factors such as the prevalence of *Trichinella* in the domestic cycle in pigs and in the sylvatic cycle in carnivorous and omnivorous wild animals, regional consumer habits and the performance of efficient control measures mainly determine the level of risk for the consumer of acquiring trichinellosis.

The present study aimed to assess the current situation for trichinellosis in Europe, in particular in Germany, and to derive conclusions for future control measures. For this purpose, experimental studies and field investigations were conducted to verify suitability and validity of methods for both the direct and indirect detection of *Trichinella* infection in pigs.

Human trichinellosis cases reported in Germany are mostly related to the import of this parasite from countries where this zoonosis still poses a problem in the domestic cycle in pigs (e.g. Rumania, Bulgaria, former countries of Yugoslavia, Poland). Data analyses show that the trichinellosis incidence in immigrants with regular travel activities to risk regions (0.3/100,000) is significantly higher compared with the incidence in the average German population (0.01/100.000). Therefore, raw products processed from pork or wild boar meat originating from a risk region should not be consumed. Furthermore, physicians should be aware of the features of this disease in order to ensure a quick diagnosis and successful treatment.

According to results of the official meat inspection in Germany, *T. spiralis* is not prevalent in the domestic cycle in pigs. However, pigs kept outdoors can be infected with *Trichinella* spp. due to scavenging of wild animals. For this reason, a risk based approach should be considered for *Trichinella* meat inspection in Germany as laid down by Regulation (EC) No. 2075/2005. Consequently, outdoor pigs (including breeding pigs) must undergo a systematic

meat inspection, whereas pigs kept indoors need not be examined for *Trichinella* if the status of the farm is controlled by continuous monitoring.

Results from regional studies in wildlife show that raccoon dogs (their population is steadily growing in the North-East of Germany) and foxes play an important role as natural reservoir for *T. spiralis*, *T. pseudospiralis* and *T. britovi* and for the maintenance of the sylvatic cycle (*Trichinella* prevalence up to 5% and 0.2%, respectively). Therefore, a systematic monitoring of the prevalence of *Trichinella* spp. in these animals is recommended to better assess the current epidemiological situation in Germany. Since wild boars can also be infected with *Trichinella* spp. (average prevalence 0.01%), all hunted game must be subjected to a systematic meat inspection in order to protect the consumer.

The procedure of direct detection of the muscle larva is preferentially used in *Trichinella* meat inspection and in wild animal monitoring. Results of several studies revealed that in order to detect all relevant *Trichinella* species (including *T. pseudospiralis*) with the required sensitivity in muscle samples, a method of artificial digestion (e.g. magnetic stirrer method) must be used. The suitability of a real-time PCR for the direct detection of *Trichinella*-DNA in muscle samples has to be evaluated in future studies.

Furthermore, results from experimental studies and field examinations demonstrate that an ELISA based on the E/S antigen from *T. spiralis* is a suitable indirect test for the detection of *Trichinella* antibodies in blood serum or meat juice of infected pigs. However, due to the diagnostic window in the early stage of infection (sero-conversion at the earliest 2-3 weeks p.i.), the ELISA cannot replace the *Trichinella* meat inspection in a single pig. Yet, in order to assess the status “negligible risk for *Trichinella* infection”, the ELISA is a suitable screening test for the serological monitoring at farm level. In case of a positive ELISA finding, the sample should be verified by a highly specific serological test. The Western Blot (WB) based on purified somatic antigen from *T. spiralis* is a suitable confirmatory test. In the WB, besides

the dominant 43 kDa fraction, the band pattern comprises up to four other *Trichinella*-specific fractions (47, 61, 66, 102 kDa) which are used for the verification of *Trichinella* positive serum or meat juice samples. In further studies, the suitability and validity of the ELSIA and the WB have to be evaluated for the serological monitoring about *Trichinella* spp. prevalence in wild boars, foxes and raccoon dogs.

7 Literaturverzeichnis

- Akkoc, N., Kuruuzum, Z., Akar, S., Yuce, A., Onen, F., Yapar, N., Ozgenc, O., Turk, M., Ozdemir, D., Avci, M., Guruz, Y. Oral, A.M., Pozio, E. (2009). A large scale outbreak of trichinellosis due to *Trichinella britovi* in Turkey. *Zoonoses Public Health* **56**, 65-70.
- Ancelle, T. (1998): History of trichinellosis outbreaks linked to horse meat consumption 1975-1998. *Euro Surveill.* **3**, 86-89.
- Anders, W., Kauer, E., Sattler, H. (1969): Epidemiologische Probleme eines Trichinose-Ausbruchs im Herbst 1967. *Bundesgesundhbl.* **20**, 317-319.
- Balicka-Ramisz, A., Grupinski, T., Ramisz, A., Pilarczyk, B., Laurans, L. (2007): Prevalence of *Trichinella* spp. in red foxes and wild boars in the northwestern part of Poland. *Dtsch. Tierärztl. Wochenschr.* **114**, 354-357.
- Beck, R., Mihaljević, Z., Marinculić, A. (2005): Comparison of trichinelloscopy with a digestion method for the detection of *Trichinella* larvae in muscle tissue from naturally infected pigs with low level infections. *Vet Parasitol.* **132**, 97-100.
- Blaga, R., Durand, B., Antoniu, S., Gherman, C., Cretu, C.M., Cozma, V., Boireau, P.A. (2007): Dramatic increase in the incidence of human trichinellosis in Romania over the past 25 years: impact of political changes and regional food habits. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **76**, 983-986.
- Bruschi, F., Tassi, C., Pozio, E. (1990): Parasite-specific antibody response in *Trichinella* sp. 3 human infection: a one year follow-up. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **43**, 186-193.
- Boireau, P., Vallee, I., Roman, T., Perret, C., Mingyuan, L., Gamble H.R., Gajadhar, A. (2000): *Trichinella* in horses: a low frequency infection with high human risk. *Vet. Parasitol.* **93**, 309-320.

