

Aus dem Institut für Geflügelkrankheiten
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin ¹

**Verlaufsuntersuchungen über das Vorkommen des aviären Metapneumovirus (aMPV) in
gegen das aMPV geimpften Geflügelmast-Großelternherden in Deutschland**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Stefan Müller-Molenar
Tierarzt aus Köthen-Anhalt

Berlin 2011
Journal-Nr.: 3548

¹ Die ELISA-Untersuchungen im Rahmen dieser Dissertation wurden im Laboratorium der tierärztlichen Praxis Dr. K. Müller-Molenar in Köthen-Anhalt durchgeführt

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Leo Brunnberg
Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Dr. H. M. Hafez
Zweiter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. K. H. Zessin
Dritter Gutachter: PD Dr. K. Borchers

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):

poultry diseases, Avian metapneumovirus, epidemiology, reverse transcriptase PCR, ELISA

Tag der Promotion: 02.04.2012

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

ISBN: 978-3-86387-136-9

Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2011

Dissertation, Freie Universität Berlin

D 188

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.

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

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

This document is protected by copyright law.

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

Alle Rechte vorbehalten | all rights reserved

© Mensch und Buch Verlag 2012

Choriner Str. 85 - 10119 Berlin

verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
2. Literatur	1
2.1 Definition	1
2.2 Vorkommen und Bedeutung	2
2.3 Geschichte	4
2.4 Ätiologie	8
2.4.1 Klassifikation	8
2.4.2 Morphologie	9
2.4.3 Struktur	9
2.4.4 Replikation	12
2.4.5 Stabilität gegenüber chemischen und physikalischen Einflüssen	12
2.4.6 Antigenspektrum	13
2.5 Epidemiologie	14
2.5.1 Vorkommen und Verbreitung	14
2.5.2 Übertragung	16
2.6 Wirtsspektrum	17
2.7 Verlauf	18
2.7.1 Puten	19
2.7.2 Hühner	19
2.8 Klinische Erscheinungen	20
2.8.1 Rhinotracheitis der Puten	20
2.8.2 Swollen Head Syndrom (SHS)	20
2.9 Pathologisch-anatomische Veränderungen	22
2.9.1 Rhinotracheitis der Puten	22
2.9.2 Swollen Head Syndrom (SHS)	22
2.10 Histopathologische Veränderungen	23
2.10.1 Rhinotracheitis der Puten	23
2.10.2 Swollen Head Syndrom	24

2.11	Immunologie	25
2.12	Diagnose	27
2.12.1	Direkter Nachweis	27
2.12.2	Indirekter Nachweis	30
2.13	Differentialdiagnose	33
2.14	Bekämpfungsmaßnahmen	33
2.14.1	Therapie	33
2.14.2	Immunprophylaxe	34
3.	Ziel der Arbeit	41
4.	Material und Methoden	42
4.1.	Material	42
4.1.1.	Versuchsherden	42
4.1.2.	Impfstoffe	47
4.1.3.	Positivkontrollen für die RT-PCR-Untersuchung	49
4.1.4.	Kits, Reagenzien und Gerätschaften ELISA-Untersuchung	49
4.1.5.	Reagenzien und Kit für die RNA-Extraktion	50
4.1.6.	Gerätschaften der RNA Präparation	50
4.1.7.	RT-PCR-Untersuchung	51
4.1.7.1.	Reagenzien und Kit der One step PCR und nested PCR	51
4.1.7.2.	Gerätschaften der One step PCR und nested PCR	52
4.1.8.	Reagenzien der Gelelektrophorese	52
4.1.9.	Gerätschaften der Gelelektrophorese	53
4.2.	Methoden	53
4.2.1.	Ermittlung Produktionsparameter (ab 25.LW)	53
4.2.1.1.	Legeleistung	53
4.2.1.2.	Tierverlustdaten	54
4.2.2.	Impfstoffapplikation	55
4.2.3.	Probenahme und Aufbewahrung der Tupferproben	55
4.2.4.	Probenahme, Aufbereitung und Aufbewahrung der Blutproben	56

4.2.5. Durchführung und Bewertung der ELISA-Untersuchung	56
4.2.6. RNA-Extraktion	57
4.2.6.1. manuelle RNA-Extraktion	57
4.2.6.2. automatische RNA Extraktion mittels Qiacube®	58
4.2.7. RT-PCR-Untersuchung	58
4.2.7.1. Durchführung der One step PCR (1.PCR)	59
4.2.7.2. Durchführung der Nested PCR (2.PCR)	60
4.2.8. Durchführung der Gelelektrophorese	60
4.2.9. Statistische Methoden	61
4.2.9.1. Darstellung der Ergebnisse	61
4.2.9.1.1. Darstellung der Ergebnisse der RT-PCR-Untersuchung	61
4.2.9.1.2. Darstellung der ELISA-Titer (0.LW-57./ 60.LW)	61
4.2.9.1.3. Darstellung der Ergebnisse der RT-PCR-Untersuchung, ELISA-Titer und Produktionsparameter (25.LW-57./ 60.LW)	63
4.2.9.2. Mann-Whitney-Test (U-Test)	64
5. Ergebnisse	66
5.1. Versuchsherde 1 BBB	66
5.1.1. Ergebnisse RT-PCR-Untersuchung	66
5.1.2. Ergebnisse ELISA-Untersuchung	66
5.1.3. Klinische und pathologisch-anatomische Befunde Produktionsphase (ab 25.LW)	68
5.1.4. Wirtschaftliche Parameter Produktion (ab 25.LW)	69
5.1.5. Zusammenfassung aller erhobenen Daten Produktion (ab 25.LW)	70
5.2. Versuchsherde 2 BBA	72
5.2.1. Ergebnisse RT-PCR-Untersuchung	72
5.2.2. Ergebnisse ELISA-Untersuchung	72
5.2.2.1. Klinische und pathologisch-anatomische Befunde Produktion (ab 25.LW)	75
5.2.2.2. Wirtschaftliche Parameter Produktion (ab 25.LW)	75
5.2.2.3. Zusammenfassung aller erhobenen Daten Produktion (ab 25.LW)	77

5.3.	Versuchsherde 3 AAA	80
5.3.1.	Ergebnisse RT-PCR-Untersuchung	80
5.3.2.	Ergebnisse ELISA-Untersuchung	80
5.3.2.1.	Klinische und pathologisch-anatomische Befunde Produktion (ab 25.LW)	83
5.3.2.2.	Wirtschaftliche Parameter Produktion (ab 25.LW)	84
5.3.2.3.	Zusammenfassung aller erhobenen Daten Produktion (ab 25.LW)	86
5.4.	Versuchsherde 4 AAB	90
5.4.1.	Ergebnisse RT-PCR-Untersuchung	90
5.4.2.	Ergebnisse ELISA Untersuchung	90
5.4.2.1.	Klinische und pathologisch-anatomische Befunde Produktion (ab 25.LW)	93
5.4.2.2.	Wirtschaftliche Parameter Produktion (ab 25.LW)	94
5.4.2.3.	Zusammenfassung aller erhobenen Daten Produktion (ab 25.LW)	96
6.	Diskussion	100
7.	Zusammenfassung	112
8.	Summary	114
9.	Literaturverzeichnis	116

Verzeichnis der Abkürzungen

Es wurden folgende Abkürzungen in der vorliegenden Arbeit verwendet:

%	Prozent
°C	Grad Celsius
§	Paragraph
µg	Mikrogramm
Abb.	Abbildung(en)
AE	Aviäre Enzephalomyelitis
AIV	Aviäres Influenzavirus
aMPV	Aviäres Metapneumovirus
ART	Aviäre Rhinotracheitis
BA	Bordetella avium
best. spez.	Bestand spezifisch
bp	Baasenpaare
BSA	Bovines Serumalbumin
bzw.	beziehungsweise
CAV	Virus der Infektiösen Anämie der Küken
cDNA	komplementäre DNA, die bei der reversen Transkription von RNA entsteht
CEF	engl.: Chicken Embryo Fibroblasts
CER	engl.: Chicken Embryo Rough Cells
dATP	Adenosintriphosphat
dCTP	Cytosintriphosphat
dGTP	Guanosintriphosphat
DNA	Desoxyribonukleinsäure
d-NTP	3'-Desoxy-Nucleosid-5-trisphosphat
dTTP	Thymidintriphosphat

E	entspricht einem Antikörpertiter von 1
EDS	engl.: Egg Drop Syndrome
EDTA	Ethylendinitro-Tetraessigsäure
Efr	Minimaler Antikörpertiter bei einem Tier, das mit 1/50 der Dosis geimpft wurde (fraktionierte Dosis)
ELISA	engl.: Enzyme-Linked-Immunesorbent-Assay
et al.	und Mitarbeiter
Fa.	Firma
FAV	Hühneradenovirus
GC	Gehalt an den Nukleotiden Guanosin und Cytosin
GKID ₅₀	50% der (Gewebe) Kultur infizierende Dosis
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
HAH	Hämagglutinationshemmung
HEF	Hühnerembryofibroblasten
HEV	Virus der Hämorrhagischen Enteritis (der Pute)
hMPV	Humanes Metapneumovirus
HRPO	(Ziegen-)Anti-Huhn/Anti-Pute:Meerrettichperoxidase
i.m.	intramuskulär
IB	Infektiöse Bronchitis
IBD	engl.: infectious bursal disease
IBDV	Virus der IBD
IBV	Virus der IB
IF	Immunfluoreszenz
IFN- γ	Interferon-Gamma
Ig	Immunglobulin
IIFT	indirekter Immunfluoreszenz-Test
ILT	Infektiöse Laryngotracheitis
IP	Interferenzanteil in Prozent
KCl	Kaliumchlorid

Verzeichnis der Abkürzungen

KH ₂ PO ₄	Kaliumdihydrogenphosphat
LT	Lebenstag
LW	Lebenswoche
MD	engl.: Mareks Disease
Mg	Mykoplasma gallisepticum
MgCl ₂	Magnesiumchlorid
Mi	Mykoplasma iowae
ml	Milliliter
mM	Millimol
m-RNA	messenger-RNA
Ms	Mykoplasma synoviae
n	Stichprobenanzahl
Na ₂ HPO ₄	Dinatriumhydrogenphosphat
NaCl	Natriumchlorid
(NH ₄) ₂ SO ₄	Ammoniumsulfat
ND	Newcastle Disease
NDV	Virus der ND
nm	Nanometer
ORT	Ornithobacterium rhinotracheale
p	Wahrscheinlichkeit
p.i.	post infectionem; nach der Infektion
PAGE	Polyacrylamid-Gelelektrophorese
PBS	Phosphatgepufferte Kochsalzlösung
PCR	Polymerasekettenreaktion
PD ₅₀	protektive Effekt, dass heißt diejenige Dosis, bei der 50 % der Tiere einer Gruppe geschützt sind
PEI	Paul-Ehrlich-Institut
pH	Negativer Logarithmus der Wasserstoffionenkonzentration
p.m.	post mortem

pmol	Pikomol
PMV	Paramyxovirus
REO	engl.: respiratory enteric orphan
RNA	Ribonukleinsäure
Rpm	Umdrehungen pro Minute
RQ	engl.: Real-time quantitative
RT	Reverse Transkriptase
SDS	Natriumdodecylsulfat
SHS	engl.: Swollen Head Syndrome
SNT	Serumneutralisationstest
SPF	engl.: specific pathogen free
T _A	Anlagerungstemperatur
Tab.	Tabelle
TBE	Tris-Borat-Elektrophorese
TierSG	Tierseuchengesetz
TOC	engl.: tracheal organ cultures
Tris-HCl	Trishydroxymethylaminomethan
TRT	engl.: Turkey Rhinotracheitis
TRTV	Virus der TRT
TW	Trinkwasser
v/v	Volumeneinheit pro Volumeneinheit (volume/ volume)
VERO	Affennierenzelllinie
VNT	Virusneutralisationstest
α	Irrtumswahrscheinlichkeit

1. Einleitung

In der modernen, intensiven Geflügelhaltung ist die gezielte Immunisierung gegen verschiedenste aviäre Krankheitserreger, neben den Maßnahmen der allgemeinen Seuchenvorbeuge, ein unverzichtbares Werkzeug zur Gesunderhaltung und damit der Wirtschaftlichkeit kommerzieller Geflügelhaltungen. Dem betreuenden Tierarzt obliegt dabei die Aufgabe für seine betreuenden Betriebe ein effektives Immunprophylaxeprogramm zu erstellen, das auf die lokale epizootologische Situation hinsichtlich der verschiedenen Krankheitserreger und der derzeitigen gesetzlichen Bestimmungen abgestimmt ist.

In der tierärztlichen Praxis Dr. K. Müller-Molenar wurde seit Anfang der 90er Jahre mit unterschiedlichsten Impfprogrammen und unterschiedlichsten Applikationsarten gegen das aviäre Metapneumovirus (aMPV) in Geflügelmast-Elterntierherden, und später auch in Geflügelmast-Großelterntierherden geimpft. Bisher liegen keine wissenschaftlichen, fachlich fundierten Angaben über die Wirtschaftlichkeit und Wirksamkeit der unterschiedlichen Impfprogramme unter Feldbedingungen bei Geflügelmastzuchtherden vor.

Im Rahmen dieser Dissertation soll mit einer breitangelegten Verlaufsuntersuchung in Geflügelmast-Großelterntierherden festgestellt werden, inwiefern die verwendeten unterschiedlichen Impfprogramme gegen eine Infektion mit dem aMPV im Feld schützen und ob die Impfung gegen das aMPV im Falle einer aMPV-Feldinfektion einen positiven Effekt hinsichtlich der Wirtschaftlichkeit der Herden besitzt.

2. Literatur

2.1 Definition

Die Rhinotracheitis der Puten (turkey rhinotracheitis, TRT), die aviäre Rhinotracheitis (avian rhinotracheitis, ART) und das so genannte „Swollen Head Syndrom“ (SHS) bezeichnen klinische Erkrankungen der oberen Atemwege bei Puten und Hühnern, die durch eine Infektion des aviären Metapneumovirus (aMPV) verursacht werden können (Jones et al., 1986; Jones et al., 1987; Jones et al., 1988; Cook, 2000b). Das klinische Erscheinungsbild und die pathologisch-anatomischen Veränderungen sind bei einer Infektion mit dem aMPV nicht immer einheitlich und können aufgrund einer Beteiligung von anderen Organismen, wie *Bordetella avium* (BA), *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT), *Escherichia coli*, *Mykoplasma* spp. oder anderer respiratorischer Pathogenene, in Form und Stärke variieren (Majo et al., 1997; Ganapathy et al., 1998; Khehra et al., 1999b; Al-Ankari et al., 2001; Jirjis et al., 2004; Marien et

al., 2005; Van Loock et al., 2005). Beim SHS resultieren die charakteristischen Auftreibungen im Kopfbereich („swollen head“) aus einer primären Infektion des aMPV gefolgt von einer sekundären bakteriellen Infektion, meist durch *Escherichia coli* (Picault et al., 1987a; Majo et al., 1997).

2.2 Vorkommen und Bedeutung

Seit dem ersten Auftreten einer aMPV-Infektion bei Puten in Südafrika (Buys und du Preez, 1980) wurden aMPV-Infektionen aus verschiedenen Ländern berichtet (siehe Tabelle 1 und 2). Infektionen mit dem aMPV führen zu erheblichen Gesundheitsproblemen und ökonomischen Verlusten in kommerziellen Geflügelhaltungen. Trotz routinemäßiger Impfungen in der Putenindustrie, sind respiratorische Erkrankungen bedingt unter anderen durch das aMPV, nach der aviären Influenza, die Erkrankungen, die die höchsten ökonomischen Verluste verursachen (Lister, 1998).

Tab.1 Vorkommen von aMPV-Infektionen bei Puten (nach Hafez, 1994; ergänzt)

Vorkommen	Erkrankung	(Autor, Jahr)
Südafrika	TRT	(Buys und du Preez, 1980)
England, Wales	TRT	(Anon, 1985) (Wyeth et al., 1986) (Wilding et al., 1986)
Frankreich	TRT	(Andral et al., 1985a) (Giraud et al., 1986a)
Deutschland	TRT	(Hafez, 1987)
Israel	TRT	(Weisman et al., 1988)
Österreich	TRT	(Pollan, 1990)
Ungarn	TRT	(Lantos, 1990)
USA	TRT	(Grow, 1992)
Zentral- und Südamerika	TRT	(Jones, 1996)
USA (Colorado)	TRT	(Senne et al., 1997)
Chile	TRT	(Toro et al., 1998)
Belgien	TRT	(Van de Zande et al., 1998)

Fortsetzung Tab. 1

Vorkommen	Erkrankung	(Autor, Jahr)
USA (Minnesota, Iowa, Wisconsin, Nord und Süd Dakota)	TRT	(Bennett et al., 2004)
Brasilien	TRT	(D'Arce et al., 2005) (Chacon et al., 2007) (Chacon et al., 2009)
Israel	TRT	(Banet-Noach et al., 2005)

Tab. 2 Vorkommen von SHS (nach Hafez, 1994; ergänzt)

Land	Tier	(Autor, Jahr)
Südafrika	Broiler	(Morley und Thomson, 1984)
Spanien	Mastelterniere, Broiler, Legehennen	(Diaz de Espada und Perona, 1984)
Frankreich	Hühner Perlhühner	(Drouin et al., 1985) (Goater et al., 1985)
England	Mastelterniere Broiler	(O'Brien, 1985) (Wyeth et al., 1987)
Niederlande	Mastelterniere, Broiler, Legehennen	(Goren, 1985)
Kanada	Broiler	(Zellen, 1988)
Israel	Broiler	(Perelman et al., 1988)
Deutschland	Mastelterniere, Broiler	(Hafez, 1988)
Japan	Broiler Legehennen, Broiler Mastelterniere, Broiler Broiler, Legehennen Broiler	(Uramoto et al., 1990). (Otsuki et al., 1996) (Tanaka et al., 1995) (Tanaka et al., 1996). (Mase et al., 2003)
Marokko	Broiler Broiler	(Wyeth, 1990) (El Houadfi et al., 1991)

Fortsetzung Tab. 2

Land	Tier	(Autor, Jahr)
Mexiko	Mastelertiere	(Decanini et al., 1991)
Brasilien	Mastelertiere, Broiler, Legehennen	(Arns und Hafez, 1992)
USA	Mastelertiere	(Grow, 1992)
Taiwan	Broiler, Mastelertiere	(Lu et al., 1994)
Griechenland	Broiler	(Georgiades et al., 2001).
Nigeria	Mastelertiere, Broiler	(Owoade et al., 2006)

Kein Nachweis des aMPV gelang bisher in Australien (Bell und Alexander, 1990; Heckert und Myers, 1993). In Nordamerika beschränkt sich die Ausbreitung bei Puten bisher nur auf Colorado, Minnesota, Iowa, Wisconsin, Nord Dakota und Süd Dakota (Senne et al., 1997; Goyal et al., 2000; Bennett et al., 2004). In Kanada konnten bei serologischen Untersuchung von Geflügelbeständen keine Antikörper gegen das aMPV nachgewiesen werden (Heckert und Myers, 1993). Jedoch konnte RNA des aMPV bei Wildvögeln (Schneegänse) in Kanada isoliert werden (Bennett et al., 2004).

2.3 Geschichte

Hühner

Nach einem Bericht von Morley und Thompson (1984) beobachtete man in der Folge einer Newcastle-Disease (ND)-Pandemie in Südafrika in den Jahren 1971/ 1972 das Auftreten einer Erkrankung bei Hühnern, die mit einer Schwellung im Kopfbereich verbunden war. Die Krankheit trat bei Masthähnchen und seltener auch bei Mastelertieren auf. Zunächst wurde ein Zusammenhang mit der Newcastle-Disease vermutet. Später wurde es als sekundäres Managementproblem angesehen, bis es schließlich unter dem Namen Swollen Head Syndrom (SHS) als eigenständige Erkrankung betrachtet wurde.

Ähnliche Symptome wurden von van Blerk (1985) bei Masthähnchen in Südafrika beschrieben. Er datierte die ersten Krankheitsfälle auf das Jahr 1967.

Als Bestätigung dieser beiden Berichte gelang es Buys et al. (1989b) Antikörper gegen das aMPV in Serumproben von Hühnern aus Südafrika nachzuweisen, die aus den Jahren vor 1980 stammten.

Über eine Krankheit mit SHS-ähnlichen Symptomen bei Broiler und Legehennen in Spanien berichteten erstmals Diaz de Espada und Perona (1984). Nach diesem ersten Krankheitsfall in Europa wurden in den folgenden Jahren auch aus anderen europäischen Ländern schwere Krankheitsausbrüche des SHS bei Hühnern beobachtet. Hierbei seien Berichte über Krankheitsausbrüche in Hühnerbeständen aus den Niederlanden (Goren, 1985), Frankreich (Drouin et al., 1985) und England (O'Brien, 1985) erwähnt. Cook et al. (1988) konnten bei retrospektiven, serologischen Untersuchungen von Hühnerserumproben aus Herden mit respiratorischen Symptomen und Legeleistungsrückgang in England, die aus der Zeit von vor 1985 stammten, keine aMPV-spezifischen Antikörper nachweisen. Bei den Berichten aus Frankreich konnten SHS-Erkrankungen nicht nur bei Hühnern, sondern auch bei Perlhühnern beobachtet werden (Drouin et al., 1985).

Erste Veröffentlichungen über SHS-Ausbrüche in der Bundesrepublik Deutschland bei Masthähnchen und Mastelertieren stammen aus dem Jahr 1988 (Hafez, 1988).

Außerhalb Europas gibt es Berichte über das Auftreten des SHS in Kanada (Zellen, 1988), Israel (Perelman et al., 1988), Japan (Uramoto et al., 1990), Marokko (Wyeth, 1990; El Houadfi et al., 1991), Mexiko (Decanini et al., 1991), Brasilien (Arns und Hafez, 1992) und in North Carolina, USA (Grow, 1992). Auch auf dem australischen Kontinent konnten in Geflügelbeständen SHS-ähnliche Symptome beobachtet werden. Jedoch konnten bisher keine Antikörper gegen das aMPV in Australien nachgewiesen werden (Bell und Alexander, 1990).

Bei den ersten beschriebenen Ausbrüchen von SHS ging man davon aus, dass eine Coronavirus-Infektion, begleitet von sekundären E.coli-Infektionen, die Ursache für die Erkrankung sei (Diaz de Espada und Perona, 1984; Morley und Thomson, 1984). Regelmäßig konnte bei SHS-Ausbrüchen das Bakterium *E. coli* isoliert werden (Blerk, 1985; Goren, 1985; O'Brien, 1985). Man vermutete daher, dass diesem Bakterium eine besondere Rolle als Sekundärerreger zukommt. Ansonsten konnten zunächst keine weiteren spezifischen Erreger nachgewiesen werden. Bis es schließlich im Jahr 1987 Picault et al. (1987a) gelangen aus den Atemwegen von an SHS erkrankten Masthähnchen ein aMPV-ähnliches Virus zu isolieren. Zusätzlich wurde bei dieser Studie ein Homogenisat aus Gewebe des Respirationstraktes erkrankter Broiler an SPF-Hühnerküken und SPF-Puten verabreicht. Dabei konnten bei den Puten eine typische Rhinotracheitis und bei den Hühnerküken klinische Anzeichen des SHS hervorgerufen werden. Auch Buys et al. (1989a) gelang die Isolierung eines der Pute

verwandten aMPV aus Broilern. Die Broilerproben stammten dabei aus SHS-Krankheitsausbrüchen, die vor 1980 datiert waren.

Ein Zusammenhang zwischen der Rhinotracheitis der Pute (TRT) und dem SHS der Hühner wurde zunächst nicht vermutet, obwohl beide Erkrankungen sowohl räumlich als auch zeitlich eine ähnliche Entwicklung nahmen (O'Brien, 1985).

Nach der aMPV-Isolierung aus Putenproben (McDougall und Cook, 1986; Wilding et al., 1986; Giraud et al., 1986a; Giraud et al., 1986b) und nach dem Nachweis von aMPV-spezifischen Antikörpern aus Serumproben von Hühnern (Wyeth et al., 1987) vermutete man schließlich doch eine Verbindung zwischen der Rhinotracheitis der Pute und dem SHS der Hühner (Picault et al., 1987a; Buys et al., 1989a; Buys et al., 1989b).

Puten

1980 wurde erstmals über das Vorkommen einer akuten Atemwegserkrankung bei Puten in Südafrika aus dem Jahr 1978 berichtet (Buys und du Preez, 1980). Die Erkrankung breitete sich sehr schnell aus und ging mit einer Mortalität bis zu 25 % einher. Eine ähnliche Erkrankung beobachtete Andral et al. (1985a) bei zahlreichen Putenbeständen in der Bretagne, Frankreich, im Jahr 1981. Hier breitete sich die Krankheit in kürzester Zeit in einem Umkreis von 250 km aus. Ähnlich wie bei den Fällen in Südafrika wurden wieder hohe Mortalitätsraten festgestellt – diesmal sogar bis 30 %. Bei Legeputen konnte neben geringfügigen Atemgeräuschen ein Rückgang der Legeleistung beobachtet werden.

In der Region Norfolk, England, wurde 1985 eine ähnliche Erkrankung bei Putenherden festgestellt (Anon, 1985). Wiederum bezeichnend war die schnelle Ausbreitungstendenz, wodurch sich die Erkrankung in kurzer Zeit in weiten Teilen Englands und Wales verbreitete.

Für die als Rhinotracheitis der Pute bezeichnete Infektionskrankheit konnte lange kein ursächlicher Erreger gefunden werden. Andral et al. (1985b) machten schließlich primär das Virus der hämorrhagischen Enteritis der Pute (Adenovirus) zusammen mit zahlreichen Sekundärerregern verantwortlich für die Infektion.

Schließlich gelang in England und Frankreich die Isolierung eines Virus, das als primärer Erreger der Rhinotracheitis der Pute eingestuft wurde (McDougall und Cook, 1986; Wilding et al., 1986; Giraud et al., 1986a). Somit konnten Vermutungen von englischen Wissenschaftlern bestätigt werden, dass es sich bei der Rhinotracheitis der Pute aufgrund der raschen Ausbreitungstendenz und des Erscheinungsbildes um eine Viruserkrankung handelt.

Anhand molekularer Studien und der Entwicklung einer Polymerase Chain Reaction (PCR, Polymerasekettenreaktion) konnte das aMPV in zwei Subtypen, den „Subtyp A“ und den „Subtyp B“, eingeteilt werden (Juhasz und Easton, 1994). Schon vorher hatten Untersuchungen mit monoklonalen Antikörpern, polyklonalen Antikörpern mittels ELISA und Virus-Neutralisationstests bei Isolaten unterschiedlicher Herkunft zur Folge, dass sich die untersuchten Isolate in zwei Gruppen einteilen ließen (Hafez, 1992; Collins et al., 1993; Cook et al., 1993a). Die Subtypen A und B traten in Europa und weltweit auf. Das Virus, das sich 1980 in Südafrika isolieren ließ, wurde dem Subtyp A zugeordnet (Cook et al., 1993a). In England konnte zunächst der Subtyp A (Juhasz und Easton, 1994) und später auch der Subtyp B nachgewiesen werden (Naylor et al., 1997a). In Frankreich, Spanien, Ungarn, Italien und den Niederlanden konnte der Subtyp B detektiert werden (Cook et al., 1993a; Juhasz und Easton, 1994; Naylor et al., 1997a). Beide Subtypen zirkulieren seit 1987/ 88 in Deutschland (Hafez et al., 2000) Auch in Belgien konnten beide Subtypen detektiert werden (Van de Zande et al., 1998).

Im Jahr 1997 konnte aMPV erstmals aus Puten in den USA isoliert werden (Senne et al., 1997; Jirjis et al., 2000). Diese Isolate wurden nach Studien des M-Gens einem eigenen Subtyp C zugeordnet (Seal, 1998). Durch Virusneutralisationstests sowie Immunfluoreszenstests zeigte sich eine schwache Verwandtschaft zum Subtyp A, nicht jedoch zum Subtyp B (Panigraphy et al., 2000). Zwischen den Subtypen C und den Subtypen A und B konnte nur eine schwache Kreuzneutralisation nachgewiesen werden (Cook et al., 1998a). Phylogenetische Vergleiche der Subtypen A, B und C zeigten, dass die Subtypen A und B stärker miteinander verwandt sind (Shin et al., 2002c).

In den USA konnte das Virus bisher nur bei Puten in den Bundesstaaten Colorado, Minnesota sowie in North Dakota nachgewiesen werden. Das Virus befiel bisher keine Hühnerbestände, jedoch konnten Hühner experimentell mit dem Subtyp-C des aMPV infiziert werden. Die experimentell infizierten Hühner zeigten klinische Symptome. Zudem konnten spezifische Antikörper nachgewiesen werden (Shin et al., 2000a). Durch ELISA-Untersuchungen konnte bestätigt werden, dass Infektionen durch das aMPV bei Puten auch in den Bundesstaaten Iowa, Wisconsin, North Dakota und South Dakota vorkommen (Bennett et al., 2004).

Neueste Untersuchungen zeigen, dass auch bei Wildvögeln aus Georgia, South Carolina, Arkansas und Ohio sowohl Antikörper als auch das Virus des aMPV-Suptyps C nachgewiesen werden konnten (Turpin et al., 2008).

In Frankreich konnte durch retrospektive molekularbiologischen Analysen von aMPV-Isolaten von Puten aus den 1980er Jahren von einem „nicht-A/nicht-B“-aMPV berichtet werden, der als Subtyp D klassifiziert wurde (Bayon-Auboyer et al., 2000; Toquin et al., 2000).

Bei Moschusenten in Frankreich mit respiratorischen Symptomen und einer schlechten Legeleistung konnte ein aMPV isoliert werden, dass aufgrund seiner antigenetischen Eigenschaften als Subtyp-C-ähnliches Virus beschrieben wurde (Toquin et al., 1999b).

2.4 Ätiologie

2.4.1 Klassifikation

Das aviäre Metapneumovirus wird dem Genus *Metapneumovirus* der Subfamilie der *Pneumovirinae* der Familie der *Paramyxoviridae* zugeordnet (Pringle, 1998). Die Familie der *Paramyxoviridae* unterteilt sich in zwei Subfamilien, den *Paramyxovirinae* und den *Pneumovirinae*. Der Subfamilie der *Paramyxovirinae* sind wiederum drei Genera (Respiro-, Rubula-, Avulaviren), der Subfamilie der *Pneumovirinae* zwei Genera (Pneumo-, Metapneumoviren) zugeordnet. Charakteristische Vertreter der Subfamilie der *Pneumovirinae* sind in Tabelle 3 dargestellt.

Tab. 3 Charakteristische Vertreter der Subfamilie der *Pneumovirinae*

Genus	Pneumovirus	Metapneumovirus
Vertreter	humanes respiratorisches Syncytialvirus (hRSV)	humanes Metapneumovirus (hMPV)
	bovines, respiratorisches Syncytialvirus	Aviäres Metapneumovirus (aMPV)
	Pneumovirus der Maus	

Die aktuelle Klassifikation beruht hauptsächlich auf morphologischen und biologischen Eigenschaften. Dabei bestehen bei allen Viren innerhalb eines der fünf Genera antigenetische Kreuzreaktionen (Collins und Crowe, 2007). Zudem unterscheiden sich die Viren der fünf

Genera hinsichtlich Ihrer Neuraminidaseaktivität und Ihrer Fähigkeit zur Hämagglutination. Alle Vertreter der Subfamilie der Paramyxovirinae besitzen die Fähigkeit zur Agglutination von Säugetier- und Vögelythrozyten, sowie eine Neuraminidaseaktivität. Morbilliviren können nur Erythrozyten zur Agglutination bringen (Collins und Crowe, 2007). Pneumoviren und Metapneumoviren fehlt sowohl die Fähigkeit zur Hämagglutination (Ausnahme Pneumovirus der Maus) als auch eine Neuraminidaseaktivität (Wyeth et al., 1986; Hafez und Weiland, 1990b; Collins und Crowe, 2007).

Auf Grundlage bestimmter Nukleotidsequenzen und daraus abgeleiteten Aminosäuresequenzen ist das aMPV derzeit in vier Subtypen (A,B,C und D) unterteilt (Cook und Cavanagh, 2002).

2.4.2 Morphologie

Im elektromikroskopischen Bild zeigt der Erreger eine sehr pleomorphe, ausgefranzte, sphärische bis filamentöse Gestalt. Sphärische Formen besitzen einen Durchmesser von ca. 80 nm bis 200 nm, runde Formen zwischen 500 nm und 700 nm. Filamentöse Formen können 80 nm bis 100 nm lang sein. Isolate aus Organkulturen können sogar eine Länge bis 1000 nm erreichen (Alexander et al., 1986; Collins und Gough, 1988). An der Oberfläche der lipidhaltigen Hülle (Envelop) befinden sich Projektionen (Spikes) mit einer Länge von 13 bis 14 nm. Zwischen den Projektionen befindet sich ein Abstand von 2 bis 3 nm (McDougall und Cook, 1986; Giraud et al., 1986a).

2.4.3 Struktur

Genom

Das Genom des aMPV besteht aus einer nicht segmentierten, einzelsträngigen Ribonukleinsäure (RNS) mit negativer Polarität (Collins und Crowe, 2007). Die RNS ist 13,3 kb lang und kodiert in acht verschiedenen Bereichen für acht Virusproteine. Gensequenzen für alle acht Proteine der unterschiedlichen Subtypen sind veröffentlicht:

- Nukleoprotein N (Li et al., 1996; Dar et al., 2001a)
- Phosphoprotein P (Ling et al., 1995; Dar et al., 2001a)
- Matrixprotein M (Yu et al., 1992a; Randhawa et al., 1996a; Seal, 1998)
- Fusionsprotein F (Yu et al., 1991; Naylor et al., 1998; Bayon-Auboyer et al., 2000; Seal et al., 2000a)

- zweites Matrixprotein M2 (Yu et al., 1992b; Dar et al., 2003; Jacobs et al., 2003)
- Small Hydrophobic Protein SH (Ling et al., 1992; Jacobs et al., 2003; Toquin et al., 2003; Yunus et al., 2003)
- Glykoprotein G (Ling et al., 1992; Juhasz und Easton, 1994; Bayon-Auboyer et al., 2000; Alvarez et al., 2003; Toquin et al., 2003)
- RNS Polymeraseprotein L (Randhawa et al., 1996b; Bayon-Auboyer et al., 2000; Toquin et al., 2003; Govindarajan und Samal, 2004)

Die Anordnung der Gene des aMPV (3'-N-P-M-F-M2-SH-G-L-5') differiert im Vergleich zur Anordnung der Gene bei Pneumoviren (3'-NS1-NS2-N-P-M-SH-G-F-M2-L-5') (Ling et al., 1992). Das L-Gen ist kleiner im Vergleich zu anderen Pneumoviren (Randhawa et al., 1996b). Zudem fehlen dem aMPV die Gene für die nichtstrukturellen Proteine NS 1 und NS 2 (Randhawa et al., 1997). Aufgrund dieser erheblichen Unterschiede wurde das aviäre Pneumovirus als das neue Genus Metapneumovirus klassifiziert (Pringle, 1998).

Nucleokapsid

Das Nucleokapsid ist helikalsymmetrisch aufgebaut und besitzt einen Strangdurchmesser von 14 nm und eine Ganghöhe von 7 nm (Collins und Gough, 1988).

Lipidmembran

Oberflächlich ist die lipidhaltige Hülle (Envelop) mit etwa 13-15 nm langen Projektionen (Spikes) besetzt. Zwischen den Spikes befindet sich ein 2-3 nm breiter Raum (McDougall und Cook, 1986; Giraud et al., 1986a; Buys et al., 1989b; Hafez und Weiland, 1990b)

Virusproteine

Das Genom des aMPV kodiert für 8 Virusproteine. Das aMPV besitzt im Vergleich zu Pneumoviren der Säugetiere keine nichtstrukturellen Proteine (NS1 und NS2) (Randhawa et al., 1997). Das G-Protein und das F-Protein an der Oberfläche des aMPV tragen zu den wichtigsten antigenetischen Eigenschaften der Virusgruppe bei. Das G-Protein ist verantwortlich dafür, dass sich das Virus an die Wirtszelle binden kann (Levine et al., 1987). Das F-Protein bewirkt bei physiologischem pH, dass die Zellmembran des Wirtes mit der Virusmembran fusionieren kann (Hernandez et al., 1996). Untersuchungen von Naylor et al. (2004) zeigten, dass weder das SH-

Protein noch das G-Protein für die Lebensfähigkeit des Virus zuständig sind. Jedoch scheinen beide Proteine einen Einfluss auf die Stärke der schützenden Immunität von potenziellen Lebendvakzinen zu besitzen (Naylor et al., 2007). Aufgrund unterschiedlicher Gensequenzen und daraus resultierenden Aminosäuresequenzen der verschiedenen Virusproteine wird das aMPV derzeit in vier Subtypen (A-D) unterteilt. Beim Vergleich der Aminosäuresequenzen des G-Proteins konnten zwei Cluster gefunden werden, die untereinander zu 98,5 % bis 99,7 % ähnlich waren, aber gegeneinander nur zu 38 % gleiche Sequenzen besaßen. Bei diesen beiden Clustern handelt es sich um die Subtypen A und B des aMPV (Juhász und Easton, 1994). Bestätigen konnte man die unterschiedlichen Cluster auch durch Sequenzierung des F-Proteins (Naylor et al., 1998) und des M-Proteins (Randhawa et al., 1996a).

Da das M-Protein innerhalb der Paramyxoviren hochkonserviert ist (Rima, 1989), kann es für die molekulare Epidemiologie herangezogen werden (Seal, 1998). Somit konnte nachgewiesen werden, dass europäische M-Proteine eine 89%ige Ähnlichkeit in der Aminosäuresequenz aufweisen. M-Proteine aus aMPV-Isolaten aus Colorado besaßen jedoch nur eine Übereinstimmung in den Aminosäuresequenzen von 60% im Vergleich zu Aminosäuresequenzen der Subtypen A und B in Europa. Das M-Protein unterscheidet sich auch serologisch von den europäischen Isolaten (Kleven, 1997; Senne et al., 1997). Aufgrund von Studien des F-Proteins ließen sich aMPV-Isolate aus den USA als neuer Subtyp C definieren (Seal, 2000b). Zunächst ging man davon aus, dass der Subtyp C nur in den USA vorkommt. Neueren Studien zur Folge konnte der Subtyp C aber auch aus Fasanen in Südkorea (Lee et al., 2007) und aus Enten in Frankreich isoliert werden (Toquin et al., 2006). Bei den französischen aMPV-Subtyp C Isolaten konnten erhebliche Unterschiede hinsichtlich der Nukleotid,- bzw. Aminosäuresequenzen des F-Genes bzw. des G-Proteins und des L-Proteins im Vergleich zu US-amerikanischen Isolaten festgestellt werden.

Subtyp C-Isolate aus den USA weisen eine sehr viele höhere Homologie in den Aminosäuresequenzen zu dem humanen Metapneumovirus (hMPV) auf als europäische Isolate der Subtypen A, B und D (van den Hoogen et al., 2002; Toquin et al., 2003). Aufgrund der Ähnlichkeit zwischen hMPV und aMPV-Subtyp C stellte man die Hypothese auf, dass beide Viren sowohl Vögel als auch Menschen infizieren können (van den Hoogen et al., 2001). Schließlich gelang es auch Puten mit dem hMPV zu infizieren (Velayudhan et al., 2006).

Anhand der Nucleotid-, und Aminosäuresequenzen des F-Proteins, des L-Proteins und des G-Proteins wurden die bis dato als „non-A/non-B“ aMPV bezeichneten Isolate aus Frankreich einem neuen Subtyp D zugeordnet (Bayon-Auboyer et al., 2000).

2.4.4 Replikation

Die Replikation des aMPV ist vergleichbar mit allen anderen Viren aus der Familie der Paramyxoviridae. Zu Beginn der Replikation haftet sich das Virus mithilfe des G-Proteins an die Wirtszelloberfläche an. Als Zielzellen sind bisher mit Zilien versehene und ohne Zilien versehene Epithelzellen aus der Nasenmuschel sowie der Trachea und der Lunge beschrieben (Majo et al., 1995; Majo et al., 1996). Mithilfe des F-Proteins vereint sich die Lipidmembran des Virus mit der Zellmembran. Die Virusvermehrung selbst findet im Zytoplasma der Wirtszelle statt. Das aMPV-Genom wird mithilfe einer viralen RNA-abhängigen RNA-Polymerase in eine komplementäre m-RNA transkribiert. Die m-RNA besitzt acht transkriptionale Sequenzen, die jeweils für ein Virusprotein kodieren. Das Nukleokapsid wird im Zytoplasma am Ort der RNA-Synthese gebildet. Durch „Budding“ (Knospung) entsteht die Virushülle, wobei die viralen Oberflächenproteine vorher in die Wirtsmembran integriert werden (Collins und Crowe, 2007).

Bei der Verbreitung des Virus innerhalb des Organismus des Wirtes werden Makrophagen eine große Rolle zugeschrieben. Bei Makrophagen in Milzzellen konnte das Genom des aMPV nachgewiesen werden (Sharma et al., 2004)

2.4.5 Stabilität gegenüber chemischen und physikalischen Einflüssen

Das Virus kann bei 56 °C innerhalb von 30 Minuten inaktiviert werden. Auch durch Lipidlösungsmittel, nichtionischen Detergentien, H₂O₂ und Formalin kann die Infektiosität des Virus aufgehoben werden. Das Virus ist ferner empfindlich gegenüber Äther und Chloroform. Bei pH-Werten zwischen 3 und 9 erweist sich das Virus als stabil (Collins et al., 1986; Giraud et al., 1986a; Hafez und Weiland, 1990b).

Der Subtyp C des aMPV erwies sich in Versuchen als sehr stabil. Es überlebte bei -20 °C mehr als sechs Monate, bei 4 °C zwölf Wochen, bei 20 °C vier Wochen und bei 50 °C weniger als sechs Stunden. Die Infektiosität des Virus war 7 Tage nach Trocknung noch erhalten und selbst nach 12 Gefrier- und Auftauzyklen konnte man das Virus wieder auf einer Zellkultur vermehren (Townsend et al., 2000). Außerdem wurden Studien über die

Überlebensfähigkeit von aMPV Subtyp C in „built up litter“ aus Putenställen durchgeführt. In dieser Studie wurde aMPV-freier Putenmist aus einer kommerziellen Putenhaltung im Experiment mit aMPV des Subtyps C beimpft. Bei einer Lagertemperatur von 8 °C konnte selbst nach 14 Tagen das Virus reisoliert werden. Genom des aMPV konnte noch nach 60 Tagen detektiert werden (Lagertemperatur 8°C). Diese Werte wurden bei Putenmist ermittelt, der vor der Beimpfung mit aMPV nicht autoklaviert wurde (Velayudhan et al., 2003).

Elhafi et al. (2004) konnten nachweisen, dass mit aMPV versehenes Probenmaterial nach einer 5-sekündigen Mikrowellenbehandlung bei 900 Watt nicht mehr infektiös war. Hingegen konnte RNA des aMPV mittels RT-PCR nach einer 4-minütigen Mikrowellenbehandlung bei 900 Watt noch nachgewiesen werden.

2.4.6 Antigenpektrum

Eine Antigenverwandschaft zu anderen bekannten geflügelpathogenen Viren wie Adenoviren (FAV 1, HEV, EDS 76), „Respiratory Enteric Orphan Virus“ (REO-S1133), Infektiöse Bursitis Virus (IBDV), Virus der infektiösen Bronchitis (IBV-Mass.), Influenza-A-Virus (AIV-H1, AIV-H3, AIV-H12) und Paramyxoviren (PMV-Typen 1 bis 4 und 6 bis 9) sowie zu Viren anderer Tiere und des Menschen konnte nicht festgestellt werden (Giraud et al., 1988).

Mehrere Autoren führten vergleichende Untersuchungen von aMPV-Isolaten aus verschiedenen Ländern bzw. Instituten durch. Baxter-Jones et al. (1987) untersuchten aMPV-Isolate mit Hilfe von Immunfluoreszens, ELISA und Kreuzneutralisationstests. Gough und Collins (1989) und Hafez (1992) verglichen Isolate mittels Elektronenmikroskopie, SDS-PAGE-Analyse, Kreuzneutralisationstests und/ oder mit doppelten Immundiffusionstest. Alle Ergebnisse zeigten, dass die untersuchten Isolate morphologisch und antigenetisch ähnlich waren.

Mithilfe von monoklonalen Antikörpern konnte jedoch festgestellt werden, dass sich aMPV-Isolate der Subtypen A und B antigenetisch unterscheiden (Hafez, 1992; Collins et al., 1993; Cook et al., 1993a). Die beiden aMPV-Isolate des Subtyps D aus Frankreich unterscheiden sich antigenetisch von den Subtypen A und B. Im ELISA und im VNT konnten jedoch Kreuzreaktionen zwischen den drei Subtypen nachgewiesen werden (Bayon-Auboyer et al., 1999; Toquin et al., 2000). Der Subtyp C des aMPV scheint sich am stärksten antigenetisch von

den Subtypen A, B und D zu unterscheiden. Es konnten nur im geringen Maße antigenetische Kreuzreaktionen nachgewiesen werden (Cook et al., 1999; Toquin et al., 2000).

2.5 Epidemiologie

2.5.1 Vorkommen und Verbreitung

Nachdem das aMPV erstmals aus Puten in Südafrika isoliert wurde (Buys und du Preez, 1980), konnte das Virus in den 1980er Jahren auch in England, Frankreich, den Niederlanden, Spanien, Ungarn, Italien, Israel und Deutschland nachgewiesen werden. Das ursprünglich im Jahr 1978 isolierte aMPV aus Südafrika war den englischen aMPV-Isolaten, die zwischen 1985 und 1990 in England isoliert wurden, antigenetisch ähnlicher als aMPV-Isolate aus Frankreich aus dem Jahr 1986 (Cook et al., 1993a). Die antigenetische Ähnlichkeit zwischen den aMPV-Isolaten aus Südafrika und England und die Tatsache, dass die Infektion zunächst in Südafrika und danach entlang der Hauptflugruten der Zugvögeln in Frankreich und an der Ostküste von England auftrat, lässt eine Beteiligung der Zugvögel bei der Erregereinschleppung nach Europa vermuten. Warum sich französische und englische aMPV-Isolate antigenetisch nicht so sehr ähneln wie englische und südafrikanische aMPV-Isolate ist möglicherweise darauf zurück zu führen, dass die untersuchten aMPV-Isolate unterschiedlich passagiert wurden. Es ist weiterhin möglich, dass die französischen und englischen aMPV-Isolate auf unterschiedlichen Routen und/ oder von unterschiedlichen Erregerquellen eingeschleppt wurden (Cook et al., 1993a).

Retrospektiv wurden die aMPV-Isolate aus Südafrika und die englischen Isolate bis 1994 dem Subtyp A zugeordnet (Juhasz und Easton, 1994; Naylor et al., 1997a). Ab 1994 konnte auch aMPV des Subtyps B in England nachgewiesen werden (Naylor et al., 1997a; Cavanagh et al., 1999). Auf dem europäischen Kontinent sind sowohl Subtyp A als auch Subtyp B verbreitet (Juhasz und Easton, 1994; Naylor et al., 1997a; Van de Zande et al., 1998; Hafez et al., 2000). Die aMPV Subtypen A und B sind mittlerweile mit Ausnahme von Nordamerika und Australien weltweit verbreitet. Sie konnten bisher in Osteuropa (Ganapathy et al., 2009), Afrika (Owoade et al., 2008; Ganapathy et al., 2009), Asien (Mase et al., 2003; Owoade et al., 2008; Ganapathy et al., 2009), Südamerika (D'Arce et al., 2005; Chacon et al., 2007; Chacon et al., 2009) und im mittleren Osten (Banet-Noach et al., 2005; Gharaibeh und Algharaibeh, 2007) nachgewiesen werden.

Aus zwei Putenfarmen mit TRT-Symptomatik in Frankreich, die aus epidemiologischer Sicht keinerlei Verbindung hatten, wurde im Jahr 1985 jeweils ein aMPV isoliert. Diese Isolate

wurden einem neuen Subtyp D zugeordnet (Bayon-Auboyer et al., 2000). Subtyp D aMPV konnte danach nicht noch einmal in Europa nachgewiesen werden.

Im Jahr 1996 konnte erstmals aus einem Putenbestand mit respiratorischer Symptomatik in Colorado aMPV isoliert werden (Kleven, 1997; Senne et al., 1997). Zunächst wurden weitere aMPV-Ausbrüche in Colorado durch Eradikationsmaßnahmen und nach Etablierung von Biosicherheitsmaßnahmen verhindert (Edson, 1997; Senne et al., 1997). Jedoch kam es schließlich auch in Minnesota, dem Staat mit der größten Putenpopulation Nordamerikas, im Jahr 1997 zu ersten TRT-Ausbrüchen (Goyal et al., 2000; Panigraphy et al., 2000). Die isolierten aMPV-Stämme wurden später einem eigenen Subtyp C zugeordnet (Panigraphy et al., 2000; Seal, 2000b). Heute tritt der aMPV-Subtyp C am häufigsten in Minnesota, bei einer durchschnittlichen Seroprävalenz von 36,3 %, auf (Goyal et al., 2003). Auch in der Putenpopulation der nordamerikanischen Bundesstaaten Iowa, Wisconsin, North,- und South Dakota kommt das aMPV vor (Chiang et al., 2000; Bennett et al., 2004).

Eine Reihe von Autoren hat sich damit beschäftigt, inwieweit Wildvögel als Reservoir für das aMPV und somit als Infektionsquelle für kommerzielle Geflügelhaltungen in Frage kommen. Das sporadische und plötzliche Auftreten der aMPV-Infektionen in Minnesota mit den dort lokalisierten großen Seen mit einer großen Zugvogelpopulation führte zu der Vermutung, dass Wildvögel bei der Erregereinschleppung eine große Rolle spielen (Shin et al., 2000b; Shin et al., 2001; Bennett et al., 2002). Shin et al. (2002a) konnten nachweisen, dass man aMPV aus aMPV-freien Stockenten isolieren kann, die in der Nähe einer mit aMPV infizierten und an TRT erkrankten Putenherde aufgestellt wurden. In Minnesota konnte auch bei anderen Wildvögeln (Haussperling, Möwen, Krickente, kanadische Gänse) eine aMPV-Infektion festgestellt werden (Bennett et al., 2002; Bennett et al., 2004). Auch außerhalb des Bundesstaates Minnesota konnten bei 5 Wildvogelspezies aus 4 Bundesstaaten (Georgia, South Carolina, Arkansas und Ohio) aMPV-Antikörper und aMPV-Subtyp C-Genom nachgewiesen werden (Turpin et al., 2008). Aus diesen vier Bundesstaaten gibt es bisher keine Berichte über aMPV-Erkrankungen beim Wirtschaftsgeflügel. Goyal et al. (2003) stellten fest, dass aMPV-Ausbrüche in Minnesota saisonal gehäuft im Frühling und Herbst auftreten, und dass die Seroprävalenz in Gebieten mit größerer Putenpopulation höher ist.

Außerhalb der USA konnte aMPV des Subtyps C aus Moschusenten in Frankreich (Toquin et al., 1999b) und aus Fasanen in Südkorea (Lee et al., 2007) isoliert werden. Innerhalb der

Subtyp C-Isolate unterscheiden sich die französischen Subtyp C-Isolate von den amerikanischen Subtyp C-Isolaten und bilden eine separate genetische Linie. (Toquin et al., 2006).

Über den aMPV-Status in der Wildvogelpopulation in Europa und anderen Kontinenten ist nur wenig bekannt. In Italien konnten in den Jahren 1992 und 1994 aMPV-Infektionen in frei lebenden Fasanen serologisch nachgewiesen werden (Catelli et al., 2001).

In Deutschland wurde erstmals 1987 über eine aMPV-Infektion bei Puten berichtet (Hafez, 1987). Hafez (1988) berichtete auch erstmals über das Auftreten des SHS in Broiler- und Mastelternierbeständen in Deutschland. Serologische Untersuchungen bei Mastelternierbeständen zeigten, dass in den Jahren 1988 bis 1991 70-87 % und im Jahr 1992 62 % der untersuchten Herden aMPV-Antikörper besaßen (Hafez, 1994).

Anhand einer serologischen Verlaufsuntersuchung bei gegen das aMPV ungeimpften Mastelternieren Anfang der 90er Jahre konnte bei 95 % der untersuchten Herden Antikörper gegen das aMPV festgestellt werden. Bei 70 % der positiven Herden konnte eine Reinfektion nachgewiesen werden. 50 % der serologisch positiven Herden zeigten typische SHS-Symptomatik. Zudem konnten negative Beeinflussung der Herdenleistungen (erhöhte Tierverlustrate, verminderte Legeleistung, verminderte Schlupfrate) bei den seropositiven Herden festgestellt werden (Wemmer, 1993).

Retrospektive Untersuchungen ergaben, dass die aus Puten gewonnenen aMPV-Isolate in den 1980er Jahren dem Subtyp A zugeordnet werden konnten. Ein Isolat aus Mastelternieren gehörte zum Subtyp B (Hafez et al., 2000). In den 1990er Jahren kamen ebenfalls die Subtypen A und B in Geflügelbeständen in Deutschland vor, wobei immer noch der Subtyp A der dominante aMPV Subtyp darstellt (Hess et al., 2000).

2.5.2 Übertragung

Innerhalb von Hühner- und Putenbeständen erfolgt die Übertragung des aMPV horizontal durch direkten Kontakt mit infizierten Tieren oder indirekt durch kontaminierte Gegenstände (Giraud et al., 1986b; Jones et al., 1987; Cook et al., 1991; Panigraphy et al., 2000; Alkhalaf et al., 2002b). Eine Übertragung über die Luft konnte in zwei Studien nachgewiesen (Shin et al., 2000b; Nagaraja et al., 2001) und in zwei Studien widerlegt werden (Cook et al., 1991; Alkhalaf et al., 2002b).

Eine vertikale Übertragung von infektiösen aMPV auf die Nachkommenschaft konnte bisher nicht nachgewiesen werden. Jedoch konnte in Folge einer aMPV-Infektion bei

Puteneltern-tierbeständen aus Minnesota von aMPV-Ausbrüchen bei 3-16 Tage alten Putenküken, die von diesen Puteneltern-tierherden stammten, berichtet werden. In der Brüterei konnten aus den Bruteiern und aus Choanentupfern der Eintagesputenküken der betroffenen Puteneltern-tierherde mittels RT-PCR RNA des aMPV nachgewiesen werden. Jedoch konnte aus keinen der untersuchten Proben aMPV isoliert werden (Shin et al., 2002b).

Es ist in mehreren Studien gelungen, aMPV-Antigen aus dem Reproduktionstrakt von Puteneltern-tieren und Legehennen nachzuweisen (Jones et al., 1988; O'Loan und Allan, 1990; Khehra und Jones, 1999a; Cook et al., 2000). Des weiteren ist bekannt, dass sich aMPV in embryonierten Hühner- und Puteneiern vermehren lässt (Buys und du Preez, 1980; Wyeth et al., 1986).

2.6 Wirtsspektrum

Infektionen mit dem aMPV kommen in verschiedenen domestizierten und wild lebenden Vogelspezies vor. Sehr empfänglich für das aMPV sind Puten. Die Empfänglichkeit des aMPV gegenüber Puten (Jones et al., 1986; Cook et al., 1993b; Majo et al., 1995; Alkhalaf et al., 2002b; Liman und Rautenschlein, 2007), Hühnern (Cook et al., 1993b; Majo et al., 1995; Majo et al., 1996; Cook et al., 2000) und Broilern (Shin et al., 2000a; Aung et al., 2008) wurde in zahlreichen Studien bewiesen. Ferner ließen sich bei Masteltern-tieren aMPV-Antikörper (Wyeth et al., 1986) und histopathologische Veränderungen vor allem in den Nasenmuscheln (Majo et al., 1995) nachweisen. Neben Puten und Hühnern können sich auch andere Vogelarten mit dem aMPV infizieren. Zu diesen Vogelarten gehören Fasanen (Gough et al., 1988a; Catelli et al., 2001; Gough et al., 2001; Lee et al., 2007), Enten (Toquin et al., 1999b; Shin et al., 2000b; Shin et al., 2001; Shin et al., 2002a; Turpin et al., 2003), Rebhühner (Picault et al., 1987b), kanadische Wildgänse und Blauflügelenten (Bennett et al., 2002).

AMPV-Antikörper konnten außerdem bei Perlhühnern (Gough et al., 1988a), Straußenvögel in Zimbabwe (Cadman et al., 1994) und Seemöwen aus dem Baltikum (Heffels-Redmann et al., 1998) nachgewiesen werden.

In den USA konnten aMPV-Subtyp C-Infektionen anhand von Genom- und Antikörpernachweisen in verschiedenen Wildvogelspezies nachgewiesen werden. Bei Gänsen, Sperlingen, Staren, Möwen und Blesshühnern (Shin et al., 2000b; Bennett et al., 2004; Turpin et al., 2008) konnte RNA des aMPV-Subtyp C detektiert werden. Antikörper gegen das aMPV kamen bei Krähen, Blesshühnern, Gänsen, Reihern und Möwen vor (Turpin et al., 2008).

2.7 Verlauf

Der Verlauf der Krankheit und die Mortalität bei TRT und SHS variieren sehr stark und sind von verschiedenen Faktoren abhängig. Neben Management, Stress, Luftumsatzrate und Besatzdichte hat vor allem die Art der bakteriellen Begleitinfektionen einen starken Einfluss auf den Krankheitsverlauf und auf die Mortalität (Morley und Thomson, 1984; Anon, 1985; Stuart, 1986).

In zahlreichen Experimenten wurden Wechselwirkungen zwischen aMPV-Infektionen und bakteriellen Infektionen untersucht. Dabei zeigte sich, dass eine aMPV-Infektion prädisponierend ist für verschiedene bakterielle Erreger.

Cook et al. (1991) konnten bei gemeinsamer Infektion von aMPV mit *Bordetella avium* (BA) und bei gemeinsamer Infektion von aMPV mit einem *Pasteurella*-ähnlichen Bakterium auch aus den inneren Organen oder dem Intestinaltrakt aMPV isolieren. Jirjis et al. (2004) konnten nachweisen, dass die klinischen Symptome stärker ausgeprägt sind, wenn einer aMPV-Infektion eine Infektion mit BA folgt.

Naylor et al. (1992) konnte bei Puten eine höhere Morbidität und eine stärkere Invasivität von *Mykoplasma gallisepticum* (Mg) bei Coinfektion mit aMPV im Vergleich zur Mg-Monoinfektionen nachweisen. Coinfektionen von *Mykoplasma imitans* (Mi) mit aMPV führen bei Puten im Vergleich zur Monoinfektion mit Mi zu einer signifikanten Verstärkung der klinischen Symptome und der pathologisch-anatomischen Läsionen (Ganapathy et al., 1998). Untersuchungen über Coinfektionen von aMPV und *Mykoplasma synoviae* (Ms) bei Puten führten zu keiner Verstärkung der klinischen Erscheinung, der makroskopischen und der mikroskopischen pathologisch-anatomischen Veränderungen im Vergleich zur aMPV-Monoinfektion (Khehra et al., 1999b).

Eine Coinfektion von *E.coli* und aMPV bei Puten erhöht die Morbidität und verstärkt die Ausprägung der makroskopischen Läsionen (Van de Zande et al., 2001; Turpin et al., 2002).

Eine Mischinfektion von aMPV und ORT bei Puten führt zu klinischen Symptomen, zu einem längeren persistieren von ORT im Respirationstrakt und zu stärkeren makroskopisch und mikroskopisch sichtbaren Gewebsläsionen im Vergleich zur Monoinfektion (Marien et al., 2005).

Infolge von Felduntersuchungen in belgischen und französischen Putenfarmen wurde festgestellt, dass es einen Zusammenhang zwischen *Chlamydia psittaci*-, aMPV- und ORT-Infektion gibt (Van Loock et al., 2005).

Majo et al. (1997) stellte bei Hühnern fest, dass eine Dualinfektion von aMPV und *E. coli* im Vergleich zur Monoinfektion zu einer stärkeren Ausprägung der klinischen Symptome sowie der makroskopischen und mikroskopischen Läsionen führte. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen Al-Ankari et al. (2001) bei Infektionsversuchen mit Broilerküken.

