

# Tabellenverzeichnis

2.1. Charakterisierung von den ausgewählten <i>Eimeria tenella</i> Antigenen . . . . .	24
3.1. Primer für PCR . . . . .	28
3.2. Vektorenliste . . . . .	30
3.3. Bakterienstämme . . . . .	34
3.4. Versuchsplan . . . . .	42
3.5. Gruppeneinteilung . . . . .	45
3.6. Untersuchung der Versuchsproben <b>Gallenflüssigkeit auf IgA</b> gerichtet gegen LPS bzw. Eimerien-Antigen mittels ELISA . . . . .	48
3.7. Untersuchung der Versuchsproben <b>Serum auf IgA</b> gerichtet gegen LPS bzw. Eimerien-Antigen mittels ELISA . . . . .	49
3.8. Untersuchung der Versuchsproben <b>Serum auf IgG</b> gerichtet gegen Eimerien-Antigen mittels ELISA . . . . .	49
4.1. Ergebnisse der PCR mit DNA als Template . . . . .	55
4.2. Vektoren mit Insert in <i>Escherichia coli</i> und <i>Salmonella typhimurium</i> Stämmen . . . . .	56
4.3. Eigenschaften der <i>Salmonella typhimurium</i> Stämme . . . . .	58
4.4. Expression der relevanten <i>Eimeria tenella</i> Genen . . . . .	59
4.5. Statistik zu den Ergebnissen vom ELISA zur Untersuchung von IgG in Seren gerichtet gegen das rekombinante Antigen SO7. Inkubation des ABTS Substratpuffers 10 min. . . . .	64
4.6. Statistik zu den Ergebnissen vom ELISA zur Untersuchung von IgG in Seren gerichtet gegen das rekombinante Antigen TA4-2 bzw. 3Etmic. Inkubation des ABTS Substratpuffers 10 min. . . . .	65
4.7. Statistik zu den Ergebnissen vom ELISA zur Untersuchung von IgA in Gallenflüssigkeit gerichtet gegen das Salmonellen Antigen LPS. Inkubation des AP-Substratpuffers 60 min. . . . .	75
4.8. Statistik zu den Ergebnissen vom ELISA zur Untersuchung von IgG in Seren gerichtet gegen das Salmonellen Antigen LPS. Inkubation des AP-Substratpuffers 60 min. . . . .	75
4.9. Statistik zu den Ergebnissen vom ELISA zur Untersuchung von IgA in Seren gerichtet gegen das Salmonellen Antigen LPS. Inkubation des AP-Substratpuffers 60 min. . . . .	77
5.1. Vergleich arithmetischer Mittelwert und Median von Tierversuch Stuttgart	97

# Abbildungsverzeichnis

3.1. Vektorenkarte . . . . .	31
3.2. Schema zur Aufstellung der Etagenkäfige im Stall . . . . .	41
4.1. Restriktionsanalyse vom DNA-Fragment TA4 . . . . .	53
4.2. Restriktionsanalyse vom DNA-Fragment Ettub . . . . .	53
4.3. PCRs mit DNA als Template und unterschiedlichen Primerpaaren . . . . .	54
4.4. Transformation vom PCR-Fragment 3Etmic und pBluescript-EcoRV in XL1-Blue . . . . .	55
4.5. pQE-30-TA4-2 und -SO7 Verdau mit BamHI und SalI . . . . .	57
4.6. Phänotyp des <i>Vibrio lux</i> Genes bei Tageslicht . . . . .	58
4.7. Phänotyp des <i>Vibrio lux</i> Genes bei Dunkelheit . . . . .	59
4.8. PCR von Plasmid Präparationen mit SO7 Primern . . . . .	60
4.9. Expression von pMMB207.1-TA4-2-EcoRI-SalI in JM109 bzw. Zlux . . . . .	61
4.10. Western Blot von SO7 und TA4 Stämmen . . . . .	61
4.11. Elutionsfraktionen einer Aufreinigung vom rekombinanten Antigen 3Etmic	62
4.12. Elutionsfraktionen einer Aufreinigung vom rekombinanten Antigen SO7 .	66
4.13. Western Blot mit TA4, SO7 und 3Etmic in <i>Escherichia coli</i> . . . . .	66
4.14. Western Blot von TA4, SO7 und 3Etmic in <i>Salmonella typhimurium</i> . . . . .	67
4.15. Grafik ELISA orale Applikation SO7 (3x) . . . . .	67
4.16. Grafik ELISA orale Applikation SO7 (1x) . . . . .	68
4.17. Grafik ELISA kombinierte Applikation SO7 . . . . .	69
4.18. Grafik ELISA subcutane Applikation 3Etmic . . . . .	70
4.19. Grafik ELISA orale Applikation TA4 (1x) . . . . .	71
4.20. Grafik ELISA kombinierte Applikation TA4 . . . . .	72
4.21. Grafik ELISA Mittelwerte von TA4 . . . . .	73
4.22. Grafik ELISA Mittelwerte von SO7 . . . . .	74
4.23. Grafik ELISA Mittelwerte von IgG-LPS im Serum . . . . .	76
4.24. Grafik ELISA Mittelwerte von IgA-LPS im Serum . . . . .	76
4.25. Grafik ELISA Mittelwerte von IgA-LPS in Gallenflüssigkeit . . . . .	77