- Bundesinstitut für Risikobewertung (2006): Weltweit erste Mischinfektion von *Trichinella spiralis* und *Trichinella pseudospiralis* im Wildschwein nachgewiesen. Mitteilung Nr. 004/2006 vom 20.02.2006.
- Bundesinstitut für Risikobewertung (2007): In Deutschland gibt es aus wissenschaftlicher Sicht keine Region mit einem vernachlässigbaren *Trichinella*-Risiko. Mitteilung Nr. 034/2007 vom 21. Mai 2007.
- Campbell, W.C. (1988): Trichinosis revisited, another look at modes of transmission. *Parasitol. Today* **4**, 83-86.
- Cuperlovic, K., Djordjevic, M. Pavlovic, S. (2005). Re-emergence of trichinellosis in southeastern Europe due to political and economic changes. *Vet. Parasitol.* **132**, 159-166.
- Despommier, D.D., Aron, L., Thorson, R. (1975): *Trichinella spiralis*: Growth of the intracellular (muscle) larva. *Exp. Parasitol.* **37**, 108-116.
- Dubinsky, P., Stefancikova, A., Kincekova, J., Ondriska, F., Reiterova, K. Medvedova, M. (2001): Trichinellosis in the Slovak Republic. *Parasite* **8**, 100-102.
- Dupouy-Camet J. (2000): Trichinellosis: a worldwide zoonosis. *Vet. Parasitol.* **93**, 191-200.
- Dupouy-Camet, J. (2006): Trichinellosis: still a concern for Europe. *Euro Surveill.* **11**, 5.
- Dupouy-Camet, J, Kociecka, W., Bruschi, F., Bolas-Fernandez, F, Pozio, E. (2002): Opinion on the diagnosis and treatment of human trichinellosis. *Expert Opin. Pharmacother.* **3**, 1117–1130.
- Dupouy-Camet, J., Bruschi, F. (2007): Management and diagnosis of human trichinellosis, p. 37-68. In: Dupouy-Camet, J., Murrell, K.D. (Eds.), *FAO/WHO/OIE guidelines for the surveillance, management, prevention and control of trichinellosis*. World Organisation for Animal Health Press, Paris.

- Dworkin, M.S., Gamble, H.R., Zarlenga, D.S., Tennican, P.O. (1996): Outbreak of trichinellosis associated with eating cougar jerky. *J. Inf. Dis.* **174**, 663-666.
- Eckert, J., Hiepe, Th. (1998): Parasiten in Nahrungsketten. *Nova Acta Leopoldina NF 79 Nr.* **309**, 99-120.
- European Food Safety Authority (2009): The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses and Zoonotic Agents in the European Union in 2007, *The EFSA Journal* **223**, 8.
- European Commission (2001): Opinion of the Scientific Committee on Veterinary Measures relating to Public Health on trichinellosis, epidemiology, methods of detection and *Trichinella*-free pig production. Adopted on 21-22 November 2001 in Brussels.
- European Community (2003): Directive 2003/99/EC of The European Parliament and of The Council of 17 November 2003 on the monitoring of zoonoses and zoonotic agents. *Official Journal of the European Union L* **325**, 31-40.
- European Community (2004): Regulation (EC) No 882/2004 of the European Parliament and of the Council of 29 April 2004 on official controls performed to ensure the verification of compliance with feed and food law, animal health and animal welfare rules. *Off. J. EC, L* **191**, 1-59.
- European Community (2005): Regulation (EC) No 2075/2005 of the European Parliament and of the Council of 5 December 2005 laying down specific rules on official controls for *Trichinella* in meat. *Off. J. EC, L* **338**, 60-82.
- Forbes L.B. (2000): The occurrence and ecology of *Trichinella* in marine mammals. *Vet Parasitol.* **93**, 321-334.
- Forbes, L.B., Gajadhar, A.A. (1999): A validated *Trichinella* digestion assay and an associated sampling and quality assurance system for use in testing pork and horse meat. *J. Food Prot.* **62**, 1308-1313.

- Forbes, L.B., Rajic, A., Gajadhar, A. (1998): Proficiency samples for quality assurance in *Trichinella* digestion tests. *J. Food Prot.* **61**, 1396-1399.
- Forbes, L.B., Scandrett, W.B., Gajadhar, A.A. (2005): A program to accredit laboratories for reliable testing of pork and horse meat for *Trichinella*. *Vet. Parasitol.* **132**, 173-177.
- Frey, C.F., Schuppers, M.E., Müller, N., Ryser-Degiorgis, M.P., Gottstein, B. (2009a): Assessment of the prevalence of *Trichinella* spp. in red foxes and Eurasian lynxes from Switzerland. *Vet. Parasitol.* **159**, 295-299.
- Frey, C.F., Schuppers, M.E., Eidam, V., Boujon, P., Waldvogel, A., Gottstein, B. (2009b): Vorkommen von *Trichinella* spp. beim Wildschwein in der Schweiz. *Schweiz. Arch. Tierheilkd.* **151**, 485-489.
- Frey, C.F., Schuppers, M.E., Nöckler, K., Marinculić, A., Pozio, E., Kihm, U., Gottstein, B. (2009c): Validation of a Western Blot for the detection of anti-*Trichinella* spp. antibodies in domestic pigs. *Parasitol Res.* **104**, 1269-1277.
- Gajadhar, A.A., Pozio, E., Gamble, H.R., Nöckler, K., Maddox-Hyttel, C., Forbes, L.B., Vallée, I., Rossi, P., Marinculić, A., Boireau, P. (2009): *Trichinella* diagnostics and control: mandatory and best practices for ensuring food safety. *Vet. Parasitol.* **159**, 197-205.
- Gajadhar, A.A., Forbes, L.B. (2010): A 10-year wildlife survey of 15 species of Canadian carnivores identifies new hosts or geographic locations for *Trichinella* genotypes T2, T4, T5, and T6. *Vet Parasitol.* **168**, 78-83.
- Gallardo, M.T., Mateos, L., Artieda, J., Wesslen, L., Ruiz, C., Garcia, M.A., Galmes-Truyols, A., Martin, A., Hernandez-Pezzi, G., Andersson, Y., Garate, T, Christensson, D. (2007): Outbreak of trichinellosis in Spain and Sweden due to consumption of wild boar meat contaminated with *Trichinella britovi*. *Euro Surveill.* **12**, E070315.1.

