

Aus dem Institut für Mikrobiologie und Tierseuchen
des Fachbereichs Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin
und dem Zoologischen Garten Berlin AG

**Seroepidemiologische Studie zum
Nachweis von Antikörpern gegen
Coxiella burnetii und *Chlamydophila psittaci*
bei Zootieren und den betreuenden Personen**

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

vorgelegt von
André Schüle
Tierarzt aus Düsseldorf

Berlin 2008

Journal-Nr.: 3219

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Leo Brunnberg
Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Lothar H. Wieler
Zweiter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Karl-Hans Zessin
Dritter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Barbara Kohn

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):

Coxiella burnetii, Chlamydophila psittaci, chlamydophila psittaci(MeSH), zoonoses, ELISA, serological surveys, serology, antibody testing, antibodies, zoo animals, antilope, deer, monkeys, psittacidae, fowls, domestic animals, Rangifer tarandus, Macaca sinica, Rhynchotragus kirki, Gallus gallus.

Tag der Promotion: 16.09.2008

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: 978-3-86664-481-6

Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2008

Dissertation, Freie Universität Berlin

D188

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

© mbv 2008

Nordendstr. 75 - 13156 Berlin – 030-45494866

verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

**Meinen Eltern
in Liebe und Dankbarkeit gewidmet**

1.	Einleitung	1
2.	Literaturübersicht	2
2.1	<i>Coxiella burnetii</i>	2
2.1.1	Erreger	2
2.1.2	Morphologie und Pathogenität	3
2.1.3	Tenazität	4
2.1.4	Epidemiologie	5
2.1.5	Q-Fieber beim Tier	11
2.1.5.1	Klinik	11
2.1.5.2	Pathogenese	13
2.1.5.3	Diagnostik	14
2.1.5.4	Bekämpfung und Therapie	17
2.1.6	Q-Fieber beim Menschen	20
2.1.6.1	Klinik	20
2.1.6.2	Diagnostik	22
2.1.6.3	Therapie	23
2.2	Chlamydien	24
2.2.1	Erreger	24
2.2.2	Morphologie	26
2.2.3	Pathogenität	28
2.2.4	Tenazität	29
2.2.5	Epidemiologie	29
2.2.6	Chlamydien beim Tier	31
2.2.6.1	Klinik	31
2.2.6.2	Pathogenese	34
2.2.6.3	Diagnostik	35
2.2.6.4	Bekämpfung und Therapie	37
2.2.7	Chlamydiosen beim Menschen	38
2.2.7.1	Klinik	39
2.2.7.2	Diagnostik	40
2.2.7.3	Therapie	41

3.	Eigene Untersuchungen	42
3.1	Material und Methoden	42
3.1.1	Herkunft des Untersuchungsmaterials	42
3.1.2	Gewinnung des Untersuchungsmaterials	44
3.1.3	Datenauswertung	44
3.1.4	Angewendete Nachweismethoden	45
3.1.4.1	Nachweis von Antikörpern gegen <i>C. burnetii</i> bei Rentieren, Hutaffen, Dik-Diks und Haustieren mittels <i>C. burnetii</i> -Antikörper-ELISA des CVUA-Stuttgart	45
3.1.4.2	Nachweis von Antikörpern gegen <i>C. psittaci</i> bei Rentieren, Hutaffen, Dik-Diks Hühnern, Haustieren und den Personengruppen mittels <i>C. psittaci</i> -Antikörper-ELISA des CVUA-Stuttgart	53
3.1.4.3	Nachweis von Antikörpern gegen <i>C. psittaci</i> bei Aras mittels <i>C. psittaci</i> -Antikörper-ELISA, RIDASCREEN der Firma r-biopharm	56
3.1.4.4	Beschreibung der unter 4.1. – 4.4. verwendeten Boxplots zur Darstellung der Verteilung der Messergebnisse bei den Tier- und Humangruppen	60
4.	Ergebnisse	61
4.1	Untersuchungen zur Meßgenauigkeit des Testverfahrens (<i>C. burnetii</i> -Antikörper-ELISA) anhand der Coxiellenmeßergebnisse	61
4.2	Vergleich der Mittelwerte der Indexwerte pro Tier über den Untersuchungszeitraum – Coxiellen	62
4.3	Vergleich der mittleren Indexwerte pro Tier über den Untersuchungszeitraum – Chlamydien	63
4.4	Untersuchungen zur Messgenauigkeit des Testverfahrens (<i>C. psittaci</i> -Antikörper ELISA) anhand der Messergebnisse der Humanproben	66
4.5	Ergebnisse der Antikörper-ELISA Untersuchungen	69

4.5.1	Ergebnisse der Untersuchungen mit dem <i>C. burnetii</i> -Antikörper-ELISA aus der Gruppe der Ceylon-Hutaffen	69
4.5.2	Ergebnisse der Untersuchungen mit dem <i>C. burnetii</i> -Antikörper-ELISA aus der Gruppe der Rentiere	72
4.5.3	Ergebnisse der Untersuchungen mit dem <i>C. burnetii</i> -Antikörper-ELISA aus der Gruppe der Kirk Dik-Diks	74
4.5.4	Ergebnisse der Untersuchungen mit dem <i>C. burnetii</i> -Antikörper-ELISA aus der Gruppe der Haustiere	76
4.5.5	Ergebnisse der Untersuchungen mit dem <i>C. psittaci</i> -Antikörper-ELISA aus der Gruppe der Ceylon-Hutaffen	81
4.5.6	Ergebnisse der Untersuchungen mit dem <i>C. psittaci</i> -Antikörper-ELISA aus der Gruppe der Rentiere	83
4.5.7	Ergebnisse der Untersuchungen mit dem <i>C. psittaci</i> -Antikörper-ELISA aus der Gruppe der Kirk Dik-Diks	85
4.5.8	Ergebnisse der Untersuchungen mit dem <i>C. psittaci</i> -Antikörper-ELISA aus der Gruppe der Haustiere	87
4.5.9	Ergebnisse der Untersuchungen mit dem <i>C. psittaci</i> -Antikörper-ELISA aus der Gruppe der Brakelhühner	91
4.5.10	Ergebnisse der Untersuchungen mit dem <i>C. psittaci</i> -Antikörper-ELISA aus der Gruppe der Chabohühner	93
4.5.11	Ergebnisse der Untersuchungen mit dem <i>C. psittaci</i> -Antikörper-ELISA, RIDASCREEN der Firma r-biopharm bei den Aras	95
4.5.12	Ergebnisse der Untersuchungen mit dem <i>C. psittaci</i> -Antikörper-ELISA aus den Gruppen der Menschen	97

5.	Diskussion	100
5.1	Untersuchungen der Tierseren auf <i>C. burnetii</i> -Antikörper	100
5.2	Untersuchungen der Tierseren auf <i>C. psittaci</i> -Antikörper	104
5.3	Untersuchungen der Humanseren auf <i>C. psittaci</i> -Antikörper	110
5.	Zusammenfassung	112
6.	Summary	115
7.	Literaturverzeichnis	118
8.	Anlagen	143

Verzeichnis häufig verwendeter Abkürzungen

AK	:	Antikörper
BGBL	:	Bundesgesetzblatt
BGM	:	Buffalo-Green-Monkey
CAT	:	Capillaragglutinationstest
CCBF	:	Charité Campus Benjamin Franklin
CVUA	:	Chemische und Veterinäruntersuchungsamt
EBL	:	Embryonic-Bovine-Lung
ELISA	:	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
EK	:	Elementarkörperchen
et al	:	et alii (und andere)
FKS	:	fötales Kälberserum
HDPa	:	High-Density Particle Agglutination
IBK	:	infektiöse bovine Keratokonjunktivitis
IfSG	:	Infektionsschutzgesetz
IFT	:	Immunfluoreszenztest
IgA	:	Immunglobulin A
IgG	:	Immunglobulin G
IgM	:	Immunglobulin M
ILAT	:	Institut für Lebensmittel, Arzneimittel und Tierseuchen Berlin
IRS-PCR	:	infrequent restriction site-PCR
KAG	:	Kontrollantigen
KBR	:	Komplementbindungsreaktion
kDa	:	kiloDalton
LCV	:	large-cell variant
LPS	:	Lipopolysaccharid
MAT	:	Mikroagglutinationstest
MLVA	:	multiple loci variable number of tandem repeats analysis
MOMP	:	Major Outer Membran Protein
MST	:	multispacer sequence typing
NK	:	Negativkontrollserum
OD	:	optische Dichte

P	:	Probe
PCR	:	Polymerase-Kettenreaktion
PFGE	:	Pulsfeldgelelektrophorese
PID	:	Pelvic Inflammatory Disease
PK	:	Positivkontrollserum
POMP	:	Polymorphic Outer Membran Protein
PV	:	Parasitophore Vakuole
p. vac.	:	post vaccinationem
QAG	:	<i>C. burnetii</i> -Antigen
RK	:	Retikularkörperchen
RKI	:	Robert-Koch-Institut
SCV	:	small-cell variant
spp	:	Spezies
TRBA	:	Technische Regeln für Biologische Arbeitsstoffe
VNTR	:	variable number of tandem repeats

1. Einleitung

Coxiella (C.) *burnetii* und *Chlamydophila* (C.) *psittaci* sind wichtige Zoonoseerreger, die v.a. in Zootierhaltungen immer wieder zu Epidemien führen. Vorrangiges Ziel des Promotionsvorhabens war es deshalb, unterschiedliche Tierarten (Antilopen, Rentiere, Hutaffen, Aras, Hühnervögel und div. Haustiere) aus dem Berliner Zoo serologisch auf den Antikörperstatus gegenüber *Chlamydiales* und *Coxiella* zu untersuchen. Darüber hinaus wurden, in Zusammenarbeit mit dem zuständigen Betriebsarzt, auch die Tierpfleger serologisch untersucht. Vorhandene Sektionsbefunde der Tiere aus den letzten Jahren wurden in die Arbeit integriert. Die Serumproben wurden mit Hilfe eines Enzymimmuntests (ELISA) auf erregerspezifische Antikörper hin untersucht. Die Ergebnisse sollten zur Aufklärung beitragen, inwieweit die Tiere aus dem Zoologischen Garten Berlin mit diesen Zoonoseerregern in Kontakt getreten, und ob Schwankungen des Antikörpertiters über ein Jahr festzustellen waren. Zur Einschätzung des Infektionsrisikos von Tierpflegern wurden auch diese auf Antikörper gegen *C. psittaci* untersucht.

2. Literaturübersicht

2.1. *Coxiella burnetii*

2.1.1. Erreger

Der Ausdruck „Q-Fieber“ wurde 1937 erstmals von Edward Holbrook DERRICK für eine Fiebererkrankung bei Schlachthofarbeitern in Brisbane, Queensland/Australien verwendet. Der Name „Q-Fieber“ geht auf die zunächst unbekannte Ätiologie (query, engl. = Fragezeichen) zurück. Mit infektiösem Material von DERRICK gelangen BURNETT und FREEMAN (1937) sowohl die Reproduktion der Erkrankung in Meerschweinchen, Mäusen und Affen als auch eine erste Isolierung des Erregers. Aufgrund seiner Rickettsiennatur wurde der Erreger zunächst *Rickettsia burnetii* benannt.

Unabhängig von den Arbeiten von BURNETT und FREEMAN isolierten DAVIS und COX (1938) aus Zecken ein „filtrierbares Agens“, das sowohl Merkmale von Viren als auch von Rickettsien aufwies.

Als sich herausstellte, dass beide Gruppen unabhängig voneinander den gleichen Erreger isoliert hatten, und sich zeigte, dass dieser sich in wichtigen Merkmalen von den Rickettsien unterschied, entstand die neue Gattung, *Coxiella*, mit der Spezies *Coxiella burnetii*. Mit dieser Bezeichnung gelang sowohl die Würdigung von COX, als auch von BURNETT, die den Erreger des Q-Fiebers als neue Rickettsien-Spezies identifiziert hatten (MAURIN und RAULT, 1999).

Nach Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (1984) gilt für den Erreger folgende Nomenklatur:

Ordnung:	<i>Rickettsiales</i>
Familie:	<i>Rickettsiaceae</i>
Gattung:	<i>Coxiella</i>
Spezies:	<i>Coxiella burnetii</i>

2.1.2 Morphologie und Pathogenität

C. burnetii ist ein kleines gram-negatives Bakterium, das mit einer Länge von ca. 0,2-1,0 μm und einer Breite von ca. 0,15-0,4 μm zu den kleinsten Rickettsien gehört. Die Pleomorphie wird durch das Auftreten des Erregers in kokkoider, stäbchen- und lanzettförmiger Gestalt deutlich (SCHLIESSER und KRAUSS, 1982).

C. burnetii ist ein typischer obligat intrazellulärer Erreger, der sich nur innerhalb lebender Zellen vermehren kann (SCHLIESSER, 1991), beispielsweise in Phagolysosomen mononukleärer Zellen (Phagozyten), in Epithelzellen des Uterus, Zellkulturen oder im Dottersack embryonierter Hühnereier. Für die Unterscheidung der zwei existierenden morphologischen Formen von *C. burnetii* in infizierten Zellen haben McCAUL und WILLIAMS (1981) die Bezeichnung „small-cell variant“ (SCV) und „large-cell variant“ (LCV) vorgeschlagen. SCVs sind stoffwechsellinaktiv, widerstandsfähig gegenüber osmotischem Druck und stellen die extrazelluläre Form des Bakteriums dar. Durch Endozytose gelangt dieser Erreger in die Wirtszelle, wo er sich in Vakuolen bei pH-Werten von 4,7-5,2 durch Teilung vermehrt (MAURIN et al., 1992). Das saure Milieu benötigt die SCVs zur Aktivierung des Stoffwechsels und zur Transformation in die LCVs, der stoffwechselaktiven intrazellulären Form von *C. burnetii* (MAURIN und RAULT, 1999). Diese größere Form des Erregers wird heute als Lysosomen-ähnliche „Parasitophore Vakuole“ (PV) bezeichnet. Die kleinen (204 x 450 nm) und großen (150-500 x 500-1000 nm) Varianten des Erregers, sowie die aus den PVn entstehenden „sporenähnlichen Partikel“, können dann nach Zerfall einer infizierten Zelle oder Exozytose wieder eine neue Zelle infizieren (SCHLIESSER, 1991; VOTH und HEINZEN, 2007).

Anders als die Rickettsien, die der alpha-1-Untergruppe der Proteobakterien zugeordnet werden, konnte *C. burnetii* durch Vergleiche von Gensequenzen der 16S rRNA in die gamma-Untergruppe dieser Familie eingeteilt werden, der auch *Rickettsiella grylli*, *Legionella* spp. und *Francisella* spp. angehören (WEISSBURG et al., 1989; MOLLET et al., 1998).

Ein weiteres Charakteristikum von *C. burnetii*, das erstmalig von STOCKER (1953) und STOCKER und Fiset (1956) beschrieben wurde, ist die sogenannte Phasenvariation. *C. burnetii* besitzt zwei Hauptantigene, von denen das Phase 1-Antigen an der Oberfläche, das Phase 2-Antigen darunter lokalisiert ist. Die Phase 1-Form besitzt in der Zelloberfläche ein stark verzweigtes Lipopolysaccharid (LPS), während die darunter liegende Phase 2-Form ein nur gering verzweigtes LPS aufweist. Das Phase 2-Antigen ist, im Unterschied zum Phase 1-Antigen, welches sich einer komplementvermittelten Neutralisation durch Serumantikörper

weitgehend entzieht, in der Lage, Komplement über den Alternativweg zu aktivieren (SCHMEER, 1988).

Im empfänglichen Wirt (Mensch, Tier) liegt der Erreger in der Phase 1 vor. Erst im Labor geht die Phase 1 durch Langzeitvermehrung in Zellkulturen oder durch Vermehrung des Erregers im bebrüteten Hühnerei in die wenig infektiöse Phase 2 über. Dieser Vorgang, den HACKSTADT (1990) mit der Variation zwischen „glatten“ und „rauen“ Wuchsformen bei gramnegativen Bakterien verglich, ist reversibel.

Neuere Ergebnisse des Teams um HOTTA et al. (2002) führten zu einer weiteren Differenzierung der Stadien von *C. burnetii* während der Phasenvariation. Sie konnten durch Analysen der Antigenveränderungen von *C. burnetii* mittels monoklonaler Antikörper gegen Lipopolysaccharide vier antigenetische Formen während der Phasenvariation feststellen. Durch weitere Untersuchungen wurde eine immunologische Unterteilung unterschiedlicher *Coxiella burnetii*-Isolate in zwei Gruppen möglich (HOTTA et al., 2003).

Eine weitere Unterscheidung verschiedener *C. burnetii*-Stämme gelang HEINZEN et al. (1990). Er identifizierte mittels Pulsfeldgelelektrophorese (PFGE) vier genomische Gruppen des Erregers und zeigte auf, dass die Pathogenität der Stämme in einem engen Zusammenhang mit den Plasmid- und Lipopolysaccharidmustern steht.

Dass wiederum die Virulenz des Erregers nicht im Zusammenhang mit einem bestimmten Plasmidtyp steht, sondern ein Coxiellenstamm in der Lage ist, sowohl akute, als auch chronische Infektionen auszulösen, macht die Abhängigkeit des Krankheitsverlaufes vom Wirt deutlich (THIELE et al., 1994).

2.1.3 Tenazität

Begünstigt wird die Verbreitung von *C. burnetii* durch die im Vergleich zu anderen Rickettsien oder zu vegetativen Formen von Bakterien außerordentliche Tenazität des Erregers (KRAUSS und WEBER, 1975). Erst Temperaturen von über 70 °C führen zu einer raschen Inaktivierung von *Coxiella burnetii*, wie es z.B. bei der üblichen Kurzzeitpasteurisierung von Milch der Fall ist (SCHAAL, 1972). Infektionen mit erregerrhaltigem Trägermaterial, wie Staub, Kot oder Tierhaar, ermöglichen nicht nur den Erhalt der Infektiösität des Erregers über mehrere Jahre und bei Temperaturen von bis zu –

20°C (SPROCKHOFF, 1980), sondern sie stellen auch die wichtigste Übertragungsart und die Grundlage für das epidemische Auftreten der Krankheit bei Mensch und Tier dar.

Diese bemerkenswerte Widerstandsfähigkeit gegen Umwelteinflüsse physikalischer und chemischer Art fasste SCHLIESSER (1991) in der folgenden Tabelle zusammen:

Tab. 1: Tenazität von <i>Coxiella burnetii</i> nach SCHLIESSER (1991)				
Art und Beschaffenheit des Milieus			Überlebensdauer	
Blut und Organe (nativ)		bei 3 °C	3-12	Wochen
Blut und Harn (getrocknet)		bei 20 °C	2	Wochen
Organe		bei 32 °C	49-182	Tage
Wasser		bei 20 °C	160	Tage
Milch		bei 4-6 °C	90-273	Tage
Butter, Weichkäse		bei 20 °C	42	Tage
Staub und Wolle (trocken)		bei 4 °C	1-2	Jahre
		bei 20 °C	7-9	Monate
Zeckenkot (trocken)		bei 4 °C	1-2	Jahre
Desinfektionsmittel				
Formalin	1	%	24-48	Stunden
NaOH	0,5	%	6	Stunden
	3	%	5	Minuten
Chloramin	3	%	1-5	Minuten
Chlorkalk	2	%	1-5	Minuten
Phenol	2	%	24	Stunden
Tenside	2	%	24-48	Stunden

2.1.4 Epidemiologie

C. burnetii ist ein nahezu weltweit verbreiteter Erreger (THIEL, 1974) und die durch ihn hervorgerufene Erkrankung zählt zu den klassischen Zoonosen (SCHÖPF, KHASCHABI, DACKAU, 1991). Neuseeland bildet als einziges Q-Fieber-freies Land die Ausnahme (CUTLER et al., 2007). Nach dem Infektionsschutzgesetz (IfSG) unterliegt die Q-Fieber-Erkrankung beim Menschen der Meldepflicht. Das sehr breite Wirtsspektrum umfasst neben

dem Menschen auch kalt- und warmblütige Tiere, Haus- und Wildtiere, Vögel und Arthropoden (SCHLIESSER, 1991).

Vor allem den Zecken, die lebenslang infiziert bleiben und den Erreger auch transstadial und transovarial auf ihre Nachkommenschaft übertragen, kommt eine große Bedeutung zu (SCHÖPF et al., 1991). Die Infektion der Zecken selbst geschieht beim Saugakt an einem infizierten bakteriämischen Warmblüter (MARRIE, 1990). Sie sind zum einen Reservoir für Infektionen freilebender Vertebraten und bilden Naturherde, zum anderen bilden sie das Bindeglied in der Infektionskette bei der Übertragung von *C. burnetii* auf Haustiere und den Menschen. Für diesen Infektionsweg, den COX schon im Jahre 1940 nachweisen konnte, ist jedoch weniger der Saugakt der Zecke verantwortlich, als vielmehr die Staubinfektion mit erregerhaltigem Zeckenkot. In diesem können sich bis zu 10^{12} Coxiellen/g befinden (SCHLIESSER und KRAUSS, 1982). Der Zecke *Dermacentor marginatus* kommt nach LIEBISCH (1978) als Reservoir und Vektor die Hauptbedeutung in Mitteleuropa zu. Doch auch Zecken anderer Gattungen, wie *Rhipicephalus*, *Ixodes* und *Hyalomma* wurden als Vektor beschrieben (THIEL, 1974; SCHAAL, 1985). Darüber hinaus zeigte sich bei Laborinfektionen eine deutliche Zunahme der Virulenz der Coxiellen durch die Zeckenpassage, wodurch die Aufrechterhaltung des Infektionszyklus gewährleistet wird. (WEYER, 1950; BALASHOV, 1972).

Eine Verbreitung der Coxiellen ist jedoch nicht nur durch die Zecken gegeben (SCHAAL und SCHÄFER, 1984). Auch zeckenunabhängige Infektionszyklen bei landwirtschaftlichen Nutztieren (vorwiegend Wiederkäuern), Hunden und Katzen rufen eine Erregerübertragung von Tier zu Tier hervor. SCHAAL (1985) beschrieb, dass es gerade in den Anfangsstadien einer Infektion mit *Coxiella burnetii* zur Besiedelung fast aller Körperparenchyme kommt, die eine Erregerausscheidung in Speichel, Milch, Kot, Harn und in besonders großen Mengen in Fruchtwasser, Lochialflüssigkeit und Eihäuten nach sich zieht. So stellen gerade die Folgen von Q-Fieber-Infektionen der Wiederkäuer, wie Aborte, Frühgeburten und Folgeerkrankungen, ein sehr großes Infektionsrisiko dar. Die Untersuchungen von RODOLAKIS et al. (2006) zeigten Unterschiede der Erregerausscheidung bei Wiederkäuern. So wurde eine *Coxiella burnetii*-Ausscheidung bei den untersuchten Kühen und Ziegen fast ausschließlich über die Milch festgestellt, wohingegen bei den Schafen die ausgeschiedenen Bakterien in Kot und Vaginalflüssigkeit gefunden wurden. Organbesiedelung und Ausscheidung von Coxiellen sind nicht nur die Ursache für endemische Krankheitsgeschehen in Tierbeständen, sondern bilden auch eine Quelle für auftretende Erkrankungen beim **Menschen**.

Obschon Schadnagern eine wichtige Rolle als Reservoir der Erreger unterstellt wird, so sind es doch nachweislich meistens Haustiere wie Rinder, Schafe und Ziegen, die die Ursache für menschliche Infektionen darstellen. KIMMIG und ZÖLLNER (1998) beschrieben eine in Freiburg 1998 aufgetretene Q-Fieber-Epidemie, deren Ursprung in einer Wanderschafherde auf einem Flugplatz gesehen wurde und die 101 gemeldete Krankheitsfälle zur Folge hatte.

Weitere Q-Fieber-Ausbrüche wurden vom Robert-Koch-Institut (RKI) beschrieben, wie die Fälle im Hochsauerland und Nordhessen in den Jahren 2000/2001. Als wahrscheinliche Infektionsquelle für insgesamt 68 klinisch erkrankte Personen wurden durch veterinärmedizinische Blutuntersuchungen mehrere Schafherden identifiziert (RKI, 2001). Auch der große Q-Fieber-Ausbruch in Jena im Jahr 2005 nahm seinen Ursprung in einer Schafherde, die in unmittelbarer Nähe eines Wohngebiets weidete. 331 Fälle konnten als diesem Q-Fieber-Ausbruch zugehörig identifiziert werden. 160 davon wurden durch den Labornachweis bestätigt, 171 erfüllten die Kriterien eines wahrscheinlichen Falles (RKI, 2006).

Bereits im Jahre 1974 wurde über epidemiologische Untersuchungen anlässlich einer Q-Fieber-Endemie unter der Bevölkerung des Raumes Simmerath/Kesternich (Eifel) berichtet. Durch eingehende Untersuchungen war es in diesem Fall gelungen, die Infektionsursache der menschlichen Erkrankungsfälle in einem latent infizierten, uterin den Erreger beherbergenden Schaf nachzuweisen. Der sich über Monate erstreckende, wellenförmige Infektionsverlauf unter der Bevölkerung war letztlich auf ein einzelnes, massives Ereignis anlässlich des Partus eines Schafes zurückzuführen (SCHAAL und GOETZ, 1974).

Durch die seroepidemiologischen Untersuchungen von FROST und HENGST (1993) unter Verwendung der KBR und eines ELISA-Tests bei Personengruppen in Süd- und Mittelhessen wurde die Verbreitung von Antikörpern gegen *C. burnetii* in diesen Regionen ermittelt. Von den 1.208 untersuchten Blutseren aus medizinischen Einrichtungen wurden zwischen 16,2% und 56,6% als positiv erkannt, wobei die Proben der Patientengruppen mit vermehrten Tierkontakten deutlich höhere Reaktionsraten zeigten, als das unselektierte Patientenkollektiv. Die Autoren schließen daraus auf eine deutlich stärkere Verbreitung des Q-Fieber-Erregers als bislang angenommen.

Auch die in der Zeit von 1983 – 1990 im Thüringer Becken serologisch untersuchten 767 Blutproben von beruflich exponierten Personengruppen ergaben ein ähnliches Bild. Mit 14,3% befanden sich die meisten Q-Fieber-Reagenten unter den Tierpflegern aus Tierlaboren und – kliniken (LANGE und HUNSTOCK, 1993).

Untersuchungen aus der Schweiz zeigten, dass die dortigen Tierärzte bis zu 25% seropositiv reagierten. Von den untersuchten Tieren wiesen die Schafe einen Durchseuchungsgrad von 3,9%, die Rinder von 6,6% und die Hunde sogar von 31,4% auf (METZLER et al., 1983).

Die umfangreichen Untersuchungen von SCHMEER (1988) brachten weitere epidemiologische Erkenntnisse. Von Blutspendern aus ganz Deutschland gelangten 1.611 Seren zur Untersuchung, deren Untersuchung eine Seroprävalenz von 22% ergaben. Bei 47% der Patienten, die mit einem ätiologisch unklaren Fieber vorgestellt wurden, konnten Antikörper gegen *C. burnetii* festgestellt werden. Die höchste Prozentzahl an positiven Reagenten wurde auch bei dieser Studie unter den beruflich exponierten Personen, wie Landwirten, Tierärzten und Laborpersonal festgemacht. In dieser Personengruppe zeigten 65% der mittels ELISA untersuchten Seren eine positive Reaktion.

Eine weitere Studie sollte Aufschluß über die Häufigkeit von Zoonosen bei Farmern aus Nordirland bringen. Hierzu wurden willkürlich 510 Landwirte ausgewählt und deren Blutproben dann auf unterschiedliche Zoonosen untersucht. Es konnten bei 28% der Farmer Antikörper gegen *C. burnetii* festgestellt werden, womit die bereits im Jahre 1968 in Nordirland durchgeführten Untersuchungen (23% der Farmer waren Q-Fieber positiv) annähernd bestätigt wurden (STANFORD et al., 1990).

Einen Überblick zur Q-Fieber-Epidemiologie in den Vereinigten Staaten gaben Mc QUISTON und CHILDS (2002). Von den 1.396 in den Jahren 1948-1986 gemeldeten menschlichen Infektionen fanden sich wieder die meisten Fälle unter den beruflich exponierten Personen. Hierbei wurden Schafe am häufigsten als mögliche Infektionsursache beschrieben. Unter den Tieren konnte jedoch eine signifikant höhere Seroprävalenz (41,6%) bei Ziegen gegenüber Schafen (16,5%) oder Rindern (3,4%) ausgemacht werden. Antikörper gegen *C. burnetii* ließen sich auch bei einer größeren Anzahl unterschiedlicher Wildtierarten nachweisen. Dies brachte die Autoren zu dem Schluss, dass *C. burnetii* enzootisch unter den Wiederkäuern und Wildtieren in Amerika zu finden ist, und damit der Mensch diesem Erreger auf vielfältige Art und Weise ausgesetzt ist.

Seroepidemiologische Untersuchungen haben gezeigt, dass in Marokko 18,3%, in Tunesien 26% (OMEZZINE-LETAIFE et al., 1995), in Zimbabwe 37% (KELLY et al., 1993), in Nigeria 44% (BLONDEAU et al., 1990), in Nordost Afrika 10 bis 37% und in unterschiedlichen Gegenden Kanadas 14,6 bis 36,6% (MARRIE T. J., POLLAK, P. T., 1995; MARRIE T. J., YATES L., 1990) der Blutspender Antikörper gegen *Coxiella burnetii* besitzen.

Andere Autoren, wie MADARIAGA et al. (2003), sahen das von *Coxiella burnetii* ausgehende Gefahrenpotential auf einer anderen Ebene. Durch seine Qualitäten und die Möglichkeit *C. burnetii* in größeren Mengen labortechnisch herzustellen, beschreiben sie das Potenzial des Erregers zum Einsatz als biologische Waffe.

Aus 105 Milchviehbetrieben mit Fortpflanzungsstörungen wurden 1.167 Milchkühe auf Ausscheidungen von *Coxiella burnetii* über das Genitale untersucht. Dies, und die serologischen Untersuchungen dieser Tiere mittels ELISA ergaben, dass *C. burnetii*-Infektionen signifikant mit Aborten assoziiert sind, nicht aber mit mehrfach erfolglos durchgeführten Besamungen oder Vaginalausfluss. Darüber hinaus machte die Gruppe um STING et al. (2002) Aussagen über ein erhöhtes Infektionsrisiko für Personen, die diese Betriebe betreuten, durch die Auswertung von 253 serologischen Untersuchungen. Die Untersuchungsergebnisse von Landwirten aus Betrieben mit Abortvorkommen oder einer Seroprävalenz ihrer **Kühe** von $\geq 20\%$ verdeutlichten, dass diese Personen im Vergleich zu Landwirten der Vergleichsgruppe auffallend häufiger positive Reaktionen aufwiesen.

Andere Untersuchungen auf *C. burnetii*-Infektionen des weiblichen Rindes konnten einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Infektionsstatus eines Bestandes und der Bestandsgröße nachweisen (WITTENBRINK et al., 1993), d.h. große Tierbestände sind häufiger infiziert als kleine Tierbestände.

Eine gesteigerte Erregerübertragung von Rind zu Rind ist für *C. burnetii* zudem bei ausschließlich oder zeitweise in Ställen gehaltenen Tieren im Vergleich zur ganzjährigen Freilandhaltung beschrieben (CAPUANO et al., 2001).

In seinen Ausarbeitungen zur Epidemiologie und Bedeutung des Q-Fiebers bei Tieren wollte SCHLIESSER (1990) den Verdacht einer generellen Zunahme der Infektionsprävalenz und der Ausbreitungstendenz des Q-Fiebers bei Nutztieren in der Bundesrepublik Deutschland widerlegen. Der Autor sah den Grund für die „alarmierend“ neueren Prävalenzraten in der höheren Empfindlichkeit der Untersuchungsmethoden und kam zu dem Schluss, dass Q-Fieber-Infektionen immer schon stärker verbreitet waren, als es bisherige serodiagnostische Untersuchungen aufzeigen konnten. Für epidemiologisch beachtenswert war laut SCHLIESSER (1990) auch die Zunahme der direkten Übertragung von *C. burnetii* von Tier zu Tier, d. h. eines zecken-unabhängigen Infektionszyklus.

Im Winter 1982/83 wurden 3.200 Blutproben aus 591 Rinderbeständen aus dem gesamten Bundesland Hessen serologisch auf Antikörper gegen *C. burnetii* untersucht. 428, d.h. 13,4% der untersuchten Seren, zeigten ein positives Ergebnis.

KHASCHABI und BRANDSTÄTTER (1994) untersuchten 435 Schafbestände in Tirol und konnten eine Seroprävalenz von 11% feststellen. Insgesamt wurden 1.026 **Schafe** der Rassen Bergschaf und Steinschaf getestet. Bei lediglich 61 (6%) Tieren wurden Antikörper gegen *C. burnetii* gefunden, wobei ausschließlich in der Gruppe der Bergschafe positive Reagenten festgestellt wurden. Die Autoren vermuteten daher eine geringe Durchseuchung der Tiroler Schafzucht.

Bemüht um ein Screening zur Prävalenz von Antikörpern gegen *C. burnetii* und der Präsenz des Erregers selbst, wurden in Japan umfangreiche Untersuchungen sowohl an domestizierten **Vögeln**, als auch an der einheimischen Wildvogelpopulation durchgeführt (TO et al., 1998). Serologisch wurden Antikörper gegen *C. burnetii* bei 41 (2%) von 1.951 domestizierten Vögeln gefunden. Von 863 Wildvögeln fand man bei 167 (19%) Antikörper mittels des verwendeten Microagglutinationstests. Bei 17 (41%) der 41 serologisch positiven Hausvögel und 37 (22%) der 167 serologisch positiven Wildvögel konnte mit der PCR der Erreger selbst auffindig gemacht werden.

Das Team um KOMIYA (2003) zeigte mit seinen Untersuchungen an Hauskatzen in Japan und Korea und an verwilderten streunenden **Katzen** in Japan signifikante Unterschiede in der Seroprävalenz von *Coxiella burnetii*-Infektionen. 14,2% der Hauskatzen aus Japan und 8,6% der Hauskatzen aus Korea reagierten bei den Untersuchungen seropositiv. Die deutlich höhere Rate der serologisch positiven Tiere unter den streunenden Katzen (41,7%), führten KOMIYA et al. (2003) zu dem Schluss, dass gerade diese als wichtige Quelle von Q-Fieber-Infektionen für den Menschen anzusehen sind.

In Kanada wiesen 6 – 20% der Katzen Antikörper gegen *C. burnetii* auf (HIGGINS und MARRIE, 1990).

Während einer Zeitspanne von 5 Jahren konnten VEST et al. (1965) in West-Utah Proben von 16.382 **Wildtieren** unterschiedlichster Arten auf diverse Erkrankungen hin untersuchen. Hierbei zeigte sich, dass 1367 untersuchte Tiere aus 19 Arten seropositiv auf Q-Fieber reagierten.

Im Jahre 1997 kam es bei einer in der Nähe von Stuttgart liegenden Damwildfarm - mit einem Tierbestand von 71 Tieren - zu gehäuften Aborten, Missbildungen der Feten und erhöhter Jungtiersterblichkeit. 50% der erwarteten Jungtiere (34 Tiere) starben zu dieser Zeit. Serologische Verlaufsuntersuchungen zeigten hohe Antikörperspiegel gegen *C. burnetii*. Der Antigennachweis, also die Coxiellose, konnte durch weitere Untersuchungen gesichert werden. In diesem Zusammenhang kam es bei 12 von 13 Kontaktpersonen zu einer Coxiellen-Infektion (KIMMIG et al., 1997).

Eine chronisch verlaufende Q-Fieber-Infektion bei einem Moschusochsen war der Grund für eine Untersuchung über die Verbreitung dieser Infektion bei Huftieren in Zoos (SCHRÖDER, 1998). Bei rund 13% von 469 mit Hilfe der Mikro-KBR untersuchten Huftiere aus tiergärtnerischen Einrichtungen konnten Antikörper gegen *Coxiella burnetii* nachgewiesen werden. Aus seinen Untersuchungen zog SCHRÖDER (1998) die Schlussfolgerung, dass bei Huftieren in tiergärtnerischen Einrichtungen mit dem Vorkommen von latenten Q-Fieber-Infektionen gerechnet werden muss. Diese können in Belastungssituationen zum Ausbruch kommen.

2.1.5 Q-Fieber beim Tier

2.1.5.1 Klinik

Bei Haustieren verläuft die Infektion in der Regel nur mit geringen, uncharakteristischen Symptomen, die häufig übersehen werden. Sie kann inapparent verlaufen, bei apparentem Verlauf jedoch zu hohem Fieber, Aborten, Frühgeburten und zur Geburt lebensschwacher Jungtiere führen. Coxiellen-Infektionen bei Kühen werden von zahlreichen Autoren zunehmend mit zum Teil enzootisch auftretenden Fruchtbarkeitsstörungen (Metritiden, Nachgeburtsverhaltung und häufigem Umrindern) in Zusammenhang gebracht (COCHE, 1980; GOUVERNEUR et al., 1984; HENNER et al., 1977; HOUWERS und RICHARDUS, 1987; LOTTHAMMER et al., 1987; ROTH und BAUER, 1986). Neben diesen häufigeren klinischen Bildern kommt es bei Wiederkäuern auch zu Lungenentzündungen, Konjunktivitis oder Hepatitis (TISSOT-DUPONT und RAOULT, 1993). Nach einer bakteriämischen Phase lokalisiert sich der Erreger beim Tier vor allem in den Reproduktionsorganen und im Euter, weshalb er beim Geburtsvorgang massenhaft ausgeschieden wird (KRAUSS und WEBER, 1975; SCHAAL, 1983). Bei plötzlich auftretenden Aborten bei Wiederkäuern sollte daher differentialdiagnostisch immer an Q-Fieber gedacht werden. Nach Fehlgeburten kommt es in besonderem Ausmaße zur Erregerverbreitung, jedoch wird *Coxiella burnetii* auch über den Harn und die Milch ausgeschieden. Zu einer mehr oder weniger langen Coxiellenausscheidung kommt es nicht nur bei den klinischen Verlaufsformen der Erkrankung. Auch bei den sehr viel häufigeren klinisch inapparenten latenten Verlaufsformen ist damit zu rechnen (SCHLIESSER und KRAUSS, 1982; SCHLIESSER, 1991). SCHAAL

(1977) lieferte mit seinen Untersuchungen nähere Aufschlüsse über die Organbesiedelung und Erregerausscheidung. So konnte er eine bemerkenswert hohe Manifestationsquote der Erreger im Eutergewebe des Rindes aufzeigen, die zu einer über 1 Jahr andauernden, latenten Erregerausscheidung führen kann. Weiterhin zeigte sich, dass im chronischen Infektionsstadium beim Rind oftmals der Uterus nicht oder nicht mehr besiedelt ist und damit auch die Häufigkeit puerperaler Ausscheidungen von Coxiellen bei Geburten abnimmt. SCHAAL (1977) wies in seinen Untersuchungen außerdem auf einen deutlichen Unterschied in der Organbesiedlung zwischen Rind und Schaf hin. Während beim Rind vor allem im Eutergewebe und in den Lymphknoten mit einer relativ langen Persistenz zu rechnen ist, sind beim Schaf die Coxiellen schon nach relativ kurzer Zeit nicht mehr nachweisbar. Beim Schaf beschränkt sich die Ausscheidungsdauer auf wenige Wochen nach einer Infektion oder einem infizierten Abort (SCHAAL und GOETZ, 1974). Nach den Untersuchungsergebnissen von SCHÖPF et al. (1991) ist bei der Q-Fieber-Infektion von Ziege und Rind mit einer längeren Ausscheidung des Erregers über die Milch zu rechnen. Infektionen mit *C. burnetii* führen in Schafherden zu seuchenhaftem Verlammen und Geburten von lebensschwachen Lämmern. Auch Polyarthritiden bei Lämmern wurden beschrieben (WALDHAM et al., 1978; POLYDOROU, 1981). Nach gehäuftem Auftreten von Aborten in Ziegen- oder Schafherden ist jedoch ursächlich immer auch an eine Chlamydien- und Coxiellen-Mischinfektion zu denken (SCHÖPF et al., 1991; WEBER, 1991; BOSTEDT und DEDIÉ, 1996; STING et al., 1997).

Einen weiteren Beitrag zum Q-Fieber der Ziegen lieferten ARRICAU-BOUVERY et al. (2003). Sie infizierten drei Gruppen von Ziegen am 90. Trächtigkeitstag mit unterschiedlichen Konzentrationen (10^8 , 10^6 und 10^4 infektiöse Dosen) des Erregers, um die Coxiellen-Ausscheidung zu untersuchen. Es kam unabhängig von der eingesetzten Erregermenge bei allen Ziegen zum Abort. *C. burnetii* konnte mittels PCR und Immunfluoreszenztests in allen Plazenten und in diversen Organen in wenigstens einem Fetus pro Ziege nachgewiesen werden. Alle Ziegen schieden das Bakterium bis zu 14 Tagen nach dem Abort mit dem Vaginalausfluss aus. In den gewonnenen Milchproben wurde es bis zu 52 Tagen nach dem Abort festgestellt. Alle Tiere schieden die Coxiellen nach dem Abort aus, einige wenige Ziegen schon kurz vor dem Abort.

GOUVERNEUR et al. (1984) und später WITTENBRINK et al. (1993) konnten in ihren Untersuchungen einen direkten Zusammenhang zwischen der Anzahl der Tiere eines Bestandes und der Höhe der Infektionsrate mit *C. burnetii* aufzeigen.

LOTTHAMMER et al. (1987) wiesen darüber hinaus auf eine höhere Seroreagentenanzahl unter den Tieren einer Gruppe hin, die ausschließlich im Stall gehalten wurden, im Gegensatz zu den Tieren mit regelmäßigem Weidegang.

Berichte über natürlich vorkommende *C. burnetii*-Infektionen beim Fleischfresser sind selten. Klinische Symptome bei Hund und Katze sind Fieber, Bronchopneumonie und Milzvergrößerung. Meist verläuft die Infektion bei diesen Tieren jedoch inapparent (SCHOOP, 1953; REUSSE, 1960; WERTH, 1989).

2.1.5.2 Pathogenese

Die Infektion mit *C. burnetii* verläuft beim Tier unter dem Bild einer zyklischen Infektionskrankheit mit Inkubation, Generalisation, Organmanifestation und ggfls. Immunität (SCHAAL, 1977 und 1982). Sowohl beim Tier als auch beim Menschen wird der aerogenen Erregeraufnahme - über Staub- und Tröpfcheninfektion - die höchste Bedeutung beigemessen. Nach erfolgter Infektion und erster Vermehrung des Erregers im lymphatischen Rachenring schließt sich die hämatogene Verbreitung an unterschiedliche Stellen im Organismus, wie Euter, Euterlymphknoten, Uterus, Milz, Leber, Niere und Knochenmark, an. Während dieser Bakteriämie kann der Erreger über alle Se- und Exkrete ausgeschieden werden (SCHNEIDAWIND, 1979). Der starke Tropismus von *C. burnetii* zum weiblichen Geschlechtsapparat führt zu einer fast regelmäßigen Besiedelung des graviden Uterus, wo eine Vermehrung im Epithel der Kotyledonen stattfindet. Die Folgen können verfrühte Geburten oder Spätaborte sein, die beide - auf Grund sehr hoher Keimzahlen in Fruchtwasser, Plazenta und Lochialsekret von bis zu 10^9 Coxiellen/g - in der Zeit des Partus und des Puerperiums einen verstärkten Infektionsdruck auf die Umgebung darstellen (HUEBNER und BELL, 1951).

Für SCHAAL (1982 und 1985) stellt das Euter des Rindes das Prädilektionsorgan für Coxiellen dar. Bei seinen Studien konnte er bei Q-Fieber-infizierten Kühen bei 83 von 97 Tieren (87 %) eine Ausscheidung des Erregers über die Milchdrüse nachweisen. Dass diese Besiedelung lymphohämatogen erfolgt, belegte SCHAAL (1982 und 1985) durch das Ergebnis von 21 der von ihm untersuchten Kühe. Bei 67 % der Tiere wurden Erreger in den supramammären Lymphknoten gefunden, das milchproduzierende Eutergewebe selbst war jedoch nur bei 57 % der Kühe erregerhaltig. Die Erregerausscheidung mit der Milch erfolgte kontinuierlich oder intermittierend über Monate bis Jahre (GRIEST, 1959; LUOTO, 1959;

SCHAAF, 1961; BECHT und HESS, 1964; SCHLEINZER, 1992). Intermittierende Ausscheidungen erklärte SCHAAL (1982) mit dem zeitweiligen Rückzug des Erregers aus dem Euterparenchym. Die Menge an Coxiellen in positiven Milchproben lag bei 50 % der Fälle bei 10^3 bis 10^5 Infektionseinheiten/ml. PARKER und BELL (1948), BABUDIARI (1953) sowie SCHAAL (1982) wiesen darauf hin, dass nicht alle vier Viertel des Euters an der Coxiellenausscheidung beteiligt sein müssen, sondern auch lokale Infektionen einzelner Viertel möglich sind.

2.1.5.3 Diagnostik

Wie oben bereits beschrieben, kann eine Coxiellen-Infektion nicht durch die klinische Untersuchung festgestellt werden. Die klinischen Symptome, die zu dem Verdacht dieser Erkrankung führen, müssen immer durch labordiagnostische Untersuchungsverfahren abgesichert werden. Hierzu stehen sowohl direkte als auch indirekte Erregernachweise zur Verfügung.

Es gibt eine Reihe **direkter Erregernachweise**, die bei positivem Ergebnis eine sichere Aussage über den Infektionsstatus erlauben. Im Untersuchungsmaterial, z.B. in Abstrichen von Plazenta, Fruchtwasser, Uterusschleim oder Nachgeburten, ist durch Anfärbung der Coxiellen mit der GIMENEZ-, STAMP- oder GIEMSA-Färbung der mikroskopische Erregernachweis möglich. Nach KNAB (1979) liegt die Nachweisgrenze bei der mikroskopischen Untersuchung bei $5,8 \times 10^6$ Coxiellen/ml in einer erregerehaltigen Suspension. Die Leistungsfähigkeit des direkten mikroskopischen Erregernachweises lässt sich noch um 1 bis 2 Zehnerpotenzen durch hochtouriges Zentrifugieren steigern (SCHLIESSER und KRAUSS, 1982). Bei chronischen Erkrankungsformen ist der Coxiellen-Gehalt einer Probe meist deutlich reduziert, sodass häufig eine Vermehrung der Erreger Voraussetzung für einen Nachweis ist. Diese Anreicherungen sind durch Passagen des Untersuchungsmaterials im Tier (Meerschweinchen, Maus, Hamster) oder in Zellkulturen möglich. Die inzwischen verfügbaren Alternativmethoden vergleichbarer Sensitivität und Spezifität konnten in der Vergangenheit die erwähnten diagnostischen Tierversuche zunehmend ersetzen.

Eine Behandlung mit einem AK-Konjugat oder mit Auramin ermöglicht die Darstellung des Erregers im Fluoreszenzmikroskop (URBACH und SPRÖSSIG, 1954). SCHMEER et al.

(1987b) verwendeten nach Anzüchtung der Coxiellen in der BGM-Zellkultur die Immunperoxidase-Technik. Nachteile der Zellkulturtechnik sind der hohe apparative und zeitliche Aufwand. Der Vorteil dieser Methode liegt in der Anreicherung des Erregers, die die Voraussetzung zur weiteren Charakterisierung eines Isolates darstellt.

Als eine Alternative zum Direktnachweis von Coxiellen ohne Anzucht wurde ein Capture-ELISA-System zum Nachweis von *C. burnetii* entwickelt. Dieses bietet den Vorteil, auf Tierversuche verzichten und große Probenumfänge einfach untersuchen zu können (THIELE et al., 1992). Als Nachweisgrenze wurden ca. 4×10^6 Coxiellen pro ELISA-Testansatz ermittelt. SIMMERT (1999) gab für ihre Untersuchungen unter Verwendung dieses Testsystems eine Nachweisgrenze von 2×10^5 Coxiellen an.

Durch die Entwicklung einer Polymerase-Kettenreaktion (PCR) zum Nachweis von *C. burnetii* DNA ist es möglich, eine deutlich niedrigere Nachweisgrenze zu erzielen, und so diese diagnostische Lücke zu schließen (THIELE und WILLEMS, 1994; WILLEMS et al., 1993; WILLEMS et al., 1994). WILLEMS et al. (1994) konnten eine PCR etablieren, die den Nachweis von nur einer Coxielle in einem ml Milch ermöglicht. Diese geringe Nachweisempfindlichkeit erfordert ein gut ausgebildetes Personal und stellt hohe Anforderungen an die Laboreinrichtung, was bei einem Einsatz in der Routinediagnostik problematisch sein kann. Mit der PCR lassen sich Coxiellen jedoch nicht nur identifizieren. WILLEMS et al. (1993) fanden heraus, dass die unterschiedliche Plasmidausstattung der Coxiellen eine Differenzierung der Erreger in genomische Gruppen ermöglicht. Diese Differenzierung ist bei der Klärung epidemiologischer Fragestellungen von zentraler Bedeutung.

Eine weitere Differenzierung von *C. burnetii*-Isolaten gelang ARRICAU-BOUVERY et al. (2006) bei dem Vergleich der IRS-PCR (infrequent restriction site-PCR) mit der MLVA (multiple loci variable number of tandem repeats analysis). Bei der MLVA nutzt man Sequenz-Wiederholungen von DNA-Abschnitten, die in einer variierenden Anzahl der einzelnen wiederholten Einheiten (variable number of tandem repeats = VNTR) auftreten. Dieser genetische Fingerabdruck stellt eine weitere molekulare Methode zur Typisierung dar und kann zur Aufklärung epidemischer Geschehen beitragen.

Auch durch das multispacer sequence typing (MST), wie von GLAZUNOVA et al. (2005) beschrieben, gelang eine weitere Differenzierung der *C. burnetii*-Isolate auf molekularer Ebene.

Häufiger als durch direkte Methoden werden Infektionen mit dem Erreger *C. burnetii* durch den **indirekten Erregernachweis** festgestellt. Den unterschiedlichen Verfahren ist der Nachweis von spezifischen Antikörpern im Serum gemein.

