

Aviäre Chlamydiose (Psittakose / Ornithose)

–

Retrospektive Analyse einer Seuche mit
zoonotischem Potential von der ersten
Beschreibung bis in die Gegenwart

Sabine Melanie Taise



INAUGURAL-DISSERTATION zur Erlangung des Grades eines **Dr. med. vet.**
beim Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.

Die rechtliche Verantwortung für den gesamten Inhalt dieses Buches liegt ausschließlich bei dem Autor dieses Werkes.

Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung des Autors oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2014

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the Author or the Publishers.

1st Edition 2014

© 2014 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen
Printed in Germany



édition linguistique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

STAUFENBERGRING 15, D-35396 GIESSEN
Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890
email: redaktion@doktorverlag.de

www.doktorverlag.de

Aus der Klinik für Vögel, Reptilien, Amphibien und Fische
der Justus-Liebig-Universität Gießen
Betreuer: Dr. Dr. h.c. Erhard F. Kaleta

**Aviäre Chlamydiose (Psittakose / Ornithose) – Retrospektive
Analyse einer Seuche mit zoonotischem Potential von der ersten
Beschreibung bis in die Gegenwart**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
Dr. med. vet.
beim Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von

Dr. rer. medic. Sabine Melanie Taise
Tierärztin aus Köln

Gießen 2013

Mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Dekan: Prof. Dr. Dr. h.c. Martin Kramer

Gutachter:

1. Gutachter: Prof. Dr. Dr. h.c. Erhard F. Kaleta
2. Gutachter: Prof. Dr. habil. Christa Ewers

Tag der Disputation: 09.12.2013

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre:

Ich habe die vorgelegte Dissertation selbständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften basieren, sind als solche kenntlich gemacht.

Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze der guten wissenschaftlichen Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.

Dr. Sabine M. Taise, Kiel 09.12.2013

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungen

1	Einleitung	1
2	<i>Chlamydia psittaci</i>	5
2.1	Historie der Psittakose	5
2.1.1	Die Anfänge der Psittakoseforschung	8
2.1.2	Die Erforschungsgeschichte des Erregers	12
2.2	Taxonomische Struktur der Spezies von <i>Chlamydia psittaci</i>	19
2.3	Infektionsbiologie der Chlamydien	22
2.3.1	Morphologie von <i>Chlamydia</i> spp.	22
2.3.2	Biochemische Eigenschaften und Färbung.....	23
2.3.3	Antigenstruktur und Toxine	25
2.3.4	Entwicklungszyklus und Tenazität.....	26
2.3.5	Wirtsspektrum und Übertragung von <i>Chlamydia psittaci</i>	33
2.3.6	Klinische Symptome und Verlaufsformen der aviären Chlamydiose	37
2.3.7	Differenzialdiagnosen der aviären Chlamydiose	44
2.3.8	Prävalenz und geografische Verteilung.....	46
3	Diagnostik der Psittakose / Ornithose	56
3.1	Probenentnahme bei Verdacht auf aviäre Chlamydiose	57
3.2	Antigennachweis.....	58
3.2.1	Isolation des Erregers.....	58
3.2.2	Abstriche / Abklatsche und Gewebeproben.....	60
3.2.3	Immunoassays	61
3.3.1	(Micro-) Immunfluoreszenztest (MIF).....	62
3.3.2	Komplementbindungsreaktion (KBR)	63
3.3.3	Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)	64
3.4.1	Konventionelle Polymerase-Kettenreaktion (PCR)	67
3.4.2	Nested PCR-EIA.....	70
3.4.3	RFLP-PCR	71
3.4.4	Real-time PCR	72
3.4.5	DNA-Mikroarray Assay.....	77
3.4.6	Multilocus VNTR Analysis (MLVA)	79

Inhaltsverzeichnis

3.5 Diagnostik in der Praxis	82
4 Therapie und Prophylaxe	84
4.1 Therapiegeschichte der aviären Chlamydiose	84
4.2 Therapie der aviären Chlamydiose	85
4.3 Resistenz und Persistenz bei <i>Chlamydia psittaci</i>	89
4.4 Immunität und Impfung gegen <i>Chlamydia psittaci</i>	100
5 Psittaziden in Deutschland – Rechtsgrundlagen.....	103
6 Staatliche Bekämpfungsmaßnahmen und Rechtsgrundlagen der Psittakose.....	106
6.1 Die Anfänge staatlicher Bekämpfungsmaßnahmen	106
6.2 Gesetzliche Regelungen in Deutschland heute	110
6.2.1 Die Anzeigepflicht.....	110
6.2.2 Das Tierseuchengesetz.....	111
6.2.3 Die Psittakoseverordnung	112
6.2.5 Weitere rechtliche Regelungen in Deutschland.....	118
6.3 Gesetzliche Regelungen in der Europäischen Union.....	121
6.3.1 Entscheidung der Kommission vom 16. Oktober 2000 zur Festlegung der Veterinärbedingungen und Veterinärbescheinigungen sowie Quarantänebedin- gungen für die Einfuhr von anderen Vogelarten als Geflügel	121
6.3.2 Richtlinie 2003/99/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 17. November 2003 zur Überwachung von Zoonosen und Zoonoseerregern und zur Änderung der Entscheidung 90/424/EWG des Rates sowie zur Aufhebung der Richtlinie 92/117/EWG des Rates.....	122
7 Nachweise und Bekämpfung der Psittakose / Ornithose in anderen Mitgliedsstaaten der Europäischen Union	123
8 Internationale Projekte	131
8.1 COST Action 855 – <i>Animal Chlamydiosis and the Zoonotic Implications</i>	131
8.2 EFSA – Import frei lebender Vögel in die EU.....	134
9 Europäische Kommission und Chlamydiose.....	140
10 Darstellung einer erfolgreichen länderübergreifenden Seucheneradikation am Beispiel der Tollwut.....	142
10.1 Allgemeiner Überblick zur Tollwut	142
10.1.1 Ätiologie, Übertragung und Pathogenese	143
10.1.2 Klinische Symptome der Tollwut im Tier.....	144
10.1.3 Epidemiologie der Tollwutinfektion	145

Inhaltsverzeichnis

10.1.4 Diagnostik beim Verdacht auf Tollwut.....	146
10.1.5 Bekämpfung gegen die Tollwut in Deutschland.....	146
10.2 Ist Deutschland wirklich tollwutfrei?	148
10.3 Fazit.....	150
11 Diskussion	152
11.1 Symptomatologie und Pathologie bei verschiedenen Vogelarten / -gruppen...	154
11.2 Pathologie und Pathogenese.....	155
11.3 Diagnostik und Differenzialdiagnostik.....	156
11.4 Therapie	158
11.5 Prophylaxe.....	160
11.6 Vakzination	161
11.7 Staatliche Bekämpfung.....	164
11.8 Tollwut – ein Beispiel einer erfolgreichen Tierseuchenbekämpfung?	165
11.9 Aviäre Chlamydiose in Europa	166
12 Fazit.....	168
13 Zusammenfassung	170
14 Summary	173
15 Anhang	176
16 Literaturverzeichnis.....	179
Abbildungsverzeichnis.....	209
Tabellenverzeichnis.....	211
Danksagung	213

Abkürzungen

ATP	Adenosin-Triphosphat
C.	Chlamydia
Chl.	Chlamydophila
ca.	zirka
ct-Wert	cycle treshold
d.h.	das heißt
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EB	Elementarkörperchen
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
FLI	Friedrich-Loeffler Institut
h	Stunde
<i>hsp60</i>	Hitzeschockprotein 60
IB	Intermediärkörperchen
IL	Interleukin
IFN	Interferon
KBR	Komplement-Bindungs-Reaktion
kDa	Kilodalton
LPS	Lipopolysaccharid
mAB	Monoklonale Antikörper
µg	Mikrogramm
µm	Mikrometer
mg	Milligramm
MIF	Mikroimmunofluoreszenz
ml	Milliliter
mm	Millimeter
MLVA	Multiple-locus Variable Number Tandem Repeat Analysis
MOMP	Major Outer Membrane Protein
NASPHV	National Association of Public Health Veterinarians
nm	Nanometer
pmp	Polymorphic Membrane Protein
o.g.	oben genannt
OIE	World Organisation for Animal Health

Abkürzungen

omp	Outer Membrane Protein
PCR	Polymerasekettenreaktion
p. i.	post infectionem
RB	Retikularkörperchen
RFLP-PCR	Restriktionsfragmentlängen-Polymorphismus-PCR
RNA	Ribonukleinsäure
rRNA	ribosomale Ribonukleinsäure
s. o.	siehe oben
s. u.	siehe unten
spp.	Spezies
u. a.	unten angeführt
v. a.	vor allem
VO	Verordnung
WHO	World Health Organisation
z. B.	zum Beispiel

1 Einleitung

Nur wenige Tierseuchen werden im Bezug auf ihre Diagnostik und Bekämpfung so kontrovers diskutiert wie die aviäre Chlamydiose (Psittakose / Ornithose) nach Infektion mit *Chlamydia psittaci*. Diese Zooanthroponose wurde aufgrund ihrer erstmaligen klinischen Beschreibung im Jahr 1892 im Zusammenhang mit importierten Psittaziden in Paris von MORANGE (1895) als „Psittakose“ bezeichnet und war damals beim Menschen eine lebensbedrohende Krankheit.

Auch wenn bereits in alten Reisebeschreibungen aus den ersten Jahren des 17. Jahrhunderts über eine „Pest“ unter den Eingeborenen in Peru berichtet wird, fand die Psittakose in Europa erst in der zweiten Hälfte des 19. Jahrhunderts Beachtung. Durch den wachsenden Wohlstand in Europa kam es zu einem massiven Import von Psittaziden aus Südamerika und in deren Umfeld zu einem gehäuftem Auftreten schwerer Pneumonien bei Menschen mit direktem Kontakt zu Importvögeln (HAAGEN, 1939; WINKLE, 2000).

Die Übertragung der Chlamydien auf den Menschen erfolgt durch Kontakt-, Tröpfchen- oder Staubinfektion und geht nach einer Inkubationszeit von 8 bis 14 Tagen anfangs mit grippeähnlichen Symptomen einher. Horizontale Infektionen zwischen Menschen wurden dagegen kaum beobachtet. Ohne Behandlung der Erkrankten entwickeln sich rasch hohes Fieber (39-40 °C) und Magen-Darm-Beschwerden, so dass ein typhöses Krankheitsbild entsteht (HAAGEN, 1939; WINKLE, 2000). Durch die Beteiligung der Kreislauforgane kann die Psittakose beim Menschen innerhalb von zwei Wochen zum Tod durch Kreislaufversagen führen. Anderenfalls tritt meist nach vier bis fünf Wochen die Genesung ein (WINKLE, 2000). Die Mortalität betrug früher 15-20 %. Mit der Entdeckung der Tetracycline im Jahr 1948 bestand nun erstmalig die Möglichkeit einer Antibiotikatherapie, so dass die Sterblichkeit auf unter 1 % gesunken ist (NASPHV, 2010).

Bis Ende der 20-iger Jahre des vorigen Jahrhunderts traten in Europa, aber auch in den USA und Südamerika immer wieder schwere Psittakose-Endemien mit etlichen Todesfällen auf. Doch bald erkannten die Wissenschaftler, dass nicht nur Papageien den Erreger übertragen, sondern auch

Einleitung

Sturmmöwen, Tauben, Geflügel und andere Vögel (RASMUSSEN-EJDE, 1938; HAAGEN und MAUER, 1938; MEYER, 1942). Daher prägte MEYER (1942) für die Erkrankung, die bei Nicht-Psittaziden ausgelöst wurde, den Begriff „Ornithose“. Lange Zeit wurde die Ornithose jedoch als deutlich harmloser eingestuft als die eigentliche Psittakose, die von Chlamydien-infizierten Papageienvögeln ihren Ausgang nahm (KUMMERFELD und RYLL, 2010).