# Literaturverzeichnis

- Aggarwal, A., Kumar, S., Jaffe, D., Gross, M. und Sadoff, J. (1990). Oral *Salmonella*: Malaria Circumsporozoite Recombinants Induce Specific CD8<sup>+</sup> Cytotoxic T Cells, *The Journal of Experimental Medicine* **172**: 1083–1090.
- Augustine, P. und Danforth, H. (1989). Chickens repeatedly inoculated with *Eimeria adenoides* sporozoiten develop immunity to *Eimeria tenella* challenge, in I. Publ. (ed.), *Coccidia and intestinal coccidiomorphs, Vth International Coccidiosis Conference, Tours (France), 17-20 October 1989, Ed. INRA Publ., 1989 (Les Colloques de l'INRA)*, Vol. 49, pp. 607–614.
- Barbezange, C., Humbert, F., Rose, V., Lalande, F. und Salvat, G. (2000). Some Safety Aspects of *Salmonella* Vaccines for Poultry: Distribution and Persistence of Three *Salmonella typhimurium* Live Vaccines, *Avian Diseases* **44**: 968–976.
- Bauerfeind, R., Springer, S. und Selbitz, H. (1996). Protektivitaet und Antigenitaet des *Salmonella*-Lebendimpfstoffes ZOOSALORAL H bei oraler Impfung von Huehnerkueken, in Deutsche Veterinaermedizinische Gesellschaft e.V (ed.), *Tagung der Fachgruppe Bakteriologie und bakterielle Krankheiten, Schloss Rauischholzhausen bei Marburg, 12. - 14. Juni 1996*, pp. 68–72.
- Berndt, A. und Methner, U. (2001). Gamma/delta T cell response of chickens after oral administration of attenuated and non-attenuated *Salmonella typhimurium* strains, *Veterinary Immunology and Immunopathology* **78**: 143–161.
- Beyer, W. und Boehm, R. (1996). Labeling *Salmonella* live vaccine strains with the lux operon from *Vibrio fischeri* improves their detection and discrimination from wild-typ, *Micrbiological Research* **151**: 407–419.
- Bhogal, B., Miller, G., Anderson, A. und Jessee, E. (1992). Potential of a recombinant antigen as a prophylactic vaccine for day-old broiler chickens against *Eimeria acervulina* and *Eimeria tenella* infections, *Veterinary Immunology and Immunopathology* **31**: 323–335.
- Breed, D., Schetters, T., Verhoeven, N., Boot-Groenink, A., Dorresteijn, J. und Vermeulen, A. (1999). Vaccination against *Eimeria tenella* infection using a fraction of *Eimeria tenella* sporozoites selected by the capacity to activate T cells, *International Journal for Parasitology* **29**: 1231–1240.

- Brothers, V., Kuhn, I., Paul, L., Gabe, J., Andrews, W., Sias, S., McCaman, M., Dragon, E. und Files, J. (1988). Characterization of a surface antigen of *Eimeria tenella* sporozoites and synthesis from a cloned cDNA in *Escherichia coli*, *Molecular and Biochemical Parasitology* **28**: 235–248.
- Bumstead, N. und Millard, B. (1987). Genetics of resistance to coccidiosis: response of inbred chicken lines to infection by *Eimeria tenella* and *Eimeria maxima*, *British Poultry Science* **28**: 705–715.
- Cardenas, L. und Clements, J. (1992). Oral Immunization Using Live Attenuated *Salmonella* spp. as Carriers of Foreign Antigens, *Clinical Microbiology Reviews* **July 1992**: 328–342.
- Cardenas, L. und Clements, J. (1993). Development of Mucosal Protection against the Heat-Stable Enterotoxin (ST) of *Escherichia coli* by Oral Immunization with a Genetic Fusion Delivered by a Bacterial Vector, *Infection and Immunity* **61**(11): 4629–4636.
- Cardenas, L., Dasgupta, U. und Clements, J. (1994). Influence of strain viability and antigen dose on the use of attenuated mutants of *Salmonella* as vaccine carriers, *Vaccine* **12**(9): 833–840.
- Chen, H. und Schifferli, D. (2000). Mucosal and Systemic Immune Response to Chimeric Fimbriae Expressed by *Salmonella enterica Serovar Typhimurium* Vaccine Strains, *Infection and Immunity* **68**(6): 3129–3139.
- Chobotar, B. und Scholtyserk, F. (1982). Ultrastructure, in P. Long (ed.), *The Biology of the Coccidia*, University Park Press, Baltimore.
- Comoy, E., Capron, A. und Thyphronitis, G. (1997). In vivo induction of type 1 und 2 immune responses against protein antigens, *International Immunology* **9**(4): 523–531.
- Crane, M., Goggin, B., Pellegrino, R., Ravino, O., Lange, C., Karkhanis, Y., Kirk, K. und Chakraborty, P. (1991). Cross-protection against Four Species of Chicken Coccidia with a Single Recombinant Antigen, *Infection and Immunity* **59**(4): 1271–1277.
- Curtiss III, R., Kelly, S. und Hassan, J. (1993). Live oral avirulent *Salmonella* vaccines, *Veterinary Microbiology* **37**: 397–405.
- Danforth, H. und Augustine, P. (1989). *Eimeria tenella*: Use of a monoclonal antibody to determine the intracellular fate of the refractile organelles and the effect on in vitro development, *Experimentelle Parasitology* **68**: 1–7.
- Davis, P. (1981). Immunity to coccidia, in M. Rose, L. Payne und B. Freeman (eds), *Avian Immunology*, British Poultry Science, Longmen Group, Edinburgh. Number 16.