Die Komplementbindungsreaktion (KBR) nimmt unter den verschiedenen serologischen Techniken eine Sonderstellung ein, da sie zum einen eine weit verbreitete Routinemethode darstellt und zum anderen von dem OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES (O.I.E.) als das Standardverfahren zur Q-Fieber-Diagnostik geführt wird. In der Regel kommt bei dem Verfahren ein Phase 2-Antigen in der so genannten Kältebindung nach KOLMER und BOERNER (1945) zum Einsatz. Natürlich lassen sich mittels der KBR von allen zu erfassenden Antikörpern nur die komplementbindenden nachweisen, was zur Folge hat, dass dieses Testverfahren wenig sensitiv ist. Allerdings kann mit der KBR ein Hinweis über das Stadium der Erkrankung gegeben werden. Nach einer Infektion mit *C. burnetii* sind komplementbindende Antikörper zwischen dem 7. und 14. Tag im Blut nachweisbar und können hier Monate bis Jahre persistieren (MURPHY und FIELD, 1970; SCHAAL, 1972; DÖLLER, 1995). Eine Unterscheidung dieser frühen so genannten Phase 2-Antikörper von den späteren Phase-1-Antikörpern ist durch eine KBR möglich. Als beweisend für eine Q-Fieber-Infektion gilt ein Anstieg des KBR-Titers in zwei aufeinander folgenden Serumpaaren. Wann ein Titer als positiv zu gelten hat, wird von Autor zu Autor unterschiedlich bewertet. Die Skala der Grenztiter für ein positiv zu bewertendes Tier reicht von 1 : 5 (SCHÄFER, 1983) bis 1 : 40 (ROHJAHN, 1979). Die Mehrzahl der Autoren bewerteten Titer von 1 : 20 als positiv und Titer von 1 : 10 als grenzwertig bzw. fraglich.

Ein weiteres einfaches Verfahren zum schnellen Erkennen von AK-Trägern ist der Capillaragglutinationstest (CAT) nach Luoto (LUOTO, 1953). Bei diesem Test wird Testantigen (*C. burnetii*-Antigen Phase-1) mit Hämatoxilin angefärbt, anschließend mit Blutserum oder Milch vermischt und bei Zimmertemperatur inkubiert. Nach 4 Stunden lässt sich dann ein Reaktionsablauf anhand der Farbveränderungen erkennen. Die Farbintensität der Probe korreliert in etwa mit dem AK-Gehalt, lässt jedoch keine Kontrolle des Titerverlaufes zu. Dieser Test hat sich vor allem in der Bestandsüberwachung zum Nachweis von Antikörpern in Einzel- oder Sammelmilchproben bewährt (SCHAAL, 1982; GOLDHORN, 1985).

Der Mikroagglutinationstest (MAT) stellt eine weitere Möglichkeit zum Nachweis agglutiniertes Antikörper dar, der eine einfache Handhabung sowie den niedrigen Reagenzienverbrauch zum Vorteil hat, allerdings laut SCHMEER (1987) sehr störanfällig (Spontanagglutination) ist.

Ein zur schnellen serologischen Diagnose einer Q-Fieber-Erkrankung beim Menschen entwickelter High-Density Particle Agglutination (HDPa) Test wurde von NGUYEN et al. (1997) zum Einsatz beim Tier überprüft und mit dem MAT verglichen. Durch die Untersuchungen der Seren unterschiedlicher Tiergruppen zeigte sich, dass der HDPa-Test ein geeignetes Hilfsmittel darstellt, um einen Überblick zum epizootischen Geschehen der Coxielleninfektion beim Tier zu erlangen.

SCHLIESSER und KRAUSS (1982) sahen im indirekten Immunfluoreszenztest (IFT) eine weitere einfach zu praktizierende Möglichkeit, Antikörper nachzuweisen. Doch auch dieser Test zeichnet sich durch eine nur geringe Sensitivität aus. Eine Auswertung muss wegen der abnehmenden Fluoreszenz unter UV-Bestrahlung rasch erfolgen. Darüber hinaus wiesen FIELD et al. (1983) darauf hin, dass die mit dem IFT ermittelten Ergebnisse im Gegensatz zum ELISA immer subjektiv sind und dadurch einer Beeinflussung durch den Untersucher unterliegen können. Am Anfang der Verwendung des IFT stand noch der direkte Erregernachweis im Vordergrund, was sich im Laufe der weiteren Testentwicklung zu Gunsten des Nachweises von spezifischen Antikörpern verschob. Mittlerweile ist der Test so verfeinert worden, dass er dem Nachweis spezifischer IgM-Antikörper dient, mit deren Hilfe man nicht nur frühe Q-Fieber-Infektionen beim Menschen nachweisen kann. BEHYMER et al. (1975) konnten durch ihre Untersuchungen zeigen, dass auch beim Rind früh auftretende AK der IgM-Klasse zugeordnet sind. Erst nach 4 Wochen werden diese durch die Bildung von IgG₁ ersetzt (SCHMEER, 1985).

Heute kommt immer häufiger der Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) zum Einsatz, der den Vorteil einer höheren Sensitivität hat, da er im Vergleich zur KBR auch mit hämolytischen und nicht-komplementären Seren verwendbare Resultate liefert. Mit dieser Technologie kann darüber hinaus - bei der Verwendung entsprechender Konjugate - eine klassen- oder subklassenabhängige Differenzierung der Antikörperantwort erreicht werden. Der ELISA ist automatisierbar und die Ergebnisse können durch photometrische Messungen direkt quantifiziert werden, weshalb das O.I.E. Manual (1992) diese Technik als Methode der Wahl für Massenuntersuchungen empfiehlt.

2.1.5.4 Bekämpfung und Therapie

Sowohl die Bekämpfung als auch die Therapie des Q-Fiebers stellen beim Tier wegen der beschriebenen Besonderheiten von *C. burnetii* eine Schwierigkeit dar. Im Mittelpunkt aller

Bestrebungen steht dabei sicher die Eliminierung der vorhandenen Infektionsquellen. Durch die staatlichen Tierseuchenbekämpfungsmaßnahmen ist es in der Vergangenheit in Gebieten, in denen keine Naturherde von *Coxiella burnetii* bestehen, erfolgreich gelungen, „endemische“ Q-Fieber-Ausbrüche zu bekämpfen (ROJAHN, 1979; ROTH, 1985). In diesen Gebieten erweisen sich Totalausmerzungen des Bestandes nur dann als sinnvoll, wenn ein Verseuchungsgrad von über 60% vorliegt. Bei einem geringeren Verseuchungsgrad genügt in der Regel die Teilausmerzung von serologisch positiven Tieren und Ausscheidern in Verbindung mit den seuchenhygienischen Maßnahmen. In den Gebieten jedoch, in denen eine Neu- oder Reinfektion empfänglicher Haustierbestände durch kontaminiertes Futter, Wildtiere oder infizierte Zecken möglich wird, sollte von einer grundsätzlichen Ausmerzung serologisch positiver Tiere abgesehen werden (SCHLIESSER und KRAUSS, 1982; SCHLIESSER, 1991). Bei Haltungsbedingungen, die einen Kontakt zwischen Weidetier und Naturherd (Zecke) ermöglichen, werden zusätzliche Maßnahmen erforderlich. So vor allem eine systematische Zeckenbekämpfung, um eine Verdünnung des Erregers zu erreichen (LIEBISCH, 1976).

Eine Therapie von landwirtschaftlichen Nutztieren mit Chemotherapeutika erscheint wenig sinnvoll und gilt als ausgesprochen unsicher (BEHYMER et al., 1977). Auch wenn beim Tier, wie beim Menschen, für eine antiinfektive Behandlung Tetrazykline empfohlen werden, so kann durch diesen Einsatz eine Tierherde nicht saniert werden, da keine sichere Eliminierung des Erregers möglich ist (BEHYMER et al., 1977; WOERNLE und MÜLLER, 1986; SCHMEER et al., 1987). Trotz erfolgter Antiinfektivgabe bleibt weiter die Gefahr einer Coxiellenstreuung, z.B. über die Ausscheidung mit der Milch oder über die Plazenta (REIMER, 1993), bestehen und somit auch ein Infektionsrisiko für Mensch und Tier. Immerhin konnte COCHE (1980) zeigen, dass bei Tieren mit ausgeprägten Metritiden oder Kühen, die abortiert hatten, durch eine konsequente 3 bis 5-wöchige Oxytetracyclin-Behandlung in Verbindung mit antiseptischen Uterusspülungen eine klinische Heilung erfolgte. Nach Vakzination und Besamung verliefen die Trächtigkeit und die Geburt bei den untersuchten Tieren „normal“.

Die insgesamt unbefriedigenden Ergebnisse bei der Verwendung der Antiinfektiva führten zu den Versuchen, das Übertragungsrisiko auf den Menschen durch die Möglichkeit der Vakzination von Haustieren zu vermindern. Die Beobachtungen des Phasenwechsels durch STOKER und Fiset (1956) waren wichtige Voraussetzungen für eine spätere Weiterentwicklung der ersten Schutzimpfungen, die Phase 2-Erreger enthielten. Schwere Nebenwirkungen in Form von großflächigen Hautläsionen waren der größte Nachteil dieser

Vakzine. ORMSBEE et al. (1964) zeigten durch Versuche mit Labortieren, dass sich durch die Verwendung von Phase 1-Erregern die Effektivität der Impfstoffe um das 100 – 300fache steigern ließ, wodurch sich die Menge der applizierten Vakzine reduzierte, was eine Verringerung der Nebenwirkungen bedeutete. Die Forschergruppe BEHYMER, BIBERSTEIN et al. (1977) in Kalifornien/USA und die Forschergruppe SADECKY et al. (1978) in der Tschechoslowakei testeten einen Formalin-inaktivierten Phase 1-Impfstoff. Bei den amerikanischen Versuchen gelang es, die Tiere vor einem Abort zu schützen und die Erregerausscheidung über die Milch oder das Lochialsekret bis um das 1000fache zu reduzieren. Ein vollständiges Sistieren der Ausscheidung wurde dabei jedoch nicht erreicht (BEHYMER et al., 1976). Bei den Versuchen der tschechoslowakischen Forscher zeigten die Impflinge 6 - 8 Wochen nach erfolgter Impfung einen deutlichen Impftiter. Bei einem Teil der Kühe, die *C. burnetii* mit der Milch ausschieden, kam nach 47 – 120 Tagen post vaccinationem (p. vac.) die Ausscheidung der Coxiellen über die Milch völlig zum Erliegen. Die von SCHMITTDIEL et al. (1981) publizierte Ergebnisse einer Impfung von 886 Rindern brachten dagegen keine positiven Auswirkungen hinsichtlich einer Reduzierung des Erregers in der Milch. Sowohl vor der Impfung, als auch 50 Tage p. vac. war mit 6% der Anteil der positiven Milchproben gleich geblieben. Auch der Anteil an Coxiellen-haltigen Nachgeburten war nach der Vakzination unverändert. Die Autoren stellten jedoch eine Verringerung der ausgeschiedenen Erregermenge fest, und wiesen darauf hin, dass Aborte und Metritiden in den Betrieben, in denen diese Ereignisse vor der Impfung gehäuft auftraten, nur noch vereinzelt vorkamen.

Da durch die unterschiedlichen Vakzinen eine Coxiellen-Ausscheidung weder bei gesunden, noch bei infizierten Tieren unterbunden werden kann, dies aber das wichtigste Kriterium für eine erfolgreiche Impfung sein muss, sah SCHAAL (1983) in der Impfung noch keine prophylaktisch durchführbare Bekämpfungsmaßnahme.

Allerdings lässt sich der Prozentsatz von infizierten Nachgeburten durch eine Kombination aus Impfung und gezielter Tetrazyklin-Behandlung deutlich verringern. Diese gute Erfahrung machten SCHMITTDIEL et al. (1981), die einen Rückgang infizierter Nachgeburten von 27% auf 9%, bzw. von 19,3% auf 9,1%, mit dieser Methode erreichten. Auch in der von WOERNLE und MÜLLER (1986) verwendeten Kombinationstherapie (Impfung und antibiotische Behandlung 3 - 4 Wochen ante partum mit Oxytetracyclin) ließ sich ein deutlicher Rückgang der mit *C. burnetii* infizierten Nachgeburten von 35% auf 4,3% verzeichnen.

Die häufigen lokalen und systemischen Nebenwirkungen der Ganzzell-Vakzinen führten zu einer Reihe von Versuchen zur Entwicklung von Spaltvakzinen. So konnten WILLIAMS et al. (1990) mit einem einzeln aufgereinigten 29 kDa-Protein, P1, die protektive Wirkung im Mausmodell verdeutlichen. Auch ZHANG und Kollegen (1994) gelang durch die Applikation eines aufgereinigten 67 kDa-Antigens von *C. burnetii* ein vollständiger Schutz im Meerschweinschen- und Mausmodell. Diese und andere Arbeiten konnten zeigen, dass Spaltvakzinen einen messbaren Schutz gegen *C. burnetii*-Infektionen bieten können, es aber noch weitere Erforschung der Schlüsselantigensequenzen bedarf. Auch BALJER und WIELER (2007) sahen einen Forschungsschwerpunkt in der weiteren Charakterisierung bakterieller Erreger mit dem Ziel einer Verbesserung der Diagnostik und einer vermehrten Entwicklung von Impfstoffen, wodurch der Einsatz von Antiinfektiva in der Veterinärmedizin reduziert werden könnte. Durch die Erstellung von Virulenzprofilen für die einzelnen Stämme einer pathogenen Spezies könne die Auswahl serovarübergreifender Antigene im Rahmen von Impfstoffentwicklungen erleichtert werden. Über die Klonierung und Expression von zugrundeliegenden relevanten Genen in heterologen Systemen wäre es schließlich möglich, z. B. Subunit- oder Toxoidimpfstoffe herzustellen, die vom Ballast begleitender, in Bezug auf ihre Verträglichkeit u. U. problematischer Bestandteile befreit seien.

2.1.6 Q-Fieber beim Menschen

2.1.6.1 Klinik

Der Mensch infiziert sich mit *C. burnetii* hauptsächlich durch Inhalation infektiösen Staubes oder durch direkten Kontakt zu infizierten Tieren. Die erregerrhaltigen Stäube haben ihren Ursprung in infiziertem Zeckenkot sowie Nachgeburten, Fruchtwasser, Lochialsekret oder Milch von infizierten Tieren. Besonders gefährdet sind daher Personen, die engen Umgang mit Tieren haben, wie z.B. Schlachter, Tierfellbearbeiter, Tierhalter, Tierpfleger oder Tierärzte. Eine horizontale Übertragung von Mensch-zu-Mensch ist auf seltene Ausnahmefälle beschränkt, wie z.B. bei einem Kontakt mit infizierten gebärenden Frauen, nach Bluttransfusionen oder nach Knochenmarkstransplantationen.

Ca. 60% aller Q-Fieber-Infektionen verlaufen beim Mensch asymptomatisch oder mit nur milden grippeähnlichen Symptomen und heilen spontan nach 1 - 2 Wochen aus. Auf Grund

der fehlenden Krankheitssymptome lässt sich die Infektion hier nur durch den Anstieg der Antikörpertiter nachweisen. Von den verbleibenden 40% der Patienten mit Symptomen durchlaufen 38% eine milde Erkrankung und bei nur 2% der Patienten ist ein Krankenhausaufhalt notwendig. Nur 0,2% erkranken an der chronischen Form des Q-Fiebers (MAURIN und RAOULT, 1999).

Nach einer Inkubationszeit von 2 - 3 Wochen beginnt die **akute Infektion** meist plötzlich mit hohem Fieber, Schüttelfrost, Muskelschmerzen und einem für die Form der Erkrankung typischen, stirnbetontem Kopfschmerz, der sehr heftig sein kann und nicht selten den Beginn einer Meningitis vortäuscht. Dazu tritt häufig ein sehr heftiger, nichtproduktiver Reizhusten auf. Zusätzlich ist bei vielen Patienten ein deutlicher Gewichtsverlust festzustellen (TISSOT DUPONT et al., 1992). Nach 2 - 3 Tagen ist röntgenologisch in 30-50% der Fälle der Nachweis einer atypischen Pneumonie möglich. Die häufig multiplen Infiltrate sind unscharf begrenzt und führen so zu dem Bild einer milchglasartigen Verschattung. Ferner kann im weiteren Verlauf eine Hepatitis und Hepatomegalie auftreten, die sich in erhöhten Leberwerten äußert. Seltener kommt es zur Myo- bzw. Perikarditis, Meningoenzephalitis oder Orchitis. Bei schwangeren Frauen kann es bei einer Infektion oder reaktivierten Erkrankungen durch eine Plazentitis zum Abort oder zur Frühgeburt kommen (RAOULT et al., 2002).

In weniger als 1% der Fälle entsteht eine **chronische Infektion**, die sich als Endokarditis oder granulomatöse Hepatitis manifestiert. Coxiellen besitzen beim Menschen die Fähigkeit in vielen Organen zu persistieren, was durch die Isolierung des Erregers aus Herzklappen und Lebergewebe gezeigt werden konnte. In 60-70% der chronischen Q-Fieber-Erkrankungen tritt eine Endocarditis auf, wobei 90% dieser Patienten vorher bereits einen Herzklappendefekt hatten (MAURIN und RAOULT, 1999). Darüber hinaus haben auch Personen mit Herzklappenprothesen (SIGMANN-IGRA et al., 1997) und immunsupprimierte Personen ein höheres Risiko der Entwicklung einer Q-Fieber-Endokarditis (RAOULT et al., 1992; RAOULT et al., 1993).

Trotzdem die Erkrankung eine lang andauernde, sowohl zelluläre als auch humorale, Immunität hinterlässt, kann der Erreger unter Umständen in Makrophagen überleben. Dies ist der Grund, warum es zu einer **Reaktivierung** der Krankheit kommen kann, z.B. während der Schwangerschaft oder bei Immunsuppression (RKI, 2002).

2.1.6.2 Diagnostik

Die klinische Verdachtsdiagnose „Q-Fieber“ lässt sich durch serodiagnostische Verfahren mittels Nachweis von Antikörpern absichern. In der Vergangenheit wurde hierzu die KBR routinemäßig in der Diagnostik eingesetzt. Ihr Nachteil besteht jedoch nicht nur in einer begrenzten Sensitivität, sondern vor allem in der Tatsache, dass sie nicht alle Arten von spezifischen Antikörpern erfasst. So zeigten die Versuche von SCHMEER et al. (1984), dass der Nachweis komplementbindender Antikörper ausschließlich mit IgG assoziiert war. Komplementbindende IgG-Antikörper gegen Phase 2-Antigen werden 2 - 3 Wochen nach Beginn der Erkrankung gebildet. Der kräftige Anstieg der IgM-Antikörper, nur wenige Tage nach Beginn der Erkrankung, lässt sich mit der KBR nicht diagnostizieren, weshalb die KBR zum Nachweis von spezifischen Antikörpern im Frühstadium der Erkrankung nicht geeignet ist. Zur Diagnose des akuten Q-Fiebers lassen sich modernere Methoden wie der Immunfluoreszenztest (PEACOCK et al., 1983, BESLAGIC et al., 2003) oder der ELISA verwenden (FIELD et al., 2000), bei denen eine Differenzierung in verschiedene Antikörper-Klassen möglich ist. Mit diesem Verfahren ist eine frühe Diagnose durch den Nachweis nicht-komplementbindender IgM-Antikörper mit einem Antikörpertiter $\geq 1:50$ bereits in der ersten Woche post infectionem möglich. FIELD et al. (2002) stellten einen neuen kommerziell erhältlichen ELISA (PanBio *Coxiella burnetii* Immunoglobulin G (IgG) ELISA) der KBR und dem IFT gegenüber und kamen dabei zu dem Schluß, dass der PanBio ELISA eine spezifische alternative Methode zur Q-Fieber-Diagnose und für Tests vor Impfungen darstellt. Der Test ist standardisiert, benötigt 70 Minuten zur Inkubation, lässt sich für ein Massenscreening verwenden und ist automatisierbar. Allerdings wiesen die Autoren darauf hin, dass eine Kontrolle der negativen Ergebnisse durch KBR und/oder IFT notwendig ist.

Bei der chronischen Verlaufsform des Q-Fiebers sind Antikörper der Klassen IgM, IgG und IgA sowohl gegen Phase 1 als auch 2 nachweisbar, wobei Phase-1-Antikörper in hohen Titern typisch für einen chronischen Verlauf sind und demnach häufiger nachgewiesen werden (PETER et al., 1988).

Die Untersuchungen von CAPO et al. (1998) haben gezeigt, dass bei der Q-Fieber-Infektion unterschiedliche Subklassen der Antikörper nachweisbar sind. Das IgG besteht beim Menschen aus 4 Subklassen und das IgA aus 2 Subklassen. Es wurden 20 Personen mit akutem und 20 Personen mit chronischem Q-Fieber untersucht, wobei sich zeigte, dass die Seren beider Gruppen IgG₁ und IgG₃ enthielten, nicht jedoch Antikörper der Unterklasse IgG₂

und IgG₄. Eine Impfung mit *C. burnetii* Phase 1-Antigen führt jedoch zu einer Bildung der Unterklassen IgG₁, IgG₂ und IgA₁ (CAMANCHO et al., 2000).

Im Labor ist auch ein Erregernachweis mittels Zellkultur (BROUQUI et al., 1994) oder ein Nukleinsäure-Nachweis durch die PCR möglich (FRAZIER et al., 1992; WILLEMS et al., 1993). FOURNIER und RAOULT (2003) hingegen empfahlen die Kombination von Real Time PCR (LightCycler Nested PCR) und serologischem Nachweis mit dem IFT für die ersten zwei Wochen nach Beginn der Infektion. Die Sensitivität konnte durch die Kombination der Methoden in den ersten zwei Wochen deutlich gesteigert werden. Im Vergleich dazu zeichnet sich die Serodiagnostik durch eine sehr hohe Sensitivität ab der vierten Woche aus.

2.1.6.3 Therapie

Bei der Therapie des akuten Q-Fiebers beim Menschen ist die Gabe von Doxycyclin über einen Zeitraum von 2 - 3 Wochen das Mittel der Wahl. Die Behandlung kann in speziellen Fällen mit Clarithromycin oder einem Fluorochinolon der Gruppe 3 oder 4 (z. B. Levofloxacin oder Moxifloxacin) kombiniert werden. Bei Meningoenzephalitis können alternativ Chloramphenicol oder Chinolone eingesetzt werden (MAURIN und RAOULT, 1999; GIKAS et al., 2001).

Bei der Q-Fieber-Endokarditis - der chronischen Verlaufsform - ist eine Langzeittherapie von mindestens 12 Monaten nötig. Gute Ergebnisse erzielte die Kombination aus Doxycyclin und Hydroxychloroquin (ROLAIN et al., 2003). Häufig ist ein operativer Herzklappenersatz notwendig.

Eine Impfung für beruflich exponierte Personen wird von einigen Autoren propagiert (MAURIN und RAOULT, 1999), ist jedoch in Deutschland nicht zugelassen.

Eine Formalin-inaktivierte *C. burnetii*-Ganzzellvakzine (Q-Vax, Commonwealth Serum Laboratories) war die einzige zugelassene Impfung in Australien im Jahr 1989. Die einmalige subkutane Injektion von 30 µg Q-Vax führte zu einem 100%igen Infektionsschutz bei 2.555 Schlachthofarbeitern (MARMION et al., 1990).

2.2. Chlamydien

2.2.1 Erreger

Chlamydien sind gramnegative, unbewegliche, kokkoide, pleomorphe Bakterien, die auf Grund ihres obligat intrazellulären Vorkommens eine Sonderstellung einnehmen. BEDSON und BLAND entdeckten im Jahre 1932 mit Hilfe von Mäuseversuchen den Entwicklungszyklus des Psittakoseerregers. STAMP et al. (1950) berichteten über Chlamydienaborte bei Schafen in Schottland. Die Beobachtungen der Abhängigkeit des Erregers von lebenden Zellen für den Vermehrungszyklus führten die Autoren zur Bezeichnung „große Viren“ (PAGE und GRIMES, 1978), weshalb auch heute teilweise der Begriff „Virusabort des Schafes“ Verwendung findet. Eine sichere Zuordnung zu den Bakterien ist durch das Vorhandensein von DNS und RNS, des Aufbaus ihrer den gramnegativen Bakterien vergleichbaren Zellwand, einer Empfindlichkeit gegenüber Antinfektiva und ihrer Vermehrung durch Zweiteilung möglich.

Durch das Fehlen von genetischen Daten und Tests erfolgte nach Bergey's Manual of Systemic Bacteriology (MOULDER et al., 1984) eine erste taxonomische Einteilung der Chlamydien. In den Jahren 1988 und 1989, in denen die DNA-DNA-Hybridisierung von Chlamydienstämmen erstmals beschrieben wurde, zeigte sich eine erstaunliche Vielfalt von *C. psittaci* (COX et al., 1988; GRAYSTON et al., 1989). Anhand der neuen Möglichkeiten ergab sich, dass *C. psittaci* aus wenigstens 6 unterschiedlichen Arten besteht. Darüber hinaus wurde mit *C. pecorum* von FUKUSHI und HIRAI (1992) eine neue Art beschrieben. Doch diese Neuerungen der Taxonomie führten zu weiteren Problemen. Reagenzien für den Nachweis und die Unterscheidung der verschiedenen *C. psittaci*-Stämme standen nicht zur Verfügung. Auch fehlten kommerziell erhältliche Reagenzien zur Abgrenzung von *C. psittaci* zu *C. pecorum*.

Dies veranlasste EVERETT et al. (1999a) zu einer Neuorganisation der Ordnung *Chlamydiales* (s. Tab.2) anhand phylogenetischer Analysen des 16S- und des 23S rRNS-Gens. Durch die PCR-RFLP wurden zwei Gattungen unterschieden, denen neun Spezies zugeordnet wurden (EVERETT et al., 1999b).

Zu der neu benannten Spezies *Chlamydophila psittaci* gehören nach EVERETT et al. (1999b) 8 Serovare (A, B, C, D, E, F, M56, WC). Die neue Art *C. abortus* beinhaltet Abortisolate und *C. caviae* bezieht sich auf die Meerschweinchen-Einschlußkörperchenkonjunktivitis. Feline Isolate wurden *C. felis* zugeordnet. Diese drei Arten waren in der bisherigen Taxonomie *Chlamydia psittaci* zugeordnet. Für die neu bezeichnete Art *C. pneumoniae* wurde eine Unterteilung in 3 Biovare für Mensch (TWR), Koala und Pferd vorgeschlagen. *C. pecorum* verursacht beim Wiederkäuer Polyarthritiden, Pneumonien, Enzephalomyelitiden und Diarrhoen.

Darüber hinaus wurden die sogenannten „Neuen Chlamydien“, zu denen *Parachlamydia acanthamoebae*, *Waddlia chondrophila* und *Simkania negevensis* gehören, der Taxonomie hinzugeführt. Diesen Erregern wird sowohl eine wichtige Bedeutung als Auslöser respiratorischer Erkrankungen beim Menschen beigemessen (Familien *Simkaniaceae* und *Parachlamydiaceae*), sie scheinen aber auch mit Erregern aus der Familie *Waddliaceae* an Aborten bei Wiederkäuern beteiligt zu sein (CORSARO und GREUB, 2006).

Anmerkung: Zum Besseren Verständnis wird im Folgenden an einigen Literaturstellen darauf hingewiesen, dass sie sich auf die alte Nomenklatur der Chlamydien beziehen. Dies wird durch * gekennzeichnet.

2.2.2 Morphologie

Der komplexe Entwicklungszyklus der Chlamydien ist durch zwei unterschiedliche morphologische Formen gekennzeichnet. Die kokkoiden Elementarkörperchen (EK) besitzen eine Größe von 200-400 nm und stellen die extrazellulär überlebensfähige, widerstandsfähige, stoffwechsellinaktive, infektiöse Form des Erregers dar. Ihre starre, dreischichtige Zellwand vom gramnegativen Typ besteht aus einer dreischichtigen Plasmamembran. Im Falle einer Infektion heften sich die Elementarkörperchen an Rezeptoren der Wirtszelle, in die sie durch Endozytose aufgenommen werden. Oberflächenantigene vitaler Chlamydien verhindern das Verschmelzen der Vakuolen, in denen die Elementarkörperchen im Zytoplasma vorkommen, mit Lysosomen zu Phagolysosomen. So schützt sich der Erreger innerhalb der Vakuole vor der Immunabwehr des Wirtes. In membrangebundenen Vakuolen entwickeln sich die Elementarkörperchen durch die Aktivierung des Stoffwechsels zu den pleomorphen Retikular- oder Initialkörperchen (RK) mit einer Größe von 600-1.500 nm, die sich daraufhin

durch Querteilung vermehren (s. Abbildung 1). Schließlich entwickeln sich die Retikularkörperchen nach mehreren Teilungen wieder zu Elementarkörperchen, die durch Zelllysis oder Exozytose permanent infizierter Zellen die Wirtszelle verlassen (SCHIEFER und KRAUSS, 1982; MOULDER, 1984; BAGHIAN und SCHNORR, 1992; ANDERSEN, VANROMPAY, 2003).

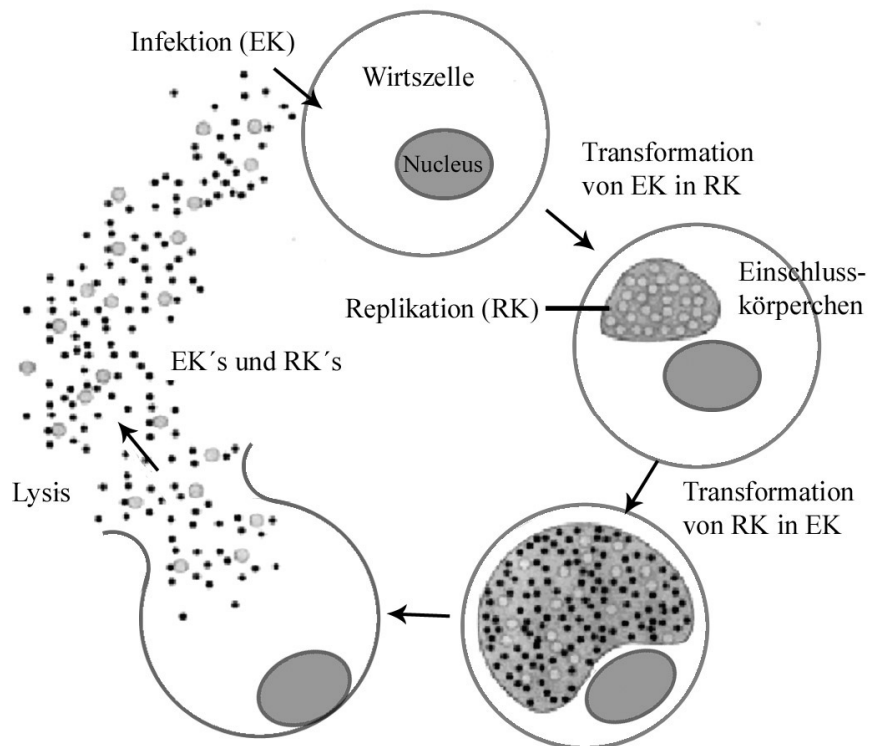


Abbildung 1: Replikation der Chlamydien (nach EVERETT, 2000)

Alle Chlamydien innerhalb der beiden Genera *Chlamydia* und *Chlamydophila* der Familie *Chlamydiaceae* besitzen ein genuspezifisches, hitzestabiles Lipopolysaccharid (LPS)-Antigen, das im Aufbau vergleichbar mit dem LPS gramnegativer Bakterien ist. Während des gesamten Vermehrungszyklus ist dieses Lipopolysaccharid präsent (Mac DONALD, 1985; MONSIRE, 1989; KRAUSS und SCHMEER, 1992). Die immundominante Gruppe dieses Antigens ist ein Trisaccharid aus 3-desoxy-D-manno-Octulonsäure (KDO), dessen Antigenität durch Natriummetaperjodat oder durch milde Säurehydrolyse zerstört werden kann. Das gesamte LPS lässt sich mit Natriumdesoxycholat aus Chlamydien extrahieren und SCHMEER und KRAUSS (1982) wiesen in diesem Natriumdesoxycholatextrakt drei antigene Komponenten nach. Neben dem genuspezifischen LPS-Antigen wurden von Mac

DONALD (1985) auch genusspezifische Protein- bzw. Glycoprotein-Antigene beschrieben. Bei den Elementarkörperchen liegt das LPS in der hydrophoben Region des Hauptmembranproteins („Major Outer Membran Protein“ – MOMP) und ist so weniger oberflächenexponiert (KUO und CHI, 1987). Das MOMP ist ein bedeutendes Proteinantigen der Elementarkörperchen, das bei den verschiedenen Chlamydienspezies unterschiedliche Molekulargewichte aufweist (CALDWELL und SCHACHTER, 1982).

Artspezifische *C. trachomatis*- oder *C. psittaci*-charakterisierende Epitope befinden sich vorwiegend auf dem 38- bis 42-kDa-MOMP der Chlamydien (CALDWELL und SCHACHTER, 1982). Bei den verschiedenen Chlamydienarten sind deutliche Unterschiede der Aminosäuresequenzen der MOMP zu erkennen (EVERETT et al., 1999).

2.2.3 Pathogenität

Obwohl die verschiedenen Chlamydien-Stämme bestimmte Wirte bevorzugen, sind sie doch nicht streng wirtsspezifisch. Für den Menschen sind aviäre Chlamydien-Stämme – vorwiegend *C. psittaci* - erheblich virulenter, als Stämme von Säugetieren. Daher besteht für die Psittakose als Tierseuche eine Anzeigepflicht, für alle anderen durch *C. psittaci* verursachten Erkrankungen, die unter der Bezeichnung Ornithose zusammengefasst werden, gilt die Meldepflicht. Auch die aviären Serovare können bei anderen Tieren, wie Schaf, Rind, Schwein und beim Menschen, nachgewiesen werden. Sie unterscheiden sich hier jedoch in ihrer Virulenz (GERLACH, 1993*; VANROMPAY et al., 1994*). Serotyp-1-Stämme wurden bei Wiederkäuern und Schweinen mit Aborten, Pneumonien, Entzündungen des Genitaltraktes und, wie bei Serotyp-3-Stämmen, mit klinisch inapparenten Intestinalinfektionen festgestellt. Serotyp-2-Stämme gelten als besonders virulent. Sie können zu generalisiert verlaufenden, tödlichen Infektionen bei kolostrumfreien Kälbern sowie Polyserositiden, Polyarthritiden, Enzephalomyelitiden oder Konjunktivitiden führen (BOCKHOLT, 1994; GUSCETTI et al., 1997; SCHILLER et al., 1997). GERBERMANN (1991) gelang es mit Hilfe der Protein-Fingerprint-Methode pathogene Stämme mit invasiven und nichtinvasiven Eigenschaften innerhalb des Serotyps-1 voneinander zu differenzieren. Auch bei Schafen kann zwischen invasiven und nicht invasiven Stämmen unterschieden werden. So zeigten die Versuche von RODOLAKIS und SOURIAU (1989), dass eine intradermale Injektion des invasiven Stamms bei 24 von 25 Schafen Abort-auslösend war, wohingegen die Applikation des nicht-invasiven Stamms keinerlei Beeinträchtigung der

Trächtigkeit nach sich zog. Von Puten, aber auch von anderen Vogelarten, konnten *C. psittaci*-Stämme mit ganz unterschiedlichen Virulenzgraden isoliert werden. So führten hochvirulente („toxogene“) Stämme bei Puten zu akuten Erkrankungen mit sehr hohen Mortalitätsraten. Bei Hühnern, Tauben oder Sperlingen konnte durch die experimentelle Infektion jedoch keine oder nur leichte Erkrankungen ausgelöst werden. Derselbe Stamm ließ Kakadus und Papageien schwer erkranken und verursachte hohe Mortalitätsraten (GRIMES und WYRICH, 1991*; TAPPE et al., 1989*).

2.2.4 Tenazität

Die Überlebensfähigkeit von Chlamydien (Elementarkörperchen) nimmt mit zunehmender Temperatur ab. Gegenüber Kälte und Austrocknung sind sie sehr widerstandsfähig (von SPROCKHOFF, 1980; GYLSTORFF und GRIMM, 1998), gegenüber Hitze, Sonnenlicht und Fäulnis jedoch relativ empfindlich (SELBITZ, 1992). Durch ultraviolettes Licht werden Chlamydien bereits innerhalb weniger Minuten inaktiviert (STORZ und KRAUSS, 1985; GERLACH, 1994). Chlamydien bleiben bei -20°C ein Jahr, bei Raumtemperatur (22°C) einen Monat, bei 37°C 2 Tage und bei 56°C nur noch 5 Minuten lebensfähig. Die Überlebensfähigkeit im Wasser beträgt bis zu 17 Tage (HENNING, 1985). Chlamydien sind sehr empfindlich gegenüber Chemikalien, die die Lipidkomponenten ihrer Zellwand angreifen, wie 0,1 %iges Formalin oder 0,5 %iges Phenol. Mit 3 %igem Lysol oder mit Kaliseife aus Leinölfettsäuren ist eine vollständige Inaktivierung schon nach einer halben Stunde erreicht. In der gleichen Zeit werden Chlamydien bei Zimmertemperatur durch Alkohol (70% Ethanol), Chlor, Jod, Permanganat, 3 %ige Wasserstoffperoxidlösungen oder Diäthyläther zerstört. 5 %iges Kresol, 2 %ige Natronlauge oder eine 0,3 %ige quaternäre Ammoniumverbindung inaktiviert den Erreger bereits nach 5 Minuten. Weniger gut wirken proteindenaturierende Chemikalien, wie Säuren und Basen (GRIMES und WYRICH, 1991; ROLLE und MAYR, 1993).

2.2.5 Epidemiologie

C. psittaci ist weltweit verbreitet und konnte bisher bei einer Vielzahl von Vogelarten, Haus- und Wildsäugetieren, Reptilien, Amphibien, Fischen, Arthropoden und Mollusken

nachgewiesen werden (MEYER, 1967*; WOLKE et al. 1970*; SCHMATZ et al., 1977*; JOHNSON, 1983*; STORZ und KRAUSS, 1985*; LEIBOVITZ, 1989*; HUCHZERMEYER et al., 1994*; MUTSCHMANN, 1998a*, 1998b*; KALETA und TADAY, 2003). Die Übertragung von Tier zu Tier oder von Tier zu Mensch erfolgt meist auf aerogenem Weg durch infektiöse Stäube oder Aerosole. Klinisch kranke und latent infizierte Tiere scheiden den Erreger über den Kot, Genitalsekrete, infizierte Nachgeburten, Harn, Sperma und Konjunktivalsekrete aus und bilden damit ein wichtiges Erregerreservoir für die Ansteckung von Tier und Mensch (SCHMEER, 1988). Der Erreger (infektiöse Elementarkörperchen) erweist sich außerhalb des Wirtes nach der Austrocknung als sehr tenazid und bleibt so über lange Zeit im Staub, mit dem er durch den Wind weit verbreitet werden kann, ein Infektionsrisiko. Das durch *C. psittaci* verursachte so genannte enzootische Verlammen führt weltweit zu großen wirtschaftlichen Verlusten. Dabei sind abortierende Schafe die Hauptüberträger. Sie scheiden den Erreger über die Plazenta, das Fruchtwasser, den Fetus und für ca. 2 Wochen über das Uterus- und Vaginalsekret in großen Mengen aus. Über Milch, Urin und Kot können die Schafe auch noch längere Zeit nach dem Abort den Erreger ausscheiden und so auf Einzeltiere, ganze Herden und auf den Menschen übertragen werden (KHASCHABI und BRANDSTÄTTER, 1994). Auch GUT-ZANGGER et al. (1999) machten durch ihre serologischen Untersuchungen in Schweizer Schafherden darauf aufmerksam, dass Infektionen mit *C. psittaci* „Serotyp-1“ (heute *Chlamydophila abortus*) nicht nur als klinisch manifeste, sondern vor allem als klinisch-inapparente intestinale Form weit verbreitet sind. Neben Milben, aus denen Chlamydien von EDDIE et al. (1962) und GOROVITS (1979) isoliert werden konnten, gelang die Isolierung von *C. psittaci* auch aus Fliegen, wobei die Frage der Vermehrung in den Fliegen nicht geklärt wurde (THALMANN, 1984). Bei 50% der 400 von HOLZINGER (1996) untersuchten Meisen konnte *C. psittaci* nachgewiesen werden, was den Autor dazu führte, auch diesen Vögeln eine Funktion als Erregerreservoir und Vektor zuzuschreiben. Die häufigste Infektionsquelle für den Menschen stellen Psittaziden, Tauben und Schafe dar. Sie können den Erreger über viele Jahre intermittierend oder kontinuierlich mit dem Kot oder anderen Körperflüssigkeiten ausscheiden. Neben der Infektion durch erregerhaltigen Staub sind auch Schmierinfektionen durch Ausscheidungen infizierter Tiere möglich. Eine besondere Prädisposition für eine *Chlamydophila-psittaci*-Infektion besitzen vor allem Personen- und Berufsgruppen, die engen Kontakt mit infizierten Tieren haben, wie z.B. Schlachthofpersonal, Beschäftigte in der Landwirtschaft und Lebensmittelindustrie, Geflügelzüchter, Geflügelhalter, Mitarbeiter in Eiproduktionsbetrieben, Angestellte in Vogelhandlungen oder Tiergärten, Hobbyzüchter oder Tierärzte (GRATZEL und KÖHLER,

1968; STELZNER et al., 1972; SCHACHTER et al., 1980; KRAUSS und WEBER, 1986; BECKER et al., 1992; BAZALA und RENDA, 1992; HAFEZ und STING, 1994; ANDERSEN et al., 1997; ANDERSEN und VANROMPAY, 2003). Während einzelne Erkrankungsfälle eher beim Papageienhalter auftreten, so finden sich gehäufte *C. psittaci*-Infektionen beim Menschen mehr in Verbindung mit der Nutzgeflügelhaltung.

2.2.6 Chlamydien beim Tier

2.2.6.1 Klinik

Neben dem symptomlosen Verlauf der Infektion verursachen Chlamydien beim Tier vielgestaltige Krankheitsbilder, die von Spezies zu Spezies variieren können. Häufig treten Pneumonien, Intestinalinfektionen, Reproduktions- und Fruchtbarkeitsstörungen, Mastitiden, Polyarthritiden, Keratokonjunktivitiden und Encephalomyelitiden auf. Die Schwere des Krankheitsverlaufes wird zum einen vom Serotyp und der Virulenz der Chlamydien-Stämme bestimmt. Zum anderen spielt das Alter der Tiere eine Rolle, da Jungtiere und ältere Tiere eher eine klinisch manifeste Erkrankung ausbilden. Darüber hinaus begünstigen diverse Belastungsfaktoren, die zu einer Immunsuppression der Tiere führen, wie z.B. unsachgemäße Fütterung, Stress, Transport, mangelnde Umwelt- und Hygienebedingungen und zu hohe oder zu niedrige Temperaturen, den Ausbruch einer Chlamydien-Infektion (SELBITZ, 1992; BOCKHOLT, 1994).

Neben einer breiten Palette an Krankheitsbildern, verursacht durch *C. psittaci*, spielen beim Rind klinisch inapparente Darminfektionen eine wichtige Rolle (PAGE et al., 1973; WITTENBRINCK et al., 1987; 1988). PEREZ-MARTINEZ und STORZ (1985) isolierten bei ihren Untersuchungen unterschiedliche Chlamydien-Stämme aus verschiedenen Tierspezies mit bestimmten klinischen Symptomen. Diese Erregerstämme lösten nach experimenteller Infektion wieder die entsprechende Symptomatik aus und ließen sich anhand Serotypspezifischer Antigene mittels Mikroimmunfluoreszenz voneinander unterscheiden. Der so beschriebene Immuntyp-1-Stamm findet sich gehäuft bei Rindern und anderen Wiederkäuern mit Aborten, Pneumonien oder klinisch inapparenten Intestinalinfektionen (STORZ, 1971*). Wird dieser Erregerstamm trächtigen Kühen injiziert, so führt er in der Regel zu Aborten oder zur Geburt lebensschwacher Kälber. Die klinische Manifestation ist in der Regel abhängig vom Infektionszeitpunkt während der Trächtigkeit. Infektionen zu Beginn

einer Trächtigkeit führen zur Geburt lebensschwacher Kälber, die Infektion im zweiten Drittel der Trächtigkeit führt meistens zum Abort. Auslösend dafür ist eine Besiedelung des Uterus durch die Chlamydien. Es zeigt sich, dass die Erreger eine besondere Affinität zum Trophoblastenepithel im interkotyledonären Endometriumbereich besitzen und hier Ulzerationen hervorrufen (THOMA, 1996). Durch den direkten Kontakt mit dem Chorionepithel der Plazenta ist eine hämatogene Infektion der Feten möglich. An der Plazenta sind neben den Entzündungen, Ödeme, nekrotische, gelblich verfärbte Kotyledonen und Exsudatbildung zu sehen. Die abortierten Feten zeigen ein subkutanes Ödem und rötliche Körperhöhlenergüsse. Der gleiche Chlamydien-Stamm verursacht bei Kälbern eine Enteritis (STORZ et al., 1971) und wird für eine verminderte Spermienqualität beim Bullen verantwortlich gemacht (STORZ et al., 1968). Derart infizierte Deckbullen führen in Betrieben zu Fruchtbarkeitsstörungen, wie Infertilität und gehäuftes Umrindern, hervorgerufen durch eine Chlamydien-bedingte Veränderung des Uterusmilieus (BOWEN et al., 1978). Der zweite Stamm (Immunotyp-2) zeichnet sich durch eine besonders hohe Virulenz aus und verursacht insbesondere bei kolostrumfrei aufgezogenen Kälbern schwere, generalisierte Allgemeininfektionen, die häufig tödlich enden (STORZ et al., 1968; 1971). Durch die Affinität dieses Stammes zu Gelenken und serösen Häuten stellt sich bei Kälbern, die chronisch erkranken, das Bild einer Polyarthritits und Polyserositis ein (EUGSTER, 1970). Auffallend bei Untersuchungen von STORZ und SPEAR (1980*) zu diesem Erkrankungsverlauf war, dass bei infizierten Schafen, die eine Polyarthritits hatten, immer auch eine Augenveränderung vorlag, dass jedoch Tiere mit Keratokonjunktividen nicht immer auch Symptome am Bewegungsapparat zeigten.

Immunotyp-3-Stämme führen beim Rind nur bei den Kälbern zu einer Erkrankung, die sich als eine leichte katarrhalische Enteritis zeigt.

Beim Schaf äußert sich der Chlamydien-Abort als Spätabort, Frühgeburt, Totgeburt oder Geburt lebensschwacher Lämmer, die trotz intensiver Bemühungen kaum eine Überlebenschance haben. Der Ausgangspunkt für das seuchenhafte Verlammen bei Schafen ist häufig die Neueinstellung von *C. psittaci*-infizierten Tieren. Ein Fortbestehen der Seuche wird durch infizierte Lämmer, die meist keine Immunität ausbilden, erreicht (KRÜGER, 1991). Beim Abortgeschehen der Pferde spielt *C. psittaci* nach BISPING (1993) eine untergeordnete Rolle. Vor einem Chlamydien-Abort beim Schwein sind keine klinischen Anzeichen für das bevorstehende Ereignis zu erkennen. Erst mit dem Abort kommt es bei den Sauen zu heftigen klinischen Reaktionen, wie hohem Fieber und Inappetenz (HEINEN,

1994), gefolgt von massiven Chlamydien-Ausscheidungen, die nicht kontinuierlich sind und zwischenzeitlich vollständig sistieren können.

Chlamydien-bedingte Keratokonjunktivitiden wurden von verschiedenen Autoren bei unterschiedlichen Tieren beschrieben. So berichtete OTT (1993*) über einen wirtsspezifischen Stamm von *C. psittaci*, der gerade bei jungen Meerschweinchen zu einer bilateralen, katarrhalischen bis eitrigten Konjunktivitis führte. Die Bedeutung der Chlamydien bei der Entstehung der infektiösen bovinen Keratokonjunktivitis (IBK) ist nach KÖHLER (1992) nur gering. Dem Erreger wird hier nur eine wegbereitende Funktion zugeschrieben. KEHNSCHERPER (1987) zählte die Chlamydien, neben anderen Erregern, sogar zur Normalflora des Rinderauges, wohingegen ZEHLE (1992) den Chlamydien bei der IBK eine dominierende Rolle zusprach. Weiterhin konnte *C. psittaci* als ätiologisches Agens von chronischen Konjunktivitiden bei Schafen und Ziegen (BRÖMEL, 1997*; BOSTEDT und DIDÍÉ, 1996*) und akuten und chronischen Konjunktivitiden bei Katzen ermittelt werden (KELLNER, 1988*). Nach der Literatur sind klinisch manifeste Chlamydiosen des Hundes eher eine Rarität. Fallberichte über Chlamydien-bedingte Augenerkrankungen des Hundes sind, im Gegensatz zu den Chlamydien-bedingten Keratokonjunktivitiden der Katze, nur sporadisch anzutreffen (WITTENBRINK, 1999). Die Verlaufsformen der Chlamydien-Infektion beim Nutzgeflügel können ganz unterschiedlich sein, pathognomonische Symptome existieren nicht, weshalb sich eine Absicherung der Diagnose durch den Erregernachweis empfiehlt (KALETA, 1997). Puten sind in der Regel latent infiziert und klinisch manifeste Erkrankungen bilden eher die Ausnahme. In Abhängigkeit vom Chlamydien-Serovar kann es bei den Tieren aber auch zu Apathie, Ataxie, Anorexie, Kachexie, Nachlassen der Legeleistung, mangelnder Fruchtbarkeit, respiratorischen Symptomen und plötzlichen Todesfällen mit Auftreibungen, Schrumpfungen und Zyanosen der Kopfanhänge kommen (KRAUSS und SCHMEER, 1992; ROLLE und MAYR, 1993; VANROMPAY et al., 1993; 1995; 1997). Die Krankheitssymptome bei Lege- und Masthühnern sind unspezifisch. Es kann bei Masthühnern zu Nasenausfluss, Keratokonjunktivitis mit Erblindung, Ataxie, Zittern, Seitenlage, Gewichtsabnahme und erhöhten Mortalitätsraten kommen (BARR et al., 1976). Die Untersuchungen von METEYER et al. (1992) an zwei in Menschenobhut gehaltenen Wildvogelgruppen beschrieben *Chlamydia psittaci*-Infektionen mit sehr hoher Mortalitätsrate. Innerhalb von zwei Monaten starben alle der 6 gehaltenen Veilchenorganisten (*Euphonia violacea*) und 9 der 10 Amazilia Kolibris (*Amazilia Amazilia*). Klinische Anzeichen der Infektion gab es nicht, in der Sektion dominierte das Bild einer Hepato- und Splenomegalie.