- Gamble, H.R., (1996): Detection of trichinellosis in pigs by artificial digestion and enzyme immunoassay. *J. Food Prot.* **59**, 295-298.
- Gamble, H.R., Rapic, D., Marinculic, A., Murrell, K.D. (1988): Evaluation of excretory-secretory antigens for the serodiagnosis of swine trichinellosis. *Vet. Parasitol.* **30**, 131-137.
- Gamble, H.R., Patrascu, I.V. (1996): Whole blood, serum and tissue fluids in an EIA for swine trichinellosis. *J. Food Protection* **59**, 1213-1217.
- Gamble, H.R., Gajadhar, A.A., Solomon, M.B. (1996): Methods for the detection of trichinellosis in horses. *J. Food Prot.* **59**, 420-425.
- Gamble, H.R., Bessonov, A.S., Cuperlovic, K., Gajadhar, A.A., Knapen, F. Van, Nöckler, K., Schenone, H., Zhu, X. (2000): International Commission on Trichinellosis: Recommendations on methods for the control of *Trichinella* in domestic and wild animals intended for human consumption. *Vet. Parasitol.* **93**, 393-408.
- Gamble, H.R., Pozio, E., Bruschi, F., Nöckler, K., Kapel, C.M.O., Gajadhar, A.A. (2004): International Commission on Trichinellosis: Recommendations on the Use of Serological Tests for the Detection of *Trichinella* Infection in Animals and Man. *Parasite* **11**, 3-13.
- Gamble, H.R., Boireau, P., Nöckler, K., Kapel, C.M.O. (2007): Prevention of *Trichinella* infection in the domestic pig. In: J. Dupouy-Camet, Murrell, K.D. (Eds.), *FAO/WHO/OIE guidelines for the surveillance, management, prevention and control of trichinellosis*. World Organisation for Animal Health Press, Paris, 99-108.
- Großklaus, D. (2001): Zoonosenüberwachung – neue Herausforderungen beim gesundheitlichen Verbraucherschutz. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* **114**, 420-427.

- Guenther, S., Nöckler, K., von Nickisch-Rosenegk, M., Landgraf, M., Ewers, C., Wieler, L.H., Schierack, P. (2008): Detection of *Trichinella spiralis*, *T. britovi* and *T. pseudospiralis* in muscle tissue with real-time PCR. J. Microbiol. Methods. **75**, 287-292.
- Hiepe, Th., Buchwalder, R., Nickel, S. (1985): Gattung *Trichinella*. In: Hiepe, Th. (Ed.) Lehrbuch der Parasitologie Band 3, Veterinärmedizinische Helminthologie, Gustav Fischer Verlag Stuttgart, 223-228.
- Hiepe, Th., Dauschies, A. (2006): 12.2 Strategien der Parasitenbekämpfung - Ziele, Möglichkeiten, Grenzen. In: Hiepe, Th., Lucius, R., Gottstein, B. (Eds.) Allgemeine Parasitologie mit den Grundzügen der Immunologie, Diagnostik und Bekämpfung. Parey Verlag Stuttgart, 381-395.
- Hinz, E. (1991): Trichinellosis and trichinellosis control in Germany. Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health **22**, 329–333.
- Hoffmann, L., Worbes, H., Klengel, K., Orthey, G., Tackman, K. (2000). Epidemiological investigations of *Echinococcus multilocularis* and *Trichinella* spp. in the red fox in Thuringia. Abstracts 19. Tagung der DPG, Stuttgart-Hohenheim 28.03.-01.04.2000, 28-29.
- Hurníková, Z., Šnábel, V., Pozio, E., Reiterová, K., Hřčková, G., Halásová, D., Dubinský, P. (2005): First record of *Trichinella pseudospiralis* in the Slovak Republic. Vet. Parasitol. **128**, 91-98.
- Joachim, A. (2006): 4.2 Helminthosen des Schweines, Trichinellose. In: Schnieder, Th. (Ed.) Veterinärmedizinische Parasitologie, 6. Auflage. Parey Verlag Stuttgart, 392-397.

- Jung, D., Teifke, J.P., Karger, A., Michael, K., Venz, S., Wittmann, W., Kindermann, K., Nöckler, K., Mundt, E. (2007): Evaluation of baculovirus-derived recombinant 53-kDa protein of *Trichinella spiralis* for detection of *Trichinella*-specific antibodies in domestic pigs by ELISA. *Parasitol. Res.* **100**, 429-437.
- Kapel, C.M.O. (2000): Experimental infections with sylvatic and domestic *Trichinella* spp. in wild boars; infectivity muscle larvae distribution, and antibody response. *J. Parasitol.* **93**, 263-278.
- Kapel, C.M.O., Henriksen, S.A., Berg, T.B., Nansen, P. (1995): *Trichinella* infections in arctic foxes from Greenland: studies and reflections on predilection sites of muscle larvae. *J. Helminthol.* **69**, 325-330.
- Kapel, C.M.O., Henriksen, S.S., Nansen, P. (1997): Prevalence of *Trichinella nativa* in Greenland according to zoogeography. In: Ortega-Pierres, G., Gamble, R., Van Knapen, F., Wakelin, D. (Eds.): *Trichinellosis*. 9th Int. Conf. on Trichinellosis. Germar Press, Nonoalco Tlate-loco, Mexico: 591-597
- Kapel, C.M.O., Webster, P., Lind, P., Pozio, E., Henriksen, S.A., Murrell, K.D., Nansen, P. (1998): *Trichinella spiralis*, *T. britovi*, and *T. nativa*: infectivity, larval distribution in muscle, and antibody response after experimental infection of pigs. *Parasitol. Res.* **84**, 264-271.
- Kapel, C.M.O., Gamble, H.R. (2000): Infectivity, persistence, and antibody response to domestic and sylvatic *Trichinella* spp. in experimentally infected pigs. *Int. J. Parasitol.* **30**, 215-221.
- Kapel, C.M., Oivanen, L., La Rosa, G., Mikkonen, T., Pozio, E. (2001): Evaluation of two PCR-based techniques for molecular epidemiology in Finland, a high-endemic area with four sympatric *Trichinella* species. *Parasite.* **8**, 39-43.