- Desmidt, M., Ducatelle, R., Mast, J., Goddeeris, B., Kaspers, B. und Haesebrouck, F. (1998). Role of the humoral immune system in *Salmonella enteritidis* phage type four infection in chickens, *Veterinary Microbiology* **63**: 355–367.
- Fayolle, C., O'Callaghan, D., Martineau, P., Charbit, A., Clement, J., Hofnung, M. und Leclerc, C. (1994). Genetic Control of Antibody Responses Induced against an Antigen Delivered by Recombinant Attenuated *Salmonella typhimurium*, *Infection and Immunity* **62**(10): 4310–4319.
- Fischer, M. und Hlinak, A. (1996). An ELISA for the quantification of chicken immunoglobulin (IgY) in various liquid media, *Altex Supplement* **13**(3): 179–183.
- Girard, F., Fort, G., Yvore, P. und Quere, P. (1997). Kinetics of specific immunoglobulin A, M and G production in the duodenal and caecal mucosa of chickens infected with *Eimeria acervulina* or *Eimeria tenella*, *International Journal for Parasitology* **27**: 803–809.
- Hajishengallis, G., Harokopakis, E., Hollingshead, S., Russell, M. und Michalei, S. (1996). Construction and oral immunogenicity of a *Salmonella typhimurium* strain expressing a streptococcal adhesin linked to the A2/B subunits of cholera toxin, *Vaccine* **14**(16): 1545–1548.
- Hassan, J., Barrow, P., Mockett, P. und Mcleod, S. (1990). Antibody response to experimental *Salmonella typhimurium* infection in chickens measured by ELISA, *The Veterinary Record May* **26**: 519–522.
- Hassan, J. und Curtiss III, R. (1994). Development and Evaluation of an Experimental Vaccination Program Using a Live Avirulent *Salmonella typhimurium* Strain to Protect Immunized Chickens against Challenge with Homologous and Herologous *Salmonella* Serotypes, *Infection and Immunity* **62**(December): 5519–5527.
- Hassan, J. und Curtiss III, R. (1996). Effect Vaccination of Hens with an Avirulent Strain of *Salmonella typhimurium* on Immunity of Progeny Challenged with Wild-Type *Salmonella* Strains, *Infection and Immunity* **64**(3): 938–944.
- Hopkins, S., Kraehenbuhl, J., Schoedel, F., Potts, A., Peterson, D., Grandi, P. und Nardelli-Haefliger, D. (1995). A Recombinant *Salmonella typhimurium* Vaccine Induces Local Immunity by Four Different Routes of Immunization, *Infection and Immunity* **63**(9): 3279–3286.
- Impfstoffwerk (1997). Produktinformation *Zoosaloral H*, Technical report, Impfstoffwerk Dessau - Tornau GmbH, PSF 214, O-4530 Rossbau.
- Inoue, H., Nojima, H. und Okayama, H. (1990). High efficiency transformation of *Escherichia coli* with plasmids, *Gene* **96**: 23–28.
- Jenkins, M. (1998). Progress on developing a recombinant coccidiosis vaccine, *International Journal for Parasitology* **28**: 1111–1119.

- Jenkins, M. und Dame, J. (1987). Identification of immunodominant surface antigens of *Eimeria acervulina* sporozoites and merozoites, *Molecular and Biochemical Parasitology* **25**: 155–164.
- Jenkins, M., Kim, K., Castle, M., Lillehoj, H. und Danforth, H. (1989). Recombinant *Eimeria* antigens that elicit cellular immune responses and confer partial protection against disease when expressed in vivo by live bacterial transformants, in I. Publ. (ed.), *Coccidia and intestinal coccidiomorphs, Vth International Coccidiosis Conference, Tours (France), 17-20 October 1989, Ed. INRA Publ., 1989 (Les Colloques de l'INRA)*, Vol. 49, pp. 591–604.
- Johnson, J. und Reid, W. (1970). Anticoccidial drugs: Lesion scoring techniques in battery and floor-pen experiments with chickens, *Experimentelle Parasitology* **28**: 30–36.
- Karem, K., Chatfield, S., Kuklin, N. und Rouse, B. (1995). Differential induction of carrier antigen-specific immunity by *Salmonella typhimurium* live-vaccine strains after single mucosal or intravenous immunization of BALB/c mice, *Infection and Immunity* **63**(12): 4557–4563.
- Kawazoe, U., Tomley, F. und Frazier, J. (1992). Fractionation and antigenic characterization of organelles of *Eimeria tenella* sporozoites, *Parasitology* **104**: 1–9.
- Keller, C. (1999). Ausreisser - und dann?, *QZ - Qualitaet und Zuverlaessigkeit* **1**(44): 91–96.
- Kim, K., Jenkins, M. C. und Lillehoj, H. S. (1989). Immunization of Chickens with Live *Escherichia coli* Expressing *Eimeria acervulina* Merzoite Recombinant Antigen Induces Partial Protection against Coccidiosis, *Infection and Immunity* **57**(8): 2434–2440.
- Kohler, J., Pathaney, L., Gillespie, S. und Brown, T. (2000). Effect of Preexisting Immunity to *Salmonella* on the Immune Response to Recombinant *Salmonella enterica Serovar Typhimurium* Expressing a *Porphyromonas gingivalis* Hemagglutinin, *Infection and Immunity* **68**(6): 316–3120.
- Kopko, S., Martin, D. und Barta, J. (2000). Responses of chickens to a Recombinant Body Antigen of *Eimeria tenella* Administered Using Various Immunizing Strategies, *Poultry Science* **79**: 336–342.
- Liberator, P., Hsu, J. und Turner, M. (1989). *Tandem trinucleotide repeats throughout the nucleotide sequence of a cDNA encoding an Eimeria tenella sporozoite antigen*, Department of Biochemical Parasitologie, Merck Sharp and Dohme Laboratories, Rahway, NJ 07065, USA.
- Lillehoj, H. (1987). Effects of Immunosuppression on Avian Coccidiosis: Cyclosporin A but Not Hormonal Bursectomy Abrogates Host Protective Immunity, *Infection and Immunity* **55**(7): 1616–1621.