Da sich die Erregeridentifikation als schwierig erwies, griffen die Behörden zu drastischen Maßnahmen und ordneten die massenweise Vernichtung der Papageien durch „Seuchentrupps“ an. Da man jedoch vergaß, genaue Arbeitsanweisungen für die Keulung der Tiere auszugeben, wurden sie brutal ohne jegliche Betäubung gegen die Wand zu Tode geschleudert (WINKLE, 2000). Schließlich wurde 1934 im Deutschen Reich das erste Gesetz zur Bekämpfung der Papageienkrankheit erlassen (KRAUSS und SCHMEER, 1992), das letztlich 1969 in die „Verordnung zum Schutz gegen die Psittakose und Ornithose“ (Psittakose-Verordnung) mündete. Hierin sind Vorgaben für die individuelle Kennzeichnung aller Vögel der Ordnung Psittaciformes mit einem Fußring, die Diagnostik, die Behandlung erkrankter Tiere mit einem „wirksamen Mittel“, Quarantäne- und Hygienemaßnahmen sowie die Option zur Tötung der Vögel festgelegt (KUMMERFELD und RYLL, 2010). Des Weiteren wurde 1969 in Deutschland für die Psittakose die Anzeige- und Bekämpfungspflicht sowie für die Ornithose die Meldepflicht eingeführt. Die Chlamydiose des Menschen ist gemäß Infektionsschutzgesetz seit 2000 bzw. 2009 meldepflichtig.

Doch trotz dieser staatlichen Regularien blieb das Niveau der jährlich angezeigten Psittakosen der Vögel der Ordnung Psittaciformes über viele Jahre konstant bei 300-400 Fällen und ist erst seit dem Jahr 2000 auf etwa 100-200 Fälle gesunken (KUMMERFELD und RYLL, 2010). Ein jahreszeitliches Infektionshoch im Winter und Frühjahr kann klinisch nicht erklärt werden und könnte auf andere Umstände, wie beispielsweise die Urlaubszeit im Sommer, zurückzuführen sein (KALETA et al., 1998; KUMMERFELD und RYLL, 2010).

Aufgrund der Biologie des Erregers wurden die Effektivität und die Notwendigkeit der Anzeigepflicht für die Psittakose und ihre Konsequenzen sehr kontrovers diskutiert und in den letzten zehn Jahren von vielen Forschern in Frage

Einleitung

gestellt (KALETA, 1997; KALETA et al., 1998; BOSCH, 1999; KUMMERFELD, 2010; KUMMERFELD und RYLL, 2010).

Im Rahmen der engeren Zusammenarbeit der Länder der Europäischen Union wurden auch im Bereich der Tierseuchenbekämpfung für viele Tierseuchen einheitliche Vorgaben und Vorgehensweisen erlassen, die die EU-Länder in Landesrecht umsetzen mussten. So gibt es eine Verordnung über Einfuhr- und Quarantänebestimmungen für Vögel und eine Richtlinie, die die Mitgliedsländer verpflichtet, Informationen über Zoonosen und ihre Erreger zu sammeln und mitzuteilen. In der „Richtlinie 2003/99/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 17. November 2003 zur Überwachung von Zoonosen und Zoonoseerregern...“ wird die Psittakose als „je nach epidemiologischer Situation überwachungspflichtige Zoonose“ eingestuft.

Die Bundesrepublik Deutschland war das einzige europäische Land, in dem für die Psittakose Anzeigepflicht herrschte. Mit der „Verordnung zur Änderung der Verordnung über anzeigepflichtige Tierseuchen und der Verordnung über meldepflichtige Tierkrankheiten“ vom 25.05.2011 wurde die Anzeigepflicht aufgehoben und in eine Meldepflicht umgewandelt. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, unter Berücksichtigung der aktuellen Forschungsergebnisse im Bezug auf die Biologie von *Chlamydia psittaci* sowie Diagnose-, Therapie- und Präventionsmöglichkeiten, die Bedeutung der Psittakose als Zoonose darzustellen und die Notwendigkeit und Sinnhaftigkeit staatlicher Bekämpfungsmaßnahmen zu diskutieren. Des Weiteren sollte die Bedeutung der aviären Chlamydiose in der Europäischen Union evaluiert und unter dem Aspekt einer gemeinschaftlichen Seucheneradikation, wie es bei der Tollwut erfolgreich durchgeführt worden ist, betrachtet werden.

Bisherige zusammenfassende Berichte über die aviäre Chlamydiose sind zum einen oft sehr alt, wie zum Beispiel das „Handbuch der Viruskrankheiten mit besonderer Berücksichtigung ihrer experimentellen Erforschung“ (HAAGEN et al., 1939), und zum anderen daraus folgend unvollständig, weil neuere Entwicklungen fehlen (KRAUSS und SCHMEER, 1992). Gerade in der jüngsten Vergangenheit ermöglichten die rasanten Entwicklungen auf dem Gebiet der Molekularbiologie neue Einblicke in die Struktur der Chlamydien und die Funktion ihrer Gene. Dadurch konnten sowohl die Erkenntnisse im Bereich der Erregerdifferenzierung als auch in der Diagnostik präzisiert und optimiert werden.

Einleitung

Auch im Hinblick auf Epidemiologie und Pathogenese konnten und können mittels molekularbiologischer Methoden immer mehr neue Aspekte und Zusammenhänge erfolgreich analysiert werden.

Das Interesse an der Vogelmedizin hat in den letzten 50 Jahren kontinuierlich zugenommen und eine große methodische Erweiterung und Anwendung auf ein vergrößertes Wirtsspektrum erfahren. In diesem Zusammenhang konnten bei fast allen Vogelarten Chlamydien nachgewiesen werden und es wurde offensichtlich, dass die Psittakose der Papageienvögel eigentlich die Chlamydiose aller Vögel ist. Vor diesem Hintergrund und durch die neuen Erkenntnisse zur Biologie der Chlamydien ergab sich eine völlig neue Sichtweise der Möglichkeiten zur Therapie und Erregertilgung. Eine klassische Seucheneradikation gestaltet sich bei *Chlamydia psittaci* aufgrund des Entwicklungszyklus und der intrazellulären Lebensweise sehr schwierig. Die bisher eingesetzten Antibiotika stoßen mit der anzunehmenden Entwicklung von Resistenzen, Unverträglichkeiten und Therapieversagern an ihre Grenzen. Auch der Einsatz von Impfstoffen blieb bislang ohne den erwünschten Erfolg, da sich mit den vorhandenen, bisher nur experimentell erprobten DNA-Vakzinen nur eine unzureichende und kurzzeitige Immunität erreichen lässt. Daher sind sowohl auf dem Gebiet der Therapie als auch bei der Prävention weitere umfangreiche Forschungen notwendig, um zufriedenstellende Ergebnisse zu erreichen.

Die strikte Einstufung der Psittakose als anzeigepflichtige Tierseuche mit den daraus resultierenden Vorgaben zur Bekämpfung sowie die Unterscheidung zwischen Psittakose und Ornithose entsprachen seit langem nicht mehr den aktuellen Erkenntnissen der Wissenschaft und wurden vielfach diskutiert. Nun ist der Gesetzgeber den Empfehlungen der Fachleute gefolgt und hat die aviäre Chlamydiose als meldepflichtig deklariert.

Die vorliegende Arbeit soll einen umfassenden Überblick über den historischen und den aktuellen Stand der Wissenschaft auf dem Gebiet der aviären Chlamydiose geben und ihren Stellenwert als Tierseuche kritisch betrachten.

In dieser Arbeit wird der Begriff „Chlamydiose“ immer dann verwendet, wenn generelle Erörterungen des Erregers und die davon ausgelösten Erkrankungen beschrieben werden. Die Begriffe „Psittakose“ und „Ornithose“ wurden beibehalten zur deutlicheren Unterscheidung der Erreger und Krankheitsformen bei Vögeln der Ordnung Psittaciformes und der Nicht-Psittaciformes.

2 *Chlamydia psittaci*

2.1 Historie der Psittakose

Zum ersten Mal wird die Psittakose, oder auch Papageienfieber genannt, Ende des 19. Jahrhunderts erwähnt. 1879 trat in der Schweiz bei sieben Menschen nach Kontakt mit südamerikanischen Papageien eine ungewöhnliche Form der Pneumonie auf (RITTER, 1880). Der Name „Psittakose“ stammt aus dem Jahr 1893, als die Übertragung eines Infektionserregers von Papageien auf Menschen mit grippeähnlichen Symptomen von Papageien auf Menschen beobachtet wurde (MORANGE, 1895).

Zu dieser Zeit war die Medizin noch geprägt von der Grundidee der Vier-Säfte-Lehre, die sich in unterschiedlichen Ausprägungen im 17. bis 19. Jahrhundert in iatrochemischen, iatrophysikalischen und iatrodynamischen Konzepten weiterentwickelte (KRÖNER, 2011). Gemeinsam war diesen Konzepten die Idee eines dynamischen Prinzips der Krankheiten, das als Verwandlung chemischer Stoffe, als sich bewegende Kräfte im Sinne einer Maschinentheorie oder als Wirken nicht-stofflich-materieller Kräfte verstanden wurde (KRÖNER, 2011). Die Iatromorphologie entstand als Folge der wachsenden Erkenntnisse der Anatomie und der Einführung des Mikroskops in die Medizin im 17. Jahrhundert und war geprägt durch ein verstärkt organzentriertes Denken mit einer zentralen Rolle des Herzens (KRÖNER, 2011). Rudolf Virchow (1821-1902) führte diesen Ansatz mit der Zellulärpathologie fort und ordnete den Sitz der Krankheiten den Zellen zu (lokalistische Krankheitsauffassung).

Erst in der zweiten Hälfte des 19. Jahrhunderts hielt die naturwissenschaftliche Sichtweise und Methodik, geprägt durch die zunehmenden Erkenntnisse der Physiologie und pathologischen Anatomie, Einzug in die Medizin. Wesentliche Unterstützung kam dabei auch aus der Bakteriologie in Form der Erregertheorie der Infektionskrankheiten von Louis Pasteur (1822-1895), deren Fortführung und Ausarbeitung in den Erregerpostulaten (Nachweisbarkeit, Eindeutigkeit, Isolierbarkeit, Züchtbarkeit, Überimpfbarkeit, Wiedergewinnbarkeit) von Robert Koch (1843-1910) mündete (KRÖNER, 2011). Abbildung 1 verdeutlicht die parallelen Entwicklungen, die zum Entstehen des modernen Krankheitskonzeptes beigetragen haben.