Auch die Virulenz verschiedener aMPV-Isolate kann einen Einfluss auf den Krankheitsverlauf haben. Van de Zande et al. (1999) zeigten, dass ihr verwendetes Subtyp A-Isolat im Vergleich zu ihrem verwendeten Subtyp B-Isolat auch in den Lungen nachweisbar war und doppelt so viele Epithelzellen infizieren konnte wie das Subtyp B Isolat. Aung et al. (2008) stellten hingegen fest, dass ihr verwendetes Subtyp B-Isolat bei Broilern stärker invasiv war und ausgeprägtere klinische Symptome hervorrief als ihr in dieser Studie verwendetes Subtyp A-Isolat. Vergleiche zwischen aMPV-Subtyp C-Isolaten in den USA zeigten, dass ein Isolat aus den frühen aMPV-Ausbrüchen in Minnesota (1997) weniger virulent war als ein Isolat, das sechs Jahre später (2003) aus aMPV-Ausbrüchen isoliert wurden war (Velayudhan et al., 2005; Velayudhan et al., 2007).

2.7.1 Puten

Puten eines jeden Alters können sich mit aMPV infizieren. Die Inkubationszeit beträgt 3 bis 7 Tage (Jones et al., 1986). Kommt es zu keiner Komplikation, beträgt die Krankheitsdauer 7-14 Tage. Die Morbidität kann bis zu 100 % innerhalb von 12 bis 24 h betragen. Die Mortalität schwankt zwischen 3 % und 40 % (Anon, 1985). Sekundäre bakterielle Begleitinfektionen können die Morbidität erhöhen, die klinischen Symptome und die anatomisch-histologischen Veränderungen verschlimmern (Cook et al., 1991; Naylor et al., 1992; Ganapathy et al., 1998; Van de Zande et al., 2001; Jirjis et al., 2004; Marien et al., 2005).

2.7.2 Hühner

Broiler jeden Alters sind empfänglich. Das SHS wird jedoch am häufigsten zwischen der 4. und 6. Lebenswoche beobachtet (Morley und Thomson, 1984). In der Regel liegt die Krankheitsdauer bei 7-14 Tagen. Wie bei den Puten ist die Mortalitätsrate stark abhängig von weiteren Faktoren (multifaktorielles Geschehen). Die Morbiditätsrate kann bis zu 60 % betragen. Die Mortalität schwankt zwischen 1 und 5 %, kann jedoch im ungünstigsten Fall 20 bis 30% erreichen (Diaz de Espada und Perona, 1984). Coinfektion mit *E.coli* vertärkt das Krankheitsbild (Al-Ankari et al., 2001).

Bei **Mastelertieren** tritt die Krankheit meist in der Produktionsphase auf, wobei Tiere zwischen Legebeginn und Legespitze (30. Woche) am empfänglichsten sind. Die Krankheitsdauer kann sich bis zu 3 Wochen erstrecken. Die Morbiditätsrate liegt bei 8 bis 10 %. Die Mortalität lag bei unkomplizierten Fällen zwischen 1 bis 3 % (Morley und Thomson, 1984; O'Brien, 1985; Arns und Hafez, 1992).

2.8 Klinische Erscheinungen

2.8.1 Rhinotracheitis der Puten

Bei zahlreichen Experimenten, bei denen Puten mit virulenten aMPV infiziert wurden, konnten akute respiratorische klinische Erscheinungen wie Atemgeräusche, Niesen und Kopfschütteln, vermehrter Augen- und Nasenausfluss und Sinusitis beobachtet werden. Zu Beginn der Infektion zeigten die Tiere meist wässriges Augensekret und serösen Nasenausfluss, der bei Fortschreiten der Infektion eingedickter, trüber und schaumig werden kann. Es können sich Schwellungen der infraorbitalen Sinuse bilden. Die Schwellung der Sinuse sind bei experimentellen aMPV-Infektionen nur selten erkennbar (Jones et al., 1986; Jones et al., 1988; Cook et al., 1996; Van de Zande et al., 1998; Van de Zande et al., 1999; Jirjis et al., 2000; Jirjis et al., 2002a; Velayudhan et al., 2005; Liman und Rautenschlein, 2007).

Bei Legeputen sind die respiratorischen Symptome nicht so stark ausgeprägt. Infektionen führen jedoch zu einem Rückgang der Legeleistung sowie einer abnormalen Eischalenbildung die die Bildung dünnschaliger, deformierter oder unpigmentierter Eier zur Folge hat (Jones et al., 1988; Hafez, 1994; Cook et al., 1996). Im Feld kann der Legeleistungsrückgang bis zu 40 % betragen, wobei sich die Legeleistung erst wieder drei bis fünf Wochen nach durchlaufender Infektion normalisiert (Anon, 1985; Stuart, 1986).

Aufgrund sekundärer Begleitflora und anderen die Krankheitsausprägung unterstützenden Co-Faktoren sind die respiratorischen Symptome unter Feldbedingungen meist stärker ausgeprägt. Mortalitätsraten können unter 1 %, aber im Einzelfall bei über 10 % liegen (Van de Zande et al., 1998; Jirjis et al., 2000). Bei empfänglichen jungen Puten können sogar Mortalitätsraten von bis zu 50% erreicht werden (Gough et al., 1988b).

2.8.2 Swollen Head Syndrom (SHS)

Experimentell mit aMPV über den Respirationstrakt infizierte Hühner zeigen ähnliche respiratorische Symptomatik wie die Puten. Die Morbidität ist dabei aber niedriger im Vergleich

zu experimentell infizierten Puten. Als klinische Erscheinungen sind allgemeine Depression, Niesen, Husten, Schnabelatmung, Nasenausfluss, wässrige Augen, Schwellung der infraorbitalen Sinuse und Durchfall beschrieben (Jones et al., 1987; Cook et al., 1993b; Majo et al., 1995; Catelli et al., 1998; Khehra und Jones, 1999a; Shin et al., 2000a; Sugiyama et al., 2006; Aung et al., 2008). In zahlreichen Experimenten war es nicht möglich, durch aMPV-Inokulation von aMPV-Isolaten aus erkrankten Puten (Gough et al., 1988a; Heckert et al., 1994; Majo et al., 1995; Cook et al., 1999) oder durch aMPV-Inokulation von aMPV-Isolaten aus erkrankten Hühnern (Maharaj et al., 1994) über den Respirationstrakt Krankheitssymptome bei Hühnern auszulösen.

Bei Legehennen konnte nach intravenöser Infektion mit aMPV ein Rückgang der Legeleistung und Veränderungen der Eischalenqualität beobachtet werden (Cook et al., 2000; Sugiyama et al., 2006).

Bei aMPV-Ausbrüchen in **Broiler**farmen im Feld sind die klinischen Erscheinungen stärker ausgeprägt. Zusätzlich zu den oben genannten klinischen Erscheinungen entwickeln sich Konjunktivitis sowie ein Unterhautödem, das ein- oder beidseitig um die Augen beginnt und sich dann über den Kopf in den Bereich des Unterkiefers ausbreiten kann. Vereinzelt können auch Tortikollis oder Opisthotonus auftreten (Morley und Thomson, 1984; Picault et al., 1987a; Pattison et al., 1989; Buys et al., 1989b; Hafez und Löhren, 1990a; Gough et al., 1994; Tanaka et al., 1995).

Bei **Mastelertieren** geht eine Infektion mit dem aMPV meist zunächst mit einem leichten Anstieg der Tierverluste und einer geringeren Futteraufnahme einher.

Die ersten klinischen Anzeichen sind Apathie, Niesen, Atemgeräusche und Konjunktivitis mit vermehrtem Tränenfluss. Im weiteren Verlauf können ZNS-Störungen wie Tortikollis, Opisthotonus, Zwangsbewegungen und Festliegen vorkommen (Prous, 1984; Goren, 1985; O'Brien, 1985; Perelman et al., 1988; Pattison et al., 1989; Hafez und Löhren, 1990a; Maharaj et al., 1994). Vereinzelt konnte auch Diarrhoe beobachtet werden (Pattison et al., 1989).

Die klinischen Erscheinungen gehen meist mit einer verringerten Legeleistung zwischen 1 bis 10 % über zwei bis drei Wochen einher (O'Brien, 1985; Wyeth et al., 1987; Hafez und Löhren, 1990a; Arns und Hafez, 1992; Wemmer, 1993). Decanini et al. (1991) berichteten von Legeleistungsrückgängen bis zu 31 %.

Durch erhöhte embryonale Sterblichkeit (3 bis 10 %) konnte eine verringerte Schlupfrate festgestellt werden (Prous, 1984; O'Brien, 1985; Wyeth et al., 1987; Wemmer, 1993). Andere

Autoren konnten keinen Zusammenhang zwischen einer aMPV-Infektion und einem Rückgang der Befruchtungs- bzw. Schlupfrate feststellen (Perelman et al., 1988; Hafez und Löhren, 1990a). In manchen Herden war ein Legeleistungsabfall das einzige Krankheitsanzeichen (Morley und Thomson, 1984).

Bei Verlaufsuntersuchungen konnten in Herden bis zu zwei Reinfektionen nachgewiesen werden (Prous, 1984; Wemmer, 1993).

Legehennen zeigen vergleichbare klinische Symptome wie die Mastelertiere. Die Morbidität kann bis zu 8 % betragen. Die Mortalitätsrate schwankt zwischen null bis 2 %. Die klinischen Symptome sind begleitet von einem Abfall der Legeleistung (2 bis 4 %) und in manchen Fällen von verminderter Eischalenqualität (Arns und Hafez, 1992).

2.9 Pathologisch-anatomische Veränderungen

2.9.1 Rhinotracheitis der Puten

Bei experimentell infizierten Puten konnten Rötungen des respiratorischen Epithels und Ablagerungen serösen bis mukopurulenten Exsudats im Lumen des oberen Respirationstraktes beobachtet werden (Jones et al., 1988; Van de Zande et al., 1999; Jirjis et al., 2002a).

Unter Feldbedingungen zeigten an TRT-verendete Puten mehr oder weniger stark ausgeprägte Rhinitis, Tracheitis und Sinusitis (Anon, 1985).

Bei Legeputen konnten verschiedenste Läsionen im Reproduktionstrakt, wie beispielsweise Eierstock- und Eileiterrückbildung oder weißliche, eingedickte Albumineinlagerungen im Eileiter beobachtet werden. Zudem traten bei Legeputen Eileiterbauchfellentzündungen auf (Jones et al., 1988).

Unter Beteiligung von bakteriellen Sekundärinfektionen wurden oft bei der Zerlegung der Tiere geschwollene Sinuse, Perikarditis, Perihepatitis, Peritonitis, Aerosacculitis und Pneumonie festgestellt (Van de Zande et al., 1998; Jirjis et al., 2000). Hafez (1994) beobachtete zusätzlich in mehreren Fällen eine Ansammlung eitrigem Exsudates in der Unterhaut des Submandibularbereiches.

2.9.2 Swollen Head Syndrom (SHS)

Infolge experimenteller aMPV-Infektion von Broilern konnte p.m. bei der Zerlegung der Tiere bis auf eine Schwellung des periorbitalen Sinus keine weiteren Befunde erhoben werden

(Aung et al., 2008). Bei experimentell infizierten Legehennen (i.v.) traten vermehrt Eileiterbauchfellentzündungen („egg peritonitis“) auf (Cook et al., 2000).

Unter Feldbedingungen ergeben sich in der pathologisch-anatomischen Untersuchung hochgradige Veränderungen im Kopfbereich mit ödematösen, blutig-käsigen, eitrigen, teils fibrinösen Massen in der Subkutis. Außerdem wurden Rhinitis, Tracheitis und Sinusitis beobachtet. Unter Beteiligung von bakteriellen Sekundärinfektionen können Aerosacculitis und Perikarditis auftreten (Morley und Thomson, 1984; Goren, 1985; Perelman et al., 1988; Peleteiro, 1991).

Bei Tieren mit ZNS-Störungen konnte in den meisten Fällen eine Mittelohrentzündung mit Eiteransammlungen festgestellt werden (Peleteiro, 1991).

Zusätzlich wurden besonders häufig bei Legehennen und Mastelertieren Entzündungen des Ovars, Eileiters und des Peritoneums festgestellt (Perelman et al., 1988; Pattison et al., 1989; Peleteiro, 1991; Arns und Hafez, 1992).

2.10 Histopathologische Veränderungen

2.10.1 Rhinotracheitis der Puten

In mehreren Experimenten wurden die histopathologischen Veränderungen bei Puten nach Inokulation mit aMPV über den Respirationstrakt erforscht. Erste Veränderungen traten dabei 2 Tage p.i. auf. Zunächst kommt es zu einer Infiltration von Entzündungszellen (Lymphozyten, Makrophagen, Heterophile) in der Mukosa und Submukosa der Schleimhaut der Nasenmuschel und der Nasennebenhöhlen. Im weiteren Verlauf kommt es zu einer massiven Schleimbildung in den Nasenhöhlen und der Trachea (Jones et al., 1986; Van de Zande et al., 1999; Jirjis et al., 2000; Jirjis et al., 2002a). Zusätzlich berichten verschiedene Autoren über den Verlust der Zilien im respiratorischen Epithel der Nasenmuschel, Nasennebenhöhlen und der Trachea (Jones et al., 1986; Majo et al., 1995; Van de Zande et al., 1999; Panigraphy et al., 2000; Jirjis et al., 2004; Velayudhan et al., 2005).

Chary et al. (2002b) konnten eine Hyperplasie der lymphoiden Zellen in der Harderschen Drüse 3 und 5 Tage p.i. nachweisen.

Majo et al. (1995) konnten bei Puten auch in der Lunge Läsionen der Mukosa und der Submukosa der Bronchen mit heterophiler Infiltration der Submukosa erkennen.

Die Gewebsläsionen sind in der Regel zwischen 14 und 21 Tagen p.i. ausgeheilt.

Bei einer natürlichen TRT-Feldinfektion konnten neben Tracheitis mit Zilienverlusten und lymphozytärer Infiltration zusätzlich eine interstitielle Pneumonie festgestellt werden (Pollan, 1990).

2.10.2 Swollen Head Syndrom

Bei einem Versuch von Catelli et al. (1998) wurden SPF- (3 und 24 Tage alt) und kommerzielle Hühnerküken (ein Tag alt) okulonasal mit einem aMPV-Isolat des Subtyps B infiziert. Dabei wurden die stärksten histopathologischen Veränderungen in den Nasenmuscheln nachgewiesen. Die Tiere zeigten 2 Tage p.i. mononukleäre Zellinfiltrationen und Ödeme in der Lamina propria des Zilienepithels der Nasenmuscheln. Nach vier Tagen lösten sich Epithelzellen ab. Die Schleimhaut der Trachea verdickte sich infolge von Ödembildung und aufgrund mononukleärer Zellinfiltration in der Lamina propria 4 und 5 Tage p.i.. Dies war verbunden mit einer Abflachung der Epithelzellen und einem fokalen Zilienverlust. Auch in den Nasennebenhöhlen wurden ab Tag 4 p.i. Veränderungen im Epithel festgestellt. Neben fokalen Zilienverlust konnten mononukleare Zellinfiltration im Epithel entdeckt werden. 18 Tage p.i. waren Gewebsläsionen nicht mehr sichtbar.

Ähnliche Veränderungen in den Nasenmuscheln und der Trachea konnten auch bei experimentell infizierten Broilern beobachtet werden (Aung et al., 2008). Zusätzlich wurden mononukleare Entzündungszellen und fokale Ansammlungen lymphoider Zellen in der Submukosa der Sekundärbronchien festgestellt. Infiltrationen von Lymphozyten und die fokale Ansammlung lymphoider Zellen lagen auch in dem interstitiellen Gewebe der Haderschen Drüse und der Tränendrüsen vor. Histopathologische Veränderungen der Bronchien wurden auch durch Majo et al. (1995) nach okulonasaler und intratrachealer Applikation von aMPV bei drei Wochen alten Legehennen beobachtet.

Cook et al. (2000) konnten nach intravenöser aMPV-Inokulation bei 49 Wochen alten Legehennen Veränderungen im Eileiter feststellen. Das Eileiterepithel war beschädigt oder nicht mehr vorhanden.

Bei SHS-Ausbrüchen im Feld konnte Zellulitis, Periostitis und eine purulente Entzündung der Schädelknochen festgestellt werden. In manchen Fällen waren auch eine Otitis externa, eine Otitis interna und Meningitis vorhanden (Pattison et al., 1989).

2.11 Immunologie

Serumantikörper gegen das aMPV konnten bei experimentell infizierten Tieren schon ab dem 6. bis 10. Tag p.i. nachgewiesen werden (Jones et al., 1988; Majo et al., 1995; Jirjis et al., 2000; Panigraphy et al., 2000; Jirjis et al., 2002a; Aung et al., 2008). Der Nachweis virusneutralisierender Antikörper im Blut gelingt meist 1 bis 2 Tage früher als der Nachweis aMPV-spezifischer IgG-Antikörper mittels ELISA (Jones et al., 1988; Liman und Rautenschlein, 2007).

Nach Angaben von Jones et al. (1988) persistieren zirkulierende Serumantikörper nach einmaliger Infektion seronegativer, adulter Puten bis zu 89 Tage p.i. (Ende des Experiments).

Liman und Rautenschlein (2007) konnten bei experimentell infizierten Puten, Aung et al. (2006) bei experimentell infizierten Broilern, virusneutralisierende Antikörper gegen das aMPV aus Trachealwaschungen nachweisen. Bei beiden Experimenten wurden die Tiere entweder mit einem virulenten aMPV-Stamm (Subtyp A, BUT 8544) oder mit einem virulenten aMPV-Stamm (italienischer Subtyp B) infiziert. Liman und Rautenschlein (2007) infizierten zusätzlich eine Gruppe von Puten mit einem attenuierten aMPV-Stamm (Subtyp B, VCO3). Khehra (1998) hatte zuvor, neben neutralisierenden Antikörpern auch aMPV-spezifische IgG- und IgA-Antikörper in der Tränenflüssigkeit und aus Trachealspülungen von experimentell infizierten SPF-Hühnern festgestellt. Er verwendete in seinem Experiment einen virulenten aMPV-Stamm (Subtyp A, BUT 8544). IgA konnte auch aus der Tränenflüssigkeit, dem Nasensekret und der Gallenflüssigkeit bei mit aMPV infizierten Tieren nachgewiesen werden (Ganapathy et al., 2005; Cha et al., 2007).

Untersuchungen zeigten, dass die Höhe der Antikörpertiter der Mast- und Putenelterntiere direkt mit dem ihrer Nachkommen korreliert. Die Halbwertszeit der Antikörper beträgt bei Hühnern 5,6 Tage und bei Puten 6,5 Tage. Nach 3 bis 4 Wochen sanken die Antikörpertiter bei den Nachkommen in den negativen Bereich (Hafez, 1993; Pollan und Anrather, 1993).

Antikörper gegen das aMPV konnten in Seren von Elterntier-, Broiler- und Legehennenherden festgestellt werden. Die Herden zeigten zum Teil aMPV-spezifische Krankheitssymptome, zum Teil aber auch nicht (Picault et al., 1987a; Picault et al., 1987b; Cook et al., 1988; Pattison et al., 1989; Hafez und Löhren, 1990a; Wemmer, 1993).

Es konnte bisher nicht bewiesen werden, dass maternale Antikörper bei Hühnern und Puten gegen eine aMPV Infektion schützen können (Le Gros et al., 1988; Williams et al., 1991b; Naylor et al., 1997b; Catelli et al., 1998; Rubbenstroth und Rautenschlein, 2009).

Cook et al. (1989b) konnten in einem Versuch zeigen, dass Jungputen mit maternalen Antikörpern durch eine Impfung mit einem lebend attenuierten Impfstamm am 1. oder 7. Lebenstag genauso gut geschützt sind wie geimpfte Jungputen ohne maternale Antikörper.

Die humorale Immunität scheint für den Schutz der Tiere gegen eine aMPV-Infektion nicht allein verantwortlich zu sein. Dies zeigen Untersuchungen von Jones et al. (1992) mit Cyclophosphamid-B-Zell-immunsupprimierten Puten. Diese Tiere waren ebenso geschützt durch eine aMPV-Impfung nach aMPV-Challenge wie die unbehandelte Kontrollgruppe. Rubbenstroth und Rautenschlein (2009) demonstrierten, dass Puten, denen intravenös aMPV-spezifische Antikörper appliziert wurden, nicht nach aMPV-Challenge geschützt waren.

Es wird vermutet, dass die zell-vermittelte Immunität eine entscheidende Rolle im Schutz gegen eine aMPV Infektion spielt. Es liegen jedoch kaum Untersuchungen diesbezüglich vor. Bisher wurde von mehreren Autoren das Vorkommen mononuklearer Zellen in der Mukosa des respiratorischen Epithels während der akuten Phase der Infektion in der histopathologischen Untersuchung nachgewiesen (siehe 2.11.1 und 2.11.2). Liman und Rautenschlein (2007) konnten zudem nachweisen, dass es ein oder zwei Wochen nach einer aMPV-Inokulation zu einem Anstieg von CD4-positiven T-Lymphozyten in der Haderschen Drüse bei Puten kommt. Zusätzlich wurde nach einem Challenge eine erhöhte Menge von Interferon-Gamma (IFN- γ) messenger RNA (mRNA) in den aus der Haderschen Drüse isolierten Leukozyten festgestellt. Da IFN- γ von aktivierten T-Lymphozyten produziert wird, sind diese Nachweise ein Hinweis für das Vorkommen dieser Zellen in der Haderschen Drüse nach einer aMPV-Infektion.

Nach Angaben von Timms et al. (1986) führt eine aMPV-Infektion zu einer Immunsuppression. Sie konnten bei erkrankten Tieren aus Feldausbrüchen nachweisen, dass das Thymusgewicht kleiner war und die lokale Reaktion nach intradermaler wing web Phytohämagglutinin-Applikation nicht so stark ausfiel im Vergleich zur aMPV-freien, klinisch gesunden Kontrollgruppe.

Experimentelle Studien aus den USA konnten ebenfalls einen immunsupprimierenden Effekt als Folge einer aMPV-Subtyp C-Infektion feststellen (Turpin et al., 2002; Chary et al., 2002a; Chary et al., 2002b). Die Immunsupprimierung konnte bei der zellulären Immunität nachgewiesen werden. Splenozyten, die in der akuten Phase der Infektion entnommen wurden (3, 5 und 7 Tage p.i.), proliferierten langsamer nachdem sie mit dem Mutagen Concanavalin A (Con A) versetzt wurden als Splenozyten aus der aMPV-freien Kontrollgruppe (Chary et al., 2002b). In diesem Experiment konnte auch gezeigt werden, dass die humorale Immunität

infolge einer aMPV-Infektion nicht beeinflusst war. Die Antikörpertiter gegen *Brucella abortus* und gegen Tetanustoxoid waren in der aMPV-infizierten Gruppe nicht signifikant niedriger als in der aMPV-freien Kontrollgruppe.

2.12 Diagnose

2.12.1 Direkter Nachweis

Virusisolierung

Die erfolgreiche Virusisolierung von aMPV aus klinisch erkrankten Tieren im Feld ist sehr schwierig. Der Grund dafür ist, dass das Virus nur für eine sehr kurze Zeit nach der Infektion im Tier persistiert (Cook, 2000a). Bei experimentellen Infektionen konnte das Virus nicht länger als 5 bis 7 Tage p.i. reisoliert werden bevor überhaupt erste klinische Erscheinungen erkennbar waren (Van de Zande et al., 1999; Pedersen et al., 2001). Wenn man aus einem aMPV-Feldausbruch Virus isolieren will, so sollte man bei dem Auftreten der ersten Symptome nicht nur Proben von klinisch kranken Tieren, sondern auch von klinisch gesunden Kontakttieren nehmen (Cook, 2000a). Für die Virusisolierung sind Tupfer- oder Gewebeproben aus der Trachea, den Nasenmuscheln oder den Nasennebenhöhlen am besten geeignet (Van de Zande et al., 1999; Pedersen et al., 2001).

Die am häufigsten verwendeten Systeme zur aMPV-Virusisolierung sind die Isolierung in embryonierten Hühner- oder Puteneiern oder in Trachealringkulturen. Bei der Virusisolierung im embryonierten Hühnerei erfolgt die Beimpfung der SPF-Bruteier am 6. bzw. 7. Tag in den Dottersack. Acht Tage später werden Allantoisflüssigkeit und Dottersackmembran geerntet, homogenisiert und passagiert. Nach zwei bis drei Passagen können Hämorrhagien auf dem Embryo, Minderwuchs der Embryonen und eine niedrige Mortalitätsrate beobachtet werden (Wyeth et al., 1986; Wyeth und Alexander, 1989; Buys et al., 1989a; Cook et al., 1999). Sechs bis 10 Tage nach der Beimpfung von Trachealringkulturen mit aMPV-Isolaten des Subtyps A oder B ist eine Ziliostase erkennbar. Diese kann durch viermaliges Passagieren verstärkt werden. Die höchsten Virustiter werden zwischen Tag 3 und Tag 5 p.i. erreicht (Cook et al., 1991). Daher sollten Feldproben mehrere Passagen im Intervall von 3 bis 4 Tagen durchlaufen. Die Ziliaraktivität sollte bis 10 Tage p.i. kontrolliert werden (Cook, 2000a). Der Vorteil der Trachealringkultur gegenüber anderen Zellkulturen ist die Vermeidung antigener Veränderung des isolierten Virus und damit der Erhalt dessen Pathogenität selbst nach 25 bis 100 Passagen (Baxter-Jones und Jones, 1989; Williams et al., 1991a; Williams et al., 1991b). Der Nachteil der

Trachealringkultur gegenüber anderen Zellkulturen besteht darin, dass Isolate des aMPV-Subtyp-C keine Ziliostase zeigen und somit in diesem System anhand der Ziliaraktivität nicht als aMPV erkannt werden können (Cook et al., 1999). Deshalb sollte eine primäre Virusisolierung im Feld im embryonierten Hühnerei und, wenn möglich, zeitgleich in der Trachealringkultur erfolgen (Cook, 2000a).

Die primäre Virusisolierung gelang auch in VERO-Zellkulturen (Giraud et al., 1986a; Buys et al., 1989a), Chicken Embryo Fibroblasts (CEF-Zellkulturen) (Jirjis et al., 2000; Panigraphy et al., 2000), Fibrosarkom-Zelllinie der japanischen Wachtel (QT-35-Zelllinie) (Chiang et al., 1998; Goyal et al., 2000) und in Chicken Embryo Rough (CER-Zelllinien) (Hafez und Weiland, 1990b). CEF-Zellkulturen und VERO-Zellkulturen werden häufig genutzt, um eine Attenuierung von aMPV-Isolaten für diagnostische Zwecke oder zur Herstellung attenuierter Lebendvakzine zu erreichen (Cook et al., 1989a; Buys et al., 1989b; Cook et al., 1989b; Williams et al., 1991a; Williams et al., 1991b; Gulati et al., 2001a; Patnayak et al., 2002; Patnayak und Goyal, 2004a; Patnayak und Goyal, 2004b).

Antigennachweis

Der direkte Antigennachweis aus infizierten Zellmaterial, Zell- oder Organkulturen kann mittels eines direkten Immunfluoreszenstestes (IF) erfolgen (Jones et al., 1986; Jones et al., 1988; Majo et al., 1995; Majo et al., 1996; Jirjis et al., 2002b). Eine weitere Möglichkeit des direkten Erregernachweises aus infiziertem Gewebe ist der Immunperoxidasetest (IP) (O'Loan und Allan, 1990; Majo et al., 1995; Catelli et al., 1998). Beide Techniken besitzen eine ähnliche Sensitivität (Majo et al., 1995). Ein weiteres Verfahren mit welchem aMPV-Antigen detektiert werden konnte, ist das „Immunogold Staining“-Verfahren (O'Loan et al., 1992).

Molekularbiologischer Nachweis

Um aMPV-spezifische RNA unterschiedlicher aMPV Subtypen aus Probenmaterial zu detektieren, sind verschiedene RT-PCR-Testverfahren etabliert worden (siehe Tabelle 4). Die PCR-Untersuchung ist ein sensitiveres (Shin et al., 2000c; Pedersen et al., 2001) bzw. ähnlich sensitives (Catelli et al., 2004) Nachweisverfahren im Vergleich zur Virusisolation. Nach experimenteller Infektion konnte virale RNA ab dem 1. Tag p.i. bis zum 19. Tag p.i. nachgewiesen werden (Jing et al., 1993; Shin et al., 2000a; Pedersen et al., 2001; Liman und Rautenschlein, 2007; Aung et al., 2008). Die PCR-Untersuchung führt sehr viel schneller zu

einem Ergebnis als die Virusisolation und erlaubt die Untersuchung einer großen Anzahl von Proben (Cavanagh et al., 1997; Cavanagh et al., 1999).

Zum Nachweis von aMPV-spezifischer RNA haben sich insbesondere Tracheal- und Oraltupfer bewährt. Eine Trocknung der Tupferproben führt zu keiner Reduktion der Nachweisrate in der PCR-Untersuchung (Jing et al., 1993). Getrocknete Tupferproben haben den Vorteil, dass sich Mikroben (Bakterien, Pilze) nicht so gut auf dem Tupfer vermehren können. Ein vermehrtes Mikrobewachstum kann zu einer Zerstörung der viralen Nukleinsäure führen (Cavanagh et al., 1997).

Hinsichtlich der Spezifität der PCR-Untersuchung ist darauf zu achten, dass bestimmte Testverfahren auch nur bestimmte aMPV-Subtypen detektieren können (Bayon-Auboyer et al., 1999).

Ali und Reynolds (2000) entwickelten eine Multiplex-RT-PCR, die das Newcastle-Disease-Virus und den aMPV-Subtyp C (Colorado-Isolat) detektieren kann. Eine andere Multiplex-RT-PCR ermöglicht die zeitgleiche Untersuchung auf das Vorkommen von RNA des aMPV, des Newcastle-Disease-Virus und des aviären Influenza-Virus (Malik et al., 2004).

Velayudhan et al. (2005) etablierten eine Real-Time-quantitative (RTQ)-RT-PCR zum Nachweis von RNA des aMPV-Subtyp-C. Eine andere RTQ-RT-PCR, die gleichzeitig den Nachweis der aMPV Subtypen A-D erlaubt, wurde von Guionie et al. (2007) entwickelt.

Tab.4 Entwickelte RT-PCR-Untersuchungsverfahren zum Nachweis von aMPV spezifischer RNA

aMPV-Subtypen-Spezifität	Testverfahren	Primer basierend auf Nukleotidsequenz des	(Autor, Jahr)
A-D	RT-PCR	N-Gen	(Bayon-Auboyer et al., 1999; Toquin et al., 1999b; Cook und Cavanagh, 2002)
A,B	RT-PCR und Restriktionsanalyse	G-Gen	(Juhasz und Easton, 1994)
	RT-PCR	G-Gen	(Bayon-Auboyer et al., 1999)
	Nested-RT-PCR	G-Gen	(Naylor et al., 1997a)
	Nested-RT-PCR	G-Gen	(Cavanagh et al., 1999)

Fortsetzung Tab. 4

aMPV-Subtypen-Spezifität	Testverfahren	Primer basierend auf Nukleotidsequenz des	(Autor, Jahr)
C (Frankreich)	RT-PCR	N-Gen	(Toquin et al., 1999b)
C (Colorado)	RT-PCR	M-Gen	(Ali und Reynolds, 1999)
C (USA)	RT-PCR	M-Gen	(Pedersen et al., 2000)
	RT-PCR	M-Gen	(Shin et al., 2000c)
	RT-PCR	F-Gen	(Dar et al., 2001b)
A	Semi-nested RT-PCR	F-Gen	(Jing et al., 1993)
	RT-PCR	F-Gen	(Mase et al., 1996)
D	RT-PCR	G-Gen	(Bayon-Auboyer et al., 2000)

2.12.2 Indirekter Nachweis

Der Nachweis aMPV-spezifischer Antikörper gelingt mit ELISA-, Serumneutralisations- (SNT), und indirekten Immunofluoreszenstests (IIFT) aus Seren oder Sekreten.

Der Serumneutralisationstest zum Nachweis virusneutralisierender aMPV-Antikörper bei Hühner und Puten wurde von mehreren Autoren beschrieben (Giraud et al., 1986a; Cook et al., 1988; Baxter-Jones et al., 1989). Der Test kann auf TOC (Cook et al., 1988), auf Hühnerembryofibroblastenzellen und Hühnerleberzellen (Baxter-Jones et al., 1989), oder auf VERO-Zellen (Giraud et al., 1986a) durchgeführt werden. Durch Einführung eines indirekten Immunperoxidasetests in den SNT konnte die Spezifität des Verfahrens erhöht und die Testdauer verkürzt werden (O'Loan et al., 1989). Ein Vorteil des SNT ist, dass er für alle Vogelspezies verwendet werden kann.

Baxter-Jones et al. (1986) beschrieben erstmals einen indirekten Immunofluoreszenstest zum Nachweis von Antikörpern (IgG) gegen das aMPV. O'Loan et al. (1990) konnten bei vergleichenden, serologischen Untersuchungen von Hühner- und Putenfeldproben aus Irland

und England eine höhere Sensitivität des IIFT im Vergleich zum dort verwendeten ELISA feststellen.

SNT und IIFT sind sehr arbeits- und zeitaufwendig. Sie werden kaum für Felduntersuchungen mit großem Probenaufkommen verwendet.

Aufgrund der Möglichkeit der Untersuchung einer großen Anzahl von Proben in einer kurzen Zeit ist die ELISA-Untersuchung als Labordiagnostikum in der Praxis weit verbreitet. Neben „inhouse“-Methoden sind mehrere kommerzielle ELISA-Testkits zur Untersuchung von aMPV-spezifischen Antikörpern (IgG) auf dem Markt. Dabei ist der FlockChek®APV-ELISA der Firma IDEXX, Ludwigsburg, derzeit entsprechend § 17cTierSG in Deutschland zugelassen (Stand 01.10.2010). Hierbei ist zu beachten, dass innerhalb der ELISA-Testkits erhebliche Unterschiede hinsichtlich der Subtyp-Spezifität (Cook et al., 1999) und der Subtyp-spezifischen Sensitivität (Mekkes und de Wit, 1998) beschrieben worden. So konnten Antikörper gegen den aMPV-Subtyp C nicht mit einem ELISA Testkit, dessen Antigen auf Isolaten der Subtypen A und B basierte, nachgewiesen werden (Cook et al., 1999). Mekkes und de Witt (1998) verglichen drei kommerziell erhältliche aMPV-ELISA-Kits. Dabei wurde nachgewiesen, dass alle drei Testkits eine Spezifität von 100 % aufwiesen. Jedoch unterschieden sich die Testkits hinsichtlich ihrer Sensitivität sowohl infolge experimenteller Impfversuche als auch bei der Untersuchung von Serumproben von Putenherden.

Diese Studie bestätigte Untersuchungen von Eterradossi et al. (1995). Sie verglichen einen „inhouse“-ELISA, einen kommerziellen ELISA und den Serumneutralisationstest ob ihrer Fähigkeit, aMPV-spezifische Antikörper nach einer Vakzination und/oder Challenge mit verschiedenen, attenuierten und virulenten aMPV-Isolaten zu detektieren. Sie fanden heraus, dass die Wahl eines adäquaten Antigens ausschlaggebend dafür ist, ob ein Testkit aMPV-Antikörper drei Wochen nach einer Impfung bzw. zwei Wochen nach einem Challenge nachweisen kann. Mehrere Autoren befürworten die Wahl eines homologen Antigens für den Nachweis von Antikörpern eines bestimmten Subtyps (Hafez, 1991; Toquin et al., 1996; Mekkes und de Wit, 1998; Cook et al., 1999).

ELISA-Antigene können aus Zellkulturüberständen oder Zelllysaten als gereinigtes oder ungereinigtes Antigen hergestellt werden. Sie können entweder aMPV-Antikörper eines Subtyps oder mehrerer Subtypen detektieren (Grant et al., 1987; Chettle und Wyeth, 1988; Hafez und Löhren, 1990a; Eterradossi et al., 1992; Heckert et al., 1994; Tanaka et al., 1996; Chiang et al., 2000).

Es wurden jedoch auch ELISA-Testkits entwickelt, deren Antigene auf einem rekombinanten M-Protein des aMPV-Subtyps C (Gulati et al., 2000) bzw. auf einem rekombinanten SH-Protein des Subtyps C (Luo et al., 2005) basieren. Ein rekombinantes N-Protein des Subtyps C wurde benutzt, um einen Sandwich-ELISA zu entwickeln (Gulati et al., 2001b). Der rekombinante M-Protein ELISA (Gulati et al., 2000) konnte neben Antikörper des aMPV Subtyps C auch aMPV Antikörper der Subtypen A und B detektieren, ohne diese jedoch voneinander zu unterscheiden (Lwamba et al., 2002)

Die meisten indirekten ELISA-Testkits können aMPV-Antikörper aus Puten- oder Hühnerseren unter Verwendung von entweder Anti-Puten Konjugat oder Anti-Hühner Konjugat detektieren. Es konnte nachgewiesen werden, dass Anti-Hühner Konjugat mit IgG aus Putenseren kreuzreagieren kann. Die Sensitivität eines solchen ELISA ist jedoch geringer als bei der Verwendung von Anti-Puten Konjugat (Chiang et al., 2000; Jirjis et al., 2000).

Um aMPV-spezifische Antikörper aus anderen Vogelspezies nachweisen zu können, wurde ein Subtyp C-spezifischer blocking ELISA-Test entwickelt (Turpin et al., 2003). Cadman et al. (1994) modifizierten einen kommerziellen indirekten ELISA, indem sie das ursprüngliche Konjugat gegen ein gegen Immunglobuline des Straußenvogels gerichtetes Konjugat austauschten.

Neben den etablierten ELISA Tests, die aMPV-spezifische IgG-Antikörper nachweisen können, wurden für neueste Studien ELISA-Tests entwickelt, die aMPV spezifische IgA-Antikörper und aMPV-spezifische IgM-Antikörper detektieren können (Ganapathy et al., 2005; Cha et al., 2007; Kapczynski et al., 2008).

Mit allen drei Testmethoden (SNT, IIFT, ELISA) konnten Antikörper gegen das aMPV 5 Tage nach Auftreten der ersten Symptome nachgewiesen werden. Die höchsten Antikörpertiter wurden am 5.Tag im SNT und IIFT und im ELISA am 11.Tag nach Auftreten von klinischen Erscheinungen gemessen. Alle 3 Verfahren zeigten eine gute Korrelation bis zum 34. Tag nach Auftreten der ersten klinischen Symptome (Baxter-Jones et al., 1989). Eine gute Korrelation zwischen SNT und zwei unterschiedlichen ELISA Tests konnte auch bei Untersuchungen von Alkahalaf et al. (2002a) nachgewiesen werden. Virusneutralisierende Antikörper können etwa 2 Tage eher nachgewiesen werden als aMPV-spezifische IgG-Antikörper mittels IIFT und ELISA (Baxter-Jones et al., 1989; O'Loan et al., 1989; Liman und Rautenschlein, 2007).

2.13 Differentialdiagnose

Verschiedene virusbedingte und bakterielle Atemwegserkrankungen verursachen ähnliche klinische Symptome wie die durch das aMPV verursachten Infektionen (Lister und Alexander, 1986). Viele bakterielle Erreger wie *E.coli*, *Bordatella avium*, *Pasteurella multocida*, *Chlamydia psittaci*, *Ornithobacterium rhinotracheale* und *Mycoplasma species* müssen differentialdiagnostisch aber auch als opportunistische Sekundärpathogene in Betracht gezogen werden (Lister und Alexander, 1986; Peleteiro, 1991; Jones, 1996; Gough und Jones, 2008). Eine Isolation des aMPV oder eine Identifikation von aMPV-Antigenen ist für die Diagnosestellung daher essentiell (Gough und Jones, 2008).

Virale Erkrankungen durch Paramyxoviren (Newcastle Disease, APMV-3), infektiöse Bronchitis (IB) und aviäre Influenza können ähnlich wie bei einer aMPV-Infektion zu respiratorischen Erkrankungen und zu Legeleistungsrückgängen bei Hühnern und Puten führen (Peleteiro, 1991; Gough und Jones, 2008).

2.14 Bekämpfungsmaßnahmen

2.14.1 Therapie

Eine spezifische Therapie gegen monokausale aMPV-Infektionen bei Hühnern und Puten ist nicht vorhanden (Cook, 2000b). Es ist jedoch allgemein anerkannt, dass Managementfaktoren die Schwere der Ausprägung einer aMPV-Infektion beeinflussen können. Managementfehler, wie unzureichende Ventilation und Temperaturkontrolle, zu hohe Besatzdichte, schlechte Einstreuqualität, unzureichende allgemeine Hygiene, verschiedene Altersstufen und die dadurch bedingte Unterstützung der Kolonisation potentieller Sekundärerreger beeinflussen die Einschleppung und Ausprägung einer aMPV-Infektion (Andral et al., 1985c; Pattison et al., 1989; Hafez, 1990; Cook, 2000b; Gough und Jones, 2008). Unter Berücksichtigung der Resistenzlage mindert eine Antibiotikatherapie gegen nachweisliche sekundäre, bakterielle Infektionen die Mortalitätsrate (Hafez, 1994).

Nach den ersten aMPV-Subtyp C-Ausbrüchen im Bundesstaat Colorado konnte die Ausbreitung des Erregers innerhalb der dortigen Putenpopulation durch Eradikationsmaßnahmen, strikte Biosicherheitsmaßnahmen und durch verbessertes Management gestoppt werden (Edson, 1997; Senne et al., 1997).

Auf strikte Einhaltung der Biosicherheitsmaßnahmen sollte auch deshalb geachtet werden, um die Gefahr einer möglichen Einschleppung von aMPV durch aMPV-infizierte

Wildvogelbestände in kommerzielle Geflügel- und Putenhaltungen zu minimieren (Bennett et al., 2002; Shin et al., 2002a; Bennett et al., 2004; Turpin et al., 2008).

2.14.2 Immunprophylaxe

Da eine spezifische Behandlung gegen aMPV-Infektionen derzeit nicht möglich ist, liegt der Schwerpunkt bei der Bekämpfung auf einer Verbesserung der hygienischen Bedingungen und der Immunprophylaxe. Seit nahezu 30 Jahren kommen attenuierte Lebend- und Inaktivatimpfstoffe in Puten- und Hühnerbeständen zum Einsatz. Der Forschungsschwerpunkt liegt derzeit in der Entwicklung von Subunit- und rekombinanten Vektorvakzinen.

Derzeit sind folgende aMPV Lebend- und Inaktivatimpfstoffe in Deutschland zugelassen:

Tab.5 In Deutschland zugelassene attenuierte aMPV-Lebendimpfstoffe (Stand 18.10 2010, Quelle www.PEI.de)

Handelsname	Hersteller	Tierart	Stamm
Nemovac	Merial GmbH	Huhn	PL 21
Nobilis Rhino	Intervet Deutschland GmbH	Huhn	RTCV 11/94
Nobilis RTV 8544	Intervet Deutschland GmbH	Huhn	BUT 1 # 8544
Nobilis TRT	Intervet Deutschland GmbH	Pute	BUT 1 # 8544
Poulvac TRT	Pfizer GmbH	Pute	Clone K
Terivac	Merial GmbH	Pute	VCO3

Tab. 6 In Deutschland zugelassene aMPV-Inaktivatimpfstoffe (Stand 18.10 2010, Quelle www.PEI.de)

Handelsname	Hersteller	Tierart	Stamm
Gallimune 303	Merial GmbH	Huhn	VCO3
Gallimune 407	Merial GmbH	Huhn	VCO3
Nobilis RT+IBMulti+G+ND	Intervet Deutschland GmbH	Huhn	BUT 1 # 8544
Nobilis RT+IBMulti+ND+EDS	Intervet Deutschland GmbH	Huhn	BUT 1 # 8544
Nobilis RT inac	Intervet Deutschland GmbH	Pute, Huhn	BUT 1 # 8544
Nobilis TRT+ND	Intervet Deutschland GmbH	Pute	BUT 1 # 8544
Trituren	Merial GmbH	Pute	VCO3

Lebendimpfstoffe:

Nach dem Auftreten von TRT in Südafrika entwickelten Buys et al. (1989a) einen ersten, in embryonierten Eiern passagierten Prototypen eines attenuierten aMPV-Lebendimpfstoffes. Mit dem Auftreten des aMPV in Westeuropa und in den USA beschrieben mehrere Autoren die Attenuierung von Feldstämmen in CEF- und VERO-Zellkulturen (Giraud et al., 1987; Williams et al., 1991a; Williams et al., 1991b; Gulati et al., 2001a; Patnayak et al., 2002) sowie in Wechselfassage zwischen embryonierten Eiern und TOC (Cook et al., 1989a; Cook et al., 1989b; Cook und Ellis, 1990).

Durch die Adaptation von aMPV-Feldisolaten des Subtyps C an niedrigere Temperaturen konnte ebenfalls eine Attenuierung erreicht werden (Patnayak et al., 2003; Patnayak und Goyal, 2004b).

Trotz der Attenuierung können nach der Applikation von bestimmten Impfstämmen selbst unter experimentellen Bedingungen milde respiratorische Symptome beobachtet werden (Cook et al., 1989b; Gulati et al., 2001a).

Die attenuierten Impfstoffe zeigten in zahlreichen Challengeversuchen mit homologen aMPV-Subtypen einen guten Schutz vor der Ausprägung klinischer Symptome (Cook et al., 1989b; Williams et al., 1991a; Cook et al., 1995; Van de Zande et al., 2000; Gulati et al., 2001a; Patnayak et al., 2002). Unter experimentellen Bedingungen schützt eine einmalige Impfung die Tiere für eine Dauer von mindestens 14 Wochen (Cook et al., 1989b) bzw. 22 Wochen (Williams et al., 1991a). Bei Challengeversuchen mit jeweils heterologen Impfstämmen konnte eine vollständige Kreuzimmunität zwischen den Subtypen A und B bei Puten (Cook et al., 1995; Eterradossi et al., 1995; Van de Zande et al., 2000) und bei Hühnern (Cook et al., 1995) nachgewiesen werden. Bei Challengeversuchen mit heterologen Feldstämmen wurde bei Puten eine partielle Kreuzimmunität nachgewiesen (Naylor et al., 1997a). Van de Zande et al. (2000) konnten zeigen, dass die Dauer des Impfschutzes nach homologer Impfung länger anhaltender war als nach heterologer Immunisierung. Impfstoffe der Subtypen A und B schützen auch gegen einen Challenge mit einem aMPV-Subtyp C-Isolat (Cook et al., 1999) und einem aMPV-Subtyp D-Isolat (Toquin et al., 1999a). Im Gegensatz dazu schützt eine aMPV Subtyp C-Impfung nicht gegen eine Infektion mit virulenten Subtyp A- und B-Isolaten (Cook et al., 1999).

In der Praxis erfolgt die Massenapplikation der Lebendvaccine als Grobspray oder über das Trinkwasser (Block, 2002; Jodas et al., 2002). Unter experimentellen Bedingungen erfolgt die

Applikation des Impfstoffes individuell meist okulonasal (Cook et al., 1989b; Williams et al., 1991a; Cook et al., 1995; Van de Zande et al., 2000; Gulati et al., 2001a; Patnayak et al., 2002).

Eine „in ovo“-Applikation von einer Subtyp A-Lebendvakzine bei Puten (Worthington et al., 2003) und einer Subtyp B-Lebendvakzine bei Hühnern (Hess et al., 2004a) führt zu keiner Beeinträchtigung der Schlupfergebnisse. Bei den „in ovo“ geimpften Puten konnte ein 100%iger Impfschutz nachgewiesen werden. Bei den „in ovo“ geimpften Hühnern waren die aMPV-Antikörper signifikant höher als bei geimpften Eintagsküken.

Eine unzureichend durchgeführte Massenapplikation bürgt die Gefahr, dass eine Vielzahl der zu vakzinierenden Tiere keinen direkten Kontakt zum Impfvirus nach der Applikation hat. In der Folge kann es zu dazu kommen, dass sich ungeimpfte Tiere im Bestand mit dem schon passagierten Impfstamm aus Ausscheidungen geimpfter Tiere im Bestand infizieren. Dadurch erhöhen sich die in vivo Passagen des Impfstammes in einer Herde, was zu einer Zunahme der Virulenz des ursprünglich attenuierten Impfstammes führen kann (Catelli et al., 2006). Catelli et al. (2006) konnten aus einer 18 Tage alten Putenherde mit respiratorischen Symptomen ein aMPV-Subtyp A isolieren (Isolat 309/04). Die Putenherde wurde am ersten Tag mittels Grobspray in der Brüterei mit einer Subtyp A-Lebendvakzine geimpft. Durch eine Sequenzierung des Subtyp A-Isolates (Isolat 309/04) konnte bewiesen werden, dass dieses Isolat ursprünglich aus der Subtyp A-Lebendvakzine hervorging. In einem weiteren Experiment wurde das Isolat 309/04 an Eintagesputen verabreicht. Die Tiere zeigten schwere klinische Erkrankungserscheinungen ab Tag 6 p.i.. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass das Impfvirus in geimpften Putenherden bis zu 4 Wochen nach der Impfung nachweisbar war. Naylor et al. (1997a) konnten das Impfvirus einer Subtyp A-Lebendvakzine bis zu 21 Tagen p.v. und das Impfvirus einer Subtyp B-Lebendvakzine bis zu 18 Tagen in geimpften Putenherden mittels RT-PCR-Untersuchung nachweisen, wohingegen bei einer Impfung unter experimentellen Bedingungen das Impfvirus nur bis zu einer Woche nach der Impfung zu finden war (Naylor, 1993). Bei einem anderen Experiment konnte bei den mit dem Subtyp A vakzinierten Puten in der RT-PCR-Untersuchung RNA des Subtyps A bis zu vier Wochen nach der Impfung, bei den mit dem Subtyp B vakzinierten Puten der Subtyp B bis zu drei Wochen nach der Impfung aus Trachealtupfern detektiert werden (Haarländer, 2005).

Ähnlich wie Catelli et al. (2006) konnten auch Ricchizzi et al. (2008) aus einer 50 Tage alten Putenherde mit respiratorischen Symptomen ein Subtyp A-aMPV isolieren, dass ursprünglich aus einem Subtyp A Impfstoff hervorging. Im Gegensatz zu den Untersuchungen von Catelli et

al. (2006) wurde die Herde mit einem Subtyp B-Lebendimpfstoff am Tag 7 geimpft, und nicht mit einem Subtyp A-Lebendimpfstoff. Es scheint so, dass das ursprünglich von einem Subtyp A-Impfstoff hervorgehende virulente aMPV-Subtyp A-Isolat über längere Zeit in der Umgebung persistieren kann. Jodas et al. (2002) konnten ebenfalls in einer mehrmals mit einem Subtyp B-Lebendimpfstoff geimpften Herde eine Infektion mit dem Subtyp A mittels RT-PCR-Untersuchung nachweisen.

Langzeituntersuchungen in Italien zeigen, dass neuere Subtyp B-Isolate (nach 2001) sich von älteren Subtyp B-Isolaten (vor 1994) hinsichtlich der Sequenzen des G-Gens unterscheiden und ein eigenes Cluster bilden (Cecchinato et al., 2007; Cecchinato et al., 2009). Die Autoren sehen einen Zusammenhang zwischen der Massenapplikation von Subtyp B-Lebendimpfstoffen und den Veränderungen im G-Gen innerhalb der italienischen aMPV-Subtyp B-Population vor 1994 und nach 2001. In einem experimentellen Versuch bei dem mit einem Subtyp B-Lebendimpfstoff geimpfte Tiere mit einem italienischen Subtyp B-Isolat (nach 2001) inokuliert wurden, zeigte sich, dass die Tiere durch den Subtyp B-Lebendimpfstoff nicht vor klinischen Symptomen geschützt werden konnten (Cecchinato et al., 2008).

Cook et al. (2001) wiesen nach, dass Hühner, die eine Woche vor einer aMPV-Impfung mit IB H120-Lebendvaccine geimpft wurden, niedrigere aMPV-Antikörpertiter bildeten, aber genauso gut geschützt waren wie Hühner, denen nur aMPV Lebendimpfstoff appliziert wurde. Niedrigere aMPV-Antikörper und eine gute immunologische Protektion konnten bei einer gleichzeitigen Gabe von aMPV-Lebendimpfstoff und ND-Lebendimpfstoff (Ganapathy et al., 2005; Ganapathy et al., 2007) und bei gleichzeitigem Einsatz von ND-Lebendimpfstoff, IB-Lebendimpfstoff und aMPV-Lebendimpfstoff (Tarpey et al., 2007) ebenfalls nachgewiesen werden.

Inaktivierte Vakzine

Giraud et al. (1987) entwickelten einen formalin-inaktivierten aMPV-Inaktivatimpfstoff und testeten ihn bei SPF-Puten. Jedoch schützte die Applikation des Impfstoffes nicht vor einer experimentellen Infektion. Trotz einer zweimaligen Applikation des Impfstoffes in der 2. und 5.LW zeigten die geimpften Tiere TRT-typische, klinische Erscheinungen nach dem Challenge mit einem virulenten aMPV-Stamm in der 7.LW. Eine intranasale Applikation eines inaktivierten aMPV-Subtyp C-Impfstoffes schützte Puten ebenfalls nicht vor einer experimentellen Infektion (Kapczynski et al., 2008). Cook et al. (2000) stellten fest, dass eine

alleinige Inaktivatimpfung bei Hühnern zwar vor einem Legeleistungsrückgang nach experimenteller, intravenöser Infektion schützt, jedoch nicht respiratorische Symptome verhindert.

Chettle (1991) führte einen Versuch mit aMPV-Inaktivatimpfstoff bei Mastelertierherden durch. Bei diesem Feldversuch wurden 2 Mastelertierherden inaktivierte Ölemulsionsvakzine (aMPV-Putenisolat) in der Aufzuchtperiode (12 LW) subkutan verabreicht. Zusätzlich wurden auf demselben Betrieb in einem anderen Stall ungeimpfte Tiere gehalten. Diese ungeimpften Tiere erkrankten 16 Wochen nach der Impfung und zeigten typische SHS-Symptome und einen Rückgang der Legeleistung. Im Gegensatz dazu zeigten die geimpften Tiere zum selben Zeitpunkt keine typische SHS-Symptomatik und keinen Legeleistungsrückgang.

Inaktivatimpfstoffe induzieren hohe aMPV-Antikörpertiter bei Hühnern und Puten (Cook et al., 1996; Mekkes und de Wit, 1998; Cook et al., 2000; Sowa et al., 2000). Nachteil der Inaktivatvakzine ist zum Einen die aufwendige parenterale Applikation, und zum Anderen führt eine parenteral verabreichte Inaktivatimpfung nicht zu einer Aktivierung der lokalen Immunmechanismen, denen eine wichtige Rolle beim Schutz gegen eine aMPV Infektion zugesprochen wird (Sharma et al., 2002).

Kombiniertes Impfprogramm mit Lebendimpfstoff und inaktiviertem Impfstoff

In mehreren Experimenten konnte gezeigt werden, dass eine initiale Lebendimpfung (Priming) gefolgt von einer Inaktivatimpfung (Booster) bei Legehennen und Legeputen am besten sowohl gegen klinische Symptome als auch gegen einen Legeleistungsabfall im Vergleich zur Applikation von nur Lebendimpfstoff oder nur Inaktivatimpfstoff schützt (Cook et al., 1996; Cook et al., 2000; Sugiyama et al., 2006). Die schützende Immunität war bei Legehennen, die am 1.Tag lebend und in der 16. Woche inaktiviert geimpft wurden, über eine Zeit von 60 Wochen vorhanden (Cook et al., 2000).

aMPV-Impfstoffe der neueren Generation

Aufgrund der besprochenen Nachteile der Lebendvakzine und der Inaktivatimpfstoffe wurde und wird nach alternativen Impfstoffen gegen das aMPV gesucht.

Qingzhong et al. (1994) entwickelten ein rekombinantes Geflügelpocken-Virus, das das Fusionsprotein (F-Protein) des aMPV exprimieren kann. Beim Einsatz im Feld besteht jedoch die Gefahr, dass die Tiere schon vor einer Impfung mit einer viralen Geflügelpocken-

Vektorvakzine Kontakt zu einem Feldpockenstamm hatten, was die Effektivität der Impfung im Feld mindern kann (Sharma, 1999).

Kapczynski und Sellers (2003) entwickelten zwei DNA-Vakzine, die das F Gen oder das N Gen exprimieren können. Nach Angaben der Autoren induziert die DNA-Vakzine mit dem F-Gen, jedoch nicht die DNA-Vakzine mit dem N-Gen, einen signifikanten Schutz gegen eine aMPV-Infektion. Bei den Experimenten wurden die jeweiligen DNA-Vakzine zweimal intramuskulär verabreicht (1.Tag und 2.LW). Der Challenge erfolgte 3 Wochen nach der zweiten Impfung.

In einer anderen Studie wurden rekombinate M-Proteine und P-Proteine intramuskulär mit unvollständigem Freund's Adjuvant oder okulonasal mit Choleratoxin B verabreicht (Chary et al., 2005). Dabei konnte ein 100%iger Schutz nur erreicht werden durch eine zweimalige Applikation (1.Tag und 2.LW) von rekombinanten M-Protein und N-Protein intramuskulär in einer hohen Dosis (80 µg M-Protein und 80µg P-Protein pro Tier). Vom 100%igem Schutz wurde hier gesprochen, wenn bei allen Tieren post Challenge kein virulentes aMPV-Virus aus Choanentupfern mittels RT-PCR-Untersuchung nachweisbar war.

Außerdem wurde in den USA ein Virosom-Impfstoff entwickelt und experimentell getestet, der aus dem F-Protein und dem G-Protein besteht (Kapczynski, 2004). Einer zweimaligen Applikation (Gruppe 1 intranasal Gruppe 2 intramuskulär) am 7. Und 21. Tag folgte ein Challenge mit einem virulenten aMPV-Stamm in der 5.LW. In beiden Gruppen fielen die klinischen Anzeichen post challenge schwächer aus als in der nicht-vakzinierten Kontrollgruppe.

Bei allen vier entwickelten Impfstoffen führte die Applikation der Vakzine nur zu einer partiellen Immunität, obwohl nur homologe Challenge-Versuche durchgeführt wurden. Zudem haben alle vier genannten Impfstoffe den Nachteil, dass sie parenteral und mehrmals verabreicht werden müssen.

In einer anderen Studie wurden zwei rekombinante Impfstoffe in Mikropartikeln für eine „Prime-Boost-Impfung“ zur okulonasalen Anwendung entwickelt. Das Priming erfolgte mit einem rekombinanten Plasmid-Impfstoff, der das F-Protein des aMPV exprimiert. Bei der Vakzine für die Boosterung wurde ein rekombinanter F-Protein-Impfstoff auf Grundlage des verwendeten Plasmid-Impfstoffes verwendet. Auch hier konnte nach Infektion mit einem homologen aMPV nur eine partielle Immunität nachgewiesen werden. Die okulonasale

Applikation ermöglicht bei diesem Impfansatz eine Massenapplikation der Vakzine im Feld (Liman et al., 2007).

Die Entwicklung eines „reverse genetic system“ für das aMPV (Naylor et al., 2004) eröffnet die Möglichkeit weiterer neuer Ansätze der Impfstoffentwicklung in der Zukunft (Cook, 2009).

3. Ziel der Arbeit

In der vorliegenden Promotionsarbeit wurden vier in Deutschland eingestellte Geflügelmastgroßeltern-tierherden über ihre gesamte Lebenszeit serologisch auf das Vorkommen von Antikörpern gegen das aviäre Metapneumovirus (aMPV) und molekularbiologisch auf das Vorkommen von viraler RNA der aviären Metapneumovirus (aMPV) Subtypen A und B untersucht. Die vier Geflügelmastgroßeltern-tierherden wurden zweimal mit Lebendimpfstoff und einmal mit Inaktivatimpfstoff in der Aufzuchtperiode geimpft. Bei den vier Herden wurden vier verschiedene Impfstoffkombinationen hinsichtlich der aMPV- Subtypen A und B verwendet.