- Lillehoj, H. (1998). Role of T lymphocytes and cytokines in coccidiosis, *International Journal of Parasitology* **28**: 1071–1081.
- Lillehoj, H., Allen, P. und Ruff, M. (1986). Comparative studies of humoral and cellular immune responses on two inbred strains of chickens showing different disease susceptibility to coccidiosis, in L. McDougald, L. Joyner und P. Long (eds), *Research in avian coccidiosis*, University of Georgia.
- Lillehoj, H. und Jenkins, M. (1989). Effects of MHC genes and various antigen presentation on protective host immunity following Eimerian infections and immunization with recombinant coccidial antigen: a review, in I. Publ. (ed.), *Coccidia and intestinal coccidiomorphs, Vth International Coccidiosis Conference, Tours (France), 17-20 October 1989, Ed. INRA Publ., 1989 (Les Colloques de l'INRA)*, Vol. 49, pp. 631–638.
- Lillehoj, H., Jenkins, M. und Bacon, L. (1990). Effects of major histocompatibility genes and antigen delivery on induction of protective mucosal immunity of *Eimeria acervulina* following immunization with a recombinant merozoite antigen, *Immunology* **71**: 127–132.
- Lillehoj, H. und Ruff, M. (1987). Comparison of disease susceptibility and subclass-specific antibody response in SC and FP chickens experimentally inoculated with *Eimeria tenella*, *Eimeria acervulina* or *Eimeria maxima*, *Avian Disease* **31**: 112–119.
- Lillehoj, H. S. und Trout, J. M. (1993). Coccidia: a review of recent advances on immunity and vaccine development, *Avian Pathology* **22**: 3–31.
- Linde, K., Beer, J. und Bondarenko, V. (1990). Stable *Salmonella* live vaccine strains with two or more attenuating mutations and any desired level of attenuation, *Vaccine* **8**: 278–282.
- McSorley, S. und Jenkins, M. (2000). Antibody Is Required for Protection against Virulent but Not Attenuated *Salmonella enterica Serovar Typhimurium*, *Infection and Immunity* **68**(6): 3344–3348.
- McSorley, S., Xu, D. und Liew, F. (1997). Vaccine Efficacy of *Salmonella* Strains Expressing Glycoprotein G3 with Different Proteins, *Infection and Immunity* **65**(1): 171–178.
- Miller, G., Bhogal, B., McCandliss, R., Strausberg, R., Jessee, E., Anderson, A., Fuchs, C., Nagle, J., Likel, M., Strasser, J. und Strausberg, S. (1989). Characterization and vaccine potential of a novel recombinant coccidial antigen, *Infection and Immunity* **57**(7): 2014–2020.
- Mittruecker, Hans und Kaufmann, S. (2000). Immune response to infection with *Salmonella typhimurium* in mice, *Journal of Leukocyte Biology* **67**: 457–463.