Auf dem Weg zu einem neuen Krankheitskonzept

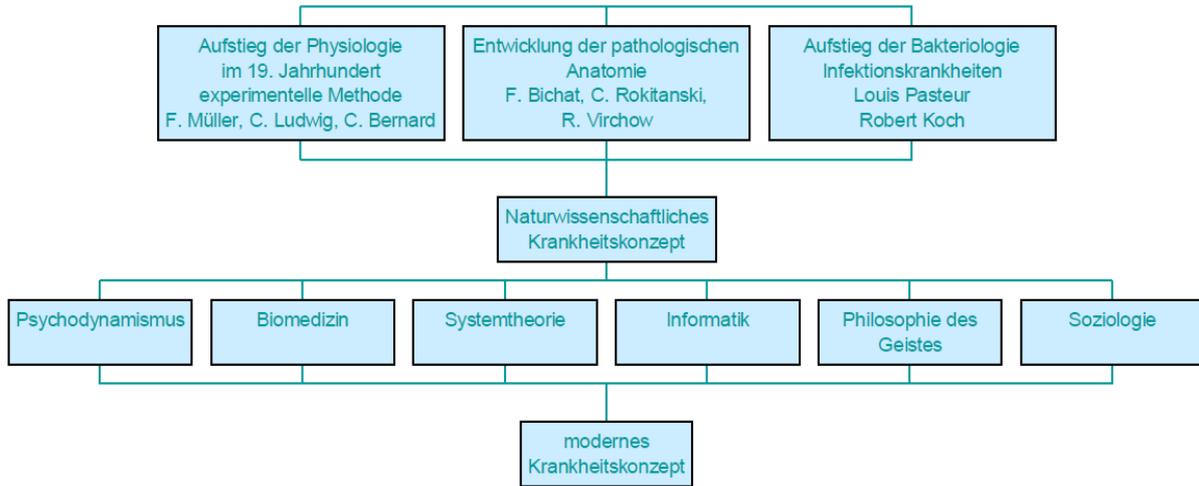


Abbildung 1: Entwicklung des modernen Krankheitskonzeptes, aus KRÖNER 2011

Historisch gesehen, darf als erste Beschreibung der Symptome der Papageienkrankheit beim Menschen und deren möglicher epidemiologischer Bezug zur Haltung von Papageien in der Publikation von J. RITTER (1879) angesehen werden. RITTER beschrieb unter dem Titel *Über Pneumotypus, eine Hausepidemie in Uster*, einem Ort in der Schweiz, eine Endemie, bei der 3 Wochen nach Eintreffen exotischer Vögel sieben Personen einer Familie erkrankten und drei davon starben. Diese Publikation erschien im Deutschen Archiv für klinische Medizin **25**, 23-66 (1879). In den folgenden Jahren bis 1929 wurden nur einzelne Berichte publiziert, die als kasuistische Publikationen über Erkrankungsfälle bei Mensch und Papagei aufzufassen sind. In den Zeitraum 1890 bis 1899 fallen die Endemien in mehreren zentraleuropäischen Ländern, was zu einem leichten Anstieg der Veröffentlichungen Anlass gab. Erst ab 1930 stieg die Zahl der Veröffentlichungen dramatisch an (Tabelle 1). Wiederrum standen viele Beschreibungen klinischer Fälle beim Menschen im Vordergrund. Hinzu traten erste Versuche zum misslungenen Erregernachweis sowie zu den ebenfalls völlig misslungenen Versuchen zur Therapie erkrankter Menschen.

Professor E. HAAGEN, damaliger Abteilungsleiter im Robert-Koch-Institut, Berlin, publizierte 1939 eine Übersicht zur Papageienkrankheit (Psittakose) im

Handbuch der Viruskrankheiten mit besonderer Berücksichtigung ihrer experimentellen Erforschung, das von den Professoren E. GILDEMEISTER, E. HAAGEN und OTTO WALDMANN herausgegeben wurde und im Verlag von Gustav Fischer in Jena erschien. HAAGEN fügte seiner Monographie (Zweiter Band, S. 1-24) eine umfangreiche Liste mit 254 Publikationen an, die bis 1939 in englischer, französischer und deutscher Sprache erschienen bzw. ihm damals zugänglich waren.

Aus der Chronologie der zitierten 254 Publikationen ergibt sich nicht nur ein Einblick in die wissenschaftliche Publikationsfrequenz jener Zeit. Indirekt lässt sich ein Bezug zu Zahl und Schwere der Erkrankungen beim Menschen ablesen, die folglich zu vermehrten Publikationen führten aber hier nicht im Einzelnen referiert werden.

Tabelle 1: Übersicht zur Zahl wissenschaftlicher Publikationen über die Psittakose im Zeitraum von 1879 bis 1939 (Zahlen aus HAAGEN, 1939)

Zeitraum der Publikationen	Zahl der von Haagen (1939) zitierten Publikationen
bis 1879	2
1880 – 1889	6
1890 – 1899	14
1900 – 1909	3
1910 – 1919	6
1920 – 1929	8
1930 – 1934	170
1935 – 1939	44
Summe	254

Zunächst ordnete man die Chlamydien aufgrund ihrer Form und Größe in die Gruppe der Protozoen ein, später bezeichnete man sie als Viren, da eine kulturelle Anzucht im Labor auf künstlichen Nährböden nicht möglich war. Wegen der Ähnlichkeit mit dem Erreger des Lymphogranuloma venerum (LGV) fassten BEDSON et al. (1930) beide Organismen in der Psittakose-LGV-Gruppe zusammen und beschrieben erstmals den biphasischen Entwicklungszyklus dieser „Viren“. Mit der Entwicklung der Elektronenmikroskopie (das erste brauchbare Elektronenmikroskop wurde 1939 von Ernst Kruska, Mitarbeiter der Fa. Siemens in Berlin, gebaut) und deren diagnostischem Einsatz Mitte der sechziger Jahre wurde klar, dass es sich bei den Chlamydien nicht um Viren, sondern um Bakterien handeln muss. Gemeinsam mit dem Agens der Trachoma-

Infektion wurde *Chlamydia psittaci* in die Psittakose-LGV-Trachoma-Gruppe eingepordnet. PAGE (1966) führte schließlich die Gattung *Chlamydia* ein.

Im Folgenden soll die Erforschungsgeschichte chronologisch dargestellt werden.

Wegen der lange Zeit fortbestehenden Unklarheiten bei der Zuordnung des Erregers wurden zahlreiche Namen sowohl für die vorläufige Bezeichnung der Krankheit als auch des Erregers empfohlen, später von anderen Autoren verworfen und durch neue Namen ersetzt. Nachfolgend wird ein Rückblick auf die in der auffindbaren und (fremd-) sprachlich zugänglichen Fachliteratur vorhandenen Namen gegeben (Seite 16, Tabelle 5). Hierdurch sollen Verwechslungen mit anderen Krankheiten / Erregern vermieden und eine eindeutige Zuordnung der Befunde zur Chlamydiose bzw. zum Erreger angestrebt werden.

Die ersten Beschreibungen enthalten Benennungen für eine offenbar neue, bisher in Europa unbekannte Krankheit. Dem folgen zahlreiche weitere Bezeichnungen für die Erreger und Krankheitsformen.

2.1.1 Die Anfänge der Psittakoserecherche

Erste schriftliche Verweise auf mögliche Psittakose-bedingte Erkrankungen reichen bis in den Anfang des 16. Jahrhunderts. Hierzu zählen Reiseberichte spanischer und portugiesischer Forscher, die ausführlich von WINKLE (2000) referiert wurden. Auch in den umfangreichen Mitteilungen des Forschungsreisenden Alexander von Humboldt finden sich Beschreibungen von Krankheitsverläufen bei der einheimischen Bevölkerung, die auf eine Psittakose schließen lassen (HAAGEN, 1939). Man hatte bereits damals in Europa beobachtet, dass Erkrankungen ein bis zwei Wochen nach direktem oder indirektem Kontakt mit südamerikanischen Sittichen und Papageien auftraten (HAAGEN, 1939). Aus Brasilien stammen die ersten Berichte über die Psittakose und einer bis dato noch unbekannten neuen Krankheit (PACHECO und BIER, 1931). In Europa und in Nordamerika trat die Erkrankung meistens dann auf, wenn das ökologische Gleichgewicht in den Heimatländern und nach dem internationalen Transport der Vögel zwischen Wirt und Erreger verschoben worden ist.

Die ersten Krankheitsfälle in Europa und Nordamerika wurden nach 1875 beobachtet, aber zunächst noch nicht mit importierten Papageien und Sittichen in direkte Verbindung gebracht. Der zeitliche Beginn dieser Krankheitsfälle ist kein reiner Zufall. In der zweiten Hälfte des 19. Jahrhunderts ermöglichte der wachsende Wohlstand eines beachtlichen Teils der europäischen Bevölkerung die Beschaffung teurer und exotischer Vögel aus dem Ausland. Dies wurde erst möglich, nachdem die Reisegeschwindigkeit der neuen Dampfschiffe nun deutlich höher war im Vergleich zu den bisherigen Segelschiffen, was auch den transkontinentalen Transport sensibler Vögel in relativ kurzer Zeit gestattete. Zudem war es Mode des affluenten Bürgertums geworden, prächtige Papageien in ihren Domizilen und Parkanlagen öffentlich zur Schau zu stellen.

Tabelle 2: Übersicht zu den ersten Fällen der Psittakose beim Menschen

Jahr der Erkrankung	Ort, Land	Quellen, Wege der Übertragung	Zahl d. Fälle bei Menschen		Literaturquelle
			krank	gestorben	
Vor 1879	Südamerika	Kontakte zu Papageien	Mehrere Epi- und Enzootien bei Einheimischen		Haagen, 1939; Winkle, 2000
1879	Uster, CH	Kontakte zu Papageien	7	3	Ritter, 1879
1882	Bern, CH	Kontakte zu Papageien	4	2	Ost, 1883
1892/93	Paris, F	Kontakte zu Papageien	49 70	16 24	Haagen, 1939; Peter, 1892
1909	Zülpich, Rheinland	Federstaub von Wellensittichen	26	5	Bachem et al., 1910
1929	Cordoba, Argentinien	Kontakte zu Papageien	800	?	Barros, 1930
1929	Hamburg, Berlin u.a.	Kontakte zu Papageien, Laborinfektion	215	45	Elkeles & Barros, 1931
1929/30	USA, Kanada	Kontakte zu Papageien. Sektionen toter Papageien	198	40	McCoy, 1930; Meyer & Eddie, 1935

Erst nach den Psittakose-Enzootien in Bern (1882) und Paris (1892/93) wurde seitens der Ärzteschaft eine kausale Beziehung zwischen der Haltung kürzlich

erworbener Papageien und den Erkrankungen der Kontaktpersonen vermutet. Diese zunächst vage und nicht von allen Ärzten und schon gar nicht von den Vogelfreunden akzeptierte Annahme wurde in den nachfolgenden Jahren durch weitere intrafamiliäre Enzootien bestätigt, weil das „Papageienfieber“ regelmäßig mit der Haltung zunächst gesund erscheinender und nachfolgend erkrankter und gestorbener Papageien und Sittiche assoziiert werden konnte. Tabelle 2 vermittelt eine Übersicht zu den ersten Enzootien in Europa und Nordamerika bis zum Jahr 1930.

Das wiederholte Auftreten der nunmehr offensichtlichen kausalen Zusammenhänge zwischen vor kurzer Zeit erworbenen Papageien und schweren Erkrankungen bei Kontaktpersonen veranlasste erste wissenschaftliche Studien zur Epidemiologie und Ätiologie der Psittakose. Tabelle 3 gibt einen Überblick über die ersten, noch irrtumsbehafteten Schritte bei der Erforschung der Psittakose (nach KREBSZ, 1995).