- Kapel, C.M.O., Webster, P., Gamble, R. (2005): Muscle distribution of sylvatic and domestic *Trichinella* larvae in production animals and wildlife. *Vet. Parasitol.* **132**, 101-105.
- Krois, E., Nöckler, K., Duscher, G., Joachim, A., Kapel, C.M.O., Prosl, H. (2005): *Trichinella britovi* beim Rotfuchs (*Vulpes vulpes*) in Österreich. *Wien. Tierärztl. Mschr.* **92**, 308-314.
- Liciardi, M., Marucci, G., Addis, G., Ludovisi, A., Gomez, Morales, M.A., Deiana, B., Cabaj, W., Pozio, E. (2009): *Trichinella britovi* and *Trichinella spiralis* mixed infection in a horse from Poland. *Vet. Parasitol.* **161**, 345-348.
- Littmann, M., Nöckler, K., Hallauer, J. (2006): Cluster of trichinellosis cases in Mecklenburg-Vorpommern, Germany. *Euro Surveillance* **18**, E060518.1.
- Malakauskas, A., Paulauskas, V., Jarvis, T., Keidans, P., Eddi, C., Kapel, C.M.O. (2007): Molecular epidemiology of *Trichinella* spp. in three Baltic countries: Lithuania, Latvia, and Estonia. *Parasitol Res.* **100**, 687-693.
- Malczewska, M., Malczewski, A., Rocki, B., Cabaj, W. (1997): The red fox (*Vulpes vulpes*) as reservoir of *Trichinella* sp. In Poland. *Wiad. Parazytol.* **43**, 303-306.
- Margolis, H.S., Middaugh, J.P., Burgess, R.D. (1979): Arctic trichinosis: two Alaskan outbreaks from walrus meat. *J. Infect. Dis.* **139**, 102-105.
- Marinculic, A., Gamble, H.R., Urban, J.F., Rapic, D., Zivicnjak, T., Smith, H.J., Murrell, K.D. (1991): Immunity in swine inoculated with larvae or extracts of a pig isolate and a sylvatic isolate of *Trichinella spiralis*. *Am. J. Vet. Res.* **52**, 754-758.
- Marinculic A., Gaspar A., Durakovic E., Pozio E., La Rosa G. (2001): Epidemiology of swine trichinellosis in the Republic of Croatia. *Parasite* **8**, 92-94.
- Mayer-Scholl, A., Reckinger, S., Nöckler, K. (2009): Ringversuch zum Nachweis von Trichinellen in Fleisch (2008). *Fleischwirtsch.* **89**, 110-114.

- Møller, L.N., Petersen, E., Gamble, R., Kapel, C.M.O. (2005): Comparison of two antigen for demonstration of *Trichinella* spp. antibodies in blood and muscle fluids of foxes, pigs and wild boars. *Vet. Parasitol.* **132**, 81-84.
- Murrell, K.D., Pozio, E. (2000): Trichinellosis: The zoonosis that won't go quietly. *Int. J. Parasitol.* **30**, 1339-1349.
- Nagano, I., Wu, Z., Takahashi, Y. (2008): Species-specific antibody responses to the recombinant 53-kilodalton excretory and secretory proteins in mice infected with *Trichinella* spp. *Clin Vaccine Immunol.* **15**, 468-473.
- Nelson, M., Wright, T.L., Pierce, A., Krogwold, R.A. (2003): A common-source outbreak of trichinosis from consumption of bear meat. *J. Environm. Health* **65**, 16-19.
- Nöckler, K. (2003): *Trichinella* prevalence in the domestic and sylvatic cycle and its importance as foodborne pathogen. *Helminthologia* **40**, 103-108.
- Nöckler, K., Voigt, W.P. (1998). Experimental *Trichinella spiralis* infection in the silver fox (*Vulpes vulpes fulva*). In: Ortega-Pierres, G., Gamble, H.R., van Knapen, F., Wakelin, D. (Eds.) *Trichinellosis. 9th Int. Conf. on Trichinellosis*, Germar Press, Nonoalco Tlateloco, Mexico, 319-323.
- Nöckler, K., Kapel, C.M.O. (2007): Detection of *Trichinella*, meat inspection and Hygiene, legislation. In: Dupouy-Camet, J., Murrell, K.D. (Eds.), *FAO/WHO/OIE guidelines for the surveillance, management, prevention and control of trichinellosis*. World Organisation for Animal Health Press, Paris, 61-98.
- Nöckler, K., Reckinger, S. (2008): Ringversuch zum Nachweis von Trichinellen in Fleisch (2007). *Fleischwirtsch.* **88**, 103-106.

- Nöckler, K., Voigt, W.-P., Protz, D., Miko, A., Ziedler, K. (1995): Intravitale Diagnostik der Trichinellose beim Schwein mit dem indirekten ELISA. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. **108**, 167-174.
- Nöckler, K., Reiter-Owona, I., Heidrich, J. (2002): Laboratoriumsdiagnostik der Trichinellose. J. Lab. Med. **26**, 365-371.
- Nöckler, K., Wichmann-Schauer, H., Hiller, P., Müller, A., Bogner, K.-H. (2007): Trichinellosis outbreak in Bavaria caused by cured sausage from Romania, January 2007. Euro Surveill. **12**, E070823.2.
- Nuñez, G.G., Malmassari, S.L., Costantino, S.N., Venturiello, S.M. (2000): Immunoelectrotransfer blot assay in acute and chronic human trichinellosis. J. Parasitol. **86**, 1121-1124.
- Office International des Epizooties (2008): Chapter 2.1.16. Trichinellosis. In: Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, Paris, 344-352.
- Ooi, H.K., Kamiya, M., Ohbayashi, M. (1987): Cross resistance against challenge infection in mice infected with *Trichinella spiralis* or *T. pseudospiralis*. Jap. J. Vet. Res. **35**, 87-97.
- Pannwitz, G., Vogel, H., Kerlikowsky, H., Mayer-Scholl, A., Nöckler, K. (2009): Nachweise von *Trichinella spiralis* bei Hausschweinen. Amtstierärztlicher Dienst und Lebensmittelkontrolle **16**, 105-111.
- Pozio, E. (1998): Trichinellosis in the European Union: epidemiology, ecology and economic impact. Parasitol. Today **14**, 35-38.
- Pozio, E. (2000): The domestic, synanthropic and sylvatic cycles and the flow among them. Vet. Parasitol. **93**, 241-262.
- Pozio, E. (2001): New patterns of *Trichinella* infection. Vet. Parasitol. **98**, 133-148.