2.2.6.2 Pathogenese

Nachdem die Erreger auf aerogenem, oralem, genitalem oder konjunktivalem Weg in das Wirtstier gelangt sind, findet eine initiale Vermehrungsphase der Chlamydien in den Gefäßendothelzellen statt. Anschließend gelangen sie über Blut und Lymphe in die Leber und die Mesenteriallymphknoten, in denen eine zweite Vermehrungsphase stattfindet, die zu einer generalisierten Chlamydämie führt. Zu diesem Zeitpunkt hat sich der Erreger bereits in der Milz, der Lunge, den Geschlechtsorganen und dem Knochenmark manifestiert. Hier vermehren sich die Chlamydien ein weiteres Mal, um in einer zweiten Chlamydämie weitere Bereiche des Körpers, wie den Darm, die Gelenke, das ZNS oder die Plazenta, von der eine Übertragung auf den Fetus möglich ist, zu befallen (WITTENBRINK et al., 1987b; GERBERMANN, 1991).

Bei der Immunabwehr der Chlamydien-Infektion dominieren zelluläre Mechanismen, wie Makrophagen und Chlamydien-spezifische T-Lymphozyten. Die humorale Abwehr wird, nach einem anfänglichen Anstieg komplementbindender IgM-Antikörper, durch IgG₂-Antikörper geprägt. Diese besitzen eine Zytophilie zu Monozyten und neutrophilen Granulozyten, womit sie als opsonierender Faktor die zelluläre Immunantwort unterstützen (McGUIRE et al. 1979; ROTHERMEL et al., 1989).

Die von SCHMEER (1988) durchgeführten Untersuchungen zeigten, dass sich IgG₁-Antikörper nach einer natürlichen Infektion beim Rind nur sehr geringfügig nachweisen lassen. Nach einer experimentellen Infektion des Rindes, die zu einem Abort führte, zeigte sich für etwa 2 - 4 Wochen ein Titeranstieg der IgG₁-Antikörper. In diesem kurzzeitigen Titeranstieg nach der akuten Infektion sahen SCHMEER et al. (1987b; 1988) die Möglichkeit der Unterscheidung einer akuten von einer chronischen Infektion des Rindes. Fehlende oder nur schwach über der Toleranzgrenze liegende IgG₁-Spiegel und mittlere IgG₂-Werte sprechen offenbar für eine klinisch inapparente Infektion mit *C. psittaci*, während beim Vorliegen hoher IgG₁- und IgG₂-Spiegel eine bestehende oder noch nicht lang zurückliegende systemische Infektion angenommen werden kann. IgG₂-Antikörper kommen besonders im Serum vor, IgG₁-Antikörper vermehrt in Tränenflüssigkeit, Nasensekret und im Euter. So werden auf das Kalb mit der Kolostralmilch überwiegend IgG₁-Antikörper übertragen, was den Grund für den mangelhaften Schutz der Kälber vor Chlamydien-Infektionen erklärt.

Die von SCHMEER et al. (1986; 1987) und SEMLER (1987) durchgeführten Untersuchungen an Schafen und Ziegen zeigten jedoch, dass bei diesen Tieren im Gegensatz zum Rind eine *C. psittaci*-spezifische IgG₁-Dominanz vorliegt.

2.2.6.3 Diagnostik

Da die klinischen Symptome einer Chlamydien-Infektion häufig wenig spezifisch sind und nur Anhaltspunkte liefern, empfiehlt sich immer die Absicherung der Verdachtsdiagnose durch labordiagnostische Verfahren. Ein generelles Problem beim Nachweis ergibt sich nach SACHSE (2000) zum einen aus der geringen Tenazität des Erregers und zum anderen aus der Tatsache, dass der Erreger sich obligat intrazellulär vermehrt. Das bedeutet, dass sich der Erreger im Labor nur in lebenden Zellen anzüchten lässt. Für die Probennahme in Form von Abstrichen heißt das, dass von entzündlich veränderten Schleimhäuten nicht nur das Sekret, sondern vor allem Epithelgewebe entnommen werden muß. Die Nachweisverfahren kann man in direkte und indirekte Verfahren einteilen (GERBERMANN, 1995).

Der **direkte Erregernachweis** gelingt durch die mikroskopische Untersuchung von Organ- und Schleimhautabstrichen, Abklatschproben oder Proben nach erfolgter Erregeranzüchtung in der Zellkultur mittels Spezialfärbungen. Für die Anzüchtung von Chlamydien in Gewebe- und Zellkulturen stehen unterschiedliche Medien zur Auswahl, wie die Buffalo-Green-Monkey-Zellkultur (BGM), die Embryonic-Bovine-Lung-Zellen (EBL-Zellkultur), HeLa-Zellen, Zelllinien nach McCoy, Vero-Zellen oder Hühnerembryofibroblasten. Gute Ergebnisse ließen sich mit den BGM-Zellkulturen erzielen (HUHN, 1991; VANROMPAY 1992). Auch die Anzüchtung von *Chlamydophila psittaci* im embryonierten Hühnerei erwies sich als erfolgreich. Der Vorteil der Verwendung der Zellkulturen besteht jedoch darin, dass bakterielle Kontaminationen, wie sie in Nachgeburtsproben häufig auftreten, durch den Zusatz von Antiinfektiva vermindert werden können. Bei der Bruteitechnik ist der Einsatz von Antiinfektiva nicht möglich, sodass bakterielle Verunreinigungen zu einem frühzeitigen Absterben der Embryonen führen können (HENNING und STING, 1999). Von den unterschiedlichen Spezialfärbungen gelten die Färbung nach GIEMSA (1904), STAMP (1950) und GIMÉNEZ (1964) als die gebräuchlichsten. Auch mittels Elektronenmikroskopie kann der Chlamydien-Nachweis erfolgen, allerdings ist dies nicht Bestandteil der Routinediagnostik. Weiterhin ist ein Nachweis des Chlamydien-Antigens auch mittels des direkten Immunfluoreszenztests möglich. Dieses Verfahren ist schnell durchführbar und besitzt eine hohe Sensitivität und Spezifität (SATALOWICH et al., 1994). Mit dem so genannten Antigen-Fangtest oder Capture-ELISA steht eine weitere einfache und schnelle Methode zur Verfügung, die auch die Untersuchung größerer Probenzahlen durch die Automatisierung des Verfahrens ermöglicht. Ein Capture-ELISA, der für die Humanmedizin

entwickelt wurde, ist kommerziell erhältlich (IDEIA[®] Test der Fa. DAKO) und, wie Versuche von GERBERMANN und KORBEL (1993) sowie von ZEHLE und KRÄMER (1997) zeigten, auch für veterinärmedizinische Zwecke mit einer ausreichenden Sensitivität und Spezifität einsetzbar. BOGNER et al. (1997) wiesen jedoch auf die Gefahr von Kreuzreaktionen mit Bakterien und Pilzen hin, die zu falsch-positiven Ergebnissen führen können. Durch den Einsatz der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) konnte die Nachweisgrenze beim direkten Chlamydien-Nachweis weiter gesenkt, die Sensitivität und Spezifität im Vergleich zu den übrigen direkten Erregernachweisen erhöht werden (EVERRETT et al., 1999c; McELNEA und GROSS, 1999). Durch die Entwicklung eines ArrayTube-Microarrays gelangen SACHSE et al. (2005) die Identifikation und Differenzierung aller neun Spezies von *Chlamydia* und *Chlamydophila*. Die Tatsache, dass dieser „Chlamydien-Genchip“ sensitiv genug ist, um einen einzelnen *Chlamydien*-Plasmid-DNA-Strang zu identifizieren, konnten EHRICHT et al. (2006) in einer weiteren Arbeit klären.

Der **indirekte Erregernachweis** mittels serologischer Diagnostik gelingt durch den Nachweis spezifischer Antikörper. Ein häufig verwendetes Verfahren ist die KBR, deren Zuverlässigkeit allerdings von vielen Autoren in Frage gestellt wird. Mit ihr gelingt der Nachweis der frühen IgM- und IgG₁-Antikörper, die nach akuten, klinisch manifesten Chlamydien-Infektionen gebildet werden. Die im Serum dominierenden IgG₂-Antikörper, die vor allem bei klinisch inapparenten und chronischen Infektionen auftreten, lassen sich mit der KBR nicht nachweisen, weshalb die Methode keine Aussage über das Infektionsstadium zulässt. Eine weitaus höhere Sensitivität, Spezifität und Praktikabilität als die KBR besitzt der Antikörper-ELISA. Vergleichende Untersuchungen von STING und MANDL (1995) zeigten gravierende Unterschiede in den ermittelten Werten von ELISA und KBR. So reagierten in einem ELISA-System 79 % und in der KBR 8 % der Proben positiv. Spätere Untersuchungen bestätigten die Unterschiede, als mit Hilfe eines ELISAs 90 und mit der KBR 15 positive Proben ermittelt werden konnten. Ein Titeranstieg von Serumpaaren gilt als beweisend für eine Infektion des Einzeltieres. Da es zu falsch-positiven Befunden als Folge von Kreuzreaktionen kommen kann (WITTENBRINK, 1991; HAFEZ und STING, 1994; VANROMPAY, 1995; RYLL et al., 1994) und auch ein negativer Chlamydien-Titer eine Infektion nicht zwingend ausschließt, wird empfohlen, die Ergebnisse zusätzlich mit einem *Chlamydophila psittaci*-Antigennachweis abzusichern. Um speziesspezifische Diagnosen einer Chlamydien-Infektion zu stellen, verwendeten KALTENBOECK et al. (1997) synthetische Peptidantigene der variablen Domänen 2 und 4 des „Major Outer Membran

Protein“ (MOMP), LONGBOTTOM et al. (2002) nutzten rekombinante Fragmente des „Polymorphic Outer Membran Protein“ (POMP).

2.2.6.4 Bekämpfung und Therapie

Für eine erfolgreiche Behandlung der Chlamydiose müssen Antiinfektiva, die einen ausreichend hohen und langen Blut- und Organspiegel erreichen, eingesetzt werden. Erschwert wird die Therapie durch die intrazelluläre Lokalisation des Erregers, sodass damit gerechnet werden muss, dass der Erreger nicht vollständig eliminiert werden kann. Dies zieht die Möglichkeit von persistierenden Infektionen nach sich.

Neben der antiinfektiven Behandlung sind hygienische Maßnahmen im Bestand durchzuführen (GERBERMANN und JANECZEK, 1991). Als Mittel der Wahl zur Behandlung der Chlamydiose gelten, neben Chloramphenicol, Erythromycin und Chinolonen, vor allem die Tetracycline (Chlortetracyclin, Oxytetracyclin, Doxycyclin). Sie wirken bakteriostatisch über die Hemmung der Proteinsynthese in der Bakterienzelle gegenüber extra- und intrazellulär gelegenen Keimen. Die Behandlung und tierseuchenrechtlich festgelegte Bekämpfung der Psittacose/Ornithose wird durch die Psittakose-Verordnung in der Neufassung vom 20.12.2005 (BGBl. I, S. 3499) geregelt.

Für die Therapie Chlamydien-bedingter Konjunktivitiden finden sich in der Literatur unterschiedliche lokale Behandlungsmethoden. So empfahlen WEHR (1982) und KELLNER (1988) bei Kälbern die Verwendung von Chloramphenicol- (mittlerweile verboten), Neomycin- oder Chlortetracyclin-haltigen Augensalben über mehrere Tage. Bei Neuweltkamelen konnten SCHRÖDER et al. (1998) die Konjunktivitiden mit Hilfe von Glukokortikoid- und Oxytetracyclin-haltigen Augensalben zur Abheilung bringen. THALMANN (1984) und KÖHLER (1992) hingegen favorisierten zur Behandlung der IBK die perpalpebrale Injektionstechnik.

Die Versuche von DÖPFER (1985) zur Vakzination von Schafen und Rindern mit der Vakzine Aborstop[®] F. Q. der Fa. Rhone-Merieux/Albrecht ergaben unterschiedlich hohe Titeranstiege, die mittels KBR gemessen wurden. Da jedoch noch kein Zusammenhang zwischen dem Nachweis komplementbindender Antikörper und der Schutzwirkung der Impfung gelang, kann die Titerhöhe nicht als Gradmesser herangezogen werden. 1 Jahr nach der Impfung zeigte sich aber ein positiver Effekt auf das Fruchtbarkeitsgeschehen bei den Rinderbeständen, da keine Aborte, Kälberverluste und Brunststörungen mehr auftraten. Durch

eine Ausnahmegenehmigung konnten ZEHLE et al. (2002) den Einfluss der für Schafe zugelassenen Vakzine „Chlamyvac FQ“ der Fa. Merial auf die Komplexe Herdenfruchtbarkeit, Augen- und Lungenentzündungen, klinisch-inapparenten Mastitiden und Gelenkserkrankungen bei Rindern überprüfen. Da die Haltungsbedingungen im Untersuchungszeitraum gleich blieben, führten die Autoren die deutliche und messbare Verbesserung der Herdengesundheit auf die Vakzinierung zurück. Durch die Zulassung des Impfstoffes „Ovilis Enzovax“ der Fa. Intervet in der Schweiz wurde auch hier eine Bekämpfung des Chlamydienabortes bei Schafen möglich.

Eine kommerziell erhältliche Impfung gegen *Chlamydophila psittaci* zum Einsatz beim Geflügel, die eine langanhaltende protektive Immunität hervorruft, ist momentan noch nicht erhältlich (ANDERSEN und VANROMPAY, 2003). Impfversuche von VANROMPAY et al. (2001) mit einer Plasmid-DNA-Vakzine gegen das Major Outer Membrane Protein (MOMP) des aviären *C. psittaci*-Serovars A zeigten, dass nach Infektion mit dem Erreger schwere klinische Symptome, Läsionen sowie starke Erregerausscheidungen ausblieben.

Zum Schutz gegen *Chlamydophila felis*-Infektionen sind einige Kombinationsimpfstoffe im Handel, wie „Purevax“, „Fevaxyn“, „Nobivac“ oder „Eurifel“, die den Erreger enthalten.

POLLMANN et al. (2005) führten Untersuchungen an Schweinen zur Übertragung einer *Chlamydien*-Infektion von der Sau an die Ferkel über den Kot durch. Sie konnten dabei zeigen, dass die Gabe eines Probiotikums mit einem *Enterococcus faecium*-Stamm an die Sau, zum einen die Rate der *Chlamydien*-Infektionen der Ferkel reduzierte und zum anderen den Grad dieser Infektionen abschwächte.

2.2.7 Chlamydiosen beim Menschen

Humanmedizinisch von Bedeutung sind *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydophila pneumoniae* und *Chlamydophila psittaci*. Während sich die ersten beiden Erreger auf den Menschen beschränken gilt *C. psittaci* als tier- und humanpathogen und kann beim Menschen schwere Erkrankungen hervorrufen.

In Abhängigkeit vom Serotyp verursacht *Chlamydia trachomatis* das Trachom (Serotyp A-C) - eine in der dritten Welt weit verbreitete Keratokonjunktivitis - das Lymphogranuloma inguinale (Serovarianten L1, L2 und L3) - das durch sexuellen Kontakt übertragen wird und in Asien, Südamerika und Afrika gehäuft auftritt - und eine Vielzahl unspezifischer Infektionen des Urogenitaltraktes (Serovare D – K). Bei Frauen führen diese Serovare zu

Zervizitis, Pelvic Inflammatory Disease oder PID (Endometritis, Salpinghitis, Peritonitis), Periappendizitis und Perihepatitis. Ein besonderes Problem stellt die Chlamydien-Zervizitis in der Schwangerschaft dar, bei der sich das Neugeborene unter der Geburt infiziert und dann oft unmittelbar danach eine Bindehautentzündung (sog. Einschlusskonjunktivitis) aufweist und im weiteren Verlauf an einer atypischen Pneumonie erkranken kann. Beim Mann kann es durch *Chlamydia trachomatis*-Infektionen zu Entzündungen der akzessorischen Sexualdrüsen (Epididymitis, Prostatitis) kommen. Bei beiden Geschlechtern ist unter der Infektion eine Urethritis, Konjunktivitis und Arthritis möglich (HOLLÄNDER et al., 1988).

Chlamydophila pneumoniae, im Jahre 1989 als eigenständige Spezies klassifiziert, ist ein weltweit verbreiteter Erreger, der für meist leicht verlaufende, aber häufig langwierige Infektionen des Respirationstraktes verantwortlich ist. Der Durchseuchungsgrad der Bevölkerung in Europa ist hoch, mit einer Seroprävalenz bei Erwachsenen von ca. 60 %. Neben den am häufigsten vorkommenden asymptomatischen Infektionen (ca. 90 % der Fälle), leichten Bronchitiden und atypischen Pneumonien, kann es nach einer *C. pneumoniae*-Infektion auch zu akuten Pharyngitiden, Sinusitiden sowie Myokarditis, Endokarditis oder zu einer reaktiven Arthritis kommen. Das Krankheitsbild ist nicht eindeutig von einer *Chlamydophila psittaci*-Infektion abgrenzbar. Die Übertragung erfolgt von Mensch zu Mensch durch Tröpfcheninfektion. Viele internationale Studien befassen sich mit der Beteiligung von *Chlamydophila pneumoniae* an anderen Erkrankungen, wie Herzinfarkt, Schlaganfall, Morbus Alzheimer oder Multipler Sklerose, wobei abschließende Bewertungen noch immer ausstehen (BOWMANN et al., 2002; KUO et al., 1995; MAHONY et al., 2001; OSSEWARDE, 2001; SAIKKU, 2000).

2.2.7.1 Klinik

Chlamydophila psittaci ist auf den Menschen sowohl durch Vögel als auch durch verschiedene Säugetiere (Hunde, Katzen, Schafe, Ziegen, Rinder...) übertragbar, wobei die aviären Stämme eine höhere Humanpathogenität als die Stämme anderer Tierarten aufweisen. Die Übertragung des Erregers geschieht meist auf aerogenem Weg, durch Inhalation infizierter Stäube oder Aerosole. Nach einer Inkubationszeit von 1 - 3 Wochen ist sowohl ein nahezu inapparenter Verlauf mit nur leichten grippeähnlichen Allgemeinsymptomen möglich, als auch schwere fieberhafte Allgemeinerkrankungen mit Schüttelfrost, Lungenentzündung, Gliederschmerz, Erregungszuständen und Herz-Kreislauf-Störungen, die unbehandelt unter

Umständen tödlich verlaufen können. Die Krankheitsdauer liegt bei leichteren Fällen bei ca. 2 Wochen und bei schwereren Fällen bei 3 – 7 Wochen. Die Säugetierstämme führen beim Menschen nach erfolgter Infektion neben grippeähnlichen Erkrankungen und Pneumonien auch zu Konjunktividen und Fehlgeburten. Die jährlich sehr geringe Anzahl von etwa 100 bis 200 gemeldeten Ornithose-Fälle beim Menschen sind mit großer Wahrscheinlichkeit auf Verwechslungen von *Chlamydophila psittaci*-Infektionen mit grippalen Infekten wegen ähnlicher klinischer Symptome zurückzuführen. Aufgrund dieser Tatsache ist mit einer sehr hohen Dunkelziffer zu rechnen (SELBITZ, 1992*; SÜSS et al., 1996*; KRAUSS et al., 1997*; LEDERER und MÜLLER, 1999; ANDERSEN und VANROMPAY, 2003).

2.2.7.2 Diagnostik

Für eine sichere Diagnose einer frischen Infektion mit *C. trachomatis* empfiehlt sich der **direkte Erregernachweis** aus Proben von Genitalabstrichen, da die Bildung von Antikörpern frühestens fünf Tage post infectionem nachweisbar wird. Nach *C. trachomatis*-Infektionen können Antikörper monate- oder sogar jahrelang persistieren, sodass nicht zwischen zurückliegenden oder persistierenden Infektionen unterschieden werden kann. Der Erregernachweis ist über die Zellkultur, Immunfluoreszenz, den Antigen-ELISA oder die PCR möglich.

Die Diagnose einer *C. psittaci*- oder einer *C. pneumoniae*-Infektion wird in der Regel mit dem **indirekten Erregernachweis** durch den Nachweis spezifischer Antikörper im Serum gestellt. Traditionell wurde hierzu die Komplementbindungsreaktion eingesetzt, die aber als wenig sensitive Methode weder eine Speziesunterscheidung noch eine Differenzierung zwischen den Antikörperklassen erlaubt. Heute wird in der Regel der ELISA eingesetzt, durch den eine Unterscheidung zwischen IgM-, IgA- und IgG-Antikörpern möglich ist. Als beweisend für eine Infektion gilt auch hier der Titeranstieg in Serumpaaren. Die Referenzmethode zum Nachweis spezies-spezifischer Antikörper ist der Mikroimmunfluoreszenztest, der allerdings sehr aufwendig, nicht automatisierbar und anfällig für subjektive Fehler ist (PERSSON und HAIDL, 2000; RKI, 2001; BOWMANN et al., 2002).

2.2.7.3 Therapie

Das Mittel der Wahl bei der Therapie von Chlamydien-Infektionen sind Tetrazykline (Doxzyclin, Tetrazyklin) und Makrolide (Erythromycin, Roxithromycin, Clarithromycin, Azithromycin), aber auch Chinolone (Ciprofloxacin, Levofloxacin) wurden erfolgreich eingesetzt (ANDERSEN, 2000). Zur Vermeidung von Rezidiven oder chronischen Krankheitsverläufen mit langanhaltender Erregerpersistenz sind zum Teil längere Behandlungszeiträume von mehreren Wochen notwendig.

Eine kommerziell erhältliche Vakzine zum Schutz vor *Chlamydophila psittaci*-Infektionen existiert nicht (BLANCHARD und MARBEY, 1994).

3. Eigene Untersuchungen

3.1 Material und Methoden

3.1.1 Herkunft des Untersuchungsmaterials

Im Zeitraum von August 2001 bis August 2002 wurden in Zusammenarbeit mit dem Zoologischen Garten Berlin bei insgesamt 85 Tieren aus 6 unterschiedlichen Revieren des Zoos Blutproben gewonnen. Bei den ausgesuchten Tieren handelte es sich um 6 Rentiere (*Rangifer tarandus*), 11 Ceylon-Hutaffen (*Macaca sinica*), 11 Kirk Dik-Diks (*Rhynchotragus kirki*), einer Gruppe von 34 unterschiedlichen Haustieren, 11 Aras (*Ara spp.*) sowie 12 Hühnervögel (*Gallus gallus*) zweier unterschiedlicher Rassen. Ausschlaggebend für die Wahl einer Tiergruppe war ein früherer Nachweis von *Coxiella burnetii* und/oder *Chlamydophila psittaci* innerhalb der Gruppe durch Sektionsbefunde. Die nachgewiesenen Erreger waren hier sowohl mit Aborten als auch dem Auftreten von Frühsterblichkeiten bei Jungtieren assoziiert. Ferner führten sie zu zum Teil länger währenden Krankheitsgeschehen, wie zum Beispiel Pneumonien. Darüber hinaus musste ein sicherer und möglichst stressfreier Umgang mit dem Tier beim Erlangen der Proben gewährleistet sein.

Alle Tiere befanden sich für die Dauer der Untersuchungen in ihren gewöhnlichen Gehegen, mussten also nicht aus dem Schaubetrieb des Zoos genommen werden. Die Reviere aus denen die Tiere stammen, sind über das gesamte Zoogelände (35 ha) verteilt und die Tierhäuser haben keinen direkten Kontakt zueinander (s. Abb.2). Mit Ausnahme der Aragruppe standen allen Tieren neben ihren Innengehegen auch Außenanlagen zur Verfügung, die nach oben offen bzw. mit einem Gitter versehen sind.

Im gleichen Zeitraum wurden vom zuständigen Betriebsarzt des Zoos von 13 Pflegern jeweils bis zu drei Blutproben genommen. Bei den Pflegern handelte es sich um Personen, die in den Revieren der untersuchten Tiere arbeiteten und zum Teil direkten Kontakt mit den Tieren hatten. Die Proben der Personen wurden vor der Abgabe durch den Betriebsarzt anonymisiert und gelangten mit einem Barcode versehen zur Untersuchung.

Als Kontrollgruppe wurden vom Institut für Infektionsmedizin, Abteilung Virologie der Charité, Campus Benjamin Franklin, von 20 in Berlin wohnhaften Blutspendern, die zum Zeitpunkt der Blutabnahme gesund waren, je zwei Serumproben zur Verfügung gestellt. Neben dem Alter und Geschlecht, war von den Personen nur bekannt, dass sie nicht im direkten Kontakt mit Tieren arbeiteten und keine Haustiere besaßen.

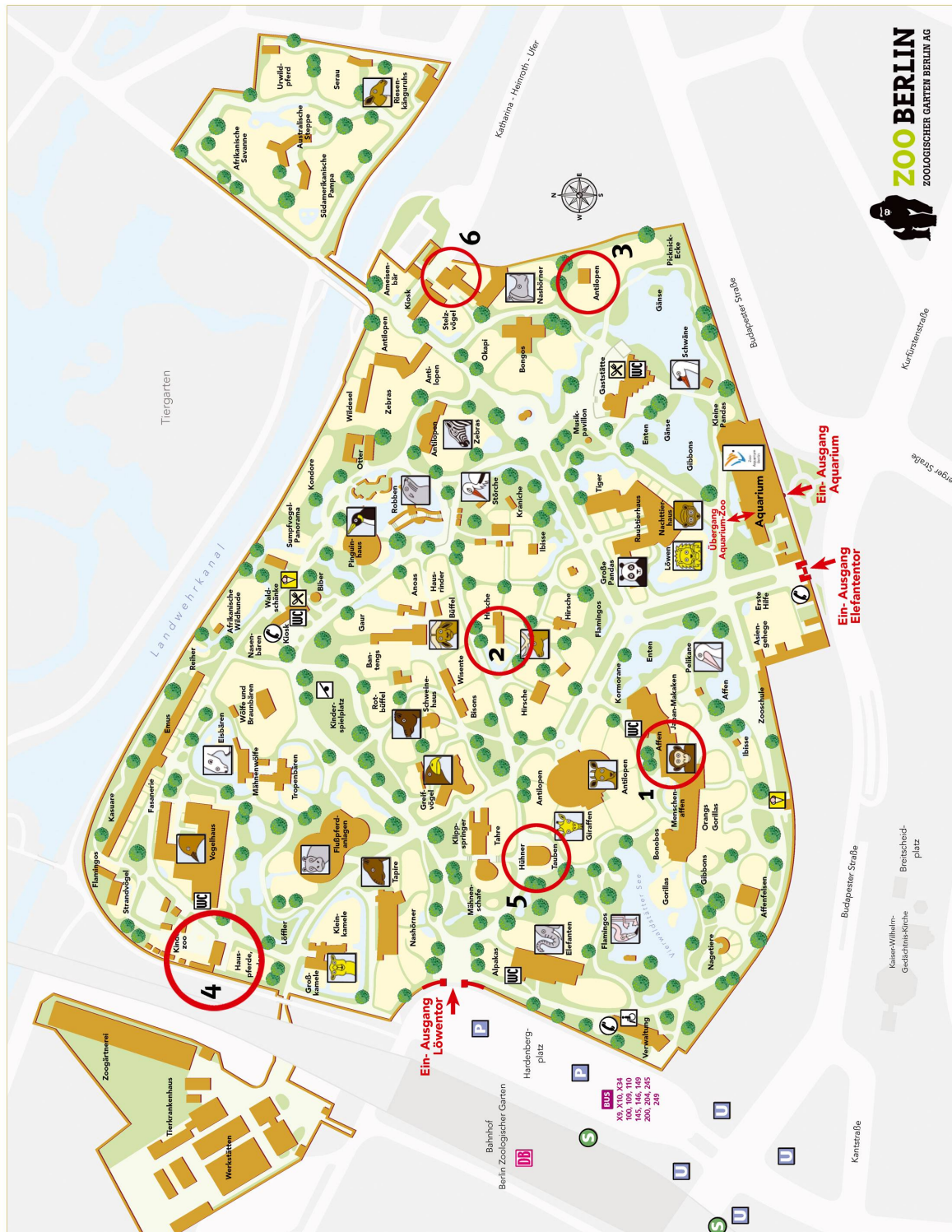


Abb. 2: Lageplan Zoologischer Garten Berlin AG

3.1.2 Gewinnung des Untersuchungsmaterials

In dem einjährigen Untersuchungszeitraum wurde angestrebt, von allen untersuchten Tieren des Zoos in einem Zeitabstand von 2 Wochen eine Blutprobe zum Nachweis von Antikörpern gegen *Coxiella burnetii* bzw. *Chlamydophila psittaci* zu erhalten. Die gute Unterstützung der Pfleger durch sichere und ruhige Fixation der Tiere sorgte für einen schonenden und zügigen Verlauf beim Erlangen dieser Proben. Gründe für Unterbrechungen der Probengewinnung einer Gruppe oder von Teilen einer Gruppe, die dazu führten, dass nicht durchgehend ein Zweiwochenintervall eingehalten wurde, konnten nahende oder gerade überstandene Geburten, Krankheiten der Tiere oder das Fehlen des Pflegers oder ähnliches sein.

Bei neugeborenen Tieren wurde je nach Tierart mit der Entnahme der ersten Blutprobe auf das Erreichen des Lebensalters gewartet, welches eine sichere und gefahrlose Blutabnahme ermöglichte.

Das von den Tieren gewonnene Blut wurde im Anschluss an die Abnahme zentrifugiert, das gewonnene Serum bis zur Untersuchung bei -20°C gelagert.

3.1.3 Datenauswertungen

Ziel der Datenauswertungen war es zu prüfen, ob sich in den ausgewählten Tiergruppen nach wie vor einzelne Reagenten anhand des Antikörpernachweises ausmachen ließen oder ob ganze Gruppen erhöhte Antikörpertiter gegen *C. burnetii* und/oder *C. psittaci* aufwiesen, um so Aufklärung über die epidemiologischen Verhältnisse der beiden Erreger im Zoo Berlin zu erlangen.

Zusätzlich sollte der Versuch unternommen werden zu zeigen, ob Personen, die als Tierpfleger in einer zoologischen Einrichtung tätig sind, ein statistisch höheres Risiko haben, sich mit *C. psittaci* zu infizieren, als Personen, die beruflich nicht mit Tieren zu tun haben.

Für die serologischen Untersuchungen der Säugetier- und Hühnerseren, sowie der Humanseren, stand ein *Coxiellen-* bzw. *Chlamydien-*Antikörper-ELISA des Chemischen und Veterinäruntersuchungsamtes (CVUA) Stuttgart zur Verfügung.

Zur Untersuchung der Papageisereisen wurde der RIDASCREEN *Chlamydia psittaci* ELISA der Firma r-biopharm herangezogen.

3.1.4 Angewendete Nachweismethoden

3.1.4.1 Nachweis von Antikörpern gegen *C. burnetii* bei Rentieren, Hutaffen, Dik-Diks und Haustieren mittels *C. burnetii*-Antikörper-ELISA des CVUA-Stuttgart

Kurzbeschreibung des Tests

Der *Coxiellen*-ELISA dient dem Nachweis von IgG-Antikörpern gegen *Coxiella burnetii* (*C. burnetii*) der Phase I und II im Blutserum oder Blutplasma von Rindern, Schafen und Ziegen. Bei diesem ELISA handelt es sich um ein indirektes ELISA-Testsystem.

Die Kavitäten der ELISA-Platten sind hierfür mit inaktivierten *C. burnetii*-Lipopolysaccharid-(LPS) Antigenen (Phase I und Phase II) beschichtet, die Antikörper gegen *Coxiellen* binden können. Zur Kontrolle unspezifischer Bindungen werden die Kavitäten der Mikrotiterplatten nicht nur mit *C. burnetii*-LPS-Antigenen, sondern auch abwechselnd mit Kontrollantigenen beschichtet. Gebundene Antikörper können mit Hilfe Peroxidase-markierter, monoklonaler Antiruminanten-Immunglobuline nachgewiesen werden.

Positive Reaktionen werden schließlich durch eine Grünverfärbung der zugegebenen ABTS-Substrat/Chromogen-Lösung in den mit *C. burnetii*-Antigenen beschichteten Kavitäten sichtbar.

Geräte und Materialien

- Kühlzentrifuge zum Zentrifugieren von Blutproben (z.B. Fa. Hettich, Tuttlingen)
- ELISA-Plattenwaschvorrichtung (Waschkamm, z.B. Fa. Nunc, Roskilde, Dänemark)
- ELISA-Reader (Dynatech MR 7000 microplate reader)
- ELISA-Plattenschüttler (z.B. Fa. IKA-Labortechnik, Staufen i. Br.)
- Handpipetten (z.B. Fa. Eppendorf, Hamburg)
- Reagenzglasschüttler (Vortex-Schüttler, z.B. Fa. IKA-Labortechnik, Staufen i. Br.)
- Brutschrank mit konstant 37°C (z.B. Fa. Memmert, Schwabach)

- Dialyseschlauch, Durchmesser 6 mm (z.B. Fa. Serva, Heidelberg)
- ELISA-Platten aus Polypropylen (Polysorp, Fa. Nunc, Roskilde, Dänemark)
- Klebefolien zum Versiegeln von ELISA-Mikrotiterplatten (z.B. Fa. Greiner, Nürtingen)
- Saugfähige Zellstoffunterlage

Reagenzien und Lösungen

- *C. burnetii*-Phase I- und Phase II-Antigen-Suspension sowie Phase I- und Phase II-Kontrollantigen-Suspension für die Komplementbindungsreaktion (KBR) (Fa. Virion Serion, Würzburg)
- Q-Fieber-Positivkontrollserum (Fa. Dr. Bommeli AG, Bern, Schweiz)
- Negativkontrollserum (Fa. Dr. Bommeli AG, Bern, Schweiz)
- Beschichtungspuffer (0,01 M Natrium-Carbonat-/Bicarbonat-Puffer, pH 9,6)
- Gepufferte physiologische Kochsalzlösung (PBS): 8,0 g NaCl; 2,9 g Na₂HPO₄; 12 H₂O; 0,2 g KCl; 0,2 g KH₂PO₄ in 1 Liter Aqua bidest. auflösen; pH-Wert, 7,2-7,4
- Wasch-/Verdünnungslösung (PBST): PBS mit Zusatz von 0,05% Tween 20 (Fa. Merck, Darmstadt) und optional Zugabe von Phenolrot bis zur deutlichen rosaroten Färbung
- Wasch-/Verdünnungspuffer (Fa. Dr. Bommeli AG, Bern, Schweiz)
- SDS-Lösung, 12,5% (Natrium-Dodecylsulfat, z.B. Fa. Roth, Karlsruhe) in Aqua bidest.
- Waschlösung (Dr. Bommeli AG, Bern, Schweiz)
- Proteinase K (Tritirachium album-Proteinase K [EC 3.4.21.64] P6556, Fa. Sigma, Deisenhofen)
- Protein-G-Peroxidase (Fa. Sigma)
- ABTS-Substrat-/Chromogenlösung (z.B. Fa. Kirkegaard & Perry Laboratories, Vertrieb über Fa. Dunn Labortechnik, Asbach)

Antigenherstellung für den Coxiellen-ELISA

Zur Beschichtung der ELISA-Platten wurden *C. burnetii*-LPS-Antigene in Anlehnung an die Methode von HITCHCOCK und BROWN (1983) gewonnen.

Für die Gewinnung von *C. burnetii*-Antigenen wurden 1 ml der unverdünnten, kommerziellen *C. burnetii*-Antigensuspension der Phase I- und 1 ml *C. burnetii*-Antigensuspension der Phase II mit jeweils 3 ml PBS-Lösung verdünnt. Dieselben 1:4 Verdünnungen sind für die jeweiligen, zu den *C. burnetii*-Antigenen zugehörigen negativen Kontrollantigene (Phase I- und Phase II-Kontrollantigen) hergestellt worden.

Zu jeder der 4 ml *C. burnetii*-Antigen- bzw. negativer Kontrollantigen-Suspensionen wurden 0,5 mg Proteinase K hinzugegeben (0,05 ml einer Stammlösung mit 2 mg Proteinase K pro 0,2 ml PBS-Lösung = 0,125 mg/ml) und für 4 Stunden bei 56°C im Wasserbad inkubiert.

Nach dieser Inkubation wurden zu jeder der 4 ml Coxiellen-Antigen- bzw. Coxiellen-freie Kontrollantigen-Suspension 0,16 ml einer 12,5%igen SDS-Lösung hinzugegeben (SDS-Endkonzentration 0,5%) und für 15 Minuten bei 100°C im Wasserbad zur LPS-Extraktion und Inaktivierung der Proteinase K erhitzt.

Die abgekühlten Suspensionen wurden anschließend in Dialyseschläuchen in getrennten Glaszylindern gegen Beschichtungspuffer unter täglich zweimaligem Wechsel des Beschichtungspuffers für insgesamt 3 Tage dialysiert.

Im Anschluß an die Dialyse erhielt man zum Beschichten von ELISA-Platten geeignete *C. burnetii*-Antigene und Kontrollantigene.

Testen der Coxiellen-AK-ELISA-Platten

Die dialysierten *C. burnetii*-LPS-Antigene und Kontrollantigene wurden jeweils 1:25, 1:50 und 1:100 in Beschichtungspuffer verdünnt und mit Hilfe eines Reagenzglasschüttlers gut durchmischt.

Von jeder der Verdünnungen wurden mindestens je 4 Kavitäten der ELISA-Platte (Doppelansatz) mit jeweils 0,1 ml gefüllt. Hierbei war es von Vorteil, das zu dem jeweiligen Coxiellen-positiven Antigen gehörende negative Kontrollantigen in die benachbarte Kavität nach dem unten aufgeführten Pipettierschema 1 einzufüllen (Kontrollantigen in Kavitäten der mit ungeraden Zahlen bezeichneten Spalten und LPS-Antigen in Kavitäten der mit geraden Zahlen bezeichneten Spalten der Mikrotiterplatte pipettieren).

Nach Versiegeln der ELISA-Platte mit einer selbstklebenden Folie und Inkubation im Brutschrank für 16-18 Stunden bei 37°C erfolgte viermaliges Waschen mit PBS, sorgfältiges Trockenklopfen der ELISA-Platte auf einer saugfähigen Zellstoffunterlage und Trocknen der Platten für 30 Minuten bei 37°C im Brutschrank.

Beschichtete *Coxiellen*-ELISA-Platten wurden mit in PBST verdünntem Positiv- und Negativkontrollserum auf ihre Antigenaktivitäten getestet (s. Pipettierschema 1). Die Verdünnung des Positivkontrollserums beträgt 1 : 400, die des Negativkontrollserums 1:100 in PBST.

Der *Coxiellen*-ELISA-Test wurde nach den unten aufgeführten Bedingungen durchgeführt. Die Antigenkonzentration, bei der nach einer Entwicklungszeit von 30 Minuten die höchste Differenz zwischen dem Mittelwert der Nettoextinktionswerte (korrigierter OD-Wert = optische Dichte) des Positivkontrollserums und dem Mittelwert der Nettoextinktionswerte des Negativkontrollserums (korrigiertem OD-Wert des Negativkontrollserums) erzielt wurde, wurde für die Herstellung weiterer *Coxiellen*-ELISA-Platten verwendet.

Erklärungen:

Korrigierter OD-Messwert des Positivkontrollserums: Differenz zwischen OD-Messwert des Positivkontrollserums in der mit Antigen beschichteten Kavität und OD-Messwert des Positivkontrollserums in der mit Kontrollantigen beschichteten Kavität.

Korrigierter OD-Messwert des Negativkontrollserums: Differenz zwischen OD-Messwert des Negativkontrollserums in der mit Antigen beschichteten Kavität und OD-Messwert des Negativkontrollserums in der mit Kontrollantigen beschichteten Kavität.

Pipettierschema 1: Beispiel für die Beschichtung einer ELISA-Platte mit *C. burnetii*- und Kontrollantigen zum Austesten optimaler Antigenkonzentrationen.

	1 - ¹	2 + ²	3 -	4 +	5 -	6 +	7 -	8 +	9 -	10 +	11 -	12 +
A	KAG 1:25 PK	QAG 1:25 PK	KAG 1:25 NK	QAG 1:25 NK	/	/	/	/	/	/	/	/
B	KAG 1:50 PK	QAG 1:50 PK	KAG 1:50 NK	QAG 1:50 NK	/	/	/	/	/	/	/	/
C	KAG 1:100 PK	QAG 1:100 PK	KAG 1:100 NK	QAG 1:100 NK	/	/	/	/	/	/	/	/
D	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
E	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
F	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
G	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
H	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/

¹ = mit Kontrollantigen beschichtete Kavitäten einer Spalte (KAG)

² = mit *C. burnetii*-Antigen beschichtete Kavitäten einer Spalte (QAG)

PK = Positivkontrollserum

NK = Negativkontrollserum

Die *Coxiellen*-ELISA-Platten wurden nach der Beschichtung und dem Waschen mit PBS-Lösung bei 37°C in Brutschrank für 20 Minuten getrocknet und nach Versiegeln mit einer selbstklebenden Folie bei 5-10°C im Kühlschrank bis zum Gebrauch gelagert. Die ELISA-Platten wurden mit „*Coxiellen*-ELISA“ und dem Herstellungsdatum als Chargenbezeichnung gekennzeichnet:

Coxiellen-ELISA Ch.: Tag.Monat.Jahr
--

Vorversuche:

Ein in der Coxiellen-KBR positives Rinderserum wurde zusammen mit einer kommerziell erhältlichen Positivkontrolle der Firma Bommeli sowie einer Negativkontrolle derselben Firma und einem negativen FKS in der Verdünnungsstufe 1 : 100 angesetzt. Um ein geeignetes Konjugat zu finden, wurde jeweils ein monoklonales Konjugat der Firma Bommeli, Protein-G-Peroxidase der Firma Sigma in verschiedenen Verdünnungsstufen und Protein-G-Peroxidase der Firma Idexx gegenübergestellt. Verwendung in den Versuchen der vorliegenden Arbeit fand dann die Protein-G-Peroxidase der Firma Sigma.

In weiteren Vorversuchen sollte geklärt werden, ob der vorliegende ELISA-Test mit dem verwendeten Konjugat auch für serologische Untersuchungen bei Zoo-/Wildtieren anwendbar war. Dazu wurden *Coxiellen*-positive Seren von *Bovidae*, *Capridae*, *Ovidae*, *Equidae*, *Cervidae*, *Anatidae*, *Phasianidae* und von Primaten aus dem Stuttgarter Zoo Wilhelma mit dem Konjugat in verschiedenen Verdünnungsstufen untersucht. Ein Antikörpernachweis bei Säugetieren war mit dem Test möglich, jedoch konnten keine Reaktionen auf Immunglobuline der Vogelproben festgestellt werden.

Durchführung des Tests

Vor Beginn des Tests wurden die mit Folie versiegelten ELISA-Platten sowie alle benötigten Reagenzien auf Raumtemperatur gebracht.

Die Säugetierproben, sowie das Negativ- und das Positivkontrollserum, wurden im Verhältnis 1 : 100 in PBST (0,05%) verdünnt und mit Hilfe eines Reagenzglasschüttlers gut durchmischt. Von den Proben und den Kontrollen wurden anschließend jeweils 0,1 ml pro Kontrollantigen- und Antigen beschichteter Kavität eingefüllt. Die Positiv- und Negativkontrollseren wurden im Doppelansatz pipettiert. Die Proben konnten gemäß dem nachfolgenden Pipettiertschema 2 im Doppelansatz eingefüllt werden.

Pipettierschema 2: Doppelansatz von Proben im *C. burnetii*-ELISA

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	-¹	+²	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+
A	PK	PK	P3	P3	P7	P7	P11	P11	P15	P15	P19	P19
B	PK	PK	P3	P3	P7	P7	P11	P11	P15	P15	P19	P19
C	NK	NK	P4	P4	P8	P8	P12	P12	P16	P16	P20	P20
D	NK	NK	P4	P4	P8	P8	P12	P12	P16	P16	P20	P20
E	P1	P1	P5	P5	P9	P9	P13	P13	P17	P17	PK	PK
F	P1	P1	P5	P5	P9	P9	P13	P13	P17	P17	PK	PK
G	P2	P2	P6	P6	P10	P10	P14	P14	P18	P18	NK	NK
H	P2	P2	P6	P6	P10	P10	P14	P14	P18	P18	NK	NK

¹ = mit Kontrollantigen beschichtete Kavitäten einer Spalte

² = mit *Coxiellen*-Antigen beschichtete Kavitäten einer Spalte

PK = Positivkontrollserum (*C. burnetii*-AK-positiv)

NK = Negativkontrollserum (*C. burnetii*-AK-negativ)

Nach dem Füllen der ELISA-Platte wurde diese mit einer selbstklebenden Folie versiegelt und für 16-18 Stunden bei 5-10°C inkubiert.

Anschließend an die Kühlschrankinkubation wurde die Platte viermal mit Waschlösung (Bommeli) gewaschen und anschließend trockengeklopft. Auf das Einfüllen von 0,1 ml des im Verhältnis 1 : 2000 in PBST (0,05%) verdünnten Protein-G-Peroxidase-Konjugates pro Kavität und Versiegeln der ELISA-Platte mit einer selbstklebenden Folie folgte eine Inkubation für 60 Minuten bei 37°C im Brutschrank.

Nach erneutem viermaligem Waschen der Platten mit Waschlösung und sorgfältigem Trockenklopfen folgte das Einfüllen von 0,1 ml ABTS-Substrat-/Chromogen-Lösung pro Kavität und eine Entwicklung der ELISA-Platte bei Raumtemperatur für 10 Minuten. Das Ablesen der Platten erfolgte durch photometrische Messung der OD (optischen Dichte) bei 405 nm (Referenzwellenlänge von 492 nm).

Testauswertung

Zunächst wurden die OD-Messwerte des Positivkontrollserums, des Negativkontrollserums und der Proben der mit *C. burnetii*-Antigenen beschichteten Kavitäten um die OD-Messwerte der zugehörigen mit Kontrollantigenen beschichteten Kavitäten korrigiert.

Aus den korrigierten OD-Messwerten wurden anschließend bei Doppelansätzen Mittelwerte gebildet. Das Positivkontrollserum sollte hierbei einen korrigierten OD-Messwert von 0.800 bis 1.500 erreichen.

Korrektur der OD-Messwerte: $(OD^+_{PK} - OD^-_{PK})$, $(OD^+_{NK} - OD^-_{NK})$ und $(OD^+_P - OD^-_P)$

OD^+_{PK} , OD^+_{NK} , OD^+_P = OD-Messwert des Positivkontrollserums, des Negativkontrollserums bzw. einer Probe in der mit Coxiellen-Antigen beschichteten Kavität (bei Mehrfachansätzen OD-Mittelwerte)

OD^-_{PK} , OD^-_{NK} , OD^-_P = OD-Messwert des Positivkontrollserums, des Negativkontrollserums bzw. einer Probe in der mit *Coxiellen*-Kontrollantigen beschichteten Kavität (bei Mehrfachansätzen OD-Mittelwerte).

Die Beurteilung der Messergebnisse erfolgte nach Errechnung von Indexwerten gemäß folgender Formel:

$$\text{Indexwert} = \frac{(OD^+_P - OD^-_P) - (OD^+_{NK} - OD^-_{NK})}{(OD^+_{PK} - OD^-_{PK}) - (OD^+_{NK} - OD^-_{NK})}$$

Es wurde keine Beurteilung der Indexwerte vorgenommen. Eine Beurteilung der Messergebnisse mit einer Einteilung in positiv, negativ und fraglich anhand der Indexwerte, wie sie das CVUA-Stuttgart für die Anwendung bei Wiederkäuern vorgibt (Indexwert $\geq 0,4$ wurden als positiv bewertet), hat keine Gültigkeit für die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Wildtiere.

3.1.4.2 Nachweis von Antikörpern gegen *C. psittaci* bei Rentieren, Hutaffen, Dik-Diks, Hühnern, Haustieren und den Personengruppen mittels *C. psittaci*-Antikörper-ELISA des CVUA-Stuttgart

Kurzbeschreibung des Tests

Der *Chlamydien*-ELISA dient dem Nachweis von IgG-Antikörpern gegen *Chlamydien* (*Chlamydophila psittaci* und *Chlamydia pecorum*) im Blutserum oder Blutplasma von Rindern, Schafen und Ziegen.

Bei diesem ELISA handelt es sich um ein indirektes ELISA-Testsystem. Die Kavitäten der ELISA-Platten sind hierfür mit inaktiviertem *C. psittaci*-LPS- (Lipopolysaccharid) Antigen beschichtet, die Antikörper gegen *Chlamydien* binden können. Zur Kontrolle unspezifischer Bindungen werden die Kavitäten der Mikrotiterplatten nicht nur mit *C. psittaci*-LPS-Antigen, sondern auch abwechselnd mit negativem, *Chlamydien*-freien Kontrollantigen beschichtet. Gebundene Antikörper können mit Hilfe Peroxidase-markierter, monoklonaler Antiruminanten-Immunglobuline nachgewiesen werden. Positive Reaktionen werden schließlich durch eine deutliche Grünverfärbung der zugegebenen ABTS-Substrat/Chromogen-Lösung in den mit *C. psittaci*-LPS-Antigen beschichteten Kavitäten sichtbar.

Geräte und Materialien

Siehe 3.1.4.1

Reagenzien und Lösungen

- *Chlamydia psittaci*-Antigen- sowie negative Kontrollantigen-Suspension für die Komplementbindungsreaktion (KBR) (Fa. Virion/Serion, Würzburg)
- Ornithose-Positivkontrollserum (1 : 400; Fa. Dr. Bommeli AG, Bern, Schweiz)
- Negativkontrollserum (Fa. Dr. Bommeli AG, Bern, Schweiz)

- Positivkontrollserum einer Mitarbeiterin des ILAT im BBGes zur Untersuchung der Humanproben
- *Chlamydien*-Antikörper-negatives Kontrollserum eines Mitarbeiters aus dem ILAT im BBGes zur Untersuchung der Humanproben
- Beschichtungspuffer (0,01 M Natrium-Carbonat-/Bicarbonat-Puffer, pH 9,6)
- Gepufferte physiologische Kochsalzlösung (PBS): 8,0 g NaCl; 2,9 g Na₂HPO₄ · 12 H₂O; 0,2 g KCL; 0,2 g KH₂PO₄ in 1 Liter Aqua bidest. auflösen; pH-Wert: 7,2-7,4
- Wasch-/Verdünnungslösung (PBST): PBS mit Zusatz von 0,2% Tween 20 (Fa. Merck, Darmstadt) und optional Zugabe von Phenolrot bis zur deutliche rosaroten Färbung
- Waschlösung (Dr. Bommeli AG, Bern, Schweiz)
- SDS-Lösung, 12,5% (Natrium-Dodecylsulfat, z.B. Fa. Roth, Karlsruhe) in Aqua bidest.
- Proteinase K (Tritirachium album-Proteinase K [EC 3.4.21.64] P6556, Sigma, Deisenhofen)
- Protein-G-Peroxidase (Fa. Sigma)
- Rabbit anti human IgG (H+L) Po zur Untersuchung der Humanproben
- ABTS-Substrat-/Chromogenlösung (z.B. Kirkegaard & Perry Laboratories, Vertrieb über Fa. Dunn Labortechnik, Asbach)

Die Antigenherstellung, das Testen und die Beschichtung der Chlamydien-ELISA-Platten erfolgte in Anlehnung an das im Kapitel 3.1.4.1 beschriebene Verfahren für den *C. burnetii*-Antikörper-ELISA des CVUA Stuttgart.