- Mockett, A. und Rose, E. (1986). Immune responses to *Eimeria*: quantification of antibody isotypes to *Eimeria tenella* in chicken serum and bile by means of the ELISA, *Parasite Immunology* **8**: 481–489.
- Morales, V., Baeckman, A. und Bagdasarian, M. (1991). A series of wide-host-range low-copy-number vectors that allow direct screening for recombinants, *Gene* **97**: 39–47.
- Mueller-Schollenberger, V., Beyer, W., Schnitzler, P., Merckelbach, A., Roth, S., Kalinna, B. und Lucius, R. (2001). Immunisation with *Salmonella typhimurium*-delivered glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase protects mice against challenge infection with *Echinococcus multilocularis* eggs, *International Journal for Parasitology* **31**: 1441–1449.
- Pasamontes, L., Hug, D., Huembelin, M. und Weber, G. (1993). Sequence of a major *Eimeria maxima* antigen homologous to the *Eimeria tenella* microneme protein Etp 100, *Molecular and Biochemical Parasitology* **57**: 171–174.
- Profous-Juchelka, H., Liberator, P. und Turner, M. (1988). Identification and characterization of cDNA clones encoding antigens of *Eimeria tenella*, *Molecular and Biochemical Parasitology* **30**: 233–242.
- Rammensee, M. (1984). *Immunglobulinkonzentrationen in Serum, Sekreten, Ei und Embryo des Haushuhns*, Doktorarbeit, Ludwig-Maximilians-Universitaet Muenchen.
- Redman, T., Harmon, C. und Michalek, S. (1996). Oral immunization with recombinant *Salmonella typhimurium* expressing surface protein antigen A (SpaA) of *Streptococcus sobrinus*: effects of the induction of protective and sustained humoral responses in rats, *Vaccine* **14**(9): 868–878.
- Rhalem, A., Sahibi, H., Dakkak, A., Laurent, F., Kazanji, M., Yvore, P. und Pery, P. (1993). Protective oral immunization of chickens against *Eimeria tenella* with sporozoite surface antigens, *Veterinary Immunology and Immunopathology* **38**: 327–340.
- Roland, K., Curtiss III, R. und Sizemore, D. (1999). Construction and Evaluation of a δcya δcrp *Salmonella typhimurium* Strain Expressing Avian Pathogenic *Escherichia coli* O78 LPS as a Vaccine to Prevent Airsacculitis in Chickens, *Avian Diseases* **43**: 429–441.
- Rommel, M. (1987). Prophylaxe und Therapie der Kokzidiose des Geflügels, *Berlin Muenchen Tierärztliche Wochenschrift* **100**: 270–272.
- Rose, E. (1982). Host Immune Responses, in P. Long (ed.), *The Biology of the Coccidia*, University Park Press, Baltimore.
- Rose, E. (1987). *Eimeria, Isospora and Cryptosporidium*, in E. Soulsby (ed.), *Immune Responses in Parasit Infections: Immunology, Immunopathology and Immunoprophylaxis*, Vol. III, CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 275–312.

- Rose, E., Heskethm, P. und Wakelin, D. (1992). Immune control of murine coccidiosis: CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T lymphocytes contribute differentially in resistance to primary and secondary infections, *Parasitology* **105**: 349–354.
- Rose, E. und Long, P. (1980). Vaccination against coccidiosis in chickens, in A. Taylor und R. Muller (eds), *Vaccines against parasites*, Blackwell Scientific Publications Ltd. Oxford.
- Rose, E., Orlans, E., Payne, A. und Hesketh, P. (1981). The orgin of IgA in chicken bile: its rapid active transport from blood, *European Journal of Immunology* **11**: 561–564.
- Rose, E., Owen, D. und Hesketh, P. (1984). Susceptibility to coccidiosis: effects of strain of mouse on reproduction of *Eimeria vermiformis*, *Parasitology* **88**: 45–54.
- Sachs, L. (1968). *Statistische Auswertungsmethoden*, Springer-Verlag.
- Sambrook, J., Fritsch, E. und Maniatis, T. (1989). *Molecular Cloning a Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Sasai, K., Aita, M., Lillehoj, H., Miyamoto, T., Fukata, T. und Baba, E. (2000). Dynamics of lymphocyte subpopulation changes in the cecal tonsils of chickens infected with *Salmonella enteriditis*, *Veterinary Microbiology* **74**: 345–351.
- Schito, M. und Barta, J. (1997). Nonspecific immune responses and mechanisms of resistance to *Eimeria papillata* infections in mice, *Infection and Immunity* **65**(8): 3165–3170.
- Schmid, G., Radunz, A. und Groeschel, U. (2000). *Immunologie und ihre Anwendung in der Biologie*, Thieme.
- Selbitz, H. (1994). Salmonellen und Salmonelleninfektionen - Eine Uebersicht zu ausgewahlten Fragen, in Deutsche Veterinaermedizinische Gesellschaft e.V (ed.), *Fachgruppe Gefluegelkrankheiten, Referatsammlung, 47. Fachgespraech, Hannover, 10. - 11. November 1994*, pp. 1–8.
- Shirley, M. (1992). Research on avian coccidia: an update, *British Veterinary Journal* **148**: 479–499.
- Springer, S. und Selbitz, H. (1996). Die Bedeutung von Infektionsmodellen fuer die Pruefung der Wirksamkeit von Salmonella-Impfstoffen beim Huhn, in Deutsche Veterinaermedizinische Gesellschaft (ed.), *Tagung der Fachgruppe Bakteriologie und bakterielle Krankheiten*, pp. 61–67. Schloss Rauischholzhausen bei Marburg.
- Stabel, T., Mayfield, J., Tabatabai, L. und Wannemuehler, M. (1990). Oral Immunization of Mice with Attenuated *Salmonella typhimurium* Containing a recombinant Plasmid Which Codes for Production of a 31-Kilodalton Protein of *Brucella abortus*, *Infection and Immunity* **58**(7): 2048–2055.