- Pozio, E. (2005): The broad spectrum of *Trichinella* hosts: From cold- to warm-blooded animals. *Vet. Parasitol.* **132**, 3-11.
- Pozio, E. (2007a): World distribution of *Trichinella* spp. infections in animals and humans. *Vet. Parasitol.* **149**, 3-21.
- Pozio, E. (2007b): Taxonomy, biology and epidemiology of *Trichinella* parasites. In: Dupouy-Camet, J., Murrell, K.D. (Eds.), *FAO/WHO/OIE guidelines for the surveillance, management, prevention and control of trichinellosis*. World Organisation for Animal Health Press, Paris, 1-36.
- Pozio, E., La Rosa, G. (2003): PCR-derived methods for the identification of *Trichinella* parasites from animal and human samples. *Meth. Mol. Biol.* **216**, 299-309.
- Pozio, E., Murrell, K.D. (2006): Systematics and epidemiology of *Trichinella*. *Adv. Parasitol.* **63**, 367-439.
- Pozio, E., Tamburrini, A., Sacchi, L., Gomez Morales, M.A., Corona, S., Goffredo, E., La Rosa, G. (1997): Detection of *Trichinella spiralis* in a horse during routine examination in Italy. *Int. J. Parasitol.* **27**, 1613-1621.
- Pozio, E., Nöckler, K., Hoffmann, L., Voigt, W.P. (2000): Autochthonous and imported *Trichinella* isolates in Germany. *Vet. Parasitol.* **87**, 157-161.
- Pozio, E., Sacchini, D., Sacchi, L., Tamburrini, A., Alberici, F. (2001a): Failure of mebendazole in treating *Trichinella spiralis* infection in humans at the stage of encapsulating larvae. *Clin. Inf. Dis.* **32**, 638-642.
- Pozio, E., La Rosa, G., Gomez Morales, M.A. (2001b): Epidemiology of human and animal trichinellosis in Italy since its discovery in 1887. *Parasite* **8**, 106-108.
- Pozio, E., Casulli, A., Bologov, V.V., Marucci, G., La Rosa, G. (2001c): Hunting practices increase the prevalence of *Trichinella* infection in wolves from European Russia. *J. Parasitol.* **87**, 1498-1501.

- Pozio, E., Mesina, P., Sechi, F., Pira, M, Liciardi M, Cossu P, Marucci G, Garippa G, Firinu A. (2006): Human outbreak of trichinellosis in the Mediterranean island of Sardinia, Italy. *Vet Parasitol.* **140**, 177-180.
- Pozio, E., Cossu, P., Marucci, G., Amati, M., Ludovisi, M., Gomez Morales, M.A., La Rosa, G., Firinu, T. (2009): The birth of a *Trichinella britovi* focus on the Mediterranean island of Sardinia (Italy). *Vet. Parasitol.* **159**, 361-363.
- Pozio, E., Rinaldi, L., Marucci, G., Musella, V., Galati, F., Cringoli, G., Boireau, P., La Rosa, G. (2009a). Hosts and habitats of *Trichinella spiralis* and *Trichinella britovi* in Europe. *Int. J. Parasitol.* **39**, 71-79.
- Pozio, E., Cossu, P., Marucci, G., Amati, M., Ludovisi, M., Gomez Morales M.A., La Rosa G., Firinu, T. (2009b): The birth of a *Trichinella britovi* focus on the Mediterranean island of Sardinia (Italy). *Vet. Parasitol.* **159**, 361-363.
- Pyburn, D.G., Gamble, H.R., Wagstrom, E.A., Anderson, L.A., Miller, L.E. (2005): Trichinae certification in the United States pork industry. *Vet. Parasitol.* **132**:179-183.
- Rafter, P., Marucci, G., Brangan, P., Pozio, E. (2005): Rediscovery of *Trichinella spiralis* in red foxes (*Vulpes vulpes*) in Ireland after thirty years of oblivion. *J. Infect.* **50**, 61-65.
- Ramisz, A., Szyborski, J., Balicka-Ramisz, A. (2001): Epidemiological studies on trichinellosis among swine, wild boars and humans in Poland. *Parasite* **8**, 90-91.
- Ranque, S., Faugère, B., Pozio, E., La Rosa, G., Tamburrini, A., Pellissier, J.F., Brouqui, P. (2000): *Trichinella pseudospiralis* outbreak in France. *Emerg. Inf. Dis.* **6**, 543-547.
- Reason, A.J., Ellis, L.A., Appleton, J.A., Wisnewski, N., Grieve, R.B., McNeil, M., Wassom, D.L., Morris, H.R., Dell, A. (1994): Novel tyvelose-containing tri- and tetra-antennary N-glycans in the immunodominant antigens of the intracellular parasite *Trichinella spiralis*. *Glycobiology* **4**, 593-603.

- Rehmet, S., Sinn, G., Robstad, O., Petersen, L., Ammon, A., Lesser, D., David, H., Nöckler, K., Scherholz, G., Erkrath, K.-D., Pechmann, D., Kundt, R., Oltmans, G., Lange, R., Laumen, J., Nogay, U., Dixius, M., Eichenberg, J., Dinse, F., Stegemann, D., Lotz, W., Franke, D., Hagelschur, P., Steigert, M. (1999): Two outbreaks of trichinellosis in the state of Northrhine-Westfalia, Germany, 1998. *Euro Surveill* **4**, 78-81.
- Robert, F., Weil, B., Kassis, N., Dupouy-Camet, J. (1996): Investigation of immunofluorescence cross-reactions against *Trichinella spiralis* by western blot (immunoblot) analysis. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* **3**, 575-577.
- Rodríguez, E., Olmedo, J., Ubeira, F.M., Blanco, C., Gárate, T. (2008): Mixed infection, *Trichinella spiralis* and *Trichinella britovi*, in a wild boar hunted in the Province of Cáceres (Spain). *Exp Parasitol.* **119**, 430-432.
- Schynts, F., van der Giessen, J., Tixhon, S., Pozio, E., Dorny, P., de Borchgrave, J. (2006): First isolation of *Trichinella britovi* from a wild boar (*Sus scrofa*) in Belgium. *Vet Parasitol.* **135**, 191-194.
- Shimoni, Z., Klein, Z., Weiner, P., Assous, M.V., Fromm, P. (2007): The use of prednisone in the treatment of trichinellosis. *Isr. Med. Assoc. J.* **9**, 537-539.
- Smith, H.J., Snowdon, K.E. (1989): Comparative assessment of a double antibody enzyme immunoassay test kit and a triple antibody enzyme immunoassay for the diagnosis of *Trichinella spiralis spiralis* and *Trichinella spiralis nativa*. *Can. J. Vet. Res.* **53**, 497-499.
- Soulé, C., Dupouy-Camet, J., Georges, P., Ancelle, T., Gillet, J.P., Vaissaire, J., Delvigne, A., Plateau, E. (1989): Experimental trichinellosis in horses: biological and parasitological evaluation. *Vet. Parasitol.* **31**, 19-36.
- Soulé, C. (1991): Epidemiologie. In: Soulé, C., Dupouy-Camet, J. (Eds.): La trichinellose: une zoonose en évolution. Office International des Epizooties, Paris, France, 43-52.