Tabelle 3: Frühe Phasen bei der Erforschung der Psittakose

1874	Theodor von Jürgensen	„Kruppöse Pneumonie, Katarrhalpneumonie“ in „Handbuch der speciellen Pathologie und Therapie“, Hugo Wilhelm von Ziemssen	1. Beschreibung des klinischen Bildes als Pneumotyphus (bzw. Mycose bei Tieren): typhoide oder asthenische, adynamische, nervöse Pneumonie ohne das für Lungenentzündungen charakteristische Sputum; früh zentralnervöse Symptome, häufig auch Pleuritis, Ikterus und Albuminurie sowie Splenomegalie; Auftreten bei verminderter Widerstandsfähigkeit
1874		„Medical Times and Gazette“	Sumpfgas-Pneumonie (sewergas pneumonia)
1875	Alexander Wynter-Blyth	„A dictionary of hygiene and public health“	Die Pneumonie wird als Epidemie von Mensch zu Mensch übertragen => „zymotische Infektion“
1875	Thomas Grimshaw, James Moore	„Manual of public health for Ireland“	Sahen in einer fieberhaften Pneumonie, die 1875 in Dublin grassierte, Ähnlichkeit mit Typhus (<i>pythogenic pneumonia</i>) => als ätiologische Faktoren vermuteten die Autoren die Temperatur und Feuchtigkeit der Luft sowie die Häufigkeit der Regenfälle
1878	Adolf Kühn	„Deutsches Archiv	„Die contagiöse Pneumonie“: Be-

		für klinische Medizin“	richt über eine Pneumonie-Epidemie in einem Moringer Gefängnis 1875; Autor vermutet schlechte Luft in überfüllten Zellen und hygienische Misstände als Ursache
1879	Jakob Ritter	„Beitrag zur Frage des Pneumotyphus. Eine Hausepidemie in Uster (Schweiz) betreffend“	Beschreibt erstmals die für Psittakose typischen klinischen Symptome, die Epidemiologie (Erregereintrag durch Käfige) sowie pathologische Befunde; erkennt erstmals Papageien als Quelle / Überträger und nennt eine genaue Inkubationszeit
1880	August Hirsch	„Handbuch der historisch-pathologischen Anatomie“	Fasst geografische, klimatologische und historische Studien zusammen: Er beschreibt eine typhoide Pleuropneumonie mit gastrisch-biliöser Beteiligung bis hin zu Delirien und Sopor; pathologisch fallen ein pleuratisches Exsudat sowie eine Hepatisation der Lunge auf
1880	Karl-Joseph Eberth	„Die Organismen in den Organen bei Typhus abdominalis“ In: Virchows Archiv f. path. Anatomie	Sektionsbericht eines Papageis: Mikrokokken in den Darmzotten, die sich auf Leber und Lunge ausbreiten; Embolien in vielen Organen
1883	Max Wolff	„Handbuch der pathogenen Mikroorganismen“	Eine „tierische Mycose von hohem allgemeinen Interesse auch für menschliche Verhältnisse“ Nur 5 % von jährlich 7.000-8.000 importierten Graupapageien überlebten; Hohe Sterblichkeit seit 10-12 Jahren bekannt; Kurz nach der Ankunft der Papageien Inappetenz bis Nahrungsverweigerung, Durchfall, Apathie, Konvulsion; Tod nach 8-21 Tagen; Sektion: derbe, grauweiße, miliare Knoten in Leber, Milz, Niere, Lunge => Übereinstimmung mit den Befunden Eberths In den Knoten „Mikrokokken des Psittacus erithacus“; auffallend ist, dass um die Knoten keine entzündlichen Prozesse bestehen Ursachen: schlechte Hygiene während des Transportes => „Inhalationsmycose“ WOLFF beschrieb die Ätiologie und

			die klinischen Symptome der Psittakose, erkannte die Gefahr der Übertragung auf den Menschen, schlug vorbeugende hygienische Maßnahmen vor und empfahl eine Prophylaxe
--	--	--	--

2.1.2 Die Erforschungsgeschichte des Erregers

- Erregersuche nach den Pariser Epidemien 1892 – 1896

Die Pariser Psittakose-Epidemie 1892 bis 1896 führte zu einer Vielzahl bakteriologischer Untersuchungsbefunde auf der Suche nach dem Erreger. Dabei kam es verschiedentlich zum Nachweis eines „*Diplococcus pneumoniae*“ aus dem Sputum bzw. Lungeninfiltraten von an Psittakose Erkrankten.

- Der Nocard'sche *Bacillus psittacosis*

Edmond NOCARD (1850-1903) isolierte kurze, dicke, bewegliche Stäbchen aus den Flügelknochen eines verendeten Papageis, die hochpathogen für Papageien, Tauben, Mäuse und Kaninchen waren, sich nicht gramfärben ließen und sich auf festen sowie flüssigen Nährböden sowohl aerob als auch anaerob vermehrten (NOCARD, 1883).

Dieses „*Bacterium psittacosis*“ galt lange als ursächliches Agens der Pariser Epidemien, wurde aber später als *Salmonella typhimurium* identifiziert (DAVID, 1931; MACNABB, 1941).

Viele Autoren sahen später im „Nocard'schen Bacillus“ ein wesentliches Hindernis für die weitere Psittakoseforschung (BRANHAM et al., 1930; GILLESPIE and TIMONEY, 1988; KREBSZ, 1995), weil mit den damals verfügbaren bakteriologischen Methoden vielerorts nach kultivierbaren Bakterien, nicht aber nach anderen nicht mit der bakteriologischen Technik nachweisbaren Erregern der Psittakose gesucht worden ist.

- Psittakose: eine Streptokokkeninfektion

Anlass war die Psittakose-Epidemie in Zülpich 1909. Hugo SELTER und Dittmar FINKLER wiesen Massen von Streptokokken im Lungengewebe infizierter Menschen und Wellensittiche (Infektionsquelle) nach und vermuteten eine Übertragung durch das „Spucken“ der Vögel, weil auf deren Rachenschleimhaut der Erreger sitzt.

- Die Entdeckung des Psittakoseerregers

Die eigentliche Entdeckung des Psittakoseerregers gelang 1930 unabhängig voneinander durch Walter LEVINTHAL in Berlin, Alfred C. COLES in England sowie Ralph D. LILLIE in den USA mit dem Nachweis filtrierbarer, sowohl extrazellulär als auch intrazellulär gelegener, kokkoider Gebilde von 0,2-0,4 µm Größe. Zu Ehren der Entdecker wurden die Kokken LCL-Körperchen genannt und den Rickettsien zugeordnet. Zwei Jahre später konnten Samuel P. BEDSON und J. O. W. BLAND (1932) in Australien den Entwicklungszyklus der Erreger entschlüsseln (Abbildung 2).

1935 entwickelten verschiedene Forschergruppen Nachweismethoden zur Diagnose der Psittakose. Der direkte Nachweis gelang T. M. RIVERS und G. P. BERRY (1935) im Mäuseversuch und F. M. BURNET und P. M. ROUNTREE (1935) in Hühnerembryonen. Für den indirekten Erregernachweis nutzte S. P. BEDSON die Komplementbindungsreaktion (1935).

J. O. W. BLAND und R. G. CANTI (1935) identifizierten schließlich in Gewebekulturen von Hühnerembryonen fünf morphologische Stadien der Bakterien während eines Entwicklungszyklus von etwa 48 h (KREBSZ, 1995).

Eine Bestätigung und wesentliche Erweiterung der bisherigen Erkenntnisse ermöglichte die Betrachtung der Bakterien durch das Elektronenmikroskop, das 1931 von Ernst RUSKA (1906-1988) und Max KNOLL in Berlin entwickelt und 1939 von der Firma Siemens erstmals kommerziell in den Handel gebracht wurde. Es konnten nun zwei morphologisch unterschiedliche Entwicklungsformen mit diversen Zwischenstadien differenziert werden (ARMSTRONG et al., 1963; KAJIMA et al., 1964; HIGASHI, 1965). Zum einen fand man kleine Zellen von 0,3 µm Durchmesser, die mit den Einschlusskörperchen gleichzu-

setzen sind, zum anderen 0,5 – 1,0 µm große Zellen, die den Retikularkörperchen entsprachen. Beide Zellformen enthielten sowohl DNS als auch RNS. Dies sowie die Vermehrungs- und Teilungsfähigkeit und das Vorhandensein von Stoffwechsellenzymen veranlasste 1964 James W. MOULDER, die bis dahin vorherrschende Meinung, es handle sich bei dem Psittakoseerreger um ein Virus, zu revidieren und von „parasitären Bakterien“ zu sprechen (KREBSZ, 1995).

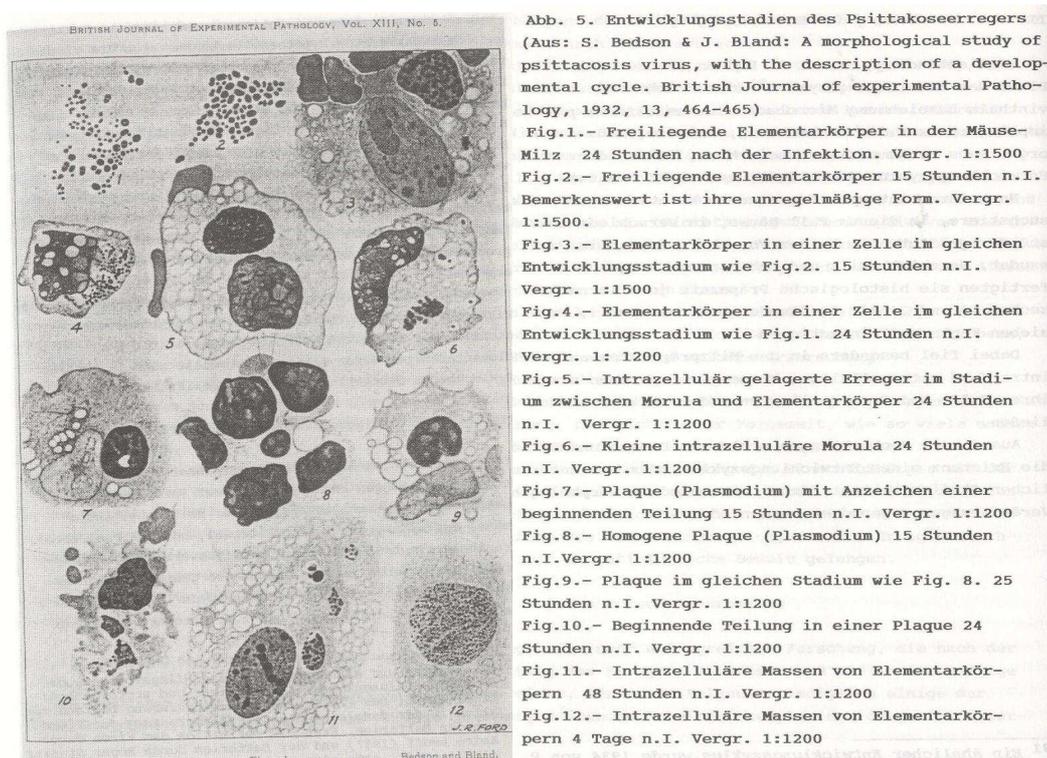


Abbildung 2: Entwicklungsstadien des Psittakoseerregers (aus: S. BEDSON und J. BLAND, 1932)

Auf der Basis der neuen Erkenntnisse zur Ätiologie und damit zur Nachweisbarkeit des Erregers wurden im Robert-Koch-Institut Berlin umfangreiche Untersuchungen an Papageien und anderen Vögeln durchgeführt. Tabelle 4 gibt einen Einblick in die Untersuchungsfrequenz und die Nachweisraten bei verschiedenen Vogelarten bzw. Vogelgruppen, die von HAAGEN (1939) publiziert wurden.