Um Auswirkungen möglicher Antigennachweise und Antikörpertitererhöhungen (Feldinfektionen) auf die Herden in der Produktionsphase zu betrachten, wurden Daten über die Herdengesundheit und wirtschaftliche Parametern über die gesamte Produktionsphase für jede Herde gesammelt.

Es soll festgestellt werden, ob aMPV-Infektionen überhaupt in geimpften Geflügelmastgroßeltern-tierherden in Deutschland, die unter besonderen Biosicherheitsauflagen gehalten werden, vorkommen.

Anhand der Ergebnisse der Verlaufsuntersuchungen soll festgestellt werden, wie die geimpften Geflügelmastgroßeltern-tierherden hinsichtlich ihrer Herdengesundheit und der wirtschaftlichen Parameter auf mögliche Antigennachweise oder Antikörpertitererhöhungen (Feldinfektion) in der Produktionsphase reagieren.

Weiterhin sollen die Antikörpertiterverläufe unter Berücksichtigung der vier verschiedenen Impfstoffkombinationen und der Art der Applikation beschrieben werden.

Ziel der vergleichenden Betrachtung aller erhobenen Daten soll sein, festzustellen, ob eine zweimalige Lebendimpfung, gefolgt von einer einmaligen Inaktivatimpfung gegen das aMPV, in Geflügelmastgroßeltern-tierherden in Deutschland überhaupt notwendig ist und deren Wirtschaftlichkeit erhöht ist. Wenn dies zutreffend ist, soll geklärt werden, ob es Unterschiede hinsichtlich der Herdengesundheit und der wirtschaftlichen Parameter bei den in dieser Verlaufsuntersuchung verwendeten vier Impfstoffkombinationen gibt.

4. Material und Methoden

4.1. Material

4.1.1. Versuchsherden

Bei den verwendeten vier Versuchsherden (Versuchsherde 1 BBB, Versuchsherde 2 BBA, Versuchsherde 3 AAA und Versuchsherde 4 AAB) handelte es sich um Geflügelmastgroßelterntierherden der Zuchtfirma Cobb, die auf vier Standorten in Deutschland lokalisiert waren (Abb. 1). Die Ursprungsherden der Geflügelmastgroßelterntier-Eintagesküken befanden sich in England und wurden mit aMPV-Lebendimpfstoff und mit aMPV-Inaktivatimpfstoff in der Aufzuchtperiode geimpft.

Die Standorte befanden sich in den Bundesländern Brandenburg, Sachsen-Anhalt und Sachsen. Bei jeder Versuchsherde stehen die ersten beiden Großbuchstaben für den aMPV-Subtyp des applizierten attenuierten Lebendimpfstoffes in der 8. Lebenswoche (LW) und 14. LW. Der dritte Großbuchstabe steht für den Subtyp des applizierten Inaktivatimpfstoffes in der 18. LW. Die Anzahl der Ställe der vier Versuchsherden und die Belegung mit entweder Hahnenlinie, Hennenlinie 1 oder Hennenlinie 2 sind in Abbildung 2 dargestellt. Alle Versuchsherden unterlagen einem einheitlichen für die jeweilige Zuchtlinie spezifischen Management- und Fütterungsprogramm. Außerdem wurden alle Versuchsherden nach einem einheitlichen Immunprophylaxeplan gegen verschiedene Krankheiten geimpft (Tab. 8). Die Versuchsherden unterscheiden sich hierbei nur in der Art des applizierten aMPV-Impfstoffes (siehe 3.1.2).

Während der gesamten Lebenszeit wurden die Versuchsherden durch die Tierarztpraxis Dr. K. Müller-Molenar betreut. Somit liegen für alle Versuchsherden Berichte über etwaige klinischen Erscheinungen, Daten über erhobene Laborbefunde und durchgeführte Behandlungen sowie Befunde der pathologisch-anatomischen Untersuchungen vor.

Die Herden befanden sich von der Einstallung bis zur Ausstallung auf ein und demselben Standort. Zwischen den Ställen eines Standortes wurden Tiere nach der 5.LW (nach Beendigung der „Broilerisierung“ der Hähne) transferiert. Während der sogenannten „Broilerisierung“ werden die Hähne der Hennen- und Hahnenlinie in ihren ersten 5 Lebenswochen einer Leistungsprüfung unterzogen. Sie werden dabei im Gegensatz zu den Hennen der Hahnen- und Hennenlinie wie bei der Broilermast gemästet. Am Ende der Leistungsprüfung werden die Hähne einer Zuchtselektion unterzogen. Nur ca. 10 % der eingestellten Hähne der Hahnenlinie und ca. 25% der Hähne der Hennenlinien werden für die weitere Zucht verwendet. Die

restlichen ausselektierten Hähne werden geschlachtet. Nach Abschluss der „Broilerisierung“ waren die Versuchsherden während der Aufzuchtperiode mit 4500 bis 7000 Tieren pro Stall und während der Produktionsphase (ab 25.LW) mit 4300 bis 6600 Tieren pro Stall belegt. Die genauen Tierzahlen der jeweiligen Herden sind stallweise in Tabelle 7 für den Zeitpunkt der 0.LW, 6.LW und 25.LW angegeben.

Die Versuchsherden 2 und 3 wurden im Juli 2005, Versuchsherden 1 und 4 im September 2005 eingestallt. Die Herden lebten zwischen 58 und 60 Wochen.

Alle Standorte unterlagen den für diese Zuchtstufen üblichen besonderen Biosicherheitsstandards. Dazu gehört unter anderem die Einhaltung eines Mindestabstandes von einem Kilometer zum nächstgelegenen, betriebsfremden Geflügelstandort. Die Farmgelände sind alle komplett umzäunt, was ein Befahren und Betreten durch Betriebsfremde verhindern soll. Das Betreten der Farm durch Befugte ist auf ein Mindestmaß begrenzt und erfolgt über eine Personenschleuse bestehend aus Schwarzbereich, Dusche und Weißbereich. Jeder Besucher hat farmeigene Kleidung und Schuhwerk zu tragen. Vor Betreten eines jeden Stalles erfolgt eine Desinfektion der Hände und ein erneuter Wechsel der Schuhbekleidung. Jegliches Material, das mit in die Farm genommen werden muss, ist vorher zu desinfizieren. Personen, die in die Farm wollen, dürfen 72 Stunden vor Betreten der Farm keinen Kontakt zu betriebsfremden Geflügelhaltungen gehabt haben.

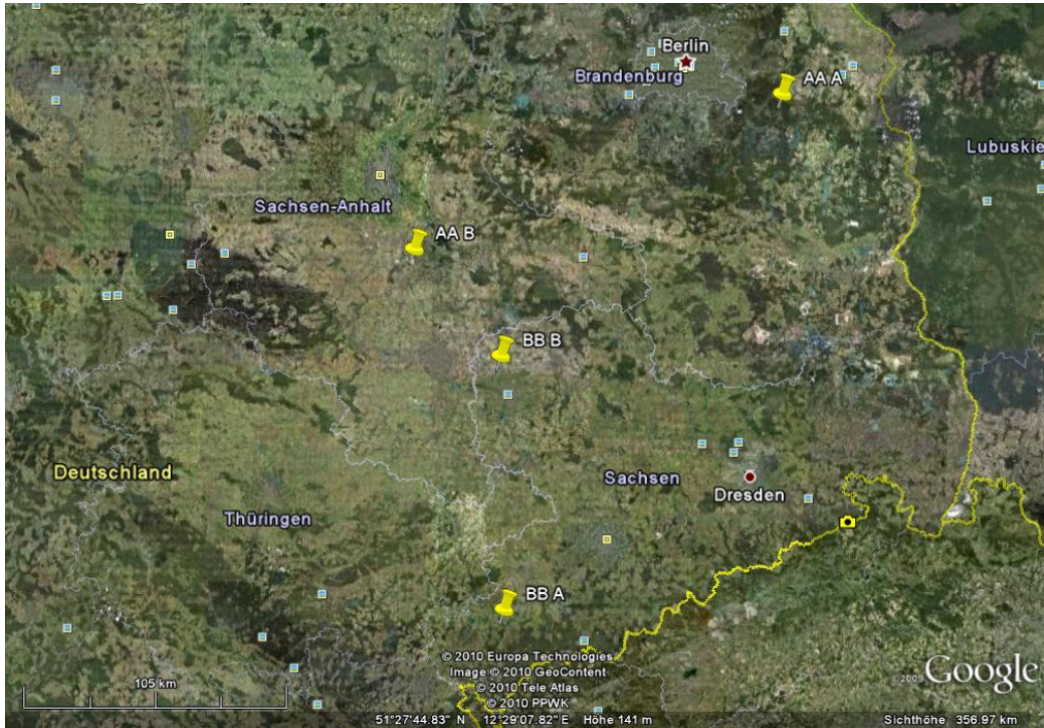


Abb. 1 Lokalisation der vier Geflügelmastgroßeltern-tierherden (BBB, BBA, AAA und AAB)

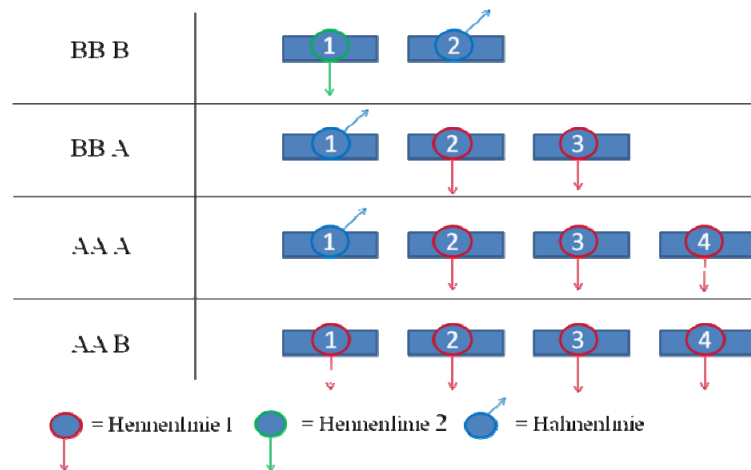


Abb. 2 Anzahl der Ställe pro Versuchsgruppe und Angabe zur Belegung der Ställe mit den Zuchtlinien Hennenlinie 1, Hennenlinie 2 und Hahnenlinie ab 6.LW

Tab. 7 Anzahl der Tiere pro Stall für die Versuchsherden zum Zeitpunkt ab 0.LW, ab 6.LW und 25.LW

VH*	Zeitpunkt ab	Anzahl Tiere Stall 1	Anzahl Tiere Stall 2	Anzahl Tiere Stall 3	Anzahl Tiere Stall 4
BBB	0.LW	4536♀ (♂-Linie) 5040♀ (♀-Linie 1)	4536♂ (♂-Linie) 2232♂ (♀-Linie 1)		
	6.LW	4931♀ + 617♂ = 5548 (♀-Linie1)	4456♀ + 526♂ = 4982 (♂-Linie)		
	25.LW	4626♀ + 530♂ = 5156 (♀-Linie1)	4163♀ + 448♂ = 4611 (♂-Linie)		
BBA	0.LW	6120♀ (♂-Linie)	12816♀ (♀-Linie2)	6120♂ (♂-Linie) 5688♂ (♀-Linie 2)	
	6.LW	5724♀ + 745♂ = 6469 (♂-Linie)	6206♀ + 732♂ = 6938 (♀-Linie 2)	6206♀ + 732♂ = 6938 (♀-Linie 2)	
	25.LW	5131♀ + 626♂ = 5757 (♂-Linie)	5960♀ + 641♂ = 6601 (♀-Linie 2)	5898♀ + 615♂ = 6513 (♀-Linie 2)	
AAA	0.LW	6064♀ (♂-Linie)	8466♂ (♂-Linie) 6064♂ (♀-Linie 2)	9594♀ (♀-Linie 2)	9594♀ (♀-Linie 2)
	6.LW	5934♀ + 726♂ = 6660 (♂-Linie)	6203♀ + 759♂ = 6962 (♀-Linie 2)	6203♀ + 759♂ = 6962 (♀-Linie 2)	6203♀ + 759♂ = 6962 (♀-Linie 2)
	25.LW	5421♀ + 572♂ = 5993 (♂-Linie)	5947♀ + 641♂ = 6588 (♀-Linie 2)	5955♀ + 614♂ = 6569 (♀-Linie 2)	5951♀ + 621♂ = 6572 (♀-Linie 2)
AAB	0.LW	5520♀ (♀-Linie 2)	7344♂ (♀-Linie)	5520♀ (♀-Linie 2)	5520♀ (♀-Linie 2)
	6.LW	4050♀ + 502♂ = 4552 (♀-Linie 2)	4050♀ + 502♂ = 4552 (♀-Linie 2)	4050♀ + 502♂ = 4552 (♀-Linie 2)	4050♀ + 502♂ = 4552 (♀-Linie 2)
	25.LW	3916♀ + 443♂ = 4359 (♀-Linie 2)	3919♀ + 460♂ = 4379 (♀-Linie 2)	3921♀ + 454♂ = 4375 (♀-Linie 2)	3921♀ + 454♂ = 4375 (♀-Linie 2)

VH* = Versuchsherde

Tab. 8 Immunprophylaxeprogramm der Versuchsherden

Impfzeitpunkt	Impfstoff	Hersteller	Applikation
1. Lebenstag	Rismavac + CA 126	Intervet	in ovo
1. Lebenstag	ND Hitchner B1	Intervet	Grobspray
1. Lebenstag	IB Primer	Fort Dodge	Grobspray
6. Lebenstag	Paracox 8	Essex	Futter
14. Lebenstag	IB 4-91	Intervet	Grobspray
18. Lebenstag	Gumboro D 78	Intervet	TW
24. Lebenstag	IB MA 5 Clone 30	Intervet	TW
35. Lebenstag	Gumboro D 78	Intervet	TW
42. Lebenstag	IB 4-91	Intervet	Grobspray
49. Lebenstag	ND Clone 30	Intervet	Grobspray
56. Lebenstag	1. Lebendimpfung aMPV		Grobspray
63. Lebenstag	Pocken vac	LAH	wing web
63. Lebenstag	E. Coli/ Pasteurellen best. spez.	Felgenträger	i.m.-Injektion
63. Lebenstag	Reo inac.	Intervet	i.m.-Injektion
70. Lebenstag	IB MA 5 + IB 4-91	Intervet	Grobspray
77. Lebenstag	AE 1143	Intervet	TW
84. Lebenstag	ILT	Intervet	TW (doppelte Dosis)
98. Lebenstag	2. Lebendimpfung aMPV		Grobspray
112. Lebenstag	IB MA 5 Clone 30	Intervet	Grobspray
126. Lebenstag	REO+IB+G+ND	Intervet/ Merial	i.m.-Injektion
126. Lebenstag	E. Coli/ Pasteurellen best. spez.	Felgenträger	i.m.-Injektion
126. Lebenstag	Inaktivimpfung aMPV		i.m.-Injektion
168. Lebenstag	IB 4-91	Intervet	TW
210. Lebenstag	IB Primer	Fort Dodge	TW
252. Lebenstag	IB 4-91	Intervet	TW
294. Lebenstag	IB Primer	Fort Dodge	TW
336. Lebenstag	IB 4-91	Intervet	TW
378. Lebenstag	IB Primer	Fort Dodge	TW
420. Lebenstag	IB 4-91	Intervet	TW

4.1.2. Impfstoffe

Subtyp B-Lebendimpfstoff:

Nemovac® (Fa. Merial, Lyon, Frankreich)

Impfstoffdosen: 5000

Zusammensetzung: lebendes aviäres Metapneumovirus (Stamm PL 21), mind. 2,3 log₁₀ GKID₅₀ pro Dosis

Wirtssystem: VERO-Zellen

Zul.-Nr.: 8-20252

Ch.-B.: L147865 (8.LW, Versuchsherden BBA und BBB),

L150604 (14.LW, Versuchsherden BBA und BBB)

aMPV-Lebendimpfstoff, gefriergetrocknet für Hühner. Ursprünglich wurde der Stamm PL 21 aus Hühnern mit SHS-Symptomatik isoliert und in attenuiert.

Subtyp A-Lebendimpfstoff:

Nobilis® TRT (Fa. Intervet, Boxmeer, Niederlande)

Impfstoffdosen: 1000/ 2500

Zusammensetzung: lebendes aviäres Metapneumovirus (Stamm BUT 1#8544), mind. 2,5 log₁₀ GKID₅₀ pro Dosis

Wirtssystem: SPF-Hühnerembryofibroblasten

Zul.-Nr.: 189a/95

Ch.-B.: 044056B-3 (1000Ds., 8.LW+14.LW Versuchsherde AAB), 044057B-2 (2500 Ds., 8.LW+ 14.LW Versuchsherde AAA)

aMPV-Lebendimpfstoff, gefriergetrocknet für Puten. Ursprünglich wurde der Stamm BUT 1#8544 aus Puten mit Rhinotracheitis-Symptomen in Putenembryo-trachealringkulturen isoliert. Anschließend wurde das Virus auf Hühnerembryofibroblasten adaptiert und vermehrt. Die Anzahl der Passagen ist nicht bekannt.

*Subtyp B-Inaktivimpfstoff:***Gallimune 303®** (Fa. Merial, Lyon, Deutschland)

Impfstoffdosen: 1000

Zusammensetzung: eine Dosis zu 0,3ml enthält

Inaktiviertes Newcastle Disease-Virus, Stamm Ulster 2C, mind 10 HAH.Efr

Inaktiviertes Infektiöses Bronchitis-Virus, Stamm Mass 41, mind 10 HAH.E

Inaktiviertes Aviäre Rhinotracheitis-Virus, Stamm VCO3, mind. 60 IP.E

Thiomersal, max 30 µg

Öliges Adjuvans ad 0,3ml

Wirtssystem: embryonierte Hühnereier und Verozellen

Zul.-Nr.: PEI.V.01041.01.1

Ch.-B.: 2630505

Ursprünglich wurde der Stamm VCO3 aus Puten mit respiratorischen Symptomen in Affennierenzelllinien (VERO) isoliert. Anschließend wurde das Virus 28-mal in VERO-Zellen passagiert (Giraud et al., 1986b).

*Subtyp A-Inaktivimpfstoff:***Nobilis® TRT+ND** (Fa. Intervet, Boxmeer, Niederlande)

Impfstoffdosen: 1000

Zusammensetzung: eine Dosis zu 0,5ml induziert

TRTV (Stamm BUT 1#8544) mind. 10 log₂ ELISA-EinheitenNDV (Stamm Clone 30) mind. 4 log₂ HAH-Einheiten (per 1/50 Dosis)oder enthält mindestens: 50 PD₅₀Dosis zu 0,5ml

eine Dosis zu 0,5ml enthält außerdem

Dünnflüssiges Paraffin 215 mg

Wirtssysteme: HEF-Zellkulturen und embryonierte Hühnereier

Zul.-Nr.: 69a/96

Ch.-B.: 49313

4.1.3. Positivkontrollen für die RT-PCR-Untersuchung

Folgende aMPV-Isolate wurden als Positivkontrollen in der RT-PCR-Untersuchung verwendet:

Subtyp A: Stamm STG 761/88 (Hafez, 1992; Hafez et al., 2000)

Subtyp B: Stamm STG 1439/91 (Hafez, 1994; Hafez et al., 2000)

4.1.4. Kits, Reagenzien und Gerätschaften ELISA-Untersuchung

Die im Rahmen dieser Dissertation durchgeführten ELISA-Untersuchungen wurden mit dem von der Firma IDEXX kommerziell vertriebenen, und in Deutschland nach §17cTierSG zugelassenen ELISA-Testkit FlockChek® Aviäres Pneumovirus durchgeführt.

Die Untersuchung der Serumproben im ELISA wurden im Laboratorium der Tierarztpraxis Dr. K. Müller-Molenar, Köthen (Anhalt), durchgeführt.

Nach Angaben des Herstellers sind die ELISA-Platten mit inaktiviertem aMPV-Antigen beschichtet. Das verwendete ELISA Testkit erlaubt die Detektion von Antikörpern der aMPV Subtypen A, B und C. Desweiteren gehören zum ELISA Testkit folgende Reagenzien:

- aMPV-positive Kontrolle - von hyperimmunisierten Hühnern gewonnenes Serum in Puffer mit Proteinstabilisatoren
Konservierungsstoff: Natriumazid
- Negative Kontrolle - Von aMPV-freien Hühnern gewonnenes Serum in Puffer mit Proteinstabilisatoren. Konservierungsstoff: Natriumazid
- (Ziegen-)Anti-Huhn/Anti-Pute: Meerrettichperoxidase (HRPO)-Konjugat in Puffer mit Proteinstabilisatoren, gebrauchsfertig
- Probenverdünnungspuffer mit Protein, konserviert mit Natriumazid
- TMB-Substrat
- Stopplösung

Zusätzlich zu den im ELISA-Testkit enthaltenen Reagenzien wurde für die Waschvorgänge destilliertes Wasser benutzt. Für die Waschvorgänge wurde das Waschgerät Columbus Plus der Firma Tecan, Männersdorf, Schweiz, verwendet. Als Reader kam das Gerät Spectra classic, ebenfalls von der Firma Tecan, zum Einsatz. Für die Pipettierungen kamen sowohl Pipetten der Firma Socorex, Ecublens, Schweiz, als auch Pipetten der Firma Eppendorf, Hamburg, zum Einsatz.

4.1.5. Reagenzien und Kit für die RNA-ExtraktionPhosphatgepufferte Kochsalzlösung (PBS, Phosphate Buffered Saline)

137 mM NaCl

1,47 mM KCl

1,47 mM KH₂PO₄

6,46 mM Na₂HPO₄

pH 7,4

QIAamp® Viral RNA Mini Kit (Fa. Qiagen, Hilden)

AVL Puffer (Lysispuffer)

AW1 Puffer (Waschpuffer)

AW2 Puffer (Waschpuffer)

AVE Puffer-RNase freies Wasser + 0,04% NaCl

Carrier RNA (polyA)

QIAamp® Mini Spin Columns (silica-gel-based membrane)

Ethanol absolut (Fa. Chemsolute, Renningen)

Die angegebenen Puffer und die Carrier RNA sind Bestandteil des QIAamp®Viral RNA Kit der Firma Qiagen, Hilden. Die Abkürzungen der Puffer wurden vom Hersteller übernommen. Die genaue Zusammensetzung ist nicht bekannt.

4.1.6. Gerätschaften der RNA Präparation

1,5 ml Eppendorfgefäß (Fa. Eppendorf AG, Hamburg)

2 ml Eppendorfgefäß (Fa. Eppendorf AG, Hamburg)

10µl, 20µl, 100µl, 1000µl Pipetten: Pipetman (Fa. Gilson, Frankreich)

10µl, 20µl, 100µl, 1000µl Pipettenspitzen: Safe Seal-Tips® (Fa Biozym, Hessisch Oldendorf)

Zentrifuge: Centrifuge 5424 (Fa. Eppendorf, Hamburg)

Vortexer: Vortex-Genie™ (Fa. Bender & Hobein AG, Zürich, Schweiz)

QIAcube® (Fa. Qiagen, Hilden)

Mikrobiologische Werkbank (Klasse II): Lamina Hera Safe (Fa. Heraeus, Hanau)

4.1.7. RT-PCR-Untersuchung

4.1.7.1. Reagenzien und Kit der One step PCR und nested PCR

Primer G3++ und G446- (je 25pmol/ µl):

Bei dem von Haarländer (2005) modifizierten Primer G3++ handelt es sich um den ursprünglich entwickelten Primer G3+ (Bayon-Auboyer et al., 1999). Der Primer G446- wurde ebenfalls von Bayon-Auboyer et al. (1999) entwickelt. Die Eigenschaften des Primerpaares G3++ und G446- sind in Tabelle 9 aufgeführt.

Tab. 9 Eigenschaften der verwendeten Primer One step PCR

Primer	Orientierung	Nukleotidsequenz 5'-3'	Länge in Basen	GC – Anteil in %	T _A in °C
G3++	vorwärts	GGGACAAGTATCTCTATGGGGTC	23	52,2	60-65
G446-	rückwärts	TCTCGCTGACAAATTGGTCCTGA	23	47,8	58-63

Primer A+, B+mod und X- (je 25pmol/ µl):

Die verwendeten Primer A+, B+mod und X- wurden im Institut für Geflügelkrankheiten des Fachbereiches Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin entwickelt (Haarländer, 2005).

Die Eigenschaften der verwendeten Primer sind in Tabelle 10 aufgeführt.

Tab. 10 Eigenschaften der verwendeten Primer nested-PCR

Primer	Orientierung	Nucleotidsequenz 5'-3'	Länge in Basen	GC – Anteil in %	T _A in °C
A+	vorwärts	AGGAGATAGAGATTGGTGGTC	21	47,6	54-59
B+mod	vorwärts	GAGCCAAAAAATACTGTTAGGACT	24	37,5	52-57
X-	rückwärts	ACAATCAAAACCACCCAGTACA	22	40,9	48-53

Qiagen[®] OneStep RT-PCR Kit (Fa. Qiagen, Hilden):

OneStep RT-PCR Enzyme Mix	1mM DTT, 0,1mM EDTA, 0,5% (v/v) Nonident [®] P-40, 0,5% (v/v) Tween [®] 20, 50 % Glycerol (v/v), Stabilisatoren, Omniscript [®] und Sensiscript [®] Reverse Transcriptase, HotStarTaq [®] DNA Polymerase
OneStep RT-PCR Puffer	5 x konzentriert, enthält Tris Cl, KCL, (NH ₄) ₂ SO ₄ , 12,5 mM MgCl ₂ , DTT
Q-Solution	5 x konzentriert
dNTP Mix	je 10 mM dATP, dCTP, dGTP, dTTP
RNase freies Wasser	

Illustra[™] puReTaq Ready-to-Go PCR Beads (Fa. GE Healthcare, München):

rekombinante puReTaq DNA Polymerase	2,5 Einheiten
Tris- HCl (ph 9,0 bei RT)	10mM
KCl	50mM
MgCL ₂	1,5mM
jedes dNTP	200µM
Stabilisatoren mit Bovinem Serumalbumin (BSA)	

4.1.7.2. Gerätschaften der One step PCR und nested PCR

PCR Cycler 1: DNA Engine[®] (Fa. Bio-Rad Laboratories GmbH, München)

PCR Cycler 2: T3 Thermocycler (Fa. Biometra, Göttingen)

Zentrifuge: Centrifuge 5417R (Fa. Eppendorf, Hamburg)

Pipetten: Eppendorf (1-1000 µl) (Fa. Eppendorf, Hamburg)

Pipetman (10-1000 µl) (Fa. Gilson, Villiers Le Bel, Frankreich)

Pipettenspitzen: Safe Seal-Tips[®] (Fa Biozym, Hessisch Oldendorf)

4.1.8. Reagenzien der Gelelektrophorese

Tris-Borat-Elektrophorese (10x; TBE-Puffer): ph 7,5

Tris-HCL (Fa. Roth, Karlsruhe) 89 mM

Borsäure (Fa. Roth, Karlsruhe)	89 mM
EDTA Di-Batriumsalz	2 mM
 <u>StopMix (10x):</u>	
TBE Puffer	4x
Bromphenolblau	0,25%
Xylencyanol	0,25%
Glycerin	30 %
Biozym LE Agarose (Fa. Biozym, Hess. Oldendorf)	1,5 %ig
Ethidiumbromid (Fa. Roth, Karlsruhe)	1 %ig
100-Basenpaar-Marker (Fa. New England Biolabs, Schwabach)	0,1 µg/µl

4.1.9. Gerätschaften der Gelelektrophorese

Elektrophoresekammer (Fa. Bio-Rad Laboratories, München)

Voltmeter: Power Pac HC und Model 200/2,0 Power Supply (Fa. Bio-Rad Laboratories, München)

Mikrowelle (Fa. Severin Elektogeräte GmbH, Sundern)

Pipetten: Eppendorf (1-10 µl) (Fa. Eppendorf AG, Hamburg)

Pipettenspitzen: (10 µl) (Fa. Eppendorf AG, Hamburg)

Videodokumentationssystem: Gel DocXR und Software Quantity One[®] 4.6.1 (Fa. Bio-Rad Laboratories Inc., Hercules, USA)

4.2. Methoden

4.2.1. Ermittlung Produktionsparameter (ab 25.LW)

4.2.1.1. Legeleistung

Für jeden der einzelnen Ställe der vier Versuchsgruppen wurde das tägliche Gesamtgelege in die jeweiligen Stallkarten eingetragen. Aus diesem absoluten, täglichen Gesamtgelege wurden dann die Prozentwerte zur Anzahl des täglichen Hennenbestandes berechnet. Nach sieben aufeinanderfolgenden Tagen wurde aus diesen Prozentwerten ein Wochendurchschnitt gebildet. Dieser prozentuale Wochendurchschnitt der Legeleistung wird im Folgenden als Legeleistung in % Resthenne bezeichnet.

Als vergleichenden Legeleistungsstandard in % Resthenne wurde von der Zuchtfirma ein Integrationsstandard zur Verfügung gestellt. Dieser Integrationsstandard beruht auf den Durchschnittswerten der prozentualen Legeleistungswochendurchschnitte je Resthenne aller Herden der jeweiligen Linien, die im Jahr 2005 eingestallt wurden. Da die Legeleistungen der in diesem Versuch verwendeten drei Zuchtlinien aufgrund ihres genetischen Potenziales verschieden sind, wurden 3 Integrationsstandards für die Legeleistung gebildet. Dem Integrationsstandard der Hennenlinie 1 lagen dabei 14 Herden zugrunde. Der Integrationsstandard für die Hennenlinie 2 wurde aus den Durchschnitten von 11 Herden, der Integrationsstandard für die Hennenlinie 3 aus drei Herden gebildet.

Hinsichtlich möglicher zeitlicher Zusammenhänge zwischen signifikantem aMPV-Antikörperanstieg, dem Nachweis viraler RNA der aMPV-Subtypen A oder B und einem Legeleistungsrückgang, wurden bei der Betrachtung nur standardbereinigte Legeleistungsrückgänge von über 1% zur Vorwoche berücksichtigt. Standardbereinigte Legeleistungsrückgänge bedeutet, dass dem tatsächlichen Legeleistungsrückgang von einer Woche auf die nächste Woche der Legeleistungsstandardrückgang von ein und derselben Woche auf die nächste Woche abgezogen wird. Standardbereinigte Legeleistungsrückgänge von unter 1 % wurden deshalb nicht in die vergleichende Untersuchung mit einbezogen, da aus tierärztlichen Erfahrung häufig kleinere Schwankungen in der Legeleistung vorkommen, die produktionstechnische Ursachen haben. Als Beispiel dafür seien Futterwechsel, Eierhordenabschreibung von einer Woche auf die Nächste und Insektenbekämpfung genannt.

4.2.1.2. Tierverlustdaten

Für jeden der Ställe der 4 Versuchsherden wurde die Anzahl der täglichen Verluste (Todesfälle) und Selektionen (Ausmerzungen) der Hennen getrennt auf den Stallkarten vermerkt. Durch Addition der Anzahl der Verluste und der Anzahl der Selektionen ergibt sich die Zahl der täglichen Abgänge. Alle drei täglichen Werte wurden durch den täglichen Besatz an Hennen dividiert und als Prozentwert angegeben. Durch das Summieren dieser Prozentwerte auf sieben aufeinanderfolgenden Tagen konnte ein wöchentlicher prozentualer Anteil der Anzahl der Todesfälle, Ausmerzungen und Abgänge ermittelt werden. Außerdem wurden aus den wöchentlichen Todesfällen in %, den wöchentlichen Ausmerzungen in % und den wöchentlichen Abgängen in % durch Addition der jeweiligen wöchentlichen Werte von der 25. Lebenswoche bis zum Ende des Produktionsdurchganges Summenprozentwerte gebildet.

Zusätzlich wurden aus allen wöchentlichen Todesfällen in %, wöchentlichen Ausmerzungen in % und wöchentlichen Abgängen in % die Durchschnittswerte von der 25. Lebenswoche bis zum Ende des Produktionsdurchganges gebildet.

Als Standardwerte wurde von der Zuchtfirma ein Integrationsdurchschnitt für alle besprochenen Werte zur Verfügung gestellt. Diese verstehen sich als Durchschnittswerte aller Herden der drei verwendeten Zuchtlinien, die im Jahr 2005 eingestallt worden sind.

4.2.2. Impfstoffapplikation

Die bei den 4 Versuchsgruppen verwendeten attenuierten aMPV- Lebendimpfstoffe wurden in der 8. und 14. Lebenswoche mittels eines Drucksprühgerätes als Grobspray im Stall versprüht. Die Dosierung lag bei einer Dosis pro Tier. Das Volumen der Sprühlösung wurde mit ca. 1ml Sprühlösung pro Tier kalkuliert. Bei dem verwendeten Drucksprühgerät handelte es sich um das Modell Prima 5 Typ 42 E von der Firma Gloria, Witten. Nach Angaben des Herstellers werden bei diesem Drucksprühgerät verstellbare Kunststoff-Hohlkegel-Düsen mit Messingeinsatz verwendet. Eine Ermittlung der Partikelgröße bei solchen mechanisch relativ ungenau einstellbaren Düsen ist nach Angaben des Herstellers nicht möglich.

Der Inaktivimpfstoff wurde jedem Tier individuell als intramuskuläre Injektion entsprechend den Angaben des Herstellers in der 18. LW verabreicht.

4.2.3. Probenahme und Aufbewahrung der Tupferproben

Bei den Einstallungsproben (0.LW) wurden bei der Anlieferung pro Versuchsgruppe zufällig 30 Küken ausgewählt. Diesen Küken wurde nach der Blutentnahme die Tracheen- sowie Kloakentupfer entnommen und bei -20°C bis zur Untersuchung eingefroren.

Für die im Abstand von 3 Wochen durchgeführten Verlaufsuntersuchungen (3. Lebenswoche - 57./ 60. Lebenswoche) wurden pro Stall bei jeder Versuchsgruppe von je 10 zufällig ausgewählten Tieren sowohl Trachealtupfer als auch Kloakentupfer entnommen. Die Tupferproben wurden anschließend über Nacht luftgetrocknet und dann bei -20°C bis zur Untersuchung eingefroren. Für die Trachealtupfer wurden sterile Wattestäbchen mit Metallträgern (Fa. Applimed FA, Chatel-Saint-Denis, Schweiz) verwendet. Für die Kloakentupfer wurden Wattestäbchen mit Holzträgern (Fa. Heinz Herenz, Hamburg) verwendet.

4.2.4. Probenahme, Aufbereitung und Aufbewahrung der Blutproben

Die Blutprobenentnahme erfolgte alle 3 Wochen in jedem einzelnen Stall der Versuchsherden von der 3. Lebenswoche an bis zu ihrem Produktionsende. Am Tag der Einstellung (0.LW) wurden pro Herde bei 23 zufällig ausgewählten Küken aus der Gesamtlieferung Blut genommen. Das Blut wurde im Laboratorium nach Tötung der Küken durch Abtrennen des Kopfes nach vorheriger Betäubung in Plastikröhrchen ohne Zusatz von Gerinnungshemmern aufgefangen.

Die Probenentnahme ab der 3. Lebenswoche erfolgte direkt in den Ställen durch Punktion der Flügelvene von 10 zufällig ausgewählten Tieren pro Stall. Auch bei der Probenentnahme auf der Farm wurden Plastikröhrchen ohne Zusatz von Gerinnungshemmern verwendet. Die Serumgewinnung erfolgte durch Zentrifugieren mit einer Zentrifuge bei 5000 U/min für 10 Minuten. Die gewonnenen Serumproben wurden bis zum Zeitpunkt der Untersuchung bei -20°C aufbewahrt.

4.2.5. Durchführung und Bewertung der ELISA-Untersuchung

Die Durchführung und die Bewertung der Untersuchung erfolgte entsprechend den Angaben des Herstellers.

Vor der Untersuchung der tiefgefrorenen Serumproben wurden diese für ca. 1-2 Stunden bei Zimmertemperatur aufgetaut. Die aufgetauten Proben wurden dann 10 mal leicht geschwenkt. Daraufhin wurden die Serumproben mit dem Probenverdünnungspuffer im Verhältnis 1 µl zu untersuchende Serumprobe zu 500 µl Probenverdünnungspuffer verdünnt. 100 µl dieser verdünnten Serumproben wurden in die entsprechenden Kavitäten der Mikrotiterplatte pipettiert. In je zwei dafür speziell vorgesehene Kavitäten der Mikrotiterplatte wurden je 100 µl unverdünnte aMPV-positive Kontrolle und je 100 µl Negative Kontrolle einpipettiert. Danach folgte eine Inkubationszeit von 30 Minuten. Nach 4 automatisierten Waschvorgängen erfolgte die Zugabe von 100 µl (Ziegen-)Anti-Huhn/Anti-Pute: Meerrettichperoxidase (HRPO)-Konjugat. Daraufhin folgte wiederum eine Inkubationszeit von 30 Minuten gefolgt von 4 automatisierten Waschvorgängen. Dann wurden 100µl TMB-Substrat zugegeben. Nach einer 15 minütigen letzten Inkubationszeit folgte die Zugabe von 100 µl Stopplösung. Die Messung der Extinktionswerte erfolgte im Photometer bei 650 nm. Die Extinktionswerte wurden in einem Computer mit dem Programm Xcheck® 3.2 der Firma IDEXX, Ludwigsburg, eingelesen, gespeichert und ausgedruckt.

Die Berechnung der Titerwerte aus den Extinktionswerten der Proben unter Berücksichtigung der Extinktion der Positiv- und Negativkontrollen erfolgte durch das Computerprogramm xcheck® 3.2 der Firma IDEXX, Ludwigsburg.

Als positive Werte gibt der Hersteller aMPV Titer von größer als 396 an.

4.2.6. RNA-Extraktion

Zur Präparation der RNA aus den Trachealtupfern und Kloakentupfern wurden zwei Protokolle verwendet. Bei beiden Protokollen wurde die RNA-Präparation mit dem Extraktionskit QIAamp® Viral RNA Mini Kit (Fa. Qiagen, Hilden) durchgeführt. Die Protokolle unterscheiden sich dadurch, dass die Präparation entweder per Hand oder automatisch mithilfe des Qiacube® (Fa. Qiagen, Hilden) durchgeführt wurde.

4.2.6.1. Manuelle RNA-Extraktion

Die tiefgefrorenen Tupferproben wurden bei Raumtemperatur 30 Minuten lang aufgetaut. Das Material von jeweils 5 Tupferproben wurde in einem 2 ml Eppendorfgefäß (5er Pool) mit 800 µl PBS-Puffer unter gleichmäßiger, leichter Rotation für ca. 1 Minute ausgeschwämmt. Für jede der zu untersuchenden 5er Pool-Proben wurde in einem 2 ml Eppendorfgefäß ein Gemisch aus 560 µl AVL Puffer und 5,6 µl Carrier RNA in AVE-Puffer frisch vorbereitet. Dieses Gefäß wurde verschlossen und 10 mal mit der Hand geschwenkt. Dem AVL Puffer - Carrier RNA in AVE-Puffer-Gemisch wurde 140 µl von dem vorher in PBS aufgelösten Probenmaterial zugegeben. Nach einem ca. 15-sekündigen Vortexvorgang, einer Inkubationszeit von 10 Minuten bei Raumtemperatur und einem kurzen Anzentrifugieren der Probe wurde im nächsten Schritt 560 µl Ethanol absolut reinst zugegeben. Nach einem erneuten 15-sekündigen Vortexen und kurzem Anzentrifugieren wurden 630 µl des Ansatzes auf eine Säule (QIAamp® Mini Spin Columns (silica-gel-based membrane) (Fa. Qiagen)) gegeben. Die Probe wurde dann für 1 Minute bei 8000 rpm zentrifugiert. Die Säule wurde anschließend in ein neues Sammel tube gesteckt. Der Vorgang wurde mit den restlichen 630 µl des Probengemisches wiederholt. Auf die Säule wurde anschließend 500 µl des AW1-Waschpuffers gegeben. Danach wurde die Säule erneut bei 8000 rpm eine Minute lang zentrifugiert. Nachdem die Säule erneut in ein neues Sammel tube überführt wurde, erfolgte die Zugabe von 500 µl des AW2-Waschpuffers. Daraufhin erfolgte ein 3-minütiger Zentrifugationvorgang bei 14000 rpm. Die Säule wurde schließlich auf ein 1,5 ml Eppendorfgefäß gesteckt und mit 60 µl AVE Puffer

versetzt. Nach einer letztmaligen 1-minütigen Inkubationszeit bei Raumtemperatur, gefolgt von einer 1-minütigen Zentrifugation bei 8000 rpm, wurde das in der RNA Präparation gewonnene Eluat für die anschließende RT-PCR-Untersuchung auf Eis verbracht oder bei -80°C eingefroren. Bei jeder RNA Präparation wurde eine negative Präparationskontrolle (PBS – Puffer) mitgeführt. Zusätzlich wurde stichprobenartig eine positive Präparationskontrolle aus entweder RNA des aMPV-Subtypes A oder B mitpräpariert. Der gesamte RNA Präparationsvorgang wurde unter einer mikrobiologischen Werkbank (Klasse 2) durchgeführt.

4.2.6.2. Automatische RNA Extraktion mittels Qiacube®

Die Auflösung des an den Tupfern anhaftenden Materials in PBS-Puffer erfolgte analog wie unter 3.2.6.1 beschrieben.

Daraufhin wurde das Gerät mit den nötigen 1000 µl Pipetten und Chemikalien (AVL-Puffer, Ethanol absolut reinst, Wachpuffer AW1 und AW2, AVE Puffer, Carrier RNA in AVE) an den dafür vorgesehenen Positionen bestückt. Der Rotoradapter wurde den Herstellerangaben entsprechend mit den Säulen und den dafür vorgesehenen 1,5 ml Eppendorffgefäße (Fa. Sarstedt, Nümbrecht) bestückt und im Qiacube installiert. Zum Schluss wurden 140 µl der Probe, die vorher in 2 ml Schraubgefäßen (Fa. Sarstedt, Nümbrecht) einpipettiert wurden, an die dafür vorgesehenen Positionen im Shakermodul gesteckt. Danach wurde das Gerät verschlossen und das entsprechende Programm für die RNA-Präparation eingestellt. Die RNA-Präparation verlief dann voll automatisch. Mit dem gewonnenen Eluat wurde wie unter 3.2.6.1. weiterverfahren.

4.2.7. RT-PCR-Untersuchung

Die RT-PCR-Untersuchungen der Tupferproben erfolgte im Institut für Geflügelkrankheiten des Fachbereiches Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin unter Verwendung der dort entwickelten Methode (Haarländer, 2005).

Mit dem gewonnenen Eluat aus der RNA-Extraktion wurde im ersten Schritt eine one step RT-PCR durchgeführt. Dabei wurden RNA zunächst in eine cDNA transkribiert. Mit Hilfe des aMPV spezifischen Primerpaares G3++ und G446- entstand ein aMPV-spezifisches DNA Fragment mit einer Länge von 446 Basenpaaren (bp). Im zweiten Schritt wurde mit diesem Fragment eine nested-PCR mit den aMPV-Subtyp A und B spezifischen Primern Bmod+, A+ und X- durchgeführt. Im Falle eines Vorhandenseins von RNA des aMPV Subtyps A wurde ein

Amplifikat mit einer Länge von 187 bp, und im Falle eines Vorhandenseins von Genom des aMPV-Subtyps B entstandenes Amplifikat mit einer Länge von 316 bp vervielfältigt.

4.2.7.1. Durchführung der One step PCR (1.PCR)

Zunächst wurde der one step Mastermix für die reverse Transkription und 1. PCR hergestellt. Für jede zu untersuchende Probe wurde folgender Ansatz verwendet:

5 µl	OneStep RT-PCR Puffer
1 µl	dNTP Mix
2 µl	OneStep RT-PCR Enzyme Mix
5 µl	Q-Solution
2 µl	Primer G3++/ G446- (je 25pmol/µl)
6 µl	RNase freies Wasser
5 µl	RNA

Die verschiedenen Arbeitsschritte (Herstellung Mastermix, Zugabe RNA, Amplifikation) erfolgten räumlich getrennt. Die RNA, die Positivkontrollen, der one step Mastermix und das Reaktionsgemisch wurden während der gesamten Untersuchungszeit auf Eis gelagert.

Vor und nach dem Amplifikationsvorgang im Thermocycler wurden die Proben kurz anzentrifugiert. Für die initiale Reverse Transkription wurde das Reaktionsgemisch 30 Minuten bei 50°C im Thermocycler inkubiert. Um die Reverse Transkription zu stoppen, musste durch eine 15 minütige Temperaturerhöhung auf 95°C die reverse Transkriptase inaktiviert und die HotStarTaq DNS Polymerase aktiviert werden. Die Amplifikation erfolgte unter folgenden Bedingungen (Tab. 11):

Tab. 11 Thermocyclereinstellungen für die 1.PCR

Denaturierung	Anlagerung der Primer	Kettenverlängerung	Anzahl der Zyklen
94°C 1 min	60°C 1 min	72°C 2 min	25

Abschließend schloss sich zusätzlich eine einmalige 2 minütige finale Kettenverlängerung bei 72 °C an.

4.2.7.2. Durchführung der Nested PCR (2.PCR)

Zunächst wurde der Mastermix für die nested PCR hergestellt. Dabei wurden pro Probe je 2 μl des Primergemisches A+/ B+mod/ X- (je 25pmol/ μl) in ein Reaktionsgefäß aus dem Illustra®puReTaq Ready-to-Go PCR Beads-Kit pipettiert und mit 22 μl RNase freiem Wasser auf 24 μl Mastermix aufgefüllt. Danach wurden 1 μl des aus der 1. PCR synthetisierten Fragmentes (Probe) in 24 μl des zuvor hergestellten Mastermix gegeben. Der Mastermix und das Proben-Mastermix-Gemisch wurden während der gesamten Untersuchung auf Eis gelagert. Die verschiedenen Arbeitsschritte (Herstellung Mastermix, Zugabe DNA, Amplifikation) erfolgten räumlich getrennt Nach einer kurzen Anzentrifugation wurde das Reaktionsgefäß mit dem Proben-Mastermix-Gemisch in den Thermocycler eingesteckt. Nach Beendigung der Amplifikation wurden die Proben nochmal kurz anzentrifugiert.

Folgendes Temperaturprofil wurde verwendet (Tab. 12):

Tab. 12 Temperaturprofil des Thermocyclers für die 2.PCR

Initiale Denaturierung	Denaturierung	Anlagerung der Primer	Kettenverlängerung	Finale Kettenverlängerung	Anzahl der Zyklen
94°C 2 min	94°C 1 min	63°C 1 min	72°C 2 min	72°C 2 min	30

4.2.8. Durchführung der Gelelektrophorese

Zur Analyse der 2. PCR wurde eine Gelelektrophorese im Overflowverfahren durchgeführt. Zunächst wurde ein 1,5%iges Gelelektrophorese-Agar-Gel hergestellt. Dafür wurden 1,5g Agarose in 100 ml 1 x TBE-Puffer gelöst und in der Mikrowelle 2-4 Minuten im Erlenmeyerkolben erhitzt. Nach Lösen der Agarose wurden 2 μl Ethidiumbromid zugesetzt. Nach einer kurzen Abkühlzeit wurde die Agarose in einem Gelträger gegossen. Nach einer Abkühlzeit von 30 bis 45 Minuten wurde das nun fest gewordene Gel in eine Gelkammer überführt und mit 1 x TBE-Puffer bis zum maximalen Füllpunkt aufgefüllt. Danach wurden für jede 5 μl PCR-Produkt mit 1 μl Stop Mix versetzt und in die Vertiefungen des Gels einpipettiert.

Für jedes Gel wurden in einer oder zwei Vertiefungen je 8 μl des 100 bp-Basenpaarmarker eingebracht. Die Gelelektrophorese wurde dann bei 70 Volt für 90 Minuten durchgeführt.

Das Gel wurde anschließend mit Hilfe des Videodokumentationssystems fotografiert und als Bilddatei zur Dokumentation gespeichert.

4.2.9. Statistische Methoden

4.2.9.1. Darstellung der Ergebnisse

4.2.9.1.1. Darstellung der Ergebnisse der RT-PCR-Untersuchung

Die aMPV-spezifischen RNA-Nachweise aus der RT-PCR-Untersuchung sind im Anhang für alle Versuchsherden sowohl für die untersuchten Trachealtupferproben als auch für die untersuchten Kloakentupfer tabellarisch dargestellt (Tabelle 17-10).

Es sind für die Trachealtupferproben und für die Kloakentupferproben je zwei Tabellen erstellt worden. Für alle Tabellen gilt Folgendes: In den Spalten der obersten Reihe sind jeweils das Alter der Herde zum Zeitpunkt der Probenahme in Wochen angegeben. Die Buchstabenkombinationen BBB, BBA, AAA und AAB in den Zeilen der ersten Spalte stehen für die vier Versuchsgruppen. Die Zahlen in den Spalten der untersten Reihe stehen für die Ställe der Versuchsgruppen, der Buchstabe „I“ signalisiert die Impfzeitpunkte. Die grau unterlegten Felder in den entsprechenden Feldern bei der Versuchsherde BBB (2 Ställe) und BBA (3 Ställe) bedeuten, dass bei diesen Gruppen Stall 3 und 4 bzw. Stall 4 nicht vorhanden waren.

Die Felder in denen ein rot unterlegtes „B“ bzw. ein blau unterlegtes „A“ eingetragen sind, stellt den Zeitpunkt der aMPV-Lebendimpfung des jeweiligen Subtyp A oder B dar. Die weiß unterlegte Buchstaben „A“ und „B“ stehen für den Zeitpunkt der aMPV-Inaktivatimpfung. Rot unterlegte Felder ohne Buchstaben oder Zahl in den Feldern der Ställe für die jeweilige Versuchsgruppe stehen für einen RNA-Nachweis (eins von zwei 5er Pools) des aMPV Subtyps B. Dementsprechend stehen blau unterlegten Felder ohne Buchstaben oder Zahl für einen aMPVspezifischen RNA-Nachweis (eins von zwei 5er Pools) des Subtyps A. Ist in einem blau oder rot unterlegten Feld die Zahl „2“ eingetragen, so reagierten hier beide 5er Pools in der RT-PCR-Untersuchung für den jeweiligen Subtyp positiv.

In den beiden Tabellen (Tab.19 und 20), in denen die Ergebnisse der Untersuchung der Kloakentupferproben aufgeführt sind, wurden die Felder mit einem „n“ versehen, zu deren Untersuchungszeitpunkt keine RT-PCR-Untersuchung der Kloakentupfer durchgeführt wurde.

4.2.9.1.2. Darstellung der ELISA-Titer (0.LW-57./ 60.LW)

Im Ergebnisteil werden die Ergebnisse der serologischen ELISA-Verlaufsuntersuchung in den Abbildungen 3-4, 7-7, 13-16, 21-24 in 13 Diagrammen für jeden Stall der vier Versuchsherden dargestellt. Um alle Daten eines Blutentnahmezeitpunktes ohne

Informationsverlust darstellen zu können, wurden die ELISA-Titerwerte als Box-and-Whisker-Plots dargestellt. Es wurde diese Form der Darstellung für die Titerwerte gewählt, da keine Aussagen über die Verteilung der Messwerte im Voraus gemacht werden konnten. In den statistischen Auswertungsverfahren müssen auch schief verteilte Messwertgruppen, die also nicht einer Normalverteilung folgen, berücksichtigt werden (verteilungsunabhängige Verfahren).

Für die Charakterisierung der Wertegruppe durch eine Zahl wurde der Median verwendet. Zur Bestimmung des Median wurden die vorliegenden Einzeltiterwerte in einer Reihenfolge angeordnet. Bei 23 Proben ist der 12. Wert der Median. Bei 10 Proben ist der Median das arithmetische Mittel aus dem 5. und 6. Wert.

Die aufsteigend geordneten Werte eines Untersuchungszeitpunktes sind in Teile (Quantile) zerlegbar. Wird die Probenanzahl in 4 Teile zerlegt, entstehen 3 Trennpunkte (Quartile). Das erste Quartil teilt das untere Viertel von den oberen Dreivierteln. Das zweite Quartil ist identisch mit dem Median. Oberhalb und unterhalb dieses Wertes befinden sich 50 % der Werte einer Wertegruppe. Diese Grenzen sind im Box-und-Whisker-Plot eingezeichnet. Das Rechteck (Plot) wird unten vom 1. Quartil und oben vom 3. Quartil begrenzt. Die Trennlinie innerhalb des Plots zeigt den Median an. Innerhalb des Plots befinden sich 50% der Werte. An dessen Lage ist die Verteilung der Einzelwerte abschätzbar. Wird die Wertegruppe nicht in 4 sondern in 10 Teile zerlegt, entstehen 9 Trennlinien (Fraktile). Das untere und das obere Fraktile wird durch über die Plots hinausragende Linien (Whisker [engl.: Schnurrhaar]) mit den Begrenzungslinien dargestellt. Die Länge des Whiskers zeigt den Bereich an in dem 80% der Messwerte liegen. Die Punkte, die sich am weitesten entfernt über und unter dem Box-and-Whisker-Plots befinden, begrenzen den Bereich, in dem sich 100% der Messwerte befinden.

Auf der Ordinate (y-Achse) sind die Titer als Skala eingetragen. Das Alter in Lebenswochen des jeweiligen Blutentnahmezeitpunktes ist auf der unteren Abszisse (x-Achse) ablesbar. Unterhalb der oberen Abszisse sind mit blauem „A“ und rotem „B“ die aMPV-spezifischen RNA-Nachweise des jeweiligen Subtyps zum jeweiligen Probenentnahmezeitpunkt dargestellt. Alle Box-and-Whisker-Plots mit hellgrauen Plots markieren ELISA-Titerwerte von der 3.LW bis zur 57./60.LW. Diesen Box-and-Whisker-Plots liegen 10 Einzeltiter der jeweiligen Ställe einer Versuchsherde zu Grunde (n=10). Die Box-and-Whisker-Plots mit dunkelgrauengrauen Plots wurden aus den 23 Einzeltiterwerten pro Versuchsherde (n=23) der Blutentnahme am

Einstellungstag (0.LW) gebildet. Demzufolge sind diese Box-and-Whisker-Plots bei jedem Diagramm der einzelnen Ställe einer Versuchsherde gleich.

Die Zahl oberhalb eines jeden Box-and-Whisker-Plots in den Abbildungen entspricht dem Median der Titerwertgruppe.

Die zu dem Zeitpunkt der 8. und 14.LW verlaufenden senkrechten, durchgezogenen Linien von der unteren Abszisse zur oberen Abszisse, markieren den Zeitpunkt der aMPV-Lebendimpfung. Blaue Linien stehen dabei für eine durchgeführte aMPV-Lebendimpfung des Subtyps A und rote Linien bedeuten die Verwendung des aMPV-Lebendimpfstoffes des Subtyps B. In der 18. Lebenswoche befindet sich in jedem Diagramm eine gestrichelte Linie, die von der unteren Abszisse zur oberen Abszisse verläuft. Diese gestrichelte Linie markiert den Zeitpunkt der aMPV-Inaktivimpfung. Die Bedeutung der Färbung entspricht der Markierungen der aMPV-Lebendimpfungen.

Die Ursprungsdaten der Elisa-Titerwerte der 10 untersuchten Serumproben pro Stall mit dem dazugehörigen Medianwert von der 3.LW bis zur 57. bzw. 60.LW sind in den Tabellen 15-18 des Anhangs für jede Versuchsherde stallweise aufgeführt.

Die ELISA-Titerwerte der 23 untersuchten Serumproben pro Versuchsherde bei der Einstellungsuntersuchung (0.LW), inklusive dem entsprechendem Medianwert, befinden sich in Tabelle 21 im Anhang.

4.2.9.1.3. Darstellung der Ergebnisse der RT-PCR-Untersuchung, ELISA-Titer und Produktionsparameter (25.LW-57./ 60.LW)

Bei der zusammenfassenden Darstellung der Ergebnisse aus der RT-PCR-Untersuchung, der Ergebnisse der ELISA-Untersuchung und den Produktionsparametern Legeleistung je Resthenne und Abgänge je Resthenne mit den entsprechenden Integrationsstandardwerten wurden 13 Diagramme für jeden Stall der vier Versuchsgruppe erstellt (Abb. 5-6, 10-12, 17-20, 25-28).

Auf der unteren Abszisse (x-Achse) ist das Alter des jeweiligen Probenentnahmezeitpunktes aufgetragen. Die Titerwerte aus der ELISA-Untersuchung sind analog wie unter 4.7.2. beschrieben als Box-and-Whisker-Plots dargestellt. Die linke Ordinate (y-Achse) gibt das Skalenniveau für die Titerwerte wieder. Die rechte Ordinate gibt das Skalenniveau für die Prozentwerte der Grafen für die Produktionsparameter. Die Zahl oberhalb eines jeden Box-and-Whisker-Plots in den Abbildungen entspricht dem Median der Titerwertgruppe.

Der blaue Buchstabe „A“ oder der rote Buchstabe „B“ unterhalb der oberen Abszisse steht für einen aMPV spezifischen RNA-Nachweis aus den Trachealtupferproben des jeweiligen Subtyps zum jeweiligen Untersuchungszeitpunkt (siehe untere Abszisse).

Die Rohdaten der Produktionsparameter sind in den Tabellen 22-38 im Anhang für jeden Stall der vier Versuchsherden aufgeführt.

4.2.9.2. Mann-Whitney-Test (U-Test)

Um signifikante Erhöhungen hinsichtlich der Lage der ELISA Titerwerte innerhalb eines Stalles von einem Untersuchungszeitpunkt (x) zum darauffolgenden nächsten Untersuchungszeitpunkt (x+3Wochen) zu erkennen, wurde als verteilungsunabhängiger (parameterfreier) statistischer Test der Mann-Whitney-Test (U-Test) verwendet. Dieser Test wurde gewählt, da nicht von einer Normalverteilung der Titer innerhalb einer Wertegruppe ausgegangen werden kann. Bei den Verlaufsuntersuchungen wurden nicht dieselben Tiere pro Untersuchungszeitpunkt beprobt (unverbundene Stichproben).

Beim U-Test werden die Einzelwerte der zu vergleichenden zwei Messwertgruppen zunächst gemeinsam betrachtet und der Größe nach geordnet, um somit jedem Einzelwert einen Rang innerhalb der zwei zu vergleichenden Messwertgruppen zuzuordnen. Dadurch kann für jede der beiden zu vergleichenden Messwertgruppen eine Rangsumme gebildet werden. Mit Hilfe der beiden Rangsummen und der Stichprobengröße der beiden Messwertgruppen (m und n) wird ein U-Wert berechnet. Dieser errechnete U-Wert (U) wird dann mit einem tabellarischen U-Wert (U*) verglichen. Der tabellarische U-Wert (U*) ist dabei abhängig von der Anzahl der Stichproben der beiden zu vergleichenden Messwertgruppen (m und n) und der Irrtumswahrscheinlichkeit (α).

In den für den Vergleich der ELISA-Titer verwendeten Mann-Whitney-Tests war die Stichprobenzahl der zu vergleichenden Messwertgruppen $m=n=10$. Es wurde mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $\alpha=0,05$ gearbeitet. Es ergibt sich somit für alle durchgeführten Tests ein kritischer U-Wert (U*) von 23. Für jeden der durchgeführten Tests gelten folgende Hypothesen:

- H_0 = die Lage der Titerwerte einer Lebenswoche x stimmt mit der Lage der Titerwerte Lebenswoche (x+3 Wochen) innerhalb der untersuchten Ställe überein.

- H_1 = die Lage der Titerwerte einer Lebenswoche x und der Titerwerte einer Lebenswoche ($x+3$ Wochen) unterscheiden sich hinsichtlich ihrer Lage von dem jeweiligen Untersuchungszeitpunkt innerhalb eines Stalles.

Ist $U \leq U^*$, so wird H_0 bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $\alpha=0,05$ verworfen.

Ist $U > U^*$, so wird H_0 bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $\alpha=0,05$ nicht verworfen.

Um die Anzahl der zu testenden Wertegruppen so gering wie möglich zu halten, wurde der Mann-Whitney-Test nur für solche Wertegruppen angewendet, bei denen aufgrund der dargestellten Box-and-Whisker-Plots eine Erhöhung der Titerwerte zu erahnen war. Dadurch sollte die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten eines Fehlers der zweiten Art durch Verringerung der Anzahl der angewendeten Tests minimiert werden. Die Wahrscheinlichkeit (p) ließ sich im Statistikprogramm direkt berechnen. Dabei gilt bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $\alpha=0,05$, dass H_0 abgelehnt wird, wenn $p < \alpha$. Ist $p \geq \alpha$, so kann H_0 nicht verworfen werden.