- Soulé, C., Dupouy-Camet, J., Georges, P., Fontaine, J.J., Ancelle, T., Delvigne, A., Perret, C., Collobert, C. (1993): Biological and parasitic variations in horses infested and reinfested by *Trichinella spiralis*. *Vet. Res.* **24**, 21-31.
- Stein, H.A. (1983): Trichinose-Erkrankungen im Bitburger Raum (Eifel). Aus der Sicht der Humanmediziner des öffentlichen Gesundheitsdienstes. *Öff. Gesundh.-Wes.* **45**, 532-533.
- Stojcevic D, Zivicnjak T, Marinculic A, Marucci G, Anelko G, Brstilo M, Pavo L, Pozio E. (2004): The epidemiological investigation of *Trichinella* infection in brown rats (*Rattus norvegicus*) and domestic pigs in Croatia suggests that rats are not a reservoir at the farm level. *J. Parasitol.* **90**, 666-670.
- Sukura, A., Näreaho, A., Veijalainen, P., Oivanen, L. (2001): Trichinellosis in farmed wild boar: meat inspection findings and seroprevalence. *Parasite* **8**, 243-245.
- Teuber, J., Brehm, H., Stumpf, J. (1979). Zur Diagnostik der Trichinellosen unter besonderer Berücksichtigung eines modifizierten Immunfluoreszenztests. *Immunität und Infektion* **6**, 213-221.
- Thiess, A., Schuster, R., Nöckler, K., Mix, H. (2001): Helminthenfunde beim einheimischen Marderhund *Nyctereutes procyonoides* (Gray, 1834). *Berl. Münch. tierärztl. Wschr.* **114**, 273-276.
- Van Knapen, F., Franchimont, J.H., Garate, T., Henriksen, S.A., Martinez-Fernandez, H., Pfeiffer, G., Ring, C., Soulé, C., Voigt, W.P. (1996): EU experimental study on wild boar trichinellosis. *Appl. Parasitol.* **37**, 17-22.
- Vassilatis, D.K., Despommier, D., Misek, D., Polvere, R.I., Gold, A.M. Van der Ploeg, L.H. (1992): Analysis of at 43-kDa glycoproteins from the intracellular parasitic nematode *Trichinella spiralis*. *J. Biol. Chem.* **267**, 18459-18465.

- Voigt, W.P., Nöckler, K., Freischem, B., Henriksen, S.A., van Knapen, F., Martinez-Fernandez, F., Pfeiffer, G., Pozio, E., Reuter, G., Ring, C., Soulé, C., Weiss, H. (1998): Detection of low levels of *Trichinella spiralis* in experimentally infected horses. In: Ortega-Pierres, G., Gamble, H.R., van Knapen, F., Wakelin, D. (Eds.) Trichinellosis. 9th Int. Conf. on Trichinellosis, Germar Press, Nonoalco Tlateloco, Mexico, 629-634.
- Wacker, K., Rodriguez, E., Garate, T., Geue, L., Tackmann, K., Selhorst, T., Staubach, C., Conraths, F.J. (1999): Epidemiological analysis of *Trichinella spiralis* infections of foxes in Brandenburg, Germany. *Epidemiol. Infect.* **123**, 139-147.
- Wagner, J.A., Frank, W. (1989): Recent research on the prevalence of *Trichinella* in wild mammals in the Federal Republic of Germany. In: Tanner, C.E., Martinez Fernandez, A., Bolas Fernandez, F. (Eds.). Trichinellosis. Proceedings of the Seventh International Conference on Trichinellosis. CSIC Press, Madrid, Spain, 416-422.
- Webster, P., Maddox-Hyttel, C., Nöckler, K., Malakauskas, A., van der Giessen, J., Pozio, E., Boireau, P., Kapel, C.M.O. (2006): Meat inspection for *Trichinella* in pork, horsemeat and game within EU -available technology and its present implementation. *Euro Surveillance* **11**, 50-55.
- Wisnewski, N., McNeil, M., Grieve, R.B., Wassom, D.L. (1993): Characterization of novel fucosyl- and tyvelosyl-containing glycoconjugates from *Trichinella spiralis* muscle stage larvae. *Mol. Biochem. Parasitol.* **61**, 25-35.
- Yera, M.R., Andiva, S., Perret, C., Limonne, D., Boireau, P., Dupouy-Camet, J. (2003): Development and evaluation of a Western Blot kit for diagnosis of humane trichinellosis. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* **10**, 793-796.
- Zarlenga, D.S., La Rosa, G. (2000): Molecular and biochemical methods for parasite differentiation within the genus *Trichinella*. *Vet Parasitol.* **93**, 279-292.

Zarlenga, D.S., Chute, M.B., Martin, A., Kapel, C.M.O. (1999): A multiplex PCR for unequivocal differentiation of all encapsulated and non-encapsulated genotypes of *Trichinella*. *Int. J. Parasitol.* **29**, 1859-1867.

Zarlenga, D.S., Rosenthal, B., La Rosa, G., Pozio, E., Hoberg, E.P. (2006): Post-Miocene expansion, colonization, and host switching drove speciation among extant nematodes of the archaic genus *Trichinella*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **103**, 7354-7359.