Auch die Vorversuche zur Klärung der Verwendbarkeit des Tests für die Seren der Zoo-/Wildtiere aus dem Stuttgarter Zoo Wilhelma wurden wie in Kapitel 3.1.4.1 durchgeführt.

Während die Vorversuche zeigten, dass ein Nachweis von *C. psittaci*-Antikörpern aus Seren von Säugern und Hühnervögeln möglich war, gelang dieser Nachweis aus Seren von Psittaciden nicht. Die Seren der Psittaciden wurden daher mit dem im Kapitel 3.1.4.3 beschriebenen Test untersucht.

Durchführung des Tests

Vor Beginn des Tests wurden die mit Folie versiegelten ELISA-Platten sowie alle benötigten Reagenzien auf Raumtemperatur gebracht.

Die Proben, sowie das Negativ- und das Positivkontrollserum, wurden im Verhältnis 1 : 100 in PBST (0,2%) verdünnt und mit Hilfe eines Reagenzglasschüttlers gut durchmischt. Von den Proben und den Kontrollen wurden anschließend jeweils 0,1 ml pro Kontrollantigen- und Antigen beschichteter Kavität eingefüllt. Die Positiv- und Negativkontrollseren wurden im Doppelansatz pipettiert. Die Proben der Hühnergruppen und der Personengruppen konnten gemäß dem Pipettierschema 2 (s. 3.1.4.1) im Doppelansatz eingefüllt werden.

Die übrigen Proben wurden gemäß dem Pipettierschema 3 im Einfachansatz eingefüllt.

Pipettierschema 3: Einfachansatz von Proben im *Chlamydien*-ELISA

	1 - ¹	2 + ²	3 -	4 +	5 -	6 +	7 -	8 +	9 -	10 +	11 -	12 +
A	PK	PK	P5	P5	P13	P13	P21	P21	P29	P29	P37	P37
B	PK	PK	P6	P6	P14	P14	P22	P22	P30	P30	P38	P38
C	NK	NK	P7	P7	P15	P15	P23	P23	P31	P31	P39	P39
D	NK	NK	P8	P8	P16	P16	P24	P24	P32	P32	P40	P40
E	P1	P1	P9	P9	P17	P17	P25	P25	P33	P33	P41	P41
F	P2	P2	P10	P10	P18	P18	P26	P26	P34	P34	P42	P42
G	P3	P3	P11	P11	P19	P19	P27	P27	P35	P35	P43	P43
H	P4	P4	P12	P12	P20	P20	P28	P28	P36	P36	P44	P44

¹ = mit Kontrollantigen beschichtete Kavitäten einer Spalte

² = mit *Chlamydien*-Antigen beschichtete Kavitäten einer Spalte

PK = Positivkontrollserum (*Chlamydien* -AK-positiv)

NK = Negativkontrollserum (*Chlamydien* -AK-negativ)

Nach dem Füllen der ELISA-Platte wurde diese mit einer selbstklebenden Folie versiegelt und für 16-18 Stunden bei 5-10°C inkubiert.

Anschließend an die Kühlschrankinkubation wurde die Platte viermal mit Waschlösung (Fa. Bommeli) gewaschen und anschließend trockengeklopft. Auf das Einfüllen von 0,1 ml des im Verhältnis 1 : 500 in PBST (0,2%) verdünnten Protein-G-Peroxidase-Konjugates pro Kavität und Versiegeln der ELISA-Platte mit einer selbstklebenden Folie folgte eine Inkubation für 60 Minuten bei 37°C im Brutschrank. Das Konjugat zur Untersuchung der Humanseren wurde im Verhältnis 1 : 6000 in PBST (0,2%) verdünnt.

Nach erneutem viermaligem Waschen der Platten mit Waschlösung und sorgfältigem Trockenklopfen folgte das Einfüllen von 0,1 ml ABTS-Substrat-/Chromogen-Lösung pro Kavität und eine Entwicklung der ELISA-Platte bei Raumtemperatur für 10 Minuten. Das Ablesen der Platten erfolgte durch photometrische Messung der OD (optischen Dichte) bei 405 nm (Referenzwellenlänge von 492 nm).

Die Testauswertung wurde, wie unter 3.1.4.1 für den *C. burnetii*-Antikörper-ELISA beschrieben, vorgenommen.

3.1.4.3 Nachweis von Antikörpern gegen *C. psittaci* bei Aras mittels *C. psittaci*-Antikörper-ELISA, RIDASCREEN der Firma r-biopharm

Kurzbeschreibung des Tests

Anders als der *C. psittaci*-Antikörper-ELISA aus Stuttgart arbeitet der RIDASCREEN *C. psittaci*-Test Spezies-unabhängig und wurde zur Bearbeitung der Psittaciden-Proben eingesetzt. Es handelt sich hierbei um einen kompetitiven Enzymimmunoassay zum Nachweis von Antikörpern gegen *C. psittaci* bei Vögeln.

Die Vertiefungen der ELISA-Platten wurden vom Hersteller mit hochgereinigtem *C. psittaci*-Antigen beschichtet. Die zu untersuchenden Serumproben wurden zusammen mit einem monoklonalen Anti-Chlamydien-Antikörper, der mit Meerrettich-Peroxidase konjugiert war, inkubiert. Dabei konkurrierten die im Serum nachzuweisenden Antikörper gegen *C. psittaci* mit dem gleichzeitig zugegebenen monoklonalen, enzymkonjugierten Anti-Chlamydien-Antikörper um die Bindung an das immobilisierte Antigen.

Nach 60minütiger Inkubation bei Raumtemperatur wurden die freien, nicht gebundenen POD-konjugierten Antikörper in einem Waschschrift entfernt. Nach der Zugabe von Substrat

(Harnstoffperoxid) und Chromogen (Tetramethylbenzidin) schloss sich eine weitere Inkubation bei Raumtemperatur für 30 min an. Gebundenes Enzymkonjugat wandelte das farblose Substrat/Chromogen-Gemisch in ein blaues Endprodukt um. Die Zugabe des Stopp-Reagenzes führte zu einem Farbumschlag von blau nach gelb. Die Messung erfolgte photometrisch bei 450 nm. Die Extinktion war umgekehrt proportional zur Konzentration der *Chlamydien*-Antikörper in der Probe.

Geräte und Materialien

- Kühlzentrifuge zum Zentrifugieren von Blutproben (z.B. Fa. Hettich, Tuttlingen)
- ELISA-Plattenwaschvorrichtung (Waschkamm, z.B. Fa. Nunc, Roskilde, Dänemark)
- ELISA-Reader (Dynatech MR 7000 microplate reader)
- ELISA-Plattenschüttler (z.B. Fa. IKA-Labortechnik, Staufen i. Br.)
- Handpipetten (z.B. Fa. Eppendorf, Hamburg)
- Reagenzglasschüttler (Vortex-Schüttler, z.B. Fa. IKA-Labortechnik, Staufen i. Br.)
- Brutschrank mit konstant 37°C (z.B. Fa. Memmert, Schwabach)
- Mikrotiterplatten
- Klebefolien zum Versiegeln von ELISA-Mikrotiterplatten (z.B. Fa. Greiner, Nürtingen)
- Saugfähige Zellstoffunterlage

Reagenzien und Lösungen

- Negativkontrolle, fötales Kälberserum
- Positivkontrolle, *Chlamydien*-Antikörper positives Serum, Rind
- Peroxidase-konjugierter monoklonaler Antikörper, Konzentrat
- Substrat, enthält Harnstoffperoxid
- Chromogen, enthält Tetramethylbenzidin
- Stopp-Reagenz, enthält 1 M Schwefelsäure

- Probenverdünnungspuffer
- Konjugatverdünnungspuffer
- Destilliertes Wasser

Durchführung des Tests

Vor Beginn des Tests wurden die mit Folie versiegelten ELISA-Platten sowie alle benötigten Reagenzien auf Raumtemperatur gebracht.

Je 20 μl der zwei Negativkontrollen und der Positivkontrolle, bzw. der Proben, wurden in die entsprechenden Kavitäten pipettiert, um im Anschluss je 100 μl verdünnte Enzymkonjugat-Lösung den Kavitäten hinzuzufügen. Danach folgte eine 60 minütige Inkubation bei Raumtemperatur. Dann wurden die Kavitäten durch Ausschlagen der Flüssigkeit geleert, gefolgt von einem zweimaligen Waschvorgang mit jeweils 250 μl pro Kavität. Im nächsten Schritt wurden je 50 μl Substrat und unmittelbar danach je 50 μl Chromogen in die Kavitäten pipettiert, durchmischt und bei Raumtemperatur im Dunkeln für 30 Minuten inkubiert. Nach der Zugabe von jeweils 100 μl Stopp-Reagenz pro Kavität, konnte nach dem Durchmischen die Extinktion bei 450 nm innerhalb von 60 Minuten gemessen werden.

Das Einfüllen der Positiv- und Negativkontrollen und das Befüllen der Ara-Proben im Einfachansatz, erfolgten nach dem unten angeführten Pipettierschema 4.

Pipettierschema 4: Einfachansatz der Ara-Proben im *Chlamydien*-ELISA

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	PK	PK	P6	P6	P14	P14	P22	P22	P30	P30	P38	P38
B	NK	NK	P7	P7	P15	P15	P23	P23	P31	P31	P39	P39
C	NK	NK	P8	P8	P16	P16	P24	P24	P32	P32	P40	P40
D	P1	P1	P9	P9	P17	P17	P25	P25	P33	P33	P41	P41
E	P2	P2	P10	P10	P18	P18	P26	P26	P34	P34	P42	P42
F	P3	P3	P11	P11	P19	P19	P27	P27	P35	P35	P43	P43
G	P4	P4	P12	P12	P20	P20	P28	P28	P36	P36	P44	P44
H	P5	P5	P13	P13	P21	P21	P29	P29	P37	P37	P45	P45

PK = Positivkontrollserum (*Chlamydien* -AK-positiv)

NK = Negativkontrollserum (*Chlamydien* -AK-negativ)

Testauswertung

Aus dem Extinktionswert der Probe und dem Extinktionsmittelwert der Negativkontrollen wurde die prozentuale Hemmung berechnet.

$$\text{Hemmung (\%)} = 100 - \frac{\text{Extinktionswert der Probe} \times 100}{\text{Extinktionsmittelwert der Negativkontrollen}}$$

Zur Beurteilung der Messergebnisse wurde ein Grenzwert herangezogen. Dieser Grenzwert wurde bei einer Hemmung von 20 % festgelegt, d.h. eine Hemmung zwischen 0 und 20 % repräsentiert ein negatives, zwischen 20 und 40 % ein schwach positives, zwischen 40 und 60 % ein positives und eine Hemmung > 60 % ein stark positives Resultat.

3.1.4.4 Beschreibung der unter 4.1. – 4.4. verwendeten Boxplots zur Darstellung der Verteilung der Messergebnisse bei den Tier- und Humangruppen

Der Boxplot besteht aus einer Box, die vom ersten und dritten Quartil (25 bzw. 75 Perzentil) begrenzt wird und deren innere Linie den Median repräsentiert. Ferner werden der kleinste und größte Wert markiert, sofern sie keine Ausreißer sind (s. Abb. 3).

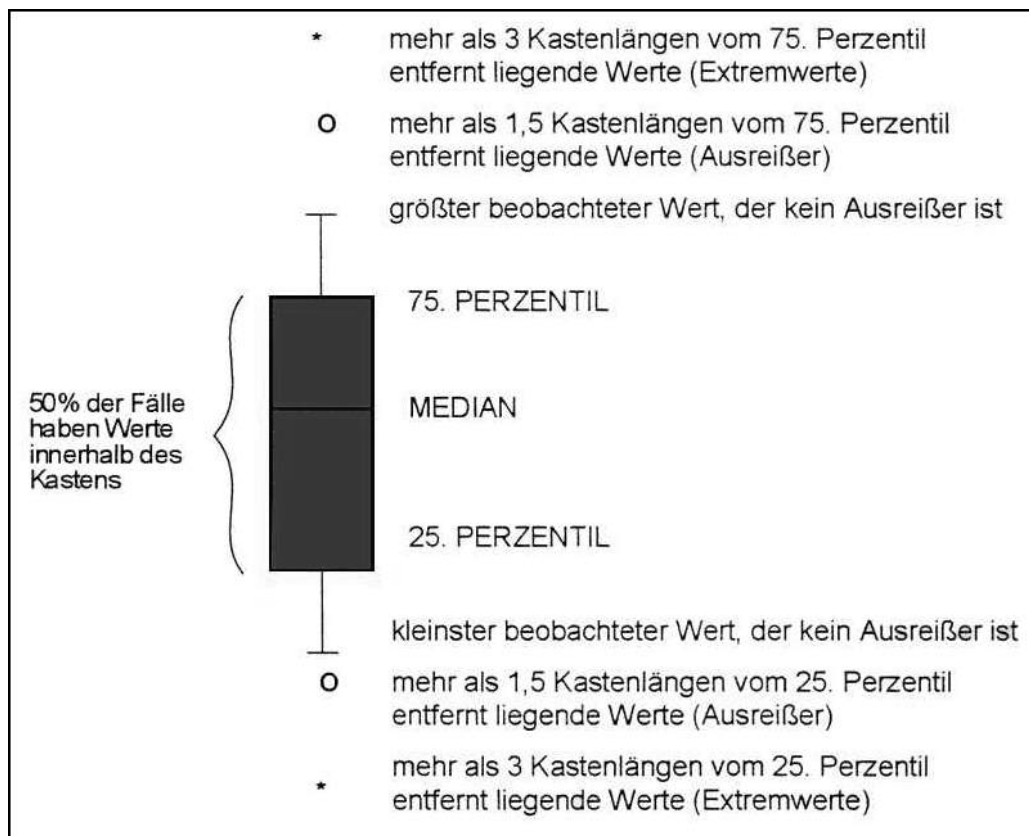


Abb. 3: Boxplot

Werte, die um mehr als drei Kastenlängen außerhalb liegen (Extremwerte), werden im Boxplot mit einem Stern markiert. Werte, die um mehr als anderthalb Kastenlängen außerhalb liegen, werden mit einem Kreis gekennzeichnet (SPSS Version 10, 2000).

4. Ergebnisse

4.1 Untersuchungen zur Messgenauigkeit des Testverfahrens (*C. burnetii*-Antikörper-ELISA) anhand der Coxiellenmessergebnisse

Die Gruppen der Hutaffen, Rentiere, Dik-Diks und Haustiere wurden auf Coxiellenantikörper untersucht. Jede an einem Tag von einem Tier gewonnene Blutprobe wurde im Doppelansatz mit dem zuvor beschriebenen ELISA-Verfahren untersucht, sodass pro Blutentnahmedatum zwei Messergebnisse vorhanden waren. Zur Beschreibung der Messgenauigkeit dieses Verfahrens wurden die Differenzen der Doppelmessungen berechnet.

Als arithmetisches Mittel der 1.224 Differenzen ergab sich ein Wert von -0,005.

Das Minimum lag bei - 0,697, die maximale Differenz betrug 0,999. 25% der Ergebnisse lagen unter - 0,018, in 50% der Fälle war die Differenz kleiner als - 0,003 und 75% lagen unter 0,011. Das heißt, 50% der Differenzen lagen zwischen - 0,018 und 0,011.

n		1224
Mittelwert der Indexwerte		-.00569
Minimum der Indexwerte		-.697
Maximum der Indexwerte		.999
Perzentile	25	-.01800
	50	-.00300
	75	.01100

Tab. 3: Statistiken der Differenzen der Indexwerte (s. 3.1.4.1) des *C. burnetii*-Antikörper-ELISA der Tiergruppen.

n = Anzahl der gültigen Serumproben, die im Doppelansatz untersucht wurden.

4.2 Vergleich der Mittelwerte der Indexwerte pro Tier über den Untersuchungszeitraum - *Coxiellen*

Um die Gruppen bezüglich der Indexwerte zu vergleichen, wurden die Werte der Serumproben jedes Tieres durch das arithmetische Mittel aller im Versuchszeitraum genommenen Werte charakterisiert. Tab. 4 enthält die Statistiken der mittleren Indexwerte, getrennt nach Tiergruppen.

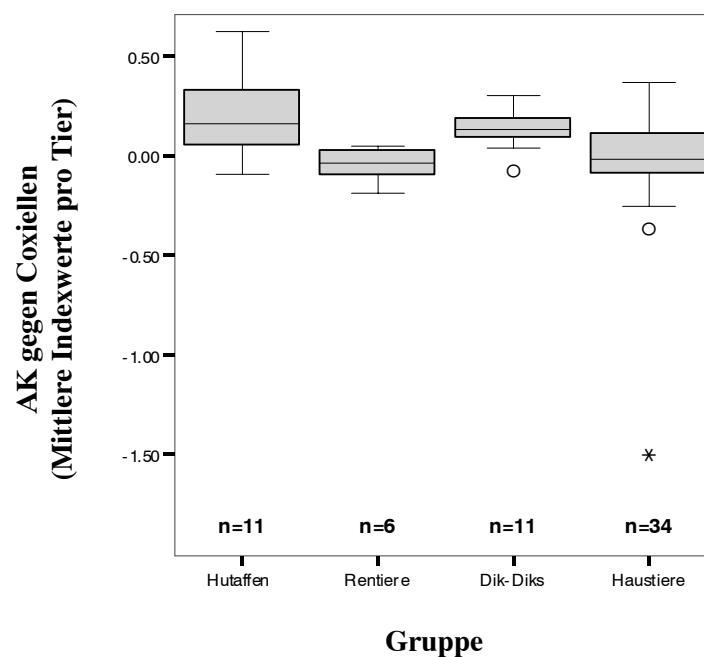


Abb. 4: Mittelwerte pro Tier über alle Zeitpunkte - Vergleich der Gruppen

Gruppe	n	Minimum der Indexwerte	Maximum der Indexwerte	Perzentile		
				25	50	75
Hutaffen	11	-.10	.62	.0428	.1582	.3928
Rentiere	6	-.19	.05	-.1206	-.0344	.0305
Dik-Diks	11	-.08	.30	.0639	.1319	.2004
Haustiere	34	-1.49	.36	-.0825	-.0205	.1128

Tab.4: Statistiken der mittleren Indexwerte des *C. burnetii*-Antikörper-ELISA pro Tier

n = Anzahl der Tiere je Gruppe

In der Hutaffengruppe hatten 50% der Tiere einen mittleren Indexwert unter 0,1582, der minimale Wert eines Tieres über das Jahr war $-0,1$, der maximale Wert betrug 0,62.

Die Blutproben der Rentiere ergaben in 50% der Fälle einen Median $< -0,0344$. Das Minimum der Werte betrug $-0,19$, das Maximum 0,05.

50% der Dik-Diks hatten einen mittleren Indexwert $< 0,1319$, der minimale Mittelwert betrug $-0,08$, der maximale Mittelwert war in dieser Tiergruppe 0,3.

In der Haustierrgruppe hatten 50% der Tiere einen Median unter $-0,0205$, der minimale Mittelwert betrug $-1,49$, der maximale Mittelwert eines Tieres über den Untersuchungszeitraum betrug 0,36.

4.3 Vergleich der mittleren Indexwerte pro Tier über den Untersuchungszeitraum - *Chlamydien*

Die Auswertung erfolgte wie unter 4.2. beschrieben.

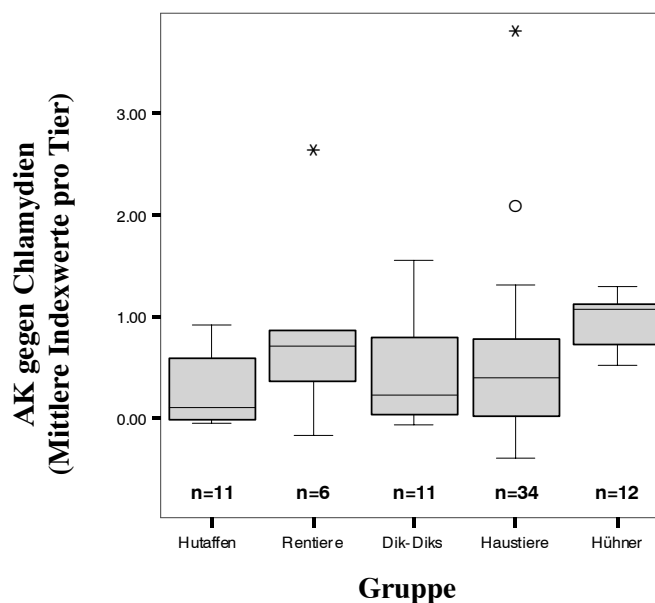


Abb. 5: Mittelwerte pro Tier über alle Zeitpunkte - Vergleich der Gruppen

Gruppe	n	Minimum der Indexwerte	Maximum der Indexwerte	Perzentile		
				25	50	75
1 Hutaffen	11	-.05	.91	-.0190	.0970	.7535
2 Rentiere	6	-.17	2.63	.2198	.7060	1.3010
3 Dik-Diks	11	-.07	1.55	.0231	.2245	1.0881
4 Haustiere	34	-.41	3.81	.0144	.3887	.8161
5 Hühner	12	.51	1.28	.7026	1.0629	1.1304

Tab.5: Statistiken der mittleren Indexwerte des *C. psittaci*-Antikörper-ELISA pro Tier

n = Anzahl der Tiere je Gruppe

In der Hutaffengruppe lagen 50% der Mittelwerte der Indexwerte unter 0,097, der minimale Mittelwert eines Tieres über das Jahr war – 0,05, der maximale Mittelwert betrug 0,91.

Die Blutproben der Rentiere ergaben in 50% der Fälle einen Median von 0,706. Das Minimum der Mittelwerte betrug - 0,17, das Maximum 2,63.

50% der Dik-Diks hatten einen mittleren Indexwert unter 0,2245, der minimale Mittelwert betrug – 0,07, der maximale Mittelwert war in dieser Tiergruppe 1,55.

In der Haustiergruppe hatten 50% der Tiere einen Median unter 0,3887, der minimale Mittelwert betrug -0,41, der maximale Mittelwert eines Tieres über den Untersuchungszeitraum betrug 3,81.

Von den Blutproben der Hühner waren 50% der Mittelwerte der Indexwerte kleiner als 1,0629, der minimale Mittelwert betrug 0,51, der maximale Mittelwert eines Huhns betrug 1,28.

Da die Serumproben der Aras mit einem anderen Antikörper-ELISA-Testsystem (*C. psittaci*-Antikörper-ELISA, RIDASCREEN der Firma r-biopharm) untersucht wurden, war ein Vergleich der Mittelwerte der Indexwerte mit den übrigen Tiergruppen nicht möglich. Die Messergebnisse wurden bei diesem Test als prozentuale Hemmung dargestellt. Bei der Aragruppe lagen 50% der Mittelwerte der Hemmungen unter 42,73 %, das Minimum der Mittelwerte betrug 10,02 % und das Maximum 64,56 %.

Aras	n	11	
	Minimum der Indexwerte	10.02	
	Maximum der Indexwerte	64.56	
	Perzentile	25	30.2140
		50	42.7340
		75	53.4204

Tab.6: Statistiken der mittleren Indexwerte des *C. psittaci*-Antikörper-ELISA, RIDASCREEN der Aras

n = Anzahl der Aras in der Gruppe

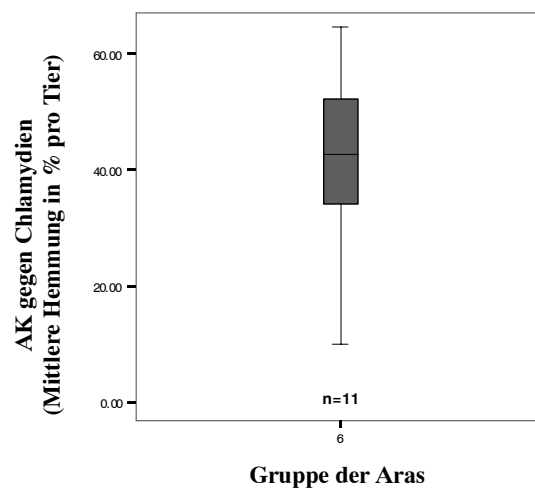


Abb.6: Mittelwerte pro Tier über alle Zeitpunkte

4.4 Untersuchungen zur Messgenauigkeit des Testverfahrens
(*C. psittaci*-Antikörper-ELISA) anhand der Messergebnisse
der Humanproben.

Die Personengruppen aus dem Charité Campus Benjamin Franklin (Kontrollgruppe) bzw. aus dem Zoo (Probanden) wurden auf Antikörper gegen *Chlamydien* untersucht. Jede an einem Tag gewonnene Blutprobe wurde im Doppelansatz mit dem zuvor beschriebenen ELISA-Verfahren untersucht, sodass pro Blutentnahmedatum zwei Messergebnisse vorhanden waren. Zur Beschreibung der Messgenauigkeit dieses Verfahrens wurden die Differenzen der Doppelmessungen berechnet. Die Tab. 7 stellt die Differenzen der insgesamt 69 Doppelmessungen dar.

Das Minimum lag bei - 0,165, die maximale Differenz betrug 1,066. 25% der Ergebnisse lagen unter - 0,0265, in 50% der Fälle war die Differenz kleiner als 0,012 und 75% lagen unter 0,055. Das heißt 50% der Differenzen lagen zwischen - 0,0265 und 0,055.

n		69
Minimum der Indexwerte		-.165
Maximum der Indexwerte		1.066
Perzentile	25	-.02650
	50	.01200
	75	.05500

Tab. 7: Statistische Darstellung der Differenzen der Doppelmessungen der Indexwerte des *C. psittaci*-Antikörper-ELISA aller Humanproben zur Bestimmung der Messgenauigkeit des Verfahrens

n = Anzahl der im Doppelansatz untersuchten Blutproben

Bildet man die Mittelwerte der Doppelmessungen, lassen sich die Ergebnisse pro Person und Untersuchungstag darstellen:

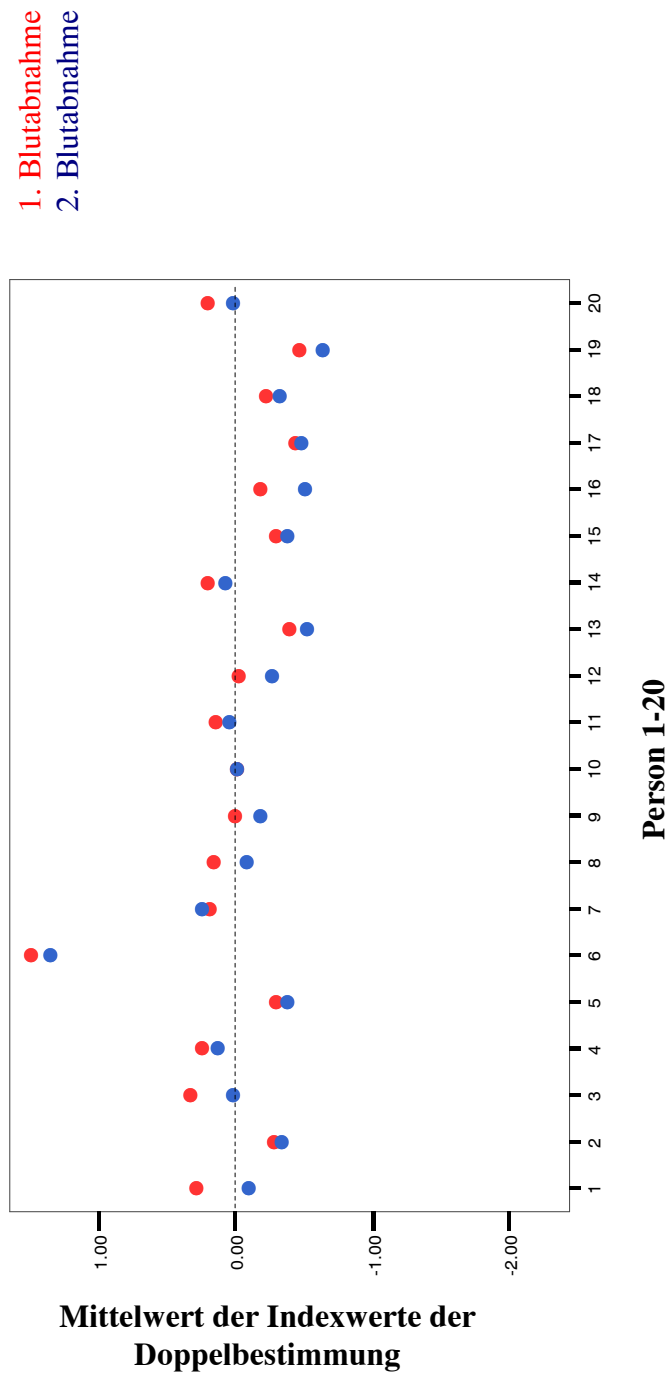


Abb.7: Mittelwerte der Indexwerte des *C. psittaci*-Antikörper-ELISA der Kontrollgruppe aus dem CCBF

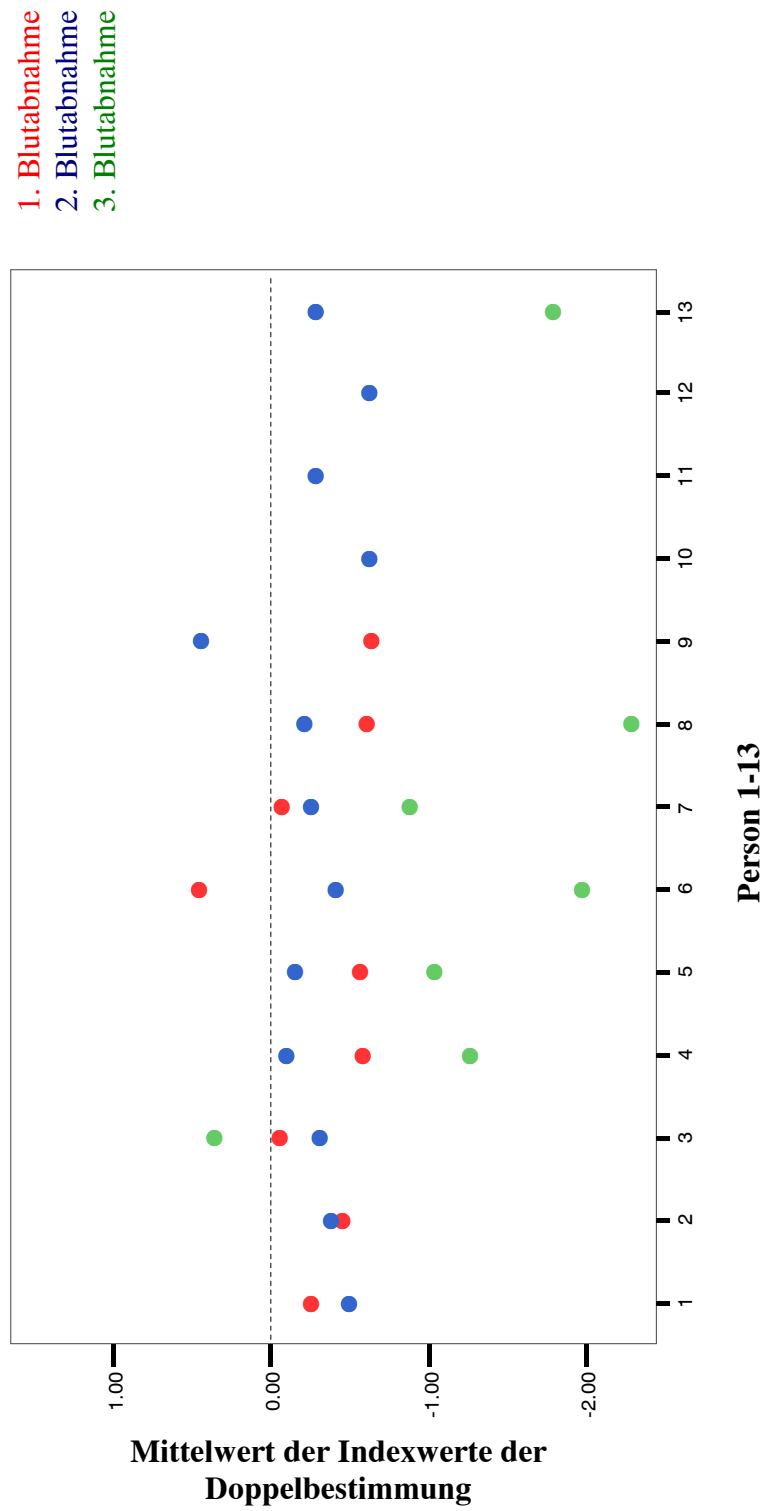


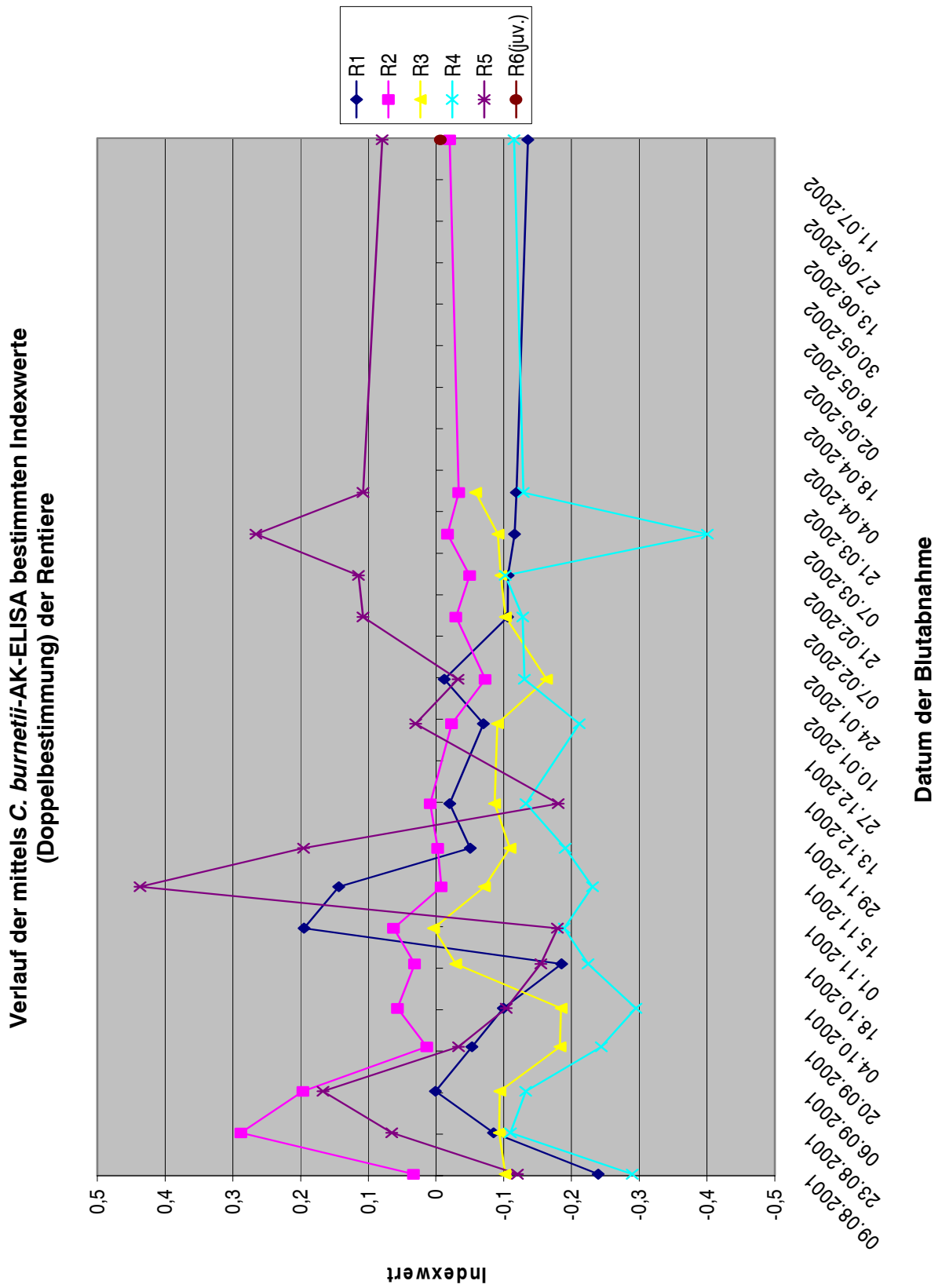
Abb.8: Mittelwerte der Indexwerte des *C. psittaci*-Antikörper-ELISA der Probanden

Die Untersuchungsgruppe der Ceylon-Hutaffen (*Macaca sinica*) bestand anfänglich aus 10, durch die Geburt eines Jungtieres im Laufe des Berichtsjahres später aus 11 Tieren, von denen 4 männlich und 7 weiblich waren. Insgesamt konnte achtzehn Mal im Untersuchungsjahr Blut abgenommen werden. Eine Unterbrechung der Blutabnahmen wurde nur einmal für einen Zeitraum von zweieinhalb Monaten nötig, um die Mutter-Kind-Bindung des im Untersuchungszeitraum geborenen elften Tieres nicht negativ zu beeinflussen. Ein weibliches Tier der Gruppe wurde durch einen Artgenossen getötet, zwei Affen verließen den Zoo am Ende des Untersuchungsjahres. Neben der Geburt des 11. Hutaffen gab es zwei weitere Geburten in der Gruppe. Ein Jungtier verstarb zwei Tage nach der Geburt, das andere kam etwa zwei Monate vor Abschluss des Untersuchungszeitraumes zur Welt, weshalb die Mutter aus dem Versuch genommen werden musste. Außer den beschriebenen Ereignissen (Geburten, Todesfall) gab es im Untersuchungsjahr keine besonderen Geschehnisse. Das Verhalten der Affen war unverändert und es konnten keinerlei Krankheitsanzeichen festgestellt werden.

Insgesamt wurden im Jahr 180 Blutproben gesammelt, die durch den *C. burnetii*-Antikörper-ELISA 180 Indexwerte der Ceylon-Hutaffen erbrachten. Die Indexwerte in der Gruppe schwankten von -0,641 bis 0,949, wobei auffiel, dass ein Großteil der erhaltenen Werte der Hutaffen zwischen 0 und 0,5 lagen. Anders als die übrigen Gruppenmitglieder hatte ein achtjähriges Zuchtweibchen (**H1**) über den gesamten Zeitraum sehr hohe Indexwerte (0,386 – 0,808), die über viele Monate oberhalb von 0,6 lagen. Dieses Weibchen hatte fünf Monate nach Abschluss der Blutentnahmen eine Totgeburt, bei der durch den Immunfluoreszenztest und die PCR eine *Coxiellen*-Infektion nachgewiesen werden konnte. Ein junger männlicher Hutaffe (**H4**) fiel durch erhebliche Schwankungen der Indexwerte auf. Bei der ersten Blutabnahme hatte er einen Wert von -0,285, sechs Wochen später lag der Indexwert dieses Tieres bei 0,529. Am 26.10.2001 zeigte sich ein Wert von 0,377, nach der Untersuchungspause, bedingt durch die Geburt eines Jungtieres, hatte dieser Hutaffe einen deutlich geringeren Indexwert von -0,33. Einen Monat später stieg sein Wert wieder auf 0,315 an und fiel von da fast kontinuierlich auf Indexwerte von -0,6 ab. Die ersten 7 Monate des Untersuchungsjahres ergaben die Serumproben eines weiblichen Affen (**H5**) Indexwerte um 0,2 – 0,3. Innerhalb eines Monats stieg der Wert von 0,191 (18.04.2002) auf 0,583 (15.05.2002) an, blieb zwei Wochen später auf einem ähnlich hohen Wert (0,559) und fiel dann nach weiteren zwei Wochen auf Indexwerte um 0 ab. Am 29.04.2002 hatte dieses Tier ein Jungtier geboren, das zwei Tage später wegen fehlender Nahrungsaufnahme verstarb. Der Sektionsbefund (alle Sektionen wurden vom Institut für Lebensmittel, Arzneimittel und

Tierseuchen Berlin – ILAT durchgeführt) dieses Tieres ergab keinen Nachweis von *Coxiellen*. Die ersten fünf Untersuchungsmonate ergaben bei einem jungen männlichen Hutaffen (**H 9**) Indexwerte von 0,506 bis 0,358. Von diesem niedrigen Wert kam es in den folgenden vier Wochen zu einem Anstieg des Wertes auf 0,949. Die nächste Probe ergab einen Wert von 0,636 gefolgt von einem erneut sehr hohen Wert von 0,912. Nach diesen zwei Spitzen fielen die Ergebnisse wieder langsam auf Indexwerte um 0,5 ab. Ein weiteres Weibchen der Gruppe (**H10**) hatte zu Beginn der Untersuchungen fast kontinuierlich Werte unterhalb von 0,4. Drei Wochen vor der Geburt ihres Jungtieres (01.11.2001) ergab die Untersuchung einen Indexwert von 0,354, der jedoch eine Woche vor der Geburt auf 0,595 anstieg. Nach der zweieinhalb monatigen Untersuchungspause hatte dieses Tier dann wieder einen deutlich niedrigeren Indexwert von 0,156.

4.5.2 Ergebnisse der Untersuchungen mit dem *C. burnetii*-Antikörper-ELISA aus der Gruppe der Rentiere



Die Untersuchungsgruppe der Rentiere (*Rangifer tarandus*) bestand aus 6 Tieren, wobei das sechste Tier erst zum Ende des Untersuchungsjahres zur Welt kam und daher nur zur letzten Blutabnahme zur Verfügung stand. Den zwei männlichen standen vier weibliche Tiere gegenüber. Ein weibliches Tier wurde beim letzten Termin nicht beprobt, da es zu dieser Zeit ein Bastgeweih besaß und die Gefahr einer Verletzung bestand. Bedingt durch eine Geburt in der Gruppe, etwa zwei Monate vor Ende des Untersuchungsjahres, musste die Probennahme Ende März für vier Monate eingestellt werden, um mit einer abschließenden Probe der Gruppe zu enden. Insgesamt konnte an 17 Terminen Blut genommen werden, was zu 85 Proben der Rentiere führte.

Die Indexwerte der Rentier-Gruppe waren relativ niedrig und lagen zwischen -0,401 und 0,437. Zwei Rentiere (**R3** und **R4**) lagen mit den Indexwerten über den gesamten Untersuchungszeitraum unterhalb von 0. Auch beim Jungtier (**R6**) von Rentier 4, das nur einmalig am letzten Termin beprobt wurde, wurde ein Wert von -0,007 festgestellt. Ein weiteres Rentier (**R1**), der Bock der Gruppe, überschritt die Marke 0 nur bei zwei Messungen (0,195 bzw. 0,144). Der Verlauf der Indexwerte von Rentier 5 (**R5**) war durch starke Schwankungen über das gesamte Jahr gekennzeichnet, wobei drei Spitzenwerte auffielen. Von der siebten zur achten Blutabnahme stieg der Indexwert bei diesem Tier von -0,179 auf 0,437 an. Vier Wochen später fiel der Wert dann erneut auf -0,181 ab. Etwa drei Monate vor Beginn der Probennahme kam ein Jungtier von Rentier 2 (**R2**) zur Welt, das am Folgetag verstarb. Über den IFT und die PCR konnte im ILAT der Nachweis einer *Coxiellen*-Infektion erbracht werden. Ein Jahr später folgte dann eine Totgeburt eines weiblichen Jungtieres, bei dem die Sektion eine erneute *Coxiellen*-Infektion ergab. Dieses Tier 2 hatte nur am zweiten und dritten Probedatum Indexwerte von 0,288 und 0,197, die übrige Zeit lagen die Werte immer um 0.

Auffallend beim Blick auf die Verlaufskurven der Indexwerte der Rentiere war, dass es zwei annähernd synchrone Anstiege im Untersuchungsjahr gab. Von der ersten zur zweiten Messung stiegen alle fünf Werte der Tiere an. Eine weitere deutliche Erhöhung der Werte ließ sich bei vier Tieren von der sechsten zur siebten Messung erkennen, beim Tier 5 folgte dieser Anstieg des Indexwertes zwei Wochen später.

Außer den beschriebenen Ereignissen gab es keine Auffälligkeiten bei den Rentieren, und es konnten keinerlei Krankheitsanzeichen bei den Tieren erkannt werden.

Die Gruppe der Kirk Dik-Diks (*Rhynchotragus kirki*) bestand anfänglich aus sieben Tieren, wuchs jedoch im Laufe des Jahres durch die Geburten von drei weiblichen und einem männlichen Jungtier auf 11 Tiere an. Diese Geburten führten immer wieder zu Unterbrechungen der Blutabnahmen bei einzelnen Tieren. Zwei Tiere starben durch Traumen, ein weibliches Dik-Dik musste auf Grund einer chronischen Lahmheit aus dem Versuch genommen werden. Im gesamten Jahr gelang es, bei 23 Blutentnahmen 172 Blutproben der Dik-Diks zu sammeln.

Auch die Untersuchungen bei den Dik-Diks zeigten sehr niedrige Indexwerte von -0,961 bis 0,396. Ein Großteil der Messergebnisse befand sich hier zwischen 0 und 0,2.

Ein weibliches Dik-Dik (**D3**) schwankte in den Indexwerten von 0,157 bis 0,377. Ihr erstes Jungtier im Untersuchungsjahr (**D8**) wurde am 06.09.2001 geboren. Dieses Tier hatte fast über den gesamten Zeitraum der Untersuchungen Indexwerte $< 0,2$. Kurz nach Abschluss der Probennahmen verstarb dieses Tier, wobei ein *Coxiellen*-Nachweis post mortem über die Zellkultur und die PCR erfolgte. Das zweite Jungtier von Tier 3, das im März 2002 zur Welt kam, verstarb wenige Tage nach der Geburt ohne einen *Coxiellen*-Befund. Das Dik-Dik 5 (**D5**) fiel durch starke Schwankungen und sehr niedrige Indexwerte auf (-0,961-0,251). Es ließ sich jedoch kein Zusammenhang zwischen den zwei Geburten (**D9** und **D10**) dieses Tieres und den Veränderungen der Indexwerte herstellen. Ein weiteres weibliches Dik-Dik (**D6**) bekam am 29.09.2001 ein Jungtier, welches am 01.10.2001 ohne Erregernachweis verstarb. Eine nennenswerte Veränderung der Indexwerte der Mutter war durch diese Geburt nicht festzustellen. Auch das zwei Tage alte Jungtier von Dik-Dik (**D7**) starb ohne einen Nachweis von *Coxiellen*. Ihr zweites Jungtier (**D10**) lag mit einer Ausnahme bei Indexwerten $< 0,2$. Bei der Mutter selbst wurden nach dem Tod durch eine Fraktur der Halswirbelsäule *Coxiellen* über die Zellkultur und die PCR nachgewiesen.

Die Gruppe der Haustiere bestand aus 34 Tieren unterschiedlicher Schaf-, Ziegen- und Eselrassen, sowie einer Pferderasse. Im Untersuchungszeitraum konnte fünfundzwanzig Mal Blut bei den Tieren genommen werden, was zu einer Anzahl von 786 Blutproben führte.

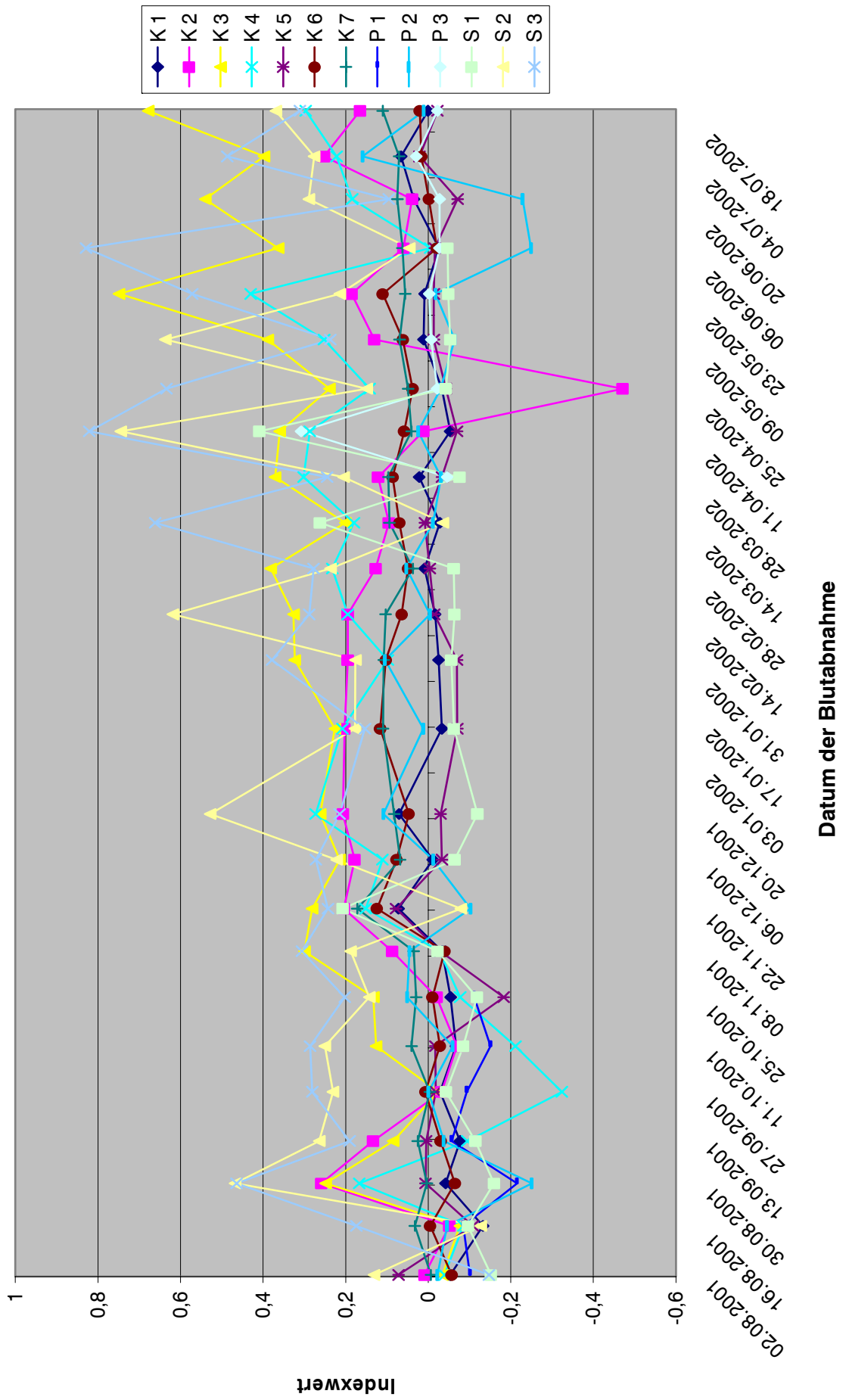
Ein Poitou-Esel starb drei Monate nach Versuchsbeginn, ein anderer kam am 27.03.2002 in die Gruppe. Eine Saanenziege starb im Juni 2002, eine Hausziege im August 2001. Die Jungtiere der unterschiedlichen Schafe und Ziegen, die in der Ablammpériode ab März 2002 zur Welt kamen, wurden nicht beprobt.