Für die Durchführung des Mann-Whitney-Tests wurde das Computerprogramm Sigma Plot verwendet. Die Grafiken wurde mithilfe von Sigma Plot und Microsoft Power Point erstellt.

5. Ergebnisse

5.1. Versuchsherde 1 BBB

5.1.1. Ergebnisse RT-PCR-Untersuchung

Trachealtupfer:

Aufzuchtperiode (0.LW-24.LW):

In der 9. Lebenswoche, eine Woche nach der ersten aMPV-Subtyp B Lebendimpfung, konnte im Stall 2 virale RNA des aMPV-Subtyp B nachgewiesen werden. Aus den Proben des darauffolgenden Untersuchungszeitpunktes in der 12. Lebenswoche wurde virale RNA des aMPV-Subtyp A sowohl in Stall 1 als auch in Stall 2 detektiert (Tab. 17).

Produktionsperiode (25.LW-57.LW):

Es konnte während der gesamten Produktionsphase in beiden Ställen keine aMPV spezifische virale RNA nachgewiesen werden (Tab. 18).

Kloakentupfer:

Bei allen untersuchten Kloakentupfern (0.LW-15.LW) konnte keine virale RNA des aMPV nachgewiesen werden (Tab. 19 und 10).

5.1.2. Ergebnisse ELISA Untersuchung

Alle untersuchten Küken besaßen in der 0.LW maternale Antikörper, wobei die Einzeltiterwerte zwischen 2219 und 35581 lagen.

In der 3.LW sind alle Titer aus Stall 2 im negativen Bereich. Im Stall 1 reagieren in der 3.LW zwei von zehn Serumproben positiv (Titerwerte > 396) mit niedrigen Titerwerten (451, 610). Bis zur 9.LW, mit einer Ausnahme in der 6.LW im Stall 2, liegen alle Titerwerte im negativen Bereich. In der 12.LW kommt es zu einem signifikanten Anstieg der Titerwerte in beiden Ställen im Vergleich zur 9.LW ($p \leq 0,001$). Alle Serumproben reagieren positiv. In der 15.LW ist in beiden Ställen ein signifikanter Anstieg (Stall 1, $p = 0,003$; Stall 2, $p \leq 0,001$) der Titerwerte im Vergleich zur 12.LW zu verzeichnen.

Ergebnisse

Zwischen der 15.LW und der 18.LW konnte in beiden Ställen kein signifikanter Unterschied der Titer hinsichtlich ihrer Lage nachgewiesen werden.

Nach der Inaktivatimpfung in der 18.LW ist in der 24.LW in beiden Ställen ein signifikanter Anstieg der Titer im Vergleich zur 18.LW nachweisbar ($p \leq 0,001$). In der 24.LW liegt der Median der Messwerte in Stall 1 bei 35783 und im Stall 2 bei 39513.

Eine signifikante Erhöhung innerhalb eines Stalles hinsichtlich der Lage der Messwerte zwischen 2 Untersuchungszeiträumen konnte im Stall 2 zwischen der 51.LW und der 54.LW nachgewiesen werden ($p = 0,010$). Hierbei stieg der Median von 19375,5 auf 31462.

Tendenziell ist in beiden Ställen kein stetiger Rückgang der Werte zum Ende der Produktionsphase hin erkennbar.

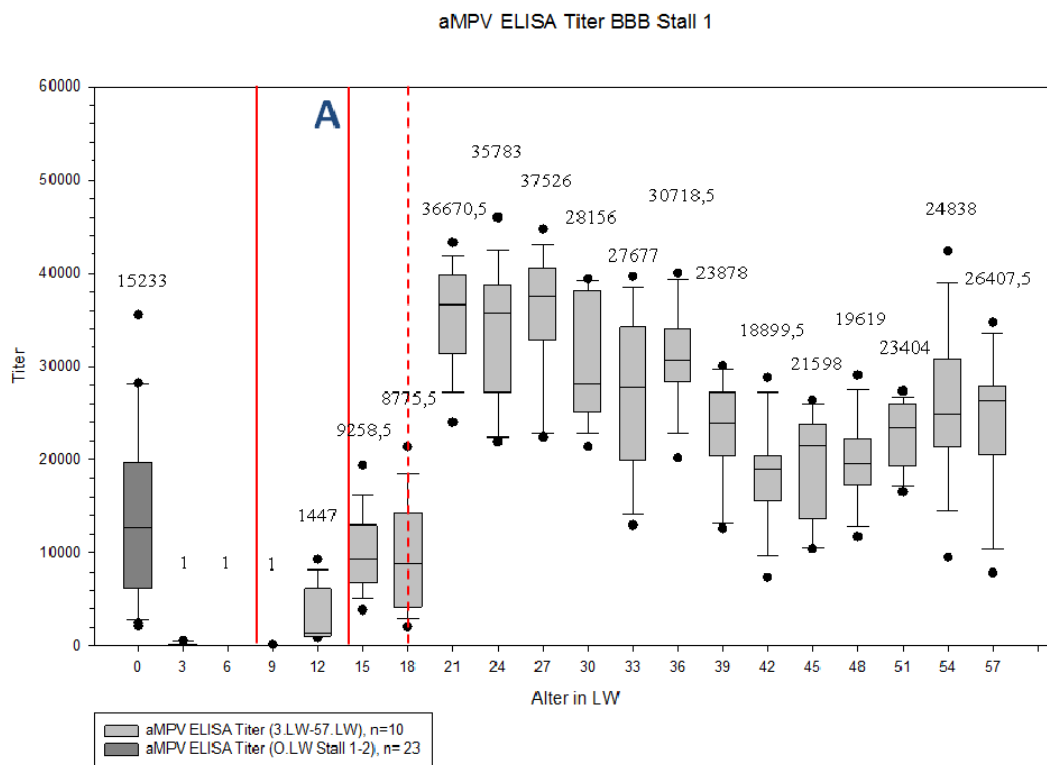


Abb. 3 aMPV ELISA-Antikörpertiterwerte Versuchsherde 1 (BBB) Stall 1

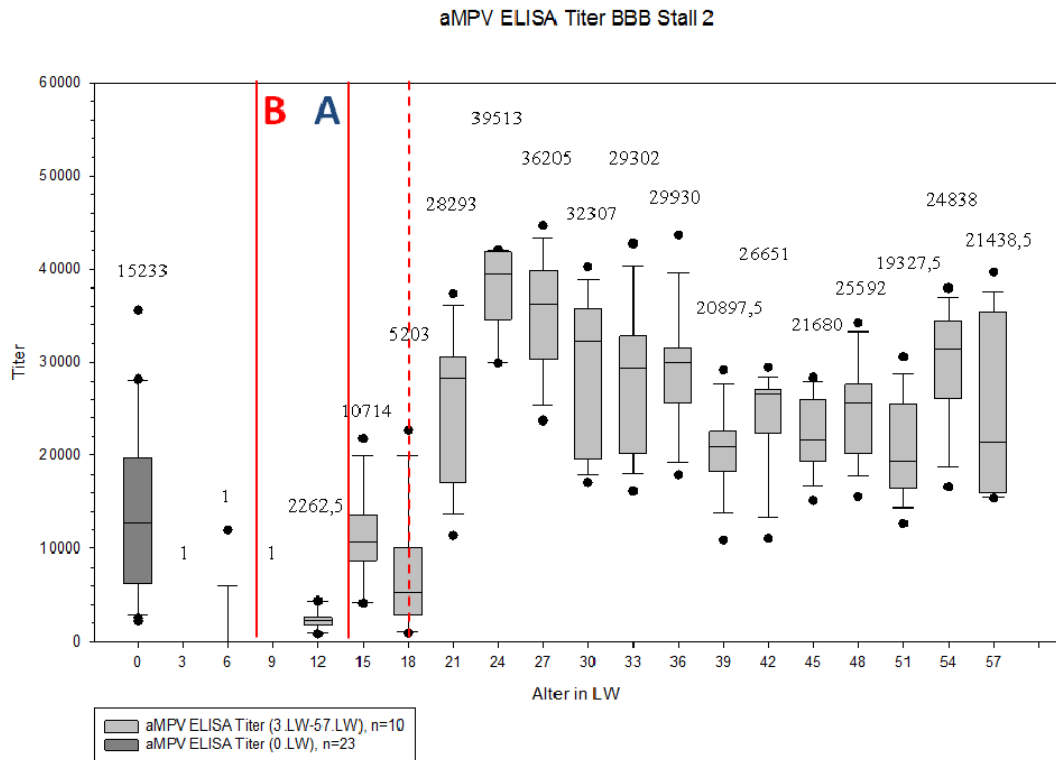


Abb 4 aMPV ELISA-Antikörpertiterwerte Versuchsherde 1 (BBB) Stall 2

5.1.3. Klinische und pathologisch-anatomische Befunde Produktionsphase (ab 25.LW)

In beiden Ställen konnten keinerlei Krankheitssymptome festgestellt werden, die zu einem Verdacht einer Infektion mit dem aMPV führten. Es kam zu keiner Zeit zu einer Depigmentierung der Eischale. In Stall 2 wurde einmalig in der 28.Lebenswoche eine Behandlung wegen Dysbakterie (Durchfall) durchgeführt. Die erhobenen Sektionsbefunde aus Stall 2 sind in Tabelle 13 dargestellt. Im Stall 1 wurden keine Sektionen durchgeführt.

Tab.13 Sektionsbefunde Hennen Versuchsherde (BBB)
Stall 2

Diagnose	Prozentualer Anteil*
Kachexie, Gicht	41 %
Herz-Kreislauf-Versagen	22 %
Eileiter-Bauchfell-Entzündung	10 %
Legedarmvorfall	9 %
Synovitis	6 %
Dybakterie/ Enteritis	6 %
Sehnenruptur	6 %

*Anzahl durchgeführter Sektionen=33

5.1.4. Wirtschaftliche Parameter Produktion (ab 25.LW)

Legeleistung, wöchentliche Verlust-, Selektions- und Abgangsrate sind im Anhang in Tabelle 26 und 27 für Stall 1 und 2 zusammen mit den jeweiligen Integrationsstandardwerten aufgeführt. Die grafische Darstellung der Legeleistung und der wöchentlichen Abgänge mit den dazugehörigen Integrationsstandards erfolgt in Abbildung 5 und 6.

Im Stall 1 (Hennenlinie 2) lag die durchschnittliche Abgangsrate bei 0,19% pro Woche. Im Stall 2 (Hahnenlinie) lagen die Abgänge auf einem für die Zuchtlinie typischen höheren Niveau bei 0,55%. Beide Werte liegen unterhalb des jeweiligen Integrationsstandardwertes.

Die Legeleistung im Stall 1 lag während der gesamten Produktionsphase überwiegend oberhalb des Standards. Legeleistungsrückgänge im Stall 1 von über 1% im Vergleich zur Vorwoche abzüglich des Standardlegeleistungsrückganges waren in der 35.LW (-1,02%), 49.LW (-2,36%), 57.LW (-1,34%) und der 59.LW (-1,09%) zu verzeichnen.

Die Legeleistung im Stall 2 lag von der 27.LW bis zur 42.LW meist unterhalb des Standards. Legeleistungsrückgänge von über 1% im Vergleich zur Vorwoche abzüglich des Standardlegeleistungsrückganges lagen in der 37.LW (-1,08%) sowie in der 49.LW bis 51.LW (insgesamt -6,99%) vor.

5.1.5. Zusammenfassung aller erhobenen Daten Produktion (ab 25.LW)

Stall 1

Während der gesamten Produktionsperiode konnte keine virale RNA der aMPV Subtypen A oder B nachgewiesen werden. Es traten keine klinischen Symptome auf, die für eine aMPV Infektion sprachen. Signifikante Antikörpertiteranstiege konnten nicht nachgewiesen werden. Die Abgänge der Hennen insgesamt lagen im Durchschnitt unterhalb des Standards.

Legeleistungsrückgänge > 1% im Vergleich zur Vorwoche abzüglich des Standardrückganges gab es in der 35.LW, 49.LW, 57.LW und 59.LW.

Diese Legeleistungsrückgänge standen in keinem Zusammenhang mit einem signifikanten Antikörpertiteranstieg oder einem aMPV spezifischen RNA-Nachweis.

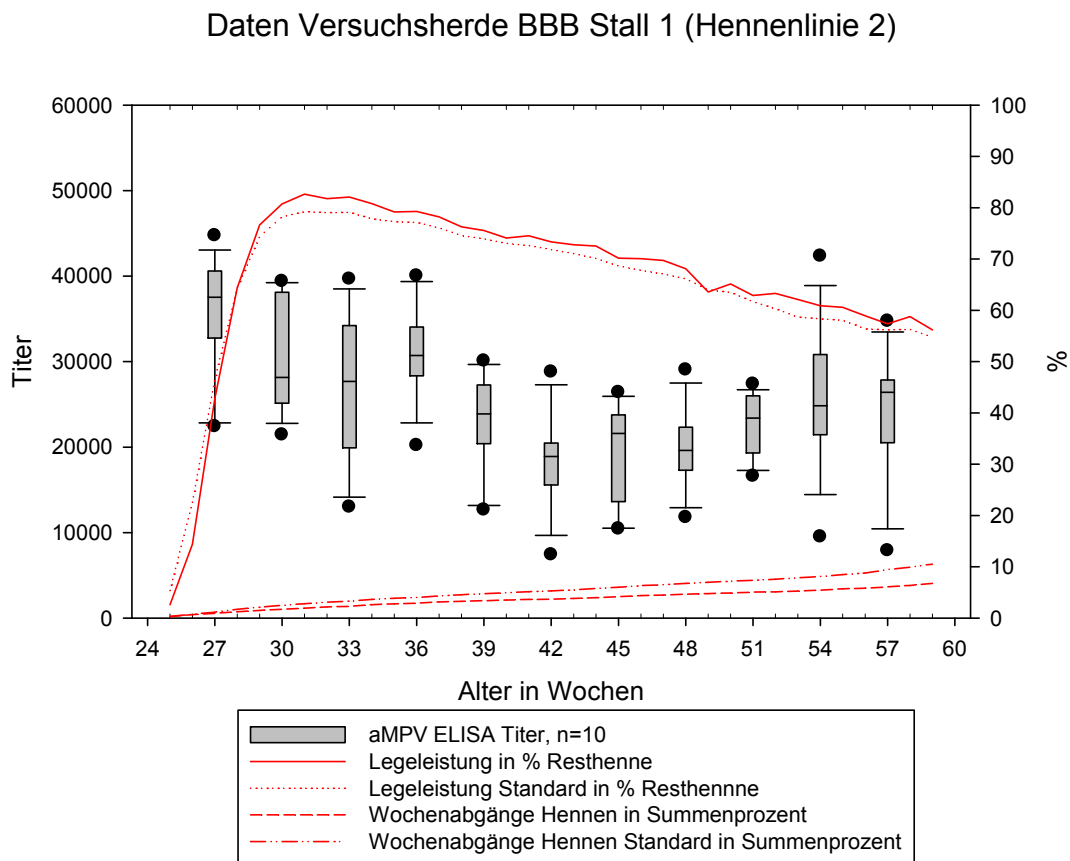


Abb. 5 aMPV RNA-Nachweise, aMPV ELISA-Titer, Legeleistung und Wochenabgänge Versuchsherde 1 BBB Stall 1 (Hennenlinie 2)

Stall 2

Wie im Stall 1 konnte auch im Stall 2 während der Produktion keine RNA des aMPV nachgewiesen werden. In der 54.LW kam es zu einer signifikanten Erhöhung der Antikörpertiter im Vergleich zur 51.LW ($p=0,010$). Legeleistungsrückgänge von $>1\%$ pro Woche abzüglich des Standardlegeleistungsrückganges waren in der 37.LW und 49.-51.LW (insgesamt $-6,99\%$) zu verzeichnen. Bei den klinischen Untersuchungen und den pathologisch-anatomischen Untersuchungen konnten während der gesamten Produktionsphase keine Hinweise für eine aMPV-Infektion festgestellt werden. Dem Legeleistungsrückgang zwischen der 49.-51.LW folgt ein signifikanter Anstieg der aMPV ELISA-Titer von der 51.LW auf die 54.LW.

Daten Versuchsherde BBB Stall 2 (Hahnenlinie)

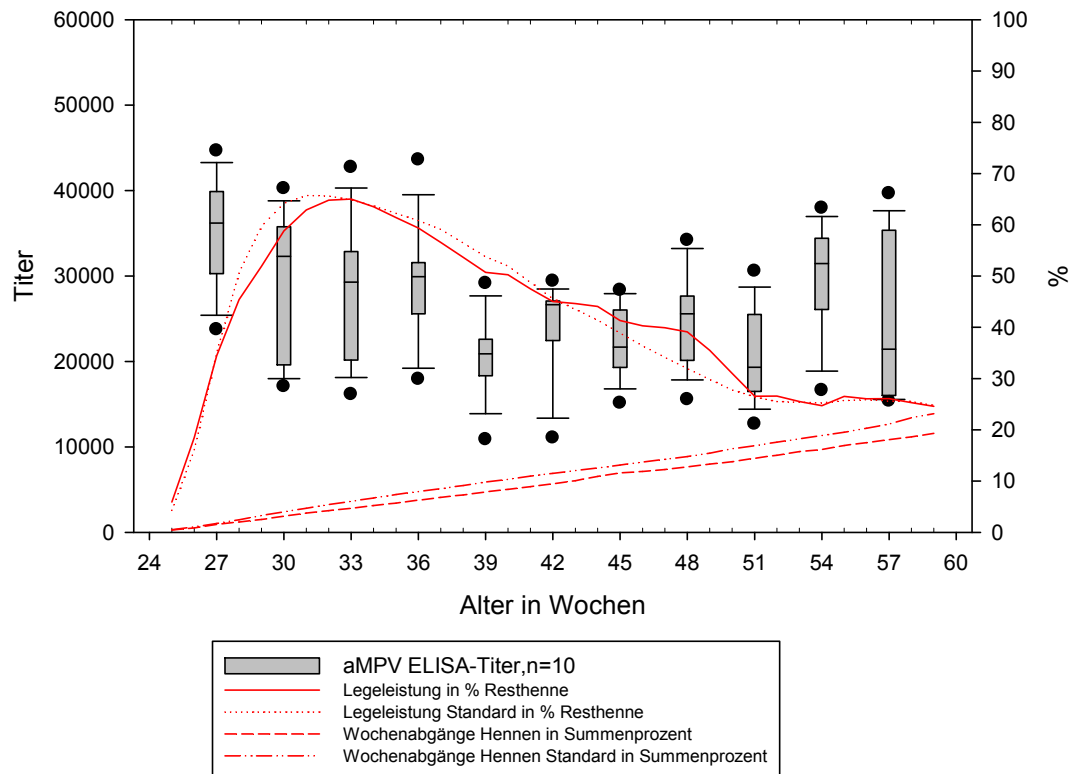


Abb. 6 aMPV RNA-Nachweise, aMPV ELISA-Titer, Legeleistung und Wochenabgänge Versuchsherde 1 BBB Stall 2 (Hahnenlinie)

5.2. Versuchsherde 2 BBA

5.2.1. Ergebnisse RT-PCR-Untersuchung

Trachealtupfer:

In der 9. Lebenswoche konnte aMPV-spezifische RNA des Subtyps B im Stall 1 nachgewiesen werden. Eine Lebendimpfung mit dem aMPV-Subtyp B erfolgte eine Woche zuvor in der 8. Lebenswoche (Tab. 17).

Innerhalb der Produktionsphase konnte in der 33. Lebenswoche RNA des aMPV Subtyp A aus Stall 1 detektiert werden. Aus Stall 2 und Stall 3 konnte während der gesamten Lebenszeit keinerlei aMPV-spezifische RNA nachgewiesen werden (Tab. 18).

Kloakentupfer:

Bei allen untersuchten Kloakentupfern (0.LW - 24.LW und 30.LW - 36.LW) konnte keine virale RNA des aMPV nachgewiesen werden.

5.2.2. Ergebnisse ELISA Untersuchung

In den Abbildung 7-9 sind die ELISA-Titerwerte für Stall 1-3 dargestellt. Die Einzelwerte für jeden Untersuchungszeitpunkt mit den entsprechenden Medianwerten sind im Anhang in den Tabellen 21 und 23 aufgeführt.

Die Untersuchung der Serumproben in der 0.LW zeigte, dass 22 von den 23 untersuchten Küken maternale Antikörper besaßen. Die positiven Einzeltiterwerte lagen dabei zwischen 412 und 20660.

Ab der 3.LW sind bis auf zwei Proben im Stall 1 alle untersuchten Blutproben im negativen Bereich.

In der 9.LW, eine Woche nach der 1. Subtyp B- Lebendimpfung, reagierten eine Probe im Stall 1 positiv (Titer 568) und eine Probe im Stall 3 positiv (Titer 696). Bis auf eine Blutprobe im Stall 1 reagieren alle Blutproben in der 12.LW positiv. Es liegt im Vergleich zur 9.LW ein signifikanter Anstieg der Titerwerte in allen Ställen vor ($p \leq 0,001$). In der 15.LW wurde im Vergleich zur 12.LW in den Ställen 1 und 3 ein signifikanter Anstieg der Titerwerte nachgewiesen ($p < 0,001$).

Ergebnisse

Im Stall 2 konnte keine signifikante Erhöhung nachgewiesen werden, was jedoch daran liegt, dass im Stall 2 die Werte in der 12.LW, im Vergleich zum Stall 1 und 3, mit einem Median von 4271,5 schon höher lagen.

Zwischen der 15.LW und der 18.LW konnte in allen drei Ställen kein signifikanter Unterschied hinsichtlich der Lage der Titer nachgewiesen werden.

In der 24.LW, sechs Wochen nach der Inaktivimpfung in der 18.LW, liegt in allen drei Ställen ein signifikanter Anstieg der Titerwerte im Vergleich zur 18.LW vor ($p \leq 0,001$). Die Mediane lagen dabei im Stall 1 bei 30249,5, im Stall 2 bei 25291 und im Stall 3 bei 17412,5.

Während der Produktionsphase konnte im Stall 1 von der 45.LW auf die 48.LW ein signifikanter Anstieg der Titerwerte nachgewiesen werden ($p=0,045$). Dem folgte zur 51.LW ein signifikanter Rückgang der Titerwerte ($p=0,004$). Ein tendenzieller Rückgang der Titerwerte zum Ende der Produktionsphase war in allen drei Ställen nicht erkennbar. In Stall 2 und 3 konnten während der gesamten Produktionsphase keine signifikanten Titererhöhungen nachgewiesen werden.

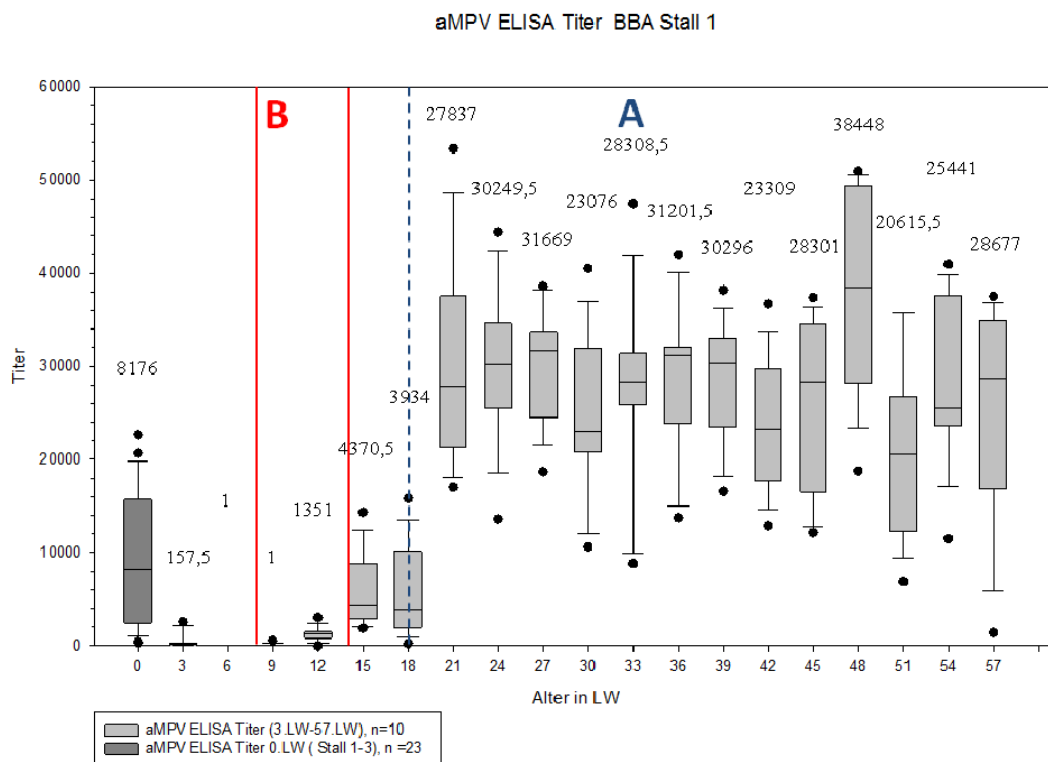


Abb. 7 aMPV ELISA-Titerwerte Versuchsherde 2 (BBA) Stall 1

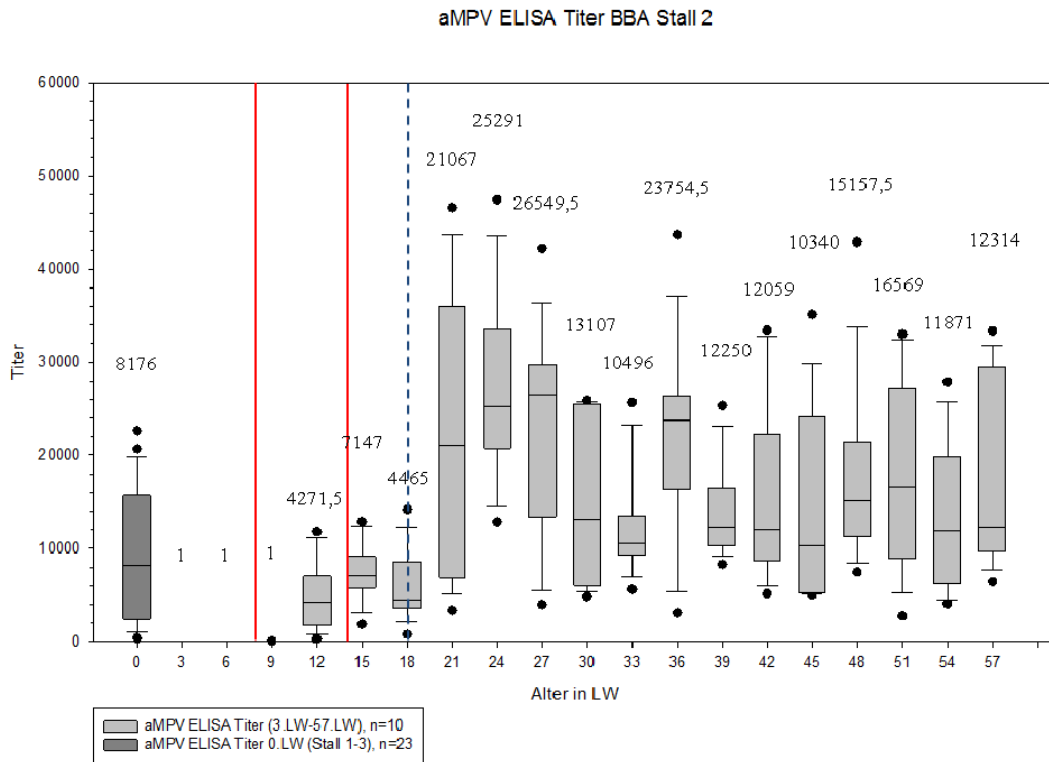


Abb. 8 aMPV ELISA-Titerwerte Versuchsherde 2 (BBA) Stall 2

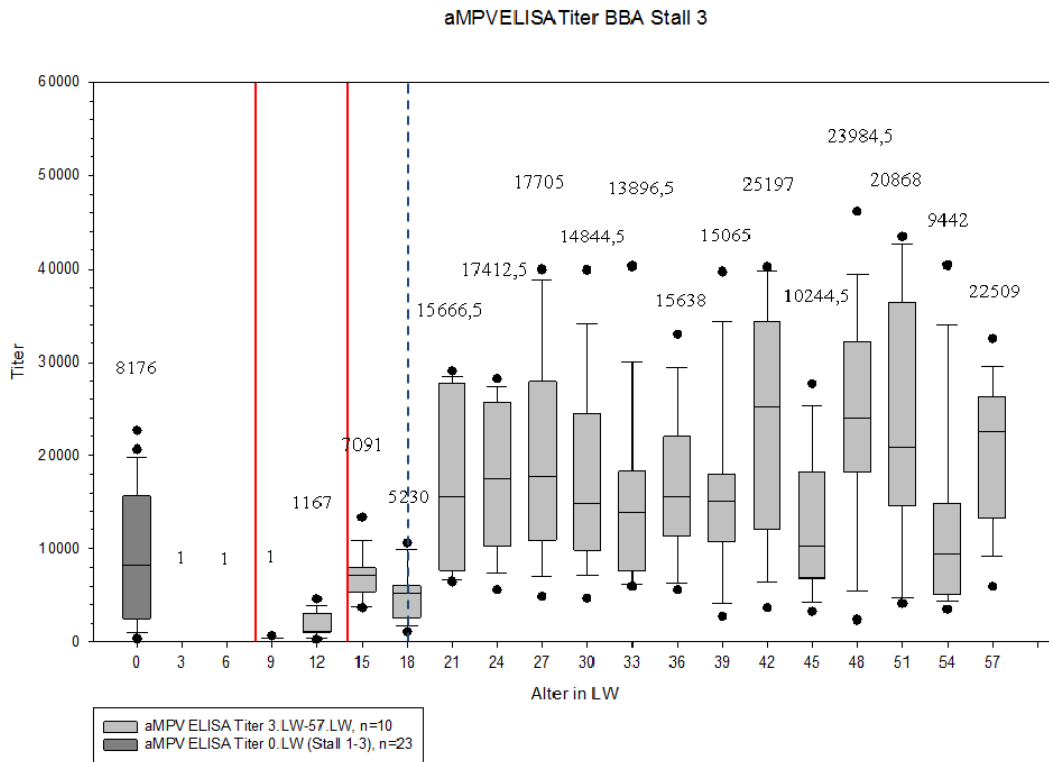


Abb. 9 aMPV ELISA-Titerwerte Versuchsherde 2 (BBA) Stall 3

5.2.2.1. Klinische und pathologisch-anatomische Befunde Produktion (ab 25.LW)

In allen 3 Ställen konnten keinerlei klinische Symptome festgestellt werden, die auf eine Infektion mit dem aMPV hindeuteten. Eine Depigmentierung der Eischale konnte zu keinem Zeitpunkt nachgewiesen werden. In Stall 1 musste zweimal in der 44.LW und in der 48.LW eine Durchfallbehandlung durchgeführt werden. Die routinemäßig erhobenen Sektionsbefunde aus Stall 1-3 sind in Tabelle 14 aufgeführt.

Tab. 14 Sektionsbefunde Versuchsherde (BBA) Stall 1-3

Diagnose	Prozentualer Anteil	Prozentualer Anteil	Prozentualer Anteil
	Stall 1 (64 Sektionen)	Stall 2 (18 Sektionen)	Stall 3 (26 Sektionen)
Kachexie, Gicht	24%	17%	27%
Herz- Kreislauf-Versagen	11%	66%	38%
Sehnenruptur	16%	6%	15%
Legedarmvorfall	9%	11%	4%
Eileiter- Bauchfell-Entzündung	8 %	-	8%
Synovitis	8%	-	-
Dybakterie/ Enteritis	9%	-	-
Verletzungen	8%	-	4%
Aszites	3%	-	-
Leberruptur	-	-	4%

5.2.2.2. Wirtschaftliche Parameter Produktion (ab 25.LW)

Legeleistung, Verlust-, Selektions-, und Abgangsrate sind im Anhang in den Tabellen 28-30 für Stall 1-3 aufgeführt. Die grafische Darstellung der Legeleistung und der Abgänge zusammen mit den jeweiligen Integrationsstandardwerten erfolgt in den Abbildungen 10-12.

Die Wochenabgänge hatten in allen Ställen einen stetigen Verlauf und lagen im Stall 1 (Hahnenlinie) bei einem Durchschnitt der wöchentlichen Abgänge mit 0,68% sehr nah am Integrationsstandard von 0,76%.

Die Wochenabgangsdurchschnittswerte im Stall 2 und 3 (Hennenlinie 1) lagen bei 0,24% und 0,28%. Beide Werte lagen dabei weit unter dem Integrationsstandard von 0,67%.

Legeleistungsrückgänge > 1% abzüglich des Standardrückgangs im Stall 1 (Hahnenlinie) gab es in der 37.LW-38.LW (insgesamt -3,64%), in der 41.LW (-1,52%) und in der 58.LW (-2,9%). Im Stall 2 (Hennenlinie 1) ergaben sich standardbereinigte Legeleistungsrückgänge über 1% in der 35.LW (-1,04%), 57.LW (-3,14%) und 59.LW (-1,67%). Im Stall 3 (Hennenlinie 1) lagen standardbereinigte Legeleistungsrückgänge über 1% in der 37.LW (-1,2%), 39.LW (-1,76%), 57.LW (-4,22%) und 59.LW (-2,49%) vor.

5.2.2.3. Zusammenfassung aller erhobenen Daten Produktion (ab 25.LW)

Stall 1

In der Produktionsphase konnte in der 33.LW RNA des Subtyps A nachgewiesen werden. Zu diesem Zeitpunkt waren weder klinische Erscheinungen im Stall erkennbar, die für eine aMPV Infektion sprechen würden, noch waren Depigmentierungen an den Eischalen erkennbar. Der RNA-Nachweis konnte in keinen zeitlichen Zusammenhang mit einer aMPV-Titererhöhung oder einem Rückgang der Legeleistung gebracht werden. Standardbereinigte Legeleistungsrückgänge > 1% erfolgten erst ab der 37.LW, 38.LW und in der 41.LW, ohne dass diesen jedoch ein signifikanter Titeranstieg oder RNA-Nachweis zugeordnet werden konnte.

Ein signifikanter Anstieg der aMPV-Antikörper erfolgte von der 45.LW auf die 48.LW ($p=0,045$), gefolgt von einem signifikanten Rückgang der Titerwerte von der 48.LW auf die 51.LW ($p=0,004$). Diesem Titeranstieg konnte kein aMPV spezifischer RNA-Nachweis und kein Legeleistungsrückgang zeitlich zugeordnet werden.

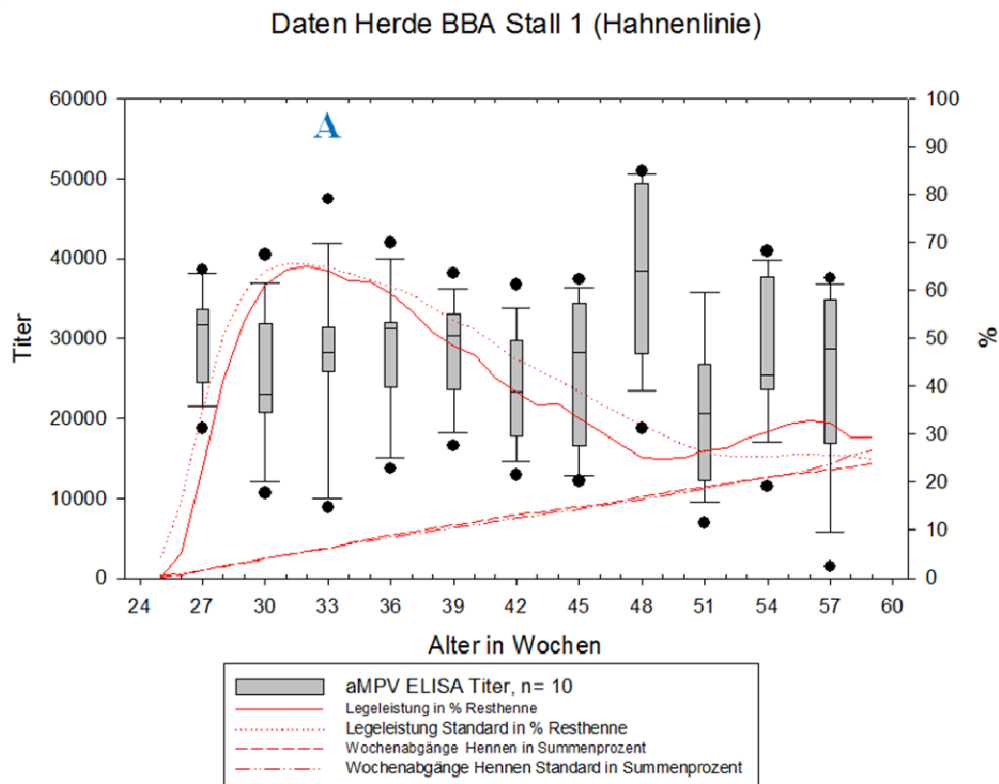


Abb. 10 aMPV RNA-Nachweise, aMPV ELISA Titer, Legeleistung und Wochenabgänge, Versuchsherde 2 BBA Stall 1 (Hahnenlinie)

Stall 2

Im Stall 2 konnte keine RNA des aMPV während der Produktionsphase nachgewiesen werden. Auch wurde kein signifikanter Anstieg der aMPV ELISA-Titer festgestellt. Den standardbereinigten Legeleistungsrückgängen $> 1\%$ in der 35.LW, 57.LW und 59.LW konnten keine RNA-Nachweise oder Antikörpertitererhöhungen zugeordnet werden.

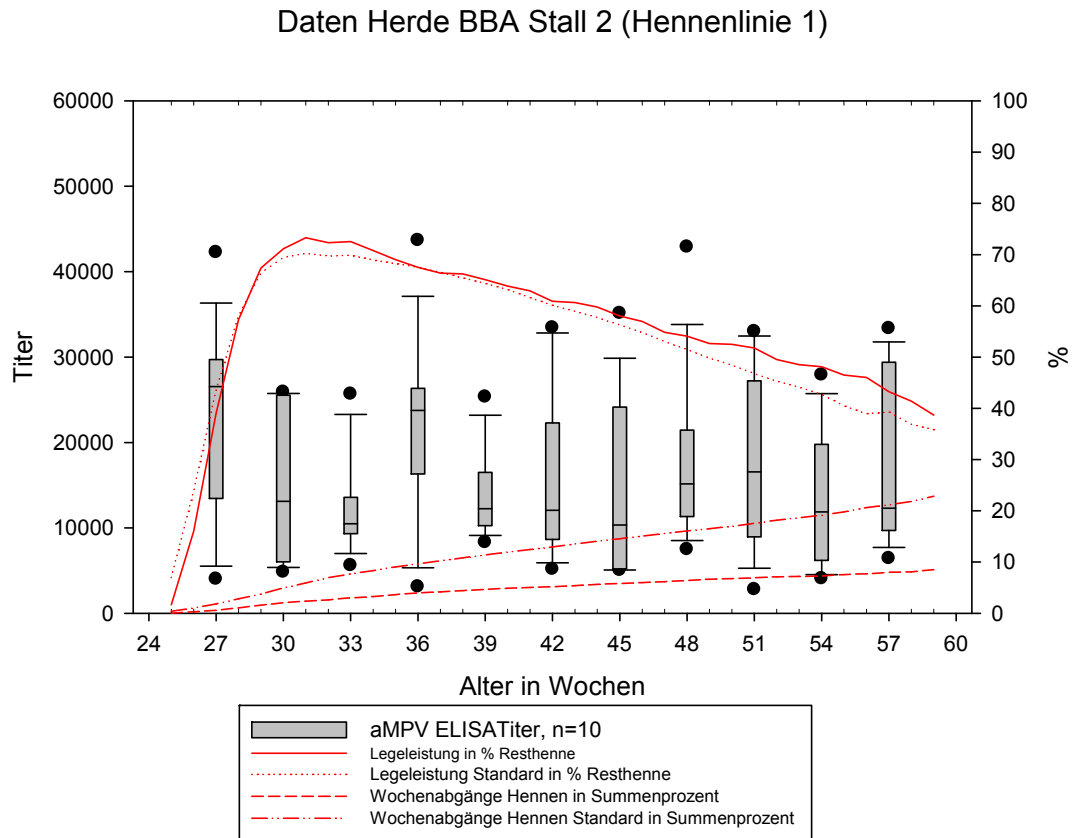


Abb.11 aMPV RNA-Nachweise, aMPV ELISA-Titer, Legeleistung und Wochenabgänge, Versuchsherde 2 BBA Stall 2 (Hennenlinie 1)

Stall 3

Wie in Stall 2 konnten keine aMPV spezifische RNA und keine signifikanten Antikörpertitererhöhung nachgewiesen werden. Die standardbereinigten Legeleistungsrückgänge von $> 1\%$ im Vergleich zur Vorwoche in der 37.LW, 39.LW, 57.LW und 59.LW standen in keinem Zusammenhang mit einem aMPV spezifischen RNA-Nachweis oder einer aMPV Titererhöhung.

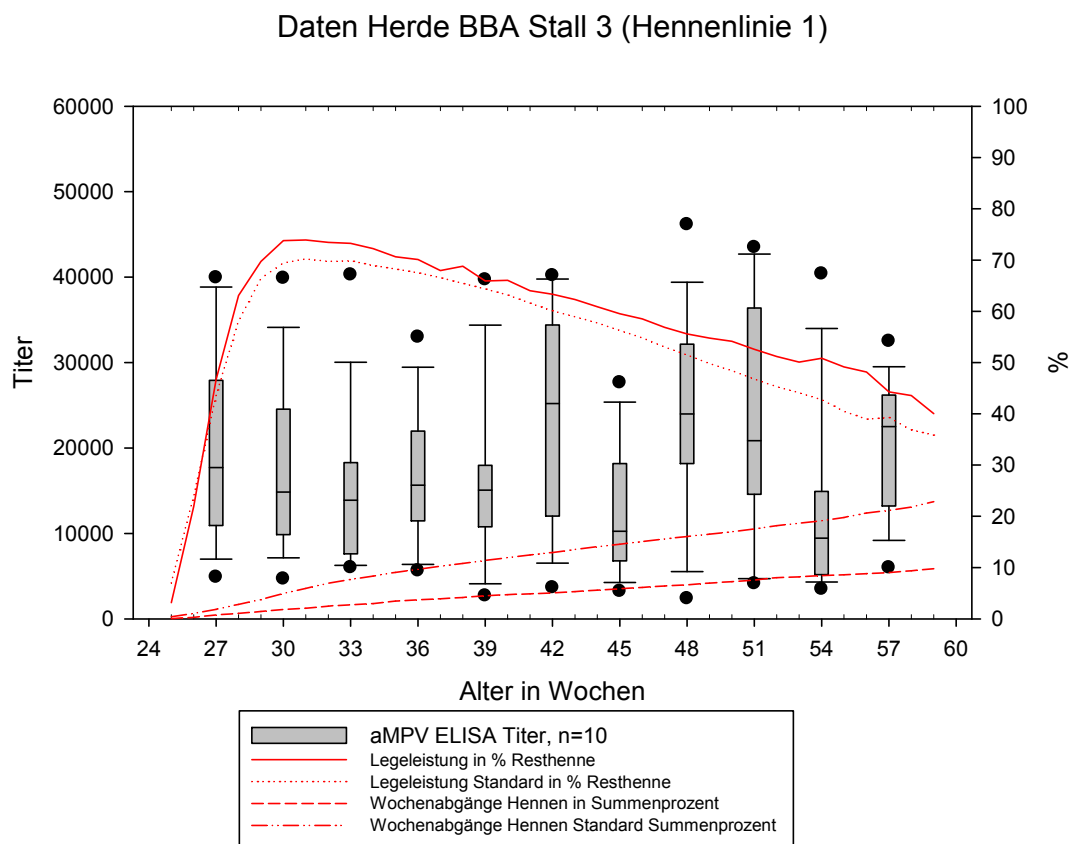


Abb.12 aMPV RNA-Nachweise, aMPV ELISA-Titer, Legeleistung und Wochenabgänge, Versuchsherde 2 BBA Stall 3 (Hennenlinie 1)

5.3. Versuchsherde 3 AAA

5.3.1. Ergebnisse RT-PCR-Untersuchung

Trachealtupfer:

In der 9. Lebenswoche, eine Woche nach der ersten Subtyp A Lebendimpfung, konnte aMPV spezifische RNA des Subtyps B in Stall 2 und 3 nachgewiesen werden. Zum Ende der Aufzuchtperiode in der 21.LW konnte ebenfalls aMPV spezifische RNA des Subtyps B im Stall 3 detektiert werden (Tab.17).

Innerhalb der Produktionsphase gelang der Nachweis von aMPV spezifischer RNA in der 30. Lebenswoche aus Stall 1 (Subtyp B), in der 33.LW aus Stall 3 (Subtyp A) und in der 45.LW aus Stall 4 (Subtyp B) (Tab.18).

Kloakentupfer:

Bei allen untersuchten Kloakentupfern (0. - 36.LW und 42. - 48.LW) konnte keine aMPV-spezifische RNA nachgewiesen werden (Tab.19 und 20).

5.3.2. Ergebnisse ELISA Untersuchung

In den Abbildungen 13-16 sind die ELISA-Titerwerte für Stall 1-4 dargestellt. Die Einzeltiterwerte und die dazugehörigen Medianwerte sind in den Tabellen 21 und 14 im Anhang aufgeführt.

Die Untersuchung der Serumproben in der 0.LW zeigte, dass alle untersuchten Küken maternale Antikörper besaßen. Die Einzeltiterwerte lagen dabei zwischen 1399 und 19376.

Ab der 3.LW sind bis auf zwei Proben im Stall 1 und einer Probe im Stall 4 alle untersuchten Blutproben im negativen Bereich.

In der 9.LW, eine Woche nach der 1. Subtyp A- Lebendimpfung, reagierten 5 von 10 Proben im Stall 2 positiv und 10 von 10 Proben im Stall 4 positiv.

In der 12.LW, 4 Wochen nach der ersten Lebendimpfung, ergibt sich in allen Ställen eine signifikante Erhöhung der Antikörpertiter im Vergleich zur 9.LW (Stall 1-3, $p \leq 0,001$; Stall 4, $p = 0,009$).

In der 15.LW kommt es zu einer weiteren signifikanten Erhöhung der Antikörpertiter im Vergleich zu den Werten in der 12.LW in Stall 1 ($p = 0,005$), Stall 2 ($p < 0,001$) und Stall 3

($p=0,021$). Im Stall 4 blieb eine signifikante Erhöhung der Titerwerte von der 12.LW auf die 15.LW aus. Dabei war der Medianwert im Stall 4 in der 12.LW mit 4986,5 im Vergleich zu den anderen Ställen in der 12.LW am höchsten.

Zwischen der 15.LW und der 18.LW konnte in allen vier Ställen kein signifikanter Unterschied der Lage der Titer nachgewiesen werden.

In der 24.LW, 6 Wochen nach der Inaktivatimpfung in der 18.LW, liegt in allen 4 Ställen ein signifikante Anstieg der Titerwerte im Vergleich zur 18.LW vor (Stall1, $p=0,004$; Stall 2 und 4, $p\leq 0,001$; Stall 3, $p=0,021$).

Während der Produktionsphase konnten in den Sällen 1-4 keine signifikanten Erhöhungen der Titerwerte von einem Untersuchungszeitpunkt zum nächsten Untersuchungszeitpunkt nachgewiesen werden.

In allen Ställen ist kein tendenzieller Rückgang der Antikörpertiter zum Ende der Produktion hin erkennbar.

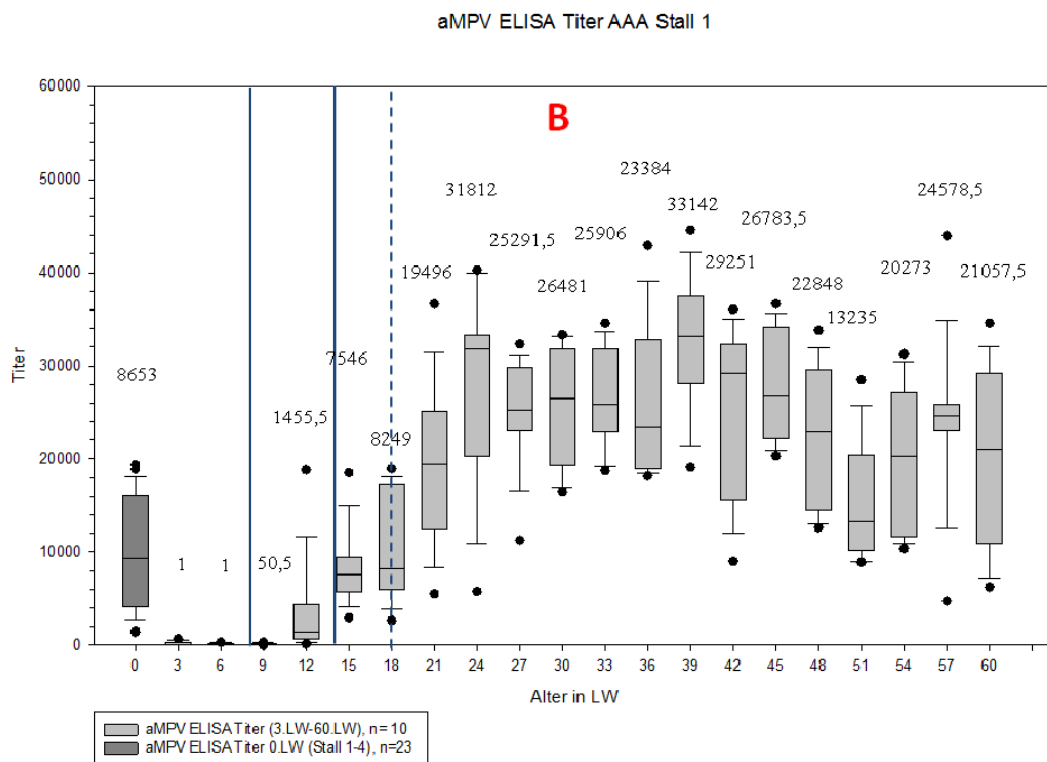


Abb.13 aMPV ELISA-Titerwerte Versuchsherde 3 (AAA) Stall 1

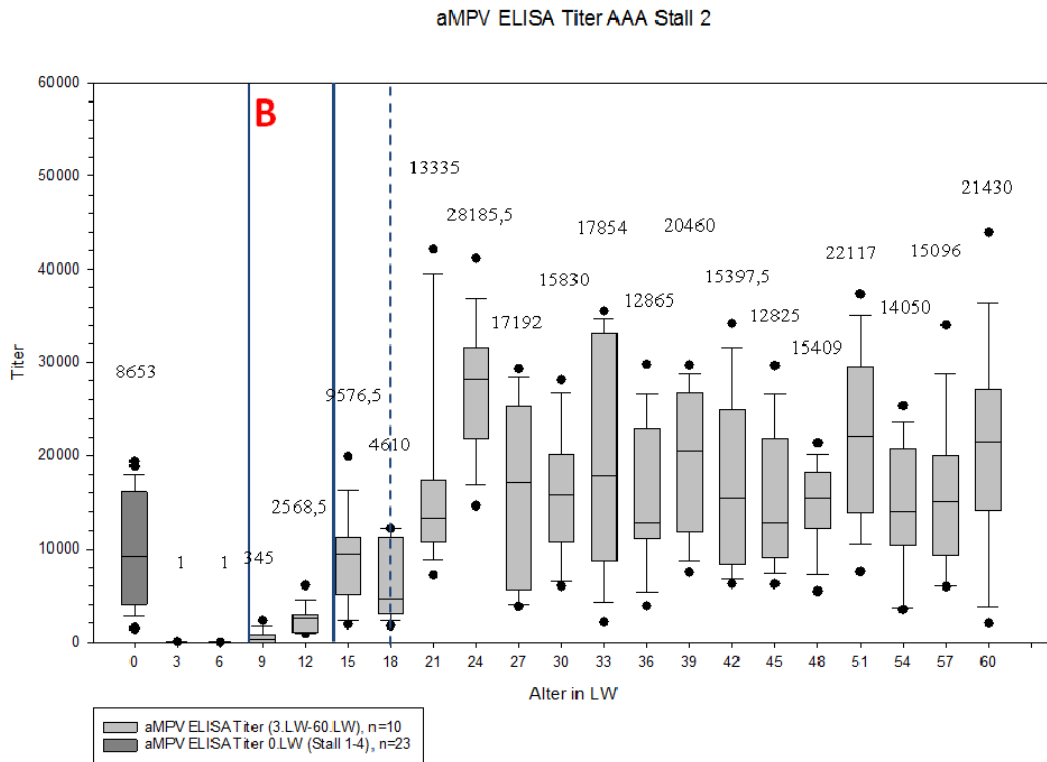


Abb.14 aMPV ELISA-Titerwerte Versuchsherde 3 (AAA) Stall 2

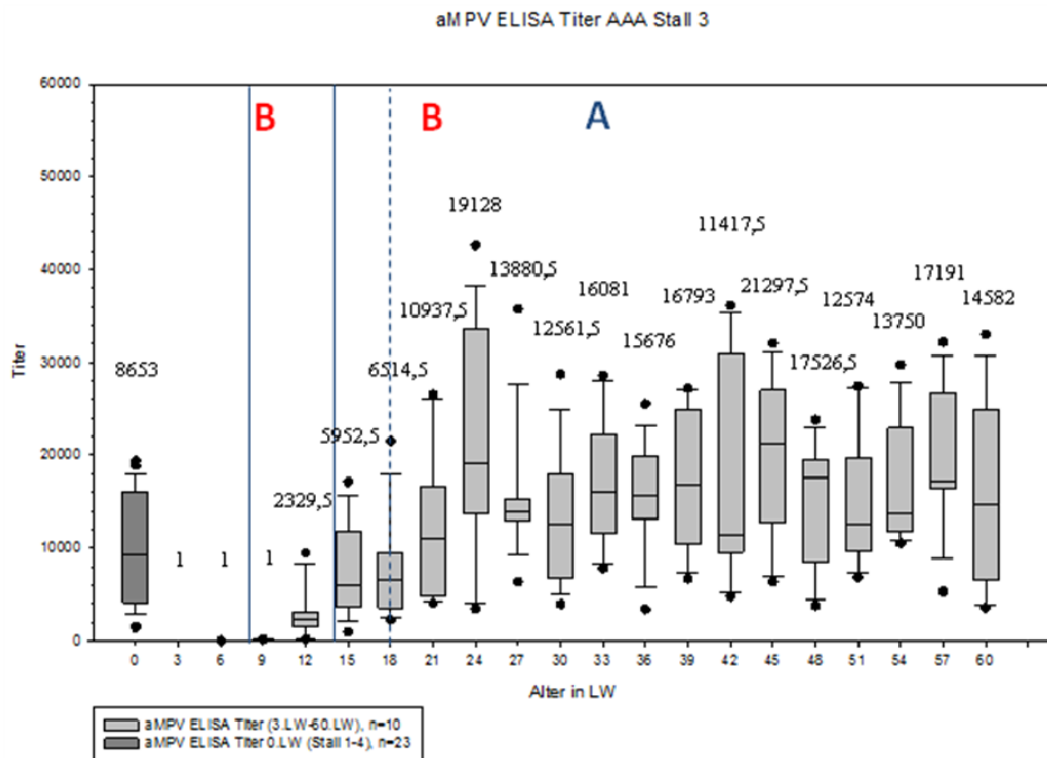


Abb. 15 aMPV ELISA-Titerwerte Versuchsherde 3 (AAA) Stall 3

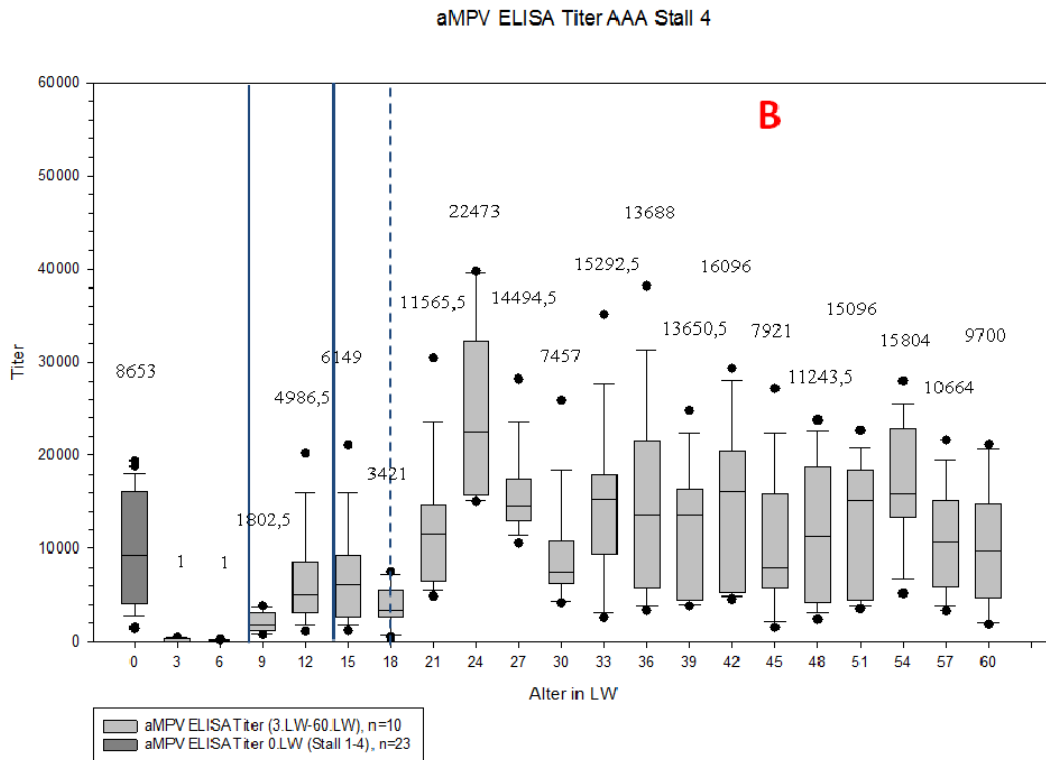


Abb. 16 aMPV ELISA-Titerwerte Versuchsherde 3 (AAA) Stall 4

5.3.2.1. Klinische und pathologisch-anatomische Befunde Produktion (ab 25.LW)

Während der gesamten Produktionsphase traten in keinem der vier Ställe klinische Symptome auf, die einen Hinweis für eine mögliche aMPV-Infektion gaben. Während der gesamten Produktion waren keine Veränderungen hinsichtlich der Qualität der Eischale erkennbar. In Stall 1 musste in der 27.LW und in der 40.LW und im Stall 4 in der 40.LW eine Behandlung aufgrund einer Synovitis durchgeführt werden. Die routinemäßig erhobenen Sektionsbefunde aus Stall 1-4 sind in Tabelle 15 aufgeführt.

Tab.15 Sektionsbefunde Versuchsherde (AAA) Stall 1-4

Diagnose	Prozentualer Anteil Stall 1 (14 Sektionen)	Prozentualer Anteil Stall 2 (6 Sektionen)	Prozentualer Anteil Stall 3 (5 Sektionen)	Prozentualer Anteil Stall 4 (13 Sektionen)
Synovitis	50 %	17 %	40%	38%
Kachexie, Gicht	7 %	50 %	20%	-
Herz-Kreislauf-Versagen	-	-	-	31%
Eileiter-Bauchfell-Entzündung	-	16 %	20%	8%
Dysbakterie/Enteritis	-	-	-	8%
Kannibalismus	-	17%	-	
Sehnenruptur	22 %	-	-	7%
Aszites	7 %	-	-	8%
Verletzungen	7 %	-	-	-
Neoplasie	-	-	20%	-

5.3.2.2. Wirtschaftliche Parameter Produktion (ab 25.LW)

Legeleistung, Selektions-, Verlust-, und Abgangsraten sind im Anhang in den Tabellen 31-34 für die Ställe 1-4 aufgeführt. Die grafische Darstellung der Legeleistung und der Abgänge mit den jeweiligen Integrationsstandardwerten erfolgt in den Abbildungen 17-20.