8 Abkürzungen und Definitionen

BfR	Bundesinstitut für Risikobewertung
CCP	critical control point (kritischer Kontrollpunkt)
DNA	desoxyribonucleinacid (Desoxyribonukleinsäure)
EFSA	European Food Safety Authority (Europäische Lebensmittelbehörde)
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay (enzymgekoppelter Immunadsorbtionstest)
E/S	exkretorisch-sekretorisch
EU	Europäische Union
g	Gramm
HE	Hämatoxylin-Eosin
IFAT	Immunfluoreszenz-Antikörpertest
ICT	International Commission on Trichinellosis (Internationale Kommission für Trichinellose)
IfSG	Infektionsschutzgesetz
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
kDa	Kilodalton
Lpg	Larven pro Gramm
mg	Milligramm
µm	Mikrometer
Mio.	Million
NRL	Nationales Referenzlabor
PCR	polymerase chain reaction (Polymerase-Kettenreaktion)
p.i.	post infectionem (nach der Infektion)
RKI	Robert Koch-Institut

T. *Trichinella* (Gattung)

u.a. unter anderem

WB Western Blot

z.B. zum Beispiel

9 Darstellung des eigenen Anteils an den Arbeiten

Der Anteil der an den vorgelegten Arbeiten beteiligten Autorinnen und Autoren wird nach folgenden Gesichtspunkten unterschieden:

1. Idee
2. Studienplanung
3. Durchführung der Studie
4. Auswertung der Ergebnisse
5. Erstellung des Manuskripts
6. Ressourcen, Finanzierung

Mitteilung 1:

Gottstein, B., Pozio, E., Nöckler, K. (2009): Epidemiology, diagnosis, treatment, and control of trichinellosis. *Clin. Microbiol. Rev.* **22**, 127-145.

1. Gottstein
2. Gottstein, Nöckler, Pozio
3. Gottstein, Pozio, Nöckler
4. Gottstein, Nöckler, Pozio
5. Gottstein, Pozio, Nöckler
6. entfällt

Mitteilung 2:

Nöckler, K. (2005): Vorkommen und Bedeutung von *Trichinella* in Deutschland. Wien.
Tierärztl. Mschr. **92**, 301-307.

1. Nöckler

2. Nöckler

3. Nöckler

4. Nöckler

5. Nöckler

6. Nöckler

Mitteilung 3:

Jansen, A., Schöneberg, I., Stark, K., Nöckler, K. (2008): Epidemiology of Trichinellosis in
Germany, 1996-2006. Vector Borne Zoonotic Dis. **8**, 189-196.

1. Jansen, Nöckler

2. Jansen, Nöckler

3. Jansen, Nöckler, Schöneberg, Stark

4. Jansen, Nöckler, Schöneberg, Stark

5. Jansen, Schöneberg, Nöckler

6. Jansen

Mitteilung 4:

Nöckler, K., Reiter-Owona, I., Heidrich, J., Protz, D., Rehmet, S., Sinn, G., Ammon, A. (2001): Aspects of clinical features, diagnosis, notification and tracing back in connection with two *Trichinella* outbreaks in North Rhine-Westphalia, Germany, 1998. *Parasite* **8**, 183-185.

1. Nöckler, Ammon
2. Nöckler, Ammon, Rehmet, Sinn, Protz
3. Ammon, Rehmet, Sinn, Heidrich
4. Ammon, Rehmet, Sinn, Nöckler, Reiter-Owona
5. Nöckler, Ammon, Rehmet
6. Ammon, Nöckler

Mitteilung 5:

Nöckler, K., Pozio, E., Voigt, W.P., Heidrich, J. (2000): Detection of *Trichinella* infection in food animals. *Vet. Parasitol.* **93**, 335-350.

1. Nöckler
2. Nöckler, Pozio, Voigt
3. Nöckler, Voigt, Heidrich
4. Nöckler, Voigt, Heidrich, Pozio
5. Nöckler
6. entfällt

Mitteilung 6:

Nöckler, K., Reckinger, S., Pozio, E. (2006): *Trichinella spiralis* and *Trichinella pseudospiralis* mixed infection in a wild boar (*Sus scrofa*) of Germany. Vet. Parasitol. **137**, 364-368.

1. Nöckler
2. Nöckler, Reckinger
3. Reckinger
4. Nöckler, Reckinger, Pozio
5. Nöckler, Pozio
6. Nöckler

Mitteilung 7:

Nöckler, K., Reckinger, S., Szabó, I., Maddox-Hyttel, C., Pozio, E., van der Giessen, J., Vallée, I., Boireau, P. (2009): Comparison of three artificial digestion methods for detection of non-encapsulated *Trichinella pseudospiralis* larvae in pork. Vet. Parasitol. **159**, 341-344.

1. Nöckler, Vallée, Boireau
2. Nöckler, Vallée
3. Reckinger, Maddox-Hyttel, Pozio, van der Giessen, Vallée
4. Szabó, Nöckler
5. Nöckler
6. Nöckler, Vallée

Mitteilung 8:

Nöckler, K., Serrano Aguilera, F.J., Boireau, P., Kapel, C.M.O., Pozio, E. (2005):

Experimental studies in pigs on *Trichinella* detection in different diagnostic matrices. Vet. Parasitol. **132**, 85-90.

1. Nöckler, Serrano Aguilera, Boireau
2. Nöckler, Serrano Aguilera
3. Nöckler, Serrano Aguilera
4. Nöckler, Serrano Aguilera, Kapel, Pozio
5. Nöckler
6. Nöckler, Serrano Aguilera

Mitteilung 9:

Nöckler, K., Hamidi, A., Fries, R., Heidrich, J., Beck, R., Marinculic, A. (2004): Influence of

methods for *Trichinella* detection in pigs from endemic and non-endemic European region. J. Vet. Med. B **51**, 297-301.

1. Nöckler, Fries, Marinculic
2. Nöckler, Hamidi, Beck
3. Hamidi, Beck, Heidrich
4. Nöckler, Hamidi
5. Nöckler
6. Nöckler, Marinculic

Mitteilung 10:

Nöckler, K., Reckinger, S., Broglia, A., Mayer-Scholl, A., Bahn, P. (2009): Evaluation of a Western Blot and ELISA for the detection of anti-*Trichinella*-IgG in pig sera. *Vet. Parasitol.* **163**, 341-347.