Die Indexwerte aller 34 Haustiere lagen zwischen -1,775 und 0,972.

Zur besseren Darstellung der Verlaufskurven der Haustiere wurden die Ergebnisse auf die drei folgenden Tabellen aufgeteilt.

Die **Haustiergruppe 1** stellt die Ergebnisse der 10 weiblichen Zwergziegen dar. Insgesamt wurden 250 Blutproben genommen, die Indexwerte von -0,851 bis 0,333 ergaben. Auffallend war einerseits ein relativ homogener Verlauf eines Großteils der Kurven der Tiere. Andererseits wurde deutlich, dass ein hoher Anteil der Ziegen Indexwerte unterhalb von 0 hatte. Lediglich eine Ziege (**Z9**) zeigte bei vier Messungen Werte oberhalb von 0,2, mit einem maximalen Indexwert von 0,333. Nach der Ablammsaison kam es in der Gruppe zu nur sehr geringen Steigerungen der Werte. Vier Ziegen (**Z1, Z3, Z4, Z6**) fielen durch plötzlich abfallende Indexwerte (bis -0,851) auf.

Verlauf der mittels *C. burnetii*-AK-ELISA bestimmten Indexwerte
(Doppelbestimmung) der Haustiere 2



Die **Haustiergruppe 2** bestand aus 13 Tieren, sieben Kamerunschafen, drei Poitou-Eseln und drei Saanenziegen. Die fünfundzwanzig Blutabnahmen führten zu 288 Serumproben. Die Indexwerte schwankten in dieser Gruppe zwischen $-0,471$ und $0,829$, wobei ein Großteil der Werte $< 0,2$ war. Ein Kamerunschaf (**K4**) hatte am 29. Mai einen Wert von $0,43$. Ein weiteres Kamerunschaf (**K3**) überschritt den Wert $0,4$ drei Mal mit dem 29. Mai beginnend in einem vierwöchigen Abstand ($0,749/0,541/0,678$). Von der zweiten zur dritten Messung verlief der Anstieg der Indexwerte von $-0,127$ bzw. $0,175$ auf $0,468$ und $0,465$ bei zwei Saanenziegen (**S2, S3**) annähernd synchron. Bei der Saanenziege 2 (**S2**) kam es im Laufe des Jahres immer wieder zu starken Anstiegen der Indexwerte ($0,528/0,619/0,745/0,637$), denen aber immer unmittelbar danach ein deutlicher Abfall folgte. Ähnliche Schwankungen mit Spitzenwerten von $0,662$, $0,821$ und $0,829$ waren bei einer anderen Saanenziege (**S3**) festzustellen.

Die **Haustiergruppe 3** bestand aus 11 Tieren. Dazu gehörten eine Haflingerstute, zwei Tiroler Steinschafe, eine Hausziege, eine Deutsche Edelziege, zwei Zwergesel und vier Jakobschafe. Technische Probleme verhinderten an je einem Termin die Blutabnahme bei zwei Steinschafen und zwei Jakobschafen. Insgesamt gelangten 248 Serumproben dieser Gruppe zur Untersuchung ins Labor. Der Bereich der Indexwerte geht in der Haustiergruppe 3 von $-1,775$ bis $0,972$. Die Indexwerte des Haflingers (**H1**) schwanken über das gesamte Jahr nur geringfügig um den sehr niedrigen Wert von $-1,5$. Große Gruppenanteile wiesen Werte von unter $0,3$ auf. Die Verlaufskurve der Deutschen Edelziege (**DE1**) lag fast immer über denen der übrigen Tiere mit einem Spitzenwert von $0,728$ (29.05.2002). Etwa nach der Hälfte des Untersuchungszeitraumes fiel der Anstieg der Indexwerte bei einem Steinschaf (**St2**) auf. Sieben Werte dieses Tieres lagen oberhalb von $0,5$. Die zwei höchsten Indexwerte erreichte das Schaf am 17.04.2002 ($0,972$) und am 30.04.2002 ($0,934$).

Zu Gruppengröße, Probenumfang, Geschehnissen in der Gruppe, wie Zu- bzw. Abgänge, Krankheiten oder Unterbrechungen der Untersuchungen, gilt dasselbe wie schon unter 4.5.1 erwähnt.

Die Indexwerte der Ceylon-Hutaffen (*Macaca sinica*) variieren von -0,242 bis 1,686.

Die Verlaufskurven der Indexwerte der Hutaffen ließen sich grob in 3 Gruppen einteilen.

Fünf Affen (**H2, H7, H8, H9, H11**) hatten das ganze Jahr niedrige Indexwerte unter 0,3. Mit der Ausnahme der zweiten Messung, bei der ein weitere Hutaffe (**H6**) einen Wert von 0,556 erreichte, musste auch dieses Tier der ersten Gruppe zugerechnet werden.

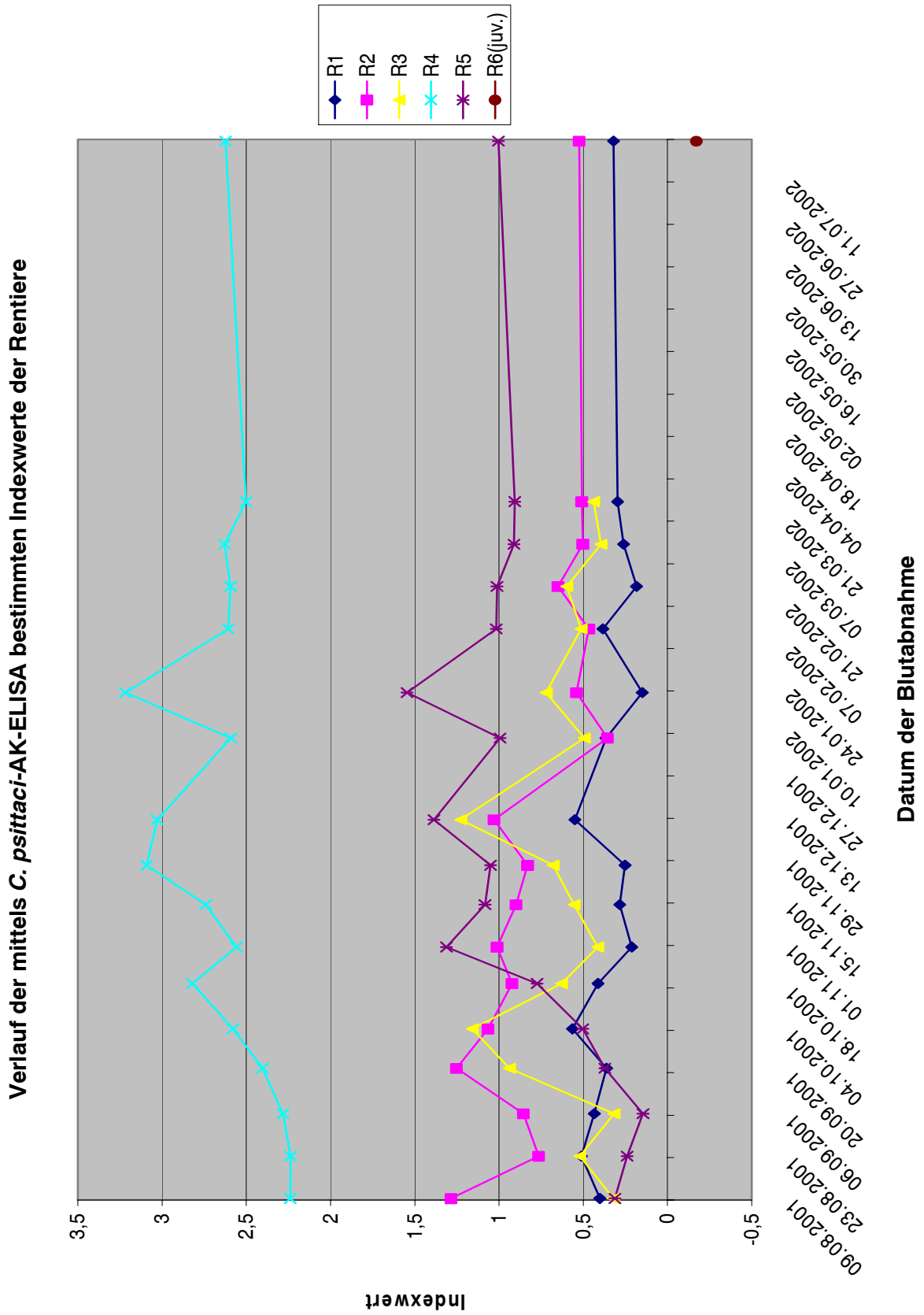
Zwei weibliche Affen (**H1, H5**) hatten ähnliche Verläufe ihrer Indexwerte, die sich in drei Abschnitte im Jahr einteilen ließen: Die Ergebnisse waren zu Beginn des Jahres höher und lagen um den Wert 0,5. Im mittleren Drittel fielen die Werte ab auf Indexwerte von < 0,3, um im letzten Drittel der Untersuchungen wieder auf Werte oberhalb von 0,5 anzusteigen, mit Spitzenwerten von 0,686 (**H1**) und 0,997 (**H5**).

Zur dritten Gruppe gehörten die Affen **H3, H4** und **H10**. Sie hatte über die meiste Zeit Werte, die deutlich höher als 0,5 waren und einen dreiphasigen Kurvenverlauf zeigten: Einen ersten Höchststand erreichten die Indexwerte dieser Affen am 29.09.2001 (1,083, **H3**; 0,847, **H4**; 0,88, **H10**). Nach der Pause der Blutabnahmen, vor der die Werte der drei Affen unter 0,5 gefallen waren, stiegen die Indexwerte von zwei Affen wieder über den Wert 1 an (1,065, **H4**; 1,027 **H10**). Die Werte vom Tier **H3** blieben niedrig. Eine erneute Erhöhung der Messergebnisse folgte dann zum Ende der Datenerhebung, bei der Spitzenwerte von 1,686 (**H4**), 1,111 (**H3**) und 1,1 (**H10**) festgestellt wurden.

Allen Mitgliedern der Hutaffengruppe gemein war ein Absinken der Indexwerte zur letzten Blutentnahme (26.10.2001) vor der Untersuchungspause.

4.5.6

Ergebnisse der Untersuchungen mit dem *C. psittaci*-Antikörper-ELISA aus der Gruppe der Rentiere



Für die Situation in der Gruppe der Rentiere (*Rangifer tarandus*) gelten die Erläuterungen unter 4.5.2.

Die Indexwerte der Tiere reichten von -0,171 bis 3,218. Bis auf das am 10.05.2002 geborene Jungtier (**R6**) hatten alle übrigen Rentiere im Laufe des Jahres bei einer unterschiedlichen Anzahl an Messungen Indexwerte oberhalb von 0,5. Der Wert des Jungtieres betrug bei der einmaligen Messung -0,171. Von den adulten Rentieren hatte das männliche Tier (**R1**) in der Summe die niedrigsten Indexwerte im Jahresverlauf. Nur drei Mal überschritt es die Marke von 0,5 geringfügig (0,512 am 23.08.2001, 0,564 am 04.10.2001, 0,55 am 12.12.2001).

Die Messergebnisse eines alten weiblichen Rentieres (**R2**) lagen in der ersten Hälfte der Untersuchungen um den Wert 1, fielen dann aber ab und lagen bei späteren Messungen um den Wert 0,5. Dies war auch beim Tier 3 (**R3**) der Fall, allerdings war die erste Jahreshälfte bei diesem Tier durch zwei Spitzen von 1,16 (04.10.2001) und 1,227 (12.12.2001) geprägt. Das Rentier 4 (**R4**) lag mit seinen ganzjährig extrem hohen Indexwerten weit über den Ergebnissen der übrigen Gruppenmitglieder. Der niedrigste Wert dieses weiblichen Rentiers betrug 2,237, der höchste 3,218. Ebenso erreichte auch das Tier 5 (**R5**) nach einem Anstieg der Indexwerte über die ersten sechs Monate den höchsten Wert am 23.01.2001. Mit einem Indexwert von 1,546 war der Maximalwert dieses Rentieres allerdings deutlich geringer.

Bei den beiden verstorbenen Jungtieren des zweiten Rentieres (**R2**) erbrachten die Sektionen keinen *Chlamydien*-Nachweis.

Außer den unter 4.5.3 beschriebenen Ereignissen war das Verhalten der Kirk Dik-Diks (*Rhynchotragus kirki*) über den gesamten Untersuchungszeitraum unscheinbar.

Die Indexwerte der Tiere schwankten zwischen -0,167 und 2,67. Auf den ersten Blick ließen sich drei grobe Gruppierungen der Tiere anhand der Messergebnisse vornehmen.

Zur ersten Gruppe gehörten die Dik-Diks (**D1, D6, D7, D8**), deren Indexwerte den Wert 0,5 nicht überschritten. Die Indexwerte einer zweiten Gruppe von Tieren (**D3 und D4**) lagen immer um den Wert 0,5 und die dritte Gruppe beinhaltete die Tiere, deren Werte weit über denen der übrigen Tiere lagen (**D2, D5, D9**). Die Tiere 2 und 5 (**D2, D5**) hatten innerhalb der ersten fünf Monate immer Indexwerte >1 und erreichten Maximalwerte von 2,674. Auch das Jungtier (**D9**) vom Dik-Dik 5 (**D5**) hatte nach wenigen Messungen hohe Indexwerte (1,677), die zusammen mit den Werten der Mutter zum Ende des Untersuchungsjahres auf Werte um 2 anstiegen.

Auch bei der Betrachtung der Untersuchungsergebnisse des *C. psittaci*-Antikörper-ELISA wurden die 34 Haustiere in drei Gruppen getrennt betrachtet. Die Beschreibung der Tiere und der Gruppen erfolgte unter 4.5.4.

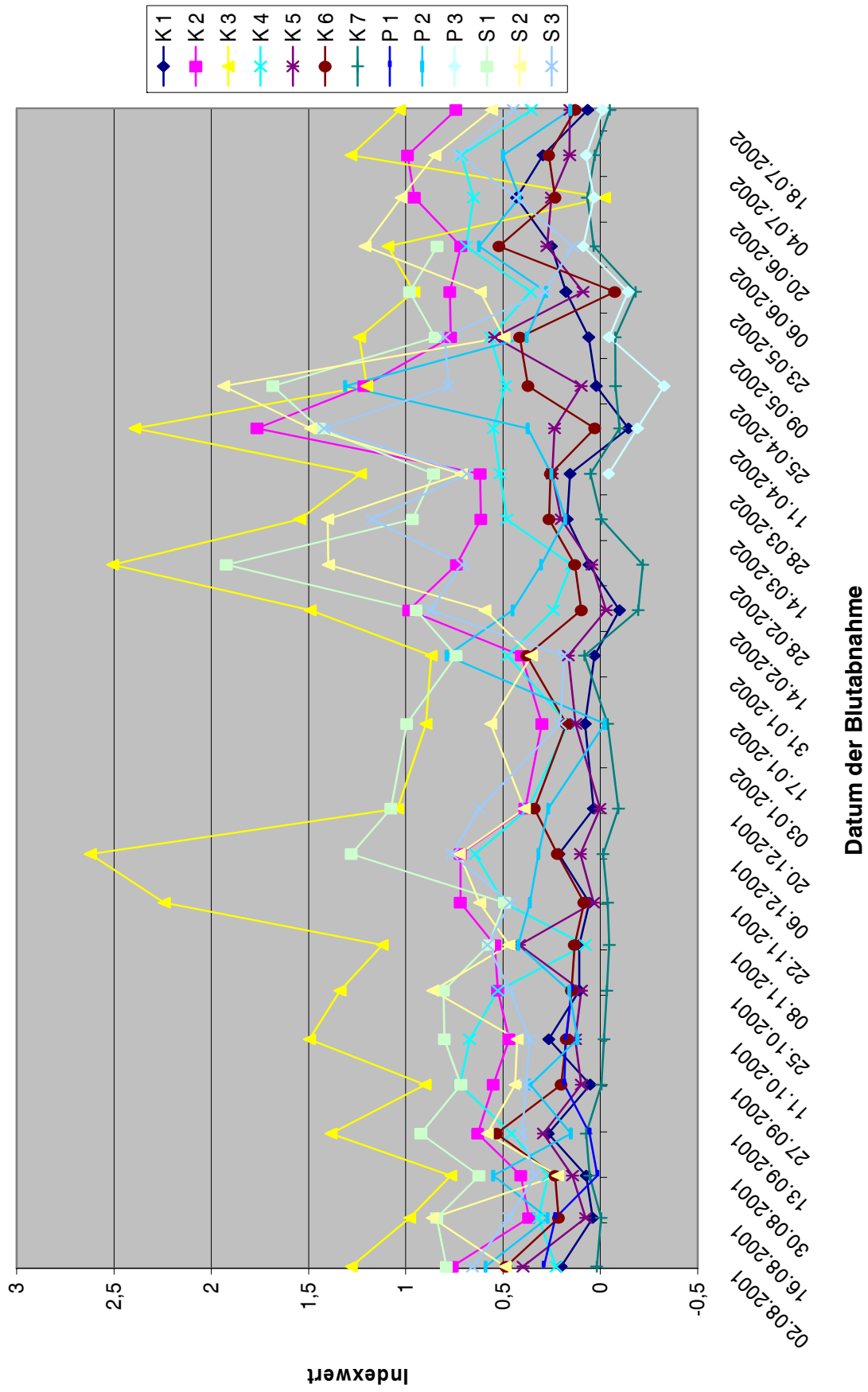
In der **Haustiergruppe 1** traten Indexwerte von -0,478 bis 2,709 auf.

Bei einem Teil der Zwergziegen lagen die Indexwerte ganzjährig unterhalb der 0,5-Marke (**Z3, Z6, Z8, Z9, Z10**). Die Ziegen 4 und 5 überschritten diesen Wert drei Mal in unterschiedlicher Höhe. Ziege 4 (**Z4**) hatte am 26.10.01 den Indexwert 0,671, am 03.04.02 den Wert 0,883 und am 17.04.02 den Wert 0,571. Die Zwergziege 5 (**Z5**) erreichte einmal den Wert 0,622 (26.10.01), ein anderes Mal 1,31 (22.11.01).

Den restlichen drei Ziegen war gemein, dass ihre Ergebnisse der Laboruntersuchungen im gesamten Jahr deutlich über denen der anderen Gruppenmitglieder lagen. So schwankten die Indexwerte der Zwergziege 2 (**Z2**) in der ersten Untersuchungshälfte noch zwischen 0,5 und 1, stiegen in der zweiten Hälfte aber auf einen Maximalwert von 2,155 (17.04.02) an. Darauf folgte ein Abfall über einen Monat auf 0,9, gefolgt von einem erneuten Anstieg auf 1,847 (27.06.02). Auch die Ziege 7 (**Z7**) hatte hohe Werte in der ersten Jahreshälfte, allerdings lag sie mit zwei Spitzenwerten von 1,525 (17.08.01) und 1,657 (07.12.01) noch weit über den Werten der Ziege 2. Danach folgte auch bei diesem Tier 7 im zweiten Halbjahr eine weitere Erhöhung der Indexwerte auf 2,096, 1,805 und 1,86. Die Verlaufskurve der Zwergziege 1 (**Z1**) verlief über die ersten Monate ähnlich niedrig wie bei den ersten fünf beschriebenen Ziegen. In April kam es dann zu einem rasanten Anstieg von <0 auf 1,064, gefolgt vom Abfall der Werte auf 0. Mitte Juni zeigte dieses Tier dann mit 2,709 den höchsten Indexwert der Gruppe, und bei der letzten Messung lag der Wert erneut fast bei 0.

Die Verlaufskurven der **Haustiergruppe 2**, die die Daten der Kamerunschafe, Poitouesel und Saanenziegen beinhalten, zeigen einen Minimalwert von -0,218 und einem Maximalwert von 2,622. Ähnlich wie bei der Haustiergruppe 1 lagen bei fünf Tieren (**K1, K5, K7, P1, P3**) die Messergebnisse ganzjährig unter 0,5. Die Indexwerte der übrigen Tiere schwankten in der ersten Hälfte in etwa zwischen 0,5 und 1. Einzige Ausnahme war ein Kamerunschaf (**K3**), dessen Werte bereits in der ersten Jahreshälfte zwischen 0,75 und 2,622 lagen. Die letzten sechs Monate führten dann bei allen dieser Tiere zu erhöhten Indexwerten, die von 0,5 bis 2,5 reichten und sehr stark schwankend waren.

Verlauf der mittels *C. psittaci*-AK-ELISA bestimmten Indexwerte der Haustiere 2



Die **Haustiergruppe 3** fällt im Vergleich zu den zwei zuvor beschriebenen Gruppen durch eine sehr weite Spanne der Messergebnisse auf (-1,648 bis 10,525). Nur wenige Tiere (**St2**, **DE1**, **J2**) blieben mit ihren Ergebnissen unterhalb eines Indexwertes von 0,6. Eine Mehrheit der Tiere der Gruppe 3 zeigte schwankende Verlaufskurven, die sich in dem Bereich zwischen 0 und 2 aufhielten. Ein weibliches Steinschaf (**St1**) hatte bei drei Proben sogar Werte oberhalb von 2. Ein Jakobschaf (**J1**) begann mit hohen Indexwerten um 1, die in den darauffolgenden sieben Monaten bis zu einem Wert von 2,5 stiegen. Darauf folgte dann ein Maximalwert von 8,231 (03.04.02) und in den Monaten danach pendelten die Ergebnisse erneut um 2. Indexwerte in diesem Bereich hatte in den ersten drei Monaten auch die Haflingerstute (**H1**), die danach jedoch mit Spitzen von 6,693, 5,472 und 10,525 die Ergebnisse der übrigen Tiere weit übertraf.

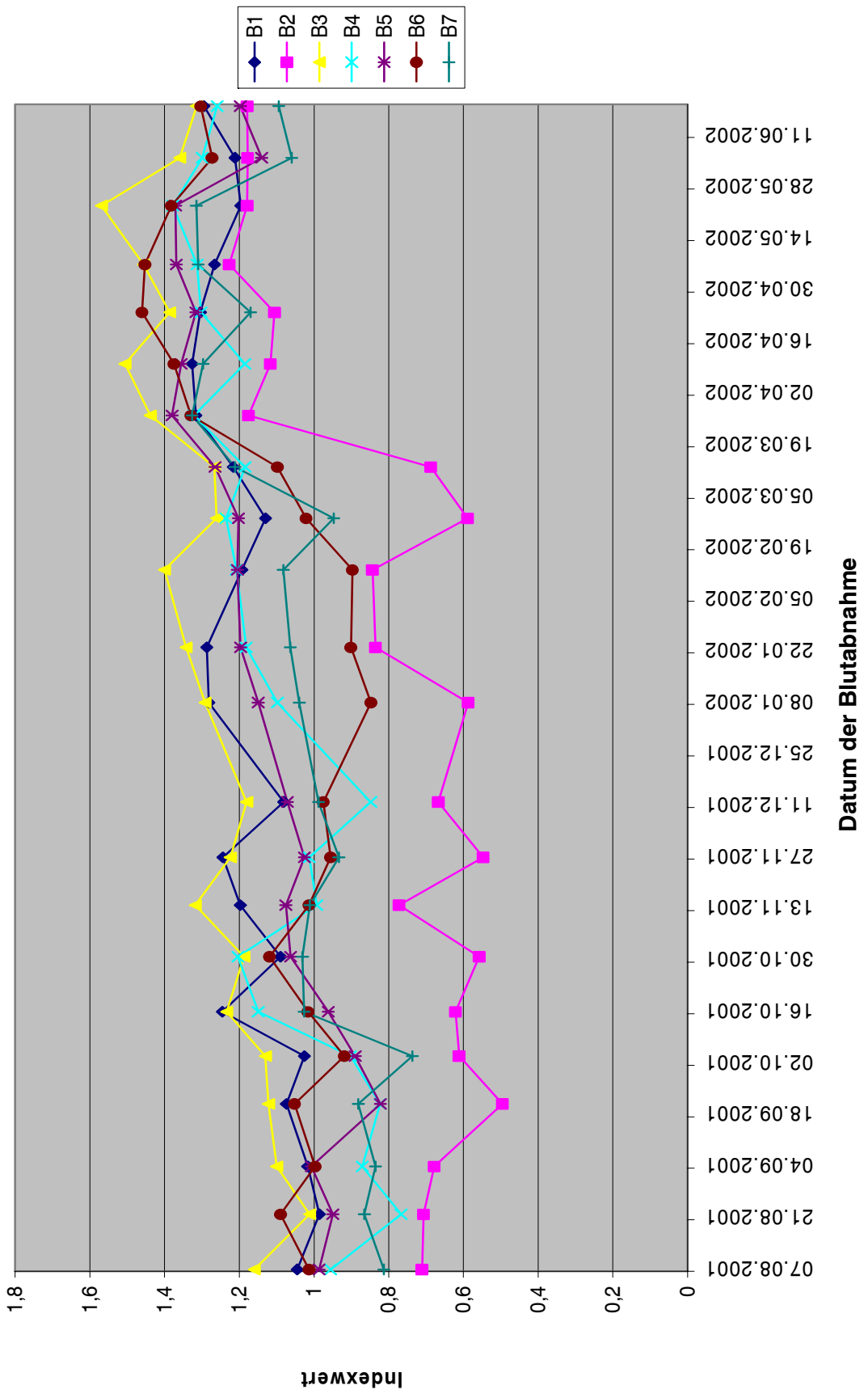
Wie in den zwei anderen Haustiergruppen lagen auch bei der Haustiergruppe 3 die höchsten Indexwerte der meisten Tiere in der zweiten Untersuchungshälfte, der Ablammsaison.

4.5.9 Ergebnisse der Untersuchungen mit dem *C. psittaci*-Antikörper-ELISA aus der Gruppe der Brakelhühner

Die Gruppe der Brakelhühner bestand aus 2 männlichen und 5 weiblichen Tieren, die gemeinsam im Hühner- und Taubenhaus saßen. Diese, wie auch die zweite Hühnergruppe, war während des Untersuchungszeitraumes frei von sichtbaren Erkrankungen und zeigte ein für die Rasse typisches Verhalten.

Die Messergebnisse der Brakelhühner ergaben ganzjährig hohe Indexwerte von 0,496 bis 1,569. Die Indexwerte von Huhn 2 (**B2**) lagen während der gesamten Zeit etwas unterhalb der Werte der übrigen Tiere, der Verlauf der Kurve war jedoch ähnlich. So hielten sich die Indexwerte im ersten Drittel des Jahres in etwa im Bereich von 0,8 bis 1,2 auf, im mittleren Drittel reichten sie bereits von 0,8 bis 1,4. Während der letzten vier Monate stiegen die Indexwerte erneut und deckten Bereiche von etwa 1 bis 1,6 ab.

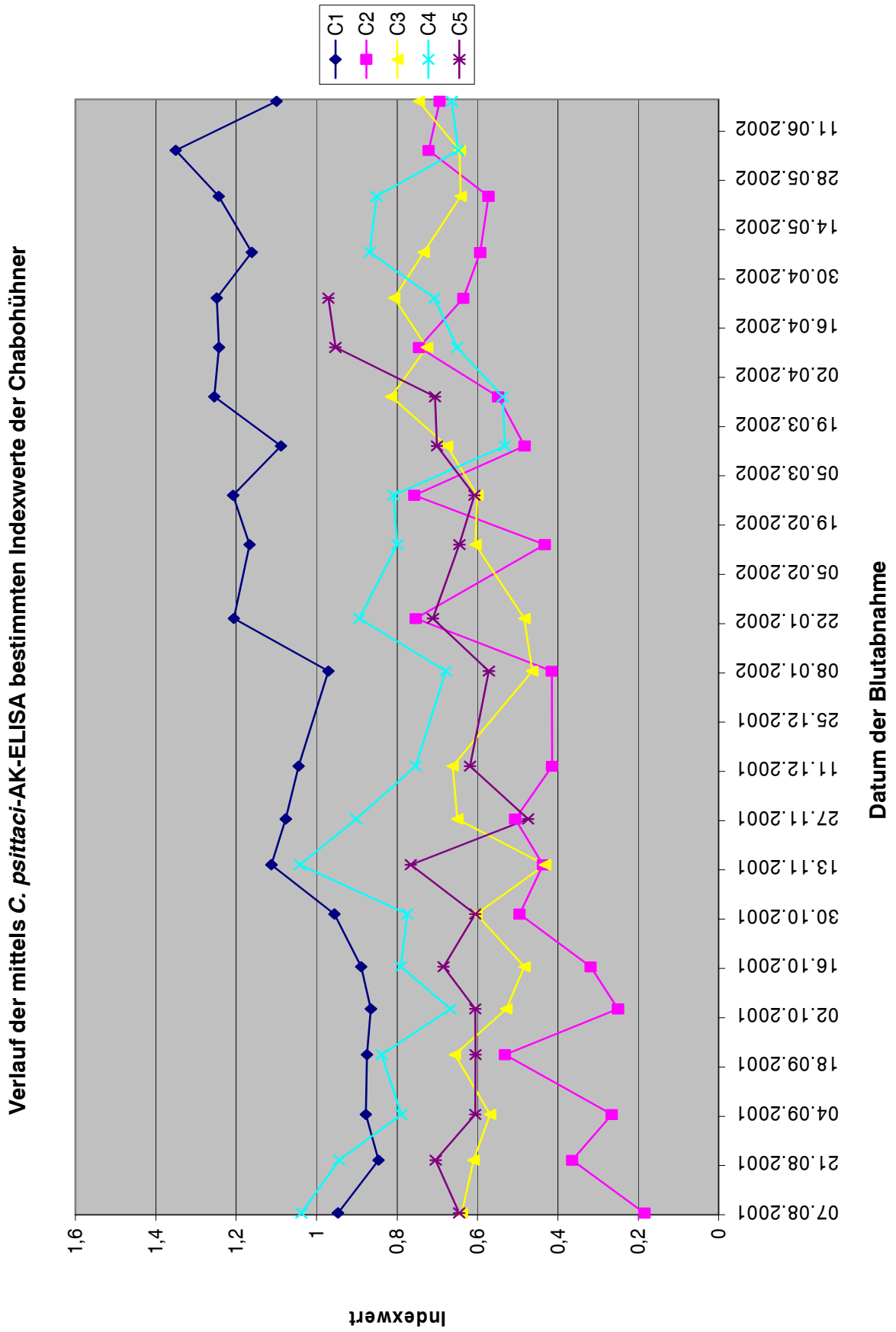
Verlauf der mittels *C. psittaci*-AK-ELISA bestimmten Indexwerte der Brakelhühner



4.5.10 Ergebnisse der Untersuchungen mit dem *C. psittaci*-Antikörper-ELISA aus der Gruppe der Chabohühner

Bei der Gruppe der Chabohühner handelte es sich um fünf Hennen, von denen eine 2 Monate vor dem Untersuchungsende starb. Die Ergebnisse der Tiere zeigten Indexwerte von 0,185 bis 1,351. Mit dem niedrigsten Wert der Gruppe begannen die Ergebnisse von Huhn 2 (**C2**), die im ersten Abschnitt des Jahres zwischen 0,2 und 0,6 pendelten und sich in der zweiten Hälfte zwischen 0,4 und 0,8 bewegten. Die Werte von Chabohuhn 3 (**C3**) lagen in den ersten sechs Monaten zwischen 0,5 und 0,6, in der zweiten Hälfte des Jahres stiegen sie dann auf 0,8 an. Die Indexwerte vom vierten Tier (**C4**) lagen zu Beginn sehr hoch (1. Wert: 1,038), fielen danach aber auf etwa 0,7 ab (04.10.2001). Die nächsten sechs Wochen brachten wieder eine Steigerung der Werte auf die Ausgangshöhe (1,042), gefolgt vom erneuten Abfall der Werte über sechs Wochen auf den Indexwert 0,679. Im zweiten Halbjahr schwankten die Ergebnisse des Huhns zwischen 0,7 und 0,9.

Das Tier mit den höchsten Indexwerten war das Huhn 1 (**C1**), bei dem die Werte während des ersten Halbjahres zwischen 0,9 und 1 lagen. Im zweiten Untersuchungsabschnitt stiegen die Werte noch an und pendelten sich um den Wert 1,2 (Maximalwert: 1,351) ein.



Die Untersuchungsgruppe der **Aras** (*Ara spp.*) bestand aus 11 Tieren unterschiedlicher Arten, von denen im Laufe des Jahres ein Tier verstarb. Bei insgesamt 24 Blutabnahmen konnten von der Gruppe 264 Serumproben gewonnen werden. Die prozentuale Hemmung in der sich die Messergebnisse darstellten, reichte in der Gruppe von Werten < 0 bis zu 73,15 % Hemmung. Ergebnisse, die zwischen 0 und 20 % Hemmung lagen, konnten laut Hersteller des verwendeten *C. psittaci*-Antikörper-ELISA, RIDASCREEN als negativ bewertet werden. Nur die Werte eines Gelbbrustaras (**A4**) lagen ganzjährig in diesen Bereichen. Ein weiterer Gelbbrustara (**A3**) zeigte schwach positive Antikörperreaktionen (20-40 % Hemmung) mit relativ geringen Schwankungen in diesem Bereich. Die übrigen Vögel hatten im gesamten Jahr unregelmäßig variierend hohe Hemmungen in positiven und stark positiven Messbereichen. Einzelne Tiere wie ein Rotohrara (**A8**) hatten ganzjährig stark positive Hemmungswerte, die nur vereinzelt unter die 60 %-Marke fielen. Da bei den Tieren im Untersuchungszeitraum keinerlei Veränderungen, den äußerlichen Gesundheitszustand betreffend, auftraten ließen sich die Schwankungen der Hemmungskurven nicht in einen Zusammenhang zu eventuellen Geschehnissen in der Gruppe bringen. Auch waren Parallelen der Einzelkurven der Aras zueinander im Jahr nicht auszumachen.

4.5.12 Ergebnisse der Untersuchungen mit dem *C. psittaci*-Antikörper-ELISA aus den Gruppen der Menschen

Insgesamt hatten sich 13 Tierpfleger aus dem Zoo Berlin zu Blutabnahmen durch den Betriebsarzt zur Verfügung gestellt. Drei Pfleger gaben eine Probe ab, vier Pfleger erschienen zu zwei Blutabnahmen und sechs Pfleger spendeten an allen drei Entnahmetermeninen Blut. Alle 13 Personen arbeiteten mit einer der sechs Tiergruppen, die Teil der Untersuchungen waren. Die erlangten Serumproben wurden dann mit dem *C. psittaci*-Antikörper-ELISA untersucht. Die Indexwerte der 29 Messergebnisse lagen in einem Bereich zwischen -2,284 und 0,456. Es fiel auf, dass nur drei Mal ein Indexwert festgestellt wurde, der > 0 war. So hatte der Mitarbeiter 3 (**P3**) bei seiner dritten Untersuchung einen Wert von 0,364, der Pfleger 6 (**P6**) bei der ersten Beprobung den Indexwert 0,456 und ein weiterer Mitarbeiter (**P9**) in der zweiten Probe einen Wert von 0,449.

Die Ergebnisse aller anderen Tierpfleger waren bei jeder Messung mehr oder weniger deutlich im negativen Bereich.

	09.07.2001	11.01.2002	01.10.2002
Person1	-0,2465	-0,4915	
P2	-0,449	-0,372	
P3	-0,0515	-0,3055	0,3635
P4	-0,5745	-0,0925	-1,2515
P5	-0,5595	-0,1505	-1,0245
P6	0,4555	-0,404	-1,9725
P7	-0,072	-0,249	-0,877
P8	-0,612	-0,2105	-2,284
P9	-0,6295	0,449	
P10		-0,6235	
P11		-0,2755	
P12		-0,621	
P13		-0,281	-1,7795

Tab.8: Indexwerte des *C. psittaci*-Antikörper-ELISA der Probanden (n=13)

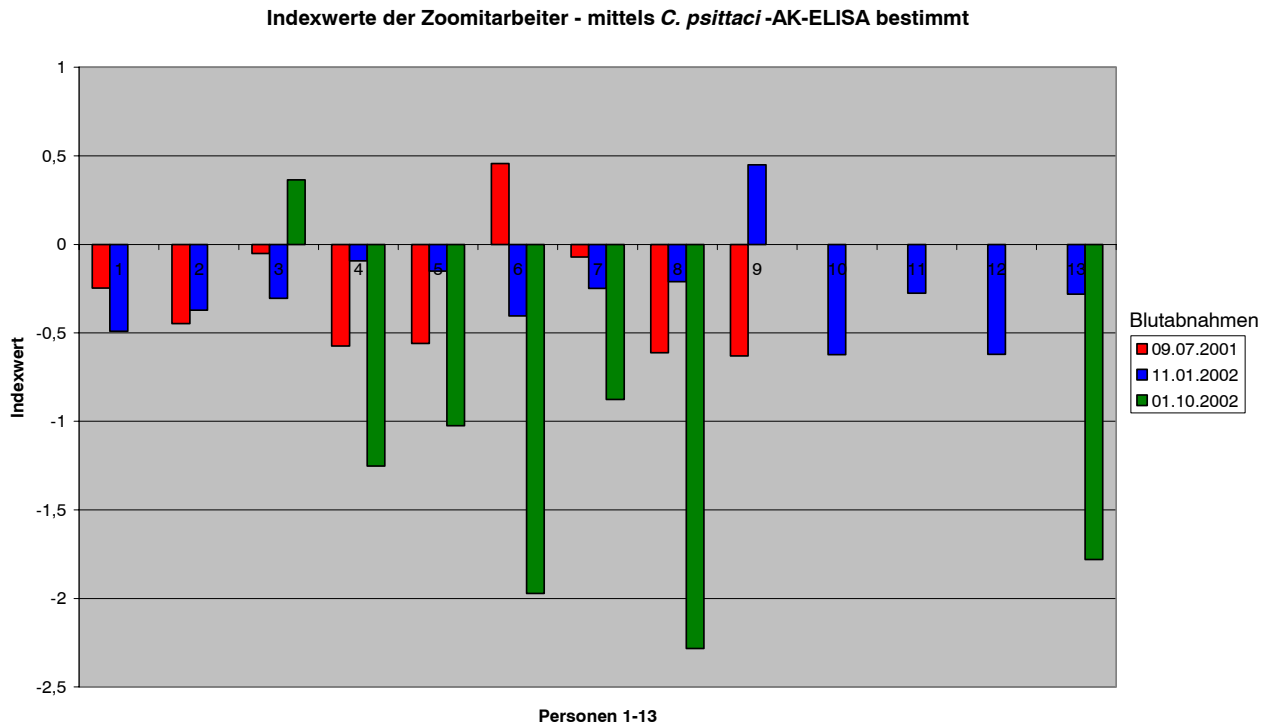


Abb.9: Nachweis von AK gegen *Chlamydien* mittels des *C. psittaci*-Antikörper-ELISA bei den Probanden. Wiedergegeben sind die Mittelwerte der Indexwerte.

Daten der Blutentnahme: 09.07.2001, 11.01.2002 und 01.10.2002

Vom Charité Campus Benjamin Franklin (CCBF) gelangten zwei Blutproben von 20 Personen zur Untersuchung, die im Abstand von etwa 4 Wochen genommen wurden. Von den Personen, deren Ergebnisse als Kontrolle den Messwerten der Zoomitarbeiter gegenüber gestellt werden sollten, war nur bekannt, dass sie weder mit Tieren arbeiteten, noch selber Tiere besaßen. Die Spanne der gemessenen Indexwerte reichte bei dieser Personengruppe von -0,628 bis 1,503. Bei neun Personen wurden positive Indexwerte gemessen, die in etwa zwischen 0 und 0,3 lagen. Nur bei der Person 6 (**P6**) waren die Indexwerte bei beiden Blutproben deutlich erhöht (1,503 und 1,36).

Mit Ausnahme der Person 7 waren bei allen Personen die Indexwerte der zweiten Messung im Januar 2004 höher als die Werte einen Monat zuvor.

	Dez 03	Jan 04
Person1	0,2925	-0,1
P2	-0,2855	-0,3325
P3	0,3265	0,0235
P4	0,242	0,139
P5	-0,288	-0,382
P6	1,503	1,36
P7	0,1885	0,2435
P8	0,163	-0,0755
P9	0	-0,1725
P10	-0,005	-0,0065
P11	0,1505	0,044
P12	-0,0165	-0,271
P13	-0,394	-0,517
P14	0,2095	0,0825
P15	-0,292	-0,378
P16	-0,1815	-0,5085
P17	-0,431	-0,4705
P18	-0,227	-0,325
P19	-0,46	-0,628
P20	0,2095	0,0195

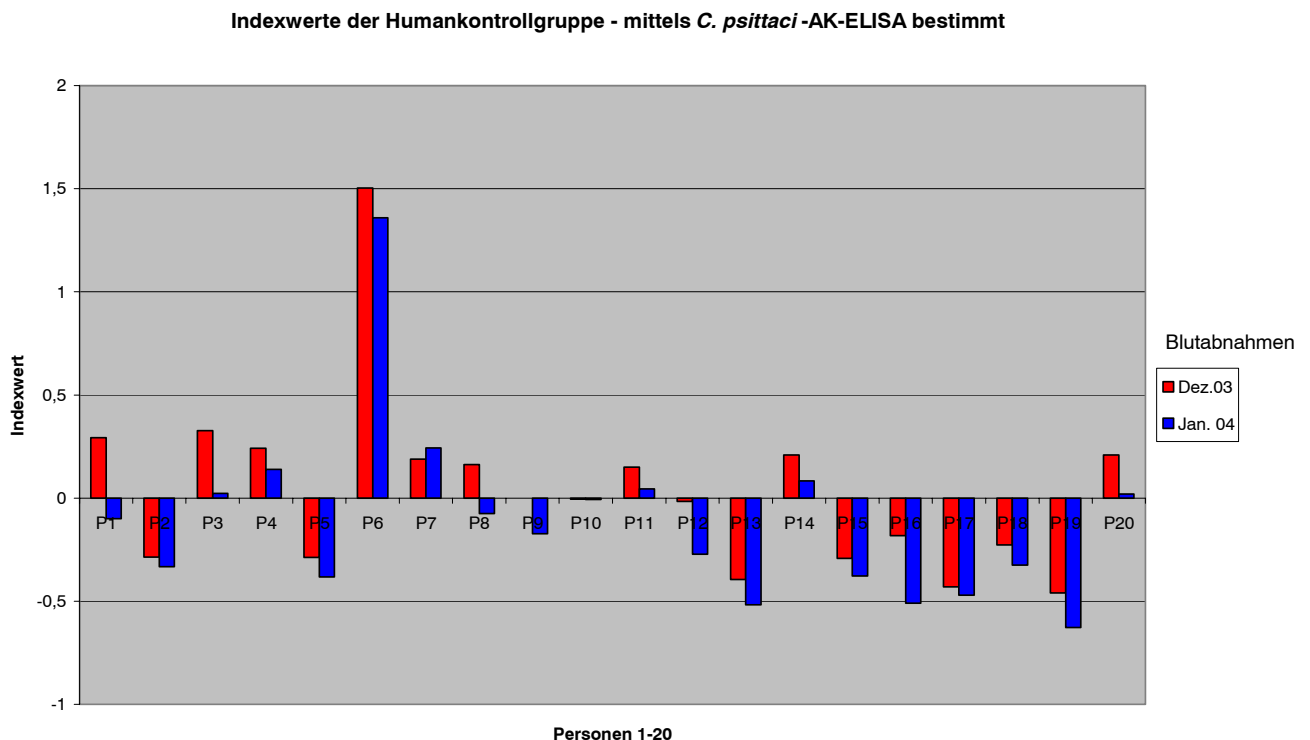
Tab.9: Indexwerte des *C. psittaci*-Antikörper-ELISA der Kontrollgruppe

Abb.10: Nachweis von AK gegen *Chlamydien* mittels des *C. psittaci*-Antikörper-ELISA bei der Kontrollgruppe aus dem CCBF. Wiedergegeben sind die Mittelwerte der Indexwerte. Daten der Blutentnahme: Dezember 2003 und Januar 2004

5. Diskussion

5.1 Untersuchungen der Tierseren auf *C. burnetii*-Antikörper

In der vorliegenden Arbeit wurde die Antikörperentwicklung gegen *C. burnetii* und *C. psittaci* bei einer Auswahl an Tiergruppen aus dem Zoo Berlin verfolgt. Ausschlaggebend für die Wahl der Tiergruppen war ein früherer Nachweis eines oder beider Erreger innerhalb der Gruppe durch Sektionsbefunde. Der damalige Erregernachweis war hier sowohl mit Aborten oder dem Auftreten von Frühsterblichkeit bei Jungtieren, als auch zum Teil mit länger währenden Krankheitsgeschehen assoziiert, wie zum Beispiel Pneumonien. Parallel zum Antikörpernachweis konnten von einem Teil der Tierpfleger, die mit den ausgesuchten Tieren arbeiteten, bis zu drei Blutproben genommen werden. Die ELISA-Ergebnisse wurden einer humanen Kontrollgruppe ohne Tierkontakt bei der Untersuchung auf Antikörper gegen *C. psittaci* gegenübergestellt. Die Auswahl der angewandten Methoden in Form der unter 3.1.4. beschriebenen Enzyme-linked Immunosorbent Assays (ELISA) erwies sich als sinnvoll für die Untersuchungen. Insgesamt wurden 1.739 Blutproben von den Tieren genommen, von denen 1.223 auf *C. burnetii*-Antikörper untersucht wurden und 1.739 auf Antikörper gegen *C. psittaci*. Die Tatsache, dass der ELISA automatisierbar war und die insgesamt 2.962 Messergebnisse der Tiere und 69 Ergebnisse der Menschen (Summe: 3.031 Werte) durch photometrische Messungen direkt quantifiziert werden konnten, erleichterte das Abarbeiten einer so großen Probenmenge. Somit wurde das O.I.E. Manual (1992) bestätigt, das diese Technik als Methode der Wahl für Massenuntersuchungen auf *C. burnetii* empfahl. Auch der Vorteil der höheren Sensitivität, Spezifität und Praktikabilität des Antikörper-ELISA im Vergleich zur KBR (STING und MANDL, 1995) war bei der Feststellung der Ausbreitung der Infektionserreger innerhalb der Tiergruppen hilfreich. Die höhere Empfindlichkeit des ELISA im Vergleich zur KBR beim *C. burnetii*-Antikörpernachweis wurde in weiteren Arbeiten beschrieben (SIMMERT, 1999; SCHMEER, 1985; KOVACOVA, 1998). Ähnliche Ergebnisse machte auch KOPP (2000) bei den Testvergleichen mit dem ELISA und der KBR, die die ELISA-Technik beim *Chlamydien*-Antikörpernachweis als deutlich sensitiver und nachweisempfindlicher zeigten. Die Proben der vier Tiergruppen, die auf *Coxiellen*-Antikörper untersucht wurden, konnten im Doppelansatz auf die ELISA-Platten gebracht werden. Zu jeder Serumprobe lagen so zwei Messergebnisse vor. Bei der Betrachtung der Differenzen der Doppelmessungen zeigten sich nur sehr geringe Abweichungen der zwei

Messergebnisse voneinander. 75% der Differenzen lagen unter einem Wert von 0,011. Die Differenzen der im Doppelansatz auf *C. psittaci*-Antikörper untersuchten Humanproben waren in 75% der Fälle kleiner als 0,055. Diese hohe Messgenauigkeit des Verfahrens ließ im Weiteren eine Untersuchung der Tierproben auf *Chlamydien*-Antikörper im Einfachansatz zu. In Vorversuchen, die nach der Herstellung der zwei Antikörper-ELISA durchgeführt wurden, sollte geklärt werden, ob die Tests auch mit Seren von Zoo-/Wildtieren anwendbar waren. Dazu wurden in der KBR positive *Coxiellen*- bzw. *Chlamydien*-Seren von unterschiedlichen Wildtieren getestet, die dann im ELISA ähnlich hohe Indexwerte zeigten wie die Positivkontrollen. Lediglich eine Untersuchung der Vogelseren war mit dem *C. burnetii*-Antikörper-ELISA nicht möglich. Darüberhinaus mussten die Untersuchung der Araseren auf *C. psittaci*-Antikörper mit einem handelsüblichen ELISA erfolgen. Die beschriebenen Vorversuche könnten auch zu dem Schluss führen, ähnliche Maßstäbe bei der Testauswertung der Zootiere zu verwenden, wie es die Hersteller der zwei ELISA aus dem CVUA Stuttgart bei Rindern, Schafen und Ziegen tun. Sicher war es nicht möglich Indexwerte der Zootiere $\geq 0,4$ durchweg als positiv zu bewerten, aber eine ähnliche Beurteilung der Ergebnisse der Zootiere schien nach den Untersuchungen durchaus möglich. Da mit den verwendeten serologischen Tests lediglich IgG-AK nachgewiesen wurden, lässt sich ein anderer Verlauf der Antikörperentwicklung bei einem Nachweis von IgM-AK nicht ausschließen. Um eindeutigere Aussagen über die AK-Entwicklungen der untersuchten Erreger treffen zu können, sollten Vergleichsuntersuchungen über den Nachweis der Ig-Klassen IgM und IgG in zukünftigen Studien vorgenommen werden.