Die Wochenabgänge im Stall 1 (Hahnenlinie) lagen im Durchschnitt bei 0,54% pro Woche und damit unterhalb des Integrationsstandards von 0,76% pro Woche. Die durchschnittlichen Wochenabgänge bei der Hennenlinie 1 in den Ställen 2-4 lagen bei 0,38% (Stall 2), 0,31% (Stall 3) und 0,33 % (Stall 4). Die durchschnittlichen Wochenabgänge lagen alle unterhalb des Integrationsstandards von 0,67%.

Standardbereinigte Legeleistungsrückgänge von > 1% im Vergleich zur Vorwoche waren im Stall 1 (Hahnenlinie) in der 49.LW (-1,6%), 52.LW - 55.LW (insgesamt -5,39%), und 60.LW

(-1,59%) zu verzeichnen. Die Legeleistung im Stall 1 lag mit Ausnahme der 59.LW oberhalb der Standardwerte.

Bei der Hennenlinie ergaben sich standardbereinigte Legeleistungsrückgänge >1% im Vergleich zur Vorwoche im Stall 2 in der 34.LW (-1,05%), 51.LW (-1,71%) und 53.LW (-2,10%), im Stall 3 in der 48.LW bis 49.LW (insgesamt -2,17%) und der 57.LW (-2,36%), und im Stall 4 in der 34.LW (-1,67%), sowie in der 54.LW bis 57.LW (insgesamt -14,14%).

Im Stall 2 und 3 lag die Legeleistung (mit Ausnahme Stall 3 25.LW - 28.LW) während der gesamten Produktionsphase oberhalb des Standards.

Der Legeleistungsverlauf im Stall 4 liegt bis zur 55.LW nahe am Integrationsstandard, fällt dann ab und verläuft unterhalb des Standards bis zur Ausstallung.

5.3.2.3. Zusammenfassung aller erhobenen Daten Produktion (ab 25.LW)

Stall 1

In der 30.LW wurde aMPV spezifische RNA des Subtyps B aus Trachealtupfern nachgewiesen. Dieser Nachweis steht in keinem Zusammenhang mit einem signifikanten Anstieg der Antikörpertiter oder eines Legeleistungsrückganges. Es konnten keine klinischen Erscheinungen festgestellt werden, die Anzeichen für eine aMPV-Infektion gaben.

In den Untersuchungszeiträumen um die Lebenswochen in denen ein standardbereinigter Legeleistungsrückgang $> 1\%$ zu verzeichnen war, konnte weder aMPV spezifische RNA des aMPV Subtyps A oder B detektiert werden, noch gab es eine signifikante Erhöhung der aMPV Antikörpertiter.

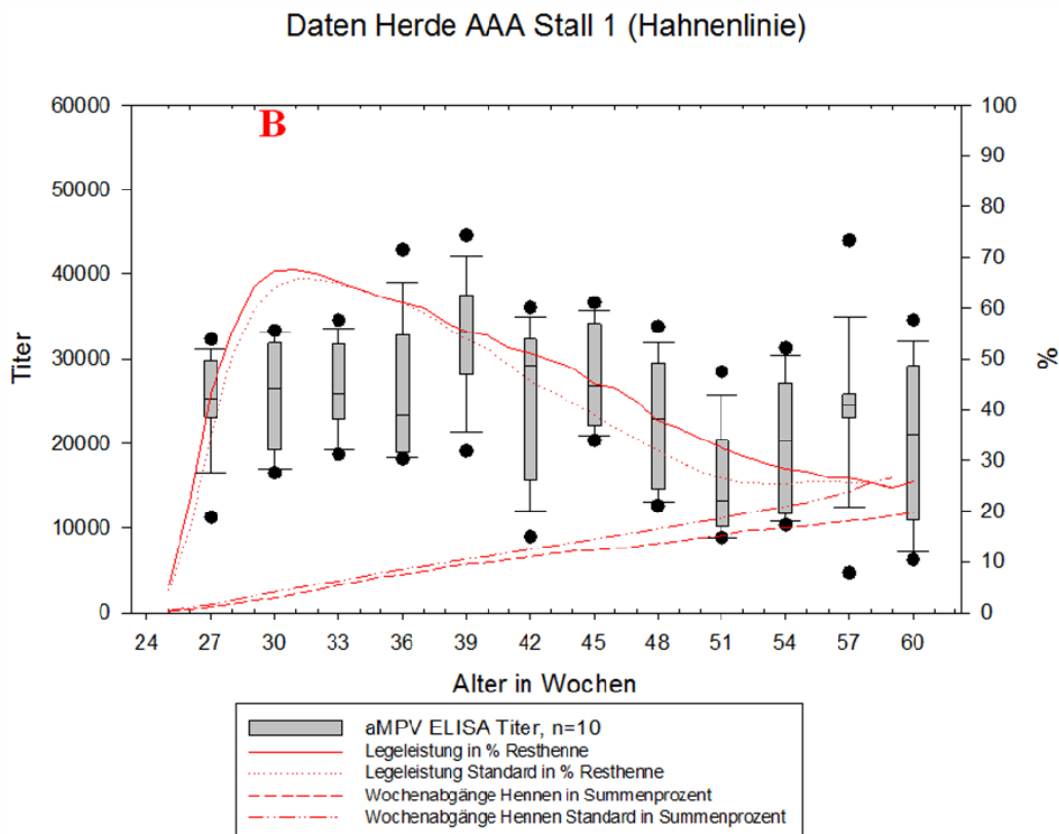


Abb. 17 aMPV RNA-Nachweise, aMPV-ELISA Titer, Legeleistung und Wochenabgänge, Versuchsherde 2 AAA Stall 1 (Hahnenlinie)

Stall 2

AMPV spezifische RNA konnte während der gesamten Produktionsphase nicht nachgewiesen werden. Es waren keine signifikanten aMPV Antikörpertiter im ELISA zu erkennen. Die standardbereinigten Legeleistungsrückgänge > 1% konnten nicht mit einem aMPV spezifischen RNA-Nachweis oder einem signifikanten aMPV-Antikörpertiteransieg in einen zeitlichen Zusammenhang gebracht werden.

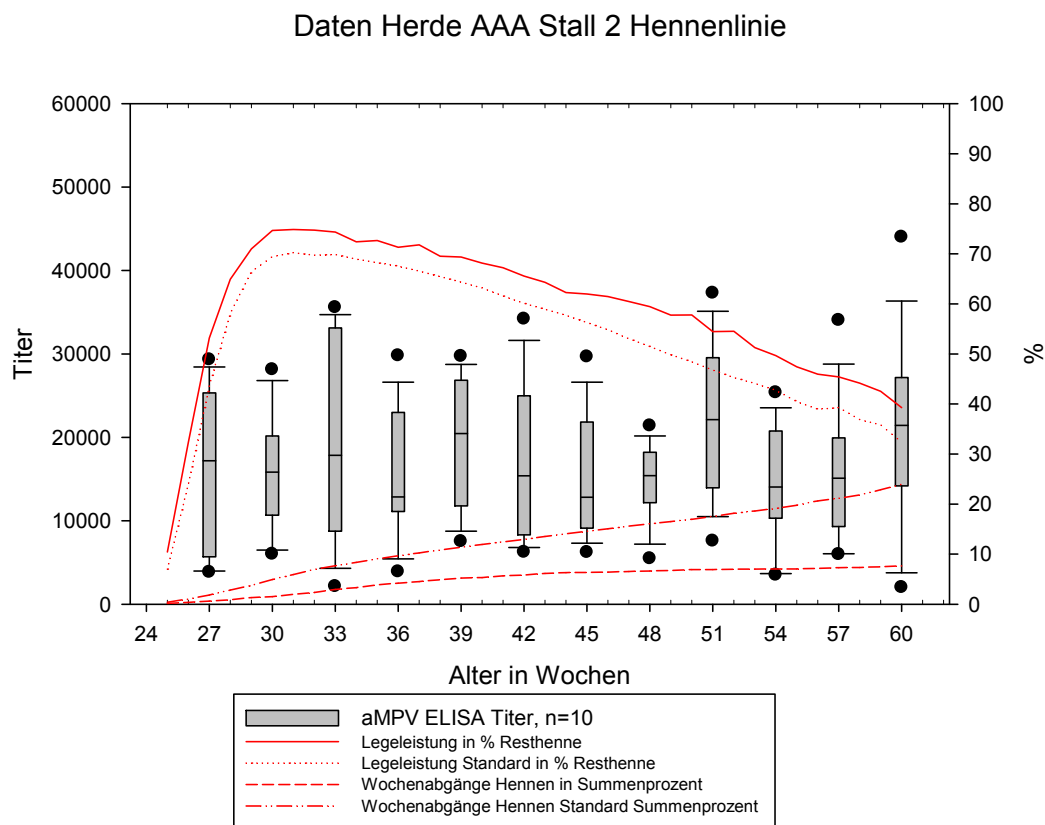


Abb. 18 aMPV RNA-Nachweise, aMPV ELISA-Titer, Legeleistung und Wochenabgänge, Versuchsherde 2 AAA Stall 2 (Hennenlinie 1)

Stall 3

In der 33.LW wurde aMPV spezifische RNA des Subtyps A aus Trachealtupfern nachgewiesen. Dieser Nachweis steht in keinem Zusammenhang mit einem signifikanten Anstieg der Antikörpertiter im ELISA oder eines Legeleistungsrückganges. Das Auftreten aMPV typischer klinischer Symptome blieb aus.

Signifikante Anstiege der aMPV-Antikörpertiter konnten nicht nachgewiesen werden. In den Lebenswochen, in denen ein standardbereinigter Legeleistungsrückgang $> 1\%$ zu verzeichnen war, konnte weder aMPV spezifische RNA des aMPV Subtyps A oder B detektiert werden, noch gab es eine signifikante Erhöhung der aMPV-Antikörpertiter.

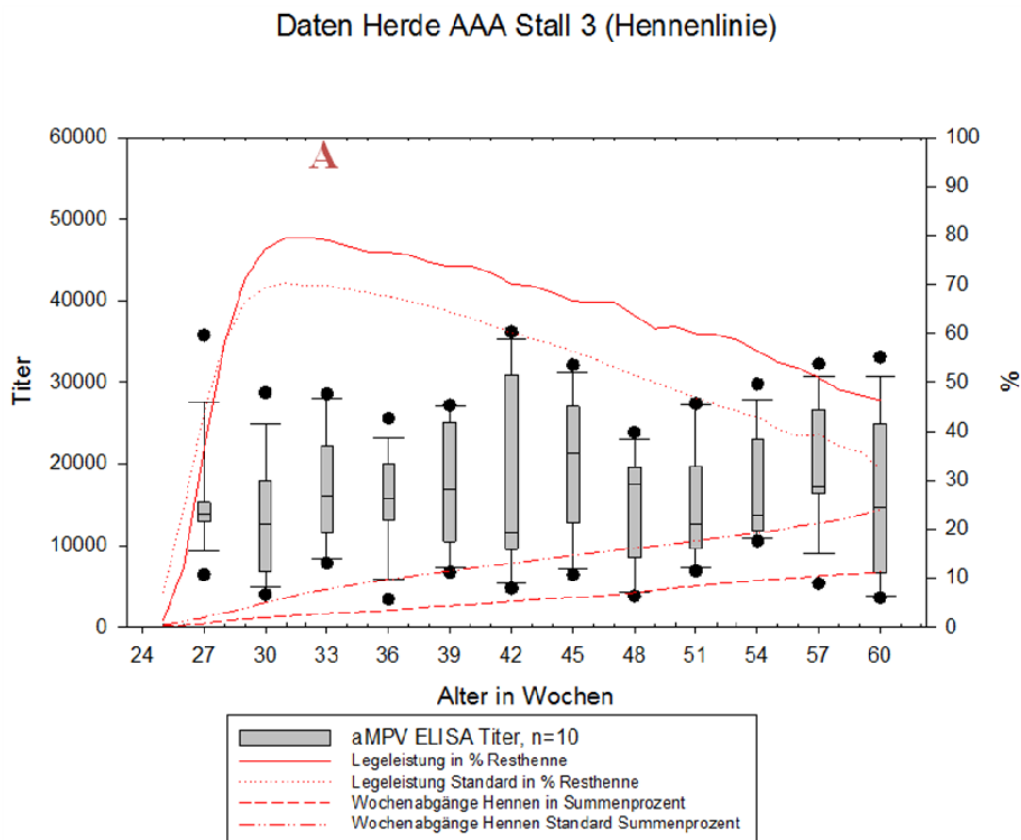


Abb. 19 aMPV RNA-Nachweise, aMPV ELISA-Titer, Legeleistung und Wochenabgänge, Versuchsherde 2 AAA Stall 3 (Hennenlinie 1)

Stall 4

Aus Trachealtupferproben konnte in der 45.LW aMPV spezifische RNA des aMPV Subtyps B detektiert werden. Diesem Nachweis konnte kein signifikanter Anstieg der aMPV-Antikörpertiter um die 45.LW herum zugeordnet werden. Es traten zu diesem Zeitpunkt keine für eine aMPV Infektion typischen klinischen Erscheinungen auf.

Die starken Legeleistungsrückgänge von der 54.LW bis zur 58.LW (insgesamt - 14,44%) konnten in keinen zeitlichen Zusammenhang gebracht werden mit einer aMPV-Antikörpertiterhöhung oder einem aMPV spezifischen RNA-Nachweis der Subtyp A oder B. Die Ursache für den Legeleistungsrückgang von der 54.LW bis zur 58.LW bestand in einem produktionstechnischen Problem.

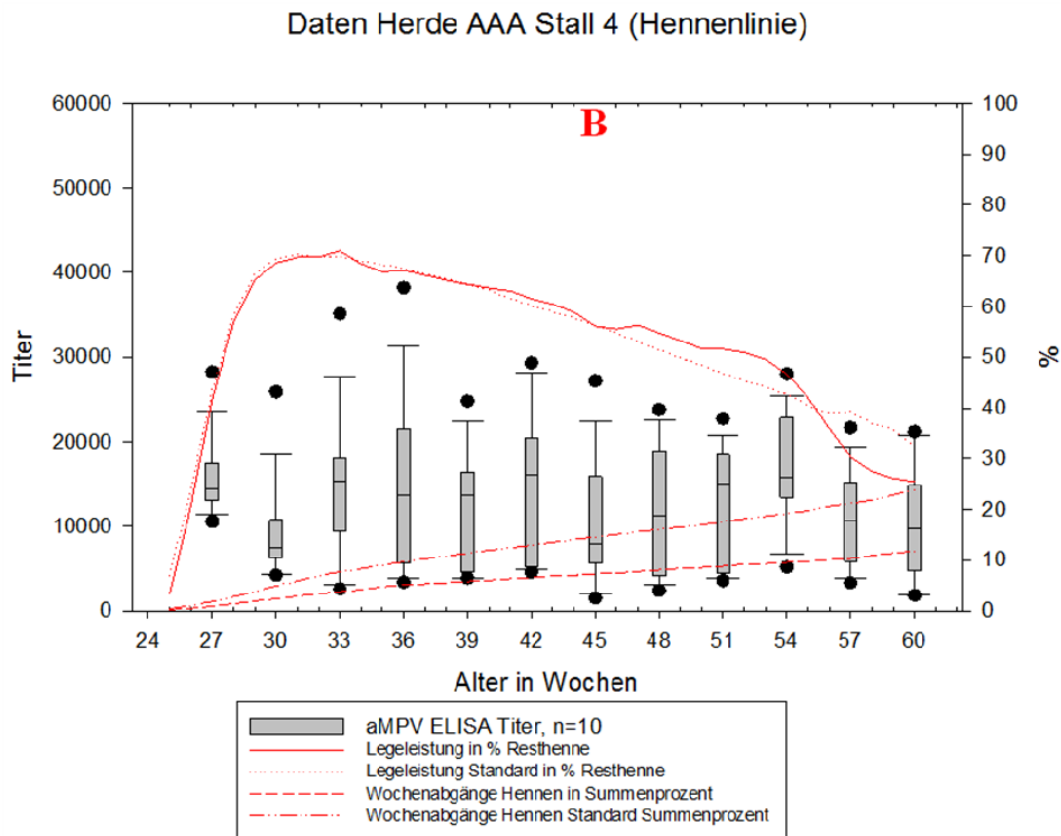


Abb. 20 aMPV RNA-Nachweise, aMPV ELISA-Titer, Legeleistung und Wochenabgänge, Versuchsherde 2 AAA Stall 4 (Hennenlinie 1)

5.4. Versuchsherde 4 AAB

5.4.1. Ergebnisse RT-PCR-Untersuchung

Trachealtupfer:

In der 12.LW, vier Wochen nach der 1. Subtyp A Lebendimpfung, wurde aMPV spezifische RNA des Subtyps A in Stall 3 nachgewiesen. Ein weiterer Nachweis des aMPV Subtyps A in der RT-PCR-Untersuchung gelang in der 15.LW in Stall 1, eine Woche nach der 2. Subtyp A Lebendimpfung (Tab. 17).

Zum Ende der Produktionsperiode in der 57.LW konnte aMPV-spezifische RNA des Subtyps A im Stall 3 detektiert werden (Tab. 18).

Kloakentupfer:

Bei allen untersuchten Kloakentupfern (9.LW - 18.LW und 54.LW - 57.LW) konnte keine aMPV-spezifische RNA nachgewiesen werden (Tab.19 und 20).

5.4.2. Ergebnisse ELISA Untersuchung

In Abbildung 21-24 sind die ELISA-Titerwerte für Stall 1-4 dargestellt. Die für die Darstellung verwendeten Einzeltiterwerte befinden sich für Stall 1-4 in den Tabellen 21 und 25 des Anhangs.

In der 0.LW besaßen alle untersuchten Eintagsküken maternale Antikörper gegen das aviäre Metapneumovirus. Die Einzeltiterwerte lagen dabei zwischen 816 und 19070.

Ab der 3.LW sind alle untersuchten Proben im negativen Bereich. In der 9.LW, eine Woche nach der 1. Subtyp A- Lebendimpfung, und in der 12.LW, vier Wochen nach der 1. Subtyp A- Lebendimpfung, reagierten alle Proben negativ im ELISA.

Erst in der 15. LW, eine Woche nach der 2. Subtyp A-Lebendimpfung, kam es zu einer signifikanten Erhöhung der Antikörpertiter im Vergleich zur 12.LW im Stall 1 und Stall 3 ($p \leq 0,001$). In Stall 2 und 4 reagierten bis auf eine Ausnahme im Stall 4 alle Serumproben weiterhin negativ im ELISA.

In der 18.LW reagierten alle Proben im Stall 4 weiterhin negativ. In Stall 1 und 3 kam es in der 18.LW im Vergleich zur 15.LW zu keiner signifikanten Erhöhung der aMPV-Antikörpertiter. Im Stall 2 reagierten 5 von 10 Proben in der 18.LW positiv im aMPV-ELISA.

Ergebnisse

In der 24.LW, sechs Wochen nach der Inaktivatimpfung, ist in allen Ställen ein signifikanter Anstieg der aMPV-Antikörpertiter zu erkennen ($p \leq 0,001$). Die Medianwerte liegen in der 24.LW bei 20713 im Stall 1, 13519,5 im Stall 2, 16757 im Stall 3 und 10795 im Stall 4.

Während der Produktionsphase konnte im Stall 2 von der 27.LW auf die 30.LW ein signifikanter Anstieg der aMPV Titerwerte festgestellt werden ($p=0,031$).

In allen Ställen ist kein tendenzieller Rückgang der Antikörpertiter zum Ende der Produktion hin erkennbar.

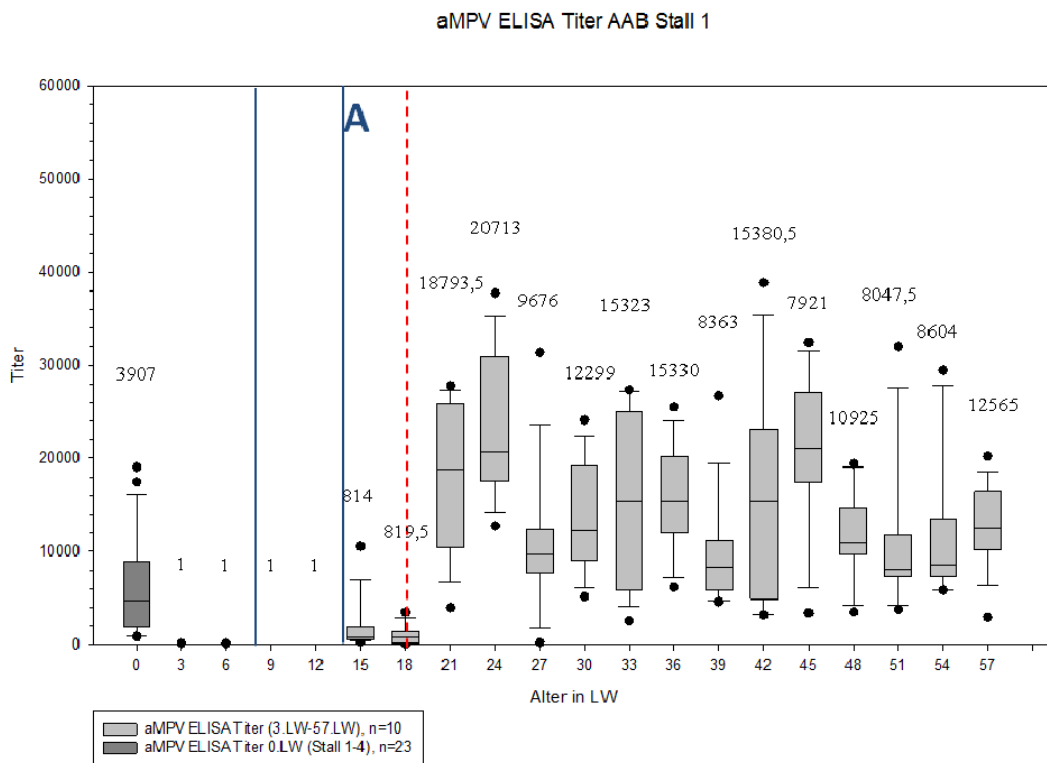


Abb. 21 aMPV ELISA-Titerwerte Versuchsherde 4 (AAB) Stall 1

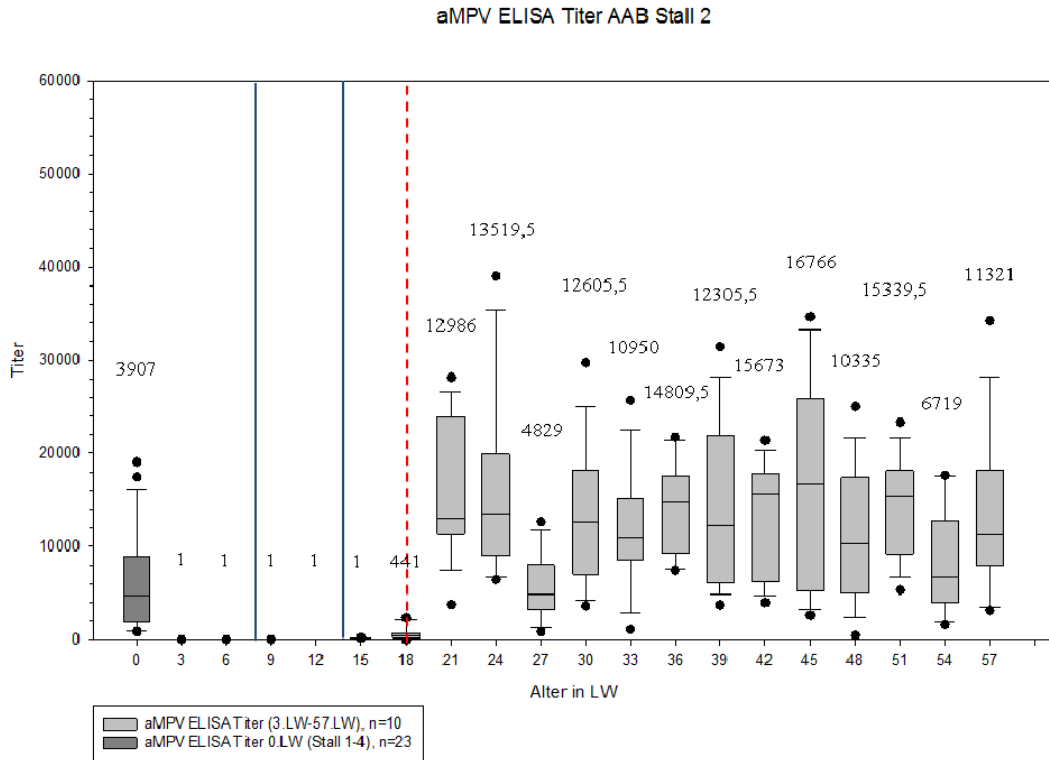


Abb. 22 aMPV ELISA-Titerwerte Versuchsherde 4 (AAB) Stall 2

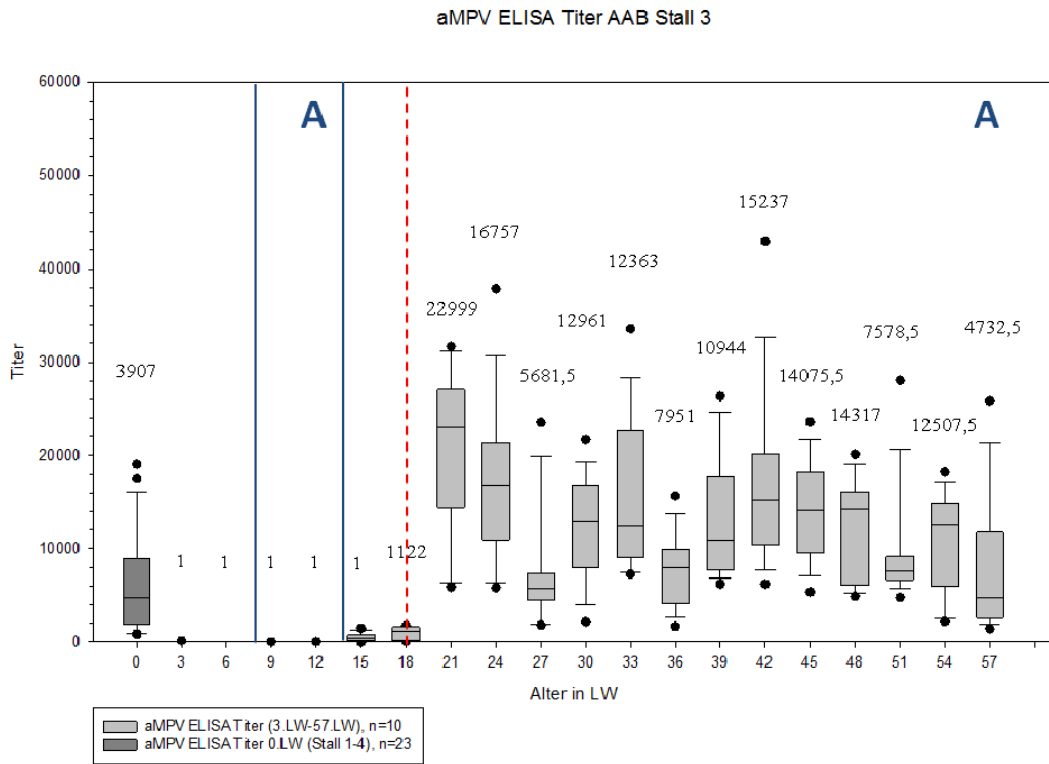


Abb. 23 aMPV ELISA-Titerwerte Versuchsherde 4 (AAB) Stall 3

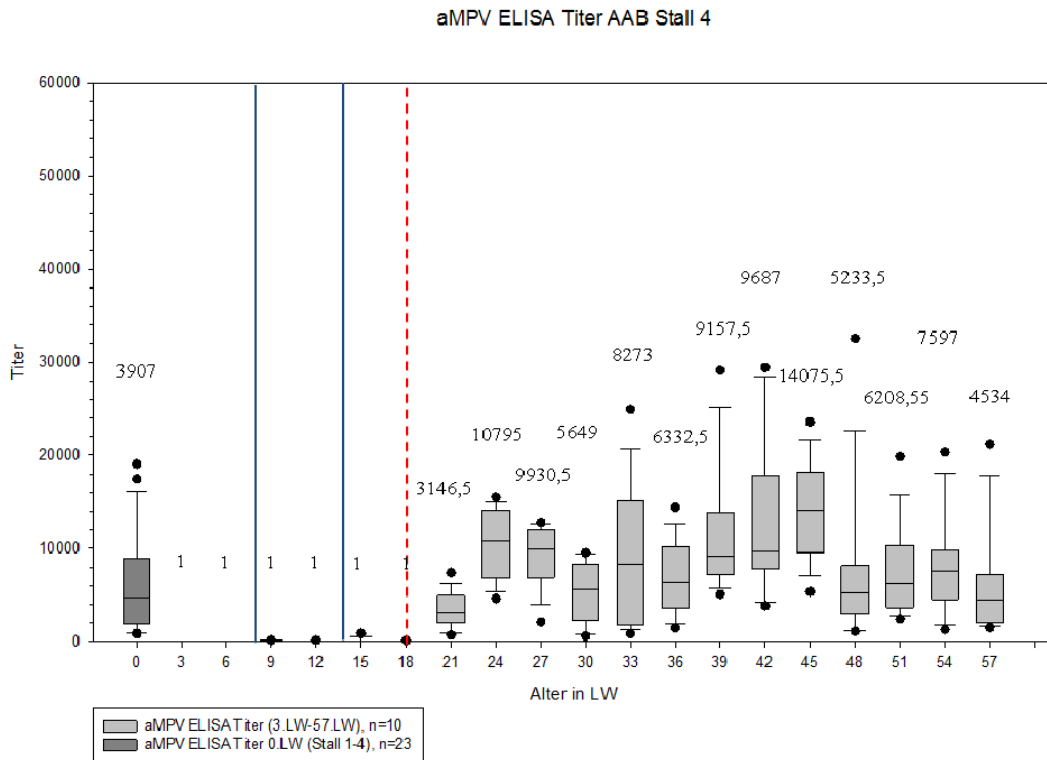


Abb. 24 aMPV ELISA-Titerwerte Versuchsherde 4 (AAB) Stall 4

5.4.2.1. Klinische und pathologisch-anatomische Befunde Produktion (ab 25.LW)

Während der gesamten Produktionsphase traten in keinem der vier Ställe klinische Symptome auf, die einen Hinweis für eine mögliche aMPV-Infektion gaben. Während der gesamten Produktion waren keine Veränderungen hinsichtlich der Qualität der Eischale erkennbar. Als Bestandsproblem traten in dieser Versuchsherde über die gesamte Produktionsphase massive Beinschäden infolge von Sehnenrupturen auf. Dies wirkte sich nachteilig auf die Produktionsparameter (Legeleistung und Abgangsrate) dieser Herde aus. Die Befunde aus den durchgeführten Sektionen sind in Tabelle 16 aufgeführt.

Tab. 16 Sektionsbefunde Versuchsherde (AAB) Stall 1-4

Diagnose	Prozentualer Anteil Stall 1 (44 Sektionen)	Prozentualer Anteil Stall 2 (35 Sektionen)	Prozentualer Anteil Stall 3 (26 Sektionen)	Prozentualer Anteil Stall 4 (21 Sektionen)
Sehnenruptur	52 %	40 %	37%-	56%
Kachexie, Gicht	18 %	34 %	36 %	13 %
Herz-Kreislauf-Versagen	23 %	23 %	19%	6 %
Dysbakterie/ Enteritis	2 %	-	-	13 %
Legedarmvorfall	-	-	-	3%
Leberruptur	-	-	4 %	-
Eileiter-Bauchfell-Entzündung	5 %	-	-	3 %
Aszites	-	3 %	-	-
Verletzungen	-	-	4%	-
Femurkopfnekrose	-	-		6%

5.4.2.2. Wirtschaftliche Parameter Produktion (ab 25.LW)

Legeleistung, Selektionsrate und Verluste sind im Anhang in den Tabellen 35-38 für die Ställe 1-4 aufgeführt. Die grafische Darstellung erfolgt in den Abbildungen 25-28.

Die durchschnittlichen, prozentualen Wochenabgänge in den Ställen 1-4 (Hennelinie 1) lagen mit 0,62% (Stall 1), 0,76% (Stall 2), 0,67% (Stall 3) und 0,71% (Stall 4) zum Teil oberhalb des Integrationsstandards von 0,67%. Grund für die höheren Abgänge im Vergleich zu den anderen Versuchsställen der Hennenlinie 1 der Versuchsherden 2 und 3 waren die in dieser Versuchsherde massiven Probleme mit Sehnenrupturen.

Standardbereinigte Legeleistungsrückgänge von > 1% im Vergleich zur Vorwoche waren im Stall 1 in der 36.LW (-2,44%), 44.LW (-2,63%), 46.LW bis 47.LW (insgesamt -3,7%) und in der 53.LW bis 54.LW (insgesamt -4,97%) zu verzeichnen.

Im Stall 2 ergaben sich standardbereinigte Legeleistungsrückgänge von > 1% im Vergleich zur Vorwoche in der 35.LW (-1,32%), 37.LW (-1,74%), 39.LW (-1,67%), 43.LW bis 44.LW (insgesamt -7%), 48.LW (-1,82%), 52.LW (-1,97%) und der 59.LW (-2,33%).

Im Stall 3 traten standardbereinigte Legeleistungsrückgänge >1% in der 45.LW bis 46.LW (-4,39%), und 52.LW bis 53.LW (insgesamt -5,07%) auf.

Auch im Stall 4 waren standardbereinigte Legeleistungsrückgänge >1% in der 45. - 46.LW (insgesamt -4,46%), 50.LW (-1,94%) und 52.LW - 53.LW (insgesamt -3,51%) zu verzeichnen.

Die Legeleistung in den vier Ställen lag während der gesamten Produktionsphase unterhalb des Integrationsstandard mit einer Ausnahme im Stall 1 in der 59.LW.

Die insgesamt schlechte Legeleistung dieser Versuchsherde steht im Zusammenhang mit den massiven Sehnenrupturproblemen und dessen Folgen - Tiere mit chronischer Sehnenruptur, Kachexie und Gicht auf der einen Seite und verfettete Tiere mit Herz-Kreislauf-Versagen auf der anderen Seite.

5.4.2.3. Zusammenfassung aller erhobenen Daten Produktion (ab 25.LW)

Stall 1

AMPV spezifische RNA aMPV Subtypen A und B konnten nicht nachgewiesen werden. Signifikante Anstiege der aMPV-Antikörper konnten ebenfalls nicht nachgewiesen werden. In den Lebenswochen, in denen ein standardbereinigter Legeleistungsrückgang $> 1\%$ zu verzeichnen war, konnte weder Genom des aMPV Subtyps A oder B detektiert werden, noch gab es eine signifikante Erhöhung der aMPV Antikörpertiter.

Daten Herde AAB Stall 1 (Hennenlinie 1)

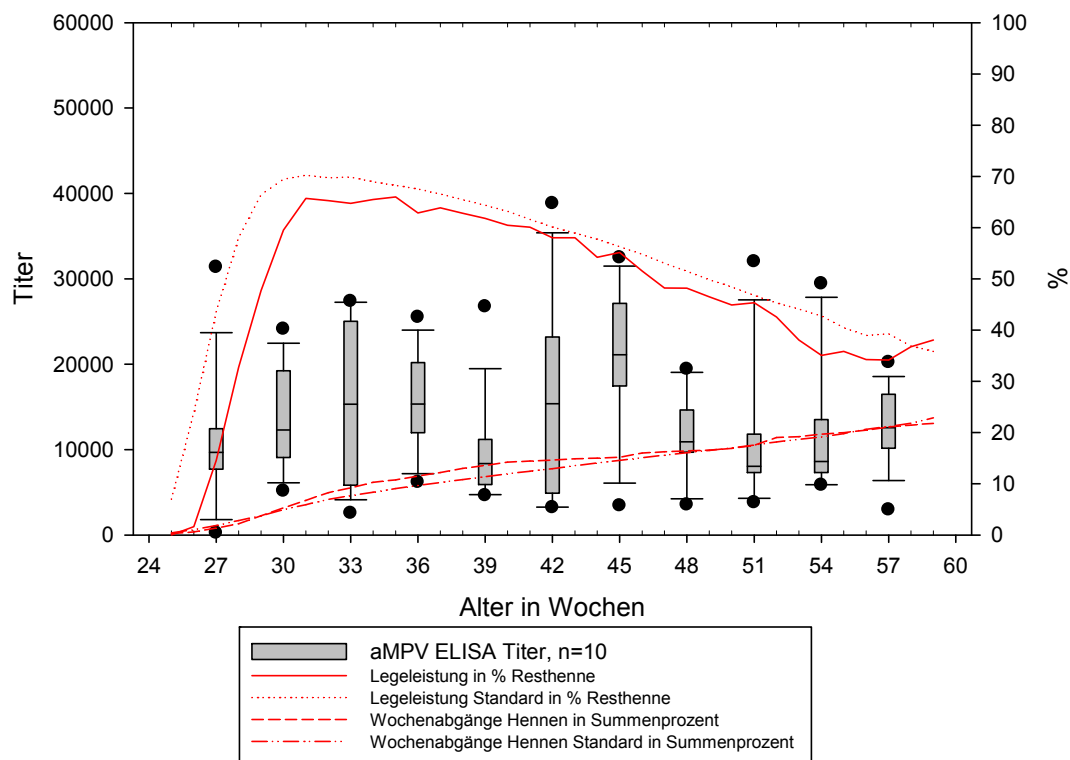


Abb. 25 aMPV RNA-Nachweise, aMPV ELISA-Titer, Legeleistung und Wochenabgänge, Versuchsherde 4 AAB Stall 1 (Hennenlinie 1)

Stall 2

In der RT-PCR-Untersuchung konnte während der gesamten Produktionsphase keine RNA der aMPV Subtypen A und B nachgewiesen werden. Von der 27.LW auf die 30.LW war eine signifikante aMPV-Antikörpertitererhöhung zu erkennen. Die standardbereinigten Legeleistungsrückgänge > 1% konnten nicht mit einem aMPV spezifischen RNA-Nachweis oder einem signifikanten aMPV Antikörpertiteranstieg in einen zeitlichen Zusammenhang gebracht werden.

Daten Herde AAB Stall 2 (Hennenlinie 1)

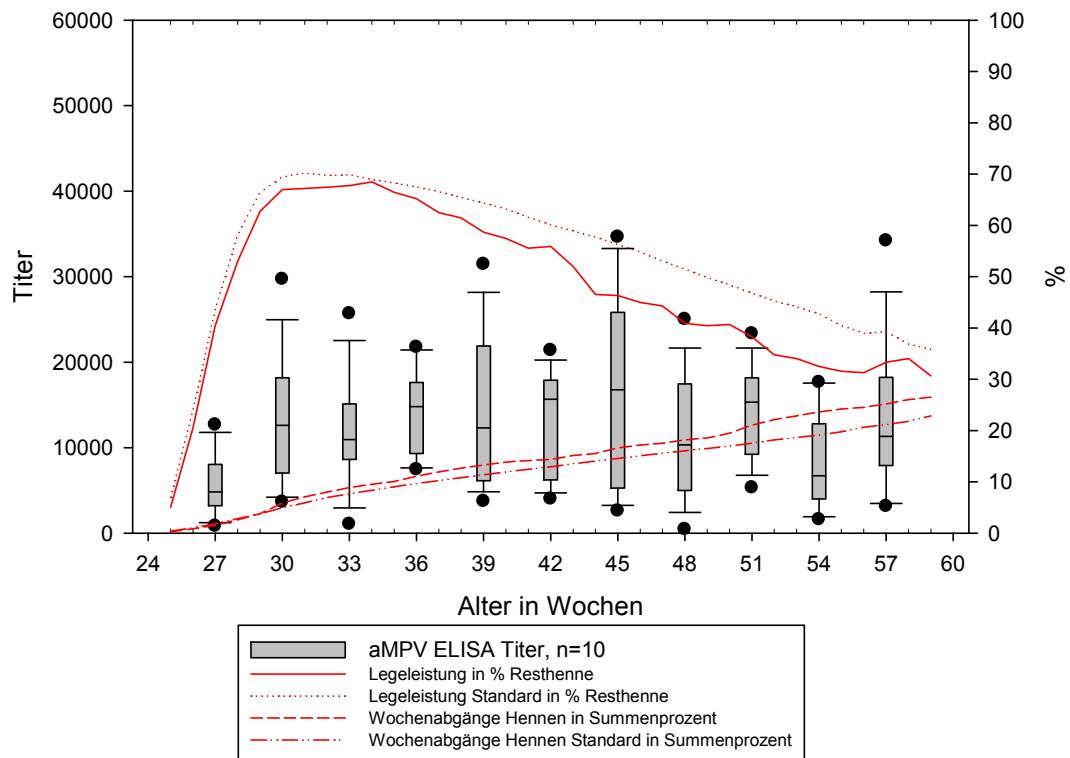


Abb. 26

aMPV RNA-Nachweise, aMPV ELISA-Titer, Legeleistung und Wochenabgänge, Versuchsherde 4 AAB Stall 2 (Hennenlinie 1)

Stall 3

In der 57.LW wurde aMPV spezifische RNA des Subtyps A aus Trachealtupfern nachgewiesen. Die Tiere zeigten zu diesem Zeitpunkt keine klinischen Anzeichen für eine aMPV Infektion. Ein Rückgang der Legeleistung und Veränderungen in der Eischalenqualität unmittelbar vor bzw. nach diesem Zeitpunkt der 57.LW bestanden nicht.

Ob ein Zusammenhang mit einem möglichen signifikanten Anstieg der Antikörpertiter von der 57.LW zur 60.LW besteht, konnte nicht geprüft werden, da die Herde in der 59. LW ausgestellt wurde.

Signifikante Anstiege der aMPV-Antikörper konnten nicht nachgewiesen werden. Die standardbereinigten Legeleistungsrückgänge > 1% im Vergleich zur Vorwoche konnten weder mit einem spezifischen RNA-Nachweis des aMPV Subtyps A oder B, noch mit einer signifikanten Erhöhung der aMPV Antikörpertiter in Verbindung gebracht werden.

Daten Herde AAB Stall 3 (Hennenlinie 1)

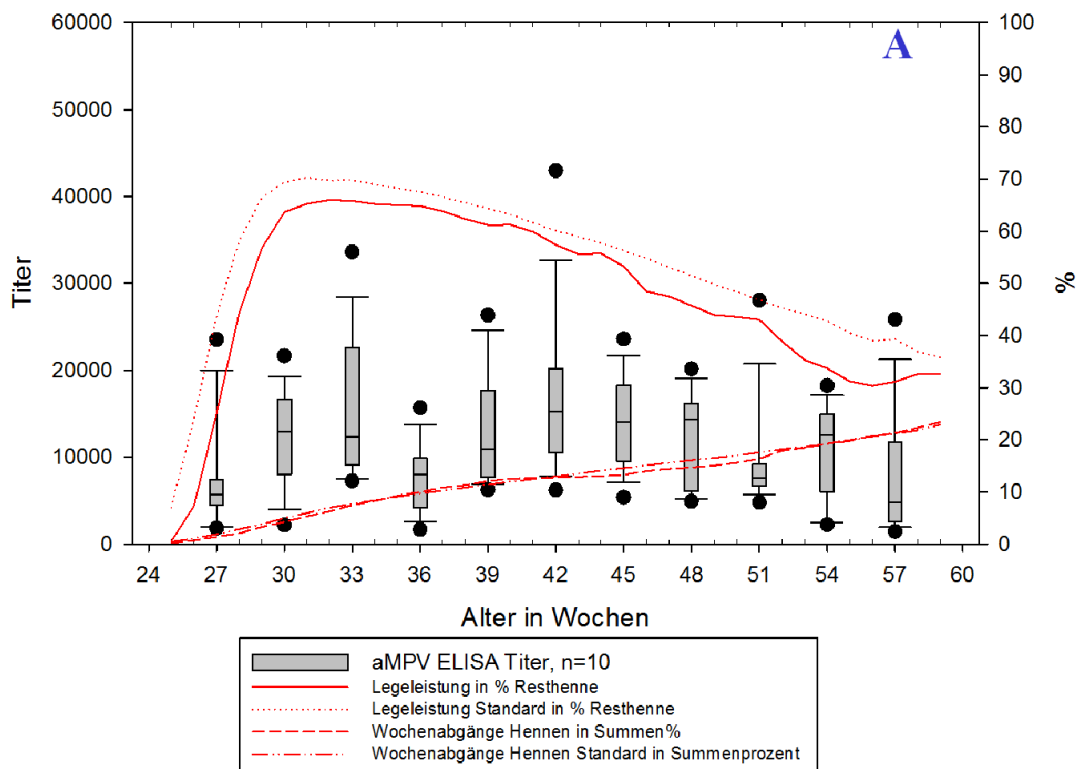


Abb. 27 aMPV RNA-Nachweise, aMPV ELISA-Titer, Legeleistung und Wochenabgänge, Versuchsherde 4 AAB Stall 3 (Hennenlinie 1)

Stall 4

Es konnte keine aMPV spezifische RNA des aMPV Subtyps A und B detektiert werden. Es kam zu keinem signifikanten Anstieg der aMPV Titer. Die standardbereinigten Legeleistungsrückgänge >1% im Vergleich zur Vorwoche konnten in keinen zeitlichen Zusammenhang gebracht werden mit einer aMPV Antikörpertiterhöhung oder einem aMPV spezifischen RNA-Nachweis des aMPV Subtyps A oder B.

Daten Herde AAB Stall 4 (Hennenlinie 1)

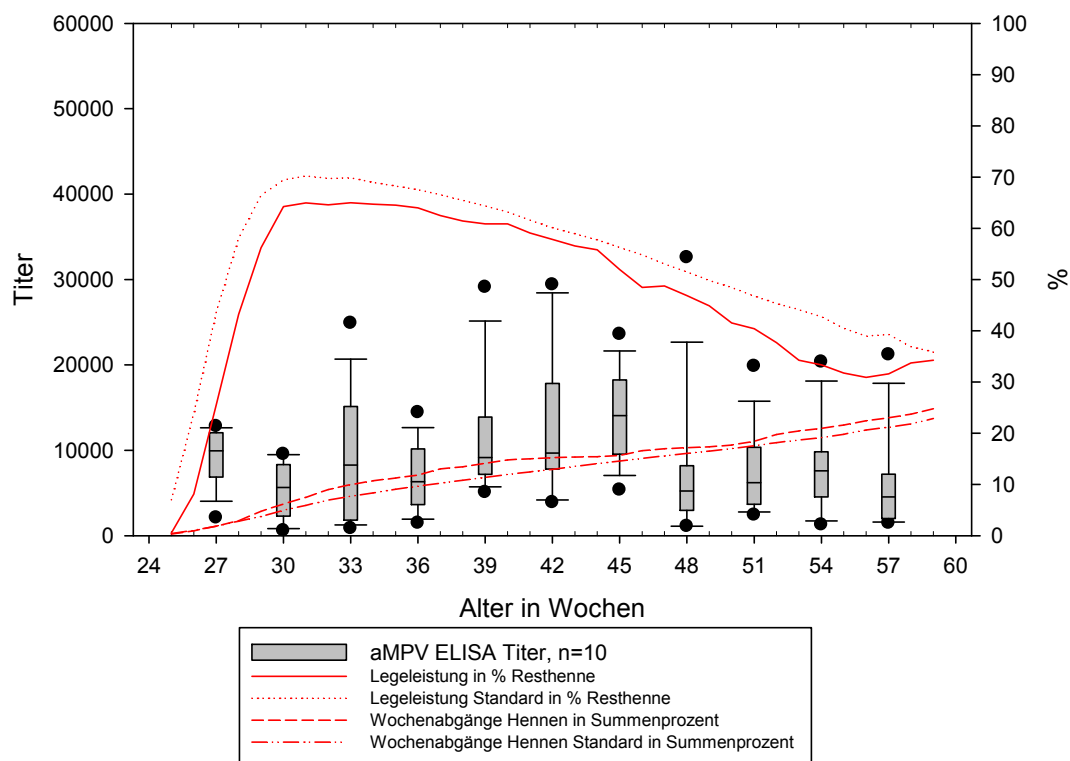


Abb. 28 aMPV RNA-Nachweis, aMPV ELISA-Titer, Legeleistung und Wochenabgänge, Versuchsherde 4 AAB Stall 4 (Hennenlinie 1)

6. Diskussion

In der modernen, intensiven Geflügelhaltung ist die gezielte Immunisierung gegen verschiedenste aviäre Krankheitserreger, neben den Maßnahmen der allgemeinen Seuchenvorbeuge, ein unverzichtbares Werkzeug zur Gesunderhaltung und damit der Wirtschaftlichkeit kommerzieller Geflügelhaltungen. Dem betreuenden Tierarzt obliegt dabei die Aufgabe, für seine betreuenden Betriebe ein effektives Immunprophylaxeprogramm zu erstellen, das auf die lokale epizootiologische Situation hinsichtlich der verschiedenen Krankheitserreger, die Betriebsstrukturen und die gesetzlichen Bestimmungen für die jeweilige Nutzungsrichtung abgestimmt ist.

In unserer eigenen tierärztlichen Praxis wurde seit Anfang der 90er Jahre mit unterschiedlichsten Impfprogrammen und unterschiedlichsten Applikationsverfahren gegen das aMPV bei Mastelterntierherden und später auch bei Mastgroßelterntierherden geimpft (Dr. K. Müller-Molenar, persönliche Mitteilung 2007), ohne die Wirksamkeit bzw. Wirtschaftlichkeit der Impfung in einer breitangelegten Verlaufsuntersuchung unter Feldbedingungen geprüft zu haben. Durch die Einführung einer kombinierten Lebend- und Inaktivatimpfung gegen das aMPV in der Aufzuchtperiode konnten die typischen SHS-Symptome in den vakzinierten Herden verhindert werden. Jedoch traten in geimpften Herden immer wieder milde respiratorische klinische Symptome mit oder ohne Rückgang der Legeleistung besonders zum Ende der Produktion hin auf. Eine Beteiligung des aMPV an diesen Erscheinungen konnte in den geimpften Herden differentialdiagnostisch nicht ausgeschlossen werden.

Hafez (1994) führte Verlaufsuntersuchungen über das Vorkommen von aMPV in geimpften Putenmastherden durch. Für die Putenmastherden konnte festgestellt werden, dass die wiederholte Applikation von aMPV-Lebendvakzinen einen guten Schutz vor klinischen Symptomen der TRT vermittelte. Zusätzlich konnte er feststellen, dass die Impfung zur Verbesserung der Wirtschaftlichkeit der Putenmastbetriebe führte. Von ähnliche Beobachtungen konnten auch Jodas et al. (2002) bei Verlaufsuntersuchungen in geimpften Putenmastherden berichten. Zusätzlich führten Jodas et al. (2002) Verlaufsuntersuchungen über das Vorkommen von aMPV in Legehennen- und Mastelterntierherden durch. Anhand ihrer vorliegenden Daten konnte jedoch in ihrer Studie keine eindeutige Aussage über die Wirksamkeit und Wirtschaftlichkeit der Impfung gegen das aMPV unter Feldbedingung bei Legehennen- und Mastelterntierherden getroffen werden.

Es ist bekannt, dass in deutschen Geflügelbetrieben sowohl Infektionen mit dem Subtyp A als auch mit dem Subtyp B des aMPV vorkommen (Hafez et al., 2000; Hess et al., 2000; Laner et al., 2007).

Mehrere Autoren haben experimentelle Challengeversuche bei gegen das aMPV geimpften Legehennen in der Produktionsphase durchgeführt (Cook et al., 2000; Hess et al., 2004b; Sugiyama et al., 2006). Alle Autoren berichteten, dass die Tiere in der Produktionsphase nur dann vollständig (gegen respiratorische Symptomatik, Durchfall und Legeleistungsrückgang) geschützt waren, wenn die Tiere in der Aufzuchtperiode mit einem kombinierten Impfprogramm, bestehend aus einem „Priming“ mit einem attenuierten Lebendimpfstoff, gefolgt von einer „Boosterung“ mit einer inaktivierten aMPV-Vakzine, immunisiert wurden.

Bei Challengeversuchen mit gegen das aMPV geimpften Puten mittels attenuierter Lebendvakzine konnten sowohl mit homologen aMPV-Subtypen (Cook et al., 1989b; Williams et al., 1991a; Cook et al., 1995; Van de Zande et al., 2000) als auch mit heterologen aMPV-Subtypen (Cook et al., 1995; Eterradossi et al., 1995; Van de Zande et al., 2000) ein guter Schutz vor der Ausprägung klinischer Erscheinungen nachgewiesen werden. Naylor et al. (1997a) konnten bei ihren Versuchen nur eine partielle Kreuzimmunität zwischen den Subtypen A und B bei Puten feststellen. Den Tieren wurde 21 Tage nach Inokulation eines virulenten aMPV-Stammes (Subtyp A oder B) der jeweils heterologe aMPV-Stamm (Subtyp A oder B) verabreicht. Sie konnten in den heterologen Challengegruppe (AB und BA) post challenge sowohl klinische Erscheinungen bei den Puten feststellen als auch Virus aus den Puten reisolieren. Van de Zande et al. (2000) konnten ebenfalls bei Challengeversuchen mit vakzinierten Mastputen mit attenuierten aMPV-Stämmen (Subtyp A und B) feststellen, dass bei den Gruppen mit dem jeweils heterologen Challenge (attA/B und attB/A) post challenge Virus aus den Versuchstieren isoliert werden konnte.

Auf Grundlage der experimentellen Challengeversuchen bei gegen das aMPV geimpften Legehennen (Cook et al., 2000) wurden in der vorliegenden Arbeit Verlaufsuntersuchungen in vier Geflügelmast-Großeltern-tierherden durchgeführt, die hinsichtlich der Immunisierung gegen das aMPV einem unterschiedlichen, kombinierten Impfprogramm unterlagen (BBB, BBA, AAA und AAB (siehe dazu auch 4.1.1 und 4.1.2). Dabei soll in Anknüpfung an die Untersuchung von Jodas et al. (2002) die Wirtschaftlichkeit und Wirksamkeit der kombinierten aMPV-Impfung in Mastgroßeltern-tierherden unter Feldbedingungen untersucht werden.

Trotz der durchgeführten Impfungen konnten in allen vier Herden während der **Produktionsphase** (ab 25. LW) Infektionen mit dem aMPV molekularbiologisch oder serologisch nachgewiesen werden. Insgesamt war die Infektionsrate während der Produktionsphase aber gering (Herde BBB eine Infektion, Herde BBA zwei Infektionen, Herde AAA drei Infektionen, Herde AAB zwei Infektionen). Dass Infektionen mit dem aMPV in gegen das aMPV geimpften Geflügelherden vorkommen, berichteten zuvor schon Hafez (1994) für Putenmastherden und Jodas et al. (2002) für Putenmast- und Legehennenherden.

Die nachgewiesenen Infektionen führten in den geimpften Versuchsherden zu keinen klinischen Symptomen, die dem SHS entsprachen und führten auch zu keiner Veränderung der Eischalenqualität. Darüber hinaus traten keine milden respiratorischen Symptome zum Zeitpunkt der Infektionen auf. Im Gegensatz dazu konnten Hafez und Löhren (1990a) in zwei ungeimpften Broilerherden und in einer ungeimpften Mastelternierherde, bei denen eine aMPV-Infektion serologisch nachgewiesen wurde, SHS-typische klinische Symptome feststellen. Bei einer serologischen Verlaufsuntersuchung von 21 ungeimpften Mastelternierherden aus Nord- und Süddeutschland konnten in 95% der untersuchten Herden Antikörper gegen das aMPV nachgewiesen werden. Bei 50% der seropositiven Herden wurden SHS-typische klinische Symptome beobachtet (Wemmer, 1993).

Um die Wirtschaftlichkeit und Wirksamkeit der aMPV-Impfung zu untersuchen, wurde bei dieser Verlaufsuntersuchung geprüft, ob die nachgewiesenen Infektionen in einem zeitlichen Zusammenhang mit einer negativen Beeinflussung der Herdenleistung (Rückgang der Legeleistung, Erhöhung der Abgänge Hennen) standen. Einer serologisch nachgewiesenen Infektion in der 54. LW in der Herde BBB (Stall 2) ging ein Rückgang der Legeleistung von 7% in der 49. LW bis 51. LW voraus. Bei Untersuchungen in ungeimpften Mastelternierbeständen konnten aMPV-Infektionen mit einem Legeleistungsrückgang bis zu 4,5% pro Woche für eine Dauer von ein bis fünf Wochen in Verbindung gebracht werden (O'Brien, 1985; Wyeth et al., 1987; Hafez und Löhren, 1990a; Wemmer, 1993). Die nachgewiesene aMPV-Infektion hatte keinen Einfluss auf die wöchentliche Abgangsrate der Hennen. Diese lag im Zeitraum der 48. LW bis 54. LW zwischen 0,39% und 0,79% pro Woche und damit stets unterhalb des Integrationsstandards. Höchstwerte der Tierverluste bei ungeimpften Mastelternierherden infolge einer aMPV-Infektion sind in der Literatur mit 1 bis 3% pro Woche, die in komplizierten Fällen auch 4 % erreichen können, beschrieben (O'Brien, 1985; Hafez und Löhren, 1990a; Wemmer, 1993).

Bei allen anderen molekularbiologisch oder serologisch nachgewiesenen aMPV-Infektionen konnte kein zeitlicher Zusammenhang mit einer negativen Beeinflussung der Herdenleistung hergestellt werden. Betrachtet wurden hierbei die Entwicklung der Herdenleistungen 3 Wochen vor und 3 Wochen nach einem aMPV-spezifischen, viralen RNA-Nachweis, sowie 6 Wochen vor und 6 Wochen nach einem signifikanten Anstieg der Antikörpertiter.

In allen Ställen aller Versuchsherden traten standardbereinigte Legeleistungsrückgänge über 1% im Vergleich zur Vorwoche auf, die in keinem zeitlichen Zusammenhang mit einer nachgewiesenen aMPV-Infektion standen, selbst in Herden, deren Legeleistung während der gesamten Produktionsphase oberhalb des Integrationsstandards lagen. Differentialdiagnostisch konnte eine aMPV-Infektion sowohl serologisch als auch molekularbiologisch für diese Legeleistungsrückgänge ausgeschlossen werden.

In der Herde AAB lagen die Abgänge der Hennen während der gesamten Produktionsphase in allen Ställen oberhalb des Integrationsstandards und die Legeleistung unterhalb des Integrationsstandards. Grund für die schlechten Leistungsdaten in dieser Herde war das massive Auftreten von Sehnenrupturen bei den Tieren während der Produktionsphase.

Betrachtet man die Tatsache, dass die nachgewiesenen Infektionen in den gegen das aMPV in der Aufzucht geimpften Geflügelmast-Großeltern-tierherden in der Produktionsphase zu keinen SHS typischen klinischen Erscheinungen führten, und dass bei nur einer von acht nachgewiesenen Infektionen ein zeitlicher Zusammenhang mit einem Rückgang der Legeleistung beobachtet wurde, lässt sich anhand der in dieser Verlaufsuntersuchung erhobenen Daten die Aussage treffen, dass eine zweimalige Lebendimpfung, gefolgt von einer einmaligen Inaktivatimpfung, die Herden zwar nicht vor einer aMPV-Infektion schützte, diese Infektionen jedoch nicht zu typischen klinischen SHS-Symptomen führten und in sieben von acht nachgewiesenen Infektionen wirtschaftlicher Schaden durch ein Ausbleiben der negativen Beeinflussung der Herdenparameter (Rückgang der Legeleistung, Anstieg der Abgänge Hennen) verhindert wurde.

An dieser Stelle sei jedoch darauf hingewiesen, dass eine aMPV-Infektion selbst in gegen das aMPV ungeimpften Herden nicht immer zwingend zu klinischen Symptomen und einer negativen Beeinflussung der Herdenleistung führen muss (Morley und Thomson, 1984; Hafez, 1993; Wemmer, 1993). Neben Management, Stress, Luftumsatzrate und Besatzdichte hat vor allem das Vorliegen einer sekundären, bakteriellen Infektion einen starken Einfluss auf den Krankheitsverlauf und auf die Mortalität (Morley und Thomson, 1984; Anon, 1985; Stuart,

1986). Die Aussage, ob die nachgewiesenen Infektionen in dieser Verlaufsuntersuchung in ungeimpften Herden zu klinischen Symptomen und negativer Leistungsbeeinflussung geführt hätten, kann anhand des verwendeten Versuchsaufbaus nicht getroffen werden. Aufgrund des hohen Tierwertes der Mastgroßeltern-tierherden musste auf das Mitführen von ungeimpften Kontrollställen auf den Standorten der vier Versuchsherden verzichtet werden.