1. Nöckler
2. Nöckler, Bahn, Reckinger
3. Bahn, Reckinger
4. Nöckler, Broglia, Mayer-Scholl
5. Nöckler, Broglia
6. Nöckler

10 Danksagung

In erster Linie danke ich Herrn Prof. Dr. Eberhard Schein und Herrn Prof. Dr. Georg von Samson-Himmelstjerna für die Möglichkeit, die Lehre in Form einer Wahlpflichtveranstaltung am Institut für Parasitologie des Fachbereiches Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin durchführen zu können.

Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. mult. Dieter Großklaus gilt mein Dank für die jederzeit gewährte Unterstützung und den Zuspruch, diese Arbeit anzufertigen. Mein besonderer Dank gilt weiterhin Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. mult. Theodor Hiepe für die kritische Durchsicht der Arbeit und die wertvollen Ratschläge. Des Weiteren danke ich Herrn Prof. Dr. Dr. Andreas Hensel und Herrn Prof. Dr. Bernd Appel für die gewährte technische und finanzielle Unterstützung bei der Durchführung der Projekte im Nationalen Referenzlabor für Trichinellose des Bundesinstitutes für Risikobewertung.

Mein Dank gehört außerdem den ehemaligen und jetzigen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Nationalen Referenzlabors für Trichinellose, insbesondere Frau Dr. Jana Heidrich, Frau Christa Opalka, Frau Sabine Reckinger, Frau Gabriela Schindhelm, Frau Dr. Mayer-Scholl, Herrn Peter Bahn, Herrn Enno Luge und Herrn Wolfgang Barownick und den ehemaligen Doktoranden Herrn Dr. Roger Pally, Frau Dr. Anja Thiess und Herrn Dr. Afrim Hamidi.

Herzlich bedanken möchte ich mich auch bei den internationalen Kooperationspartnern, insbesondere bei Herrn Dr. Pascal Boireau und Frau Dr. Isabelle Vallée (Agence française de sécurité sanitaire des aliments, Paris), Herrn Prof. Dr. Christian Kapel (Faculty of Life Sciences, University of Copenhagen), Frau Dr. Joke van der Giessen (Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, Bilthoven) und Herrn Dr. Edoardo Pozio, (Istituto Superiore di Sanità, Rom) für die erfolgreiche Zusammenarbeit in den Forschungsprojekten „Trichiporse“ und „TrichiMed“ (Med-Vet-Net), die von der Europäischen Kommission im 5. bzw. 6. Forschungsrahmenprogramm gefördert wurden.

Nicht zuletzt danke ich meiner Familie für die Unterstützung und das Verständnis in all den Jahren meiner wissenschaftlichen Tätigkeit.

11 Anhang (Mitteilungen 1-10)

Mitteilung 1:

Gottstein, B., Pozio, E., Nöckler, K. (2009):

Epidemiology, diagnosis, treatment, and control of trichinellosis.

Clin. Microbiol. Rev. **22**, 127-145.

DOI:10.1128/CMR.00026-08

Mitteilung 2:

Nöckler, K. (2005):

Vorkommen und Bedeutung von *Trichinella* in Deutschland.

Wien. Tierärztl. Mschr. **92**, 301-307.

http://www.wtm.at/12_2005.php

Mitteilung 3:

Jansen, A., Schöneberg, I., Stark, K., Nöckler, K. (2008):

Epidemiology of Trichinellosis in Germany, 1996-2006.

Vector Borne Zoonotic Dis. **8**, 189-196.

[DOI:10.1089/vbz.2007.0183](https://doi.org/10.1089/vbz.2007.0183)

Mitteilung 4:

Nöckler, K., Reiter-Owona, I., Heidrich, J., Protz, D., Rehmet, S., Sinn, G., Ammon, A.

(2001):

Aspects of clinical features, diagnosis, notification and tracing back in connection with two *Trichinella* outbreaks in North Rhine-Westphalia, Germany, 1998.

Parasite **8**, 183-185.

http://parasite-journal.org/P3_rech2.php?Annee=2001

Mitteilung 5:

Nöckler, K., Pozio, E., Voigt, W.P., Heidrich, J. (2000):

Detection of *Trichinella* infection in food animals.

Vet. Parasitol. **93**, 335-350.

DOI:10.1016/S0304-4017(00)00350-2

Mitteilung 6:

Nöckler, K., Reckinger, S., Pozio, E. (2006):

***Trichinella spiralis* and *Trichinella pseudospiralis* mixed infection in a wild boar
(*Sus scrofa*) of Germany.**

Vet. Parasitol. **137**, 364-368.

DOI: [10.1016/j.vetpar.2006.01.031](https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.01.031)

Mitteilung 7:

Nöckler, K., Reckinger, S., Szabó, I., Maddox-Hyttel, C., Pozio, E., van der Giessen, J.,
Vallée, I., Boireau, P. (2009):

Comparison of three artificial digestion methods for detection of non-encapsulated *Trichinella pseudospiralis* larvae in pork.

Vet. Parasitol. **159**, 341-344.

DOI:10.1016/j.vetpar.2008.10.075

Mitteilung 8:

Nöckler, K., Serrano Aguilera, F.J., Boireau, P., Kapel, C.M.O., Pozio, E. (2005): **Experimental studies in pigs on *Trichinella* detection in different diagnostic matrices.**

Vet. Parasitol. **132**, 85-90.

DOI:10.1016/j.vetpar.2005.05.033

Mitteilung 9:

Nöckler, K., Hamidi, A., Fries, R., Heidrich, J., Beck, R., Marinculic, A. (2004):

**Influence of methods for *Trichinella* detection in pigs from endemic and non-endemic
European region.**

J. Vet. Med. B **51**, 297-301.

DOI:10.1111/j.1439-0450.2004.00770.x

Mitteilung 10:

Nöckler, K., Reckinger, S., Broglia, A., Mayer-Scholl, A., Bahn, P. (2009):

Evaluation of a Western Blot and ELISA for the detection of anti-*Trichinella*-IgG in pig sera.

Vet. Parasitol. **163**, 341-347.

DOI:10.1016/j.vetpar.2009.04.034