Tabelle 4: Im Robert Koch-Institut in Berlin in den Jahren 1935/36 und 1936/37 auf Psittakose untersuchte und als infiziert erkannte Vögel (Quelle: Haagen, 1939)

Vogelart Vogelgruppe	Zahl untersuchter Vögel	Zahl infizierter Vögel	Anteil pos. Vögel in %
Sittiche	1.571	305	19,4
Papageien	42	20	47,6
Exotische Finken	61	3	4,9
Kanarienvögel	112	0	0
Einheimische Vögel	31	4*	12,9

* 1 Kohlmeise, 3 Zeisige

Bemerkenswert ist an diesen Ergebnissen die hohe Zahl infizierter Papageien im Vergleich zu den Infektionsraten bei den anderen untersuchten Vögeln. Auch eine Kohlmeise wurde als Träger des Psittakose-Erregers erkannt. Dies ist ein Befund, der erst im Jahr 1996 durch Heike Anna-Maria Holzinger im Rahmen ihrer Giessener Dissertation bestätigt werden konnte.

Tabelle 5 gibt einen Überblick über die im Laufe der Zeit in der Literatur verwendeten Bezeichnungen der Chlamydiose und ihrer Erreger.

Tabelle 5: In der Literatur verwendete Namen für die Chlamydiose und ihre Erreger

Name der Krankheit	Name des Erregers	Quelle
Kruppöse Pneumonie, Katarrhalpneumonie	Ohne	Theodor von Jürgensen, 1874
Sumpfgas-Pneumonie	Ohne	Medical Times and Gazette
Contagiöse Pneumonie	Ohne	Adolf Kühn, 1878
Papageienfieber, Pneumothypus	Ohne	Jakob Ritter, 1879
(Pneumo-)Typhus	Mikrokokken	Karl-Joseph Eberth, 1880
Mycose	Mikrokokken des <i>Psittacus erithacus</i>	Max Wolff, 1883
Psittakose	<i>Diplococcus pneumoniae</i>	Morange, 1895
Psittakose	Nocard'scher Bacillus, <i>Bacterium psittacosis</i>	Edmond Nocard, 1895
Psittakose	Streptokokken	Selter und Finkler, 1909
Psittakose	LCL-Körperchen, Rickettsien	Levinthal, Coles, Lillie, 1930

Der Name *Chlamydia* tauchte in der Literatur erstmalig 1945 auf, man ordnete die *Chlamydiae* jedoch der Gruppe der Rickettsien zu (LILLIE, 1930). Erst 1966 fasste L. PAGE die Erreger der sog. PLT-Gruppe (Psittakosis-Lymphogranulomatosis-Trachoma) in der Gattung *Chlamydia* zusammen, die zur Familie der Chlamydiaceae in der Ordnung Chlamydiales gerechnet wurden. Innerhalb dieser Gattung gab es zunächst zwei Spezies, *C. trachomatis* und *C. psittaci*, in den Neunzigern kamen dann die Spezies *C. pneumoniae* (GRAYSTON et al., 1989) und *C. pecorum* (FUKUSHI und HIRAI, 1992) dazu.

Diese Taxonomie blieb relativ unangetastet, bis 1988 COX et al. (1988) zeigten, dass mittels DNA-DNA-Reassoziationsstudien noch mehr verschiedene Chlamydien-Spezies voneinander unterschieden werden können. Zusammen mit den Analysen der Forschergruppe um FUKUSHI und HIRAI (1989) legten die Ergebnisse von COX et al. (1988) nahe, dass zu den *Chlamydiaceae* insgesamt vier Genera und acht Spezies gehören.

Die bisher gültige Klassifikation von COX et al. (1988) wurde durch die Publikation von EVERETT et al. aus dem Jahr 1999 umgestoßen. Auf Grundlage der Unterschiede des Phänotyps sowie der 16S und 23S rRNA-Gene teilten EVERETT et al. (1999) die Ordnung Chlamydiales in vier Familien, die Parachlamydiaceae, Simkaniaceae, Waddliaceae und die Chlamydiaceae auf. Die bis dahin über 60 bekannten Isolate der Familie Chlamydiaceae wurden in zwei Gattungen, *Chlamydia* und *Chlamydophila*, und diese in neun Spezies gruppiert. Alle Spezies können mit monoklonalen Antikörpern (mABs), die gegen die LPS-Trisaccharidepitope α Kdo-(2→8)- α Kdo-(2→4)- α Kdo gerichtet sind, detektiert werden.

Die Gattung *Chlamydia* (C.) umfasste die drei Spezies *C. trachomatis*, *C. muridarum* und *C. suis*, zur Gattung *Chlamydophila* (Chl.) gehörten *Chl. psittaci*, *Chl. abortus*, *Chl. caviae*, *Chl. felis*, *Chl. pneumoniae* sowie *Chl. pecorum*.

Die von KARIN D. E. EVERETT et al. (1999) publizierte Bildung von zwei Genera, *Chlamydia* und *Chlamydophila*, und die neue Namensgebung mit der von diesen Autoren erdachten neuen Genusbezeichnung *Chlamydophila* fand weder in der Veterinärmedizin noch in der Humanmedizin grundsätzliche Zustimmung und allgemeine Anwendung.

Chlamydophila bereits zurückgenommen. Zur Ordnung der Chlamydiales gehören nun insgesamt acht Familien, deren 16S RNA-Sequenz 80-90 % Ähnlichkeit miteinander aufweist.

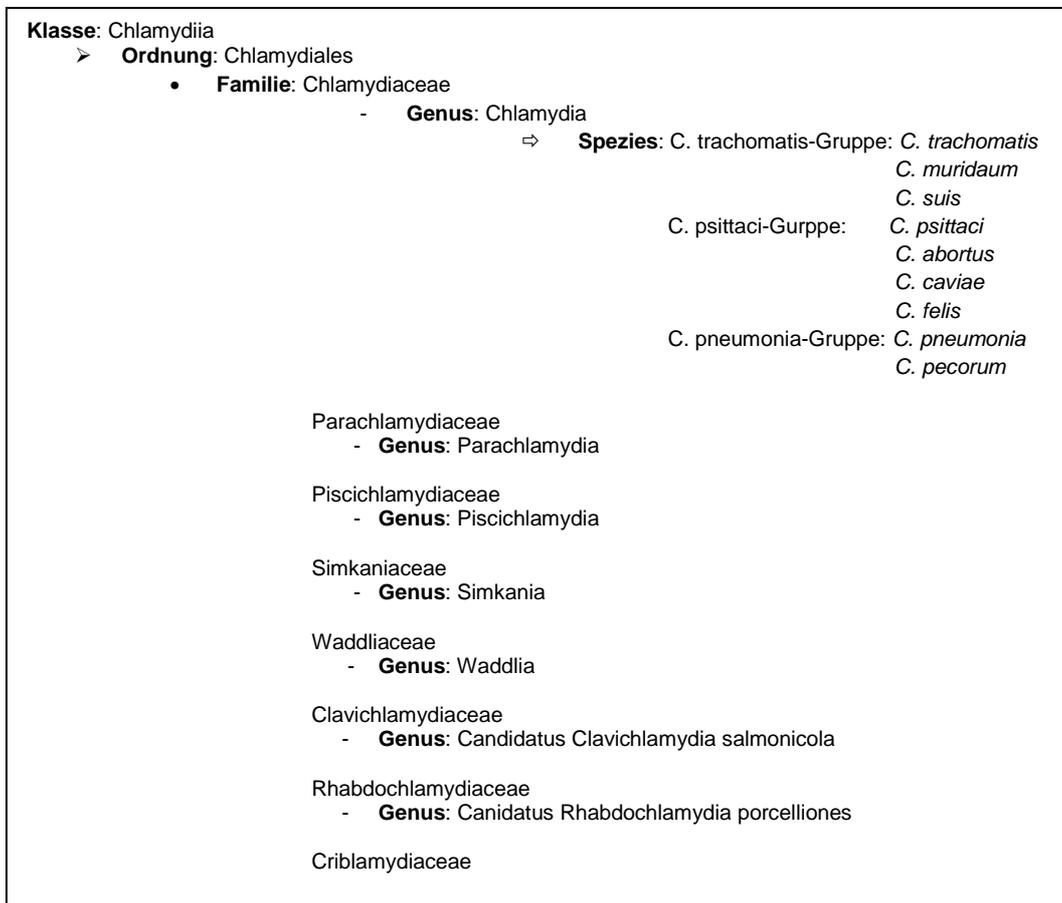


Abbildung 4: Neue Taxonomie der Klasse Chlamydia (nach KRIEG et al., 2011)

In der Familie der Chlamydiaceae findet sich nur noch das Genus *Chlamydia* mit neun Spezies, die in drei Gruppen zusammengefasst werden. In der „*C. trachomatis*-Gruppe“ befinden sich die Spezies *C. trachomatis* mit den drei Biovaren „Ocular“, „Genital“ und „LGV“, *C. muridarum* und *C. suis*. Die „*C. psittaci*-Gruppe“ umfasst die Spezies *C. psittaci*, *C. abortus*, *C. caviae* und *C. felis*. Zur letzten Gruppe, der „*C. pneumonia*-Gruppe“ gehören die Spezies *C. pneumoniae* mit den Biovaren „Human“, „Koala“ und „Equine“ sowie *C. pecorum*. Eine Übersicht der aktuellen, heute international akzeptierten und verwendeten Taxonomie ist Abbildung 4 zu entnehmen.

2.2 Taxonomische Struktur der Spezies von *Chlamydia psittaci*

Die Spezies *Chlamydia psittaci* enthält acht Serovare, von denen sechs (A-F) primär Vögel als Wirtstiere haben, während die Serovare WC und M56 Säugtiere infizieren. Die Unterscheidung der Serovare erfolgt mit Hilfe monoklonaler Antikörper. Eine weitere Klassifizierung basiert auf der Analyse des *ompA*-Gens, das für das Hauptmembranprotein MOMP (major outer membrane protein, s.u.) kodiert, und führt zu neun Genotypen. VANROMPAY et al. (1997) konnten durch einen Vergleich von Serotypisierung und PCR-RFLP zeigen, dass die Serotypen genetische Äquivalente in den entsprechenden Genotypen haben. Tabelle 6 gibt einen Überblick über die Genotypen und ihr hauptsächliches Wirtsspektrum (ANDERSEN, 1991; SACHSE et al., 2008). Die meisten der aviären Genotypen werden jedoch auch aus den Menschen isoliert.

Tabelle 6: Genotypen und Wirte (ANDERSEN, 1991; SACHSE et al., 2008)

Genotyp	Hauptsächlichliche Wirte
Genotyp A	Psittaziden
Genotyp B	Tauben
Genotyp C	Enten und Gänse
Genotyp D	Puten
Genotyp E	Tauben, Laufvögel, Enten, Puten
Genotyp F	Sittiche, Puten
Genotyp E/B	Enten
Genotyp WC	Rinder
Genotyp M56	Ratten

Die obige Einteilung basiert auf der Analyse mittels PCR-RFLP, die jedoch keine genetisch abweichenden neuen Isolate detektieren kann. Von BÖNNER (2006) wurden aus kommerziell gehaltenen Pekingenten mehrfach in HELA-Zellkulturen Chlamydien isoliert und zur weiteren Differenzierung an Frau Professor Daisy Vanrompay, Gent, Belgien, geschickt.

Dort konnten GEENS et al. (2005) in dem Isolat von Frau Dr. Bönner einen neuen Genotyp durch Sequenzierung der *ompA*-Gene entdecken, der als E/B

bezeichnet wurde. Zur Absicherung dieser Befunde wurde das E/B-Isolat mit einem Referenzstamm verglichen, da Genotyp-spezifische Bereiche in den variablen Domänen (VD) VD2 und VD4 lokalisiert sind.