Auch die Virulenz verschiedener aMPV-Isolate kann einen Einfluss auf den Krankheitsverlauf haben (Van de Zande et al., 1999; Velayudhan et al., 2005; Velayudhan et al., 2007; Aung et al., 2008).

Aufgrund der Tatsache, dass sogar in den geimpften und unter besonderen Biosicherheitsmaßnahmen gehaltenen Mastgroßeltern-tierherden aMPV Infektionen während der Produktion vorkommen, ist eine Impfung dieser Zuchtstufe gegen das aMPV zu befürworten.

Ein Unterschied der vier verwendeten kombinierten Impfprogramme (BBB, BBA, AAA, AAB) hinsichtlich ihrer Fähigkeit im Falle einer homologen oder heterologen aMPV-Infektion vor klinischen Symptomen zu schützen und eine negative Beeinflussung der Herdenparameter zu verhindern, lässt sich nach Auswertung der Daten dieser Verlaufsuntersuchung nicht feststellen. Dies liegt daran, dass die molekularbiologische Nachweise einer aMPV-Infektion mit den Subtypen A und B sehr niedrig waren. So konnte in der Versuchsherde BBB während der gesamten Produktionsphase keine virale RNA detektiert werden und in der Herde BBA und AAB jeweils nur einmal virale RNA des Subtyps A nachgewiesen werden. Der Nachweis der viralen RNA erfolgte in der Herde BBA in der 33.LW und in der Herde AAB in der 57.LW. Für diese drei Herden lässt sich nicht feststellen, ob es Unterschiede hinsichtlich der schützenden Wirkung und der Dauer der Immunität bei einem aMPV-Challenge mit dem Subtyp A oder dem Subtyp B gibt. Da sowohl virale RNA des Subtyps B (in der 30.LW und 45.LW) und des Subtyps A (in der 33.LW) nachgewiesen wurde, kann lediglich für die Herde AAA festgehalten werden, dass die Impfung sowohl vor dem heterologen Challenge als auch dem homologen Challenge schützt. In dieser Herde traten weder klinische Erscheinungen auf, noch konnten den viralen RNA-Nachweisen Leistungsabfälle zugeordnet werden. Cook et al. (2000) konnten im experimentellen Challengeversuch bei Legehennen zeigen, dass eine aMPV-Lebendimpfung (Subtyp A, 1.LT), gefolgt von einer aMPV-Inaktivimpfung (Subtyp A, 16.LW), die Tiere vor dem heterologen Challenge (Subtyp B) in der Produktionsphase (28.LW) schützte. Sugiyama et al. (2006) zeigten in deren Studien, dass eine einmalige aMPV-Lebendimpfung mit dem Subtyp B (7.LT oder 11.LW), gefolgt von einer aMPV-Inaktivimpfung (Subtyp B, 15.LW), vor dem

homologen Challenge (Subtyp B) in der 24.LW schützt. Hess et al. (2004b) konnte mit seinem verwendeten kombinierten Impfprogramm (Subtyp B-Lebendvakzine am 1.LT und Subtyp A-Inaktivatvakzine in der 16.LW) einen Schutz vor einem Challenge in der 27.LW mit einem virulenten Subtyp B Isolat nachweisen.

In der Herde AAB konnte die Dauer der Immunität bis zur 57.LW nachgewiesen werden. Die nachgewiesene Infektion zu diesem Zeitpunkt mit dem Subtyp A führte zu keinen klinischen Symptomen und keinem Leistungsabfall. Dies deckt sich mit experimentellen Challengeuntersuchungen von Cook et al. (2000), die die Dauer der Immunität des von ihnen verwendeten Impfprogramms bei Legehennen bis zur 60.LW nachweisen konnten.

Bei neuesten Impfprogrammen in Mastgeflügelbeständen in Regionen mit hoher Geflügeldichte werden Versuche gemacht, aMPV-Lebendimpfungen auch während der Produktionsphase zu integrieren. Der Grund dafür liegt darin, dass trotz einer zweimaligen aMPV-Lebendimpfung und einer einmaligen Inaktivatimpfung der Herden während der Aufzucht, in der Produktionsphase ab der 40.LW Eischalenprobleme (Depigmentierung, Dünnschaligkeit) in diesen Herden auftreten, bei denen aMPV differentialdiagnostisch nicht ausgeschlossen werden kann (Dr. A. Foulmann, persönliche Mitteilung 2011).

In Anknüpfung an diese Arbeit wäre es interessant, eine Verlaufsuntersuchung in ähnlicher Form wie in dieser Arbeit in Herden durchzuführen, die auch in der Produktionsphase mit aMPV-Lebendimpfstoff geimpft werden. Dafür sollten jedoch zunächst molekular diagnostische Methoden etabliert werden, welche eine Unterscheidung zwischen aMPV-Impfstämmen und aMPV-Feldstämmen erlauben.

In der **Aufzuchtperiode (0.LW-24.LW)** konnten nur in der Herde BBB (in der 12.LW) und in der Herde AAA (in der 9.LW und in der 21.LW) Feldinfektionen molekularbiologisch nachgewiesen werden. Auch Wemmer (1993) konnte bei seinen Verlaufsuntersuchungen in ungeimpften Mastelertierherden Feldinfektionen mit dem aMPV serologisch in der Aufzuchtperiode nachweisen. Mehr als die Hälfte der Erstinfektionen in seinen Verlaufsuntersuchungen fand in der Zeit bis zur 16.LW statt.

Da die bei dieser Verlaufsuntersuchung verwendete RT-PCR-Untersuchung nicht direkt zwischen Feld- und Impfstamm unterscheiden kann, wurde für die Bewertung, ob die nachgewiesene virale RNA einem aMPV-Impf- oder einem aMPV-Feldstamm zugrunde liegt, auf experimentelle Untersuchungen von Haarländer (2005) zurückgegriffen. Haarländer hat

Untersuchungen bei Puten durchgeführt, die am 1.LT via Augentropfen mit entweder einer aMPV-Subtyp A Lebendvakzine oder einer aMPV-Subtyp B Lebendvakzine geimpft wurden. Bei den im Experiment mit dem Subtyp A vakzinierten Puten konnte mit der in dieser Verlaufsuntersuchung verwendeten RT-PCR-Untersuchung virale RNA des Subtyps A bis zu vier Wochen nach der Impfung detektiert werden. Bei den mit dem Subtyp B vakzinierten Puten konnte virale RNA des Subtyp B bis zu drei Wochen nach der Impfung aus Trachealtupfern nachgewiesen werden.

Vor der ersten aMPV-Lebendimpfung in der 8.LW konnte in allen Herden keine Feldinfektion, weder molekularbiologisch noch serologisch, nachgewiesen werden. Die Durchführung der ersten aMPV-Lebendimpfung zu einem früheren Zeitpunkt scheint aufgrund der vorliegenden Datenlage in den Geflügelmast-Großeltern-tierherden nicht zwingend notwendig. Im Gegensatz dazu konnten Cavanagh et al. (1999) bei einer Verlaufsuntersuchung in 13 Broilerherden in U.K. aMPV-Feldinfektionen mit dem Subtyp B in sechs Herden zum Ende der Mastperiode (ab 4.LW) und somit zu einem früheren Zeitpunkt nachweisen.

Da die Herkunftsherden der in diesem Versuch verwendeten Geflügelmast-Großeltern-tierherden gegen das aMPV sowohl mit Lebendimpfstoffen als auch mit Inaktivatvakzinen geimpft waren, konnten bei allen vier Herden zum Zeitpunkt der Einstellung (0.LW) maternale Antikörper gegen das aMPV serologisch nachgewiesen werden. Nach 21 Tagen waren in der Herde AAB bei allen untersuchten Serumproben keine Antikörper mehr nachweisbar. Nur vereinzelt reagierten Serumproben in den Versuchsherden BBB (2 Proben), BBA (2 Proben) und AAA (3 Proben) noch schwach positiv (Titer zwischen 451 und 2572) nach 21 Tagen. Die Versuchsherde AAB, bei der schon am 21.Tag keine maternalen Antikörper mehr nachweisbar waren, hatte bei der serologischen Untersuchung der Eintagsküken die niedrigsten Titerwerte (Median 3907) im Vergleich zu den anderen drei Versuchsherden BBB (Median 15233), BBA (Median 8176) und AAA (Median 8653). Auch Wemmer (1993) konnte bei einem Versuch über die Elimination von maternalen Antikörpern bei Broilern feststellen, dass bei Küken, die als Eintagsküken vergleichsweise hohe ODD-Mittelwerte im ELISA aufwiesen, am 20. Lebenstag noch aMPV-Antikörper im ELISA im Grenzbereich nachgewiesen werden konnten. Laut seinen Untersuchungen waren erst nach 30 Tagen bei allen Versuchstieren keine maternalen Antikörper mehr nachweisbar. Er errechnete eine Halbwertszeit für aMPV-spezifische Antikörper von 5,6 Tagen.

Im weiteren Verlauf reagieren erst in der 9.LW, eine Woche nach der ersten Impfung mit dem aMPV-Lebendimpfstoff, die ersten Serumproben positiv in der Herde AAA (im Stall 2; 5 positive von 10, im Stall 4; 10 positive von 10). Alle anderen 3 Herden reagieren in der 9.LW noch negativ im ELISA, mit Ausnahme zweier schwach positiv reagierender Proben in der Herde BBA Stall 1 (Titer 568) und Stall 3 (Titer 696). In der 12. Lebenswoche (3 Wochen nach der ersten Lebendimpfung) und in der 15.LW (sieben Wochen nach der ersten Lebendimpfung und eine Woche nach der zweiten Lebendimpfung) ist in den Herden AAA, BBB und BBA in allen Ställen eine signifikante Erhöhung der Antikörpertiter im Vergleich zum jeweils vorangegangenen Untersuchungszeitpunkt und damit eine humorale Immunantwort auf die Lebendimpfungen in allen Ställen nachweisbar. Eteradossi et al. (1995) konnten unter experimentellen Bedingungen mit aMPV-Lebendimpfstoff geimpften SPF Puten eine humorale Immunantwort im ELISA bei zwei von drei verwendeten ELISA-Tests 3 Wochen p.v. nachweisen. Die Puten wurden in diesem Versuch am 7. Tag per Augentropfen geimpft. In einem ähnlichen Experiment mit SPF Hühnern konnten Mekkes und De Witt (1998) 14 Tage nach einer Lebendimpfung (1.LT) humorale Antikörper sowohl bei mit Subtyp A geimpften als auch mit Subtyp B geimpften Tieren mit zwei von drei verwendeten ELISA Tests nachweisen.

Eine weitere signifikante Erhöhung der Antikörpertiter von der 15.LW auf die 18.LW und somit ein Boostereffekt von der zweiten Lebendimpfung in der 14.LW war in keiner der vier Versuchsherden nachweisbar. Im Gegensatz dazu konnte Hafez (1994) in seiner Verlaufsuntersuchung bei gegen das aMPV geimpften Puten erst in der 6.LW, 3 Wochen nach der zweiten aMPV-Lebendimpfung, einen deutlichen Anstieg der Antikörpertiter nachweisen. Die Tiere waren in der 1.LW spraygeimpft und zusätzlich in der 3. Lebenswoche über das Trinkwasser vakziniert worden.

Im Vergleich zu den Herden AAA, BBB und BBA fällt bei der Herde AAB auf, dass die humorale Immunantwort auf die Lebendimpfungen in dieser Herde zeitlich verzögert und generell auf einem niedrigeren Niveau ausfällt. In der 12.LW sind alle Serumproben aller Ställe der Herde AAB noch im negativen Bereich. Und auch im weiteren Verlauf bis zur 18.LW sind zum Teil alle Proben eines Stalles immer noch im negativen Bereich (15.LW Stall 2, 18.LW Stall 4). Verschiedene Autoren berichteten, dass die Wahl des verwendeten ELISA-Testkits ausschlaggebend dafür ist, ob man im ELISA eine humorale Immunantwort infolge einer aMPV-Lebendimpfung nachweisen kann oder nicht (Eteradossi et al., 1995; Toquin et al., 1996; Mekkes und de Wit, 1998). Eteradossi et al. (1995) und Toquin et al. (1996) stellten in

ihren Untersuchungen mit verschiedenen ELISA-Testkits fest, dass die humoralen Antikörpertiter infolge einer aMPV-Lebendimpfung bei den verwendeten ELISA-Testkits mit einem homologen Antigen höher waren als bei der Verwendung eines ELISA-Testkits mit einem heterologen Antigen. Da die Herde AAA eine humorale Immunantwort im ELISA aufwies, lässt sich nicht vermuten, dass das hier verwendete ELISA-Testkit die Antikörper gegen die Subtyp A-Lebendvaccine nicht detektieren kann. Nach Angaben des Herstellers detektiert der in dieser Verlaufsuntersuchung verwendete ELISA Testkit (FlockChek[®] Aviäres Pneumovirus, Fa. IDEXX, Ludwigsburg) Antikörper gegen die aMPV-Subtypen A,B und C.

Bestimmte aviäre Infektionserreger haben eine immunsuppressive Wirkung und können zu einem Ausbleiben oder einer Reduzierung der humoralen Immunantwort nach einer Impfung führen. Beispielsweise ist von dem Erreger der IBD, dem CAV und dem Erreger der MD bekannt, dass sie eine solche Immunsuppression in den Herden auslösen können (Allan et al., 1972; Markowski-Grimsrud und Schat, 2003; Heidari et al., 2010). Somit wäre denkbar, dass eine solche Krankheit in der Herde AAB zu einer Immunsuppression und somit zu einer niedrigeren Antikörperbildung infolge der Lebendimpfungen geführt hat. Es gab jedoch keinerlei klinische Symptome, die auf eine Infektion durch einen der erwähnten immunsuppressiv wirkenden Erreger hindeuteten. Auch waren bei der in der 24. LW routinemäßig durchgeführten Impfkontrolle die ND-ELISA-Titer der Herde AAB nicht niedriger als in den Herden BBB, BBA und AAA. Diese beiden Fakten sprechen gegen eine vorliegende Immunsuppression als Ursache für die fehlende bzw. viel niedrigere humorale Antikörperbildung in der Herde AAB.

Auch Impffehler während der Sprayapplikation des Lebendimpfstoffes können zu einem Ausbleiben der Immunität bzw. einer niedrigen humoralen Immunreaktion beim Impfling führen (Jungbäck et al., 2005). Bei der Impfstoffapplikation im Sprayverfahren können Faktoren wie starke Luftbewegung im Stall während der Applikation, schlechte Wasserqualität des für die Lösung des Impfstoffes verwendeten Wassers, hohe Temperatur des für die Lösung des Impfstoffes verwendeten Wassers, breite Streuung der Tröpfchengröße des verwendeten Sprühgerätes, ungleichmäßiges Ausbringen des Impfstoffsprays im Stall den Impferfolg beeinflussen (Jungbäck et al., 2005). De Wit et al. (2010) konnten weiterhin Faktoren wie Geflügelnutzungsart (Broiler, Legehennen, Mastelertiere, Mastgroßelertiere), Herdengröße, Haltungstyp, Ventilationsmanagement, Lichtmanagement, Vakzinationsalter, Intervall zwischen Vakzination und Blutprobenentnahme und Temperatur des zum Auflösen des Impfstoffes

verwendeten Wassers in Verbindung bringen mit einer signifikant niedrigeren Immunantwort infolge einer IB-Lebendimpfung im Sprayverfahren. Die humorale Immunantwort in diesem Feldversuch wurde mithilfe eines IB-IgM-spezifischen ELISA bestimmt. Ähnliche wissenschaftliche Untersuchungen über die Effektivität der aMPV-Lebendimpfung mittels Sprayapplikation im Feld liegen derzeit leider nicht vor. Prinzipiell wurde die Sprayimpfung in dieser Verlaufsuntersuchung bei allen Herden durch ein und dieselbe Person nach einem einheitlichen Impfschemata durchgeführt. Der Impfstoff wurde bis zum Bestand in einer Kühlbox transportiert. Alle vier Bestände sind der örtlichen Trinkwasserversorgung angeschlossen. Die Qualität des zum Auflösen verwendeten Wassers entsprach auf allen vier Farmen Trinkwasserqualität und erfolgte mit kaltem Wasser direkt aus der Leitung. Nach Angaben von de Wit et al. (2010) resultiert jede °C höhere Temperatur des Wassers (zwischen 6°C und 20°C), welches zum Auflösen des Impfstoffes verwendet wird in einer 3,2%ig niedrigeren IB-IgM-Immunantwort nach der Applikation einer zweiten IB Lebendvakzine mittels Sprayverfahren bei Mastelterntierherden. Eine genaue Messung der Temperatur des für die Impfstofflösung verwendeten Wassers wurde bei dieser Verlaufsuntersuchung nicht durchgeführt. Die Applikationen des Lebendimpfstoffes in der Herde AAB erfolgte, wie auch in der Herde BBB, im November und Dezember. In der Herde BBA und AAA wurden die Lebendimpfungen im September und Oktober durchgeführt. Der Monat der Applikation speziell für die Herde AAB (später im Jahr als Herde AAA) impliziert keine höhere Umgebungstemperatur als bei der Applikation der Vakzine in den anderen Herden, welche den Impferfolg hätte beeinflussen können. Bei allen Herden erfolgte die Applikation bei Dämmerlicht. De Wit et al. (2010) stellten bei ihren Felduntersuchungen über die Effektivität der Sprayapplikation von IB-Lebendvakzinen fest, dass in Broilerherden, bei denen das Licht während der Sprayapplikation nicht ausgeschaltet war, die IB-IgM-Immunantwort 41,1% höher ausfiel als im Vergleich zu Herden, bei denen das Licht während der Vakzination ausgeschaltet wurde. Die Lüftung wurde bei der Impfstoffapplikation in dieser Verlaufsuntersuchung in allen Herden nicht ausgeschaltet. Hier konnten de Wit et al. (2010) feststellen, dass die Immunantwort bei gegen IB lebend geimpften Broilerhaltungen mittels Sprayverfahren um 15,5% höher ausfiel als bei Herden, bei denen die Lüftung während der Sprayapplikation ausgeschaltet wurde. Das für die Impfstoffapplikation verwendete Impfsprühgerät wurde in allen Herden verwendet. Dieses Drucksprühgerät verfügt über einen Handpumpen-Mechanismus sowie über einen variabel einstellbaren Sprühkopf. Retrospektiv sind zwei

Faktoren bei der sonst einheitlichen Sprayapplikation innerhalb der 4 Herden als sehr variabel einzuschätzen: Zum Einen könnte es aufgrund der nicht ausgeschalteten Lüftung in den vier Herden während der Impfstoffapplikation zu einer unterschiedlich starken Luftbewegung gekommen sein und somit zu einem unterschiedlich starken Verlust von Impfvirus über die Abluft des Stalles. Zum Anderen bürgt das bei der Impfstoffapplikation verwendete Impfsprühgerät (Modell Prima 5 Typ 42 E, Fa.Gloria, Witten) die Gefahr, dass aufgrund des variabel einstellbaren Sprühkopfes und des inkonstanten Druckes aufgrund des Handpumpen-Mechanismus die Tröpfchengröße und die Reichweite des Impfsprühgerätes nicht bei allen Sprayapplikationen der unterschiedlichen Herden einheitlich war. Vorsorglich wurde das in unserer tierärztlichen Praxis für den Bereich der Mastgroßelterniere verwendete Impfsprühgerät (Modell Prima 5 Typ 42 E, Fa.Gloria, Witten) durch das Impfsprühgerät MSB151 der Firma Maruyama, Konumata, Japan ersetzt. Der Vorteil des Impfsprühgerätes MSB151 liegt darin, dass aufgrund eines batteriebetriebenen Pumpenmotors während der Impfstoffapplikation zu jeder Zeit ein konstanter Druck und damit eine konstante Tröpfchengröße gewährleistet ist. Zusätzlich verfügt das Gerät über zwei Sprühlanzen, was die Reichweite des Sprühnebels erhöht. Somit ist eine homogenere Verteilung der Vakzine im Stall gewährleistet. Um unerwünschte Luftbewegungen im Stall und damit einen Verlust von Impfvirus über die Abluft des Stalles zu verringern, wurde außerdem das Impfregime für die Sprayapplikation dahingehend geändert, dass die Lüftung während der Sprayapplikation ausgeschaltet wird.

Die Auswertung der erhobenen Daten während der Aufzuchtperiode ergeben, dass eine Impfung mit einer aMPV-Lebendvakzine zu einem früheren Zeitpunkt als die 8.LW bei Geflügelmastgroßelternieren nicht zwingend erforderlich ist. Vor der 8.LW konnte keine aMPV Infektion, weder serologisch noch molekularbiologisch, nachgewiesen werden. Auch wenn ein Impffehler in dieser Verlaufsuntersuchung retrospektiv nicht eindeutig als Ursache für die verzögerte Immunantwort in der Herde AAB ausgemacht werden konnte, sollte einer korrekt durchgeführten Sprayapplikation unter Feldbedingungen größte Aufmerksamkeit eingeräumt werden. Hierfür wäre es sicher ratsam, ähnliche Felduntersuchungen über die Effektivität der Lebendimpfung, wie sie de Wit et al. (2010) für die Lebendimpfung gegen IB schon durchgeführt haben, auch für aMPV-Lebendimpfstoffe durchzuführen. Dies ist sicher auch gerade unter dem Aspekt besonders ratsam, dass eine fehlerhafte Massenapplikation des aMPV zu einem längeren Persistieren des Impfvirus im Bestand führt und somit die Gefahr

einer Zunahme der Virulenz des attenuierten Impfstammes, insbesondere des Subtyps B, zur Folge haben kann (Catelli et al., 2006; Cecchinato et al., 2009).

7. Zusammenfassung

In dieser Arbeit wurden im Rahmen einer Verlaufsuntersuchung vier in Deutschland lokalisierte Geflügelmast-Großeltern-tierherden über ihre gesamte Lebenszeit alle drei Wochen serologisch auf das Vorkommen von Antikörpern gegen das aviäre Metapneumovirus (aMPV) und molekularbiologisch auf das Vorkommen von viraler RNA der aviären Metapneumovirus Subtypen A und B untersucht. Die vier Geflügelmast-Großeltern-tierherden wurden mit einem kombinierten Impfprogramm bestehend aus einer zweimaligen Lebendimpfung (8.LW und 14.LW), gefolgt von einer einmaligen Inaktivatimpfung (18.LW) in der Aufzuchtperiode gegen das aMPV vakziniert. Bei den vier Herden wurden vier verschiedene Impfstoffkombinationen hinsichtlich der aMPV-Subtypen A und B verwendet (BBB, BBA, AAA, AAB). Zusätzlich wurden Daten der Herdengesundheit und wirtschaftliche Parameter (Legeleistung, Abgänge Hennen) während der gesamten Produktionsphase (ab 25.LW) für jede Herde gesammelt.

Ziel der Arbeit war es, die Wirksamkeit und die Wirtschaftlichkeit einer kombinierten Impfung in einer breitangelegten Verlaufsuntersuchung unter Feldbedingungen in Geflügelmast-Großeltern-tierherden zu prüfen.

Trotz der durchgeführten Impfungen konnten in allen vier Herden während der Produktionsphase Infektionen mit dem aMPV molekularbiologisch oder serologisch nachgewiesen werden. Insgesamt war die Infektionsrate aber während der Produktionsphase niedrig (Herde BBB eine Infektion, Herde BBA zwei Infektionen, Herde AAA drei Infektionen, Herde AAB zwei Infektionen). Die nachgewiesenen Infektionen mit dem aMPV führten zu keinerlei klinischen Symptomen, die dem SHS (Swollen Head Syndrome) entsprachen. Auch traten keine milden respiratorischen Symptome in den Herden auf. Weiterhin kam es auch zu keiner Veränderung der Eischalenqualität. In nur einer von acht nachgewiesenen aMPV-Infektionen während der Produktionsphase konnte ein zeitlicher Zusammenhang mit einer negativen Beeinflussung der Herdenleistung hergestellt werden. So ging einer serologisch nachgewiesenen Infektion in der 54. LW in der Herde BBB (Stall 2) ein Rückgang der Legeleistung von 7% in der 49.LW bis 51.LW voraus.

Anhand der in dieser Verlaufsuntersuchung erhobenen Daten lässt sich die Aussage treffen, dass eine zweimalige Lebendimpfung, gefolgt von einer einmaligen Inaktivatimpfung die Herden zwar nicht vor einer aMPV-Infektion schützte, diese Infektionen jedoch nicht zu klinischen SHS-Symptomen führten und in sieben von acht

nachgewiesenen Infektionen wirtschaftlicher Schaden durch ein Ausbleiben der negativen Beeinflussung der Herdenparameter (Rückgang der Legeleistung, Anstieg der Abgänge Hennen) abgewendet wurde. Ein kombiniertes Impfprogramm ist dementsprechend auch für die Zuchtstufe der Geflügelmast-Großelternherden, die unter besonderen Biosicherheitsmaßnahmen gehalten werden, zu befürworten. Ein Unterschied der vier verwendeten kombinierten Impfprogramme (BBB, BBA, AAA, AAB) hinsichtlich ihrer Fähigkeit im Falle einer homologen oder heterologen aMPV-Infektion vor klinischen Symptomen zu schützen und eine negative Beeinflussung der Herdenparameter zu verhindern, lässt sich nach Auswertung der Daten dieser Verlaufsuntersuchung nicht feststellen.

Die Durchführung der ersten aMPV Lebendimpfung zu einem früheren Zeitpunkt als der 8.LW scheint aufgrund der vorliegenden Datenlage nicht zwingend notwendig. Es konnten in allen Herden keine aMPV-Infektionen vor der 8. LW nachgewiesen werden.

In der Aufzuchtperiode kam es in der Herde AAB zu einer zeitlich verzögerten und einer generell niedrigeren humoralen Immunantwort auf die aMPV-Lebendimpfungen im Vergleich zu den Herden BBB, BBA und AAA. Als Ursache dafür werden in der vorliegenden Arbeit die Wahl des verwendeten ELISA-Testkits, der Einfluss von Infektionserregern mit immunsuppressiver Wirkung und Impffehler während der Sprayapplikation der Lebendimpfstoffe diskutiert.

8. Summary

A follow-up study concerning the occurrence of the Avian Metapneumovirus (aMPV) in aMPV vaccinated meat type grandparent breeder flocks in Germany

In the present study four meat type grandparent breeder flocks located in Germany were tested in the course of a follow-up study to investigate the occurrence of Avian Metapneumovirus (aMPV) humoral antibodies by using a commercial ELISA Test and to check the occurrence of aMPV specific RNA of the subtype A and B by using RT-PCR. Samples were taken every three weeks starting on the first day of life. The four meat type grandparent breeder flocks were vaccinated with a combined vaccination program against aMPV. The vaccination program consisted firstly of two vaccinations with a live vaccine given at 8 and 14 weeks of age and secondly was followed by a vaccination with an inactivated vaccine at 18 weeks of age. Four different vaccine combinations regarding the different aMPV-subtypes A and B were used in the four flocks (BBB, BBA, AAA, AAB). In addition, information about flock health and production parameters (egg production, total losses hens) were collected from each flock during the whole production cycle.

The aim of the present study was to investigate the efficacy and efficiency of a combined vaccination program in a large follow-up investigation under field conditions in meat type grandparent breeder flocks.

Despite vaccination, it was possible to detect aMPV field infections during the production cycle in all flocks using both method RT-PCR or ELISA. In total, the infection rate was rather low during the production cycle (flock BBB one infection, flock BBA two infections, flock AAA three infections, flock AAB two infections). All detected infections did not lead to any clinical signs typically for the Swollen Head Syndrome. In addition, no mild respiratory signs were recognized in the flocks. Furthermore, none of the flocks showed any changes concerning egg shell quality. Only in one of eight proven aMPV infections during the production cycle it was possible to see a temporal relation between aMPV infection and a drop in egg production. In this specific case, a drop in egg production of 7% from week 49 to week 51 was followed by a serological proven infection in week 54 in flock BBB (house 2).

On the basis of the data collected in this study it can be concluded that two live vaccinations followed by one inactivated vaccination are not able to avoid aMPV

infection of the vaccinated flocks. However, the subsequent infections did not induce any typical clinical signs characteristic for the SHS. In seven of eight proven infections, the infection did not have any effect on the flock performance (drop in egg production, rise of total losses of the hens). Consequently, economic damage could be avoided. According to this, a combined vaccination program is advisable for meat type grandparent breeder flocks which are kept under strict biosecurity measures.

The data in the present study does not indicate any differences between the four different combined vaccination programs (BBB, BBA, AAA, AAB) regarding their ability to protect against clinical symptoms or to protect against bad flock performance in case of a homologue or heterologe aMPV field infection.

On the basis of the current data, it is not necessary to vaccinate the flocks earlier than at week eight of age because there was no aMPV infection detected before this age.

Surprisingly, flock AAB showed a delayed and general lower humoral immune response after the live vaccinations in the rearing period than the other flocks BBB, BBA and AAA. Concerning different reasons for this, a variety of aspects like the choice of the ELISA Testkit, the influence of other infectious diseases with an immunosuppressive outcome and spray vaccination failures are discussed in the present study.

9. Literaturverzeichnis

- Al-Ankari, A. R., Bradbury, J. M., Naylor, C. J., Worthington, K. J., Payne-Johnson, C., Jones, R. C. (2001). Avian pneumovirus infection in broiler chicks inoculated with *Escherichia coli* at different time intervals. *Avian Pathol.* **30**(3):257-267.
- Alexander, D. J., Gough, R. E., Wyeth, P. J., Lister, S. A., Chettle, N. J. (1986). Viruses associated with turkey rhinotracheitis in Great Britain. *Vet Rec.* **118**(8):217-218.
- Ali, A., Reynolds, D. L. (1999). A reverse transcription-polymerase chain reaction assay for the detection of avian pneumovirus (Colorado strain). *Avian Dis.* **43**(3):600-603.
- Ali, A., Reynolds, D. L. (2000). A multiplex reverse transcription-polymerase chain reaction assay for Newcastle disease virus and avian pneumovirus (Colorado strain). *Avian Dis.* **44**(4):938-943.
- Alkhalaf, A. N., Halvorson, D. A., Saif, Y. M. (2002a). Comparison of enzyme-linked immunosorbent assays and virus neutralization test for detection of antibodies to avian pneumovirus. *Avian Dis.* **46**(3):700-703.
- Alkhalaf, A. N., Ward, L. A., Dearth, R. N., Saif, Y. M. (2002b). Pathogenicity, transmissibility, and tissue distribution of avian pneumovirus in turkey poults. *Avian Dis.* **46**(3):650-659.
- Allan, W. H., Faragher, J. T., Cullen, G. A. (1972). Immunosuppression by the infectious bursal agent in chickens immunised against Newcastle disease. *Vet Rec.* **90**(18):511-512.
- Alvarez, R., Lwamba, H. M., Kapczynski, D. R., Njenga, M. K., Seal, B. S. (2003). Nucleotide and predicted amino acid sequence-based analysis of the avian metapneumovirus type C cell attachment glycoprotein gene: phylogenetic analysis and molecular epidemiology of U.S. pneumoviruses. *J Clin Microbiol.* **41**(4):1730-1735.
- Andral, B., Louzis, C., Trap, D., Newman, J. A., Bennejean, G., Gaumont, R. (1985a). Respiratory disease (rhinotracheitis) in turkeys in Brittany, France, 1981-1982. I. Field observations and serology. *Avian Dis.* **29**(1):26-34.
- Andral, B., Metz, M., Toquin, D., LeCoz, J., Newman, J. (1985b). Respiratory disease (rhinotracheitis) of turkeys in Brittany, France. III. Interaction of multiple infecting agents. *Avian Dis.* **29**(1):233-243.
- Andral, B., Louzis, C., Edlinger, E., Newman, J. A., Toquin, D., Bennejean, G. (1985c). Respiratory disease (rhinotracheitis) in turkeys in Brittany, France, 1981-1982. II. Laboratory findings. *Avian Dis.* **29**(1):35-42.
- Anon (1985). Turkey rhinotracheitis of unknown aetiology in England and Wales. *Vet Rec.* **117**:653-654.
- Arns, C., Hafez, H. M. (1992). Swollen head syndrome in poultry flocks in Brazil. In: *Proceedings of the 41st Western Poultry Disease Conference*, Sacramento, California, pp. 81-83.

- Aung, Y. H., Liman, M., Rautenschlein, S. (2006). Experimental Infections of broilers with avian Metapneumovirus subtype A and B. World's Poultry Science Journal. **62**:134.
- Aung, Y. H., Liman, M., Neumann, U., Rautenschlein, S. (2008). Reproducibility of swollen sinuses in broilers by experimental infection with avian metapneumovirus subtypes A and B of turkey origin and their comparative pathogenesis. Avian Pathol. **37**(1):65-74.
- Banet-Noach, C., Simanov, L., Perk, S. (2005). Characterization of Israeli avian metapneumovirus strains in turkeys and chickens. Avian Pathol. **34**(3):220-226.
- Baxter-Jones, C., Wilding, G. P., Grant, M. (1986). Immunofluorescence as a potential diagnostic method for turkey rhinotracheitis. Vet Rec. **119**(24):600-601.
- Baxter-Jones, C., Cook, J. K., Frazier, J. A., Grant, M., Jones, R. C., Mockett, A. P., Wilding, G. P. (1987). Close relationship between TRT virus isolates. Vet Rec. **120**(23):562.
- Baxter-Jones, C., Grant, M., Jones, R. C., Wilding, G. P. (1989). A comparison of three methods for detecting antibodies to turkey rhinotracheitis virus. Avian Pathol. **18**(1):91-98.
- Baxter-Jones, C., Jones, R. C. (1989). Laboratory investigations with turkey rhinotracheitis (TRT) virus: Virus isolation, maintenance and serology. In: Recent advances in turkey science. Nixey, C. and Grey, T.C. (Eds.) Butterworth & Co- Verlag, Kent, U.K., pp. 224-233.
- Bayon-Auboyer, M. H., Jestin, V., Toquin, D., Cherbonnel, M., Eterradossi, N. (1999). Comparison of F-, G- and N-based RT-PCR protocols with conventional virological procedures for the detection and typing of turkey rhinotracheitis virus. Arch Virol. **144**(6):1091-1109.
- Bayon-Auboyer, M. H., Arnauld, C., Toquin, D., Eterradossi, N. (2000). Nucleotide sequences of the F, L and G protein genes of two non-A/non-B avian pneumoviruses (APV) reveal a novel APV subgroup. J Gen Virol. **81**(11):2723-2733.
- Bell, I. G., Alexander, D. J. (1990). Failure to detect antibody to turkey rhinotracheitis virus in Australian poultry flocks. Aust Vet J. **67**(6):232-233.
- Bennett, R. S., McComb, B., Shin, H. J., Njenga, M. K., Nagaraja, K. V., Halvorson, D. A. (2002). Detection of avian pneumovirus in wild Canada (*Branta canadensis*) and blue-winged teal (*Anas discors*) geese. Avian Dis. **46**(4):1025-1029.
- Bennett, R. S., Nezworski, J., Velayudhan, B. T., Nagaraja, K. V., Zeman, D. H., Dyer, N., Graham, T., Lauer, D. C., Njenga, M. K., Halvorson, D. A. (2004). Evidence of avian pneumovirus spread beyond Minnesota among wild and domestic birds in central North America. Avian Dis. **48**(4):902-908.
- Blerk, S. V. (1985). Changing disease picture for broilers. Poultry International. **Dec**:18-24.
- Block, H. (2002). ART-Vakzination bei Broilen: Praxiserfahrungen. In: Schriftreihe der DVG "Geflügelkrankheiten" 63. Fachgespräch Hannover, Germany, pp. 94-95.
- Buys, S., du Preez, J. H. (1980). A preliminary report on the isolation of a virus causing sinusitis in turkey in South Africa and attempts to attenuate the virus. Turkeys. **28**:36 und 46.

- Buys, S. B., du Preez, J. H., Els, H. J. (1989a). The isolation and attenuation of a virus causing rhinotracheitis in turkeys in South Africa. Onderstepoort J Vet Res. **56**(2):87-98.
- Buys, S. B., du Preez, J. H., Els, H. J. (1989b). Swollen head syndrome in chickens: a preliminary report on the isolation of a possible aetiological agent. J S Afr Vet Assoc. **60**(4):221-222.
- Cadman, H. F., Kelly, P. J., Zhou, R., Davelaar, F., Mason, P. R. (1994). A serosurvey using enzyme-linked immunosorbent assay for antibodies against poultry pathogens in ostriches (*Struthio camelus*) from Zimbabwe. Avian Dis. **38**(3):621-625.
- Catelli, E., Cook, J. K., Chesher, J., Orbell, S. J., Woods, M. A., Baxendale, W., Huggins, M. B. (1998). The use of virus isolation, histopathology and immunoperoxidase techniques to study the dissemination of a chicken isolate of avian pneumovirus in chickens. Avian Pathol. **27**(6):632-640.
- Catelli, E., De Marco, M. A., Delogu, M., Terregino, C., Guberti, V. (2001). Serological evidence of avian pneumovirus infection in reared and free-living pheasants. Vet Rec. **149**(2):56-58.
- Catelli, E., Cecchinato, M., Delogu, M., Matteo, P. D., Ortali, G., Franciosi, C., Marco, M. A. D., Naylor, C. J. (2004). Avian Pneumovirus infection in turkey and broiler farms in Italy: a virological, molecular and serological field survey. Ital J Anim Sci. **3**:287-292.
- Catelli, E., Cecchinato, M., Savage, C. E., Jones, R. C., Naylor, C. J. (2006). Demonstration of loss of attenuation and extended field persistence of a live avian metapneumovirus vaccine. Vaccine. **24**(42-43):6476-6482.
- Cavanagh, D., Mawditt, K., Shaw, K., Britton, P., Naylor, C. (1997). Towards the routine application of nucleic acid technology for avian disease diagnosis. Acta Vet Hung. **45**(3):281-298.
- Cavanagh, D., Mawditt, K., Britton, P., Naylor, C. J. (1999). Longitudinal field studies of infectious bronchitis virus and avian pneumovirus in broilers using type-specific polymerase chain reactions. Avian Pathol. **28**(6):593 - 605.
- Cecchinato, M., Catelli, E., Lupini, C., Ricchizzi, E., Seperati Ruffoni, L., Pesente, P., Piccirillo, A., Franciosi, C., Naylor, C. J. (2007). Sequence analysis of fusion (F) and attachment (G) protein genes of Avian Metapneumovirus strains isolated in Italy. In: Proceedings of the 15th World Veterinary Poultry Congress Beijing, China, 187.
- Cecchinato, M., Catelli, E., Lupini, C., Ricchizzi, E., Brown, P. A., Naylor, C. J. (2008). Field Avian Metapneumovirus evolution avoiding vaccine induced immunity. In: Proceedings of the 7th International Symposium on Turkey Diseases, Berlin, Germany, Hafez, H.M. (Ed.), Verlag der DVG-Service GmbH ISBN. 978-3-939902-96-6: pp 176-179.
- Cecchinato, M., Catelli, E., Lupini, C., Ricchizzi, E., Clubbe, J., Naylor, C. J. (2009). Avian Metapneumovirus in Italy: Evidence of attachment protein evolution coincident with mass live vaccine introduction. In: Proceedings of the VI. International Symposium on Avian Corona- and Pneumovirus and Complicating Pathogens, Rauischholzhausen, Germany, Heffels-Redmann, U., Sommer, D. and Kaleta, E. F. (Eds.), VVB Lauferweiler Verlag, Giessen, ISBN. 3-8359-5484-9: pp. 278-281.

- Cha, R. M., Khatri, M., Sharma, J. M. (2007). B-cell infiltration in the respiratory mucosa of turkeys exposed to subtype C avian metapneumovirus. Avian Dis. **51**(3):764-770.
- Chacon, J. L., Brandao, P. E., Buim, M., Villarreal, L., Ferreira, A. J. (2007). Detection by reverse transcriptase-polymerase chain reaction and molecular characterization of subtype B avian metapneumovirus isolated in Brazil. Avian Pathol. **36**(5):383-387.
- Chacon, J. L., Pedroso, A. C., Toquin D., Eteradossi, N., Patnayak, D., S., G., Ferreira, A. J. P. (2009). Subtypes of AMPV circulating in Brazilian commercial flocks. In: Proceedings of the VI . International Symposium on Avian Corona- and Pneumoviruses and Vomplcating Pathogens, Rauschholzhausen, Deutschland, Heffels-Redmann, U., Sommer, D. and Kaleta, E. F. (Eds.), VVB Lauferweiler Verlag, Giessen, ISBN. 3-8359-5484-9: pp. 251-254.
- Chary, P., Rautenschlein, S., Sharma, J. M. (2002a). Reduced efficacy of hemorrhagic enteritis virus vaccine in turkeys exposed to avian pneumovirus. Avian Dis. **46**(2):353-359.
- Chary, P., Rautenschlein, S., Njenga, M. K., Sharma, J. M. (2002b). Pathogenic and immunosuppressive effects of avian pneumovirus in turkeys. Avian Dis. **46**(1):153-161.
- Chary, P., Njenga, M. K., Sharma, J. M. (2005). Protection by recombinant viral proteins against a respiratory challenge with virulent avian metapneumovirus. Vet Immunol Immunopathol. **108**(3-4):427-432.
- Chettle, N. J., Wyeth, P. J. (1988). Turkey rhinotracheitis: detection of antibodies using an ELISA test. Br Vet J. **144**(3):282-287.
- Chettle, N. J. (1991). The use of an oil emulsion vaccine against turkey rhinotracheitis and swollen head syndrome in chickens. In: Proceedings of the 40th Western Poultry Disease Conference, Acapulco, Mexiko, pp. 49-50.
- Chiang, S. J., Dar, A., Goyal, S. M., Nagaraja, K. V., Halvorson, D., Kapur, V. (1998). Isolation of avian pneumovirus in QT-35 cells. Vet Rec. **143**(21):596.
- Chiang, S. J., Dar, A. M., Goyal, S. M., Sheikh, M. A., Pedersen, J. C., Panigrahy, B., Senne, D., Halvorson, D. A., Nagaraja, K. V., Kapur, V. (2000). A modified enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of avian pneumovirus antibodies. J Vet Diagn Invest. **12**(4):381-384.
- Collins, A. P., Crowe, J. E. J. (2007). Respiratory syncytial virus and metapneumovirus. In: Fields Virology 5th edn. Knipe, D.M. and Howley, P.M. (Eds.), Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia, USA, pp.1601-1646.
- Collins, M. S., Gough, R. E., Lister, S. A., Chettle, N., Eddy, R. (1986). Further characterisation of a virus associated with turkey rhinotracheitis. Vet Rec. **119**(24):606.
- Collins, M. S., Gough, R. E. (1988). Characterization of a virus associated with turkey rhinotracheitis. J Gen Virol. **69 (Pt 4)**:909-916.

- Collins, M. S., Gough, R. E., Alexander, D. J. (1993). Antigenic differentiation of avian pneumovirus isolates using polyclonal antisera and mouse monoclonal antibodies. Avian Pathol. **22**(3):469-479.
- Cook, J. K., Dolby, C. A., Southee, D. J., Mockett, A. P. (1988). Demonstration of antibodies to turkey rhinotracheitis virus in serum from commercially reared flocks of chickens. Avian Pathol. **17**(2):403-410.
- Cook, J. K., Ellis, M. M., Dolby, C. A., Holmes, H. C., Finney, P. M., Huggins, M. B. (1989a). A live attenuated turkey rhinotracheitis virus vaccine. 1. Stability of the attenuated strain. Avian Pathol. **18**(3):511-522.
- Cook, J. K., Holmes, H. C., Finney, P. M., Dolby, C. A., Ellis, M. M., Huggins, M. B. (1989b). A live attenuated turkey rhinotracheitis virus vaccine. 2. The use of the attenuated strain as an experimental vaccine. Avian Pathol. **18**(3):523-534.
- Cook, J. K., Ellis, M. M. (1990). Attenuation of turkey rhinotracheitis virus by alternative passage in embryonated chicken eggs and tracheal organ cultures. Avian Pathol. **19**(1):181-185.
- Cook, J. K., Ellis, M. M., Huggins, M. B. (1991). The pathogenesis of turkey rhinotracheitis virus in turkey poultlets inoculated with the virus alone or together with two strains of bacteria. Avian Pathol. **20**(1):155-166.
- Cook, J. K., Jones, B. V., Ellis, M. M., Jing, L., Cavanagh, D. (1993a). Antigenic differentiation of strains of turkey rhinotracheitis virus using monoclonal antibodies. Avian Pathol. **22**(2):257-273.
- Cook, J. K., Kinloch, S., Ellis, M. M. (1993b). In vitro and in vivo studies in chickens and turkeys on strains of turkey rhinotracheitis virus isolated from the two species. Avian Pathol. **22**(1):157-170.
- Cook, J. K., Huggins, M. B., Woods, M. A., Orbell, S. J., Mockett, A. P. (1995). Protection provided by a commercially available vaccine against different strains of turkey rhinotracheitis virus. Vet Rec. **136**(15):392-393.
- Cook, J. K., Orthel, F., Orbell, S., Woods, M. A., Huggins, M. B. (1996). An experimental turkey rhinotracheitis (TRT) infection in breeding turkeys and the prevention of its clinical effects using live-attenuated and inactivated TRT vaccines. Avian Pathol. **25**(2):231-243.
- Cook, J. K., Huggins, M. B., Senne, D. A. (1998a). Turkey rhinotracheitis - Relationship of different virus subgroups. In: Proceedings of the 1st International Symposium on Turkey Diseases, Berlin, Deutschland, Hafez, H.M. and Mazaheri, A. (Eds.), Verlag der DVG e.V., Giessen, ISBN. 3-930511-53-3: pp 89-93.
- Cook, J. K., Huggins, M. B., Orbell, S. J., Senne, D. A. (1999). Preliminary antigenic characterization of an avian pneumovirus isolated from commercial turkeys in Colorado, USA. Avian Pathol. **28**(6):607 - 617.

- Cook, J. K., Chesher, J., Orthel, F., Woods, M. A., Orbell, S. J., Baxendale, W., Huggins, M. B. (2000). Avian pneumovirus infection of laying hens: experimental studies. Avian Pathol. **29**(6):545-556.
- Cook, J. K. (2000a). Avian pneumovirus infections of turkeys and chickens. Veterinary Journal. **160**:118-125.
- Cook, J. K. (2000b). Avian rhinotracheitis. Rev Sci Tech. **19**(2):602-613.
- Cook, J. K., Huggins, M. B., Orbell, S. J., Mawditt, K., Cavanagh, D. (2001). Infectious bronchitis virus vaccine interferes with the replication of avian pneumovirus vaccine in domestic fowl. Avian Pathol. **30**(3):233-242.
- Cook, J. K., Cavanagh, D. (2002). Detection and differentiation of avian pneumoviruses (metapneumoviruses). Avian Pathol. **31**(2):117-132.
- Cook, J. K. (2009). Avian Metapneumovirus - nearly 30 years of vaccination In: Proceedings of the VI. International Symposium on Avian- and Pneumoviruses and Complicating Pathogens, Rauschholzhausen, Germany, Heffels-Redmann, U., Sommer, D. and Kaleta, E. F. (Eds.), VVB Laufersweiler Verlag, ISBN. 3-8359-5484-9: pp. 326-333.
- D'Arce, R. C., Coswig, L. T., Almeida, R. S., Trevisol, I. M., Monteiro, M. C., Rossini, L. I., Di Fabio, J., Hafez, H. M., Arns, C. W. (2005). Subtyping of new Brazilian avian metapneumovirus isolates from chickens and turkeys by reverse transcriptase-nested-polymerase chain reaction. Avian Pathol. **34**(2):133-136.
- Dar, A. M., Munir, S., Goyal, S. M., Abrahamsen, M. S., Kapur, V. (2001a). Sequence analysis of the nucleocapsid and phosphoprotein genes of avian pneumoviruses circulating in the US. Virus Res. **79**(1-2):15-25.
- Dar, A. M., Tune, K., Munir, S., Panigrahy, B., Goyal, S. M., Kapur, V. (2001b). PCR-based detection of an emerging avian pneumovirus in US turkey flocks. J Vet Diagn Invest. **13**(3):201-205.
- Dar, A. M., Munir, S., Goyal, S. M., Kapur, V. (2003). Sequence analysis of the matrix (M2) protein gene of avian pneumovirus recovered from turkey flocks in the United States. J Clin Microbiol. **41**(6):2748-2751.
- De Wit, J. J., Swart, W. A., Fabri, T. H. (2010). Efficacy of infectious bronchitis virus vaccinations in the field: association between the alpha-IBV IgM response, protection and vaccine application parameters. Avian Pathol. **39**(2):123-131.
- Decanini, E., Miranda, E. C., Le Gros, F. X. (1991). Swollen head syndrome in heavy breeders in Mexico. In: Proceedings of the 40th Western Poultry Disease Conference, Acapulco, Mexico, pp. 158-161.
- Diaz de Espada, E., Perona, M. E. (1984). Etiologia del síndrome de cabeza hinchada. Revista de la sección española de la asociación mundial de avicultura científica. **40**:36-42.

- Drouin, P., Toux, J. Y., Picault, J. P. (1985). Le syndrome infectieux de la grosse tete chez l'espece poule. L'Aviculteur. **460**:93-96. Zitiert nach Picault et al. (1987a).
- Edson, R. K. (1997). Experience with avian pneumovirus. In: Proceedings of the 101st Annual Meeting of the United States Animal Health Association Louisville, Kentucky, pp. 471-472.
- El Houadfi, M., Cook, J. K. A., Vanmarcke, J., Haman, A. (1991). Swollen head syndrome in broiler chickens in Morocco. In: Proceedings of the 40th Western Poultry Disease Conference, Acapulco, Mexico, pp. 126-127.
- Elhafi, G., Naylor, C. J., Savage, C. E., Jones, R. C. (2004). Microwave or autoclave treatments destroy the infectivity of infectious bronchitis virus and avian pneumovirus but allow detection by reverse transcriptase-polymerase chain reaction. Avian Pathol. **33**(3):303-306.
- Etteradossi, N., Toquin, D., Guittet, M., Bennejean, G. (1992). Discrepancies in turkey rhinotracheitis ELISA results using different antigens. Vet Rec. **131**(24):563-564.
- Etteradossi, N., Toquin, D., Guittet, M., Bennejean, G. (1995). Evaluation of different turkey rhinotracheitis viruses used as antigens for serological testing following live vaccination and challenge. Zentralbl Veterinarmed B. **42**(3):175-186.
- Ganapathy, K., Jones, R. C., Bradbury, J. M. (1998). Pathogenicity of in vivo-passaged Mycoplasma imitans in turkey poults in single infection and in dual infection with rhinotracheitis virus. Avian Pathol. **27**(1):80-89.
- Ganapathy, K., Cargill, P., Montiel, E., Jones, R. C. (2005). Interaction between live avian pneumovirus and Newcastle disease virus vaccines in specific pathogen free chickens. Avian Pathol. **34**(4):297-302.
- Ganapathy, K., Cox, W. J., Gough, R. E., Cargill, P., Montiel, E., Jones, R. C. (2007). Protection in specific pathogen free chickens with live avian metapneumovirus and Newcastle disease virus vaccines applied singly or in combination. Avian Pathol. **36**(4):313-317.
- Ganapathy, K., Lemiere, S., Jones, R. C. (2009). Use of RT-PCR for diagnosis of Avian Metapneumovirus in chicken: some case studies from East Europe, Asia and Africa. In: Proceedings of XVIth Congress of the World Veterinary Poultry Association (WVPA), Marrakesh, Marokko, in press.
- Georgiades, G., Iordanidis, P., Koumbati, M. (2001). Cases of swollen head syndrome in broiler chickens in Greece. Avian Dis. **45**(3):745-750.
- Gharaibeh, S. M., Algharaibeh, G. R. (2007). Serological and molecular detection of avian pneumovirus in chickens with respiratory disease in Jordan. Poult Sci. **86**(8):1677-1681.
- Giraud, P., Bennejean, G., Guittet, M., Toquin, D. (1986a). Turkey rhinotracheitis (TRT) in France: Isolation and characteristics of a new infectious agent. In: Proceedings of the Meeting Working Group "Turkey and Waterfowl" European Federation of Branches of the World Poultry Science Association (WPSA), Lyon, Frankreich.

- Giraud, P., Bennejean, G., Guittet, M., Toquin, D. (1986b). Turkey rhinotracheitis in France: preliminary investigations on a ciliostatic virus. Vet Rec. **119**(24):606-607.
- Giraud, P., Le Gros, F. X., Guittet, M., Bouquet, J. F., Toquin, D., Bennejean, G. (1987). Turkey rhinotracheitis: Isolation of a viral agent and first trials with experimental inactivated or attenuated vaccines. In: Proceedings of the 36th Western Poultry Disease Conference, Davis, California, pp. 94-96.
- Giraud, P., Le Gros, F. X., Toquin, D., Bouquet, J. F., Bennejean, G. (1988). Turkey rhinotracheitis: Viral identification of the causal agent. In: Proceedings of the 37th Western Poultry Disease Conference, Davis, California, pp. 61-62.
- Goater, E., Danguy, R., Payet, A. (1985). A Syndrome des testes enflées: un contaminant viral? .L'Aviculteur. **461**:33. Zitiert nach Picault et al. 1987a.
- Goren, E. (1985). Een "nieuwe ziekte" bij de kip diagnostische bevindingen. Tijdschr. Diergeneeskd. **110**:1076-1077.
- Gough, R. E., Collins, M. S., Cox, W. J., Chettle, N. J. (1988a). Experimental infection of turkeys, chickens, ducks, geese, guinea fowl, pheasants and pigeons with turkey rhinotracheitis virus. Vet Rec. **123**(2):58-59.
- Gough, R. E., Collins, M. S., Hancock, R. D. (1988b). Isolation of turkey rhinotracheitis virus from five-day-old turkeys. Vet Rec. **122**(15):370-371.
- Gough, R. E., Collins, M. S. (1989). Antigenic relationships of three turkey rhinotracheitis viruses. Avian Pathol. **18**(2):227-238.
- Gough, R. E., Manvell, R. J., Drury, S. E., Pearson, D. B. (1994). Isolation of an avian pneumovirus from broiler chickens. Vet Rec. **134**(14):353-354.
- Gough, R. E., Drury, S. E., Aldous, E., Laing, P. W. (2001). Isolation and identification of avian pneumovirus from pheasants. Vet Rec. **149**(10):312.
- Gough, R. E., Jones, R. C. (2008). Avian Metapneumovirus In: Diseases of poultry 12th edn. Saif, Y. M. (Ed.), Blackwell Publishing, Iowa, pp. 100-110.
- Govindarajan, D., Samal, S. K. (2004). Sequence analysis of the large polymerase (L) protein of the US strain of avian metapneumovirus indicates a close resemblance to that of the human metapneumovirus. Virus Res. **105**(1):59-66.
- Goyal, S. M., Chiang, S. J., Dar, A. M., Nagaraja, K. V., Shaw, D. P., Halvorson, D. A., Kapur, V. (2000). Isolation of avian pneumovirus from an outbreak of respiratory illness in Minnesota turkeys. J Vet Diagn Invest. **12**(2):166-168.
- Goyal, S. M., Lauer, D., Friendshuh, K., Halvorson, D. A. (2003). Seroprevalence of avian pneumovirus in Minnesota turkeys. Avian Dis. **47**(3):700-706.
- Grant, M., Baxter-Jones, C., Wilding, G. P. (1987). An enzyme-linked immunosorbent assay for the serodiagnosis of turkey rhinotracheitis infection. Vet Rec. **120**(12):279-280.

- Grow, A. (1992). A serologic occurrence of viral turkey rhinotracheitis. Foreign Animal Disease Report. **20(1)**:4. Zitiert nach Poultry Abstracts 18: Abstract Nr. 2938.
- Guionie, O., Toquin, D., Sellal, E., Bouley, S., Zwingelstein, F., Allee, C., Bougeard, S., Lemiere, S., Etteradossi, N. (2007). Laboratory evaluation of a quantitative real-time reverse transcription PCR assay for the detection and identification of the four subgroups of avian metapneumovirus. J Virol Methods. **139(2)**:150-158.
- Gulati, B. R., Cameron, K. T., Seal, B. S., Goyal, S. M., Halvorson, D. A., Njenga, M. K. (2000). Development of a highly sensitive and specific enzyme-linked immunosorbent assay based on recombinant matrix protein for detection of avian pneumovirus antibodies. J Clin Microbiol. **38(11)**:4010-4014.
- Gulati, B. R., Patnayak, D. P., Sheikh, A. M., Poss, P. E., Goyal, S. M. (2001a). Protective efficacy of high-passage avian pneumovirus (APV/MN/turkey/1-a/97) in turkeys. Avian Dis. **45(3)**:593-597.
- Gulati, B. R., Munir, S., Patnayak, D. P., Goyal, S. M., Kapur, V. (2001b). Detection of antibodies to U.S. isolates of avian pneumovirus by a recombinant nucleocapsid protein-based sandwich enzyme-linked immunosorbent assay. J Clin Microbiol. **39(8)**:2967-2970.
- Haarländer, R. (2005). Epidemiologische Untersuchungen über das Vorkommen der Subtypen A und B des aviären Pneumovirus in Geflügelbeständen in Deutschland. Inaugural-Dissertation (Dr. med. vet.), Berlin.
- Hafez, H. M. (1987). Rhinotracheitis der Puten. . In: Schriftreihe der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft- Fachgruppe Geflügelkrankheiten 34. und 35. Fachgespräch, Hannover, Germany, pp. 107-120.
- Hafez, H. M. (1988). Swollen head syndrome. Potential risk for broiler and broiler breeders. In: Abstracts of the XXVIth Annual Convention Israel Branch of the World Poultry Science Association (WPSA), Zichron, Yaacov, pp. 39.
- Hafez, H. M. (1990). Serological surveillance for antibodies against different avian infectious agents on turkey flocks naturally infected with turkey rhinotracheitis. Zentralbl Veterinarmed B. **37(5)**:369-376.
- Hafez, H. M., Löhren, U. (1990a). Swollen head syndrome: clinical observations and serological examinations in West Germany. Dtsch Tierarztl Wochenschr. **97(8)**:322-324.
- Hafez, H. M., Weiland, F. (1990b). Isolierung des Virus der Rhinotracheitis der Puten (TRT). Tierärztliche Umschau. **45**:103-111 (170%).
- Hafez, H. M. (1991). Rhinotracheitis der Pute: Übersicht und Erfahrungen in der Bundesrepublik Deutschland. Wiener Tierärztliche Monatsschrift. **78**:195-200.
- Hafez, H. M. (1992). Comparative investigation on different turkey rhinotracheitis (TRT) virus isolates from different countries. Dtsch Tierarztl Wochenschr. **99(12)**:486-488.