Der *C. burnetii*-AK-ELISA sowie der *C. psittaci*-AK-ELISA des CVUA-Stuttgart wurden zur Untersuchung von Blutseren von Rindern, Schafen und Ziegen entwickelt. Nur für diese Tiere gilt daher die vom Hersteller beschriebene Beurteilung der Messergebnisse anhand des Indexwertes mit einem Grenzwert (Cut-off value) von 0,4, der eine Einteilung in positiv, fraglich und negativ ermöglicht. Für die untersuchten Wildtiere hatte diese Einteilung keine Gültigkeit, eine automatische Übertragung des Cut-off value von Haustier-Wiederkäuern auf Wildtiere ist nicht möglich. Für zukünftige Studien ist die in der vorliegenden Arbeit vorgenommene Auswertung der optischen Dichten zur Bewertung ohne „Einkalibrierung“ der Testsysteme auf einzelne Wildspezies daher zu hinterfragen, da die in dieser Arbeit vorgenommene Festlegung auf einen imaginären Indexwert biologisch nicht immer plausible und nachvollziehbare Ergebnisse liefert. Da Indexwerte als Differenzen von Differenzen hochgradig abhängig von den plattenbezogenen OD-Werten der Positiv- und Negativkontrollen sind, verläuft der OD-Wert hochgradig nicht-linear. Wird der Indexwert

über die Verdünnung aufgetragen, so ergibt sich tatsächlich eine Annäherung an eine nicht-lineare Wachstumskurve. Der Indexwert, und damit die Einteilung von Probanden in positiv und negativ ist somit sehr sensitiv, geringe Verschiebungen des Cut-offs führen schon zu erheblichen Umgruppierungen zwischen positiven und negativen Tieren. Eine Nutzung der Verteilung der Daten nach biologischen Kriterien könnte zur Etablierung eines Grenzwertes für jede Tierart führen, der dann für zukünftige Untersuchungen zur Verfügung stehen würde. Würde man ein Cut-off-value bei den **Hutaffen** von 0,4 verwenden, wie es der ELISA des CVUA Stuttgart für die Anwendung bei Rind, Schaf und Ziege empfiehlt, so hätte der weibliche Hutaffe 1 (**H1**) mit einer Ausnahme im gesamten Untersuchungsjahr einen deutlich positiven Antikörpertiter gezeigt. Die Untersuchungen von KOPP (2000) zeigten, dass Kühe, die einen Abort hatten, hoch signifikant häufiger Antikörper gegen *Coxiellen* aufwiesen, als Kühe, die nicht abortiert hatten. Auch SIMMERT (1999) konnte die Beteiligung von *Coxiellen* an Aborten mit Hilfe eines Antikörper-ELISA nachweisen. Das Hutaffenweibchen 1 hatte etwa 5 Monate nach Ende der Untersuchungen eine Totgeburt, bei der der *Coxiellen*-Nachweis positiv war. Beim Menschen ist bekannt, dass eine Schwangerschaft zu einer Reaktivierung der Q-Fieber Erkrankung führen kann, da *C. burnetii* unter Umständen in der Lage ist, längere Zeit in Makrophagen zu überleben (THEEGARTEN et al., 2004). Auch hier könnte die chronische Infektion der Mutter durch die Gravidität reaktiviert worden sein und so zum Tod des Jungtieres geführt haben. Ein weiteres Jungtier (**H9**) derselben Mutter (**H1**) zeigte auch ganzjährig hohe Antikörpertiter, die etwa in der Mitte des Jahres mit einem Indexwert von 0,949 noch oberhalb der Werte der Mutter lagen. Ein Bezug zu einem Geschehen in der Gruppe ließ sich hier jedoch nicht herstellen.

Zwei weitere Geburten in der Gruppe der Hutaffen von Tier 5 (29.04.2002) und Tier 10 (01.11.2001) führten bei beiden Müttern zu steigenden Antikörperwerten rund um die Geburtstermine. Ein bis zwei Monate nach dem jeweiligen Geburtstermin sanken dann die Titer wieder deutlich ab. Insgesamt war das Bild der *Coxiellen*-Antikörperverläufe der Hutaffen über das gesamte Jahr sehr inhomogen und es schien, dass sich einzelne Tiere der Gruppe permanent mit dem Erreger auseinander setzten.

Betrachtet man die Gruppe der **Rentiere**, so waren auch hier im gesamten Jahr Reaktionen im Antikörperverlauf auszumachen, die jedoch mit nur einer Ausnahme in unverdächtigen Bereichen unterhalb der Indexwerte von 0,4 lagen. Obwohl das Rentier 2 (**R2**) innerhalb eines Jahres zwei Jungtiere verloren hatte, bei denen *Coxiellen* nachgewiesen werden konnten, zeigte dieses Muttertier ganzjährig nur geringe Antikörpertiter (Indexwerte < 0,4). Obwohl

Rentiere Wiederkäuer sind, reagierten sie in den Untersuchungen anders als Rind, Schaf und Ziege, für die das Testverfahren ursprünglich beschrieben wurde. Dass nicht bei jeder *Coxiellen*-Infektion Antikörper ausgebildet werden, wiesen SCHAAL und SCHÄFER (1984) nach. Es wurde früher diskutiert, dass dies auf die überwiegend zelluläre Immunabwehr bei derartigen Infektionen zurückzuführen ist (HUMPHRES et al., 1981). Das einjährige Rentier 5 (**R5**) zeigte sehr deutliche Schwankungen seiner Antikörperwerte. Hierbei ist nicht auszuschließen, dass der Grund für die starken Reaktionen des Tieres im Vergleich zum Rest der Gruppe in der bis zu dem Zeitpunkt fehlenden Auseinandersetzung des noch ungeschützten Jungtieres mit dem Erreger lag.

Einen weiteren Beleg für die Tatsache, dass zwischen Antikörperbildung und Antigennachweis nicht in jedem Fall ein direkter Zusammenhang besteht (SCHLEINZER, 1992, SIMMERT, 1999), fand sich in der Gruppe der **Dik-Diks**. Hier war es ein weibliches Tier (**D8**), das im gesamten Untersuchungsjahr sehr geringe Antikörpertiter hatte (Indexwerte <0,2) und bei dem kurz nach dem Ende der Untersuchungen post mortem ein *Coxiellen*-Nachweis geführt werden konnte. Auch bei dem Tier, das wegen einer Fraktur der Halswirbelsäule verstarb (**D7**), gelang der Erregernachweis, ohne dass bei den vorherigen serologischen Untersuchungen hohe Antikörpertiter auftraten. Trotz dieser Erregernachweise blieben die Indexwerte unterhalb von 0,4, so dass sich dieser Cut-off-Wert auch bei der Dik-Dik-Gruppe als nicht geeignet herausstellte.

Die zwei Geburten des Dik-Diks 5 (**D5**) am 16.09.01 und am 20.03.02 führten in beiden Fällen zu Reaktionen der Antikörper innerhalb von zwei Wochen. Dieser Anstieg der Titer spielte sich jedoch nach beiden Geburten in unverdächtigen Bereichen ab.

Die untersuchten **Haustiere** lebten alle gemeinsam auf einer großen Freianlage im Kinderzoo. Die Tiere hatten daher immer Kontakt untereinander, was bei der Betrachtung eines Infektionsgeschehens von Bedeutung war. So beschrieb SCHAAL (1985), dass es gerade in den Anfangsstadien einer Infektion mit *Coxiella burnetii* zur Besiedelung fast aller Körperparenchyme kommt, die eine Erregerausscheidung in Speichel, Milch, Kot, Harn und in besonders großen Mengen in Fruchtwasser, Lochialflüssigkeit und Eihäuten nach sich zieht. Bei chronisch infizierten Kühen ist darüber hinaus bekannt, dass es zu einer periodischen Ausscheidung des Erregers über Kot, Urin und in besonderem Maße über die Milch zum Zeitpunkt der Laktationen kommen kann (SAWYER, FISHBEIN und McDADE, 1987). Bei der Betrachtung der Antikörperverläufe der Haustiere fiel auf, dass es zu einem Anstieg der Titer bei vielen Tieren in der Ablammsaison kam. Mit Beginn dieser Zeit Anfang

März stieg der Antikörpertiter bei einem Steinschaf (**St2**), einer Deutschen Edelziege (**DE1**) und einem Kamerunschaf (**K4**) leicht an, die Werte eines anderen Kamerunschafes (**K3**) und besonders zweier Saanenziegen (**S2, S3**) waren während und nach dieser Zeit deutlich positiv. Ein biphasischer Antikörperanstieg mit einem Hoch der Titer im ersten und letzten Drittel der Trächtigkeit, wie ihn LANGE et al. (1992) bei vor der Trächtigkeit infizierten Kühen beobachteten, war in der Gruppe der Haustiere nicht auszumachen. Eine weitere Spitze der Antikörperwerte trat bei einigen Tieren (**Z9, K2, K3, K4, S1, S2**) bei der dritten Messung Ende August auf, wobei in diesem Fall ein auslösendes Geschehen nicht zu erkennen war. Auch bei den Haustieren zeigte sich ein indifferenter Antikörperverlauf und es schien, dass sich die Tiere der Gruppe permanent mit dem Erreger auseinandersetzten.

Die Tiere der vier Gruppen zeigten in dem empfindlichen ELISA-Test unterschiedlich hohe Antikörpertiter gegen *C. burnetii* und hatten somit Kontakt mit dem Erreger. Allerdings ließ dies keine Aussage über eine mögliche Erregerausscheidung oder Zeitpunkte erfolgter Infektionen zu.

Eine Eliminierung des Erregers in einem Zoo ist nicht möglich, da Zecken und Wildtiere das Erregerreservoir darstellen. Deshalb ist sicher eine konsequente Schädlingsbekämpfung eine wichtige Maßnahme zur Eindämmung der Erregerverbreitung. Zur weiteren Verbesserung der Situation im Bestand gehört auch die unschädliche Beseitigung aller Nachgeburten in den Gruppen mit nachgewiesenen Q-Fieber-Infektionen. Zusätzlich kann eine serologische Überwachung des Geschehens in einzelnen Gruppen eine Hilfestellung bei der Eindämmung des Durchseuchungsgrades mit *C. burnetii* sein, da sie auch die Möglichkeit der gezielten Eliminierung von serologisch auffallenden Einzeltieren aus dem Bestand bietet.

5.2 Untersuchungen der Tierseren auf *C.psittaci*-Antikörper

Anhand von Sektionsbefunden konnte vor, während und nach dem Untersuchungszeitraum kein Nachweis von *Chlamydophila-psittaci* in der **Hutaffengruppe** gestellt werden. Hier waren es immer wieder *Coxiellen*-Nachweise, die in der Gruppe, aber auch bei anderen Affenarten aus dem Tropenhaus, auftraten. Dennoch zeigten die serologischen Untersuchungen der vorliegenden Arbeit bei etwa der Hälfte der Hutaffen Antikörpertiter gegen *C. psittaci*, die oberhalb eines gedachten Cut-off-values von 0,4 lagen. Die zweite Hälfte der Gruppe lag ganzjährig bei Indexwerten um 0 und zeigte kaum Reaktionen der Antikörper. Die untersuchte Hutaffengruppe bestand aus drei männlichen und acht weiblichen

Tieren, denen ein Innen- und ein Außengehege zur Verfügung standen. Auch wenn den Tieren ausreichend Platz zur Verfügung stand, so kam es doch immer wieder zu Auseinandersetzungen der Tiere innerhalb des Sozialverbandes. Es war möglich, dass das dominante Männchen jüngere männliche Tiere unterdrückte oder seine dominante Stellung an den weiblichen Tieren ausließ. Auch bei den anderen Gruppenmitgliedern konnte aus unterschiedlichen Gründen Stress entstehen. Dieser Stress und diverse andere Belastungsfaktoren, wie z.B. unsachgemäße Fütterung, Transport, mangelnde Umwelt- und Hygienebedingungen und zu hohe oder zu niedrige Temperaturen, die zu einer Immunsuppression der Tiere führen, können den Ausbruch einer *Chlamydien*-Infektion begünstigen (SELBITZ, 1992; BOCKHOLT, 1994). Der Stress und die Unterdrückung durch das ranghöchste Männchen könnten bei dem männlichen Jungtier (**H4**) zur Infektion geführt haben, die durch die deutlich erhöhten Antikörpertiter in der Mitte und zum Ende der Untersuchung sichtbar wurde. Sicher war auch die Geburt bei einem weiblichen Affen (**H10**) und die anschließende Versorgung ihres Jungtieres (**H11**) eine Belastung. Diese konnte mit einer Immunsuppression verbunden sein und so zu den deutlichen Antikörperreaktionen in der Zeit nach der Geburt geführt haben. Neben den vielgestaltigen unter 2.2.5.1. beschriebenen Krankheitsbildern einer *C. psittaci*-Infektion wurden von einigen Autoren symptomlose Verlaufsformen der Erkrankung beschrieben, wie die beim Rind klinisch inapparent verlaufenden Darminfektionen (PAGE et al., 1973; WITTENBRINCK et al., 1987; 1988). Auch diese symptomlosen Verlaufsformen einer *C. psittaci*-Infektion sind bei Ceylon-Hutaffen nicht auszuschließen und könnten eine Erklärung für Antikörperreaktionen bei ungestörten Allgemeinbefinden der Tiere sein. Anzeichen von eventuell *Chlamydien*-bedingten Keratokonjunktividen, die von verschiedenen Autoren bei unterschiedlichen Tieren beschrieben wurden (OTT, 1993; KÖHLER, 1992; BRÖMEL, 1997; BOSTEDT und DIDIÉ, 1996), ließen sich bei den regelmäßigen Blutabnahmen der Tiere nicht feststellen. Da das Aussengehege der Affen nur durch ein Gitter verschlossen war, gelangten zum einen kleine Vögel und Nagetiere und zum anderen der Kot von größeren Wildvögeln von außen in das Gehege der Tiere. Wie unter 2.2.4. beschrieben konnten viele Autoren *C. psittaci* bei unterschiedlichen Vogelarten, Wildsäugern und anderen Tieren nachweisen. Dass auch Meisen eine Funktion als Vektor und Erregerreservoir eingeräumt werden kann, konnte von HOLZINGER (1996) durch den Nachweis von *C. psittaci* bei 200 von 400 dieser Vögel zeigen. Der mögliche Kontakt der Hutaffen mit den Ausscheidungen infizierter Wildvögel und -säuger sowie erregerhaltige Stäube im Aussengehege, mussten als mögliche Ursache für

Chlamydophila-psittaci-Infektionen und die damit in Zusammenhang stehenden Antikörperreaktionen in der Gruppe angesehen werden.

Die Sichtung der Sektionsbefunde der **Rentiere** aus zurückliegenden Jahren, sowie des im Untersuchungsjahr verstorbenen Jungtieres, ergab keinen *Chlamydien*-Nachweis. Trotzdem konnten bei allen Tieren aus der Gruppe hohe Antikörperwerte über das gesamte Jahr festgestellt werden. Einzige Ausnahme bildete die einmalige Untersuchung des Jungtieres von Tier 4 (**R4**). Dieses weibliche Rentier zeigte über die gesamte Zeit die höchsten Antikörpertiter, die immer oberhalb des Indexwertes 2 lagen. Wie THOMA (1996) bereits beschrieb, besitzt *C. psittaci* eine besondere Affinität zum Trophoblastenepithel im interkotyledonären Endometriumbereich und kann hier Ulzerationen hervorrufen. Durch den direkten Kontakt mit dem Chorionepithel der Plazenta ist eine hämatogene Infektion der Feten möglich, die zum Abort führen kann. Zu einem Abort kam es in diesem Fall nicht und das Jungtier (**R6**), das etwa zwei Monate nach der Geburt auf Antikörper untersucht wurde, zeigte keinen erhöhten Indexwert. Dies könnte zum einen bedeuten, dass keine hämatogene Infektion während der Trächtigkeit stattgefunden hatte oder dass zum Zeitpunkt der Blutabnahme keine Antikörperbildung erfolgte, da ein negativer *Chlamydien*-Titer eine Infektion nie ausschließt.

Die Tatsache, dass nicht nur klinisch kranke, sondern auch latent infizierte Tiere den Erreger über den Kot, Genitalsekrete, infizierte Nachgeburten, Harn, Sperma und Konjunktivalsekrete ausscheiden und so ein wichtiges Erregerreservoir für die Ansteckung von Tier zu Tier darstellen (SCHMEER, 1988:), könnte auch in dieser Gruppe eine entscheidende Rolle gespielt haben. Geht man davon aus, dass die sehr hohen *C. psittaci*-Antikörpertiter von Rentier 4 (**R4**) eine latente Infektion des Tieres belegen, so ist nicht auszuschließen, dass dieses Tier das Erregerreservoir für die übrigen Gruppenmitglieder gewesen sein könnte. Natürlich durfte auch bei dieser Tiergruppe der Kontakt auf der Außenanlage mit Ausscheidungen von Wildvögeln und Nagetieren als mögliche Ursache für *Chlamydien*-Infektionen und die damit verbundenen Antikörperreaktionen nicht außer Acht gelassen werden. Bei den Schwankungen der Antikörpertiter, die bei allen Rentieren zu sehen waren, könnte es sich um natürliche Schwankungen der Werte handeln, die auch auf die intermittierende Erregerausscheidung zurückzuführen sein könnte (STORZ und THORNLEY, 1966).

Anhand der Sektionsbefunde des Zoo Berlin ließ sich zwei Jahre vor Untersuchungsbeginn ein Nachweis von *Chlamydien* in der BGM-Zellkultur bei einem verstorbenen **Dik-Dik** stellen. Wie bei den zuvor beschriebenen Gruppen waren es auch bei den Dik-Diks häufig

Coxiellen, die als Haupt- oder Nebenbefund in Sektionsberichten auftauchten. Auch hier konnten die vorliegenden serologischen Untersuchungen zeigen, dass bei einigen Tieren *C. psittaci*-Antikörpertiter in unterschiedlich hoher Ausbildung im Jahr auftraten. Ein weibliches Dik-Dik (**D3**) zeigte trotz zweier Geburten ganzjährig relativ konstante Indexwerte um 0,5, was bei einem gedachten Cut-off-value von 0,4 im leicht positiven Antikörpertiterbereich lag. Ein anderes Tier (**D5**), das auch zwei Geburten während des Untersuchungszeitraumes hatte, zeigte stark schwankende Antikörperwerte, die insgesamt deutlich höher lagen. Die Antikörperkurve eines der zwei adulten Männchen (**D2**) verlief annähernd parallel zu der Kurve des beschriebenen Weibchens. Dies könnte zu dem Schluss führen, dass es zu einer Erregerübertragung der Tiere untereinander beim Deckakt gekommen war, wie zum Beispiel durch Genitalsekret des latent infizierten Männchens (**D2**). STORZ et al. (1968) machten bestimmte *Chlamydien*-Stämme für die schlechte Spermienqualität bei Deckbullen verantwortlich und BOWEN et al. (1978) sahen derart infizierte Deckbullen als Grund für Fruchtbarkeitsstörungen, wie Infertilität und gehäuftes Umrindern, hervorgerufen durch eine *Chlamydien*-bedingte Veränderung des Uterusmilieus. Eine *C. psittaci*-Infektion von Tier 5 (**D5**) hervorgerufen durch den Deckakt mit Tier 2 (**D2**) durfte daher nicht ausgeschlossen werden. Selbstverständlich wäre auch eine Übertragung der Infektion über das Genitalsekret vom weiblichen auf das männliche Tier bei der Paarung denkbar, sodass beide Tiere Ausgangspunkt für eine Infektion des anderen gewesen sein könnten. Das Jungtier (**D9**) des zuvor beschriebenen positiven Weibchens hatte bereits wenige Wochen nach der Geburt deutlich steigende Antikörperwerte, wobei unterschiedliche Infektionswege über Kot, Urin oder die Milch vorstellbar waren.

Neben gehäuften *Coxiellen*-Nachweisen waren es vor Untersuchungsbeginn immer wieder *Chlamydien*, die mittels PCR, BGM-Zellkultur oder IFT bei verstorbenen **Haustieren** nachgewiesen wurden. Die Klinik zeigte vereinzelt Aborte oder Geburten lebensschwacher Jungtiere. Die übrigen für *C. psittaci*-Infektionen typischen Krankheitsbilder, wie Pneumonien, Intestinalinfektionen, Mastitiden, Polyarthritiden, Keratokonjunktivitiden und Encephalomyelitiden waren in diesen Tiergruppen nicht auszumachen. Trotz der wiederholten Erregernachweise zeigten die vorliegenden Untersuchungsergebnisse, dass es nicht zu einer Durchseuchung des Gesamtbestandes mit positiven Antikörpertitern aller Tiere gekommen war. Vielmehr gab es einzelne Reagenten in der Gruppe mit schwankenden Verlaufskurven ihrer Antikörperwerte. Die Höhepunkte der Antikörperbildung lagen bei vielen der 34 untersuchten Tiere in den Monaten November/Dezember. Weitere sehr deutliche Titeranstiege konnten bei den positiven Reagenten darüber hinaus in der Ablammperiode im

Frühjahr 2002 festgestellt werden. Ein Grund für diese festgestellten Titterschwankungen könnte das von STING (1999) beschriebene wellenförmige Auftreten von *Chlamydien*-Infektionen sein, das dann zu den unterschiedlich hohen Antikörperbildungen geführt haben könnte. Auch muss von einem erhöhten Infektionsdruck in der Ablammsaison in der Gruppe der Haustiere ausgegangen werden. Innerhalb weniger Wochen treten zahlreiche Geburten auf, die die Möglichkeit der Erregerverbreitung von klinisch kranken oder latent infizierten Tieren über Kot, Genitalsekrete, infizierte Nachgeburten, Harn, Sperma oder Konjunktivalsekrete auf andere Gruppenmitglieder ermöglicht (SCHMEER, 1988). Die Tatsache, dass sich der Erreger außerhalb des Wirtes nach der Austrocknung als sehr resistent erweist und er so über lange Zeit im Staub verbleibt, mit dem er durch den Wind weit verbreitet werden kann, führt zu einer Verlängerung des Infektionsrisikos für die Haustiere im Frühjahr. Eine Prädisposition bestimmter Tierrassen für die Ausbildung eines Antikörpertiters gegen *C. psittaci* war nicht festzustellen und so konnten Reagenten bei allen Haustierrassen ausgemacht werden.

Im Hühner- und Taubenhaus des Zoo Berlin wurde in den Jahren vor der Untersuchung gehäuft der Nachweis „Ornithose“ bei **Hühnern** und vor allem bei verschiedenen Taubenrassen gestellt. So verwunderte es auch nicht, dass die vorliegenden serologischen Untersuchungsergebnisse eine vollständige Durchseuchung beider Hühnergruppen vermuten ließen. Wäre man von einem Cut-off-value von 0,4 ausgegangen, so hätte sich unter den untersuchten Hühnern nur ein Tier befunden, das diesen Wert kurzzeitig unterschritt. Über die meiste Zeit der Probennahme hatten die Hühner deutlich erhöhte *C. psittaci*-Indexwerte. In dem historischen Hühner- und Taubenhaus wurden die verschiedenen Tierrassen zwar separiert voneinander gehalten, die einzelnen Volierenteile waren jedoch voneinander nur durch Gitterwände getrennt. Auch das Dach der Volieren bestand aus einem Drahtgeflecht. Gerade Tauben wird eine wichtige Funktion als Erregerreservoir und Vektor zugeschrieben, da sie den Erreger mit dem Kot und anderen Körperflüssigkeiten über viele Jahre intermittierend oder kontinuierlich ausscheiden können (HAFEZ, STING, 1994; ANDERSEN, VANROMPAY, 2003). Durch die dargestellten baulichen Gegebenheiten des Hauses war eine Erregerverbreitung unter den Tieren über Stäube und Aerosole jederzeit gegeben, was den erhöhten Infektionsdruck und die deutlichen Antikörpertiter erklärte. Darüber hinaus bestand natürlich auch bei dieser Untersuchungsgruppe das Risiko der Infektion über den Kontakt mit Ausscheidungen anderer Vektoren wie Wildvögel oder Kleinsäuger (z.B. Ratten und Mäuse).

Anhand der Sektionsbefunde und durch Untersuchungen von Kotproben gelang in den Jahren vor Untersuchungsbeginn immer wieder der Nachweis von *C. psittaci* in dem Haus, in dem die **Aras** gehalten wurden. Die Untersuchung von Kotproben dieser 11 Aras direkt vor Beginn der serologischen Untersuchungen führten über die BGM-Zellkultur in Verbindung mit dem Immunofluoreszenztest zum Nachweis von *C. psittaci* bei Ara 1 und 5 (**A1**, **A5**), ohne dass diese oder andere Tiere aus dem Haus Krankheitsanzeichen zeigten. Bei dem Haus, in dem die 11 Tiere untergebracht waren, handelte es sich nicht um eines der zwei Vogelhäuser des Zoo Berlin, sondern um eine separate Unterbringung ohne Publikumsverkehr, die nur den 11 Vögeln der Gruppe zur Verfügung stand. So konnten im Folgenden in Absprache mit den zuständigen Amtsveterinären die notwendigen Maßnahmen nach der Psittakoseverordnung durchgeführt werden. Weitere zellkulturelle Untersuchungen der Kotproben führten Ende Oktober 2001 zum *C. psittaci*-Nachweis bei Ara 1 und 9 (**A1**, **A9**), sodass eine erneute Tetracyclinbehandlung notwendig wurde, die dazu führte, dass in zwei aufeinander folgenden Kotproben der 11 Aras Anfang Januar kein Nachweis von *C. psittaci* mehr möglich war.

Mit der Ausnahme eines Gelbbrustaras (**A4**) zeigten alle Aras der Untersuchungsgruppe ganzjährig positive *C. psittaci*-Antikörpertiter, die mit dem *C. psittaci*-Antikörper-ELISA, RIDASCREEN nachgewiesen werden konnten. Dieser Antikörpernachweis erfolgte im ersten Halbjahr, in dem der Erreger auch in den untersuchten Kotproben bei einzelnen Tieren festgestellt wurde. Doch auch als bei wiederholten Untersuchungen ein Nachweis von *C. psittaci* im Kot der Tiere nicht mehr gelang, konnten Antikörper im Serum der Aras in der zweiten Jahreshälfte festgestellt werden.

Die untersuchten Vögel lebten zwar alle gemeinsam in einem Haus, waren aber in verschiedenen Volieren untergebracht. Die Tatsache, dass eine Erregerübertragung über Stäube (Eintreu und Futter) sehr leicht möglich war, könnte eine Erklärung dafür sein, dass ein Erregernachweis bei nur wenigen Tieren erfolgte, aber fast alle Tiere der Gruppe hohe Antikörpertiter hatten. Sicher muss auch die intermittierende Erregerausscheidung (STORZ und THORNLEY, 1966) als eine Ursache für die Abweichungen des direkten und indirekten Erregernachweises bei den Aras im Laufe der Untersuchungen herangezogen werden. Zusammenfassend konnte durch die serologischen Untersuchungen der Aras eine hohe Durchseuchung der gesamten Gruppe gezeigt werden.

5.3 Untersuchungen der Humanseren auf *C. psittaci*-Antikörper

Von den 13 untersuchten **Tierpflegern** aus dem Zoo Berlin wurde ein bis drei Mal Blut abgenommen, sodass insgesamt 29 Serumproben auf *C. psittaci*-Antikörper überprüft werden konnten. Die Pfleger arbeiteten mit den Tiergruppen zusammen, von denen die Blutproben für die vorliegende Arbeit genommen wurden. Lediglich 3 von 29 Proben ergaben Messergebnisse > 0 , alle übrigen Indexwerte lagen in negativen Bereichen. Bei einem angenommenen Cut-off-value von 0,4 lagen zwei Indexwerte leicht darüber (0,456 und 0,449), einer knapp darunter (0,364). Die zwei Pfleger mit den „positiven“ Antikörperreaktionen arbeiteten mit den Aras im Vogelhaus, der Pfleger mit dem etwas geringeren Titer kümmerte sich um die Haustiere im Kinderzoo. Die serologischen Untersuchungen dieser drei Personen ergaben an den anderen Messungen jeweils keine Antikörperreaktion (s. Abb.8).

Die häufigste Infektionsquelle für den Menschen stellen Psittaziden, Tauben und Schafe dar, da sie den Erreger über viele Jahre intermittierend oder kontinuierlich mit dem Kot oder anderen Körperflüssigkeiten ausscheiden können. Neben der Infektion durch erregerehaltigen Staub sind auch Schmierinfektionen durch Ausscheidungen infizierter Tiere möglich. Eine besondere Prädisposition für eine *Chlamydophila-psittaci*-Infektion besitzen vor allem Personen- und Berufsgruppen, die engen Kontakt mit infizierten Tieren haben, wie z.B. Schlachthofpersonal, Beschäftigte in der Landwirtschaft und Lebensmittelindustrie, Geflügelzüchter, Geflügelhalter, Mitarbeiter in Eiproduktionsbetrieben, Angestellte in Vogelhandlungen oder Tiergärten, Hobbyzüchter oder Tierärzte (GRATZEL und KÖHLER, 1968; STELZNER et al., 1972; SCHACHTER et al., 1980; KRAUSS und WEBER, 1986; BECKER et al., 1992; BAZALA und RENDA, 1992; HAFEZ und STING, 1994; ANDERSEN et al., 1997; ANDERSEN und VANROMPAY, 2003). Während einzelne Erkrankungsfälle eher beim Papageienhalter auftreten, so häufen sie sich beim Menschen in Verbindung mit der Nutzgeflügelhaltung.

Die drei Personen, die nach angenommenem Cut-off von 0,4 serologische Reaktionen zeigten, arbeiteten also mit den Tieren (Schafe, Ziegen, Aras), die für den Menschen laut Literatur ein erhöhtes Infektionsrisiko einer *C. psittaci*-Infektionen darstellen. Im Gegensatz dazu waren bei Tierpflegern aus anderen Revieren, in denen die Tiere auch *Chlamydien*-Infektionen hatten, keine serologischen Auffälligkeiten festzustellen.

Diese Ergebnisse wurden den serologischen Untersuchungen von 20 **Personen** aus dem **Universitätsklinikum Benjamin Franklin** (UKBF) gegenübergestellt, denen im

vierwöchigen Abstand zwei Blutproben entnommen wurden. Von dieser Personengruppe war nur bekannt, dass sie nicht mit Tieren arbeiteten und keine Haustiere besaßen. Die Messungen mit dem *C. psittaci*-Antikörper-ELISA zeigten bei neun Personen leicht erhöhte Antikörper mit Indexwerten zwischen 0 und 0,3. Sechs dieser Personen hatten bei beiden Messungen positive Reaktionen. Eine Ausnahme bildete die Person 6, die bei beiden Blutentnahmen deutlich erhöhte Antikörperreaktionen mit Indexwerten > 1 aufwies (s. Abb.9).

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigten, dass die Tierpfleger aus dem Zoo Berlin, die einen direkten Kontakt zu Tieren mit erhöhten *C. psittaci*-Antikörpertitern hatten, nicht vermehrt Antikörper ausbildeten, im Vergleich zu den untersuchten Personen der Kontrollgruppe ohne Tierkontakt. Obwohl im Zoo über längere Zeit immer wieder bei einzelnen Tiergruppen Abortgeschehen festgestellt wurden, zeigten sich weder klinische noch serologische Auffälligkeiten beim untersuchten Zoopersonal.

6. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden im Laufe eines Jahres von 85 Tieren (6 Rentiere, 11 Ceylon-Hutaffen, 11 Kirk Dik-Diks, eine Gruppe von 34 unterschiedlichen Haustieren, 11 Aras sowie 12 Hühnervögel) aus dem Zoologischen Garten Berlin insgesamt 1.739 Serumproben gewonnen, von denen alle auf Antikörper gegen *C. psittaci* und 1.223 auf Antikörper gegen *C. burnetii* untersucht wurden. Von 13 Tierpflegern, die im selben Zeitraum mit den untersuchten Tieren arbeiteten, und einer Kontrollgruppe von 20 Personen aus dem Charité Campus Benjamin Franklin, gelangten 69 Serumproben zur Untersuchung des *C. psittaci*-Antikörpertiters. Ziel war es, aktuelle Daten über den Antikörperstatus gegen *C. psittaci* und *C. burnetii* bei den Tiergruppen zu erlangen. Weiterhin sollte durch die Untersuchung der Pfleger und einer humanen Kontrollgruppe auf *C. psittaci*-Antikörper das Risiko der Tierpfleger, sich mit *C. psittaci* zu infizieren, eingeschätzt werden.

Alle Serumproben wurden mit einem *Coxiellen-* bzw. *Chlamydien*-Antikörper-ELISA des Chemischen und Veterinäruntersuchungsamtes (CVUA) Stuttgart untersucht. Um zu klären, ob dieser ELISA-Test mit dem verwendeten Konjugat auch für serologische Untersuchungen bei Zoo- und Wildtieren anwendbar ist, wurden *C. burnetii* - bzw. *C. psittaci*-positive Seren von *Bovidae*, *Capridae*, *Ovidae*, *Equidae*, *Cervidae*, *Anatidae*, *Phasianidae* und von Primaten aus dem Stuttgarter Zoo Wilhelma mit dem Konjugat in verschiedenen Verdünnungsstufen untersucht. Die Nachweisempfindlichkeit erwies sich bei allen Säugetieren als sehr gut, jedoch konnten beim *C. burnetii*-Antikörper-ELISA keine Reaktionen auf Immunglobuline in Vogelseren festgestellt werden. Die Seren der Hühnervögel konnten mittels des *C. psittaci*-Antikörper-ELISA des CVUA Stuttgart untersucht werden, zur Untersuchung der Papageisereen wurde der RIDASCREEN *C. psittaci* ELISA der Firma r-biopharm verwendet.

Die Tiere der untersuchten Gruppen zeigten im ELISA-Test unterschiedlich deutliche Antikörperreaktionen gegen *C. burnetii* und hatten somit Kontakt mit dem Erreger, was allerdings keine Aussage über eine mögliche Erregerausscheidung oder den Zeitpunkt einer Infektion zuließ. Innerhalb der Gruppen gab es Tiere, die ganzjährig keine oder nur sehr geringe Antikörperreaktionen hatten, sowie Tiere, die im Laufe des Jahres vereinzelt erhöhte Indexwerte hatten und Tiere, die über das gesamte Untersuchungsjahr hohe Antikörperindexwerte gegen *C. burnetii* aufwiesen. Darüber hinaus gab es Tiergruppen, bei

denen im gesamten Untersuchungszeitraum die Antikörperreaktionen in nur unverdächtigen Bereichen lagen. Eine 100%ige Infektion mit *C. burnetii* einer gesamten Gruppe, die man bei positiven Indexwerten aller Gruppenmitglieder über das gesamte Jahr vermuten würde, war nie festzustellen.

Chronische symptomlose *C. burnetii*-Infektionen wurden als möglicher Grund für das Auffinden der „seropositiven“ Tiere angesehen, die durch Stressoren wie Geburten, Druck innerhalb der Gruppe oder ähnlichem zu den beschriebenen Aborten oder anderen Krankheitsgeschehen geführt haben könnten. Die Tatsache, dass zwischen Antikörperbildung und Antigennachweis kein direkter Zusammenhang bestehen muss, konnte durch den Antigennachweis bei Tieren erbracht werden, die im Untersuchungszeitraum verstorben waren, während der gesamten Zeit aber keine erhöhten Indexwerte gegen *C. burnetii* ausgebildet hatten. Auch konnte durch die erhöhten Indexwerte der Haustierrgruppe zur Ablammsaison gezeigt werden, dass in diesem Jahresabschnitt der Infektionsdruck für die zusammenlebenden Tiere besonders hoch zu sein schien.

In allen untersuchten Tiergruppen wurden *C. psittaci*-Antikörperindexwerte festgestellt, allerdings in unterschiedlicher Höhe, sodass von einem Kontakt mit dem Erreger ausgegangen werden konnte. Da die „seropositiven“ Tiere während des gesamten Untersuchungsjahres ein ungestörtes Allgemeinbefinden zeigten, wurde vermutet, dass symptomlose Verlaufsformen der Infektion dominierten. Stress, den die Tiere untereinander hatten, und andere immunsuppressive Faktoren wie Geburten oder das Führen von Jungtieren, könnten zu erhöhten *C. psittaci*-Antikörperindexwerten geführt haben. Während der Ablammsaison im Frühjahr des Untersuchungsjahres wurde ein gehäuftes Auftreten „seropositiver“ Tiere in der Haustierrgruppe festgestellt. Der Kontakt der Zootiere mit Wildvögeln und –säugern in den Innen- und Außengehegen könnte als eine weitere Ursache für Antikörperreaktionen angesehen werden.

Die serologischen Untersuchungsergebnisse der Hühnergruppen mit hohen Antikörperindexwerten im gesamten Jahr zeigten eine klinisch inapparente Infektion des Gesamtbestandes. Auch die Gruppe der Aras wies einen hohen Grad an *C. psittaci*-Antikörpern auf. Dieser Antikörpernachweis gelang sowohl parallel zu einem Antigennachweis, als auch zu den Zeiten, in denen kein Antigen mehr festgestellt werden konnte.

Trotz des regelmäßigen Kontaktes der Tierpfleger zu Zootieren mit erhöhten *C. psittaci*-Antikörpertitern und mit immer wiederkehrenden *C. psittaci*-Antigennachweisen, war der Anteil der AK-positiven-Reagenten unter den Tierpflegern (3 AK-positive-Reagenten von 13) im Vergleich zur Kontrollgruppe (16 AK-positive-Reagenten von 20) geringer. Weder klinische noch serologische Auffälligkeiten konnten bei den untersuchten Tierpflegern festgestellt werden. Eine Aussage über ein erhöhtes Risiko der Pfleger, sich durch die Arbeit mit den Zootieren an *C. psittaci* zu infizieren, konnte durch die vorliegende Arbeit nicht getroffen werden.

Anhand der vorliegenden Untersuchung wurden erstmalig in diesem Umfang in einem Zoologischen Garten einzelne Tiergruppen auf *Coxiellen*- bzw. *Chlamydien*-Antikörper über einen längeren Zeitraum hin untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass mit den verwendeten ELISA IgG-Antikörper nachweisbar sind und sich Verläufe der Antikörperentwicklungen in den Tiergruppen darstellen lassen. In zukünftigen Studien sollten Vergleichsuntersuchungen über den Nachweis der Ig-Klassen IgM und IgG vorgenommen werden, um eindeutige Aussagen über die Antikörperentwicklung treffen zu können. Zur besseren Bewertung der Antikörperentwicklungen empfiehlt sich darüber hinaus für weiterführende Arbeiten der gleichzeitige Antigennachweis.

Aufgrund der Ergebnisse kann beim Verdacht einer *Coxiellen*- bzw. *Chlamydien*-Infektion innerhalb einer Tiergruppe einer zoologischen Einrichtung eine serologische Untersuchung auf Antikörper gegen die Erreger bei einigen Tieren (Rentiere, Ceylon-Hutaffen, Kirk Dik-Diks, unterschiedliche Haustiere, Aras sowie Hühnervögel) zur Bestandsdiagnostik empfohlen werden. Hierbei stellen die verwendeten Tests des CVUA Stuttgart eine Möglichkeit dar. Eine einheitliche Vorgehensweise und Bewertung der Ergebnisse für alle Tierarten ist jedoch nicht zu empfehlen, da sich der Grenzwert von 0,4, wie ihn der Hersteller der Tests für die Verwendung bei Rind, Schaf und Ziege vorsieht, nicht für alle überprüften Tiergruppen als geeignet herausstellte. Weitere Studien, die eine eventuelle Anpassung des Cut-offs an die Untersuchung von Wildtieren ermöglichen, fehlen bislang und bleiben zukünftigen Studien vorbehalten.

7. Summary

Seroepidemiologic study for detection of antibodies against *Coxiella burnetii* and *Chlamydophila psittaci* in zoo animals and their keepers.

In the present study, 1.739 serum samples were obtained from 85 animals (6 reindeers, 11 Toque Macaque, 11 Kirk Dik-Diks, a group of 34 farm animals, 11 Aras, and 12 chickens) from the Berlin Zoo during one year. All samples were tested for the presence of antibodies against *C. psittaci*, and 1.223 samples were tested for the presence of antibodies against *C. burnetii*. Sixty-nine serum samples for serologic tests for antibodies against *C. psittaci* were also obtained from 13 keepers during the same timeframe and from 20 persons from the campus of the Charité Benjamin Franklin, serving as control group. The first aim of the present study was to obtain data determining the immunologic status in regards to *C. psittaci* and *C. burnetii* of the different animal groups. The second aim of the study was to evaluate the risk of infection with *C. psittaci* for the keepers.

All serum samples were tested using a *Coxiella*- or *Chlamydia*-antibody ELISA provided by the CVUA Stuttgart. In order to determine the usefulness of this ELISA test for serologic testing of serum from zoo- and wildlife animals, serial dilutions of *C. burnetii* - and *C. psittaci*-positiv sera from *Bovidae*, *Capridae*, *Ovidae*, *Equidae*, *Cervidae*, *Anatidae*, *Phasianidae* and from primates from the Stuttgart Zoo Wilhelma were examined. Results showed a high sensitivity for mammalian species. However, no response to immunoglobulins utilizing the *C. burnetii*-antibody-ELISA was observed in sera obtained from avian species. The serum samples of the chickens therefore were tested using the *C. psittaci*-antibody-ELISA of the CVUA Stuttgart whereas the RIDASCREEN *C. psittaci* ELISA (r-biopharm) was used to test sera from parrots.

Utilizing the ELISA, results revealed that animals of the different groups developed antibodies against *C. burnetii* and therefore had exposure to the agent. However, no conclusions were possible regarding possible shedding of the agent or time of infection. Within the groups were animals that had none or just a very small antibody response during the year, animals that had multiple peaks of antibody titers, and animals that showed high amounts of antibodies against *C. burnetii* all year around. In some animal groups antibody titers were considered

insignificant during the time of the study. In none of the animal groups, 100% of the animals were infected during the entire year.

Chronic, subclinical infections with *C. burnetii* were considered the cause of abortions or other symptoms evolving in seropositive animals, when stress like birth or social stress within the group occurred. Antigen was found in animals that died during the study period, but prior to death had never developed antibodies against *C. burnetii*. Therefore, no correlation was found between presence of antibodies and antigen. Increase in antibody titers within the farm animal group during lambing season showed increased infection risk for animals living together during this time of the year.

In all animal groups examined, various antibody titers against *C. psittaci* were detected, suggesting exposure to the agent. All serologically positive animals showed no clinical signs of infection during the study period, suggesting predominantly subclinical infections. Social stress within a group or other immunosuppressive factors such as births or raising the young could be the cause for elevated *C. psittaci* antibody titers. During lambing season in spring, an increased rate of serologically positive animals was noted within the farm animal group. Additionally, contact between zoo- and wildlife within inside and outside housing facilities could be another cause for the antibody responses seen.

Serologic results of the chicken groups showed high antibody titers during the entire year, indicating subclinical infection of the entire group. The group of Aras showed a high prevalence of antibody titers against *C. psittaci*. Antibodies were found correlating with antigen detection, and found as well as at times, where no antigen could be found.

Despite the regular contact between keepers and zoo animals with increased antibody titers against *C. psittaci* and detected antigen, the antibody prevalence among the keepers was considerably lower (3/13) compared to the control group (16/20). No clinical abnormalities could be detected in any of the keepers.

The present study allowed no conclusions about a higher risk for the keepers for infection with *C. psittaci*.

For the first time, this study investigated different groups of animals from a zoo for the presence of antibodies against *C. burnetii* and *C. psittaci* for one year. The ELISA test utilized was sensitive to detect IgG- antibodies. Serial titers could be evaluated in the different animal groups. Further studies comparing IgM and IgG would be helpful to further elicit the serologic

changes associated with those infections. For a better interpretation of the serological changes a simultaneous antibody detection is recommended for further studies.

The results of this study suggest, that if an infection with *C. burnetii* or *C. psittaci* is suspected within a group of zoo animals, serologic testing of some animals species (reindeers,

Toque Macaque, Kirk Dik-Diks, different farm animals, Aras as well as chickens) could be useful to estimate the immunological state within a group. The tests utilized in the present

study provide a valuable tool to detect these antibodies in the different species examined.

Evaluation of the results need to be adjusted for different species, because the recommended cut-off-value of 0.4 for use in cattle, sheep and goats has shown to be invalid for other species.

Further studies to develop a cut-off for the examination of wildlife would be beneficial.

8. Literaturverzeichnis

ANDERSEN, A. A. (2000)

Avian Chlamydiosis. In: OIE Standards Commission (Ed.) Manual of standards for diagnostic tests and vaccines. 4th Edition. Paris: Office International des Epizooties; S. 679-690

ANDERSEN, A. A., GRIMES, J. E., WYRICK, P. B. (1997)

Chlamydiosis (Psittacosis, Ornithosis). In: Diseases of Poultry. 10th Edition. Eds. Calnek, B. W., Barnes, H. J., Beard, C. W., McDougald, L. R., Saif, Y. M..
Ames: Iowa State University Press, S. 333-349

ANDERSEN, A. A., VANROMPAY, D. (2003)

Avian Chlamydiosis (Psittacosis, Ornithosis). In: Diseases of Poultry. 11th Edition. Eds. Saif, J. M., Barnes, H. J., Glisson, J. R., Fadly, A. M., McDougald, L. R. & Swayne, D. E..
Ames: Iowa State University Press; S. 863-879

ARRICAU-BOUVERY, N., HAUCK, Y., BEJAOU, A., FRANGOULIDIS, D., BODIER, C. C., SOURIAU, A., MEYER, H., NEUBAUER, H., RODOLAKIS, A. and VERGNAUD, G. (2006)

Molecular characterization of *Coxiella burnetii* isolates by infrequent restriction site-PCR and MLVA typing.

BMC Microbiology, April 26, 6 (38)

ARRICAU-BOUVERY, N., SOURIAU, A., LECHOPIER, P., RODOLAKIS, A. (2003)

Experimental *Coxiella burnetii* infection in pregnant goats: excretion routes.

Vet. Res. 34 (4); 423-433

BAGHIAN, A., SCHNORR, K. L. (1992)

Detection and antigenicity of chlamydoal proteins that bind eukaryotic cell membrane proteins.

Am. J. Vet. Res. 53 (6); 980-986

BALJER, G., WIELER, L. H. (2007)

Zur Rolle der Veterinärmedizin in Forschung und Gesellschaft - Symposium der Deutschen Akademie der Naturforscher Leopoldina und der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft.

Berlin, 13.-14.10.2006

Nova Acta Leopoldina; N.F., 353 = 95

BARR, D. A., SCOTT, P. C., O'ROURKE, M. D., COULTER, R. J. (1986)

Isolation of *Chlamydia psittaci* from commercial broiler chickens.

Australian Veterinary Journal 63; 377

BAZALA, E., RENDA, J. (1992)

Latente Chlamydien-Infektionen als Ursache von Gesundheitsstörungen bei Schweine-, Rinder- und Schafzüchtern in der CSFR.