SACHSE et al. (2008b) verglichen die *ompA*-Sequenzen verschiedener Einträge in der NCBI-Datenbank (National Center for Biotechnology Information) und fanden 63 Variationen, die zum Teil anderen *Chlamydia*-Spezies ähnlicher waren als einem der bisherigen Genotypen von *C. psittaci*. Mit Hilfe der DNA-Microarray-Technologie (siehe Kapitel „Diagnose“) konnten zwölf verschiedene Typen identifiziert werden, von denen nur fünf (C, D, F, M56, WC) einem bisher bekannten Genotyp direkt zugeordnet werden konnten. Des Weiteren beschreiben die Autoren eine ABE-Gruppe, die die nahe verwandten Genotypen A, B, E und E/B umfasst, deren *ompA*-Sequenzen über 98 % Ähnlichkeit aufweisen (SACHSE et al., 2008b). Zwischen den Genotype B, E und E/B beträgt die Homologie sogar 99,4 %. Die Genotypen C, D und F sind deutlich voneinander und von der ABE-Gruppe getrennt, wobei Genotyp F einen Nebenzweig von *C. abortus* darzustellen scheint. Mehrere Isolate konnten jedoch keinem bisher bekannten Genotyp zugewiesen werden, weil sie sich in deutlichem genetischem Abstand zu diesen befinden. SACHSE et al. (2008b) identifizierten insgesamt zwanzig individuelle Stämme mit einer jeweils eigenen *ompA*-Sequenz. Dennoch schlagen die Autoren vor, die bisherige Klassifikation und Nomenklatur im Grundsatz beizubehalten, jedoch einige Korrekturen und Ergänzungen vorzunehmen.

SACHSE et al. (2008b) empfehlen folgende zukünftige Vorgehensweise:

- Die Mehrheit der Isolate aus klinischen Proben der Vögel scheint zur ABE-Gruppe zu gehören. Der kleinere Anteil untypisierter Isolate stellt nur einen geringen Prozentsatz natürlich vorkommender Isolate dar.
- Jeder Genotyp sollte durch einen repräsentativen Referenzstamm und dessen kompletter *ompA*-Sequenz definiert werden. *OmpA* kodiert für das Hauptproteinantigen der Chlamydien und schon minimale Sequenzvariationen werden in andere Aminosäuren translatiert. Diese Unterschiede sind wesentlich im Hinblick auf Immunogenität, Wirtspräferenz, Virulenz und epidemiologischer Bedeutung. Deswegen sollen die bisherigen Genotypen beibehalten und durch die ABE-Gruppe ergänzt werden.

- Nicht typisierte Isolate sollten provisorische Genotypen werden, bis ihre epidemiologische Relevanz und ihr taxonomischer Status geklärt worden sind. Um der intragenotypischen Varianz Rechnung zu tragen, schlagen SACHSE et al. (2008b) außerdem vor, heterogene Genotypen wie A, E/B und D in Subgruppen zu unterteilen (siehe Tabelle 7).
- Das korrigierte Genotypschema sollte überprüft und neu bewertet werden, wenn eine ausreichend große Anzahl kompletter Genomsequenzen von *C. psittaci*-Isolaten verfügbar ist.

Tabelle 7: Identifikation von *C. psittaci*-Genotypen und Subgruppen basierend auf der Analyse publizierter *ompA*-Sequenzen (nach SACHSE et al., 2008b)

Genotype –Subgruppe	Stamm	GenBank Nr.
A-VS1	VS1, MN Zhang	AF269281
A-6BC	6BC	X56980.1
A-8455	84-55	Y16561.1
B	CP3	AF269265.1
C	GR9, avian type C	L25436.1
D-NJ1	NJ1	AF269266.1
D-9N	9N	EF375557.1
E	CPMN, EAE A22/M	X12647.1
EB-E30	WS/RT/E30	AY762613.1
EB-859	06-859/1	EU159263.1
EB-KKCP	KCP-1	AB284062.1
F	VS225	AF269259.1
M56	M56	AF269268.1
WC	WC	AF269269.1
IV*	IV	EF028916.1
6N*	6N	EF197820.1
Mat116*	Mat116	AB284058.1
R54*	R54	AJ243525.1
YP84*	Daruma-1981	AB284065.1
CPX0308*	CPX0308	AB284064.1

* provisorischer Genotyp

2.3 Infektionsbiologie der Chlamydien

2.3.1 Morphologie von *Chlamydia* spp.

Chlamydia spp. treten während ihrer Replikation in drei morphologischen Formen auf, dem Elementarkörper (EB), dem Retikularkörper (RB) und dem Intermediärkörper (IB).

Der EB ist ein kleiner, sphärischer Körper mit einem Durchmesser von 0,2 - 0,3 μm und einem elektronendichten Kern, der vom ebenfalls elektronendichten Zytoplasma deutlich getrennt ist (COSTERTON et al., 1976; HARKINEZHAD et al., 2008). Das Chromatin ist durch das H1-like Protein (HC-1) kondensiert. Es handelt sich beim EB um die infektiöse, in der Außenwelt recht stabile Form des Erregers, die sich an die Zielzelle heftet und von dieser durch Endozytose aufgenommen wird (HARKINEZHAD et al., 2008). Im Inneren der Wirtszelle kommt es daraufhin zu einer Größenzunahme und einer Dekondensation des Chromatins, so dass die metabolisch aktive Form, der Retikularkörper, entsteht. Dieser hat eine Größe von 0,5 - 2,0 μm , teilt sich binär und stellt die Vermehrungsstufe der Chlamydien dar. Die RBs reifen schließlich wieder zu neuen EBs heran, wobei eine Zwischenstufe, der Intermediärkörper, entsteht. Dieser ist mit einem Durchmesser von 0,3 - 1,0 μm kleiner als die RBs, besitzt einen zentralen, elektronendichten Kern, der von radial angeordneten Nukleoidfasern umgeben ist. In der Peripherie befinden sich eng gepackte zytoplasmatische Granula, die durch eine transparente Zone deutlich vom Kern abgesetzt ist. Gegen Ende des Entwicklungszyklus treten gering- und hochgradig kondensierte EBs auf (VANROMPAY et al., 1996). Unreife, noch wenig kondensierte EBs weisen fibrinöse Fasern auf, die durch das granuläre Zytoplasma in Richtung Kern ziehen, während reife EBs ein homogenes ovoides, elongiertes oder irreguläres elektronendichtes Nukleotid besitzen, das deutlich von Zytoplasmaelementen getrennt ist.

Sowohl auf den EBs als auch auf den RBs konnten elektronenmikroskopisch Oberflächenprojektionen detektiert werden (MATSUMOTO et al., 1976; MATSUMOTO, 1982). Diese kuppel- und nadelähnlichen Fortsätze reichen in die Einschlussmembran der Wirtszelle. Es wird angenommen, dass sie der Freisetzung von Virulenzproteinen dienen.

2.3.2 Biochemische Eigenschaften und Färbung

Alle Chlamydien sind obligat intrazelluläre, kokkoide, Gram-negative Bakterien. Sie sind 0,2 -1,5 µm groß und besitzen eine Zellwand, jedoch ohne Peptidoglykan. Man kann sie mit Farbstoffen nach ZIEHL-NEELSEN (1882), GIEMSA (1904), LEVINTHAL (1930, Löfflers Methylenblau), CASTAÑEDA (1930), FEULGEN (1930), MACCHIAVELLO (1937), STAMP (1950), STARR et al. (Acridineorange, 1960) und GIMÉNEZ (1964), anfärben (Abbildung 5, Tabelle 8).

Auch wenn in allen Entwicklungsstadien der Chlamydien RNA und DNA nachgewiesen werden können, ist der Anteil RNA im Vergleich zur DNA in RBs deutlich größer als in EBs. Dies ist darauf zurückzuführen, dass die Retikularkörper als metabolisch aktive Form in der Lage sind, ihr eigene DNA, RNA sowie Proteine zu synthetisieren.

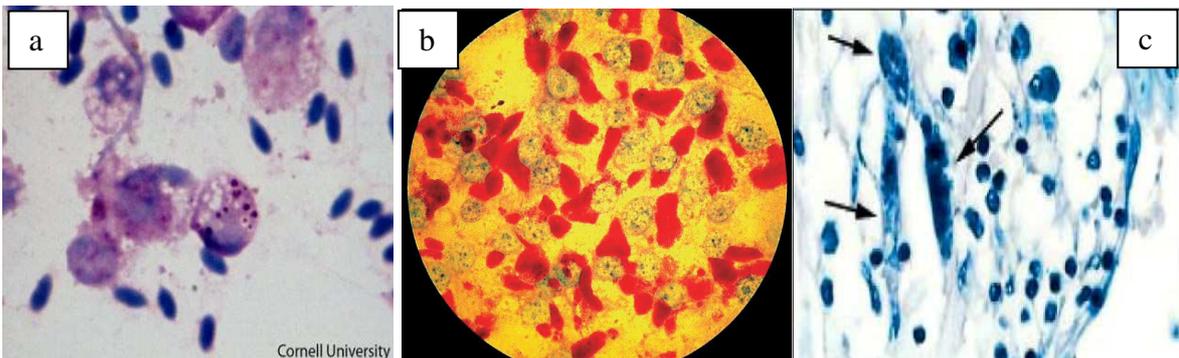


Abbildung 5: Beispiele für die tinktorische Darstellung der Einschlüsse von *Chlamydia psittaci*

a) nach Giemsa (<http://partnersah.vet.cornell.edu/avian-atlas/search/disease/488>)

b) nach Giménez (KINNDLE, 2007)

c) nach Macchivello (HIGUCHI et al., 2000)

Im Vergleich mit anderen Bakterien besitzen Chlamydien jedoch nur eingeschränkte metabolische Fähigkeiten, da sie über einen unvollständigen Pentosezyklus verfügen und im Trikarbonsäurezyklus kein Pyruvat nutzen können. Allerdings werden Pyruvat, Aspartat und Glutaminsäure katabolisiert und auf diese Weise CO₂ sowie 2- und 4-Karbonabkömmlinge generiert (ANDERSEN und VANROMPAY, 2003). Da Chlamydien demnach auf ihre Wirtszellen als Nukleotidquellen angewiesen sind, werden sie auch als Energieparasiten bezeichnet.