- Hafez, H. M. (1993). Isolierung eines Pneumovirus von Mastelertieren mit Swollen Head Syndrom in der BRD. In: Schriftreihe der DVG. Fachgruppe ‚Geflügelkrankheiten‘, Internationale Fachtagung über Geflügelkrankheiten, Potsdam, Deutschland, pp. 208-212.
- Hafez, H. M. (1994). Rhinotracheitis der Puten (TRT) und Swollen Head Syndrom der Hühner (SHS): Ein Beitrag zur Klinik, Ätiologie, Epidemiologie und Bekämpfung. Habilitation, München.
- Hafez, H. M., Hess, M., Prusas, C., Naylor, C. J., Cavanagh, D. (2000). Presence of avian pneumovirus type A in continental Europe during the 1980s. J Vet Med B. **47**(8):629-633.
- Heckert, R. A., Myers, D. J. (1993). Absence of antibodies to avian pneumovirus in Canadian poultry. Vet Rec. **132**(7):172.
- Heckert, R. A., Myers, D. J., Afshar, A., Riva, J. (1994). Development and evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of antibodies to avian pneumovirus. Avian Dis. **38**(4):694-700.
- Heffels-Redmann, U., Neumann, U., Braune, S., Cook, J. K. A., Prüter, J. (1998). Serological evidence for susceptibility of seagulls to avian pneumovirus (APV) infections. In: Proceedings International symposium on infectious bronchitis and pneumovirus infections in Poultry, Rauscholzhhausen, Germany, pp. 23-25.
- Heidari, M., Sarson, A. J., Huebner, M., Sharif, S., Kireev, D., Zhou, H. (2010). Marek's disease virus-induced immunosuppression: array analysis of chicken immune response gene expression profiling. Viral Immunol. **23**(3):309-319.
- Hernandez, L. D., Hoffman, L. R., Wolfsberg, T. G., White, J. M. (1996). Virus-cell and cell-cell fusion. Annu Rev Cell Dev Biol. **12**:627-661.
- Hess, M., Wenzel, R., Hafez, H. M. (2000). Epidemiological investigation on avian pneumovirus in poultry flocks using nested RT-PCR. In: Proceedings of the 3rd International Symposium on Turkey Diseases, Berlin, Germany, Hafez, H.M. (Ed.), Verlag der DVG e.V., ISBN. 3-930511-92-4: pp. 222-229.
- Hess, M., Huggins, M. B., Heincz, U. (2004a). Hatchability, serology and virus excretion following in ovo vaccination of chickens with an avian metapneumovirus vaccine. Avian Pathol. **33**(6):576-580.
- Hess, M., Huggins, M. B., Mudzamiri, R., Heincz, U. (2004b). Avian metapneumovirus excretion in vaccinated and non-vaccinated specified pathogen free laying chickens. Avian Pathol. **33**(1):35-40.
- Jacobs, J. A., Njenga, M. K., Alvarez, R., Mawditt, K., Britton, P., Cavanagh, D., Seal, B. S. (2003). Subtype B avian metapneumovirus resembles subtype A more closely than subtype C or human metapneumovirus with respect to the phosphoprotein, and second matrix and small hydrophobic proteins. Virus Res. **92**(2):171-178.

- Jing, L., Cook, J. K., David, T., Brown, K., Shaw, K., Cavanagh, D. (1993). Detection of turkey rhinotracheitis virus in turkeys using the polymerase chain reaction. Avian Pathol. **22**(4):771-783.
- Jirjis, F. E., Noll, S. L., Halvorson, D. A., Nagaraja, K. V., Townsend, E. L., Sheikh, A. M., Shaw, D. P. (2000). Avian pneumovirus infection in Minnesota turkeys: experimental reproduction of the disease. Avian Dis. **44**(1):222-226.
- Jirjis, F. F., Noll, S. L., Halvorson, D. A., Nagaraja, K. V., Shaw, D. P. (2002a). Pathogenesis of avian pneumovirus infection in turkeys. Vet Pathol. **39**(3):300-310.
- Jirjis, F. F., Noll, S. L., Halvorson, D. A., Nagaraja, K. V., Townsend, E. L., Goyal, S. M., Shaw, D. P. (2002b). Rapid detection of avian pneumovirus in tissue culture by microindirect immunofluorescence test. J Vet Diagn Invest. **14**(2):172-175.
- Jirjis, F. F., Noll, S. L., Halvorson, D. A., Nagaraja, K. V., Martin, F., Shaw, D. P. (2004). Effects of bacterial coinfection on the pathogenesis of avian pneumovirus infection in turkeys. Avian Dis. **48**(1):34-49.
- Jodas, S., Lüscho, D., Todte, M., Simon, B., Popp, C., Bissinger, K., Hafez, H. M. (2002). Praxiserfahrungen mit der Impfung gegen aviäre Pneumoviren beim Geflügel. In: Schriftreihe der DVG "Geflügelkrankheiten" 63. Fachgespräch Hannover, Germany, pp. 96-110.
- Jones, R. C., Baxter-Jones, C., Wilding, G. P., Kelly, D. F. (1986). Demonstration of a candidate virus for turkey rhinotracheitis in experimentally inoculated turkeys. Vet Rec. **119**(24):599-600.
- Jones, R. C., Baxter-Jones, C., Savage, C. E., Kelly, D. F., Wilding, G. P. (1987). Experimental infection of chickens with a ciliostatic agent isolated from turkeys with rhinotracheitis. Vet Rec. **120**(13):301-302.
- Jones, R. C., Williams, R. A., Baxter-Jones, C., Savage, C. E., Wilding, G. P. (1988). Experimental infection of laying turkeys with rhinotracheitis virus: distribution of virus in the tissues and serological response. Avian Pathol. **17**(4):841-850.
- Jones, R. C., Naylor, C. J., al-Afaleq, A., Worthington, K. J., Jones, R. (1992). Effect of cyclophosphamide immunosuppression on the immunity of turkeys to viral rhinotracheitis. Res Vet Sci. **53**(1):38-41.
- Jones, R. C. (1996). Avian pneumovirus infection: Questions still unanswered. Avian Pathol. **25**(4):639-648.
- Juhasz, K., Easton, A. J. (1994). Extensive sequence variation in the attachment (G) protein gene of avian pneumovirus: evidence for two distinct subgroups. J Gen Virol. **75 (Pt 11)**:2873-2880.
- Jungbäck, C., Kaleta, E. F., Siegmann, O. (2005). Prophylaxe, Diagnose und Therapie. In: Kompendium der Geflügelkrankheiten (6., aktualisierte und erweiterte Auflage). Siegmann,

- O. and Neumann, U. (Hrsg.), Schlütersche Verlagsgesellschaft mbH & Co. KG, Hannover, pp- 68-113.
- Kapczynski, D. R., Sellers, H. S. (2003). Immunization of turkeys with a DNA vaccine expressing either the F or N gene of avian metapneumovirus. Avian Dis. **47**(4):1376-1383.
- Kapczynski, D. R. (2004). Development of a virosome vaccine against avian metapneumovirus subtype C for protection in turkeys. Avian Dis. **48**(2):332-343.
- Kapczynski, D. R., Perkins, L. L., Sellers, H. S. (2008). Mucosal vaccination with formalin-inactivated avian metapneumovirus subtype C does not protect turkeys following intranasal challenge. Avian Dis. **52**(1):28-33.
- Khehra, R. S., Jones, R. C. (1998). Local and systemic class-specific antibody responses to avian pneumovirus: comparison of the chicken and turkey. In: Proceedings of the International symposium on infectious bronchitis and pneumovirus infections in Poultry, Rauschholzhausen, Germany, pp.75-79.
- Khehra, R. S., Jones, R. C. (1999a). In vitro and in vivo studies on the pathogenicity of avian pneumovirus for the chicken oviduct. Avian Pathology. **28**(3):257 - 262.
- Khehra, R. S., Jones, R. C., Bradbury, J. M. (1999b). Dual infection of turkey poults with avian pneumovirus and Mycoplasma synoviae. Avian Pathology. **28**(4):401 - 404.
- Kleven, S. H. (1997). Report of the committee. Transmissible diseases of poultry and other avian species. In: Proceedings of the 101st Annual Meeting. U.S. Animal Health Association, Louisville, Ky, pp. 486-491.
- Laner, B., Ahlers, C., Raue, R., Voss, M., Krautwald-Junghanns, M. E. (2007). Aviäre Metapneumoviren in sächsischen Legehennenbeständen - Eine Epidemiologische Studie. In: Schriftreihe der DVG "Geflügelkrankheiten" 73. Fachgespräch Hannover, Germany, pp. 61-68.
- Lantos, C. (1990). A baromflegezsegügy aktaalis problemjai. Baromfitenyeszteses-Feldogozas. **37** 54-58. Zitiert nach Naylor und Jones (1993).
- Le Gros, F., Magand, G., Giraud, P., Bouquet, J. F., Guittet, M., Bennejean, G. (1988). Turkey rhinotracheitis. Field results of the vaccination of day old turkeys with a live attenuated virus. In: Proceedings of the 37th Western Poultry Disease Conference, Davis, California.
- Lee, E., Song, M. S., Shin, J. Y., Lee, Y. M., Kim, C. J., Lee, Y. S., Kim, H., Choi, Y. K. (2007). Genetic characterization of avian metapneumovirus subtype C isolated from pheasants in a live bird market. Virus Res. **128**(1-2):18-25.
- Levine, S., Klaiber-Franco, R., Paradiso, P. R. (1987). Demonstration that glycoprotein G is the attachment protein of respiratory syncytial virus. J Gen Virol. **68 (Pt 9)**:2521-2524.
- Li, J., Ling, R., Randhawa, J. S., Shaw, K., Davis, P. J., Juhasz, K., Pringle, C. R., Easton, A. J., Cavanagh, D. (1996). Sequence of the nucleocapsid protein gene of subgroup A and B avian pneumoviruses. Virus Res. **41**(2):185-191.

- Liman, M., Peiser, L., Zimmer, G., Propsting, M., Naim, H. Y., Rautenschlein, S. (2007). A genetically engineered prime-boost vaccination strategy for oculonasal delivery with poly(D,L-lactic-co-glycolic acid) microparticles against infection of turkeys with avian Metapneumovirus. Vaccine. **25**(46):7914-7926.
- Liman, M., Rautenschlein, S. (2007). Induction of local and systemic immune reactions following infection of turkeys with avian Metapneumovirus (aMPV) subtypes A and B. Vet Immunol Immunopathol. **115**(3-4):273-285.
- Ling, R., Easton, A. J., Pringle, C. R. (1992). Sequence analysis of the 22K, SH and G genes of turkey rhinotracheitis virus and their intergenic regions reveals a gene order different from that of other pneumoviruses. J Gen Virol. **73** (Pt 7):1709-1715.
- Ling, R., Davis, P. J., Yu, Q., Wood, C. M., Pringle, C. R., Cavanagh, D., Easton, A. J. (1995). Sequence and in vitro expression of the phosphoprotein gene of avian pneumovirus. Virus Res. **36**(2-3):247-257.
- Lister, S., Alexander, D. J. (1986). Turkey Rhinotracheitis. A Review. Veterinary Bulletin. **56**:637-662.
- Lister, S. A. (1998). Current experiences with respiratory diseases in meat turkeys in the U.K. . In: 1st International Symposium on Turkey Diseases, Berlin, Germany, Hafez, H.M. and Mazaheri, A. (Eds.), Verlag der DVG e.V., ISBN 3-930511-53-3 pp.104-113.
- Lu, Y. S., Shien, Y. S., Tsai, H. J., Tseng, C. S., Lee, S. H., Lin, D. F. (1994). Swollen head syndrome in Taiwan-isolation of an avian pneumovirus and serological survey. Avian Pathol. **23**(1):169-174.
- Luo, L., Sabara, M. I., Li, Y. (2005). Expression of recombinant small hydrophobic protein for serospecific detection of avian pneumovirus subgroup C. Clin Diagn Lab Immunol. **12**(1):187-191.
- Lwamba, H. C., Halvorson, D. A., Nagaraja, K. V., Turpin, E. A., Swayne, D., Seal, B. S., Njenga, M. K. (2002). Antigenic cross-reactivity among avian pneumoviruses of subgroups A, B, and C at the matrix but not nucleocapsid proteins. Avian Dis. **46**(3):725-729.
- Maharaj, S. B., Thomson, D. K., da Graca, J. V. (1994). Isolation of an avian pneumovirus-like agent from broiler breeder chickens in South Africa. Vet Rec. **134**(20):525-526.
- Majo, N., Allan, G. M., O'Loan, C. J., Pages, A., Ramis, A. J. (1995). A sequential histopathologic and immunocytochemical study of chickens, turkey poults, and broiler breeders experimentally infected with turkey rhinotracheitis virus. Avian Dis. **39**(4):887-896.
- Majo, N., Marti, M., O'Loan, C. J., Allan, G. M., Pages, A., Ramis, A. (1996). Ultrastructural study of turkey rhinotracheitis virus infection in turbinates of experimentally infected chickens. Vet Microbiol. **52**(1-2):37-48.

- Majo, N., Gibert, X., Vilafranca, M., O'Loan, C. J., Allan, G. M., Costa, L., Pages, A., Ramis, A. (1997). Turkey rhinotracheitis virus and *Escherichia coli* experimental infection in chickens: histopathological, immunocytochemical and microbiological study. *Vet Microbiol.* **57**(1):29-40.
- Malik, Y. S., Patnayak, D. P., Goyal, S. M. (2004). Detection of three avian respiratory viruses by single-tube multiplex reverse transcription-polymerase chain reaction assay. *J Vet Diagn Invest.* **16**(3):244-248.
- Marien, M., Decostere, A., Martel, A., Chiers, K., Froyman, R., Nauwynck, H. (2005). Synergy between avian pneumovirus and *Ornithobacterium rhinotracheale* in turkeys. *Avian Pathol.* **34**(3):204-211.
- Markowski-Grimsrud, C. J., Schat, K. A. (2003). Infection with chicken anaemia virus impairs the generation of pathogen-specific cytotoxic T lymphocytes. *Immunology.* **109**(2):283-294.
- Mase, M., Asahi, S., Imai, K., Nakamura, K., Yamaguchi, S. (1996). Detection of turkey rhinotracheitis virus from chickens with swollen head syndrome by reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR). *J Vet Med Sci.* **58**(4):359-361.
- Mase, M., Yamaguchi, S., Tsukamoto, K., Imada, T., Imai, K., Nakamura, K. (2003). Presence of avian pneumovirus subtypes A and B in Japan. *Avian Dis.* **47**(2):481-484.
- McDougall, J. S., Cook, J. K. (1986). Turkey rhinotracheitis: preliminary investigations. *Vet Rec.* **118**(8):206-207.
- Mekkes, D. R., de Wit, J. J. (1998). Comparison of three commercial ELISA kits for the detection of turkey rhinotracheitis virus antibodies. *Avian Pathol.* **27**(3):301-305.
- Morley, A. J., Thomson, D. K. (1984). Swollen-Head Syndrome in Broiler Chickens. *Avian Diseases.* **28**(1):238-243.
- Nagaraja, K. V., Shin, H. J., Njenga, M. K., McComb, B., Jirjis, F. F., Halvorson, D. A. (2001). Epidemiology of Avian Pneumovirus and Host range. *American Association of Avian Pathologists/American Veterinary Medical Association Respiratory Diseases Symposium*, Boston, Massachusetts.
- Naylor, C. J., Al-Ankari, A. R., Al-Afaleq, A. I., Bradbury, J. M., Jones, R. C. (1992). Exacerbation of *Mycoplasma gallisepticum* infection in turkeys by rhinotracheitis virus. *Avian Pathol.* **21**(2):295-305.
- Naylor, C. J. (1993). Studies on avian pneumovirus including development of a vaccine. PhD Thesis, Liverpool, U.K.
- Naylor, C. J., Shaw, K., Britton, P., Cavanagh, D. (1997a). Appearance of type B avian Pneumovirus in Great Britain. *Avian Pathol.* **26**(2):327-338.
- Naylor, C. J., Worthington, K. J., Jones, R. C. (1997b). Failure of maternal antibodies to protect young turkey poults against challenge with turkey rhinotracheitis virus. *Avian Dis.* **41**(4):968-971.

- Naylor, C. J., Britton, P., Cavanagh, D. (1998). The ectodomains but not the transmembrane domains of the fusion proteins of subtypes A and B avian pneumovirus are conserved to a similar extent as those of human respiratory syncytial virus. J Gen Virol. **79 (Pt 6)**:1393-1398.
- Naylor, C. J., Brown, P. A., Edworthy, N., Ling, R., Jones, R. C., Savage, C. E., Easton, A. J. (2004). Development of a reverse-genetics system for Avian pneumovirus demonstrates that the small hydrophobic (SH) and attachment (G) genes are not essential for virus viability. J Gen Virol. **85**(Pt 11):3219-3227.
- Naylor, C. J., Ling, R., Edworthy, N., Savage, C. E., Easton, A. J. (2007). Avian metapneumovirus SH gene end and G protein mutations influence the level of protection of live-vaccine candidates. J Gen Virol. **88**(Pt 6):1767-1775.
- O'Brien, J. (1985). Swollen head syndrome in broiler breeders. Vet Rec. **117**:619-620.
- O'Loan, C. J., Allan, G., Baxter-Jones, C., McNulty, M. S. (1989). An improved ELISA and serum neutralisation test for the detection of turkey rhinotracheitis virus antibodies. J Virol Methods. **25**(3):271-282.
- O'Loan, C. J., Allan, G. M. (1990). The detection of turkey rhinotracheitis virus antigen in formalin fixed, paraffin embedded tissue using a streptavidin-biotin-immunoperoxidase method. Avian Pathol. **19**(2):401-407.
- O'Loan, C. J., Allan, G. M., McNair, J., Mackie, D. P., McNulty, M. S. (1990). TRT virus serology: discrepancy between ELISA and indirect immunofluorescence. Avian Pathol. **19**(1):173-180.
- O'Loan, C. J., Curran, W. L., McNulty, M. S. (1992). Immuno-gold labelling of turkey rhinotracheitis virus. Zentralbl Veterinarmed. **39**(6):459-466.
- Otsuki, K., Hirai, N., Mitani, M., Itani, M., Shimohata, T., Kunii, E., Uramoto, K., Kiyotake, M., Kato, H., Ellis, M. M., Cook, J. K. (1996). Demonstration of serum-neutralising antibody to turkey rhinotracheitis virus in serum from chicken flocks in Japan. J Vet Med Sci. **58**(9):869-874.
- Owoade, A. A., Ducatez, M. F., Muller, C. P. (2006). Seroprevalence of avian influenza virus, infectious bronchitis virus, reovirus, avian pneumovirus, infectious laryngotracheitis virus, and avian leukosis virus in Nigerian poultry. Avian Dis. **50**(2):222-227.
- Owoade, A. A., Ducatez, M. F., Hubschen, J. M., Sausy, A., Chen, H., Guan, Y., Muller, C. P. (2008). Avian metapneumovirus subtype A in China and subtypes A and B in Nigeria. Avian Dis. **52**(3):502-506.
- Panigraphy, B., Senne, D. A., Pedersen, J. C., Gidlewski, T., Edson, R. K. (2000). Experimental and serologic observations on avian pneumovirus (APV/turkey/Colorado/97) infection in turkeys. Avian Dis. **44**(1):17-22.
- Patnayak, D. P., Sheikh, A. M., Gulati, B. R., Goyal, S. M. (2002). Experimental and field evaluation of a live vaccine against avian pneumovirus. Avian Pathol. **31**(4):377-382.

- Patnayak, D. P., Gulati, B. R., Sheikh, A. M., Goyal, S. M. (2003). Cold adapted avian pneumovirus for use as live, attenuated vaccine in turkeys. Vaccine. **21**(13-14):1371-1374.
- Patnayak, D. P., Goyal, S. M. (2004a). Duration of immunity produced by a live attenuated vaccine against avian pneumovirus type C. Avian Pathol. **33**(5):465-469.
- Patnayak, D. P., Goyal, S. M. (2004b). Cold-adapted strain of avian pneumovirus as a vaccine in one-day-old turkeys and the effect of inoculation routes. Avian Dis. **48**(1):155-159.
- Pattison, M., Chettle, N., Randall, C. J., Wyeth, P. J. (1989). Observations on swollen head syndrome in broiler and broiler breeder chickens. Vet Rec. **125**(9):229-231.
- Pedersen, J. C., Reynolds, D. L., Ali, A. (2000). The sensitivity and specificity of a reverse transcription-polymerase chain reaction assay for the avian pneumovirus (Colorado strain). Avian Dis. **44**(3):681-685.
- Pedersen, J. C., Senne, D. A., Panigrahy, B., Reynolds, D. L. (2001). Detection of avian pneumovirus in tissues and swab specimens from infected turkeys. Avian Dis. **45**(3):581-592.
- Peleteiro, M. (1991). An observation of the swollen head syndrome in poultry. In: Joint Meeting of Poultry Veterinary Study Group for EEC, Cascais, Portugal.
- Perelman, B., Meroz, M., Samberg, Y. (1988). Swollen head syndrome in broiler breeders in Israel. Vet Rec. **123**:444.
- Picault, J. P., Giraud, P., Drouin, P., Guittet, M., Bennejean, G., Lamande, J., Toquin, D., Gueguen, C. (1987a). Isolation of a TRTV-like virus from chickens with swollen-head syndrome. Vet Rec. **121**(6):135.
- Picault, J. P., Lamande, J., Gueguen, C., Giraud, P., Drouin, P., Kles, V., Guittet, M., Bennejean, G. (1987b). Etiology of swollen head syndrome. In: Joint Meeting of Poultry Veterinary Study Group for the EEC, Versailles, Frankreich.
- Pollan, B. (1990). Rhinotracheitis bei Puten in Österreich. Inaugural Dissertation (Dr. med. vet.), Wien, Österreich.
- Pollan, B., Anrather, J. (1993). Untersuchungen über das Vorkommen und die Persistenz von maternalen Antikörpern gegen das Turkey Rhinotracheitis Virus bei Putenküken. Archiv für Geflügelkunde. **57**:275-280.
- Pringle, C. R. (1998). Virus taxonomy--San Diego 1998. Arch Virol. **143**(7):1449-1459.
- Prous, J. (1984). Síndrome de cabezas hinchadas en aves. Cuadro clínico. Revista de la sección española de la asociación mundial de avicultura científica:pp. 40 :46.
- Qingzhong, Y., Barrett, T., Brown, T. D., Cook, J. K., Green, P., Skinner, M. A., Cavanagh, D. (1994). Protection against turkey rhinotracheitis pneumovirus (TRTV) induced by a fowlpox virus recombinant expressing the TRTV fusion glycoprotein (F). Vaccine. **12**(6):569-573.

- Randhawa, J. S., Pringle, C. R., Easton, A. J. (1996a). Nucleotide sequence of the matrix protein gene of a subgroup B avian pneumovirus. Virus Genes. **12**(2):179-183.
- Randhawa, J. S., Wilson, S. D., Tolley, K. P., Cavanagh, D., Pringle, C. R., Easton, A. J. (1996b). Nucleotide sequence of the gene encoding the viral polymerase of avian pneumovirus. J Gen Virol. **77** (Pt **12**):3047-3051.
- Randhawa, J. S., Marriott, A. C., Pringle, C. R., Easton, A. J. (1997). Rescue of synthetic minireplicons establishes the absence of the NS1 and NS2 genes from avian pneumovirus. J Virol. **71**(12):9849-9854.
- Ricchizzi, E., Catelli, E., Cecchinato, M., Lupini, C., Brown, P. A., Naylor, C. J. (2008). Disease associated with seven weeks old isolation of an avian Metapneumovirus vaccine derived virus. In: Proceedings of the 7th International Symposium on Turkey Diseases Berlin, Germany, Hafez, H.M. (Ed.), Mensch und Buch Verlag, Berlin, ISBN. 978-3-939902-96-6: pp. 171-175.
- Rima, B. (1989). Comparison of amino acid sequences of the major structural proteins of the paramyxo- and morbilliviruses. In: Genetics and Pathogenicity of Negative Strand Viruses. Kolakofsky, D. and Mahy, B.M.J. (Eds.), Elsevier, Amsterdam, pp. 254-263.
- Rubbenstroth, D., Rautenschlein, S. (2009). Investigations on the protective role of passively transferred antibodies against avian metapneumovirus infection in turkeys. Avian Pathol. **38**(6):427-436.
- Seal, B. S. (1998). Matrix protein gene nucleotide and predicted amino acid sequence demonstrate that the first US avian pneumovirus isolate is distinct from European strains. Virus Res. **58**(1-2):45-52.
- Seal, B. S., Sellers, H. S., Meinersmann, R. J. (2000a). Fusion protein predicted amino acid sequence of the first US avian pneumovirus isolate and lack of heterogeneity among other US isolates. Virus Res. **66**(2):139-147.
- Seal, B. S. (2000b). Avian pneumoviruses and emergence of a new type in the United States of America. Anim Health Res Rev. **1**(1):67-72.
- Senne, D. A., Eldson, R. K., Pederson, J. C., Panigraphy, B. (1997). Avian pneumovirus update. In: Proceedings of the 134th Annual Meeting of the American Veterinary Medical Association, Reno, NV., pp. 190.
- Sharma, J. M. (1999). Introduction to poultry vaccines and immunity. Adv Vet Med. **41**:481-494.
- Sharma, J. M., Chary, P., Gerbyshak-Szudy, H. (2002). Immunopathogenesis of Avian Pneumovirus of turkeys. In: Proceedings of the 4th International Symposium on Turkey Diseases, Berlin, Germany, Hafez, H.M. (Ed.), Mensch und Buch Verlag, Berlin, ISBN. 3-86664-356: pp. 145-148.
- Sharma, J. M., Chary, P., Khatri, M., Cha, R., Palmquist, J. M. (2004). Pathogenesis and control of avian pneumovirus. In: Proceedings of the IV. Symposium on Avian Corona- &

- Pneumovirus Infections, Rauischholzhausen, Germany, Heffels-Redmann, U. and Kaleta, E.F. (Eds.), VVB Laufersweiler Verlag, Wettenberg, ISBN. 3-89687-494-2: pp. 318-321.
- Shin, H. J., McComb, B., Back, A., Shaw, D. P., Halvorson, D. A., Nagaraja, K. V. (2000a). Susceptibility of broiler chicks to infection by avian pneumovirus of turkey origin. Avian Dis. **44**(4):797-802.
- Shin, H. J., Njenga, M. K., McComb, B., Halvorson, D. A., Nagaraja, K. V. (2000b). Avian pneumovirus (APV) RNA from wild and sentinel birds in the United States has genetic homology with RNA from APV isolates from domestic turkeys. J Clin Microbiol. **38**(11):4282-4284.
- Shin, H. J., Rajashekara, G., Jirjis, F. F., Shaw, D. P., Goyal, S. M., Halvorson, D. A., Nagaraja, K. V. (2000c). Specific detection of avian pneumovirus (APV) US isolates by RT-PCR. Arch Virol. **145**(6):1239-1246.
- Shin, H. J., Njenga, M. K., Halvorson, D. A., Shaw, D. P., Nagaraja, K. V. (2001). Susceptibility of ducks to avian pneumovirus of turkey origin. Am J Vet Res. **62**(7):991-994.
- Shin, H. J., Nagaraja, K. V., McComb, B., Halvorson, D. A., Jirjis, F. F., Shaw, D. P., Seal, B. S., Njenga, M. K. (2002a). Isolation of avian pneumovirus from mallard ducks that is genetically similar to viruses isolated from neighboring commercial turkeys. Virus Res. **83**(1-2):207-212.
- Shin, H. J., Jirjis, F. F., Kumar, M. C., Njenga, M. K., Shaw, D. P., Noll, S. L., Nagaraja, K. V., Halvorson, D. A. (2002b). Neonatal avian pneumovirus infection in commercial turkeys. Avian Dis. **46**(1):239-244.
- Shin, H. J., Cameron, K. T., Jacobs, J. A., Turpin, E. A., Halvorson, D. A., Goyal, S. M., Nagaraja, K. V., Kumar, M. C., Lauer, D. C., Seal, B. S., Njenga, M. K. (2002c). Molecular epidemiology of subgroup C avian pneumoviruses isolated in the United States and comparison with subgroup A and B viruses. J Clin Microbiol. **40**(5):1687-1693.
- Sowa, R., Damoser, J., Glatzl, M. (2000). Humoral immune response in hens after vaccination against Turkey Rhinotracheitis. Archiv für Geflügelkunde. **64**:pp. 55-60.
- Stuart, J. (1986). Field experiences in the UK with turkey rhinotracheitis. Turkeys. **34**:24-26.
- Sugiyama, M., Koimaru, H., Shiba, M., Ono, E., Nagata, T., Ito, T. (2006). Drop of egg production in chickens by experimental infection with an avian metapneumovirus strain PLE8T1 derived from swollen head syndrome and the application to evaluate vaccine. J Vet Med Sci. **68**(8):783-787.
- Tanaka, M., Takuma, H., Kokumai, N., Oishi, E., Obi, T., Hiramatsu, K., Shimizu, Y. (1995). Turkey rhinotracheitis virus isolated from broiler chicken with swollen head syndrome in Japan. J Vet Med Sci. **57**(5):939-941.
- Tanaka, M., Kokumai, N., Obi, T., Higashihara, R., Takuma, H., Hiramatsu, K., Shimizu, Y. (1996). A serological survey of turkey rhinotracheitis virus infection in chickens in Japan. J Vet Med Sci. **58**(7):689-691.

- Tarpey, I., Huggins, M. B., Orbell, S. J. (2007). The efficacy of an avian metapneumovirus vaccine applied simultaneously with infectious bronchitis and Newcastle disease virus vaccines to specific-pathogen-free chickens. Avian Dis. **51**(2):594-596.
- Timms, L. M., Jahans, K. L., Marshall, R. N. (1986). Evidence of immunosuppression in turkey poultts affected by rhinotracheitis. Vet Rec. **119**(4):91-92.
- Toquin, D., Etteradossi, N., Guittet, M. (1996). Use of a related ELISA antigen for efficient TRT serological testing following live vaccination. Vet Rec. **139**(3):71-72.
- Toquin, D., Bayon-Auboyer, M. H., Jestin, V., Etteradossi, N. (1999a). Réponse sérologique & protection croisée vis à vis de l'infection par un souche non-A non-B du virus de la rhinotrachéitis infectieuse da la dinde. Comptes-rendus des 3ème Journées de la Recherche Avicole, St Malo, France, pp 223-224.
- Toquin, D., Bâyon-Auboyer, M. H., Jestin, V., Etteradossi, N., Morin, H. (1999b). Isolation of a pneumovirus from a Muscovy duck. Vet Rec. **145**:680.
- Toquin, D., Bayon-Auboyer, M. H., Senne, D. A., Etteradossi, N. (2000). Lack of antigenic relationship between French and recent North American non-A/non-B turkey rhinotracheitis viruses. Avian Dis. **44**(4):977-982.
- Toquin, D., de Boissesson, C., Beven, V., Senne, D. A., Etteradossi, N. (2003). Subgroup C avian metapneumovirus (MPV) and the recently isolated human MPV exhibit a common organization but have extensive sequence divergence in their putative SH and G genes. J Gen Virol. **84**(Pt 8):2169-2178.
- Toquin, D., Guionie, O., Jestin, V., Zwingelstein, F., Allee, C., Etteradossi, N. (2006). European and American subgroup C isolates of avian metapneumovirus belong to different genetic lineages. Virus Genes. **32**(1):97-103.
- Toro, H., Hidalgo, H., Ibanez, M., Hafez, H. M. (1998). Serologic evidence of pneumovirus in Chile. Avian Dis. **42**(4):815-817.
- Townsend, E., Halvorson, D. A., Nagaraja, K. V., Shaw, D. P. (2000). Susceptibility of an avian pneumovirus isolated from Minnesota turkeys to physical and chemical agents. Avian Dis. **44**(2):336-342.
- Turpin, E. A., Perkins, L. E., Swayne, D. E. (2002). Experimental infection of turkeys with avian pneumovirus and either Newcastle disease virus or Escherichia coli. Avian Dis. **46**(2):412-422.
- Turpin, E. A., Lauer, D. C., Swayne, D. E. (2003). Development and evaluation of a blocking enzyme-linked immunosorbent assay for detection of avian metapneumovirus type C-specific antibodies in multiple domestic avian species. J Clin Microbiol. **41**(8):3579-3583.
- Turpin, E. A., Stallknecht, D. E., Slemons, R. D., Zsak, L., Swayne, D. E. (2008). Evidence of avian metapneumovirus subtype C infection of wild birds in Georgia, South Carolina, Arkansas and Ohio, USA. Avian Pathol. **37**(3):343-351.

- Uramoto, K., Hakogi, E., Watanabe, K., Ogura, H., Hataya, M., Ootsuki, K. (1990). Swollen Head Syndrome. Primary occurring of swollen head syndrome in Japanese broiler flocks J Vet Med Sci. **26**:247-253.
- Van de Zande, S., Nauwynck, H., Cavanagh, D. (1998). Infections and Reinfections with Avian Pneumovirus Subtype A and B on Belgian Turkey Farms and Relation to Respiratory Problems. J Vet Med B. **45**:621-626.
- Van de Zande, S., Nauwynck, H., De Jonghe, S., Pensaert, M. (1999). Comparative pathogenesis of a subtype A with a subtype B avian pneumovirus in turkeys. Avian Pathol. **28**(3):239 - 244.
- Van de Zande, S., Nauwynck, H., Naylor, C., Pensaert, M. (2000). Duration of cross-protection between subtypes A and B avian pneumovirus in turkeys. Vet Rec. **147**(5):132-134.
- Van de Zande, S., Nauwynck, H., Pensaert, M. (2001). The clinical, pathological and microbiological outcome of an Escherichia coli O2:K1 infection in avian pneumovirus infected turkeys. Vet Microbiol. **81**(4):353-365.
- van den Hoogen, B. G., de Jong, J. C., Groen, J., Kuiken, T., de Groot, R., Fouchier, R. A., Osterhaus, A. D. (2001). A newly discovered human pneumovirus isolated from young children with respiratory tract disease. Nat Med. **7**(6):719-724.
- van den Hoogen, B. G., Bestebroer, T. M., Osterhaus, A. D., Fouchier, R. A. (2002). Analysis of the genomic sequence of a human metapneumovirus. Virology. **295**(1):119-132.
- Van Loock, M., Geens, T., De Smit, L., Nauwynck, H., Van Empel, P., Naylor, C., Hafez, H. M., Goddeeris, B. M., Vanrompay, D. (2005). Key role of Chlamydophila psittaci on Belgian turkey farms in association with other respiratory pathogens. Vet Microbiol. **107**(1-2):91-101.
- Velayudhan, B. T., Lopes, V. C., Noll, S. L., Halvorson, D. A., Nagaraja, K. V. (2003). Avian pneumovirus and its survival in poultry litter. Avian Dis. **47**(3):764-768.
- Velayudhan, B. T., McComb, B., Bennett, R. S., Lopes, V. C., Shaw, D., Halvorson, D. A., Nagaraja, K. V. (2005). Emergence of a virulent type C avian metapneumovirus in turkeys in Minnesota. Avian Dis. **49**(4):520-526.
- Velayudhan, B. T., Nagaraja, K. V., Thachil, A. J., Shaw, D. P., Gray, G. C., Halvorson, D. A. (2006). Human metapneumovirus in turkey poults. Emerg Infect Dis. **12**(12):1853-1859.
- Velayudhan, B. T., Noll, S. L., Thachil, A. J., Shaw, D. P., Goyal, S. M., Halvorson, D. A., Nagaraja, K. V. (2007). Development of a vaccine-challenge model for avian metapneumovirus subtype C in turkeys. Vaccine. **25**(10):1841-1847.
- Weisman, Y., Strengel, C., Blumenkranz, R., Segal, Y. (1988). Turkey Rhinotracheitis (TRT) in turkey flocks in Israel. Virus isolation and serological response. In: Proceedings of the 37th Western Poultry Disease Conference, Davis, California, pp. 67-69.

- Wemmer, U. (1993). Das Swollen-Head-Syndrom: Vorkommen und Verbreitung in Hühnerbetänden der alten Länder der Bundesrepublik Deutschland. Inaugural Dissertation (Dr. med. vet.), Gießen.
- Wilding, G. P., Baxter-Jones, C., Grant, M. (1986). Ciliostatic agent found in rhinotracheitis. Vet Rec. **118**(26):735.
- Williams, R. A., Savage, C. E., Worthington, K. J., Jones, R. C. (1991a). Further studies on the development of a live attenuated vaccine against turkey rhinotracheitis. Avian Pathol. **20**(4):585-596.
- Williams, R. A., Savage, C. E., Jones, R. C. (1991b). Development of a live attenuated vaccine against turkey rhinotracheitis. Avian Pathol. **20**(1):45-55.
- Worthington, K. J., Sargent, B. A., Davelaar, F. G., Jones, R. C. (2003). Immunity to avian pneumovirus infection in turkeys following in ovo vaccination with an attenuated vaccine. Vaccine. **21**(13-14):1355-1362.
- Wyeth, P., Gough, R. E., Chettle, N., Eddy, R. (1986). Preliminary observations on a virus associated with turkey rhinotracheitis. Vet Rec. **119**:139.
- Wyeth, P., Chettle, N. J., Gough, R. E., Collins, M. S. (1987). Antibodies to TRT in chickens with swollen head syndrome. Vet Rec. **120**:286-287.
- Wyeth, P., Alexander, D. J. (1989). Pneumovirus infections. A laboratory manual for the isolation and identification of avian pathogens. In: A laboratory manual for the isolation and identification of avian pathogens 3rd Edt. Purchase, H.G., Arp, L.H., Domerhuth, C.H. and Pearson, J.E. (Eds.), Kendall/hunt Publishing Company, Iowa, pp. 121-123.
- Wyeth, P. (1990). The rhinotracheitis, swollen head syndrome cause heavy loss. Poultry Digest. **49**:16-18.
- Yu, Q., Davis, P. J., Barrett, T., Binns, M. M., Boursnell, M. E., Cavanagh, D. (1991). Deduced amino acid sequence of the fusion glycoprotein of turkey rhinotracheitis virus has greater identity with that of human respiratory syncytial virus, a pneumovirus, than that of paramyxoviruses and morbilliviruses. J Gen Virol. **72 (Pt 1)**:75-81.
- Yu, Q., Davis, P. J., Li, J., Cavanagh, D. (1992a). Cloning and sequencing of the matrix protein (M) gene of turkey rhinotracheitis virus reveal a gene order different from that of respiratory syncytial virus. Virology. **186**(2):426-434.
- Yu, Q., Davis, P. J., Brown, T. D., Cavanagh, D. (1992b). Sequence and in vitro expression of the M2 gene of turkey rhinotracheitis pneumovirus. J Gen Virol. **73 (Pt 6)**:1355-1363.
- Yunus, A. S., Govindarajan, D., Huang, Z., Samal, S. K. (2003). Deduced amino acid sequence of the small hydrophobic protein of US avian pneumovirus has greater identity with that of human metapneumovirus than those of non-US avian pneumoviruses. Virus Res. **93**(1):91-97.

Zellen, G. (1988). Case report. Swollen head syndrome in broiler chickens. In: Proceedings of the 37th Western Poultry Disease Conference, Davis, California, pp. 139.

Anhang

Tab. 17 aMPV spezifische RNA-Nachweise aus Trachealtupfern aller Versuchsgruppen (Aufzuchtperiode)

Alter in LW	0				3				6				8	9				12				14	15				18	18				21				24							
BBB													B																														
BBA													B																														
AAA													A							2																							
AAB													A																														
Stall	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	I	1	2	3	4	1	2	3	4	I	1	2	3	4	I	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4

Tab. 18 aMPV spezifische RNA-Nachweise aus Trachealtupfern aller Versuchsgruppen (Produktionsperiode)

Alter in LW	27				30				33				36				39				42				45				48				51				54				57				60			
BBB																																																
BBA																																																
AAA																																																
AAB																																																
Stall	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4

Anhang

Tab. 19 aMPV spezifische RNA-Nachweise aus Kloakentupfern aller Versuchsgruppen (Aufzuchtperiode)

Alter in LW	0				3				6				8	9				12				14	15				18	18				21				24								
BBB													B									B					B	n	n			n	n			n	n							
BBA													B									B					A																	
AAA													A									A					A																	
AAB	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	A									A					B					n	n	n	n	n	n	n	n					
Stall	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4		1	2	3	4	1	2	3	4		1	2	3	4		1	2	3	4		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4

Tab. 20 aMPV spezifische RNA-Nachweise aus Kloakentupfern aller Versuchsgruppen (Produktionsperiode)

Alter in LW	27				30				33				36				39				42				45				48				51				54				57				60							
BBB	n	n			n	n			n	n			n	n			n	n			n	n			n	n			n	n			n	n			n	n			n	n										
BBA	n	n	n														n	n	n		n	n	n		n	n	n		n	n	n		n	n	n		n	n	n													
AAA																	n	n	n	n									n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n								
AAB	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n																
Stall	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4

Anhang

Tab. 21 aMPV ELISA-Antikörpertiter Versuchsherde 1-4 (0. Lebenswoche)

Probe	BBB Versuchsherde 1	BBA Versuchsherde 2	AAA Versuchsherde 3	AAB Versuchsherde 4
1	19776	2868	8051	6887
2	27806	1151	16459	4861
3	8671	9586	6084	2276
4	16300	16650	17824	3479
5	14605	19582	16938	4829
6	20900	5730	18903	899
7	6554	16668	8632	17490
8	5400	12718	3884	15761
9	5322	14905	3118	13905
10	2219	7207	1565	4749
11	35581	412	14995	19070
13	28184	3098	9305	6870
14	2527	3798	3941	9645
15	12758	1713	10908	971
16	19558	8176	4564	15582
17	6081	20660	1399	1227
18	11926	15977	19376	3839
19	12698	2238	13398	1723
20	28073	12124	3190	6410
21	17068	10472	16697	816
22	3006	311	12715	3463
23	13344	2318	8746	3871
Median	15233	8176	8653	3907

Anhang

Tab. 22 aMPV ELISA-Antikörpertiter Versuchsherde 1 BBB Stall 1 und 2 (3.LW-57.LW)

Alter in LW	3		6		9		12		15		18		21		24		27		30		33	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
1	1	1	1	1	1	1	7087	789	3886	10630	2114	9952	35474	30560	28058	39121	33011	27089	25126	23502	37335	20092
2	610	1	1	1	1	1	6187	4411	8351	8729	3915	6780	23999	16236	27190	39624	32753	32654	39039	33326	19904	20170
3	1	1	1	1	1	1	1090	1034	10166	18129	9834	1244	34986	28654	21957	29989	40610	23733	21446	31942	34221	37895
4	451	1	1	1	1	1	911	1752	13003	12459	21425	10065	43286	11401	38960	40066	39181	39260	31880	17086	15293	42733
5	1	1	1	10	1	1	1090	2204	10265	10798	15410	22738	40411	27932	37829	29871	44740	34996	38116	32672	13000	30322
6	219	1	1	11989	1	1	5095	2336	6797	4411	4148	2840	39870	17118	38683	41923	36293	39886	26272	19600	34143	25029
7	1	1	1	1	174	1	1341	2321	19385	9800	7717	17207	37867	37404	45951	42085	38759	44660	39402	40246	28556	32853
8	1	1	1	1	1	1	1553	2630	6252	4161	14297	3003	38812	27064	33737	39402	41377	41904	29045	18915	26798	16150
9	1	1	1	1	1	1	1159	4395	13069	21816	13087	3626	31415	30523	38550	34539	23233	37414	27267	37354	39665	28282
10	188	1	1	1	1	1	9305	1752	7653	13665	5018	885	30576	34711	22843	42126	22424	30285	24120	35775	25726	31663
Median	1	1	1	1	1	1	1447	2262,5	9258,5	10714	8775,5	5203	36670,5	28293	35783	39513	37526	36205	28156	32307	27677	29302

Alter in LW	36		39		41		45		48		51		54		57	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
1	31545	29754	23984	16909	11912	11068	21921	23542	14040	34196	21323	23079	22153	30301	27432	15720
2	38718	35437	24962	29144	18372	29409	15427	22828	21921	32271	20098	16150	19379	16620	23375	35609
3	20206	26146	12666	10869	18354	26963	13627	15129	25927	25257	19329	25501	24026	34436	7891	35359
4	34043	31527	27276	22602	15567	22521	22780	19713	18978	26667	17924	16962	35456	21104	25705	19305
5	31034	20475	29242	21954	28796	15679	21275	27539	29045	25927	26028	30585	42345	26080	20514	19910
6	30165	30106	23772	19633	7424	26865	26404	18434	18482	20116	25683	12692	25650	33173	27110	26716
7	40025	17933	23478	22472	19683	26437	23772	20532	11789	15553	27377	21693	26605	28279	32181	39661
8	25455	43605	30088	26208	25781	27080	25470	19314	22325	22813	25485	16494	21452	37958	34746	16024
9	30403	31567	20388	19841	20469	27573	10565	28350	17304	20131	25995	26829	9516	35973	27846	22967
10	28341	25592	13676	18339	19427	22454	10443	26043	20260	27671	16609	16620	30814	32623	13009	15377
Median	30718,5	29930	23878	20897,5	18899,5	26651	21598	21680	19619	25592	23404	19327,5	24838	31462	26407,5	21438,5

Anhang

Tab. 23 aMPV ELISA-Antikörpertiter Versuchsherde 2 BBA Stall 1-3 (3.LW-57.LW)

Alter in LW	3			6			9			12			15			18			21			24			27		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	231	1	1	1	1	1	1	1	1	1320	288	1161	1882	12897	3845	2749	14204	5199	26697	12606	27717	40477	39617	19716	32968	26074	37747
2	1	1	1	1	1	1	1	70	1	1444	1769	288	2253	6695	7915	10166	10296	10659	25449	6900	27929	34639	21188	15109	38601	7029	4895
3	231	1	1	1	1	1	1	80	696	1794	11803	1618	8888	11906	13372	11327	3466	6098	17018	26025	6467	13612	16106	10274	37769	30412	22078
4	2572	1	1	1	1	1	1	34	1	825	10557	3165	7232	7076	7161	1934	4456	5261	37562	3388	6982	30285	23769	26443	32716	4004	20012
5	63	1	1	1	1	1	1	1	61	1382	4224	1173	14360	1882	8529	2386	8615	9188	53364	36038	25080	23654	26813	9101	24491	13436	27914
6	84	1	1	1	1	1	1	1	1	1	7048	3021	5164	4358	3644	15816	4474	2883	43920	46607	29070	44379	12868	22349	26859	24694	10937
7	1	1	1	1	1	1	34	1	1	1284	4946	4630	3577	8373	5427	5119	777	1130	19195	40813	17086	25494	20732	13589	33728	27025	9070
8	356	1	1	1	1	1	1	1	1	545	4319	1137	10469	9176	7021	1490	3585	2557	28977	18274	14247	29421	33553	25769	18704	42256	15398
9	1831	1	1	1	1	1	568	1	1	3021	1211	1053	3008	7218	7515	9188	4316	5871	21257	6878	7628	30214	47430	5625	30622	29723	39943
10	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1469	1818	626	2889	5787	5703	260	4675	2366	34380	23860	9611	34380	31480	28230	24387	27230	13474
Median	157,5	1	1	1	1	1	1	1	1	1351	4271,5	1167	4370,5	7147	7091	3934	4465	5230	27837	21067	15666,5	30249,5	25291	17412,5	31669	26549,5	17705

Alter in LW	30			33			36			39			42			45			48		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	22566	6035	9867	11050	10667	40284	30876	23118	15553	32990	12396	13312	17709	22292	12032	31523	5116	10951	49342	13908	32150
2	13572	4839	4680	47498	13572	8223	13754	7587	5644	33030	8309	13662	16283	6679	31111	34474	24603	13133	50279	42895	32635
3	20801	15655	18743	28703	20900	6000	38056	30560	15723	24005	16506	17972	26816	14774	18482	29470	10361	8724	28528	24740	23001
4	31939	5908	12385	31313	10288	18283	23851	26330	11466	38197	14050	10778	23463	11429	34399	12124	6766	23112	36013	18995	2383
5	40500	7849	17304	27914	9333	12888	31685	3113	7098	19940	10254	5507	30817	32178	39380	37398	24151	18176	50953	7485	18176
6	22810	25537	39880	25866	12442	16765	31527	16318	15535	34361	21065	39703	29714	33447	20720	24263	10319	6788	28046	15474	27521
7	33454	11958	9600	27230	5617	19809	16338	24391	32990	29224	12104	16468	12891	5164	40186	13477	5215	27656	42091	9538	46159
8	10610	25909	10152	8844	10325	6532	42002	43665	21984	23560	9949	17106	36713	12689	3655	35315	35127	3236	18772	14841	8662
9	23342	25580	24551	36327	25680	14905	29912	24931	20607	16562	25339	2708	22560	10616	29674	16544	17357	5295	40883	21449	19350
10	31688	14256	28350	31375	8392	7606	32038	19788	25921	31368	10526	29067	23155	8646	9375	27132	5036	9538	28184	11335	24968
Median	23076	13107	14844,5	28308,5	10496	13896,5	31201,5	23754,5	15638	30296	12250	15065	23309	12059	25197	28301	10340	10244,5	38448	15157,5	23984,5

Fortsetzung Tab. 23

Alter in LW	51			54			57		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	35709	27224	14581	26309	23527	27570	34893	9017	5997
2	16656	8955	41926	24573	16027	6922	37533	30202	21933
3	12038	10846	5295	11483	4988	3479	36107	10775	23085
4	22503	15846	4127	40959	15316	5167	26254	9698	14221
5	35709	2797	15234	38718	8426	10415	10245	13853	13205
6	6870	33008	23518	37647	19791	9017	16879	10690	26532
7	26697	7752	36390	23672	7938	40401	1399	33360	12385
8	12230	31917	28503	35359	27923	9867	31306	14259	32511
9	18728	26422	18218	23929	4077	5151	28854	6426	26199
10	22593	17292	43490	22647	6195	14928	28500	29396	23197
Median	20615,5	16569	20868	25441	11871	9442	28677	12314	22509

Anhang

Tab. 24 aMPV ELISA-Antikörpertiter Versuchsherde 3 AAA Stall 1-4 (3.LW-60.LW)

Alter in LW	3				6				9				12				15				18			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1	260	1	1	1	54	1	1	1	182	1	1	1745	1691	6098	1691	5295	5736	5116	9288	3448	9373	12210	9476	2911
2	140	1	1	7	29	1	1	260	324	1	1	3185	1353	2238	2047	3121	5194	19883	920	9288	5015	11250	6342	936
3	517	70	1	260	309	1	1	1	244	1	1	1444	554	962	2612	7752	7155	11250	3834	6179	6016	1757	2894	4837
4	1	29	1	38	176	1	1	1	13	1	43	736	698	2762	2947	4561	18508	12767	11740	6584	8643	12101	7301	7526
5	677	1	1	366	196	29	1	148	74	1	1	3878	18814	3065	198	2441	2970	10783	3621	2496	17248	4442	3525	5435
6	54	1	1	22	38	1	1	1	6	784	1	1211	1251	1011	7259	11760	9499	9538	14256	10931	2665	3083	2236	3083
7	45	1	1	446	1	1	1	1	27	707	13	1860	1558	2408	9447	8537	11589	9415	5076	1182	6972	2797	21536	2627
8	54	1	1	22	1	1	43	1	74	2301	209	865	4427	2934	304	1111	7855	9415	3296	21113	18951	8021	14581	481
9	87	1	1	1	22	1	1	57	1	689	1	2643	4371	1081	3165	20218	7237	1902	6829	2686	7855	4778	6687	3759
10	1	1	1	176	1	1	1	20	20	1001	1	3701	156	2729	1466	4678	7896	2590	17115	6119	17316	3332	6057	6952
Median	70,5	1	1	30	33,5	1	1	1	50,5	345	1	1802,5	1455,5	2568,5	2329,5	4986,5	7546	9476,5	5952,5	6149	8249	4610	6514,5	3421

Alter in LW	21				24				27				30				33			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1	20113	11321	9662	10542	39522	14625	3458	15013	26517	5685	12064	13006	31852	20167	17892	4221	34568	33130	12327	2610
2	22081	14346	4877	14549	40269	30502	13627	15220	27423	4132	6393	14602	24962	16921	9190	7402	27257	20322	20009	9409
3	5523	7185	25650	4893	16077	21831	15928	39342	23049	29319	13006	19126	30771	10684	3939	7512	18725	33875	8819	17998
4	11142	36873	7570	6437	27539	41155	4522	32337	21936	25330	15266	12236	28000	17892	28719	6247	24555	13607	13098	20197
5	18879	42164	12874	8914	32414	32377	22328	16262	24066	27545	13627	13743	33332	6961	6723	25903	19624	2134	7799	16918
6	36635	10596	4038	12589	31821	29184	33703	15685	32312	24615	14134	10571	33061	14739	16703	11124	32707	6469	22183	13667
7	17180	12379	12213	14643	33229	27187	25108	39763	29816	11620	19445	17434	23010	14134	5938	7273	24269	15386	27644	3673
8	25126	17425	4355	16823	31803	31626	33765	21888	11275	14698	35744	28224	19266	28122	8573	10761	30044	35568	28553	18019
9	12434	14291	16618	30461	5781	26019	14774	23058	30084	3834	12911	14387	17475	25473	15933	4537	31809	31421	11540	35127
10	26175	10741	26526	6038	20301	19123	42631	26563	23354	19686	14739	14913	16506	6011	21170	10667	22868	8760	19064	9727
Median	19496	13335	10937,5	11565,5	31812	28185,5	19128	22473	25291,5	17192	13880,5	14494,5	26481	15830	12561,5	7457	25906	17854	16081	15292,5

Anhang

Fortsetzung Tab. 24

Alter in LW	36				39				42				45				48			
	Stall	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3
1	18897	14137	16027	3383	32101	20619	7910	3876	15018	12779	11778	4567	20349	23599	27018	6903	18244	14233	23833	23796
2	18185	11583	15325	20915	44587	12934	27187	4551	8983	24977	34496	16385	36628	9137	21380	2693	33809	18948	18191	3847
3	18624	22991	8348	21527	19105	11783	15664	4004	32315	14841	9690	5237	21581	8420	12692	1534	29332	8900	11506	18805
4	20807	11122	13118	4282	37448	20301	6663	16330	15629	6244	11235	16168	34130	29658	21215	10347	29550	12184	4925	4190
5	42927	6988	20640	14157	39646	21104	22469	20003	31936	19835	36145	20460	34668	20535	18740	27202	14561	5478	22153	21440
6	20999	29788	25555	9190	23693	7510	25013	12393	30035	34190	4747	16024	26080	21840	30186	15872	19668	21386	3756	17074
7	32604	3894	19946	13219	36098	29723	26887	12923	33903	15954	11600	15269	22117	14608	7656	5668	26028	12848	17404	4909
8	25769	12571	19504	24442	28076	9983	12692	24792	18559	29070	5814	26847	28052	11042	32088	17561	13427	18209	17649	17649
9	32843	23439	13667	5687	29680	26844	17922	14378	36051	7350	30870	5269	27487	9774	6377	7929	29952	16985	8487	5413
10	35149	13159	3401	38201	34183	27751	10469	16060	28467	8317	9533	29316	25144	6228	23878	7913	12626	16585	19528	2408
Median	23384	12865	15676	13688	33142	20460	16793	13650,5	29251	15397,5	11417,5	16096	26783,5	12825	21297,5	7921	22848	15409	17526,5	11243,5

Alter in LW	51				54				57				60				
	Stall	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1	23064	18983		5162	18868	21738	29763	8326	20200	6130	12548	12894	29520	2013	18170	1840	
2	28494	37310	27040	18455	29662	15974	11823	14378	23043	5968	16365	21657	29153	20149	13219	7896	
3	11321	32924	7979	15699	21678	20756	12319	28039	25836	11005	26612	15176	21173	44003	28442	14800	
4	8883	25251	14645	14439	25491	14070	10514	14360	24861	13433	5303	17248	25105	22711	15945	11595	
5	12049	29550	27386	22705	31269	25370	13624	17230	25897	19940	16818	8509	34577	5550	6551	9848	
6	16062	13960	17248	3603	11632	13297	15176	17821	23103	19245	32222	3324	20942	23702	24892	2117	
7	8950	18366	6840	18912	16856	10325	11233	5178	24296	34027	16406	5876	6247	18336	3572	9552	
8	10147	25287	12574	4111	10381	3842	25796	13393	4736	9311	29190	12261	10937	28657	4027	20254	
9	14421	7587	12540	4469	27101	3512	22943	22862	25735	16759	20517	9067	8265	14192	8479	21173	
10	20412	13427	10147	17475	11347	14030	13876	22843	43997	23527	17564	4435	20463	27175	33071	4709	
Median	13235	22117	12574	15069	20273	14050	13750	15804	24578,5	15096	17191	10664	21057,5	21430	14582	9700	

Anhang

Tab. 25 aMPV ELISA-Antikörpertiter Versuchsherde 4 AAB Stall 1-4 (3.LW-57.LW)

Alter in LW	3				6				9				12				15				18			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1	1	18	1	1	144	18	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3337	144	440	1	213	2348	132	1	
2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	18	1	1	1	1	1899	1	1	78	2164	1843	1095	144	
3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	10557	1	490	1	3512	541	178	1		
4	1	1	1	18	1	1	1	1	9	18	1	1	1	1	343	200	1485	871	99	89	1149	1		
5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	38	1	503	1	178	38	1244	392	156	1	
6	1	1	1	18	1	1	1	1	1	1	1	1	1	166	528	1	782	190	590	1	99	1		
7	144	1	1	1	1	1	1	1	1	1	136	1	1	1	768	1	111	1	122	490	1609	1		
8	1	1	1	1	1	1	1	1	9	1	1	1	1	1	860	46	1004	1	871	200	1597	1		
9	1	1	132	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	46	477	1	718	1	1459	705	1270	1		
10	50	9	1	1	1	1	1	1	1	1	170	1	1	1	950	1	366	1	768	296	1718	1		
Median	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	814	1	465	1	819,5	441	1122	1		

Alter in LW	21				24				27				30				33			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1	18550	13121	6848	7411	17700	19925	18600	4643	12109	12675	4781	10718	7521	17747	11649	8015	20882	4842	14308	3507
2	19037	21167	26285	3663	37735	16735	13257	14172	7703	8048	7391	11090	24114	8858	14602	2291	5706	19370	7254	1679
3	3999	11244	22735	2630	15772	31703	18271	10497	9845	1660	6073	6868	5162	3642	14273	3611	16062	12891	20969	15126
4	23458	25038	14410	4938	21641	6450	6881	10480	31381	828	2084	12058	10551	4781	21651	8329	27380	25690	33606	12526
5	26804	12851	31651	2000	12767	9048	21308	15500	12451	4813	4482	2099	12451	20242	5849	7161	14584	11068	9073	1833
6	25876	12566	27071	4954	30963	39008	15243	13477	16010	4845	23536	8841	18981	29705	16694	4137	27126	10778	23176	14477
7	10398	23917	23263	1208	32685	6881	5817	11093	237	3226	5290	12451	12299	7032	10296	1048	13396	10832	22617	16488
8	9409	28165	20520	2291	19785	10068	23581	6848	9190	4797	1806	9143	9608	9828	7982	9541	2559	1069	10418	862
9	27806	11327	5879	3860	29625	11729	10962	6068	3396	6753	16447	12810	19976	15383	2156	9426	5849	8629	9412	24895
10	11963	3785	30635	705	17564	15310	37864	14579	9507	10920	6657	5979		18170	16868	599	25035	15126	7728	4020
Median	18793,5	12986	22999	3146,5	20713	13519,5	16757	10795	9676	4829	5681,5	9930,5	12299	12605,5	12961	5649	15323	10950	12363	8273

Anhang

Fortsetzung Tab. 25

Alter in LW	36				39				42				45				48			
	Stall	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3
1	25513	21104	4153	10166	8967	31446	7510	21179	3296	16353	9325	17827	8724	19105	8743	8743	13222	4406	6068	12758
2	6176	13075	15685	6627	11196	21888	7683	29104	12419	17889	42962	10951	30517	25824	13401	13401	4935	10178	20149	2965
3	8220	7446	3523	3704	8841	11812	22937	10480	38828	6712	14526	29402	17457	6766	19704	19704	9910	13352	5545	8201
4	11978	7816	7114	3639	4622	24874	6219	12701	4895	4017	6201	9151	27120	24810	9538	9538	11438	18312	15939	3925
5	11978	9322	6887	1478	5900	13922	8724	5079	23188	15196	15948	27481	17664	5266	18238	18238	9707	457	15922	7678
6	22481	17632	8788	6038	4842	5952	10302	6388	9910	16150	10460	7797	19997	2622	16927	16927	18660	4994	16168	32579
7	14791	9986	9485	10886	12233	6141	26333	13902	18342	21389	22246	10223	22225	3871	5360	5360	3548	8914	12712	1102
8	15869	21753	11886	14439	26740	12799	17685	7185	3224	19105	20224	3889	32476	31958	23587	23587	14640	25007	7755	4906
9	19180	16768	9879	2371	7885	6521	15275	7835	20804	5413	16823	8227	22665	14427	14750	14750	19421	17457	4893	1128
10	20188	16544	1662	8168	7482	3738	11586	7568	31958	6219	11526	4490	3437	34639	13260	13260	10412	10492	18049	5561
Median	15330	14809,5	7951	6332,5	8363	12305,5	10944	9157,5	15380,5	15673	15237	9687	21111	16766	14075,5	14075,5	10925	10335	14317	5233,5