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 105 (5); 145-149

- BLANCHARD, T. J., MABEY, D. C. W. (1994)
Chlamydial infections.
British Journal of Clinical Practice 48; 201-205
- BECKER, W., MENK, W. (1992)
Chlamydien-Infektion. In: Zoonosen-Fibel: Zwischen Tier und Mensch übertragbare Infektionskrankheiten. 3. Auflage. Hrsg. Becker, W., Menk, W.
Hoffman Verlag, Berlin; S. 69-74
- BEDSON, S. P., BLAND, J. O. W. (1932)
Morphological study of psittacosis virus with the description of a developmental cycle.
British Journal of Experimental Pathology 13; 461-466
- BEHYMER, D. E., BIBERSTEIN, E. L., RIEMAN, H.P., FRANTI, C. E., RUPPNER, R. (1977)
Observation on chemotherapy in cows chronically infected with *Coxiella burnetii* (Q-fever).
Folia Vet. Latine 7; 64-96
- BESLAGIC, E., HAMZIC, S., PUVACIC, S., CAVALJUGA-HOTIC, S. (2003)
Q-fever serologic diagnostics with inhabitants of Canton of Sarajevo 2001 year.
Med. Arh. 57 (2); 71-74
- BISPING, M. (1993)
Untersuchungen über die Bedeutung von Chlamydien als Aborterreger beim Pferd.
Inaug. Diss., Hannover
- BLONDEAU J. M., YATES L., MARTIN R., MARRIE T., UKOLI P., THOMAS A. (1990)
Q-fever in Sokoto, Nigeria.
Ann. N. Y. Acad. Sci., 590; 281-282
- BOCKHOLT, A. (1994)
Epidemiologische Querschnittsstudie zum Vorkommen von *Chlamydia psittaci* bei weiblichen Rindern.
Inaug. Diss., Hannover
- BOGNER, K.-H., DÜNNINGER, A., KALETA, E. F. (1997)
Nachweis von Chlamydien bei Psittaziden aus Tupferproben mit verschiedenen Methoden. In:
Avid-Mitteilungen, Anlagen 8 bis 10, II/1997; S. 1-7
- BOSTEDT, H. K., DEDIÉ, K. (1996)
Schaf- und Ziegenkrankheiten.
Ulmer-Verlag Stuttgart
- BOWMANN, J.; HAMMERSCHLAG, M.R. (2002)
Chlamydia pneumoniae and atherosclerosis: Critical assessment of diagnostic methods and relevance to treatment studies.
Clin. Microbiol. Rev. 15; 1-20

- BOWEN, R. A., SPEARS, P., STORZ, J., SEIDEL, G. E. (1978)
Mechanisms of infertility in genital tract infections due to *Chlamydia psittaci* transmitted through contaminated semen.
J. Infect. Dis. 138; 95-98
- BRÖHMEL, J. (1997)
Erfahrungsbericht über Chlamydien-Infektionen der Schafe in Nordhessen.
In: Zusammenfassung der Vorträge zum Symposium der Fachgruppe "Bakteriologie und bakterielle Krankheiten", Beichlingen, 1997
- BROUQUI, P., DUMLER, J. S., RAOULT, D. (1994)
Immunohistologic demonstration of *Coxiella burnetii* in the valves of patients with Q-fever endocarditis.
Am. J. Med. 97; 451-458
- BÜHL, A., ZÖFEL, P. (2000)
SPSS Version 10. Einführung in die moderne Datenanalyse unter Windows.
München 2000
- BURNET, F. M., FREEMAN, M. (1937)
Experimental studies on the virus of Q-fever.
Med. J. Austr. 2; 299-305
- CALDWELL, H. J., SCHACHTER, J. (1982)
Antigenetic analysis of the major outer membrane protein of chlamydia spp..
Infect. Immun. 35 (3); 1024-1031
- CAMANCHO, M. T., OUTSCHOORN, I., KOVACOVA, E., TELLEZ, A. (2000)
Distribution of immunoglobulin G (IgG) and A (IgA) subclasses following Q-fever vaccination with soluble phase I *Coxiella burnetii* extract.
Vaccine 6; 18 (17); 1773-1777
- CAPO, C., IORGULESCU, I., MUTILLOD, M., MEGE, J.-L., RAOULT, D. (1998)
Increases in the levels of *Coxiella burnetii*-specific Immunoglobulin G1 and G3 antibodies in acute Q fever and chronic Q-fever.
Clin. Diag. Lab. Immun. 11; 814-816
- CAPUANO, F., LANDOLFI, M. C., MONETTI D. M. (2001)
Influence of three types of farm management on the seroprevalence of Q-fever as assessed by an indirect immunofluorescence assay.
Vet. Rec. 149 ; 669-671
- COCHE, B. (1980)
La fièvre Q. Bovine en France.
Proceedings of the XI. Internat. Congr. Dis. Cattle; 509-519
- CORSARO, D., GREUB, G. (2006)
Pathogenic potential of novel *Chlamydiae* and diagnostic approaches to infections due to these obligate intracellular bacteria.
Clin. Microbiol. Rev., Apr.; 283-297

- COX, R. L., KUO, C.-C., GRAYSTON, J. T., CAMPBELL, L. A. (1988)
Desoxyribonuclein acid relatedness of *Chlamydia* sp. strain TWAR to *Chlamydia trachomatis* and *Chlamydia psittaci*.
Int. J. Syst. Bacteriol. 38; 265-268
- CUTLER, S. J., BOUZID, M., CUTLER, R. R. (2007)
Q fever.
Journal of Infection 54; 313-318
- DAVIS, G. E., COX, H. R. (1938)
A filter-passing infectious agent isolated from ticks. I. Isolation from *Dermacentor andersoni*, reactions in animals, and filtration experiments.
Public Health Rep. 53; 2259-2261
- DERRIK, E. H. (1937)
„Q“-fever, a new fever entity: clinical features, diagnosis and laboratory investigation.
Med. J. Austr. 2; 281-289
- DÖLLER, G. (1995)
Serologische Früherkennung einer Q-Fieber-Infektion mittels Nachweis von spezifischen IgM-Antikörpern.
Tierärztliche Umschau 40 (8); 615-620
- DÖPFER, B. (1985)
Labor- und Feldversuche mit der Vakzine „Aborstop F. Q.“ gegen *Chlamydia psittaci* und *Coxiella burnetii* beim Rind.
Inaug. Diss., Gießen
- EDDIE, B., MEYER, K. F., LAMBRECHT, F. L., FURMANN, D. P. (1962)
Isolation of ornithosis *Bedsoniae* from mites collected in turkey quarters and from chicken lice.
Journal of Infectious Diseases 11; 231-237
- EHRICHT, R., SLICKERS, P., GOELLNER, S., HOTZEL, H., SACHSE, K. (2006)
Optimized DNA microarray assay detection and genotyping of single PCR-amplifiable target copies.
Molecular and Cellular Probes 20; 60-63
- EUGSTER, A. K., JOYCE, B. K., STORZ, J. (1970)
Immunfluorescence studies on the pathogenesis of intestinal chlamydial infections in calves.
Infect. Immun. 2; 351-359
- EVERETT, K. D (2000)
Chlamydia und *Chlamydiales*:
More than meets the eye.
Vet. Microbiol. 75; 109-126
- EVERETT, K. D., ANDERSEN, A. A. (1999 b)
Identification of nine species of the chlamydiaceae using PCR-RFLP.
Int. J. Syst. Bacteriol. 49; 803-813

- EVERETT, K. D., BUSH, R. M., ANDERSEN, A. A. (1999a)
Emended description of the order Chlamydiales, proposal of Parachlamydiaceae fam. nov. and Simkaniaceae fam. nov., each containing one monotypic genus, revised taxonomy of the family Chlamydiaceae, including a new genus and five new species, and standards for the identification of organisms.
Int. J. Syst. Bacteriol. 49; 415-440
- EVERETT, K. D., HORNUNG, L. J., ANDERSEN, A. A. (1999c)
Rapid detection of the Chlamydiaceae and other families in the order Chlamydiales: three PCR tests.
J. Clin. Microbiol. 37; 575-580
- FIELD, P. R., HUNT, J. G., MURPHY, A. M. (1983)
Detection of Persistence of Specific IgM Antibody to C.b. by Enzyme-linked Immunosorbent Assay. A comparison with Immunofluorescence and Complement Fixation Tests.
J. Infect. Dis. 148; 477-478
- FIELD, P. R., SANTIAGO, A., CHAN, S. W., PATEL, D. B., DICKESON, D., MITCHELL, J. L., DEVINE, P.L., MURPHY, A. M. (2002)
Evaluation of a novel commercial enzyme-linked immunosorbent assay detecting *Coxiella burnetii*-specific immunoglobulin G for Q-fever prevaccination screening and diagnosis.
J. Clin. Microbiol. 40 (9); 3526-3529
- FOURNIER, P. E., RAOULT, D. (2003)
Comparison of PCR and serology assays for early diagnosis of acute Q-fever.
J. Clin. Microbiol. 41 (11); 5094-5098
- FRAZIER, M. E., HEINZEN, R. A., MALLAVIA, L. P., BACA, O. G. (1992)
DANN probes detecting *Coxiella burnetii* strains.
Acta Virol. 36; 83-89
- FROST, J. W., HENGST A. (1993)
Seroepidemiologische Untersuchungen zur Verbreitung von Antikörpern gegen *Coxiella burnetii* beim Menschen in Süd- und Mittelhessen.
Tierärztl. Umschau 48; 148-154
- FUKUSHI, H., HIRAI, K. (1992)
Proposal of *Chlamydia pecorum* sp. nov. for Chlamydia strains derived from ruminants.
Int. J. Syst. Bacteriol. 42; 306-308
- GERBERMANN, H. (1991)
Chlamydiose beim Rind und ihre Bedeutung im Fruchtbarkeitsgeschehen.
Wien. Tierärztl. Monatsschr. 78; 13-19
- GERBERMANN, H. (1995)
Bewertung diagnostischer Methoden im Rahmen der Psittakose/Ornithose-Bekämpfung.
21. Kongress der DVG, Bad Nauheim, Teil 2. Gießen; S. 8-16

- GERBERMANN, H., JANECZEK, F. (1991)
Chlamydiose bei Vögeln: Gegenwärtige Situation und Alternativen der Diagnose und Bekämpfung.
Der praktische Tierarzt 72; 521-528
- GERLACH, H. (1993)
The biology of *Chlamydia psittaci*. Chlamydiosis 2.
Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine, 2; 154-156
- GERLACH, H. (1994)
Chlamydia. In: Avian Medicine: Principles and Application. Eds. Ritchie, B. W., Harrison, G. J., Harrison, L. R..
Florida: Wingers; S. 966-984
- GIKAS, A., KOFTERIDIS, D. P., MAIOS, A. (2001)
Newer macrolides as empiric treatment for acute Q-fever infections.
Antimicrob. Agents Chemother. 45; 3644-3666
- GIEMSA, G. (1904)
Eine Vereinfachung und Vervollkommnung meiner Methylenazur-Methylenblau-Eosin-Färbemethode zur Erzielung der Romanowsky-Nacht'schen Chromatin-Färbung.
Centralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten der Tiere, I. Abteilung, Originale 37; 308-311
- GIMÉNEZ, D.F. (1964)
Staining Rickettsiae in yolk sac cultures.
Stain Technology 39; 135-140
- GLAZUNOVA, O., ROUX, V., FREYLIKMAN, O., SEKEYOVA, Z., FOURNOUS, G., TYCZKA, J., TOKAREVICH, N., KOVAKOVA, E., MARRIE, T. J. and RAOULT, D. (2005)
Coxiella burnetii Genotyping.
Emerging Infectious Diseases, 11 (8); 1211-1217
- GOLDHORN, W. (1985)
Q-Fieber – die 20jährige Leidensgeschichte eines Herdbuch- und Vorzugsmilchbetriebes.
Tierärztl. Umschau 40 (8); 606-611
- GOROVITS, E. S., TIMASHEVA, O. A., CHEZOVA, A. E., VORONIA, Y. (1979)
Isolation of the ornithosis agent (*Chlamydia psittaci*) from gamasid mites (*Ornithonyssus sylviarum*).
Voprosy Virusologii 6; 654-657
- GOUVERNEUR K., SCHMEER N., KRAUSS H. (1984)
Zur Epidemiologie des Q-Fiebers in Hessen: Untersuchungen mit dem Enzymimmuntest (ELISA) und der Komplementbindungsreaktion (KBR).
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 97; 437-441

- GRATZEL, E., KÖHLER, H. (1968)
Ornithose, Psittakose. In: Spezielle Pathologie und Therapie der Geflügelkrankheiten. Hrsg. Gratzl, E., H. Köhler, Enke Verlag Stuttgart; S. 364-384
- GRAYSTON, J. T., KUO, C.-C., CAMPBELL, L. A., WANG, S.-P. (1989)
Chlamydia pneumoniae sp. nov. for Chlamydia sp. strain TWAR.
Int. J. Syst. Bacteriol. 39; 88-90
- GRIMES, J. E., WYRICK, P. B. (1991)
Chlamydiosis (Ornithosis). In: Diseases of Poultry. 9th Edition. Eds. Calnek, B. W., Barnes, H. J., Beard, C. W., Ried, B. M., Yoder, Jr., H. W..
Ames: Iowa State University Press; S. 311-325
- GUSCETTI, F., THOMA, R., BOLLIGER, M. und POSPISCHIL, A. (1997)
Immunhistochemischer Nachweis und Typisierung von Chlamydien beim Schwein.
In: Zusammenfassung der Vorträge zum Symposium der Fachgruppe „Bakteriologie und bakterielle Krankheiten“, Beichlingen, 1997
- GUT-ZANGGER, P., VRETOU, E., POSPISCHIL, A., THOMA, R. (1999)
Chlamydia abortion in sheep: possibilities for serological diagnosis using a competitive ELISA and insight into the epidemiologic situation in Switzerland.
Schweiz Arch. Tierheilkd. 141 (8); 361-366
- GYLSTORFF, I., GRIMM, I. (1998)
Chlamydiales. In: Vogelkrankheiten. 2. Auflage.
Ulmer Verlag, Stuttgart; S. 215-220
- HACKSTADT, T. (1990)
The role of lipopolysaccharides in the virulence of *Coxiella burnetii*.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 590; 27-33
- HAFEZ, H. M., STING, R. (1994)
Chlamydien-Infektionen beim Geflügel. In: Referatesammlung zum 46. Fachgespräch über Geflügelkrankheiten, Hannover, 26./27. Mai 1994; S. 119-131
- HEINEN, E. (1994)
Untersuchungen zur Ätiologie von Fruchtbarkeitsstörungen und Atemwegserkrankungen beim Schwein unter besonderer Berücksichtigung von Paramyxoviren und Chlamydien.
Inaug. Diss., Gießen
- HEINZEN, R. A., STIEGLER, G. L., WHITING, L. L., SCHMITT, S. A., MALLAVIA, L. P., FRAZIER, M. E. (1990)
Use of pulsed field gel electrophoresis to differentiate *Coxiella burnetii* strains.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 590; 504-513
- HENNER, S., LUGMAYR, D., SCHMITTDIEL, E., TRIXEL, H. (1977)
Enzootische Aborte infolge von Salmonellen und Rickettsien (Q-Fieber) bei Rindern.
Tierärztl. Umsch. 12; 675-676

- HENNING, K. (1985)
Antibiotikum, Empfindlichkeit und Resistenzbildung bei Chlamydien unter besonderer Berücksichtigung der Empfindlichkeit von *Chlamydia psittaci* gegen Doxycyclin.
Inaug. Diss., Gießen
- HENNING, K., STING, R. (1999)
Filtrationsmethode zur Isolierung von Chlamydien aus mikrobiell kontaminiertem Probenmaterial.
Tierärztl. Umschau 54; 274-277
- HIGGINS D., MARRIE T. J. (1990)
Seroepidemiology of Q-fever among cats in New Brunswick and Prince Edward Island.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 590; 271-274
- HITCHCOCK, P. J., BROWN, T. M. (1983)
Morphological heterogeneity among Salmonella lipopolysaccharide chemotypes in silver-stained polyacrylamide gels.
J. Bacteriol. 154 (1); 269-277
- HOLLÄNDER, R., HÜLST van, R. (1988)
Chlamydia trachomatis – Biologie und humanmedizinische Bedeutung.
Forum Mikrobiologie 6/88 ; 243-248
- HOLZINGER, H. A.-M. (1996)
Nachweis von *Chlamydia sp.* bei klinisch gesunden, freilebenden Meisen (Paridae).
Inaug. Diss., Gießen
- HOUWERS D. J., RICHARDUS, J. H. (1987)
Infections with *Coxiella burnetii* in man and animals in the Netherlands.
Zbl. Bakt. Hyg. A, 267; 30-36
- HOTTA, A., KAWAMURA, M., TO, H., ANDOH, M., YAMAGUCHI, T., FUKUSHI, H., HIRAI, K. (2002)
Phase variation analysis of *Coxiella burnetii* during serial passage in cell culture by use of monoclonal antibodies.
Infect. Immun. 70 (8); 4747-4749
- HOTTA, A., KAWAMURA, M., TO, H., ANDOH, M., YAMAGUCHI, T., FUKUSHI, H., AMANO, K., HIRAI, K. (2003)
Use of monoklonal antibodies to lipopolysaccharide for antigenic analysis of *Coxiella burnetii*.
J. Clin. Microbiol. 41 (4); 1774-1749
- HUCHZERMEYER, F. G., GERDES, G. H., FOGGIN, C. M., HUCHZERMEYER, K. D. A., LIMPER, L. C. (1994)
Hepatitis in farmed hatching Nile crocodils (*Crocodilus niloticus*) due to chlamydial infections.
Journal of the South African Veterinary Association 62; 27-29

- HUEBNER, R. J., BELL, J. A. (1951)
Q fever studies in Southern California; summary of current results and a discussion of possible control measures.
J. Am. Med. Assoc. 145 (5); 301-305
- HUHN, A. (1991)
Untersuchungen zur Optimierung der Anzucht und Antigenproduktion von *Chlamydia psittaci* in Zellkulturen.
Inaug. Diss., Gießen
- HUMPHRES, R. C., HINRICHS, D. J. (1981)
Role of antibody in *Coxiella burnetii* infection.
Infect. Immun. 31 (2); 642-645
- JOHNSON, F. W. A. (1983)
Zoonoses in practice, Chlamydiosis.
The British Veterinary Journal 139; 93-101
- KALETA, E. F. (1997)
Aktuelle Fragen der Diagnose und Bekämpfung der Psittakose.
Tierärztl. Umschau 52; 36-44
- KALETA, E. F., TADAY, E. A. (2003)
Avian host range of *Chlamydophila spp.* based on isolation, antigen detection and serology.
Avian Pathology 32; 435-462
- KALTENBOECK, B., HEARD, D., DeGRAVES, F. J., SCHMEER, N. (1997)
Use of synthetic antigens improves detection by enzyme-linked immunosorbent assay of antibodies against abortigenic *Chlamydia psittaci* in ruminants.
J. Clin. Microbiol. 35 (9); 2293-2298
- KEHNSCHERPER, G. (1987)
Untersuchungen zur bakteriellen Besiedelung im Konjunktivalsack des Rinderauges und zur Ätiopathogenese der infektiösen bovinen Keratokonjunktivitis (IBK).
Inaug. Diss., Humboldt-Universität Berlin
- KELLNER, S. J. (1988)
Augenveränderungen bei Katzen durch *C. psittaci*.
Kleintierpraxis 33; 157-160
- KELLY, P. J., MATTHEWMAN, L. A., MASON P. A., RAOULT, D. (1993)
Q-fever in Simbabwe.
S. Afr. Med. J. 83; 21-25
- KHASCHABI, D., BRANDSTÄTTER, A. (1994)
Seroepidemiologische Untersuchungen zum Nachweis von Antikörpern gegen *Coxiella burnetii* und *Chlamydophila psittaci* bei Schafen in Tirol.
Wien. Tierärztl. Wschr. 81; 290-294

- KIMMIG, P., SIMMERT, J., STING, R., RIETSCHER, W. (1997)
Q-Fieber-Ausbruch durch eine infizierte Damwildherde.
Epid. Bull. 36; 249-250
- KIMMIG, P., ZÖLLNER, I. (1998)
Q-Fieber: Epidemie in Freiburg
Landesgesundheitsamt Baden-Württemberg/ Jahresbericht 1998; 51-53
- KNAB, S. (1979)
Zur Aussagefähigkeit diagnostischer Methoden beim Nachweis von *Coxiella burnetii*.
Vet. Med. Diss. Giessen
- KÖHLER, D. (1992)
Epidemiologische Untersuchungen zur infektiösen bovinen Keratokonjunktivitis (IBK),
einschließlich weiterführender Untersuchungen an *Moraxiella bovis*.
Inaug. Diss., Berlin
- KOLMER, J.A., BOERNER, F. (1945)
Approved Laboratory Technique.
D. Appleton Century Co. Inc., 4. Auflage
- KOMIYA, T., SADAMASU, K., KANG, M. I., TSUBOSHIMA, S., FUKUSHI, H., HIRAI,
K. (2003)
Seroprevalence of *Coxiella burnetii* infections among cats in different living environments.
J. Vet. Med. Sci. 65 (9); 1047-1048.
- KOPP, J. (2000)
Untersuchungen über Zusammenhänge von *Coxiella burnetii*- und Chlamydien-Infektionen in
Rinderbeständen und der in diesen Betrieben tätigen Personen.
Vet. Med. Diss., Berlin
- KOVACOVA, E., KAZAR, J., SPANELOVA, D. (1998)
Suitability of various *Coxiella burnetii* antigen preparations for detection of serum antibodies
by various tests.
Acta Virol. 42 (6); 365-368
- KRAUSS, H., WEBER, A. (1975)
Aktuelle Zoonosen in der tierärztlichen Praxis (3).
Tierärztl. Prax. 3; 387-393
- KRAUSS, H., WEBER, A. (1986)
Chlamydiosen (*Chlamydia psittaci*). In: Zoonosen. Hrsg. Krauss, H. & A. Weber.
Deutscher Ärzteverlag, Köln; S. 28-29
- KRAUSS, H., WEBER, A., ENDERS, B., SCHIEFER, H. G., SLENCZKA, W., ZAHNER,
H. (1997)
Chlamydiosen (*Chlamydia psittaci* und *Chlamydia pecorum*). In: Zoonosen.
2. Auflage. Hrsg. Kraus, H. Weber, A., Enders, B., Schiefer, H.G., Slenczka, W., Zahner, H.,
Deutscher Ärzteverlag, Köln; S. 28-30

- KRAUSS, H., SCHMEER, N. (1992)
Aviäre Chlamydiose. In: Krankheiten des Wirtschaftsgeflügels. Hrsg. G. Heider, G. Monreal & J. Mészáros. Gustav Fischer Verlag Jena, Stuttgart. Band II.; S. 277-308
- KRÜGER, Ch. (1991)
Serologische Differenzierung von *Chlamydia psittaci*-Stämmen aus abortierten Schafen.
Inaug. Diss., Hannover
- KUO, C.-C., CHI, E. Y. (1987)
Ultrastructural study of *Chlamydia trachomatis* surface antigens by immunogold staining with monoclonal antibodies.
Infect. Immun. 55; 1324-1328
- KUO, C.-C., JACKSON, L. A., CAMPBELL, L. A., GRAYSTON, T. J. (1995)
Chlamydia pneumoniae (TWAR).
Clin. Microbiol. Rev. 8; 551-461
- LANGE, S., HUNSTOCK, I. (1993)
Q-Fieber-Antikörpernachweis bei exponierten Berufsgruppen im Thüringer Becken.
Tierärztl. Umschau 48; 154-158
- LANGE, S., SÖLLNER, H., DITTMAR, H., HOFMANN, J., LANGE, A. (1992)
Q-Fieber-Antikörper-Verlaufsuntersuchungen beim Rind unter besonderer Berücksichtigung der Trächtigkeit.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 105 (8); 260-263
- LEDERER, P., MUELLER, R. (1999)
Ornithose-Studie in Zusammenhang mit einem Ausbruch.
Gesundheitswesen 61 (12); 614-619
- LEIBOVITZ, L. (1989)
Chlamydiosis: a newly reported serious disease of larval and postmetamorphic bay scallops (*Argopecten irradians*).
Journal of Fish Diseases 12; 125-136
- LIEBISCH, A. (1976)
Die Rolle einheimischer Zecken (Ixodidae) in der Epidemiologie des Q-Fiebers in Deutschland.
Dt. tierärztl. Wschr. 83; 274-276
- LONGBOTTOM, D., FAIRLEY, S., CHAPMAN, S., PSARROU, E., VRETOU, E., LIVINGSTONE, M. (2002).
Serological diagnosis of ovine enzootic abortion by enzyme-linked immunosorbent assay with a recombinant protein fragment of the polymorphic outer membrane protein POMP90 of *Chlamydia abortus*.
Journal of Clinical Microbiology 40; 4235-4243

- LOTTHAMMER, K. H., BOEHNKE, H. J., PLÖGER, W. (1987)
Epidemiologische Untersuchungen über das Vorkommen von *Coxiella burnetii*- Infektionen (Q-Fieber) in Milchrinderherden mit Sterilitätsproblemen im Weser-Ems-Gebiet.
Zuchthyg. 22; 137
- LUOTO, L. (1953)
A capillary agglutination test for bovine Q-Fever.
J. Immunol. 71; 226-231
- MADARIAGA, M. G., RREZAI, K., TRENHOLME, G. M., WEINSTEIN, R. A., (2003)
Q-fever: a biological weapon in your backyard.
Lancet. Infect. Dis. 3 (11); 709-721
- MAHONY, J. B., COOMBES, B. K. (2001)
Chlamydia pneumoniae and atherosclerosis. Does the evidence support a causal or contributory role?
FEMS Microbiol. Letters 197; 1-9
- MARMION, B. P., ORMSBEE, R. A., KYRKOU, M. (1990)
Vaccine prophylaxis of abattoir-associated Q fever: eight years' experience in Australian abattoirs.
Epidemiol. Infect. 104; 275-287
- MARRIE, T. J., POLLAK, P. T. (1995)
Seroepidemiology of Q-fever in Nova Scotia: evidence for age dependent cohort a geographical distribution.
Eur. J. Epidemiol. 11; 47-54
- MARRIE, T. J., YATES, L. (1990)
Incidence of Q-fever: pilot studies in two areas in Nova Scotia.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 590; 275-280
- MAURIN, M., BENOLIEL, A. M., BONGRAND, P., RAOULT, D. (1992)
Phagolysosomes of *Coxiella burnetii*-infected cells maintain an acidic pH during persistent infection.
Infect. Immun. 60; 5013-5016
- MAURIN, M., RAOULT, D. (1999)
Q-Fever.
Clin. Microbiol. Rev. 12 (4); 518-553
- MacDONALD, A. B. (1985)
Antigens of *Chlamydia trachomatis*.
Rev. Infect. Dis. 7; 731-736
- McCAUL, T. F., WILLIAMS, J. C. (1981)
Developmental cycle of *Coxiella burnetii*: Structure and morphogenesis of vegetative and sporogenic differentiations.
J. Bacteriol. 147 (3); 1063-1076

- McELNEA, C. L., GROSS, G. M. (1999)
Methods of detection of *Chlamydia psittaci* in domesticated and wild birds.
Australian Veterinary Journal 77; 516-521
- McGUIRE, T. C., MUSOKE, A. J., KURRTI, T. (1979)
Functional properties of bovine IgG₁ and IgG₂ interaction with complement, macrophages, neutrophils and skin.
Immunol. 38; 249-256
- McQUISTON, J. H., CHIELDS, J. E., (2002)
Q-fever in humans and animals in the United States.
Vector Borne Zoonotic Dis. 2 (3); 179-191
- METEYER, C. U., CHIN, R. P., CASTRO, A. E., WOODS, L. W., GENTZLER, R. P. (1992)
An epizootic of Chlamydiosis with high mortality in a captive population of euphonies (*Euphonia violacea*) and hummingbirds (*Amazilia Amazilias*).
Journal of Zoo and Wildlife Medicine 23 (2); 222-229
- METZLER, A. E., NICOLET, J., BERTSCHINGER, H. U., BRUPPACHER, U., GELZER, J. (1983)
Die Verbreitung von *Coxiella burnetii*. Eine seroepidemiologische Untersuchung bei Haustieren und Tierärzten.
Schweiz. Arch. Tierheilk. 125; 507-517
- MEYER, K. F. (1967)
The host spectrum of Psittacosis-Lymphogranuloma venerum (PL) agents.
American Journal of Ophthalmology 63; 1225-1246
- MOLLET, C.; DRANCOURT, M.; RAOULT, D. (1998)
Determination of *Coxiella burnetii* rpoB sequence and its use for phylogenetic analysis.
Gene 19; 207 (1); 97-103
- MONSIRE, R. R., MACLEAN, I. W., SHEWEN, P. E., WINSTON, S. E. (1989)
Identification of genus-specific epitopes on the outer membrane complexes of *Chlamydia trachomatis* and *Chlamydia psittaci* immunotypes 1 and 2.
Infect. Immun. 57 (9); 2914-2918
- MOULDER, J. W. (1984)
Chlamydiales. In: Bergery's Manual of Systematic Bacteriology.
Eds: N. R. Krieg & M. D. Baltimore. Baltimore/London: Williams & Wilkins; S. 729-739
- MURPHY, A. M., FIELD, P. R. (1970)
The persistence of complement fixing antibodies to Q-fever (*Coxiella burnetii*) after infection.
Med. J. Aust. 1; 1148-1150
- MUTSCHMANN, F. (1998a)
Nachweis von *Chlamydia psittaci*-Infektionen bei Amphibien mittels eines spezifischen Immunfluoreszenztests.
Berliner und Münchner Tierärztliche Wochenschrift 111; 187-189

- MUTSCHMANN, F. (1998b)
Erkrankungen der Amphibien.
Paul Parey Verlag, Berlin und Hamburg; S. 241-242
- NGUYEN, S. V., TO, H., MINAMOTO, N., OGAWA, M., YAMAGUCHI, T., FUKUSHI, H., HIRAI, K. (1997)
Evaluation of the high-density agglutination test for *Coxiella burnetii* in animals.
Clin. Diagn. Lab. Immunol. 4 (6); 676-680
- OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES (1992)
Manual of standards for diagnostic tests and vaccines.
Bull. Offic. Intern. Epiz.; 197-202
- OMEZZINE-LETAIEF, A., YACOUB, S., TISSOT-DUPONT, H., LE CAM, C., GHACHEM, L., LETAIEF, J., RAOULT, D. (1995)
Seroepidemiological survey of rickettsial infections among blood donors in central Tunisia.
Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 89; 266-268
- ORMSBEE, R. A., BELL, E. J., LACKMANN, D. B., TALLENT, G. (1964)
The influence of phase on the protective potency of Q-fever vaccine.
J. Immunol. 92; 404
- OSSEWARDE, J. M. (2001)
Introducing *Chlamydophila pneumoniae*. The TWAR agent *Chlamydia pneumoniae* in a new perspective.
Netherlands J. Med. 59; 41-44
- OTT, N. (1993)
Licht- und transmissionselektronenmikroskopische Untersuchungen an Zellkulturen und bei Meerschweinchen – Konjunktivitis nach Chlamydien-Infektion.
Inaug. Diss., Hannover
- PAGE, L. A., MATTHEWS, P. J., SMITH, P. C. (1973)
Natural intestinal infection with *Chlamydia psittaci* in a closed bovine herd: Serologic changes, incidence of shedding, antibiotic treatment of the herd, and biologic characteristics of the *Chlamydiae*.
Am. J. Vet. Res. 34; 611-614
- PAGE, L. A., GRIMES, J. E. (1978)
Avian Chlamydiosis (Ornithosis). In: Diseases of Poultry. 8th Edition. Eds. Hofstad, M. S., Barnes, H. J., Calnek, B. W., Yoder, W. M. & Yoder Jr., H. W.
Ames: Iowa State University Press; S. 283-308
- PEACOCK, M., PHILIP, R. N., WILLAMS, J. C., FAULKNER, R. S. (1983)
Serological evaluation of Q-fever in humans: enhanced Phase 1 titers of immunoglobulins G and A are diagnostic for Q-fever endocarditis.
Infect. Immun. 41; 1089-1098

- PEREZ-MARTINEZ, J. A., STORZ, J. (1985)
Chlamydial infection in cattle – part 1.
Med. Vet. Pract. 66; 517-522
- PEREZ-MARTINEZ, J. A., STORZ, J. (1985b)
Chlamydial infection in cattle – part 2.
Med. Vet. Pract. 66; 603-608
- PERSSON, K., HAIDL, S. (2000)
Evaluation of a commercial test for antibodies to the chlamydial lipopolysaccharide (Medac) for serodiagnosis of acute infections by *Chlamydia pneumoniae* (TWAR) and *Chlamydia psittaci*.
APMIS 108 (2); 131-138
- PETER, O., DUPUIS, G., BEE, D., LÜTHY, R., NICOLET, J., BURGDORFER, W. (1988)
Enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of chronic Q-fever.
J. Clin. Microbiol. 20 (10); 1978-1982
- POLLMANN, M., NORDHOFF, M., POSPISCHILL, A., TEDIN, K., WIELER, L. H. (2005)
Effects of a probiotic strain of *Enterococcus faecium* on the rate of natural Chlamydia infections in swine.
Infection and Immunity, July; 4346-4353
- POLYDOROU, K. (1981)
Q-fever in Cyprus: a short review.
Brit. Vet. Journal 137; 470-477
- RAOULT, D., BROUQUI, P., MARCHON, B. and GASTAUT, J.A. (1992)
Acute and chronic Q-fever in patients with cancer.
Clin. Infect. Dis. 14; 127-130
- RAOULT, D., FENOLLAR, F., STEIN, A. (2002)
Q-fever during pregnancy: diagnosis, treatment, and follow up.
Arch. Int. Med. 162 (6); 701-704
- RAOULT, D., LEVY, P.Y., TISSOT DUPONT, H., CHICHEPORTICHE, C., TAMALET, C., GASTAUT, J. A., SALDUCCI, J. (1993)
Q-fever and HIV infection.
AIDS 7; 81-86
- REIMER, L. G. (1993)
Q fever.
Clin. Microbiol. Rev. 6 (3); 193-198
- REUSSE, C. (1960)
Die Bedeutung des Q-Fiebers als Zoonose.
Zschr. Tropenmedizin 11; 223-262

RODOLAKIS, A., BERRI, M., HÉCHARD, C., CAUDRON, C., SAURIAU, A., BODIER, C. C., BLANCHARD, B., CAMUSET, P., DEVILLECHAISE, P., NATORP, J. C., VADET, J. P., ARRICAU-BOUVERY, N. (2006)
Comparison of *Coxiella burnetii* shedding in milk of dairy bovine, caprine and ovine herds.
J. Dairy Sci. 90; 5352-5360

RODOLAKIS, A., SOURIAU, A. (1989)
Variations in the virulence of strains of *Chlamydia psittaci* for pregnant ewes.
Vet. Rec. 125; 87-90

ROJAHN, A. (1979)
Anmerkungen zu zwei Veröffentlichungen über Q-Fieber.
Tierärztl. Umsch. 34; 854-855

ROLAIN, J. M., MALLET, M. N., RAOULT, D. (2003)
Correlation between serum doxycycline concentrations and serologic evolution in patients with *Coxiella burnetii* endocarditis.
J. Infect. Dis. 188; 1322-1325

ROLLE, M., MAYR, A. (1993)
Chlamydia. In: Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre.
6. Auflage, Ferdinand Enke-Verlag, Stuttgart; 668-673

ROTH, C. D. (1985)
Untersuchungen zur Verbreitung des Q-Fiebers bei Rindern in Nordbayern und Zu
Maßnahmen zur Bekämpfung unter besonderer Berücksichtigung der Impfung.
Vet. Med. Diss., München

ROTH, C. D., BAUER, K. (1986)
Untersuchungen zur Verbreitung des Q-Fiebers bei Rindern in Nordbayern und zu
Maßnahmen zur Bekämpfung unter besonderer Berücksichtigung der Impfung.
Tierärztl. Umsch. 41; 197-201

ROTHERMEL, C. D., SCHACHTER, J., LAVRICH, P., LIPSITZ, E. C., FRANCUS, T.
(1989)
Chlamydia trachomatis induced production of interleukin 1 by human monocytes.
Infect. Immun. 57 (9); 2705-2711

RKI (ROBERT-KOCH-INSTITUT) (2001)
Ein Q-Fieber-Ausbruch im Hochsauerland und Hessen.
Epidemiologisches Bulletin 26; 187-191

RKI (ROBERT-KOCH-INSTITUT) (2001)
Ratgeber Infektionskrankheiten. Chlamydiosen Teil 1 und 2.
Epidemiologisches Bulletin 12 und 14

RKI (ROBERT-KOCH-INSTITUT) (2006)
Großer Q-Fieber-Ausbruch in Jena, Juni 2005.
Epidemiologisches Bulletin 45; 391-398

- RYLL, M., HINZ, K.-H., NEUMANN, U. (1994)
Untersuchungen zum Nachweis von Antikörpern gegen *Chlamydia psittaci* beim Wirtschaftsgeflügel mit Hilfe eines kommerziellen ELISA-Systems. In: Referatesammlung zum 46. Fachgespräch über Geflügelkrankheiten, Hannover, 26./27. Mai 1994; S. 94-108
- SACHSE, K., HOTZEL, H. (2000)
Chlamydia und Chlamydophila.
Molekularbiologische Nachweismethoden ausgewählter Zoonoseerreger. Hrsg. K. Sachse & P. Gallien. BgVV Hefte, 02/2000; 29-40
- SACHSE, K., HOTZEL, H., SLICKERS, P., ELLINGER, T., EHRLICH, R. (2005)
DNA microarray-based detection and identification of *Chlamydia* and *Chlamydophila* spp. Molecular and Cellular Probes 19; 41-50
- SADECKY, E., ABEL, J. (1978)
Cattle vaccination against Q fever in the rural district of Bratislava.
Vet. Med. (Praha) 23(12); 719-725
- SAIKKU, P. (2000)
Chlamydia pneumoniae in atherosclerosis.
J. Int. Med. 247; 391-396
- SATALOWICH, F. T., BARRETT, L., SINCLAIR, C., SMITH, K. A., WILLIAMS, L. P. (1994)
Kompendium of chlamydiosis (psittacosis) control.
J. Am. Vet. Med. Ass. 203; 1673-1680
- SCHAAL, E. H. (1972)
Die hygienische Bedeutung von Rickettsien (*Coxiella burnetii*) in Lebensmitteln tierischer Herkunft.
Dtsch. Med. Wschr. 91; 394-398
- SCHAAL, E. H. (1977)
Vorkommen von *Coxiella burnetii* in Nahrungsmitteln tierischer Herkunft.
Dt. med. Wschr. 97; 699-704
- SCHAAL, E. H. (1983)
Erfahrungen und neuere Erkenntnisse bei der *Coxiella burnetii*-Infektion (Q-Fieber).
Tierärztl. Prax. 11; 141-148
- SCHAAL, E. H. (1985)
Rickettsien.
In: Blobel, H.; Schliesser, T. (Hrsg.): Handbuch der bakteriellen Infektionen bei Tieren Bd.V.VEB Fischer, Jena; 552-649
- SCHAAL, E. H., SCHÄFER, J. (1984)
Zur Verbreitung des Q-Fiebers in einheimischen Rinderbeständen.
Dtsch. Tierärztl. Wschr. 91 (2); 52-56

- SCHAAL, E., GOETZ, W. (1974)
Über Q-Fieber-Infektionen und deren Ursache unter der Bevölkerung des Raumes
Simmerath/Eifel aus tierärztlicher Sicht.
Dtsch. Tierärztl. Wschr. 81; 477-500
- SCHACHTER, J., CALDWELL, H. D. (1980)
Chlamydiae.
Annual Review of Microbiology 34; 285-309
- SCHÄFER, J. (1983)
Untersuchungen über die Verbreitung des Q-Fiebers bei Rindern in einem Gebiet ohne
Naturherde an Zecken der Gattung *Dermacentor marginatus*.
Vet. Med. Diss., München.
- SCHIEFER, H.-G., KRAUSS, H. (1982)
Zellbiologie der Chlamydien.
Lab. Med. 51; 51-53
- SCHILLER, I., KÖSTERS, R., WEILENMANN, R., POSPISCHIL, A. (1997)
Molekularbiologischer Nachweis und Typisierung von Chlamydien aus paraffineingebettetem
Gewebe beim Schwein.
In: Zusammenfassung der Vorträge zum Symposium der Fachgruppe „Bakteriologie und
bakterielle Krankheiten“, Beichlingen, 1997
- SCHLEINZER, M. A. (1992)
Vergleichende serologische Untersuchungen mit der indirekten Immunfluoreszenz (IFL) und
der Komplementbindungsreaktion (KBR) in Verbindung mit Erregernachweis im
Meerschweinchen-Inokulationstest (MIT) zum Nachweis von Q-Fieber in einem mit *Coxiella
burnetii* infizierten Milchviehbestand.
Vet. Med. Diss., Berlin
- SCHLIESSER, T. (1991)
Zur Epidemiologie und Bedeutung des Q-Fiebers bei Tieren.
Wien. Tierärztl. Wschr. 78; 7-12
- SCHLIESSER, T., KRAUSS, H. (1982)
Bekämpfung des Q-Fiebers.
Tierärztl. Praxis 10; 11-22
- SCHMATZ, H.-D., SCHMATZ, S., WEBER, A., SAILER, J. (1977)
Seroepidemiologische Untersuchungen zum Vorkommen von Chlamydien bei Haus- und
Wildtieren.
Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift 90; 74-76
- SCHMEER, N. (1985)
Enzymimmuntest (ELISA) zum Nachweis von IgG₁ -, IgG₂ - und IgM-Antikörpern bei der Q-
Fieber-Infektion des Rindes.
Zbl. Bakt. Hyg. A 259; 20-34

SCHMEER, N. (1988)

Vergleichende Untersuchungen zur IgG₁- und IgG₂- Immunantwort des Rindes auf die obligat intrazellulären Infektionserreger *Coxiella burnetii* und *Chlamydia psittaci*: Ein Beitrag zur differenzierten Serodiagnose des bovinen Q-Fieber und der bovinen Chlamydiose.

Vet. Med. Habil., Gießen

SCHMEER, N., KRAUSS, H. (1982)

Purification of genus-specific chlamydial antigen and its separation into several components by ion-exchange chromatography.

J. Clin. Microbiol. 14; 125-135

SCHMEER, N., KRAUSS, H., WERTH, D., SCHIFER, H.-G. (1987)

Serodiagnosis of Q-fever by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

Zbl. Bakt. Hyg. A. 267; 57 – 63

SCHMEER, N., KRAUSS, H., WILSKE, B. (1984)

Untersuchungen zur Serodiagnose des Q-Fiebers beim Menschen – Nachweis von nicht-komplementbindenden IgM-Antikörpern im Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA).

Immun. Infect. 12 (5); 245-251

SCHMEER, N., MÜLLER, H.-P., KRAUSS, H. (1986)

Differences in IgG₁ and IgG₂ response of goats to chlamydial abortions and to clinically inapparent infections detected by the western blot technique.

J. Vet. Med. B, 33; 751-757

SCHMEER, N., KRAUSS, H., APEL, J., ADAMI, M., MÜLLER, H.-P., SCHNEIDER, W. (1987)

Analysis of caprine IgG₁ and IgG₂ subclass responses to *Chlamydia psittaci* infection and vaccination.

Vet. Microbiol. 14; 125-135

SCHMEER, N., SCHNORR, K.L., PEREZ-MARTINEZ, J. A., STORZ, J. (1987b)

Dominance of *Chlamydia psittaci*-specific IgG₂ subclass in the humoral immune responses of naturally and experimentally infected cattle.

Vet. Immunol. Immunopathol. 15; 311-322

SCHMITTDIEL, E., BAUER, K., STEINBRECHER, H., JUSTL, W. (1981)

Untersuchungen zur Beeinflussung der Ausscheidung von *Coxiella burnetii* durch Q-Fieber-infizierte Rinder nach der Vakzinierung.

Tierärztl. Umschau 36 (3); 159-160

SCHÖPF, K., KHASCHABI, D., DACKAU, T. (1991)

Abortusenzootie in einer Ziegenherde, bedingt durch Mischinfektion mit *Coxiella burnetii* und *Chlamydia psittaci*.

Tierärztl. Prax. 19; 630-634

SCHOOP, G. (1953)

Das Q-Fieber. Übersicht über den Stand der Forschung und Untersuchungen über das Vorkommen in Südhessen.

Mh. Tierheilk. 15; 93-111

- SCHRÖDER, H.-D. (1998)
Zur Q-Fieber-Problematik bei Huftieren im Zoo.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 111; 173-174
- SCHRÖDER H.-D., SEIDEL, B., STRAUSS, G. (1998)
Chlamydial infections in ungulates kept in zoological gardens. European Association of Zoo- and Wildlife Veterinarians.
Second scientific meeting Chester 1998; S. 219-212
- SELBITZ, H. J. (1992)
Chlamydiales. In: Lehrbuch der veterinärmedizinischen Bakteriologie.
Fischer Verlag, Jena; S. 251-256
- SEMLER, B. (1987)
Bestimmung von Immunglobulin-Klassen (IgG₁, IgG₂, IgM) gegen *Coxiella burnetii* und *Chlamydia psittaci* bei natürlich infizierten und mit Aborstop FQ vakzinierten Schafen.
Inaug. Diss., Gießen
- SIEGMAN-IGRA, Y., KAUFMAN, O., KEYSARY, A., RZOTKIEWICZ, S., SHALIT, I. (1997)
Q-fever endocarditis in Israel and a worldwide review.
Scand. J. Infect. Dis. 29; 41-49
- SIMMERT, J. (1999)
Vorkommen von mikrobiell bedingten Fortpflanzungsstörungen bei Rindern im nördlichen Baden-Württemberg unter besonderer Berücksichtigung von *Coxiella burnetii* und Bakterien der Gattung *Chlamydia*.
Vet. Med. Diss., München
- SPROCKHOFF, von, H. (1980)
Zur Tenazität von Chlamydien und *Coxiella burnetii*.
Deutsche Tierärztliche Wochenschrift 87; 273-275
- STAMP, J. T., McEWEN, A. D., WATT, J. A. A., NISBET, D. I. (1950)
Enzootic abortion in ewes. I. Transmission of the disease.
The Veterinary Record 62; 251-264
- STANFORD, C. F., CONNOLLY, J. H., ELLIS, W. A., SMYTH, E. T. M., COYLE, P. V., MONTGOMERY, W. I., SIMPSON, D. I. H. (1990)
Zoonotic infections in Northern Ireland farmers.
Epidemiol. Infect. 105; 565-570
- STELZNER, A., URBACH, H., MÜLLER, W., WELLER, E., TALASKA, W. (1972)
Über eine verdeckte Ornithose-Epidemie im Bezirk Gera.
Deutsches Gesundheitswesen 27; 763-768
- STELZNER, A., URBACH, H., MÜLLER, W.; WELLER, E., TALASKA, W. (1972)
A masked ornithosis epidemic in the District of Gera.
Dtsch. Gesundheitsw., Apr. 20, 27(16); 763-768

- STING, R. (1999)
Untersuchungen zu Coxiellen- und Chlamydien-Infektionen als Ursache von Fertilitätsstörungen in Milchviehbetrieben.
Vortrag 18. DVG-Tagung (AVID) 29.09.-01.10.99, Kloster Banz (Staffelstein)
- STING, R., KOPP, J., MANDL, J., SEH, C., SEEMANN, G., KIMMIG, P., SCHMITT, K., MENTRUP, Th. (2002)
Studies of *Coxiella burnetii* infections in dairy herds with special regard to infections in men.
Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr. 115 (9-10); 360-365
- STING, R., NAGEL, C., STENG, G. (1997)
Die Bedeutung infektiöser Abortursachen in Schafherden im nördlichen Baden- Württemberg unter besonderer Berücksichtigung von *Chlamydia psittaci*.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 110; 5-11
- STING, R., MANDL, J. (1995)
Antigennachweis von *Chlamydia psittaci* aus Genitalsekreten und der Milch von Kühen sowie blutserologische Untersuchungen.
Tierärztl. Umschau 50; 167-175
- STOCKER, M. G. P. (1953)
Variation in complement-fixation activity of *Rickettsia burnetii* during egg adaption.
J. Hyg. 51; 311-321
- STOCKER, M. G. P., FISET, P. (1956)
Phase variation of the Nine Mile and other strains of *Rickettsia burnetii*.
Can J. Microbiol. 2; 310-321
- STORZ, J. (1971)
Chlamydia and Chlamydia induced diseases.
Charles, C. Thomas, Publ. Co., Springfield; Illinois
- STORZ, J., CARROLL, E. J., BALL, L., FAULKNER, L. C. (1968)
Isolation of psittacosis agent (Chlamydia) from semen and epididymis of bulls with seminal vesiculitis syndrom.
Am. J. Vet. Res. 29; 549-555
- STORZ, J., EUGSTER, A. K., ALTERA, K. P., OLANDER, H. J. (1971)
Behaviour of different bovine chlamydial agents in newborn calves.
Comp. Path. 81; 299-307
- STORZ, J., KRAUSS, H. (1985)
Chlamydia. In: Handbuch der bakteriellen Infektionen bei Tieren.
Hrsg. H. Blobel & T. Schliesser.
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York, Band V; S. 447-531
- STORZ, J., SPEARS, P. (1980)
Chlamydienbedingte Polyarthritits bei Kälbern und Schafen: Pathogenese und Erregereigenschaften. Wissenschaftl. Zeitschr. d. Humb.-Univ. Berlin, Math.-Nat. Reihe 29, Heft 1; S. 53-55

- STORZ, J., THORNLEY, W. R., (1966)
Serological and etiological studies on the intestinal psittacosislymphogranuloma infection in sheep.
Zentralbl. Veterinarmed. B., Feb. 13 (1); 14-24
- SÜSS, A., REETZ, J., SCHULZE, P., KRETSCHMAR, M., SCHIRRMEISTER, W., SÜSS, J. (1996)
Schwerer Verlauf einer Ornithose und ihre intensivmedizinische und diagnostische Problematik – eine Kasuistik.
Anästhesiologie und Reanimation 21; 97-102
- TAPPE, J. P., ANDERSEN, A. A., CHEVILLE, N. F. (1989)
Respiratory and pericardial lesions in turkeys infected with avian or mammalian strains of *Chlamydia psittaci*.
Vet. Pathology 26; 386-395
- THALMANN, R. (1984)
Neue Untersuchungen zur Ätiologie und Therapie der infektiösen Keratokonjunktivitis des Rindes.
Inaug. Diss., Berlin
- THEEGARTE, D., REINHOLD, P., ROSENBRUCH, M., DALHOFF, K. (2004)
Pulmonale Anthropozoonosen.
Pneumologie 58; 271-288
- THIELE, D., WILLEMS, H. (1994)
Is plasmid based differentiation of *Coxiella burnetii* in “acute” and “chronic” isolates still valid?
Eur. J. Epidemiol. 10; 427-435
- THOMA, R. (1996)
Nachweis von Chlamydien als Abortursache beim Schwein.
Inaug. Diss., Zürich
- TISSOT-DUPONT, H., RAOULT, D. (1993)
Epidémiologie de la fièvre Q.
Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire 5; 17-18
- TISSOT-DUPONT, H., RAOULT, D., BROUQUI, P., JANBON, F., PAYRAMOND, D., WEILLER, P.-J., CHICHEPORTICHE, C., NEZRI, M., POIRIER, R. (1992)
Epidemiologic features and clinical presentation of acute Q-fever in hospitalized patients : 323 french cases.
Amer. J. Med. 93 ; 427-434
- TO, H., SAKAI, R., SHIROKA, K., KANO, C., ABE, S., SUGIMOTO, T., TAKEHARA, K., MORITA, C., TAKASHIMA, I., MARUYAMA, T., YAMAGUSHI, T., FUKUSHI, H., HIRAI K. (1998)
Coxiellosis in domestic and wild birds from Japan.
J. of Wildlife Diseases 34 (2); 310-316

- VANROMPAY, D., DUCATELLE, R., HAESEBROUCK, F. (1992)
Diagnosis of avian chlamydiosis: Sensitivity of isolation in eggs and three different cell lines as compared to direct identification.
Bericht der VIII. DVG-Tagung über Vogelkrankheiten, München, 5./6. März 1992; S.69-74
- VANROMPAY, D., DUCATELLE, R., HAESEBROUCK, F. (1994)
Pathogenicity of turkeys of *Chlamydia psittaci* strains belonging to the avian serovars A, B and D.
Avian Pathology 23; 247-262
- VANROMPAY, D., DUCATELLE, R., HAESEBROUCK, F. (1995)
Pathology of experimental chlamydiosis in turkeys.
Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift 64; 19-24
- VANROMPAY, D., BUTAYE, P., van NEROM, A., DUCATELLE, R., HAESEBROUCK, F. (1997)
The prevalence of *Chlamydia psittaci* infections in Belgian commercial turkey poults.
Veterinary Microbiology 54; 85-93
- VANROMPAY, D., DUCATELLE, R., HAESEBROUCK, F., HENDRICKX, W. (1993)
Primary pathogenicity of an European isolate of *Chlamydia psittaci* from turkey poults.
Veterinary Microbiology 38; 103-115
- VANROMPAY, D., VANLOOK, M., COX, E., GODDEERIS, B., VOLCKAERT, G. (2001)
Gene immunization for *Chlamydia psittaci*.
Verh. K. Acad. Geneesk. Belg. 63; 177-188
- VEST, E. D., LUNDGREN, D. L., PARKER, D. D., JOHNSON, D. E., MORSE, E. L., BUSHMAN, J. B., SIDWELL, R. W., THORPE, B. D. (1965)
Results of a five year survey for certain enzootic disease in the fauna of western Utah.
Am. J. of tropical Medicine and Hygiene 14; 124-135
- VOTH, D. E., HEINZEN, R. A. (2007)
Lounging in a lysosome: the intracellular lifestyle of *Coxiella burnetii*.
Cell Microbiol. Apr. 9 (4); 829-840
- WALDHAM, D. G., STOENNER, H., SIMMONS, R., THOMAS, L. (1978)
Abortion associated with *Coxiella burnetii* infection in dairy goats.
JAVMA 173; 1580-1581
- WEBER, A. (1991)
The significance of sheep and goats as carriers of zoonoses in this country.
Tierärztl. Prax. 19; 469-473
- WEHR, J. (1982)
Ausgewählte Chlamydien-Infektionen des Rindes. Fortschrittberichte für die Landwirtschaft und Nahrungsgüterwirtschaft. Band 20, Heft 3, Akademie der Landwirtschaftswissenschaften der Deutschen Demokratischen Republik, Berlin