Tabelle 8: Beispiele für direkte Darstellung von Chlamydien mittels Färbung

Autor(en)	Jahr	Farbstoff	Farbe der Chlamydien	Farbe d. Zellkerne
Ziehl-Neelsen	1882	Karbolfuchsin	rot	dunkelrot
Giemsa	1904	Azur-Eosin-Methylenblau	bläulich-violett	rot
Levinthal	1930	Loeffler's Methylenblau	hellblau	dunkelblau
Castañeda	1930	Safranin	blau	rot
Feulgen	1930	Fuchsin	farblos /blau	rotviolett
Macchiavello	1937	Fuchsin Methylenblau	rot	dunkelblau
Stamp	1950	Karbolfuchsin Malachitgrün	grün	rot
Starr et al.	1960	Acridineorange	grün (Fluoreszenz)	grün (Fluoreszenz)
Giménez	1964	Karbolfuchsin Malachitgrün	grün	rot

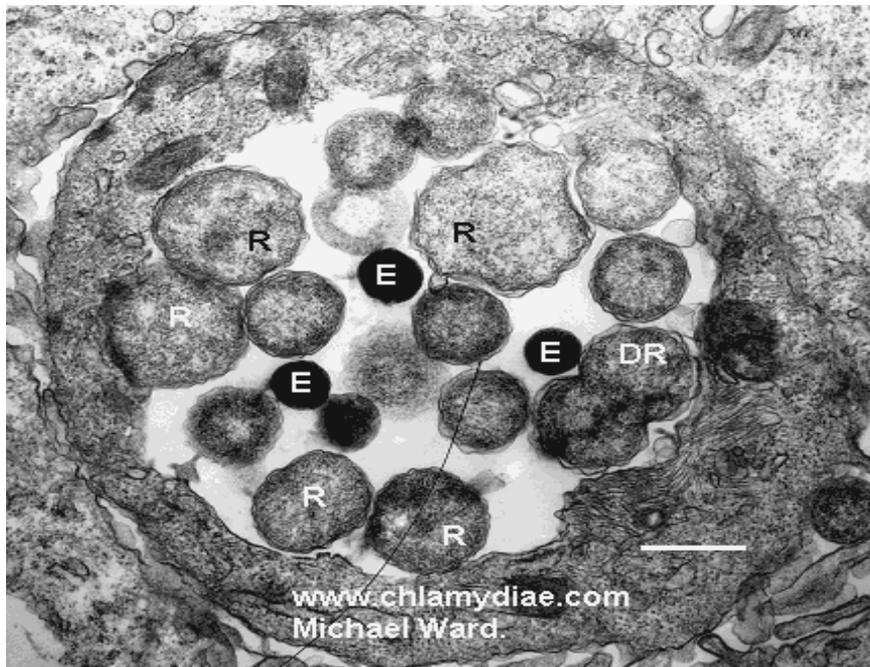


Abbildung 6: Elektronenmikroskopische Aufnahme von *Chlamydia psittaci*;

Balken entspricht 1000 nm

E = Elementarkörper, R = Retikularkörper, DR = Dividing reticulate body (www.chlamydiae.com/twiki/bin/view/Cell_Biology/BiologyOfRB)

2.3.3 Antigenstruktur und Toxine

Die Zahl der von Chlamydien synthetisierten Proteine ist noch nicht genau bekannt und nur wenige von ihnen sind bislang auf ihre antigene Bedeutung hin untersucht worden. Eines dieser Proteine ist das Cystein-reiche MOMP (major outer membrane protein), das mit einem Molekulargewicht von 40 kDA etwa 60 % der Masse der äußeren Membran ausmacht (EVERETT und HATCH, 1995; ANDERSEN und VANROMPAY, 2003). Die Tatsache, dass Antikörper gegen oberflächliche Epitope des MOMP zu einer gewissen Immunität gegenüber Chlamydien-Infektionen beitragen können, belegt die Bedeutung dieses Proteins für die Immunogenität. Das für das MOMP kodierende Gen, das *ompA* (auch *ompl*), enthält fünf konservierte und vier variable Sequenzregionen (VS1-VS4). Letztere kodieren für die variablen Proteindomänen VDI bis VDIV, die, abgesehen von VDIII, deutlich von der Bakterienmembran abstehen. Innerhalb der konservierten Regionen sowie innerhalb der VDIV-Domäne befinden sich Genus- und Spezies-spezifische antigene Determinanten, wohingegen Serovar-spezifische Determinanten in der VDI- und VDII-Region lokalisiert sind. Monoklonale Antikörper (mABs) gegen Serovar-spezifische Epitope können passiv die Pathogenität und Infektiosität einer Infektion neutralisieren und dienen auch der Diagnostik (VRETOU et al., 2001; ANDERSEN und VANROMPAY, 2003).

Ein weiteres bedeutsames Oberflächen-exponiertes Antigen ist ein Lipopolysaccharid (LPS), das sowohl auf EBs als auch auf RBs vorkommt. Mit einem Molekulargewicht von 10 kDA hat es chemische und serologische Ähnlichkeit mit dem LPS gram-negativer Enterobakterien, so dass bei der Diagnostik Kreuzreaktionen mit dem LPS von *Salmonella* spp. und *Acinetobacter* spp. auftreten können. Allerdings enthält das LPS der Chlamydien ein Trisaccharid aus 3-Deoxy-D-Manno-2-Oktulosensäure (Kdo) mit der Sequenz $\alpha\text{Kdo} (2 \rightarrow 8) - \alpha\text{Kdo} - (2 \rightarrow 4) - \alpha\text{Kdo}$, das nur von Angehörigen des Genus *Chlamydia* exprimiert wird und damit zur Identifikation der Familie Chlamydiaceae herangezogen werden kann (EVERETT und ANDERSEN, 1999b; ANDERSEN und VANROMPAY, 2003).

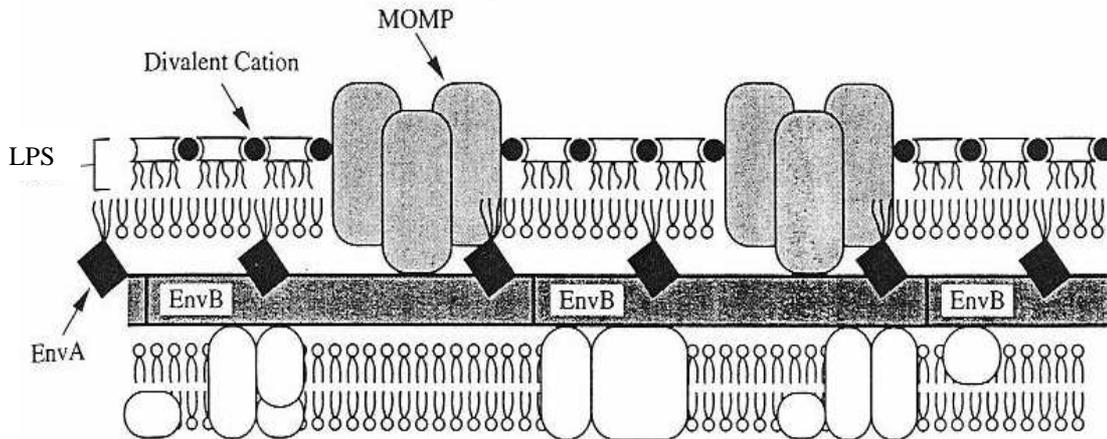


Abbildung 7: Schematische Darstellung des Wandaufbaus eines Elementarkörpers von *Chlamydia psittaci* 6BC (nach EVERETT und HATCH, 1995). In der äußeren Membran ist das MOMP als großes transmembranales Protein lokalisiert. LPS = Lipopolysaccharid; Env A, B = Envelope A, B (Strukturproteine)

Ein drittes antigenes Protein, das ebenfalls Kreuzreaktionen mit *Escherichia coli*, *Neisseria gonorrhoeae* und *Coxiella burnetii* hervorruft, ist das Cysteinreiche Hitzeschockprotein 60 (Hsp60) (MORRISON, 1991). Das Hsp60 bewirkt bei wiederholten Infektionen eine Hypersensitivitätsreaktion und scheint eine wesentliche Rolle bei der Narbenbildung nach *C. trachomatis*-Infektionen im Auge und im Reproduktionstrakt zu spielen (ANDERSEN und VANROMPAY, 2003).

Zu den Virulenzfaktoren gehören die OMPs (Outer Membrane Proteine), die als Adhäsine fungieren, Heparin-ähnliche Derivate (Adhäsine-heparinbindende Rezeptoren) sowie das LPS, dem eine Endotoxinwirkung zugeschrieben wird.

Spezifische Toxine konnten hingegen bislang bei Chlamydien nicht nachgewiesen werden (ANDERSEN und VANROMPAY, 2003).

2.3.4 Entwicklungszyklus und Tenazität

Chlamydien haben einen einheitlichen biphasischen Entwicklungszyklus (Abbildung 8), der sie deutlich von anderen intrazellulären Bakterien unterscheidet. Dabei findet ein Wechsel zwischen den metabolisch inaktiven EBs, die das Überleben außerhalb eines Wirtes sichern und die Infektion bewirken, und

den vegetativen RB und IB statt, die die Vermehrungsphase in der Wirtszelle darstellen.

Eine Infektion beginnt mit der Anheftung der EBs an die Mikrovilli der apikalen Oberfläche der Wirtszelle, gefolgt von einer oftmals Clathrin-abhängigen Rezeptor-vermittelten Endozytose (HARKINEZHAD et al., 2008). *In vitro* nutzen die EBs das Aktinzytoskelett der eukaryotischen Zelle für ihre Invasion. Nach der Internalisierung (1-3 h) aggregieren die Erreger in der Golgi-Region, die mit dem Mikrotubuli-organisierenden Zentrum (MOTC) korrespondiert und besetzen kleine Vesikel oder Vakuolen. Dabei wird der Kontakt mit Lysosomen und anderen endozytierenden Organellen vermieden. Die reifen Endosomen bestehen aus Plasmamembranproteinen und Lipiden der Wirtszelle, innerhalb derer die Umwandlung der EBs in RBs erfolgt. Die Konversion startet mit der Reduktion der Disulfid-Brücken in der äußeren Membran der EBs. Nach der Dekondensation der Nukleotide beginnt die *de novo*-Synthese von DNA, RNA und Proteinen, wodurch das Größenwachstum der RBs und schließlich die binäre Teilung ermöglicht werden (ca. 8 h p.i.). Häufig umschließen zahlreiche Mitochondrien der Wirtszelle die Endosomen, bei deren Rekrutierung Kinesin eine Rolle zu spielen scheint (HARKINEZHAD et al., 2008). Ursache für die Mitochondrienansammlung könnte die Tatsache sein, dass *C. psittaci*, im Gegensatz zu anderen Chlamydien, nur unzureichend zu einer eigenen ATP-Produktion in der Lage und daher auf eine Energiezufuhr aus der Wirtszelle angewiesen ist.

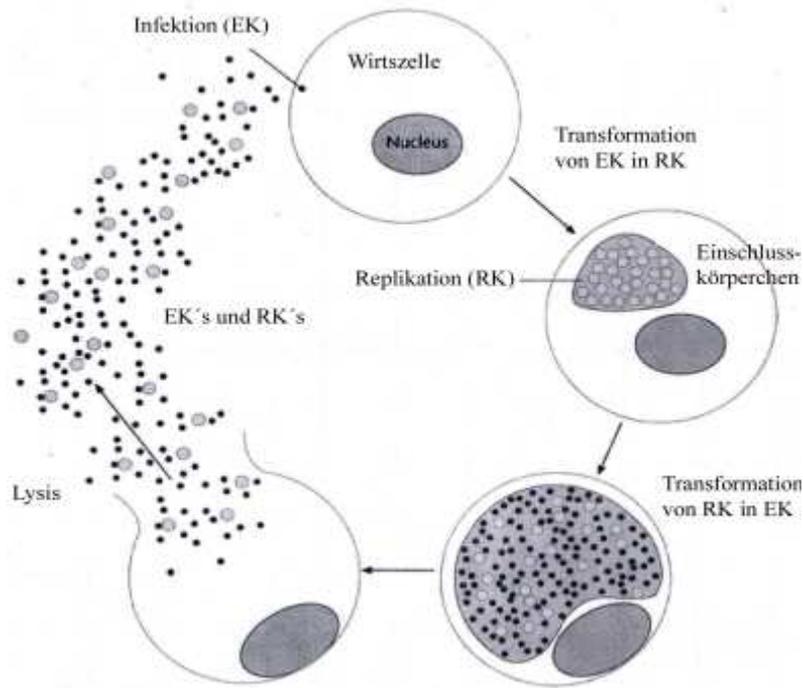


Abbildung 8: Replikationszyklus der Chlamydien (aus EVERETT, 2000)

Neben ATP benötigt der Erreger auch Aminosäuren und Nukleotide von seinem Wirt, die jedoch, aufgrund der die Chlamydien umgebenden Vakuole, nicht direkt aus dem Zytosol aufgenommen werden können. GRIESHABER et al. (2002) konnten zeigen, dass die Endosomenmembran nur für Moleküle mit einem Molekulargewicht unter 520 Da permeabel ist. Ob für größere Partikel Transportmechanismen bestehen, ist bislang nicht bekannt (HARKINEZHAD et al., 2008).