- Tennyson, S. (1994). *Investigation of a low molecular weight antigen of Eimeria tenella*, PhD thesis, University of Guelph, Canada.
- Tizard, I. R. (2000). *Veterinary Immunology - An Introduction*, W. B. Saunders Company. Harcourt Health Sciences Company.
- Tomley, F., Bumstead, J., Billington, K. und Dunn, P. (1996). Molecular cloning and characterization of a novel acidic microneme protein (Etmic-2) from the apicomplexan protozoan parasite, *Eimeria tenella*, *Molecular and Biomedical Parasitology* **79**: 195–206.
- Tomley, F., Clarke, L., Kawazoe, D. und Kok, J. (1991). Sequence of the gene encoding an immunodominant microneme protein of *Eimeria tenella*, *Molecular and Biomedical Parasitology* **49**: 277–288.
- Vaughan, T., Bumstead, J. und Tomley, F. (1996). Studies on the *Eimeria tenella* microneme protein; Etmic-1 (Etp100), in C. of the European Union (ed.), *Proceedings COST 820 Vaccine against Animal Coccidiose*, Danish Veterinary Laboratory, p. 27.
- Vermeulen, A. (1998). Progress in recombinant vaccine development against coccidiosis. A review and prospects into the next millenium, *International Journal for Parasitology* **28**: 1121–1130.
- Vervelde, L., Vermeulen, A. und Jeurissen, S. (1996). In situ characterization of leucocyte subpopulation after infection with *Eimeria tenella* in chickens, *Parasite Immunology* **18**: 247–256.
- Wakelin, D. und Rose, E. (1990). Immunity to coccidiosis, in P. Long (ed.), *Coccidiosis of Man and Domestic Animals*, CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 281–306.
- Wisher, M. (1986). Identification of the sporozoite antigens of *Eimeria tenella*, *Molecular and Biochemical Parasitology* **21**: 7–15.
- Yun, C. H., Lillehoj, H. S. und Choi, K. D. (2000). *Eimeria tenella* Infection Induces Local Gamma Interferon Production and Intestinal Lymphocyte Subpopulation Changes, *Infection and Immunity* **68**(3): 1282–1288.
- Yun, C., Lillehoj, H. und Lillehoj, E. (2000). Intestinal immune responses to coccidiosis, *Developmental and Comparative Immunology* **24**: 303–324.
- Zhang Barber, L., Turner, A. K. und Barrow, P. A. (1999). Vaccination for control of *Salmonella* in poultry, *Vaccine* **17**: 2538–2545.
- Zigtermann, G., van de Ven, W., van Geffen, C., Loeffen, A., Panhuijzen, J., Rijke, E. und Vermeulen, A. (1993). Detection of mucosal immune response in chickens after immunization or infection, *Veterinary Immunology and Immunopathology* **36**: 281–291.
- Zoefel, P. (1988). *Statistik in der Praxis*, Gustav Fischer Verlag. UTB fuer Wissenschaft.

## Anhang von dem Kapitel Material und Methoden

### LB-Medium

10 g Bacto-Trypton<sup>1</sup>  
5 g Hefeextrakt<sup>2</sup>  
10 g NaCl  
ad 1 l mit H<sub>2</sub>O

### 50xTAE-Puffer

2 M Tris-HCl<sup>3</sup>  
20 mM EDTA (pH 8,0)<sup>4</sup>

### Tris-EDTA-Puffer (TE-Puffer)

10 mM Tris  
1 mM EDTA  
pH 8,0

### TB-Puffer

10 mM PIPES<sup>5</sup>, pH 6,5  
55 mM MnCl<sub>2</sub><sup>6</sup>  
15 mM CaCl<sub>2</sub>  
250 mM KCl<sup>7</sup>

### PBS

136,9 mM NaCl  
2,7 mM KCl<sup>8</sup>  
8,1 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub><sup>9</sup>  
1,5 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>10</sup>  
pH 7,4

<sup>1</sup>Difco,Laboratories GmbH, D-86156 Augsburg, Art.Nr. 0123-01-1

<sup>2</sup>Difco Laboratories GmbH, D-86156 Augsburg, Art.Nr. 0127-01-1

<sup>3</sup>Roth GmbH, D-76185 Karlsruhe, Art.Nr. 9090.1

<sup>4</sup>Sigma -Aldrich GmbH, D-89552 Steinheim, Art.Nr. E-5134

<sup>5</sup>Sigma-Aldrich GmbH, D-89552 Steinheim, Art.Nr. P-3768

<sup>6</sup>Sigma-Aldrich GmbH, D-89552 Steinheim, Art.Nr. M-9522

<sup>7</sup>Serva, D-69115 Heidelberg, Art.Nr. 26868.01

<sup>8</sup>Merck KGaA, D-64271 Darmstadt, Art.Nr. 4933

<sup>9</sup>Merck KGaA, D-64271 Darmstadt, Art.Nr. 1.06580

<sup>10</sup>Merck KGaA, D-64271 Darmstadt, Art.Nr. 4873.0250

## **CaCl<sub>2</sub>**

50 mM CaCl<sub>2</sub><sup>11</sup>  
10 mM Tris pH 7,4

## **Starterpuffer**

0,08 % w/v Bromphenolblau<sup>12</sup>  
6,6 % w/v Saccharose<sup>13</sup>

## **STET**

50 mM TRIS-HCl, pH 8,0  
8 % Sucrose<sup>14</sup>  
0,1 % Triton X-100<sup>15</sup>  
50 mM EDTA

## **Gelpuffer B**

1,5 mol/l Tris-HCl  
pH 8,8

## **Gelpuffer C**

1,0 mol/l Tris-HCl  
pH 6,8

## **F-Probenpuffer**

0,3 g Dithiothreitol<sup>16</sup>  
4 ml 10 % SDS (G)  
1,6 ml Gelpuffer C  
2,5 g Glycerol  
0,5 mg Bromphenolblau  
Mischen und in 20 ml destilliertes Wasser lösen.  
Lagerung als 1 ml Aliquots bei -20 °C.