- WEISBURG, W. G., DOBSON, M. E., SAMUEL, J. E., DASCH, G. A., MALLAVIA, L. P., BACA, O., MANDELCO, L., SECHREST, J. E., WEISS, E., WOESE, C. R. (1989)
Phylogenetic diversity of the rickettsiae.
J. Bacteriol. 171; 4202-4206
- WERTH, D. (1989)
Vorkommen und Bedeutung von *Chlamydia psittaci* und *Coxiella burnetii* bei Hund und Katze.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 102; 156-161
- WILLEMS, H., THIELE, D., KRAUSS, H. (1993)
Plasmid based differentiation and detection of *Coxiella burnetii* in clinical samples.
Eur. J. Epidemiol. 9; 411-417
- WILLEMS, H., THIELE, D., FRÖHLICH-RITTER, R., KRAUSS, H. (1994)
Detection of *Coxiella burnetii* in cow's milk using the polymerase chain reaction (PCR).
J. Vet. Med. B. 41 (9); 580-587
- WILLIAMS, J. C., HOOVER, T. A., WAAG, D. M. (1990)
Antigenic structure of *Coxiella burnetii*. A comparison of lipopolysaccharide and protein antigens as vaccines against Q fever.
Ann. NY Acad. Sci., 590; 370-380
- WITTENBRINK, M. M. (1991)
Nachweis von Antikörpern gegen Chlamydien beim Schwein mit Hilfe eines Immunfluoreszenz- und eines Enzymimmuntests.
Berliner und Münchner Tierärztliche Wochenschrift 104; 270-275
- WITTENBRINK, M. M. (1999)
Chlamydieninfektionen in der Veterinärmedizin.
VetMedLabor-Fortbildungsveranstaltung „Zoonosen“ im Oktober 1999
- WITTENBRINK, M. M., BISPING, W. (1987)
Bakteriologische Diagnostik des enzootischen Abortes der Schafe durch Anzüchtung des Erregers (*Chlamydia psittaci*) in der Zellkultur.
Tierärztl. Umsch. 42; 124-133
- WITTENBRINK, M. M., PETER, U., BISPING, W. (1987b)
Untersuchungen zum Vorkommen latenter Darminfektionen mit *Chlamydia psittaci* bei Rindern.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 100; 377-381
- WITTENBRINK, M. M., HORCHLER, H., BISPING, W. (1988)
Untersuchungen zum Vorkommen von *Chlamydia psittaci* im Genitaltrakt und Kot weiblicher Schlachtrinder.
J. Vet. Med. B 35; 237-246

- WITTENBRINK, M. M., GEFÄLLER S., FAILING, K., BISPING, W. (1993)
Einfluss von Bestands- und Tierfaktoren auf den Nachweis komplementbindender Antikörper gegen *Coxiella burnetii* beim Rind.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 107; 185-191
- WOERNLE, H., MÜLLER, K. (1986)
Q-Fieber beim Rind: Vorkommen, Bekämpfung mit Hilfe der Impfung und/oder antibiotischer Behandlung.
Tierärztl. Umschau 41; 201-212
- WOLKE, R. E., WYAND, D. S., KHAIRALLAH, L. H. (1970)
A light electron microscopic study of epitheliocytis disease in the gills of Connecticut striped bass (*Morone saxatilis*) and white perch (*Morone americanus*).
Journal of Comparative Pathology 80; 559-563
- ZEHLE, H. H. (1992)
Zur Immunprophylaxe der Infektiösen Keratokonjunktivitis.
Tierärztl. Umschau 47; 834-842
- ZEHLE, H. H., KÖRBER, R., GAEDE, W., PETER, W. (2002)
Einsatz einer kommerziellen Vakzine in Rinderbeständen mit Chlamydienproblematik.
2. Arbeitstagung des NRL für Psittakose „Chlamydien bei Rindern und Schweinen“, Jena, 24./25.09.2002
- ZHANG, G. Q., SAMUEL, J. E. (2003)
Identification and cloning potentially protective antigens of *Coxiella burnetii* using sera from mice experimentally infected with Nine Mile Phase I.
Ann. NY Acad. Sci. 990; 510-520
- ZHANG, Y. X., ZHI, N., YU, S. R. et al. (1994)
Protective immunity induced by 67 K outer membrane protein of Phase I *Coxiella burnetii* in mice and guinea-pigs.
Acta Virol. 38; 327-332

9. Anlagen

Indexwerte Hutaffen-Cox

	04.08.2001	19.08.2001	02.09.2001	14.09.2001	29.09.2001	12.10.2001
H1	0,734	0,7655	0,5655	0,57	0,61	0,776
H2	0,205	0,15	0,0485	0,0205	0,02	0,014
H3	0,0695	0,1465	-0,027	0,1505	0,077	0,1015
H4	-0,285	-0,232	0,1575	0,529	0,3535	0,46
H5	0,2395	0,2235	0,1475	0,252	0,1855	0,2475
H6	0,095	0,0075	0,097	0,303	0,236	0,359
H7	0,135	0,0565	0,0525	-0,002	0,058	0,064
H8	0,3855	0,378	0,4485	0,3545	0,445	0,378
H9	0,4425	0,485	0,4975	0,495	0,506	0,4655
H10	0,475	0,342	0,3235	0,299	0,3855	0,3535
H11						
	26.10.2001	16.01.2002	06.02.2002	20.02.2002	06.03.2002	20.03.2002
H1	0,6605	0,8075	0,74	0,677	0,567	0,579
H2	-0,0185					
H3	0,0245	-0,039	0,013	0,05	0,044	0,1595
H4	0,377	-0,33	-0,368	0,1315	-0,121	0,0775
H5	0,2325	0,304	0,2385	0,2485	0,261	0,3765
H6	0,297	0,1665	0,0855	0,076	0,169	0,201
H7	0,081	0,115	0,0625	0,0265	0,1655	0,1475
H8	0,39	0,258	0,3095	0,3925	0,353	0,501
H9	0,502	0,358	0,544	0,949	0,632	0,9115
H10	0,595	0,0155	0,285	0,1385	0,1865	0,243
H11					0,0925	0,0425
	03.04.2002	18.04.2002	15.05.2002	29.05.2002	15.06.2002	27.06.2002
H1	0,6835	0,596	0,547	0,571	0,3855	0,464
H2						
H3	0,1905	0,0545	0,233	-0,1215	-0,237	-0,122
H4	-0,0265	-0,038	-0,3525	-0,3375	-0,612	-0,6405
H5	0,1595	0,191	0,5825	0,5585	-0,0455	-0,0215
H6	0,1435	0,1505	0,1335	0,1025	0,0665	
H7	0,1505	0,1495	-0,1075	0,0045	0,085	0,119
H8	0,3575	0,374	0,567			
H9	0,646	0,765	0,6475	0,607	0,544	0,433
H10	0,248	0,2175	0,2155	0,292	0,258	0,092
H11	0,042	-0,017	0,0185	0,0695	0,0245	-0,029
	19.07.2002					
H1	0,55					
H2						
H3	0,0465					
H4	-0,5575					
H5	0,0325					
H6						
H7						
H8						
H9	0,5275					
H10	0,154					
H11	-0,05					

Indexwerte Rentiere-Cox

	09.08.2001	23.08.2001	06.09.2001	21.09.2001	04.10.2001	19.10.2001
R1	-0,2395	-0,085	0,001	-0,053	-0,0995	-0,1855
R2	0,033	0,288	0,1965	0,0135	0,057	0,0315
R3	-0,102	-0,0935	-0,094	-0,183	-0,1845	-0,029
R4	-0,2895	-0,11	-0,1325	-0,244	-0,295	-0,2245
R5	-0,12	0,0655	0,167	-0,033	-0,1035	-0,1545
R6						
	31.10.2001	14.11.2001	27.11.2001	12.12.2001	08.01.2002	23.01.2002
R1	0,195	0,1435	-0,0505	-0,02	-0,07	-0,012
R2	0,0625	-0,008	-0,0025	0,0085	-0,023	-0,0725
R3	0,0035	-0,0715	-0,109	-0,0865	-0,0905	-0,163
R4	-0,189	-0,231	-0,1905	-0,133	-0,2115	-0,1305
R5	-0,179	0,437	0,1955	-0,1805	0,03	-0,0325
R6						
	13.02.2002	27.02.2002	13.03.2002	27.03.2002	24.07.2002	
R1	-0,1055	-0,1065	-0,116	-0,1185	-0,1355	
R2	-0,0295	-0,0495	-0,017	-0,0335	-0,02	
R3	-0,1025	-0,0955	-0,0915	-0,0585		
R4	-0,128	-0,102	-0,4005	-0,129	-0,115	
R5	0,108	0,1145	0,266	0,108	0,0795	
R6					-0,0065	

Indexwerte Dik-Diks-Cox

	31.07.2001	14.08.2001	29.08.2001	13.09.2001	26.09.2001	10.10.2001
D1	-0,021	0,0105	0,029	0,009	-0,042	-0,0265
D2	0,0195	0,029	0,0235	0,0025	-0,029	-0,0575
D3	0,178	0,224	0,177	0,217	0,3095	0,2545
D4	0,101	0,0625	0,1625	0,175	0,108	0,077
D5	-0,2875	-0,5025	-0,444	-0,3795	-0,2915	-0,2345
D6	0,286	0,238	0,293	0,396	0,269	0,294
D7	0,26	0,3045	0,212	0,2475	0,135	0,0615
D8						
D9						
D10						
D11						
	24.10.2001	07.11.2001	22.11.2001	05.12.2001	19.12.2001	16.01.2002
D1	0,061	0,18	0,198	0,19	0,2035	0,3215
D2	0,0365	0,042	0,065	0,0345	0,06	0,082
D3	0,249	0,2855	0,273	0,231	0,2665	0,377
D4	0,155	0,1755	0,1805	0,1525	0,1285	0,246
D5	0,013	-0,024	0,251	-0,0505	0,1565	0,074
D6						
D7	0,1855	0,193	0,249	0,207	0,219	
D8			0,259	0,199	0,255	0,159
D9			0,073	0,1175	0,0635	0,092
D10						
D11						
	06.02.2002	06.03.2002	20.03.2002	03.04.2002	17.04.2002	30.04.2002
D1	0,052	0,3085	0,196	0,2005	0,2305	0,127
D2	0,0285	0,0305	0,069	0,1325	0,177	0,1585
D3		0,231	0,2585	0,3235	0,2855	0,2265
D4	0,142					
D5	-0,1655	-0,0365	0,1835	0,171	0,182	0,033
D6						
D7	0,09	0,1075	0,125	0,172	0,1585	0,121
D8	0,078	0,1485	0,068	0,133	0,1515	0,0215
D9	0,019	-0,007	0,025	0,049	0,002	-0,0085
D10	0,0505	0,186	0,0605	0,1315	0,032	0,102
D11						
	15.05.2002	29.05.2002	12.06.2002	03.07.2002	17.07.2002	
D1	0,2015	0,0805	0,1635	0,168	0,1935	
D2	0,13	0,127	0,117	0,13	0,061	
D3	0,2545	0,279	0,265	0,3215	0,1575	
D4						
D5	0,18	0,0895	0,2005	0,1145	-0,9605	
D6						
D7						
D8	0,0925	0,1195	0,1165	0,098	0,0285	
D9	-0,0455	0,0155	0,0255	0,069	0	
D10	0,08	0,112	0,1955	0,2125	0,117	
D11	0,369	0,24	0,171	0,159	0,063	

Indexwerte Haustiere1-Cox

	02.08.2001	17.08.2001	30.08.2001	12.09.2001	27.09.2001	11.10.2001
Z 1	-0,1375	-0,273	-0,225	-0,3495	-0,022	-0,851
Z 2	-0,1105	-0,087	-0,226	-0,1565	-0,051	-0,0955
Z 3	-0,12	-0,107	-0,1195	-0,0425	-0,0055	-0,088
Z 4	-0,0965	-0,226	-0,177	-0,1275	-0,0515	-0,736
Z 5	-0,083	-0,4695	-0,2105	-0,06	-0,059	-0,1335
Z 6	-0,1	-0,1545	-0,252	-0,0535	-0,049	-0,475
Z 7	-0,1765	-0,163	-0,2205	-0,095	-0,1015	-0,123
Z 8	-0,2285	-0,1635	-0,277	-0,0865	-0,0955	-0,1255
Z 9	0,2445	0,0815	0,333	0,2225	0,1585	0,0175
Z 10	-0,103	-0,073	-0,0595	-0,0555	-0,0465	-0,085
	26.10.2001	09.11.2001	22.11.2001	07.12.2001	21.12.2001	16.01.2002
Z 1	-0,067	-0,099	-0,067	-0,0875	-0,113	-0,0675
Z 2	-0,06	-0,059	0,0445	-0,039	-0,0795	-0,0555
Z 3	-0,118	-0,021	0,0455	0,0205	-0,0235	-0,0605
Z 4	-0,0685	-0,0555	0,0655	-0,0495	-0,056	-0,0175
Z 5	-0,0375	-0,047	0,0045	-0,023	-0,0525	-0,052
Z 6	-0,0405	-0,028	0,0715	-0,035	-0,035	-0,059
Z 7	-0,102	-0,129	0,059	-0,125	-0,12	-0,113
Z 8	-0,093	-0,1335	-0,0065	-0,0995	-0,082	-0,0425
Z 9	0,1725	0,1565	0,2545	0,096	0,1145	0,0965
Z 10	-0,043	-0,0495	0,067	-0,085	-0,068	-0,0015
	06.02.2002	20.02.2002	06.03.2002	20.03.2002	03.04.2002	17.04.2002
Z 1	-0,057	-0,034	-0,055	-0,059	-0,0595	0,102
Z 2	-0,05	-0,0445	-0,1685	-0,0575	-0,0645	-0,084
Z 3	0,043	-0,008	-0,5775	0,11	-0,03	-0,0245
Z 4	-0,0235	-0,0055	-0,0325	0,0345	-0,011	-0,0295
Z 5	-0,047	-0,0455	-0,07	-0,062	-0,065	-0,095
Z 6	0,005	-0,0065	-0,051	-0,047	-0,0395	-0,0385
Z 7	-0,093	-0,0975	-0,082	-0,066	-0,0915	-0,1
Z 8	-0,0595	-0,079	-0,061	-0,0555	-0,062	-0,0795
Z 9	0,0105	0,005	-0,023	0,01	-0,0265	0,0115
Z 10	-0,061	-0,061	-0,057	-0,053	-0,0615	-0,075
	30.04.2002	15.05.2002	29.05.2002	12.06.2002	27.06.2002	10.07.2002
Z 1	-0,011	0,1055	0,14	0,078	0,0615	0,066
Z 2	-0,067	-0,0585	-0,042	-0,0965	-0,0415	-0,026
Z 3	-0,0145	-0,0165	0,0125	-0,005	-0,062	0,046
Z 4	-0,013	0,0115	0,03	-0,0015	-0,0095	0,0545
Z 5	-0,0755	-0,103	-0,0785	-0,0995	-0,105	-0,054
Z 6	0,0105	-0,0285	-0,016	-0,0655	-0,055	0,028
Z 7	-0,078	-0,0665	-0,069	-0,0515	-0,104	-0,006
Z 8	-0,051	-0,061	-0,062	-0,0505	-0,088	0,00595
Z 9	0,053	0,017	0,0985	0,0695	0,1165	0,1025
Z 10	-0,0665	-0,029	-0,0015	-0,075	-0,033	0,049

Indexwerte Haustiere1-Cox

	24.07.2002					
Z 1	0,0595					
Z 2	-0,021					
Z 3	-0,047					
Z 4	0,0335					
Z 5	-0,063					
Z 6	-0,0455					
Z 7	-0,0685					
Z 8	-0,069					
Z 9	0,023					
Z 10	-0,013					

Indexwerte Haustiere2-Cox

	02.08.2001	17.08.2001	30.08.2001	12.09.2001	27.09.2001	11.10.2001
K 1	-0,0535	-0,133	-0,042	-0,077	-0,029	-0,067
K 2	0,0085	-0,0515	0,259	0,1335	-0,032	-0,07
K 3	-0,0345	-0,0765	0,2485	0,085	-0,0245	0,126
K 4	-0,0395	-0,0855	0,167	-0,0945	-0,324	-0,2115
K 5	0,0715	-0,108	0,0065	0,005	-0,0185	-0,017
K 6	-0,0565	-0,005	-0,065	-0,03	0,007	-0,0285
K 7	-0,007	0,032	0,003	0,0255	-0,0035	0,04
P 1	-0,101	-0,0855	-0,215	-0,0565	-0,0935	-0,151
P 2	-0,022	-0,0455	-0,251	-0,0375	-0,0005	-0,059
P 3						
S 1	-0,152	-0,0965	-0,1595	-0,1145	-0,043	-0,0845
S 2	0,131	-0,127	0,468	0,264	0,2305	0,2505
S 3	-0,147	0,1745	0,4645	0,1905	0,2805	0,286
	26.10.2001	09.11.2001	22.11.2001	07.12.2001	21.12.2001	16.01.2002
K 1	-0,0545	-0,034	0,0715	-0,011	0,0705	-0,0335
K 2	-0,0205	0,087	0,2045	0,178	0,2065	0,2025
K 3	0,133	0,3	0,2815	0,2145	0,2615	0,226
K 4	-0,077	-0,028	0,1515	0,111	0,2725	0,2075
K 5	-0,183	-0,029	0,078	-0,0335	-0,0305	-0,0705
K 6	-0,0105	-0,0395	0,124	0,077	0,047	0,116
K 7	0,029	0,0355	0,172	0,068	0,082	0,1095
P 1	-0,112					
P 2	0,051	0,0455	-0,1025	-0,012	0,1085	0,012
P 3						
S 1	-0,118	-0,023	0,207	-0,0645	-0,119	-0,0625
S 2	0,143	0,188	-0,079	0,222	0,528	0,1775
S 3	0,202	0,306	0,243	0,272	0,2145	0,1535
	06.02.2002	20.02.2002	06.03.2002	20.03.2002	03.04.2002	17.04.2002
K 1	-0,0255	-0,0165	0,0085	-0,0285	0,0215	-0,053
K 2	0,1945	0,1945	0,1275	0,095	0,121	0,012
K 3	0,3235	0,3265	0,3815	0,201	0,371	0,36
K 4	0,098	0,1945	0,2325	0,18	0,3015	0,287
K 5	-0,0695	-0,015	-0,0035	0,008	-0,0335	-0,0695
K 6	0,1025	0,0645	0,049	0,07	0,086	0,058
K 7	0,1075	0,1035	0,037	0,094	0,0965	0,0405
P 1						
P 2	0,1045	-0,004	0,0525	-0,0115	-0,031	0,024
P 3					-0,0455	0,308
S 1	-0,056	-0,0635	-0,062	0,262	-0,076	0,409
S 2	0,176	0,6185	0,237	-0,036	0,2055	0,745
S 3	0,3785	0,288	0,2775	0,6615	0,2445	0,8205

Indexwerte Haustiere2-Cox

	30.04.2002	15.05.2002	29.05.2002	12.06.2002	27.06.2002	10.07.2002
K 1	-0,0335	0,011	0,009	-0,026	0,0345	0,0655
K 2	-0,471	0,1305	0,1855	0,06	0,039	0,252
K 3	0,239	0,389	0,7485	0,3635	0,5405	0,3975
K 4	0,1415	0,2525	0,43	-0,005	0,184	0,222
K 5	-0,0425	-0,0135	-0,0135	-0,016	-0,071	0,021
K 6	0,0375	0,0615	0,11	-0,021	-0,002	0,017
K 7	0,049	0,069	0,056	0,0625	0,075	0,0705
P 1						
P 2	-0,0305	-0,064	-0,018	-0,249	-0,2285	0,159
P 3	-0,0215	-0,0075	-0,0025	-0,027	-0,028	0,029
S 1	-0,0425	-0,0535	-0,0485	-0,047		
S 2	0,149	0,6365	0,214	0,046	0,2895	0,2765
S 3	0,634	0,2375	0,5715	0,829	0,095	0,4865
	24.07.2002					
K 1	0,0005					
K 2	0,165					
K 3	0,678					
K 4	0,297					
K 5	-0,022					
K 6	0,0205					
K 7	0,11					
P 1						
P 2	0,0105					
P 3	-0,022					
S 1						
S 2	0,369					
S 3	0,311					

Indexwerte Haustiere3-Cox

	02.08.2001	17.08.2001	30.08.2001	12.09.2001	27.09.2001	11.10.2001
H 1	-1,386	-1,3655	-1,7745	-1,527	-1,438	-1,537
St 1	0,164	0,0605	0,153	0,178	0,095	
St 2	0,383	0,3325	0,0575	0,0425	0,0175	0,0365
H _z 1	-0,5785	-0,381				
DE 1	0,3025	0,305	0,406	0,3615	0,2925	0,382
Ze 1	-0,4895	-1,0685	-0,06	-0,0405	-0,049	-0,04
Ze 2	-0,8005	-0,0875	-0,2365	-0,528	-0,368	-0,694
J 1	-0,113	-0,2845	0,072	0,0225	0,0115	0,0845
J 2	-0,0915	0,115	0,1	0,0655	0,0135	0,08
J 3	0,1115	0,0575	0,241	0,1955	0,228	0,225
J 4	-0,1865	-0,0965	0,0865	0,0425	0,159	0,07
	26.10.2001	09.11.2001	22.11.2001	07.12.2001	21.12.2001	16.01.2002
H 1	-1,4725	-1,4375	-1,265	-1,7405	-1,5075	-1,382
St 1	0,1275	0,179	-0,2485	0,1455	0,1425	0,135
St 2	0,2065	0,146	-0,155	0,3365	0,518	0,566
H _z 1						
DE 1	0,238	0,216	0,255	0,2895	0,16	0,256
Ze 1	-0,056	-0,0335	-0,0865	-0,058	-0,0415	-0,085
Ze 2	-0,478	-0,253	-0,893	-0,1055	-0,006	-0,1925
J 1	0,076	0,103	0,1575	0,12	0,058	0,101
J 2	0,0955	0,07	0,096		-0,037	0,08
J 3	0,176	0,234	0,2375		0,1715	0,189
J 4	0,024	0,058	0,0135	0,092	0,0165	0,1235
	06.02.2002	20.02.2002	06.03.2002	20.03.2002	03.04.2002	17.04.2002
H 1	-1,406	-1,685	-1,4495	-1,594	-1,495	-1,3565
St 1	0,0725	0,0495	0,065	0,057		0,12
St 2	0,267	0,437	0,5235	0,4495	0,2885	0,9715
H _z 1						
DE 1	0,2865	0,2565	0,258	0,256	0,276	0,3555
Ze 1	-0,032	-0,086	-0,046	-0,038	-0,0265	-0,102
Ze 2	-0,122	-0,2455	-0,112	-0,1775	-0,0475	-0,1105
J 1	0,1095	0,05	0,017	0,0925	0,064	0,0025
J 2	0,0445	0,069	0,071	0,186	0,2735	0,1745
J 3	0,208	0,114	0,0325	0,111	0,245	0,1525
J 4	-0,0345	0,0195	0,013	0,091	0,152	0,128
	30.04.2002	15.05.2002	29.05.2002	12.06.2002	27.06.2002	10.07.2002
H 1	-1,4185	-1,569	-1,433	-1,7065	-1,502	-1,452
St 1	0,149	0,08	0,276	0,0755	0,2415	0,22
St 2	0,934	0,6005	0,446	0,611	0,2405	0,446
H _z 1						
DE 1	0,3485	0,378	0,7275	0,463	0,4525	0,58
Ze 1	-0,101	-0,1775	-0,0925	-0,1345	-0,121	-0,0515
Ze 2	-0,2475	-0,12	-0,1265	-0,2095	-0,1805	-0,074
J 1	0,058	-0,0025	0,0655	0,0365	-0,247	0,0085
J 2	0,067	0,1495	0,4335	0,247	0,078	0,356
J 3	0,1655	0,1675	0,4125	0,21	0,1775	0,2525
J 4	0,122	0,1245	0,0165	0,0345	0,0795	0,1975

Indexwerte Haustiere3-Cox

	24.07.2002					
H 1	-1,3825					
St 1	0,1845					
St 2	0,369					
Hz 1						
DE 1	0,431					
Ze 1	-0,0545					
Ze 2	-0,057					
J 1	-0,06					
J 2	0,3055					
J 3	0,255					
J 4	0,1605					

Indexwerte Hutaffen-Chlam

	04.08.2001	19.08.2001	02.09.2001	14.09.2001	29.09.2001	12.10.2001
H1	0,531	0,4	0,41	0,425	0,478	0,473
H2	-0,017	-0,074	-0,114	-0,021	-0,144	0,066
H3	0,844	0,679	0,624	0,523	1,083	0,939
H4	0,787	0,631	0,523	0,726	0,847	0,612
H5	0,428	0,292	0,345	0,516	0,604	0,376
H6	0,014	0,556	0,029	0,167	0,237	0,066
H7	0,239	0,099	0,026	0,147	0,026	0,02
H8	-0,004	-0,064	-0,001	0,036	-0,242	-0,016
H9	-0,041	-0,092	-0,046	-0,009	-0,089	-0,075
H10	0,714	0,591	0,639	0,89	0,88	0,589
H11						
	26.10.2001	16.01.2002	06.02.2002	20.02.2002	06.03.2002	20.03.2002
H1	0,275	0,286	0,245	0,212	0,382	0,43
H2	-0,06					
H3	0,377	0,541	0,535	0,579	0,596	0,664
H4	0,349	1,065	0,799	0,692	0,833	0,633
H5	0,214	0,208	0,087	0,036	0,167	0,182
H6	0,013	-0,022	0,039	0,063	0,083	0,097
H7	-0,041	-0,014	-0,056	-0,154	0,063	0,063
H8	-0,061	-0,06	-0,081	-0,026	0,045	0,064
H9	-0,078	-0,084	-0,076	0,031	0,039	0,033
H10	0,377	1,027	0,822	1	0,684	1,097
H11					0,135	0,028
	03.04.2002	18.04.2002	15.05.2002	29.05.2002	15.06.2002	27.06.2002
H1	0,418	0,449	0,551	0,35	0,686	0,554
H2						
H3	0,657	0,561	0,75	1,111	1,111	1,042
H4	0,628	0,633	1,304	1,363	1,686	1,603
H5	0,392	0,409	0,307	0,309	0,997	0,939
H6	0,11	0,112	0,084	-0,002	0,003	
H7	0,074	0,07	0,162	0,269	0,041	0,012
H8	-0,176	0,166	0,135			
H9	0,238	0,013	-0,147	-0,14	-0,066	-0,088
H10	0,929	1,02	1,14	1,1	0,863	0,566
H11	0,026	0,043	-0,117	-0,127	-0,051	-0,091
	19.07.2002					
H1	0,486					
H2						
H3	1,101					
H4	1,615					
H5	0,843					
H6						
H7						
H8						
H9	-0,096					
H10	0,919					
H11	0,046					

Indexwerte Rentiere-Chlam

	09.08.2001	23.08.2001	06.09.2001	21.09.2001	04.10.2001	19.10.2001
R1	0,402	0,512	0,435	0,362	0,564	0,413
R2	1,284	0,765	0,855	1,252	1,065	0,923
R3	0,321	0,521	0,318	0,938	1,16	0,63
R4	2,239	2,237	2,283	2,403	2,579	2,82
R5	0,312	0,24	0,146	0,373	0,502	0,775
R6						
	31.10.2001	14.11.2001	27.11.2001	12.12.2001	08.01.2002	23.01.2002
R1	0,213	0,283	0,253	0,55	0,365	0,15
R2	1,011	0,898	0,831	1,029	0,356	0,54
R3	0,414	0,555	0,679	1,227	0,493	0,721
R4	2,559	2,741	3,091	3,029	2,591	3,218
R5	1,313	1,083	1,051	1,386	0,994	1,546
R6						
	13.02.2002	27.02.2002	13.03.2002	27.03.2002	24.07.2002	
R1	0,383	0,185	0,262	0,297	0,321	
R2	0,467	0,65	0,502	0,509	0,525	
R3	0,513	0,598	0,395	0,44		
R4	2,607	2,593	2,629	2,502	2,623	
R5	1,017	1,013	0,912	0,907	1,004	
R6					-0,171	

Indexwerte Dik-Diks-Chlam

	31.07.2001	14.08.2001	29.08.2001	13.09.2001	26.09.2001	10.10.2001
D1	-0,128	0,064	0,111	0,113	0,093	0,143
D2	1,749	2,471	2,245	2,544	1,352	2,674
D3	0,63	0,628	0,483	0,504	0,489	0,461
D4	0,509	0,384	0,41	0,516	0,628	0,544
D5	1,022	2,485	2,276	1,383	1,58	1,34
D6	0,159	0,392	0,139	0,207	0,239	0,211
D7	0,204	0,306	0,231	0,202	0,213	0,294
D8						
D9						
D10						
D11						
	24.10.2001	07.11.2001	22.11.2001	05.12.2001	19.12.2001	16.01.2002
D1	0,436	0,046	0,053	-0,042	0,086	0,084
D2	2,099	2,08	1,04	1,053	0,82	1,198
D3	0,483	0,527	0,231	0,405	0,39	0,44
D4	0,402	0,367	0,131	0,188	0,25	0,203
D5	1,753	0,731	0,424	0,538	0,662	0,755
D6						
D7	0,182	0,14	0,009	0,051	0,046	
D8			-0,093	-0,074	-0,046	-0,079
D9			0,282	0,463	0,481	1,677
D10						
D11						
	06.02.2002	06.03.2002	20.03.2002	03.04.2002	17.04.2002	30.04.2002
D1	0,028	-0,016	-0,064	-0,074	-0,087	-0,053
D2	1,322	0,746	0,547	1,183	1,33	1,425
D3		0,369	0,35	0,395	0,551	0,546
D4	0,273					
D5	0,843	0,63	0,214	0,811	0,884	0,627
D6						
D7	0,096	0,054	-0,068	-0,008	-0,031	-0,042
D8	-0,065	-0,119	-0,146	0,091	0,082	0,089
D9	1,633	1,515	1,399	1,489	1,488	1,458
D10	-0,054	-0,09	-0,167	-0,011	-0,122	-0,141
D11						
	15.05.2002	29.05.2002	12.06.2002	03.07.2002	17.07.2002	
D1	-0,119	0,146	-0,134	0,033	0,374	
D2	1,352	1,607	1,638	1,605	1,58	
D3	0,488	0,577	0,521	0,593	0,568	
D4						
D5	0,902	1,077	1,087	1,079	1,923	
D6						
D7						
D8	0,17	0,225	0,13	0,124	0,058	
D9	1,989	1,896	1,661	1,906	1,831	
D10	0,093	-0,058	-0,089	-0,06	-0,046	
D11	0,151	-0,055	-0,071	-0,064	-0,043	

Indexwerte Haustiere1-Chlam

	02.08.2001	17.08.2001	30.08.2001	12.09.2001	27.09.2001	11.10.2001
Z 1	0,12	0,209	0,4	0,269	0,146	0,13
Z 2	0,659	0,837	0,74	0,778	0,715	0,564
Z 3	0,181	0,115	0,168	0,231	0,123	0,117
Z 4	0,217	0,454	0,188	0,287	0,214	0,213
Z 5	-0,038	0,008	-0,05	0,03	-0,022	-0,018
Z 6	0,015	0,046	-0,023	0,112	0,009	0,021
Z 7	0,811	1,525	0,948	1,142	0,737	0,093
Z 8	0,189	0,012	0,036	0,053	0,036	0,438
Z 9	0	0,03	0,014	0,075	-0,009	-0,034
Z 10	-0,003	-0,018	-0,019	0,399	-0,009	-0,043
	26.10.2001	09.11.2001	22.11.2001	07.12.2001	21.12.2001	16.01.2002
Z 1	0,315	0,04	0,047	0,398	0,008	0,182
Z 2	0,683	0,527	0,525	0,905	0,931	0,825
Z 3	0,037	0,013	0,112	0,484	0,021	0,016
Z 4	0,671	0,148	0,134	0,441	0,069	0,248
Z 5	0,622	0,152	1,31	-0,048	-0,047	-0,044
Z 6	0,051	-0,068	-0,005	-0,124	-0,071	0,016
Z 7	0,944	0,899	1,206	1,657	1,342	0,709
Z 8	0,076	0,057	0,247	0,063	-0,161	-0,056
Z 9	0,035	-0,092	-0,115	-0,131	-0,121	-0,055
Z 10	0,004	-0,059	-0,066	-0,1	-0,085	-0,05
	06.02.2002	20.02.2002	06.03.2002	20.03.2002	03.04.2002	17.04.2002
Z 1	-0,005	-0,057	-0,478	-0,241	1,064	-0,013
Z 2	0,439	0,876	0,914	1,26	1,649	2,155
Z 3	0,01	-0,119	-0,243	0,315	0,04	-0,018
Z 4	0,005	0,003	-0,193	-0,055	0,883	0,571
Z 5	-0,04	-0,17	-0,281	-0,195	0,395	-0,069
Z 6	-0,038	-0,192	-0,266	-0,263	0,301	0,15
Z 7	0,794	1,023	2,096	1,323	1,319	1,805
Z 8	-0,026	-0,101	-0,299	-0,245	0,112	0,043
Z 9	0,052	-0,191	-0,297	-0,005	-0,057	-0,109
Z 10	-0,04	0,011	-0,247	0,046	0,039	-0,383
	30.04.2002	15.05.2002	29.05.2002	12.06.2002	27.06.2002	10.07.2002
Z 1	0,104	0,175	1,711	2,709	2,143	0,403
Z 2	1,344	0,974	1,344	1,175	1,847	1,274
Z 3	0,235	0,145	0,137	0,141	0,098	0,099
Z 4	0,435	0,083	0,345	0,124	0,146	0,263
Z 5	0,134	0,022	-0,11	0,261	0,123	-0,083
Z 6	-0,004	0,121	0,167	-0,271	-0,151	0,155
Z 7	1,08	1,001	1,091	1,492	1,86	1,185
Z 8	-0,049	0,011	-0,24	0,203	-0,039	0,043
Z 9	-0,072	-0,016	-0,196	0,074	0,21	-0,311
Z 10	-0,087	-0,052	-0,07	0,074	0,188	0,012

Indexwerte Haustiere1-Chlam

	24.07.2002					
Z 1	0,096					
Z 2	0,776					
Z 3	0,048					
Z 4	0,125					
Z 5	-0,025					
Z 6	0,012					
Z 7	0,847					
Z 8	-0,001					
Z 9	0,015					
Z 10	0,181					

Indexwerte Haustiere2-Chlam

	02.08.2001	17.08.2001	30.08.2001	12.09.2001	27.09.2001	11.10.2001
K 1	0,201	0,039	0,073	0,268	0,053	0,265
K 2	0,761	0,368	0,408	0,63	0,55	0,469
K 3	1,28	0,98	0,769	1,385	0,901	1,495
K 4	0,229	0,318	0,268	0,457	0,722	0,672
K 5	0,397	0,076	0,143	0,293	0,097	0,129
K 6	0,485	0,215	0,233	0,534	0,202	0,174
K 7	0,019	-0,004	0,055	0,073	-0,005	-0,019
P 1	0,291	0,232	0,015	0,056	0,185	0,179
P 2	0,59	0,27	0,55	0,152	0,36	0,118
P 3						
S 1	0,791	0,841	0,623	0,922	0,717	0,802
S 2	0,488	0,864	0,219	0,582	0,438	0,428
S 3	0,657	0,471	0,334	0,403	0,381	0,363
	26.10.2001	09.11.2001	22.11.2001	07.12.2001	21.12.2001	16.01.2002
K 1	0,108	0,108	0,057	0,214	0,035	0,079
K 2	0,528	0,542	0,72	0,72	0,387	0,3
K 3	1,339	1,121	2,241	2,622	1,042	0,897
K 4	0,527	0,077	0,496	0,644	0,371	0,167
K 5	0,097	0,416	0,035	0,103	0,003	0,127
K 6	0,149	0,133	0,084	0,22	0,339	0,174
K 7	-0,033	-0,046	-0,038	-0,014	-0,093	-0,038
P 1	0,147					
P 2	0,16	0,422	0,362	0,318	0,268	-0,023
P 3						
S 1	0,806	0,575	0,492	1,28	1,076	0,995
S 2	0,862	0,469	0,621	0,725	0,391	0,564
S 3	0,465	0,58	0,462	0,763	0,622	0,206
	06.02.2002	20.02.2002	06.03.2002	20.03.2002	03.04.2002	17.04.2002
K 1	0,03	-0,098	0,058	0,171	0,155	-0,145
K 2	0,406	0,984	0,74	0,614	0,618	1,764
K 3	0,869	1,491	2,507	1,545	1,233	2,393
K 4	0,478	0,242	0,15	0,482	0,517	0,551
K 5	0,165	-0,03	0,044	0,201	0,247	0,236
K 6	0,379	0,098	0,132	0,264	0,256	0,028
K 7	0,081	-0,195	-0,218	-0,005	0,051	-0,099
P 1						
P 2	0,79	0,451	0,304	0,18	0,252	0,373
P 3					-0,042	-0,19
S 1	0,741	0,947	1,922	0,966	0,857	1,444
S 2	0,354	0,594	1,398	1,402	0,715	1,49
S 3	0,187	0,873	0,708	1,174	0,685	1,419

Indexwerte Haustiere2-Chlam

	30.04.2002	15.05.2002	29.05.2002	12.06.2002	27.06.2002	10.07.2002
K 1	0,022	0,06	0,177	0,252	0,43	0,295
K 2	1,216	0,77	0,773	0,717	0,956	0,991
K 3	1,201	1,238	0,959	1,093	-0,021	1,282
K 4	0,488	0,566	0,358	0,689	0,652	0,714
K 5	0,099	0,544	0,09	0,275	0,252	0,158
K 6	0,372	0,414	-0,074	0,521	0,233	0,265
K 7	-0,078	-0,076	-0,181	0,036	0,067	0,028
P 1						
P 2	1,312	0,379	0,279	0,624	0,415	0,501
P 3	-0,327	-0,045	-0,143	0,088	0,032	0,073
S 1	1,683	0,849	0,98	0,838		
S 2	1,937	0,497	0,617	1,21	1,025	0,851
S 3	0,779	0,8	0,283	0,144	0,433	0,726
	24.07.2002					
K 1	0,065					
K 2	0,742					
K 3	1,032					
K 4	0,354					
K 5	0,157					
K 6	0,13					
K 7	-0,048					
P 1						
P 2	0,154					
P 3	-0,01					
S 1						
S 2	0,56					
S 3	0,447					

Indexwerte Haustiere3-Chlam

	02.08.2001	17.08.2001	30.08.2001	12.09.2001	27.09.2001	11.10.2001
H 1	1,754	1,87	1,925	2,352	2,517	1,939
St 1	0,947	0,759	1,471	1,023	0,718	
St 2	0,129	0,034	-0,048	0,106	0,047	0,052
Hz 1	1,091	0,31				
DE 1	0,075	0,066	0,606	0,19	0,062	0,077
Ze 1	0,133	1,245	0,184	0,14	0,06	0,018
Ze 2	1,527	0,014	1,8	1,437	0,699	1,199
J 1	1,082	1,213	1,415	1,548	1,237	0,806
J 2	0,285	0,088	-0,1	0,105	-0,019	-0,006
J 3	0,535	0,456	0,423	0,705	0,528	0,514
J 4	1,029	0,802	0,757	0,944	0,81	0,723
	26.10.2001	09.11.2001	22.11.2001	07.12.2001	21.12.2001	16.01.2002
H 1	2,431	2,293	2,205	6,693	3,894	3,526
St 1	0,971	0,768	1,147	1,293	1,058	0,673
St 2	0,096	-0,028	-0,088	0,225	-0,227	-0,058
Hz 1						
DE 1	0,053	-0,005	0,106	0,532	-0,22	-0,09
Ze 1	0,126	0,178	0,232	0,215	0,206	0,103
Ze 2	1,614	0,822	0,241	0,08	0,183	0,48
J 1	1,908	1,316	2,668	2,203	2,252	1,402
J 2	0,017	-0,038	-0,275		-0,484	-0,288
J 3	0,759	0,564	1,006		1,09	0,524
J 4	0,777	0,789	1,068	0,873	1,132	0,575
	06.02.2002	20.02.2002	06.03.2002	20.03.2002	03.04.2002	17.04.2002
H 1	2,407	3,177	5,472	4,964	2,741	10,241
St 1	0,998	0,745	1,258	0,921		2,49
St 2	-0,021	-0,251	-0,207	0,107	-0,052	-0,038
Hz 1						
DE 1	-0,081	-0,123	-0,114	0,152	-0,042	0,074
Ze 1	1,63	1,421	0,869	0,808	0,283	0,703
Ze 2	0,823	1,378	0,202	0,49	0,216	0,317
J 1	1,838	1,814	2,532	1,45	8,231	3,053
J 2	-0,458	-0,766	-0,837	-0,442	-0,322	-0,769
J 3	0,875	0,751	0,58	0,539	1,14	1,414
J 4	1,023	0,748	1,072	0,801	1,576	1,749
	30.04.2002	15.05.2002	29.05.2002	12.06.2002	27.06.2002	10.07.2002
H 1	10,525	4,396	4,038	3,19	3,455	3,821
St 1	2,255		2,169	1,59	1,638	1,709
St 2	-0,074	-0,115	-0,479	-0,029	0,561	-0,041
Hz 1						
DE 1	-0,307	-0,268	-0,674	-0,026	-0,046	0,448
Ze 1	0,632	0,364	0,273	0,433	0,48	0,415
Ze 2	0,831	0,433	1,055	1,038	0,634	0,604
J 1	1,519	1,946	2,139	1,977	2,245	2,331
J 2	-0,703	-1,648	-1,294	-0,483	-0,687	-0,238
J 3	0,925	0,992	1,205	0,96	0,853	-0,152
J 4	0,815	0,789	0,98	0,916	1,105	0,884

Indexwerte Haustiere3-Chlam

	24.07.2002					
H 1	3,48					
St 1	1,49					
St 2	-0,014					
Hz 1						
DE 1	-0,214					
Ze 1	0,094					
Ze 2	0,365					
J 1	1,906					
J 2	-0,478					
J 3	0,56					
J 4	0,977					

Indexwerte Brakelhühner-Chlam

	07.08.2001	22.08.2001	04.09.2001	21.09.2001	04.10.2001	16.10.2001
B1	1,045	0,986	1,0165	1,074	1,026	1,245
B2	0,7105	0,7065	0,6785	0,496	0,6115	0,6215
B3	1,1595	1,012	1,1	1,1215	1,13	1,2335
B4	0,955	0,767	0,8705	0,8225	0,9025	1,149
B5	0,9865	0,9495	1,007	0,822	0,8895	0,962
B6	1,013	1,0895	0,997	1,052	0,919	1,016
B7	0,813	0,865	0,8355	0,8815	0,7365	1,0265
	31.10.2001	14.11.2001	27.11.2001	12.12.2001	08.01.2002	23.01.2002
B1	1,089	1,197	1,244	1,081	1,2815	1,2865
B2	0,558	0,772	0,547	0,667	0,587	0,8355
B3	1,1875	1,3175	1,224	1,1805	1,2915	1,3425
B4	1,2035	0,9925	1,0125	0,8485	1,0975	1,182
B5	1,0625	1,075	1,026	1,071	1,149	1,1965
B6	1,119	1,013	0,955	0,975	0,8475	0,901
B7	1,031	1,011	0,9335	0,988	1,039	1,063
	13.02.2002	27.02.2002	13.03.2002	27.03.2002	10.04.2002	24.04.2002
B1	1,193	1,1295	1,2165	1,3165	1,326	1,304
B2	0,843	0,589	0,6875	1,175	1,1165	1,1055
B3	1,4	1,2605	1,267	1,438	1,506	1,386
B4	1,2075	1,235	1,1845	1,321	1,185	1,3025
B5	1,205	1,202	1,265	1,38	1,356	1,316
B6	0,897	1,021	1,098	1,329	1,375	1,46
B7	1,0825	0,947	1,2115	1,3265	1,2975	1,1695
	07.05.2002	23.05.2002	05.06.2002	19.06.2002		
B1	1,266	1,196	1,211	1,2945		
B2	1,2265	1,179	1,1775	1,179		
B3	1,4565	1,5685	1,359	1,3145		
B4	1,3125	1,3775	1,2995	1,2595		
B5	1,3685	1,3705	1,14	1,1975		
B6	1,4525	1,382	1,2725	1,303		
B7	1,31	1,315	1,0595	1,0945		

Indexwerte Chabohühner-Chlam

	07.08.2001	22.08.2001	04.09.2001	21.09.2001	04.10.2001	16.10.2001
C1	0,947	0,846	0,8775	0,875	0,865	0,889
C2	0,1845	0,364	0,2655	0,5315	0,25	0,3185
C3	0,639	0,61	0,5685	0,656	0,5285	0,4835
C4	1,038	0,944	0,789	0,8385	0,667	0,79
C5	0,6455	0,7035	0,6055	0,605	0,6055	0,6845
	31.10.2001	14.11.2001	27.11.2001	12.12.2001	08.01.2002	23.01.2002
C1	0,956	1,1125	1,077	1,045	0,971	1,2055
C2	0,495	0,437	0,506	0,4145	0,415	0,7535
C3	0,603	0,432	0,65	0,662	0,4635	0,483
C4	0,7745	1,0415	0,902	0,7535	0,679	0,894
C5	0,6055	0,766	0,474	0,6185	0,5715	0,7105
	13.02.2002	27.02.2002	13.03.2002	27.03.2002	10.04.2002	24.04.2002
C1	1,167	1,2075	1,0885	1,2545	1,2425	1,2485
C2	0,4325	0,757	0,4825	0,5485	0,745	0,635
C3	0,605	0,6005	0,6755	0,8145	0,7255	0,8075
C4	0,799	0,809	0,5315	0,537	0,6505	0,707
C5	0,645	0,6075	0,7005	0,7055	0,953	0,971
	07.05.2002	23.05.2002	05.06.2002	19.06.2002		
C1	1,1615	1,2435	1,3505	1,1		
C2	0,593	0,5725	0,7215	0,694		
C3	0,734	0,642	0,6445	0,7455		
C4	0,868	0,851	0,648	0,664		
C5						

Indexwerte Aras-Chlam

	07.08.2001	21.08.2001	04.09.2001	21.09.2001	04.10.2001	16.10.2001
A1	45,085	41,08	37,805	26,35	39,3	42,835
A2	47,55	58,705	31,505	27,755	36,635	36,81
A3	36,27	27,925	32,225	17,965	32,005	14,85
A4	3,575	10,64	10,9	-7,745	20,915	17,815
A5	69,26	67,735	56,96	61,615	56,99	42,575
A6	64,115	61,005	61,43	66,375	48,95	58,43
A7	45,3	40,185	34,61	43,49	29,345	34,715
A8	69,815	64,625	67,6	63,45	60,655	58,645
A9	23,37	30,435	22,39	19,345	28,34	15,415
A10	62,28	51	45,59	52,27	52,405	39,255
A11	57,385	49,55	43,975	49,17	36,55	30,175
	31.10.2001	14.11.2001	27.11.2001	12.12.2001	08.01.2002	23.01.2002
A1	22,05	29,3	46,105	43,815	47,735	37,455
A2	26,725	32,84	47,225	42,965	48,665	43,895
A3	18,91	21,635	34,55	27,255	34,08	21,365
A4	11,265	16,595	20,315	13,8	12,335	19,475
A5	56,335	51,725	46,875	45,91	52,655	53,26
A6	47,25	67,66	63,355	58,975	64,015	56,24
A7	42,49	48,975	49,09	45,56	37,305	61,41
A8	60,31	69,135	68,28	70,49	61,885	68,26
A9	33,8	45,21	37,615	31,21	33,195	40,31
A10	33,625	60,685	68,67	29,12	54,05	65,1
A11	37,335	51,03	52,11	42,5	32,3	56,91
	13.02.2002	27.02.2002	13.03.2002	27.03.2002	10.04.2002	24.04.2002
A1	54,415	46,23	42,31	30,025	41,535	45,525
A2	47,61	40,575	43,2	19,965	42,175	46,73
A3	30,78	30,335	23,705	11,865	33,74	30,535
A4	18,94	10,93	13,955	-10,71	13,26	18,675
A5	62,475	53,93	53,485	50,615	46,66	48,3
A6	59,185	50,95	60,43	59,835		
A7	52,37	38,035	42,18	44,92	46,77	51,15
A8	70,62	61,05	58,38	66,85	66,99	68,92
A9	44,4	35,325	27,935	22,235	31,21	45,06
A10	62,03	44,89	49,655	44,705	68,24	61,51
A11	53,615	50,19	45,295	44,67	51,36	49,12
	07.05.2002	23.05.2002	05.06.2002	19.06.2002	03.07.2002	17.07.2002
A1	39,685	37,3	37,61	30,73	28,645	22,55
A2	42,675	38,4	44,08	33,56	31,625	31,135
A3	25,935	25,83	27,53	24,225	19,43	28,46
A4	5,645	4,075	-3,145	5,63	7,12	6,23
A5	60,19	44,205	37,87	35,415	35,525	30,99
A6						
A7	47,555	37,65	40,36	38,985	26,045	47,125
A8	73,15	67,6	62,56	64,38	48,28	57,58
A9	39,68	21,205	28,57	27,015	23,48	18,385
A10	56,345	49,915	67,135	48,24	69,55	45,825
A11	40,715	41,7	43,67	36,345	40,77	27,2

DANKSAGUNG

Mein herzlicher Dank gilt Prof. Dr. L. H. Wieler vom Institut für Mikrobiologie und Tierseuchen des Fachbereichs Veterinärmedizin für die Überlassung des Themas der Dissertation, für die zahlreichen Anregungen, seine jederzeit gewährte wissenschaftliche und persönliche Unterstützung und für die Geduld mit seinem Doktoranden.

Beim Zoologischen Garten Berlin möchte ich mich für die Idee und die Genehmigung der Dissertation sowie die gute Zusammenarbeit bedanken. Allen Tierpflegern, die den praktischen Teil meiner Arbeit unterstützt haben, gilt mein ganz besonderer Dank. Ohne ihre Ruhe, Geduld und die fachliche Kompetenz im Umgang mit den Tieren, wäre die Arbeit sicher nicht möglich gewesen. Bedanken möchte ich mich auch dafür, dass sich einige der Pfleger freiwillig für die Abgabe eigener Blutproben bereit erklärt haben.

Herrn Dr. R. Sting vom CVUA Stuttgart danke ich für die tatkräftige Unterstützung bei der Herstellung der ELISA-Platten und für die Überlassung der Tests für die Arbeit.

Herrn Dr. J. Hentschke vom ILAT im BBGes gilt mein besonderer Dank für die fruchtbare Zusammenarbeit bei der Auswertung der ELISA-Tests im Labor sowie für seine engagierte wissenschaftliche Unterstützung, die in vielerlei Hinsicht wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen hat. Auch all seinen Mitarbeiterinnen aus dem Labor gilt mein besonderer Dank für die freundliche Aufnahme und für die Hilfe bei der Bearbeitung einer so großen Serenanzahl.

Frau Dr. G. Arndt vom Institut für Biometrie und Informationsverarbeitung des Fachbereichs Veterinärmedizin danke ich für die sorgfältige und geduldige Beratung bei der statistischen Auswertung der Daten.

Dem Betriebsarzt des Zoologischen Gartens Berlin, Herrn Dr. B. Siebert, möchte ich für die Blutentnahmen bei den Pflegern danken.

Weiterhin danke ich dem Charité Campus Benjamin Franklin für die Überlassung der Serumproben der Kontrollgruppe für die Arbeit.

Abschließend möchte ich mich bei all jenen bedanken, die mich bei der Anfertigung dieser Arbeit unterstützt haben.

SELBSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und nur unter Zuhilfenahme der angegebenen Hilfsmittel und Literaturstellen angefertigt habe.

Berlin, 26.03.2008

André Schüle