Alter in LW	51				54				57				60			
	Stall	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3
1	7312	16394	6644	4027	13534	17431	11775	9766	11795	7907	11735	21200	7312	16394	6644	4027
2	23055	19982	6581	6977	26245	8434	2206	15910	14088	8833	2426	5512	23055	19982	6581	6977
3	10931	23339	28064	7466	5844	1604	5970	1277	13084	3803	1423	1721	10931	23339	28064	7466
4	32026	17936	13384	11643	13534	10940	13338	2171	16471	3152	5311	2020	32026	17936	13384	11643
5	7725	18164	7708	19850	8699	12790	18218	20343	12046	18218	4498	2632	7725	18164	7708	19850
6	3808	14285	6930	10364	8509	4768	14896	7888	20221	12281	2564	3556	3808	14285	6930	10364
7	7342	10005	9193	3694	7306	5004	6655	4535	16891	14698	16670	14483	7342	10005	9193	3694
8	8370	5336	9162	3134	29439	17652	13240	6876	10169	10361	4967	1473	8370	5336	9162	3134
9	11820	9238	4773	5440	8206	4014	2718	9825	9825	22243	25851	6914	11820	9238	4773	5440
10	4773	8187	7449	2431	5935	2256	16071	7306	2960	34212	3855	7213	4773	8187	7449	2431
Median	8047,5	15339,5	7578,5	6208,5	8604	6719	12507,5	7597	12565	11321	4732,5	4534	8047,5	15339,5	7578,5	6208,5

Anhang

Tab. 26 Produktionsparameter Versuchsherde 1 BBB Stall 1

Alter in LW	Legeleistung in % Resthenne	Legeleistung Integrationsstandard in % Resthenne	Legeleistungsrückgang in % zur Vorwoche – Standardrückgang	Wochenverluste Hennen in % Resthenne	Wochenselektion Hennen in % Resthenne	Wochenabgänge Hennen in % Resthenne	Wochenverluste Integrationsstandard Hennen in % Resthenne	Wochenselektion Integrationsstandard Hennen in % Resthenne	Wochenabgänge Integrationsstandard Hennen in % Resthenne
25	2,62	5,36		0,04	0,24	0,28	0,08	0,24	0,32
26	14,42	22,52		0,15	0,24	0,39	0,21	0,21	0,42
27	42,82	46,49		0,22	0,02	0,24	0,32	0,10	0,42
28	64,39	64,34		0,24	0,09	0,33	0,30	0,25	0,56
29	76,64	74,39		0,22	0,04	0,26	0,29	0,12	0,41
30	80,75	78,20		0,13	0,09	0,22	0,21	0,14	0,35
31	82,62	79,24		0,13	0,07	0,20	0,27	0,06	0,34
32	81,78	79,03	-0,63	0,13	0,13	0,26	0,20	0,07	0,27
33	82,07	79,08		0,09	0,02	0,11	0,16	0,04	0,20
34	80,79	77,84	-0,03	0,22	0,09	0,31	0,30	0,06	0,36
35	79,19	77,25	-1,02	0,04	0,13	0,18	0,13	0,08	0,21
36	79,26	77,13		0,09	0,02	0,11	0,14	0,03	0,18
37	78,20	76,06		0,16	0,11	0,27	0,23	0,06	0,29
38	76,28	74,56	-0,43	0,09	0,02	0,11	0,23	0,01	0,24
39	75,56	73,93	-0,08	0,11	0,02	0,13	0,17	0,03	0,20
40	74,08	73,03	-0,58	0,11	0,00	0,11	0,17	0,02	0,19
41	74,51	72,61		0,07	0,04	0,11	0,15	0,03	0,18
42	73,35	71,82	-0,37	0,07	0,00	0,07	0,14	0,02	0,17
43	72,79	71,04		0,11	0,02	0,13	0,12	0,07	0,20
44	72,53	70,12		0,07	0,09	0,16	0,18	0,10	0,28
45	70,16	68,64	-0,89	0,18	0,00	0,18	0,16	0,05	0,21
46	70,07	67,78		0,13	0,09	0,22	0,22	0,11	0,33
47	69,73	67,08		0,09	0,02	0,11	0,17	0,02	0,19
48	68,08	66,13	-0,7	0,14	0,02	0,16	0,17	0,08	0,24
49	63,57	63,97	-2,36	0,09	0,05	0,14	0,17	0,04	0,21
50	65,13	63,48		0,09	0,00	0,09	0,17	0,05	0,22
51	62,88	61,66	-0,43	0,11	0,05	0,16	0,16	0,04	0,19
52	63,31	60,30		0,07	0,00	0,07	0,17	0,02	0,20

Anhang

Fortsetzung Tab. 26

Alter in LW	Legeleistung in % Resthenne	Legeleistung Integrationsstandard in % Resthenne	Legeleistungsrückgang in % zur Vorwoche – Standardrückgang	Wochenverluste Hennen in % Resthenne	Wochenselektion Hennen in % Resthenne	Wochenabgänge Hennen in % Resthenne	Wochenverluste Integrationsstandard Hennen in % Resthenne	Wochenselektion Integrationsstandard Hennen in % Resthenne	Wochenabgänge Integrationsstandard Hennen in % Resthenne
53	62,11	58,68		0,16	0,00	0,16	0,24	0,02	0,26
54	60,90	58,30	-0,83	0,14	0,05	0,18	0,25	0,03	0,27
55	60,58	58,07		0,18	0,07	0,25	0,32	0,05	0,37
56	58,92	56,37	-	0,11	0,02	0,14	0,26	0,04	0,30
57	57,37	56,16	-1,34	0,14	0,09	0,23	0,41	0,26	0,67
58	58,77	56,27		0,30	0,00	0,30	0,42	0,05	0,47
59	56,18	54,77	-1,09	0,30	0,09	0,39	0,40	0,21	0,60
Durchschnitt				0,13	0,06	0,19	0,22	0,08	0,30

Anhang

Tab. 27 Produktionsparameter Versuchsherde 1 BBB Stall 2

Alter in LW	Legeleistung in % Resthenne	Legeleistung Integrationsstandard in % Resthenne	Legeleistungsrückgang in % zur Vorwoche – Standardrückgang	Wochenverluste Hennen in % Resthenne	Wochenselektion Hennen in % Resthenne	Wochenabgänge Hennen in % Resthenne	Wochenverluste Integrationsstandard Hennen in % Resthenne	Wochenselektion Integrationsstandard Hennen in % Resthenne	Wochenabgänge Integrationsstandard Hennen in % Resthenne
25	5,90	4,28		0,12	0,10	0,68	0,15	0,31	0,46
26	18,48	16,08		0,22	0,12	0,49	0,26	0,23	0,49
27	34,46	34,91		0,58	0,12	0,49	0,47	0,18	0,64
28	45,40	50,66		0,36	0,27	0,61	0,57	0,23	0,80
29	51,90	59,72		0,37	0,17	0,62	0,63	0,26	0,89
30	58,80	64,17		0,34	0,32	0,47	0,48	0,27	0,75
31	62,90	65,71		0,45	0,13	0,47	0,44	0,36	0,79
32	64,82	65,62		0,15	0,18	0,53	0,54	0,17	0,71
33	65,04	64,84		0,35	0,15	0,48	0,45	0,23	0,68
34	63,53	63,66	-0,33	0,35	0,15	0,56	0,56	0,27	0,83
35	61,38	62,22	-0,71	0,33	0,26	0,54	0,53	0,26	0,79
36	59,37	60,84	-0,63	0,41	0,23	0,49	0,48	0,22	0,70
37	56,55	59,10	-1,08	0,28	0,15	0,59	0,41	0,18	0,59
38	53,68	56,45	-0,22	0,26	0,18	0,52	0,50	0,23	0,73
39	50,74	53,76	-0,25	0,44	0,13	0,52	0,46	0,19	0,65
40	50,27	51,97		0,34	0,18	0,52	0,45	0,10	0,55
41	47,51	48,79		0,39	0,29	0,63	0,48	0,27	0,76
42	45,03	45,56		0,34	0,27	0,85	0,52	0,18	0,70
43	44,63	43,50		0,34	0,24	0,64	0,39	0,22	0,61
44	44,05	41,40		0,58	0,05	0,30	0,51	0,16	0,67
45	41,32	38,86	-0,19	0,40	0,11	0,40	0,50	0,17	0,66
46	40,31	36,39		0,24	0,14	0,51	0,57	0,13	0,70
47	39,93	34,15		0,30	0,19	0,52	0,48	0,14	0,62
48	39,12	31,94		0,38	0,08	0,47	0,57	0,12	0,68
49	35,51	29,82	-1,50	0,33	0,11	0,66	0,59	0,16	0,75
50	31,04	27,77	-2,42	0,38	0,14	0,61	0,54	0,14	0,68
51	26,56	26,38	-3,07	0,55	0,20	0,72	0,62	0,14	0,76
52	26,58	25,51		0,47	0,11	0,39	0,73	0,13	0,85

Anhang

Fortsetzung Tab. 27

Alter in LW	Legeleistung in % Resthenne	Legeleistung Integrationsstandard in % Resthenne	Legeleistungsrückgang in % zur Vorwoche – Standardrückgang	Wochenverluste Hennen in % Resthenne	Wochenselektion Hennen in % Resthenne	Wochenabgänge Hennen in % Resthenne	Wochenverluste Integrationsstandard Hennen in % Resthenne	Wochenselektion Integrationsstandard Hennen in % Resthenne	Wochenabgänge Integrationsstandard Hennen in % Resthenne
53	25,52	25,40	-0,95	0,39	0,39	0,79	0,73	0,13	0,85
54	24,73	25,24	-0,54	0,37	0,17	0,54	0,55	0,15	0,70
55	26,52	25,71		0,40	0,20	0,60	0,59	0,12	0,71
56	26,08	25,87	-0,60	0,49	0,06	0,55	0,58	0,17	0,75
57	26,10	25,61		0,55	0,12	0,66	0,91	0,15	1,06
58	25,31	25,53%	-0,71	0,49	0,06	0,55	0,84	0,24	1,08
59	24,60	24,73%		0,55	0,12	0,65	1,62	0,19	1,81
Durchschnitt				0,38	0,17	0,55	0,56	0,19	0,76

Anhang

Tab. 28 Produktionsparameter Versuchsherde 2 BBA Stall 1

Alter in LW	Legeleistung in % Resthenne	Legeleistung Integrationsstandard in % Resthenne	Legeleistungsrückgang in % zur Vorwoche – Standardrückgang	Wochenverluste Hennen in % Resthenne	Wochenselektion Hennen in % Resthenne	Wochenabgänge Hennen in % Resthenne	Wochenverluste Integrationsstandard Hennen in % Resthenne	Wochenselektion Integrationsstandard Hennen in % Resthenne	Wochenabgänge Integrationsstandard Hennen in % Resthenne
25	0,12	4,28		0,10	0,04	0,14	0,15	0,31	0,46
26	5,21	16,08		0,20	0,31	0,51	0,26	0,23	0,49
27	22,75	34,91		0,69	0,24	0,92	0,47	0,18	0,64
28	41,06	50,66		0,63	0,40	1,03	0,57	0,23	0,80
29	53,75	59,72		0,38	0,26	0,64	0,63	0,26	0,89
30	61,07	64,17		0,73	0,10	0,83	0,48	0,27	0,75
31	64,28	65,71		0,37	0,51	0,87	0,44	0,36	0,79
32	65,21	65,62		0,53	0,10	0,64	0,54	0,17	0,71
33	64,05	64,84	-0,38	0,47	0,23	0,70	0,45	0,23	0,68
34	62,10	63,66	-0,77	0,56	0,20	0,76	0,56	0,27	0,83
35	61,81	62,22		0,43	0,27	0,70	0,53	0,26	0,79
36	59,45	60,84	-0,98	0,43	0,32	0,75	0,48	0,22	0,70
37	55,73	59,10	-1,98	0,47	0,06	0,53	0,41	0,18	0,59
38	51,38	56,45	-1,66	0,56	0,32	0,88	0,50	0,23	0,73
39	48,28	53,76	-0,42	0,54	0,17	0,71	0,46	0,19	0,65
40	46,55	51,97		0,50	0,04	0,54	0,45	0,10	0,55
41	41,85	48,79	-1,52	0,35	0,50	0,86	0,48	0,27	0,76
42	38,83	45,56		0,35	0,31	0,66	0,52	0,18	0,70
43	36,13	43,50	-0,64	0,29	0,22	0,51	0,39	0,22	0,61
44	36,26	41,40		0,67	0,04	0,72	0,51	0,16	0,67
45	33,32	38,86	-0,39	0,25	0,16	0,41	0,50	0,17	0,66
46	30,54	36,39	-0,31	0,54	0,11	0,66	0,57	0,13	0,70
47	27,82	34,15	-0,48	0,48	0,16	0,64	0,48	0,14	0,62
48	25,07	31,94	-0,54	0,41	0,21	0,62	0,57	0,12	0,68
49	24,80	29,82		0,65	0,07	0,72	0,59	0,16	0,75
50	25,25	27,77		0,70	0,05	0,75	0,54	0,14	0,68
51	26,57	26,38		0,52	0,00	0,52	0,62	0,14	0,76
52	27,09	25,51		0,59	0,05	0,64	0,73	0,13	0,85

Anhang

Fortsetzung Tab. 28

Alter in LW	Legeleistung in % Resthenne	Legeleistung Integrationsstandard in % Resthenne	Legeleistungsrückgang in % zur Vorwoche – Standardrückgang	Wochenverluste Hennen in % Resthenne	Wochenselektion Hennen in % Resthenne	Wochenabgänge Hennen in % Resthenne	Wochenverluste Integrationsstandard Hennen in % Resthenne	Wochenselektion Integrationsstandard Hennen in % Resthenne	Wochenabgänge Integrationsstandard Hennen in % Resthenne
53	29,04	25,40		0,43	0,21	0,64	0,73	0,13	0,85
54	30,60	25,24		0,62	0,12	0,74	0,55	0,15	0,70
55	32,20	25,71		0,46	0,14	0,60	0,59	0,12	0,71
56	32,79	25,87		0,36	0,05	0,41	0,58	0,17	0,75
57	32,40	25,61	-0,13	0,54	0,05	0,58	0,91	0,15	1,06
58	29,42	25,53	-2,90	0,54	0,02	0,56	0,84	0,24	1,08
59	29,35	24,73		0,66	0,00	0,66	1,62	0,19	1,81
Durchschnitt				0,5	0,18	0,68	0,56	0,19	0,76

Anhang

Tab. 29 Produktionsparameter Versuchsherde 2 BBA Stall 2

Alter in LW	Legeleistung in % Resthenne	Legeleistung Integrationsstandard in % Resthenne	Legeleistungsrückgang in % zur Vorwoche – Standardrückgang	Wochenverluste Hennen in % Resthenne	Wochenselektion Hennen in % Resthenne	Wochenabgänge Hennen in % Resthenne	Wochenverluste Integrationsstandard Hennen in % Resthenne	Wochenselektion Integrationsstandard Hennen in % Resthenne	Wochenabgänge Integrationsstandard Hennen in % Resthenne
25	1,67	7,01		0,04	0,01	0,04	0,20	0,21	0,41
26	16,04	23,97		0,24	0,02	0,25	0,42	0,21	0,63
27	39,07	43,57		0,30	0,00	0,30	0,58	0,23	0,80
28	57,31	58,12		0,39	0,07	0,46	0,74	0,24	0,98
29	67,37	66,45		0,51	0,02	0,53	0,66	0,27	0,93
30	71,14	69,43		0,43	0,05	0,48	0,79	0,40	1,19
31	73,29	70,22		0,29	0,02	0,31	0,53	0,46	0,99
32	72,31	69,74	-0,51	0,26	0,00	0,26	0,71	0,32	1,03
33	72,53	69,85		0,36	0,02	0,38	0,48	0,24	0,72
34	70,77	68,95	-0,86	0,23	0,02	0,24	0,40	0,28	0,68
35	69,02	68,24	-1,04	0,35	0,05	0,40	0,41	0,29	0,70
36	67,53	67,53	-0,78	0,28	0,02	0,30	0,40	0,20	0,61
37	66,41	66,56	-0,15	0,18	0,05	0,23	0,39	0,20	0,59
38	66,23	65,46		0,21	0,04	0,25	0,35	0,20	0,55
39	65,11	64,35	-0,02	0,14	0,09	0,23	0,41	0,17	0,58
40	63,86	63,17	-0,06	0,20	0,04	0,23	0,38	0,19	0,56
41	62,91	61,59		0,14	0,02	0,16	0,30	0,22	0,52
42	60,89	60,10	-0,53	0,12	0,00	0,12	0,35	0,13	0,48
43	60,66	58,91		0,18	0,02	0,20	0,38	0,22	0,60
44	59,77	57,73		0,23	0,04	0,27	0,35	0,17	0,52
45	58,02	56,26	-0,28	0,14	0,02	0,16	0,35	0,13	0,48
46	56,95	54,82		0,18	0,02	0,20	0,38	0,14	0,52
47	54,84	53,03	-0,31	0,16	0,00	0,16	0,39	0,13	0,52
48	54,08	51,46		0,22	0,00	0,22	0,35	0,14	0,49
49	52,64	49,80		0,22	0,05	0,27	0,32	0,11	0,43
50	52,50	48,40		0,13	0,00	0,13	0,35	0,12	0,47
51	51,78	46,77		0,15	0,00	0,15	0,39	0,16	0,56
52	49,53	45,27	-0,75	0,18	0,00	0,18	0,47	0,17	0,65

Anhang

Fortsetzung Tab. 29

Alter in LW	Legeleistung in % Resthenne	Legeleistung Integrationsstandard in % Resthenne	Legeleistungsrückgang in % zur Vorwoche – Standardrückgang	Wochenverluste Hennen in % Resthenne	Wochenselektion Hennen in % Resthenne	Wochenabgänge Hennen in % Resthenne	Wochenverluste Integrationsstandard Hennen in % Resthenne	Wochenselektion Integrationsstandard Hennen in % Resthenne	Wochenabgänge Integrationsstandard Hennen in % Resthenne
53	48,53	44,11		0,09	0,00	0,09	0,32	0,15	0,46
54	48,11	42,74		0,05	0,02	0,07	0,36	0,12	0,48
55	46,48	40,46		0,27	0,02	0,29	0,36	0,30	0,66
56	46,05	38,94		0,15	0,00	0,15	0,41	0,45	0,86
57	43,25	39,28	-3,14	0,20	0,06	0,26	0,39	0,12	0,51
58	41,39	36,87		0,09	0,02	0,11	0,43	0,23	0,65
59	38,68	35,83	-1,67	0,33	0,09	0,42	0,73	0,32	1,05
Durchschnitt				0,22	0,02	0,24	0,45	0,22	0,67

Anhang

Tab. 30 Produktionsparameter Versuchsherde 2 BBA Stall 3

Alter in LW	Legeleistung in % Resthenne	Legeleistung Integrationsstandard in % Resthenne	Legeleistungsrückgang in % zur Vorwoche – Standardrückgang	Wochenverluste Hennen in % Resthenne	Wochenselektion Hennen in % Resthenne	Wochenabgänge Hennen in % Resthenne	Wochenverluste Integrationsstandard Hennen in % Resthenne	Wochenselektion Integrationsstandard Hennen in % Resthenne	Wochenabgänge Integrationsstandard Hennen in % Resthenne
25	3,16	7,01		0,03	0,01	0,04	0,20	0,21	0,41
26	21,95	23,97		0,25	0,00	0,25	0,42	0,21	0,63
27	46,73	43,57		0,34	0,10	0,44	0,58	0,23	0,80
28	63,08	58,12		0,29	0,03	0,32	0,74	0,24	0,98
29	69,72	66,45		0,34	0,02	0,36	0,66	0,27	0,93
30	73,79	69,43		0,38	0,03	0,41	0,79	0,40	1,19
31	73,93	70,22		0,22	0,02	0,24	0,53	0,46	0,99
32	73,46	69,74		0,28	0,12	0,40	0,71	0,32	1,03
33	73,27	69,85	-0,30	0,17	0,07	0,24	0,48	0,24	0,72
34	72,21	68,95	-0,16	0,23	0,03	0,26	0,40	0,28	0,68
35	70,66	68,24	-0,84	0,37	0,10	0,47	0,41	0,29	0,70
36	70,11	67,53		0,16	0,09	0,25	0,40	0,20	0,61
37	67,94	66,56	-1,20	0,19	0,02	0,21	0,39	0,20	0,59
38	68,81	65,46		0,23	0,04	0,26	0,35	0,20	0,55
39	65,94	64,35	-1,76	0,19	0,12	0,32	0,41	0,17	0,58
40	66,04	63,17		0,25	0,00	0,25	0,38	0,19	0,56
41	64,04	61,59	-0,43	0,09	0,05	0,14	0,30	0,22	0,52
42	63,31	60,10		0,12	0,04	0,16	0,35	0,13	0,48
43	62,30	58,91		0,23	0,04	0,27	0,38	0,22	0,60
44	60,91	57,73	-0,20	0,20	0,07	0,27	0,35	0,17	0,52
45	59,55	56,26		0,22	0,05	0,27	0,35	0,13	0,48
46	58,54	54,82		0,18	0,09	0,27	0,38	0,14	0,52
47	56,88	53,03		0,25	0,05	0,31	0,39	0,13	0,52
48	55,60	51,46		0,14	0,05	0,20	0,35	0,14	0,49
49	54,77	49,80		0,34	0,00	0,34	0,32	0,11	0,43
50	54,16	48,40		0,27	0,00	0,27	0,35	0,12	0,47
51	52,59	46,77		0,27	0,02	0,29	0,39	0,16	0,56
52	51,17	45,27		0,33	0,16	0,49	0,47	0,17	0,65

Anhang

Fortsetzung Tab. 30

Alter in LW	Legeleistung in % Resthenne	Legeleistung Integrationsstandard in % Resthenne	Legeleistungsrückgang in % zur Vorwoche – Standardrückgang	Wochenverluste Hennen in % Resthenne	Wochenselektion Hennen in % Resthenne	Wochenabgänge Hennen in % Resthenne	Wochenverluste Integrationsstandard Hennen in % Resthenne	Wochenselektion Integrationsstandard Hennen in % Resthenne	Wochenabgänge Integrationsstandard Hennen in % Resthenne
53	50,11	44,11		0,18	0,00	0,18	0,32	0,15	0,46
54	50,82	42,74		0,15	0,07	0,22	0,36	0,12	0,48
55	49,17	40,46		0,17	0,00	0,17	0,36	0,30	0,66
56	48,17	38,94		0,17	0,04	0,20	0,41	0,45	0,86
57	44,28	39,28	-4,22	0,20	0,00	0,20	0,39	0,12	0,51
58	43,58	36,87		0,37	0,00	0,37	0,43	0,23	0,65
59	40,05	35,83	-2,49	0,41	0,00	0,41	0,73	0,32	1,05
Durchschnitt				0,24	0,04	0,28	0,45	0,22	0,67

Anhang

Tab. 31 Produktionsparameter Versuchsherde 3 AAA Stall 1

Alter in LW	Legeleistung in % Resthenne	Legeleistung Integrationsstandard in % Resthenne	Legeleistungsrückgang in % zur Vorwoche – Standardrückgang	Wochenverluste Hennen in % Resthenne	Wochenselektion Hennen in % Resthenne	Wochenabgänge Hennen in % Resthenne	Wochenverluste Integrationsstandard Hennen in % Resthenne	Wochenselektion Integrationsstandard Hennen in % Resthenne	Wochenabgänge Integrationsstandard Hennen in % Resthenne
25	5,29	4,28		0,06	0,17	0,22	0,15	0,31	0,46
26	21,54	16,08		0,24	0,20	0,44	0,26	0,23	0,49
27	43,36	34,91		0,19	0,26	0,45	0,47	0,18	0,64
28	55,36	50,66		0,32	0,24	0,56	0,57	0,23	0,80
29	64,21	59,72		0,30	0,45	0,75	0,63	0,26	0,89
30	67,33	64,17		0,25	0,17	0,42	0,48	0,27	0,75
31	67,49	65,71		0,34	0,36	0,70	0,44	0,36	0,79
32	66,64	65,62		0,40	0,27	0,67	0,54	0,17	0,71
33	65,16	64,84	-0,08	0,35	0,41	0,75	0,45	0,23	0,68
34	63,71	63,66	-0,29	0,45	0,37	0,82	0,56	0,27	0,83
35	62,23	62,22	-0,01	0,29	0,55	0,85	0,53	0,26	0,79
36	60,99	60,84	-0,10	0,16	0,32	0,47	0,48	0,22	0,70
37	60,05	59,10		0,30	0,34	0,64	0,41	0,18	0,59
38	57,23	56,45		0,46	0,34	0,80	0,50	0,23	0,73
39	55,40	53,76	-0,14	0,24	0,36	0,61	0,46	0,19	0,65
40	54,58	51,97	-0,03	0,24	0,08	0,32	0,45	0,10	0,55
41	52,13	48,79		0,22	0,35	0,57	0,48	0,27	0,76
42	51,16	45,56		0,37	0,16	0,53	0,52	0,18	0,70
43	49,67	43,50		0,29	0,33	0,62	0,39	0,22	0,61
44	48,19	41,40		0,35	0,17	0,52	0,51	0,16	0,67
45	45,08	38,86		0,15	0,02	0,17	0,50	0,17	0,66
46	44,24	36,39	-0,64	0,23	0,08	0,31	0,57	0,13	0,70
47	41,53	34,15		0,31	0,13	0,44	0,48	0,14	0,62
48	37,82	31,94	-0,49	0,46	0,08	0,55	0,57	0,12	0,68
49	36,30	29,82	-1,60	0,40	0,11	0,51	0,59	0,16	0,75
50	34,35	27,77		0,42	0,17	0,59	0,54	0,14	0,68
51	32,46	26,38	-0,54	0,45	0,02	0,47	0,62	0,14	0,76
52	30,85	25,51	-1,03	0,84	0,06	0,90	0,73	0,13	0,85

Anhang

Fortsetzung Tab. 31

Alter in LW	Legeleistung in % Resthenne	Legeleistung Integrationsstandard in % Resthenne	Legeleistungsrückgang in % zur Vorwoche – Standardrückgang	Wochenverluste Hennen in % Resthenne	Wochenselektion Hennen in % Resthenne	Wochenabgänge Hennen in % Resthenne	Wochenverluste Integrationsstandard Hennen in % Resthenne	Wochenselektion Integrationsstandard Hennen in % Resthenne	Wochenabgänge Integrationsstandard Hennen in % Resthenne
53	29,50	25,40	-1,50	0,26	0,02	0,28	0,73	0,13	0,85
54	28,30	25,24	-1,19	0,37	0,04	0,41	0,55	0,15	0,70
55	27,82	25,71	-1,67	0,35	0,00	0,35	0,59	0,12	0,71
56	26,62	25,87	-0,64	0,33	0,09	0,42	0,58	0,17	0,75
57	26,52	25,61	-0,94	0,44	0,15	0,59	0,91	0,15	1,06
58	25,58	25,53	-0,02	0,27	0,04	0,31	0,84	0,24	1,08
59	24,49	24,73	-0,13	0,49	0,13	0,62	1,62	0,19	1,81
60	25,78	25,23	-1,59	0,47	0,20	0,67	0,69	0,16	0,85
Durchschnitt				0,33	0,21	0,55	0,57	0,19	0,76

Anhang

Tab. 32 Produktionsparameter Versuchsherde 3 AAA Stall 2

Alter in LW	Legeleistung in % Resthenne	Legeleistung Integrationsstandard in % Resthenne	Legeleistungsrückgang in % zur Vorwoche – Standardrückgang	Wochenverluste Hennen in % Resthenne	Wochenselektion Hennen in % Resthenne	Wochenabgänge Hennen in % Resthenne	Wochenverluste Integrationsstandard Hennen in % Resthenne	Wochenselektion Integrationsstandard Hennen in % Resthenne	Wochenabgänge Integrationsstandard Hennen in % Resthenne
25	10,45	7,01		0,12	0,08	0,20	0,20	0,21	0,41
26	32,35	23,97		0,24	0,30	0,54	0,42	0,21	0,63
27	53,19	43,57		0,20	0,08	0,29	0,58	0,23	0,80
28	64,92	58,12		0,34	0,17	0,51	0,74	0,24	0,98
29	70,99	66,45		0,31	0,34	0,65	0,66	0,27	0,93
30	74,68	69,43		0,24	0,24	0,48	0,79	0,40	1,19
31	74,85	70,22		0,17	0,19	0,36	0,53	0,46	0,99
32	74,74	69,74		0,10	0,33	0,43	0,71	0,32	1,03
33	74,34	69,85	-0,52	0,23	0,35	0,58	0,48	0,24	0,72
34	72,38	68,95	-1,05	0,11	0,37	0,47	0,40	0,28	0,68
35	72,67	68,24		0,16	0,28	0,44	0,41	0,29	0,70
36	71,32	67,53	-0,64	0,18	0,21	0,39	0,40	0,20	0,61
37	71,80	66,56		0,14	0,21	0,35	0,39	0,20	0,59
38	69,54	65,46	-1,16	0,18	0,09	0,27	0,35	0,20	0,55
39	69,36	64,35		0,20	0,07	0,27	0,41	0,17	0,58
40	68,16	63,17	-0,01	0,20	0,30	0,50	0,38	0,19	0,56
41	67,23	61,59		0,13	0,14	0,27	0,30	0,22	0,52
42	65,56	60,10	-0,17	0,18	0,16	0,34	0,35	0,13	0,48
43	64,33	58,91	-0,05	0,18	0,16	0,34	0,38	0,22	0,60
44	62,28	57,73	-0,86	0,24	0,13	0,36	0,35	0,17	0,52
45	61,97	56,26		0,13	0,13	0,25	0,35	0,13	0,48
46	61,47	54,82		0,20	0,04	0,24	0,38	0,14	0,52
47	60,47	53,03		0,20	0,22	0,42	0,39	0,13	0,52
48	59,46	51,46		0,22	0,18	0,40	0,35	0,14	0,49
49	57,78	49,80	-0,01	0,18	0,04	0,22	0,32	0,11	0,43
50	57,81	48,40		0,20	0,07	0,28	0,35	0,12	0,47
51	54,46	46,77	-1,71	0,91	0,09	1,00	0,39	0,16	0,56
52	54,53	45,27		0,28	0,09	0,37	0,47	0,17	0,65

Anhang

Fortsetzung Tab. 32

Alter in LW	Legeleistung in % Resthenne	Legeleistung Integrationsstandard in % Resthenne	Legeleistungsrückgang in % zur Vorwoche – Standardrückgang	Wochenverluste Hennen in % Resthenne	Wochenselektion Hennen in % Resthenne	Wochenabgänge Hennen in % Resthenne	Wochenverluste Integrationsstandard Hennen in % Resthenne	Wochenselektion Integrationsstandard Hennen in % Resthenne	Wochenabgänge Integrationsstandard Hennen in % Resthenne
53	51,27	44,11	-2,10	0,19	0,08	0,26	0,32	0,15	0,46
54	49,65	42,74	-0,25	0,32	0,02	0,34	0,36	0,12	0,48
55	47,44	40,46		0,11	0,00	0,11	0,36	0,30	0,66
56	45,95	38,94		0,32	0,19	0,51	0,41	0,45	0,86
57	45,42	39,28	-0,88	0,25	0,00	0,25	0,39	0,12	0,51
58	44,18	36,87		0,13	0,11	0,25	0,43	0,23	0,65
59	42,53	35,83	-0,61	0,15	0,11	0,27	0,73	0,32	1,05
60	39,26	32,36		0,36	0,02	0,38	0,94	0,15	1,08
Durchschnitt				0,22	0,16	0,38	0,45	0,22	0,67

Anhang

Tab. 33 Produktionsparameter Versuchsherde 3 AAA Stall 3

Alter in LW	Legeleistung in % Resthenne	Legeleistung Integrationsstandard in % Resthenne	Legeleistungsrückgang in % zur Vorwoche – Standardrückgang	Wochenverluste Hennen in % Resthenne	Wochenselektion Hennen in % Resthenne	Wochenabgänge Hennen in % Resthenne	Wochenverluste Integrationsstandard Hennen in % Resthenne	Wochenselektion Integrationsstandard Hennen in % Resthenne	Wochenabgänge Integrationsstandard Hennen in % Resthenne
25	1,18	7,01		0,00	0,22	0,22	0,20	0,21	0,41
26	11,97	23,97		0,08	0,08	0,17	0,42	0,21	0,63
27	36,07	43,57		0,25	0,03	0,29	0,58	0,23	0,80
28	57,95	58,12		0,39	0,17	0,56	0,74	0,24	0,98
29	71,12	66,45		0,20	0,19	0,39	0,66	0,27	0,93
30	77,30	69,43		0,17	0,09	0,26	0,79	0,40	1,19
31	79,45	70,22		0,19	0,12	0,31	0,53	0,46	0,99
32	79,57	69,74		0,12	0,10	0,22	0,71	0,32	1,03
33	79,00	69,85	-0,68	0,28	0,07	0,34	0,48	0,24	0,72
34	77,81	68,95	-0,29	0,05	0,07	0,12	0,40	0,28	0,68
35	76,64	68,24	-0,46	0,16	0,10	0,26	0,41	0,29	0,70
36	76,60	67,53		0,12	0,12	0,24	0,40	0,20	0,61
37	75,98	66,56		0,14	0,17	0,31	0,39	0,20	0,59
38	74,52	65,46	-0,36	0,21	0,19	0,40	0,35	0,20	0,55
39	73,59	64,35		0,12	0,10	0,23	0,41	0,17	0,58
40	73,75	63,17		0,11	0,12	0,23	0,38	0,19	0,56
41	72,35	61,59		0,07	0,23	0,30	0,30	0,22	0,52
42	70,11	60,10	-0,74	0,23	0,12	0,35	0,35	0,13	0,48
43	69,66	58,91		0,25	0,11	0,35	0,38	0,22	0,60
44	68,33	57,73	-0,14	0,23	0,04	0,27	0,35	0,17	0,52
45	66,59	56,26	-0,27	0,09	0,09	0,18	0,35	0,13	0,48
46	66,24	54,82		0,14	0,09	0,23	0,38	0,14	0,52
47	66,34	53,03		0,21	0,09	0,30	0,39	0,13	0,52
48	63,67	51,46	-1,11	0,43	0,05	0,48	0,35	0,14	0,49
49	60,94	49,80	-1,06	0,20	0,23	0,43	0,32	0,11	0,43
50	61,39	48,40		0,34	0,16	0,51	0,35	0,12	0,47
51	59,92	46,77		0,29	0,09	0,38	0,39	0,16	0,56
52	59,67	45,27		0,27	0,13	0,40	0,47	0,17	0,65

Anhang

Fortsetzung Tab. 33

Alter in LW	Legeleistung in % Resthenne	Legeleistung Integrationsstandard in % Resthenne	Legeleistungsrückgang in % zur Vorwoche – Standardrückgang	Wochenverluste Hennen in % Resthenne	Wochenselektion Hennen in % Resthenne	Wochenabgänge Hennen in % Resthenne	Wochenverluste Integrationsstandard Hennen in % Resthenne	Wochenselektion Integrationsstandard Hennen in % Resthenne	Wochenabgänge Integrationsstandard Hennen in % Resthenne
53	58,62	44,11		0,20	0,18	0,38	0,32	0,15	0,46
54	56,35	42,74	-0,90	0,33	0,06	0,39	0,36	0,12	0,48
55	54,11	40,46		0,24	0,04	0,28	0,36	0,30	0,66
56	52,91	38,94		0,17	0,02	0,18	0,41	0,45	0,86
57	50,89	39,28	-2,36	0,22	0,22	0,45	0,39	0,12	0,51
58	48,42	36,87	-0,06	0,20	0,07	0,28	0,43	0,23	0,65
59	47,38	35,83		0,17	0,02	0,19	0,73	0,32	1,05
60	46,33	32,36		0,32	0,04	0,36	0,94	0,15	1,08
Durchschnitt				0,2	0,11	0,31	0,45	0,22	0,67

Anhang

Tab. 34 Produktionsparameter Versuchsherde 3 AAA Stall 4

Alter in LW	Legeleistung in % Resthenne	Legeleistung Integrationsstandard in % Resthenne	Legeleistungsrückgang in % zur Vorwoche – Standardrückgang	Wochenverluste Hennen in % Resthenne	Wochenselektion Hennen in % Resthenne	Wochenabgänge Hennen in % Resthenne	Wochenverluste Integrationsstandard Hennen in % Resthenne	Wochenselektion Integrationsstandard Hennen in % Resthenne	Wochenabgänge Integrationsstandard Hennen in % Resthenne
25	3,32	7,01		0,07	0,15	0,22	0,20	0,21	0,41
26	20,57	23,97		0,17	0,08	0,25	0,42	0,21	0,63
27	41,68	43,57		0,32	0,12	0,44	0,58	0,23	0,80
28	56,76	58,12		0,37	0,10	0,47	0,74	0,24	0,98
29	65,24	66,45		0,31	0,27	0,58	0,66	0,27	0,93
30	68,58	69,43		0,31	0,12	0,43	0,79	0,40	1,19
31	69,70	70,22		0,34	0,15	0,50	0,53	0,46	0,99
32	69,76	69,74		0,28	0,22	0,50	0,71	0,32	1,03
33	70,96	69,85		0,16	0,23	0,38	0,48	0,24	0,72
34	68,39	68,95	-1,67	0,23	0,14	0,37	0,40	0,28	0,68
35	66,84	68,24	-0,83	0,18	0,40	0,58	0,41	0,29	0,70
36	67,11	67,53		0,09	0,30	0,39	0,40	0,20	0,61
37	66,19	66,56		0,09	0,12	0,21	0,39	0,20	0,59
38	65,15	65,46		0,11	0,11	0,21	0,35	0,20	0,55
39	64,38	64,35		0,14	0,12	0,27	0,41	0,17	0,58
40	63,64	63,17		0,11	0,09	0,20	0,38	0,19	0,56
41	63,04	61,59		0,12	0,23	0,36	0,30	0,22	0,52
42	61,52	60,10	-0,03	0,14	0,05	0,20	0,35	0,13	0,48
43	60,46	58,91		0,18	0,18	0,36	0,38	0,22	0,60
44	58,86	57,73	-0,42	0,09	0,02	0,11	0,35	0,17	0,52
45	56,44	56,26	-0,95	0,18	0,11	0,29	0,35	0,13	0,48
46	55,55	54,82		0,11	0,02	0,13	0,38	0,14	0,52
47	56,33	53,03		0,22	0,14	0,36	0,39	0,13	0,52
48	54,77	51,46		0,24	0,05	0,29	0,35	0,14	0,49
49	53,27	49,80		0,25	0,04	0,29	0,32	0,11	0,43
50	51,70	48,40	-0,17	0,16	0,04	0,20	0,35	0,12	0,47
51	51,63	46,77		0,24	0,04	0,27	0,39	0,16	0,56
52	50,91	45,27		0,29	0,04	0,33	0,47	0,17	0,65

Anhang

Fortsetzung Tab. 34

Alter in LW	Legeleistung in % Resthenne	Legeleistung Integrationsstandard in % Resthenne	Legeleistungsrückgang in % zur Vorwoche – Standardrückgang	Wochenverluste Hennen in % Resthenne	Wochenselektion Hennen in % Resthenne	Wochenabgänge Hennen in % Resthenne	Wochenverluste Integrationsstandard Hennen in % Resthenne	Wochenselektion Integrationsstandard Hennen in % Resthenne	Wochenabgänge Integrationsstandard Hennen in % Resthenne
53	49,59	44,11	-0,15	0,11	0,04	0,15	0,32	0,15	0,46
54	46,66	42,74	-1,56	0,24	0,04	0,28	0,36	0,12	0,48
55	42,04	40,46	-2,34	0,13	0,02	0,15	0,36	0,30	0,66
56	35,91	38,94	-4,62	0,26	0,06	0,31	0,41	0,45	0,86
57	30,33	39,28	-5,92	0,24	0,04	0,28	0,39	0,12	0,51
58	27,49	36,87	-0,43	0,41	0,13	0,54	0,43	0,23	0,65
59	26,12	35,83	-0,33	0,39	0,09	0,49	0,73	0,32	1,05
60	25,43	32,36		0,23	0,17	0,40	0,94	0,15	1,08
Durchschnitt				0,21	0,12	0,33	0,45	0,22	0,67

Anhang

Tab. 35 Produktionsparameter Versuchsherde 4 AAB Stall 1

Alter in LW	Legeleistung in % Resthenne	Legeleistung Integrationsstandard in % Resthenne	Legeleistungsrückgang in % zur Vorwoche – Standardrückgang	Wochenverluste Hennen in % Resthenne	Wochenselektion Hennen in % Resthenne	Wochenabgänge Hennen in % Resthenne	Wochenverluste Integrationsstandard Hennen in % Resthenne	Wochenselektion Integrationsstandard Hennen in % Resthenne	Wochenabgänge Integrationsstandard Hennen in % Resthenne
25	0,01	7,01		0,10	0,18	0,28	0,20	0,21	0,41
26	1,63	23,97		0,18	0,13	0,31	0,42	0,21	0,63
27	14,56	43,57		0,57	0,21	0,77	0,58	0,23	0,80
28	32,75	58,12		0,70	0,13	0,83	0,74	0,24	0,98
29	47,70	66,45		0,92	0,65	1,57	0,66	0,27	0,93
30	59,53	69,43		0,40	1,14	1,54	0,79	0,40	1,19
31	65,70	70,22		0,57	0,89	1,46	0,53	0,46	0,99
32	65,28	69,74		0,99	0,52	1,51	0,71	0,32	1,03
33	64,73	69,85	-0,67	0,94	0,00	0,94	0,48	0,24	0,72
34	65,47	68,95		0,42	0,65	1,07	0,40	0,28	0,68
35	66,00	68,24		0,06	0,42	0,48	0,41	0,29	0,70
36	62,85	67,53	-2,44	0,26	0,48	0,74	0,40	0,20	0,61
37	63,86	66,56		0,40	0,29	0,69	0,39	0,20	0,59
38	62,82	65,46		0,40	0,40	0,81	0,35	0,20	0,55
39	61,81	64,35		0,44	0,15	0,58	0,41	0,17	0,58
40	60,46	63,17	-0,17	0,26	0,38	0,64	0,38	0,19	0,56
41	60,06	61,59		0,12	0,09	0,21	0,30	0,22	0,52
42	58,02	60,10	-0,55	0,18	0,00	0,18	0,35	0,13	0,48
43	58,02	58,91		0,18	0,09	0,27	0,38	0,22	0,60
44	54,20	57,73	-2,63	0,12	0,00	0,12	0,35	0,17	0,52
45	55,16	56,26		0,18	0,00	0,18	0,35	0,13	0,48
46	51,52	54,82	-2,20	0,59	0,24	0,83	0,38	0,14	0,52
47	48,23	53,03	-1,50	0,21	0,03	0,24	0,39	0,13	0,52
48	48,16	51,46		0,18	0,00	0,18	0,35	0,14	0,49
49	46,47	49,80	-0,02	0,12	0,03	0,15	0,32	0,11	0,43
50	44,91	48,40	-0,16	0,27	0,06	0,33	0,35	0,12	0,47
51	45,33	46,77		0,39	0,21	0,60	0,39	0,16	0,56
52	42,56	45,27	-1,28	1,07	0,46	1,53	0,47	0,17	0,65

Anhang

Fortsetzung Tab. 35

Alter in LW	Legeleistung in % Resthenne	Legeleistung Integrationsstandard in % Resthenne	Legeleistungsrückgang in % zur Vorwoche – Standardrückgang	Wochenverluste Hennen in % Resthenne	Wochenselektion Hennen in % Resthenne	Wochenabgänge Hennen in % Resthenne	Wochenverluste Integrationsstandard Hennen in % Resthenne	Wochenselektion Integrationsstandard Hennen in % Resthenne	Wochenabgänge Integrationsstandard Hennen in % Resthenne
53	38,08	44,11	-3,32	0,09	0,09	0,18	0,32	0,15	0,46
54	35,06	42,74	-1,65	0,31	0,15	0,46	0,36	0,12	0,48
55	35,85	40,46		0,28	0,03	0,31	0,36	0,30	0,66
56	34,26	38,94	-0,07	0,28	0,22	0,50	0,41	0,45	0,86
57	34,16	39,28	-0,44	0,41	0,16	0,56	0,39	0,12	0,51
58	36,76	36,87		0,28	0,13	0,41	0,43	0,23	0,65
59	38,06	35,83		0,25	0,09	0,35	0,73	0,32	1,05
Durchschnitt				0,37	0,25	0,62	0,45	0,22	0,67

Anhang

Tab. 36 Produktionsparameter Versuchsherde 4 AAB Stall 2

Alter in LW	Legeleistung in % Resthenne	Legeleistung Integrationsstandard in % Resthenne	Legeleistungsrückgang in % zur Vorwoche – Standardrückgang	Wochenverluste Hennen in % Resthenne	Wochenselektion Hennen in % Resthenne	Wochenabgänge Hennen in % Resthenne	Wochenverluste Integrationsstandard Hennen in % Resthenne	Wochenselektion Integrationsstandard Hennen in % Resthenne	Wochenabgänge Integrationsstandard Hennen in % Resthenne
25	5,05	7,01		0,10	0,15	0,25	0,20	0,21	0,41
26	20,54	23,97		0,43	0,18	0,61	0,42	0,21	0,63
27	40,50	43,57		0,52	0,15	0,67	0,58	0,23	0,80
28	53,91	58,12		0,57	0,49	1,07	0,74	0,24	0,98
29	62,75	66,45		0,60	0,61	1,21	0,66	0,27	0,93
30	67,00	69,43		0,35	1,71	2,06	0,79	0,40	1,19
31	67,21	70,22		0,60	0,60	1,19	0,53	0,46	0,99
32	67,42	69,74		0,90	0,03	0,93	0,71	0,32	1,03
33	67,78	69,85		0,58	0,31	0,89	0,48	0,24	0,72
34	68,49	68,95		0,25	0,39	0,64	0,40	0,28	0,68
35	66,46	68,24	-1,32	0,17	0,39	0,56	0,41	0,29	0,70
36	65,20	67,53	-0,55	0,48	0,54	1,02	0,40	0,20	0,61
37	62,49	66,56	-1,74	0,40	0,43	0,83	0,39	0,20	0,59
38	61,47	65,46		0,49	0,26	0,75	0,35	0,20	0,55
39	58,69	64,35	-1,67	0,23	0,38	0,61	0,41	0,17	0,58
40	57,45	63,17	-0,05	0,23	0,32	0,55	0,38	0,19	0,56
41	55,54	61,59	-0,34	0,29	0,03	0,32	0,30	0,22	0,52
42	55,88	60,10		0,12	0,06	0,18	0,35	0,13	0,48
43	51,99	58,91	-2,71	0,32	0,47	0,80	0,38	0,22	0,60
44	46,52	57,73	-4,29	0,36	0,03	0,39	0,35	0,17	0,52
45	46,31	56,26		0,57	0,51	1,08	0,35	0,13	0,48
46	45,00	54,82		0,36	0,24	0,60	0,38	0,14	0,52
47	44,29	53,03		0,24	0,09	0,33	0,39	0,13	0,52
48	40,91	51,46	-1,82	0,46	0,18	0,64	0,35	0,14	0,49
49	40,47	49,80		0,31	0,09	0,40	0,32	0,11	0,43
50	40,67	48,40		0,46	0,46	0,92	0,35	0,12	0,47
51	38,26	46,77	-0,77	1,09	0,47	1,56	0,39	0,16	0,56
52	34,80	45,27	-1,97	0,79	0,28	1,07	0,47	0,17	0,65

Anhang

Fortsetzung Tab. 36

Alter in LW	Legeleistung in % Resthenne	Legeleistung Integrationsstandard in % Resthenne	Legeleistungsrückgang in % zur Vorwoche – Standardrückgang	Wochenverluste Hennen in % Resthenne	Wochenselektion Hennen in % Resthenne	Wochenabgänge Hennen in % Resthenne	Wochenverluste Integrationsstandard Hennen in % Resthenne	Wochenselektion Integrationsstandard Hennen in % Resthenne	Wochenabgänge Integrationsstandard Hennen in % Resthenne
53	34,05	44,11		0,48	0,26	0,73	0,32	0,15	0,46
54	32,49	42,74	-0,18	0,51	0,26	0,77	0,36	0,12	0,48
55	31,58	40,46		0,36	0,23	0,58	0,36	0,30	0,66
56	31,29	38,94		0,19	0,13	0,32	0,41	0,45	0,86
57	33,31	39,28		0,46	0,20	0,65	0,39	0,12	0,51
58	34,04	36,87		0,53	0,33	0,85	0,43	0,23	0,65
59	30,67	35,83	-2,33	0,30	0,17	0,46	0,73	0,32	1,05
Durchschnitt				0,43	0,33	0,76	0,45	0,22	0,67

Anhang

Tab. 37 Produktionsparameter Versuchsherde 4 AAB Stall 3

Alter in LW	Legeleistung in % Resthenne	Legeleistung Integrationsstandard in % Resthenne	Legeleistungsrückgang in % zur Vorwoche – Standardrückgang	Wochenverluste Hennen in % Resthenne	Wochenselektion Hennen in % Resthenne	Wochenabgänge Hennen in % Resthenne	Wochenverluste Integrationsstandard Hennen in % Resthenne	Wochenselektion Integrationsstandard Hennen in % Resthenne	Wochenabgänge Integrationsstandard Hennen in % Resthenne
25	0,51	7,01		0,08	0,10	0,18	0,20	0,21	0,41
26	7,27	23,97		0,26	0,20	0,46	0,42	0,21	0,63
27	24,98	43,57		0,49	0,23	0,72	0,58	0,23	0,80
28	44,29	58,12		0,60	0,05	0,65	0,74	0,24	0,98
29	56,72	66,45		0,71	0,52	1,23	0,66	0,27	0,93
30	63,65	69,43		0,24	0,74	0,98	0,79	0,40	1,19
31	65,26	70,22		0,35	0,72	1,07	0,53	0,46	0,99
32	65,98	69,74		0,62	0,35	0,97	0,71	0,32	1,03
33	65,82	69,85	-0,28	1,12	0,08	1,20	0,48	0,24	0,72
34	65,22	68,95		0,25	0,55	0,80	0,40	0,28	0,68
35	65,02	68,24		0,33	0,67	1,00	0,41	0,29	0,70
36	64,83	67,53		0,25	0,45	0,70	0,40	0,20	0,61
37	63,84	66,56	-0,02	0,20	0,65	0,85	0,39	0,20	0,59
38	62,33	65,46	-0,42	0,28	0,20	0,48	0,35	0,20	0,55
39	61,20	64,35	-0,02	0,40	0,31	0,72	0,41	0,17	0,58
40	61,21	63,17		0,14	0,37	0,52	0,38	0,19	0,56
41	59,88	61,59		0,09	0,00	0,09	0,30	0,22	0,52
42	57,39	60,10	-1,00	0,12	0,00	0,12	0,35	0,13	0,48
43	55,58	58,91	-0,62	0,14	0,00	0,14	0,38	0,22	0,60
44	55,76	57,73		0,12	0,03	0,15	0,35	0,17	0,52
45	53,21	56,26	-1,07	0,23	0,00	0,23	0,35	0,13	0,48
46	48,46	54,82	-3,32	0,67	0,06	0,73	0,38	0,14	0,52
47	47,50	53,03		0,41	0,03	0,44	0,39	0,13	0,52
48	45,73	51,46	-0,21	0,21	0,03	0,24	0,35	0,14	0,49
49	43,95	49,80	-0,12	0,33	0,06	0,38	0,32	0,11	0,43
50	43,57	48,40		0,36	0,18	0,53	0,35	0,12	0,47
51	43,04	46,77		0,48	0,30	0,78	0,39	0,16	0,56
52	38,89	45,27	-2,65	1,21	0,33	1,54	0,47	0,17	0,65

Anhang

Fortsetzung Tab. 37

Alter in LW	Legeleistung in % Resthenne	Legeleistung Integrationsstandard in % Resthenne	Legeleistungsrückgang in % zur Vorwoche – Standardrückgang	Wochenverluste Hennen in % Resthenne	Wochenselektion Hennen in % Resthenne	Wochenabgänge Hennen in % Resthenne	Wochenverluste Integrationsstandard Hennen in % Resthenne	Wochenselektion Integrationsstandard Hennen in % Resthenne	Wochenabgänge Integrationsstandard Hennen in % Resthenne
53	35,31	44,11	-2,42	0,46	0,12	0,58	0,32	0,15	0,46
54	33,69	42,74	-0,25	0,55	0,22	0,77	0,36	0,12	0,48
55	31,19	40,46	-0,22	0,50	0,19	0,68	0,36	0,30	0,66
56	30,32	38,94		0,37	0,37	0,75	0,41	0,45	0,86
57	31,14	39,28		0,38	0,22	0,60	0,39	0,12	0,51
58	32,59	36,87		0,60	0,44	1,05	0,43	0,23	0,65
59	32,69	35,83		0,64	0,45	1,09	0,73	0,32	1,05
Durchschnitt				0,40	0,26	0,67	0,45	0,22	0,67

Anhang

Tab. 38 Produktionsparameter Versuchsherde 4 AAB Stall 4

Alter in LW	Legeleistung in % Resthenne	Legeleistung Integrationsstandard in % Resthenne	Legeleistungsrückgang in % zur Vorwoche – Standardrückgang	Wochenverluste Hennen in % Resthenne	Wochenselektion Hennen in % Resthenne	Wochenabgänge Hennen in % Resthenne	Wochenverluste Integrationsstandard Hennen in % Resthenne	Wochenselektion Integrationsstandard Hennen in % Resthenne	Wochenabgänge Integrationsstandard Hennen in % Resthenne
25	0,55	7,01		0,18	0,15	0,33	0,20	0,21	0,41
26	8,13	23,97		0,31	0,31	0,62	0,42	0,21	0,63
27	25,53	43,57		0,49	0,41	0,90	0,58	0,23	0,80
28	43,24	58,12		0,91	0,16	1,07	0,74	0,24	0,98
29	56,21	66,45		1,11	0,71	1,82	0,66	0,27	0,93
30	64,23	69,43		0,35	1,07	1,42	0,79	0,40	1,19
31	64,97	70,22		0,52	0,82	1,34	0,53	0,46	0,99
32	64,58	69,74		0,97	0,52	1,49	0,71	0,32	1,03
33	64,99	69,85		0,78	0,17	0,95	0,48	0,24	0,72
34	64,73	68,95		0,23	0,54	0,76	0,40	0,28	0,68
35	64,53	68,24		0,17	0,37	0,54	0,41	0,29	0,70
36	63,98	67,53		0,17	0,40	0,57	0,40	0,20	0,61
37	62,50	66,56	-0,51	0,35	0,86	1,21	0,39	0,20	0,59
38	61,41	65,46		0,26	0,15	0,41	0,35	0,20	0,55
39	60,87	64,35		0,41	0,26	0,67	0,41	0,17	0,58
40	60,86	63,17		0,32	0,35	0,68	0,38	0,19	0,56
41	59,08	61,59	-0,20	0,18	0,03	0,21	0,30	0,22	0,52
42	57,82	60,10	0,23	0,21	0,00	0,21	0,35	0,13	0,48
43	56,55	58,91	-0,08	0,12	0,03	0,15	0,38	0,22	0,60
44	55,82	57,73		0,06	0,00	0,06	0,35	0,17	0,52
45	51,96	56,26	-2,39	0,24	0,00	0,24	0,35	0,13	0,48
46	48,46	54,82	-2,07	0,66	0,27	0,93	0,38	0,14	0,52
47	48,74	53,03		0,27	0,12	0,39	0,39	0,13	0,52
48	46,88	51,46	-0,29	0,18	0,03	0,21	0,35	0,14	0,49
49	44,87	49,80	-0,35	0,12	0,03	0,15	0,32	0,11	0,43
50	41,53	48,40	-1,94	0,24	0,12	0,36	0,35	0,12	0,47
51	40,42	46,77		0,40	0,34	0,73	0,39	0,16	0,56
52	37,68	45,27	-1,25	0,96	0,37	1,33	0,47	0,17	0,65

Anhang

Fortsetzung Tab. 38

Alter in LW	Legeleistung in % Resthenne	Legeleistung Integrationsstandard in % Resthenne	Legeleistungsrückgang in % zur Vorwoche – Standardrückgang	Wochenverluste Hennen in % Resthenne	Wochenselektion Hennen in % Resthenne	Wochenabgänge Hennen in % Resthenne	Wochenverluste Integrationsstandard Hennen in % Resthenne	Wochenselektion Integrationsstandard Hennen in % Resthenne	Wochenabgänge Integrationsstandard Hennen in % Resthenne
53	34,25	44,11	-2,26	0,50	0,19	0,69	0,32	0,15	0,46
54	33,33	42,74		0,50	0,00	0,50	0,36	0,12	0,48
55	31,74	40,46		0,44	0,22	0,66	0,36	0,30	0,66
56	30,91	38,94		0,51	0,32	0,83	0,41	0,45	0,86
57	31,60	39,28		0,48	0,10	0,58	0,39	0,12	0,51
58	33,71	36,87		0,39	0,32	0,71	0,43	0,23	0,65
59	34,27	35,83		0,71	0,36	1,07	0,73	0,32	1,05
Durchschnitt				0,42	0,29	0,71	0,45	0,22	0,67

Danksagung:

Herrn Prof. Dr. Dr. H. M. Hafez danke ich für die Überlassung des Dissertationsthemas und der mir stets gewährten wissenschaftlichen und persönlichen Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit.

Weiterhin gilt mein Dank Frau Dr. D. Lüschof für die Einarbeitung in die RT-PCR-Untersuchung, sowie der stets geduldigen und freundlichen Beantwortung aller molekularbiologischen Fachfragen. Frau G. Grotehenn und Frau K. Kelz danke ich für die Einarbeitung und die Unterstützung bei der Durchführung der RT-PCR-Untersuchung.

Meinem Vater, Dr. K. Müller-Molenar danke für die Initiierung dieser Dissertation sowie der tatkräftigen Unterstützung beim Versuchsaufbau, der Beantwortung auftretender Fragen sowie der moralischen Unterstützung bezüglich meiner Dissertation.

Herrn Dr. M. Erler und Frau A. von Heising aus dem Team der tierärztlichen Praxis Dr. K. Müller-Molenar danke ich für die Unterstützung bei den aufwendigen Probenahmen im Rahmen dieser Dissertation.

Mein Dank gilt Frau U. Jander, Mitarbeiterin am Laboratorium der tierärztlichen Praxis Dr. K. Müller-Molenar für die Einarbeitung in die ELISA Technik sowie der freundlichen Unterstützung bei der Durchführung der ELISA-Untersuchung.

Ebenfalls danken möchte ich Herrn Dipl. Stat. F. Lotz aus dem Institut für Biometrie und Informationsverarbeitung für die freundliche Beratung zur statistischen Auswertung dieser Arbeit.

Der Firma Merial und besonders Frau Dr. B. Simon danke ich für die Übernahme der Kosten der RT-PCR-Untersuchung im Rahmen dieser Dissertation.

Der Firma IDEXX und besonders Herrn Dr. Dr. C. Götz danke ich für die kostenlose Bereitstellung der in dieser Arbeit verwendeten ELISA Testkits.

Herrn J. Maschek danke ich für die Bereitstellung aller Produktionsdaten der Versuchsherden in elektronischer Form.

Meinem Partner in der Tierarztpraxis MMT und Schwager Dr. M. Todte danke ich für seinen stetigen Zuspruch, der zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen hat. Besonders bedanken möchte ich mich dafür, dass er mir beim Verfassen dieser Dissertation über lange Zeit den Rücken frei gehalten hat.

Meiner Familie danke ich für die Geduld bei der Durchführung und Fertigstellung dieser Dissertation. Meiner lieben Frau Franziska gilt mein besonderer Dank für das mir entgegengebrachte Verständnis und der seelisch und moralischen Stärkung gerade in den schwierigen Zeiten dieser Promotion.

Selbstständigkeitserklärung:

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

Leipzig, den 01.11.2011

Stefan Müller-Molenar