---

<sup>11</sup>Roth GmbH, D-76185 Karlsruhe, Art.Nr. A.119.1

<sup>12</sup>Sigma-Aldrich GmbH, D-89552 Steinheim, Art.Nr.B8026

<sup>13</sup>Sigma-Aldrich GmbH, D-89552 Steinheim, Art.Nr S0389

<sup>14</sup>Merck KGaA, D-64271 Darmstadt, Art.Nr. S-0389

<sup>15</sup>Merck KGaA, D-64271 Darmstadt, Art.Nr. 8603

<sup>16</sup>Sigma-Aldrich GmbH, D-89552 Steinheim, Art.Nr. D-0632

## **Elektrophoresepuffer für PAGE**

0,25 mol/l Tris  
2 mol/l Glycin<sup>17</sup>  
pH 8,3

## **Fixierlösung**

400 ml Ethanol  
100 ml Essigsäure<sup>18</sup>  
mit destilliertem Wasser auf 1 l auffüllen.

## **Entfärberlösung**

80 ml Essigsäure  
300 ml Methanol<sup>19</sup>  
620 ml destilliertes Wasser

## **Färbelösung**

1 Tablette<sup>20</sup> in 400 ml Entfärberlösung geben,  
und bei 60 °C lösen.  
Vor Gebrauch filtrieren.

## **Transferpuffer**

30 mM Glycin  
48 mM Tris  
0,037 % SDS  
20 % Methanol

## **TBS-Puffer**

150 mM NaCl  
10 mM Tris-HCl, pH 7,4

---

<sup>17</sup>Roth GmbH, D-76185 Karlsruhe, Art.Nr. 3908.2

<sup>18</sup>Roth GmbH, D-76185 Karlsruhe, Art.Nr. 3738

<sup>19</sup>Roth GmbH, D-76185 Karlsruhe, Art.Nr. 4627.2

<sup>20</sup>Pharmacia Biotech Europe GmbH, D-79111 Freiburg, Art.Nr. 17-0518-01

## **TBS-Tween-Puffer**

20 mM Tris-HCl, pH 7,4  
500 mM NaCl  
0,05 % Tween 20

## **Reaktionspuffer (pH 9,5)**

0,1 M NaCl  
10 mM MgCl<sub>2</sub>  
0,1 M Tris-HCl  
0,1 M TrisBase  
MgCl<sub>2</sub> erst nach dem Autoklavieren zugeben

## **10x Högness Einfriermedium**

36 mM K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub><sup>21</sup>  
13 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>  
20 mM Na-Citrat<sup>22</sup>  
10 mM MgSO<sub>4</sub><sup>23</sup>  
40 % Glycerin

## **Minimal-Medium<sup>24</sup>**

13,5 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>  
2,7 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>  
1 g NH<sub>4</sub>Cl<sup>25</sup>  
150 mg MgSO<sub>4</sub>  
0,2 mg FeCl<sub>3</sub><sup>26</sup>  
13,7 mg CaCl<sub>2</sub>  
5 g Glukose<sup>27</sup>  
25 mg Nicotinsäureamid<sup>28</sup>  
20 mg Histidin<sup>29</sup>  
20 mg Adenin<sup>30</sup>  
in 1 l destilliertem Wasser lösen.

---

<sup>21</sup>Roth GmbH, D-76185 Karlsruhe, Art.Nr. 6875.1

<sup>22</sup>Roth GmbH, D-76185 Karlsruhe, Art.Nr. 3580.1

<sup>23</sup>Roth GmbH, D-76185 Karlsruhe, Art.Nr. 8283.1

<sup>24</sup>Bovisal-Zoosaloral-Diagnostikum, Impfstoffwerk Dessau-Tornau, D-06855 Roßlau

<sup>25</sup>Merck KGaA, D-64271 Darmstadt, Art.Nr. 1145

<sup>26</sup>Merck KGaA, D-64271 Darmstadt, Art.Nr. 3943

<sup>27</sup>Merck KGaA, D-64271 Darmstadt, Art.Nr. 1.04074.0500

<sup>28</sup>Roth GmbH, D-76185 Karlsruhe, Art.Nr. 3813.1

<sup>29</sup>Serva, D-69115 Heidelberg, Art.Nr. 24842

<sup>30</sup>Serva, D-69115 Heidelberg, Art.Nr. 10741

## **Minimal-Medium-Agar**

Minimal-Medium  
15 g/l Agar<sup>31</sup>

## **Lysepuffer A**

6 M Guanidin<sup>32</sup>  
0,1 M NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>  
0,01 M Tris, pH 8,0  
10 mM Imidazol<sup>33</sup>

## **Puffer B**

8 M Harnstoff  
0,1 M NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>  
0,01 M Tris, pH 8,0  
10 mM Imidazol

## **Puffer C**

8 M Harnstoff  
0,1 M NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>  
0,01 M Tris, pH 6,3  
10 mM Imidazol

## **Elutionspuffer E**

8 M Harnstoff  
0,1 M NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>  
0,01 M Tris, pH 4,5

## **Beschichtungspuffer**

0,2 M Natriumcarbonat<sup>34</sup> , pH 9,4-9,7

## **Substratpuffer pNPP**

100 mM NaCl  
5 mM MgCl<sub>2</sub><sup>35</sup>  
100 mM Tris, pH 9,5

<sup>31</sup>Fluka Chemie AG, CH-9471 Buchs, Art.Nr. 05040

<sup>32</sup>Sigma-Aldrich GmbH, D-89522 Steinheim, Art.Nr. G-4505

<sup>33</sup>Roth GmbH, D-76185 Karlsruhe, Art.Nr. 3899.2

<sup>34</sup>Merck KGaA, D-64271 Darmstadt, Art.Nr. 1.06329 und 6392

<sup>35</sup>Roth GmbH, D-76185 Karlsruhe, Art.Nr. 2189.1

## Küken-Aufzucht-Alleinfutter (1-56.Lebenstag)<sup>36</sup>

3 % Maiskleber  
10 % Erbsen  
8,5 % Triticale  
8,5 % Roggen  
50,3 % Weizen  
15 % Sojaextrakt  
1,5 % Futterkalk  
1,8 % Dicalciumphosphat  
0,381 % NaCl  
0,076 % Spuren Elemente Vormischung SG1  
0,254 % Vitamin-Vormischung 6/1.5  
0,100 % Cholinchlorid  
0,150 % Methionin  
0,268 % L-Lysin  
0,170 % Threonin

---

<sup>36</sup>Universität Hohenheim Versuchsstation für Tierhaltung, Tierzüchtung und Kleintierzucht, D-72800 Eningen. Untere Lindenhof

## Danksagung

an dieser Stelle möchte allen danken die mich bei der Erstellung meiner Doktorarbeit unterstützt haben:

Herrn Professor Böhm und Herrn Professor Lucius danke ich für die Überlassung des Themas und die Betreuung meiner Promotion.

Herrn Professor Hafez danke ich für das Interesse, das er der Arbeit entgegenbrachte und für seine Bereitschaft, sie dem Fachbereich Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin vorzulegen.

Dank der Betreuung und Hilfe bei praktischen und inhaltlichen Fragen von Herrn Doktor Beyer konnte diese wissenschaftliche Arbeit entstehen.

Meinen herzlichen Dank Herrn Doktor Thomas Pogonka für die Betreuung und Hilfe bei praktischen Aufgaben der Arbeit.

Bei meinen Laborarbeit in Stuttgart standen mir Sabine Hoche, Petra Veit und Elisabet Blaschke jederzeit hilfreich zur Seite.

Allen Doktoranden/innen des Institutes für Umwelt- und Tierhygiene der Universität Hohenheim danke ich für die gute Arbeitsatmosphäre und ihre freundliche Unterstützung.

Allen Mitarbeiter/innen am Institut für Molekulare Parasitologie der Humboldt Universität zu Berlin vielen Dank für ihre Hilfe während meiner Zeit in Berlin.

Bei Herrn Professor István Varga von der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Budapest bedanke ich mich für die Unterstützung bei der Durchführung des Tierversuches "Budapest".

Besonders danken möchte ich der Leitung und den Mitarbeitern des Geflügelhofes vom Institut für Tierzucht der Universität Hohenheim, Unterer Lindenhof für die großartige Unterstützung bei der Durchführung der Tierversuche.

All denen Dank die an meine Doktorarbeit glaubten wenn ich selbst daran zweifelte.

Der Firma Boehringer Ingelheim danke ich für die gewährte finanzielle Unterstützung.

## Lebenslauf

Name: Nicole Helga Noppinger  
Geburtstag: 03.05.1968  
Geburtsort: Heerlen (Niederlande)

### Ausbildung und Berufstätigkeit

1974-1978	Freie Katholische St. Wolfgang Schule, Reutlingen
1978-1984	Wilhelm-Hauff-Realschule, Pfullingen
1984-1987	Ausbildung zur Gerberin, Westdeutsche Gerberschule, Reutlingen
1987-1990	Ernährungswissenschaftliches Gymnasium, Reutlingen
1990-1991	Aushilfstätigkeit in der Kleintierklinik Hüttig, Reutlingen
1991-1997	Studium der Veterinärmedizin an der Freien Universität Berlin
02/1997	Approbation als Tierärztein
1997-1999	wissenschaftliche Hilfskraft im Institut für Umwelt- und Tierhygiene sowie Tiermedizin mit Tierklinik der Universität Hohenheim Beginn der Dissertation
1999-2000	Assistentin am Institut für Lebensmittelsicherheit und -hygiene der Universität Zürich
seit 08/2000	Tierärztein beim Ministerium Ländlicher Raum, eingesetzt beim Landratsamt Ludwigsburg, Veterinäramt

Ludwigsburg, 07.06.2002

### **Erklärung**

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig angefertigt und keine weiteren als die angegebenen Hilfsmittel verwendet habe. Die vorliegende Arbeit ist nicht schon einmal in einem früherem Promotionsverfahren angenommen oder abgelehnt worden.

Nicole Noppinger