Mit steigender Bakterienzahl wächst auch das Endosom, indem es mit Vesikeln des Golgi-Apparates fusioniert. Innerhalb von etwa zwanzig Stunden kann ein RB bis zu 1000 Nachkommen produzieren. Ist die Vakuole schließlich überfüllt, kommt es zur Freisetzung der RB aus den Endosomen, wodurch die Umwandlung der RBs in Intermediärkörper und neue infektiöse Elementarkörper induziert wird. Am Ende des Entwicklungszyklus (ca. 50 h p. i.) werden die EBs entweder durch Lyse der Wirtszelle oder via reverser Endozytose freigesetzt (EVERETT, 2000; HARKINEZHAD et al., 2008).

Beim Wirt entstehen durch Gewebeschäden nach der Zelllyse Entzündungsreaktionen.

Unter bestimmten Bedingungen kann der Entwicklungszyklus vor der Umwandlung von RB in EB unterbrochen werden und es entsteht eine persistente, chronische Infektion. Die persistierenden RBs sind morphologisch heterogen von oval bis stark vergrößert und liegen in kleinen Vakuolen. Da eine DNA-Replikation abläuft, jedoch keine Teilung stattfindet, kommt es zu einer Chromosomenakkumulation (HARKINEZHAD et al., 2008).

Aufgrund ihrer obligat intrazellulären Lebensweise sind Chlamydien darauf angewiesen, einen induzierten Zelltod der Wirtszelle bis zum Ende des Entwicklungszyklus zu blockieren. Eine Apoptose wird entweder durch bestimmte Death-Rezeptoren der TNF-Rezeptorsuperfamilie (z.B. CD95) oder den mitochondrialen Weg mit Freisetzung von Cytochrom C und Bildung des Apoptosoms ausgelöst. Über die Bildung eines zytosolischen Signaltransduktionsweges (DISC; Death-inducing signaling complex) werden spezifische Caspasen aktiviert. BH3-only-Proteine aktivieren Faktoren der Bax/Bak-Gruppe, die nach der Translokation in die Mitochondrien die Freisetzung von Cytochrom C veranlassen (DANIEL, 2002). Bei Chlamydien-infizierten Zellen besteht eine ausgeprägte Resistenz gegenüber Apoptoseinduktoren, die auf einer Degradation der BH3-only-Proteine durch eine chlamydiale Protease (CPAF; Chlamydial protease-like activity factor) beruht. Diese Protease wird über ein Typ-III-Sekretionssystem aus der Inklusion in das Zytosol der Wirtszelle ausgeschleust (ROEDEL et al., 2008).

Dass es dennoch zu einem Absterben der Wirtszelle am Ende des Replikationszyklus der Bakterien kommt, zeigt, dass zuvor eine Balance zwischen antiapoptotischen und zelltodinduzierenden Mechanismen bestehen muss. Eine Untersuchung von ROEDEL et al. (2008) belegt, dass die CPAF bei infizierten Zellen eine Multifragmentierung der PARP-1 induziert. Die PARP-1 (Poly-ADP-Ribose-Polymerase 1) ist ein Hilfsenzym bei DNA-Reparaturprozessen, das an Strangbrüchen bindet und die Bildung von ADP-Ribose-Polymeren aus NAD katalysiert. Eine Degradation der PARP-1 führt zu einer Nekrose der Zelle. Die Autoren vermuten, dass der Abbau des Enzyms der Sicherstellung der ATP-Versorgung der Chlamydien für ihre Replikation dient, da bei einer Aktivierung der PARP-1 NAD und ADP verbraucht werden (ROEDEL et al., 2008).

Tenazität

Chlamydien können außerhalb eines Wirtes eine geraume Zeit überleben, ihre Tenazität ist jedoch abhängig von den äußeren Bedingungen (STORZ und KRAUSS, 1985; PANTCHEV, 2010). Extrazelluläre, infektiöse EB weisen jedoch eine hohe Empfindlichkeit gegenüber höheren Temperaturen auf:

bei 35-37 °C Abtötung innerhalb von 48 Stunden

bei 56 °C Abtötung innerhalb weniger Minuten

bei -2 °C Überlebenszeit bis 1 Jahr

bei 4-8 °C bleibt die Infektiosität bis zu 11 Wochen erhalten

(PAGE, 1959; DIEHL, 1961; PAGE und GRIMES, 1978; STORZ und KRAUSS, 1985; GYLSTORFF und GRIMM, 1998).

Im Wasser bleiben Chlamydien bis zu 17 Tagen, in getrocknetem Kot bis zu 30 Tagen und in Staub, Einstreu und Federn sogar bis zu 6 Monaten infektiös. Dagegen erfolgt eine Inaktivierung durch UV-B-Licht bereits nach weniger als 3 Minuten, durch Äther und Alkohol innerhalb von 30 Minuten und durch 0,3 %iges Formalin binnen 24-36 Stunden (GRIMES und WYRICK, 1991; NÜCHTER, 2004; PANTCHEV, 2010).

Chemische Desinfektionsmittelprüfungen mit *Chlamydia psittaci*

Desinfektion bedeutet nach der Definition des Deutschen Arzneibuches (DAB 2012) „totes oder lebendes Material in einen Zustand versetzen, dass es nicht mehr infizieren kann“. Labortechnische Richtlinien zur Ausführung und Wertbemessung der Ergebnisse von Desinfektionsmittelprüfungen stehen nicht nur im DAB, sondern auch in den Richtlinien der DVG, der DGHM (Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie, jetzt VAH – Verband für angewandte Hygiene) sowie CEN/TC 216 (Comité Européen de Normalisation / Technical Comité). Grundsätzlich wird zwischen einer Wirksamkeitsprüfung und einer anwendungstechnischen Prüfung aller chemischen Desinfektionsmittel unterschieden.

Chlamydien erscheinen nicht in der Desinfektionsmittelliste der DVG, weil sie nicht zu den Prüforganismen gehören und eine Prüfung aufgrund des komplexen Vermehrungszyklus und der zu geringen Infektiositätstiter in permissiven

Zellkulturen unter Laborbedingungen nicht möglich ist. Zudem sind die intrazellulären Retikularkörperchen für Desinfektionsmittel nicht zugänglich. Daher gibt es bislang keine validierten und anerkannten Vorschriften für die Prüfung von chemischen Desinfektionsmitteln für Chlamydien (BURKHARDT, 2003).

Erste orientierende Versuche zur Methodik der Desinfektionsmittelprüfung von *Chlamydia psittaci* mit verschiedenen Keimträgern wurden von GÖPEL (1979), MIELDS (1979) und KRAUSS (1980) durchgeführt. Bei diesen Versuchen sollte zunächst die Eignung homogenisierbarer Keimträger (Holz, Verbandmull und Hühnereischale) sowie nicht homogenisierbarer Keimträger (verzinktes Eisenblech und Plastikmaterial) für ihren Einsatz bei Desinfektionsmittelprüfungen geprüft werden. Außerdem wurden die Höhe der Temperatur und die zeitliche Dauer der Antrocknung der Chlamydien-Suspension auf den genannten Keimträgern bestimmt (BRÜNING et al., 1983). Aus diesen Versuchen ergaben sich Verluste durch Antrocknung bis zu zwei \log_{10} -Stufen. Die Ausgangstiter der frisch hergestellten Chlamydien-Suspension lagen nur bei 5 bis 6 \log_{10} je ml. Sowohl die DVG-Richtlinie als auch die CEN-Richtlinie fordern für eine wirksame Desinfektion eine Titerreduktion um mindestens vier \log_{10} -Stufen. Wegen der niedrigen, maximal erreichbaren Infektiositätstiter der Chlamydien-Suspension und der relativ hohen Titerverluste durch die erforderliche Antrocknung auf allen verwendeten Keimträgern konnte eine Reduktion um mindestens vier \log_{10} -Stufen nicht erreicht werden. Deshalb erfüllen die bisherigen Ergebnisse zur Desinfektion von *Chlamydia psittaci* nicht die Voraussetzungen hinsichtlich DVG- und CEN-Konformität (STRAUCH und BÖHM, 2002).

Auch das Deutsche Institut für Normung (DIN) hat eine Richtlinie zur validen Prüfung chemischer Desinfektionsmittel publiziert, die eine Reduktion der Keimzahl mindestens um den Faktor 10^5 fordert (DIN EN 1040, 2006; GEBEL, 2001).

BURKHARDT (2003) entwickelte eine Methode zur Überprüfung der Wirksamkeit der Schleimhautdesinfektionsmittel PVP-Iod und Chlorhexidin unter Berücksichtigung des Eiweißfehlers. Demnach ist für eine vollständige Desinfektion bei einer Eiweißbelastung von 10 % und Einwirkzeiten von 0,5, 1 und 5 Minuten eine Konzentration von 0,2 %igem PVP-Iod notwendig. Diese Untersuchung wurde mit verschiedenen Stämmen von *Chlamydia pneumoniae* und *Chlamydia trachomatis* durchgeführt und erbrachte für alle Stämme vergleich-

bare Ergebnisse. Dagegen ergaben sich für Chlorhexidin deutliche Unterschiede bei der Wirksamkeit in Abhängigkeit von der Einwirkzeit aber auch zwischen den getesteten Stämmen.

Der Unterschied in der Effektivität der beiden Desinfektionsmittel kann durch die verschiedenen Wirkungsmechanismen erklärt werden. Chlorhexidin schädigt zunächst die äußere Zellwand (EL-MOUG, 1985), um diese dann durch passive Diffusion zu durchqueren und die innere Zellmembran zu schädigen. Anschließend kommt es zu einer Leckage intrazellulärer Bestandteile, wobei dies bereits die Folge und nicht die Ursache des Zelltodes ist (RUSSELL, 1988). Die eigentliche letale Wirkung des Chlorhexidins beruht auf dem Zusammenbrechen der Membranpotenziale (BARETT-BEE, 1994; KUYAKANOND, 1992).

Iod dringt dagegen direkt in die Zelle ein, greift an bestimmten Schlüsselproteinen, Nukleotiden und Fettsäuren an und führt so zum Zelltod (CHANG, 1971; APOSTOLOV, 1980; GOTTARDI, 1991).

Für Oberflächendesinfektionsmittel gegen Chlamydien gibt es bislang dagegen keine Untersuchungsergebnisse, die auf DVG- oder DGHM-Prüfrichtlinien beruhen, weshalb sich vor allem die Desinfektion in großen Geflügelbeständen oft sehr schwierig gestaltet (NÜCHTER, 2004).

In der „Richtlinie des BMELV über Mittel und Verfahren für die Durchführung der Desinfektion bei anzeigepflichtigen Tierseuchen“ (letzte Aktualisierung 2009), in der die Psittakose noch als anzeigepflichtige Tierseuche aufgeführt ist, werden in Analogie zur Desinfektion von Bakterien als geeignet erscheinende Flächendesinfektionsmittel Formalin (35 – 37 % Formaldehyd), Peroxyessigsäurelösung (15 % oder 40 % Peroxyessigsäure) und nicht weiter spezifizierte Handelsdesinfektionsmittel genannt. Dies sind Mittel aus der 13. DVG-Liste, Spalte 4a, die in der Gebrauchskonzentration von 1 % innerhalb von 2 Stunden als wirksam erachtet wurden (siehe Tabelle 9).

Für die Desinfektion von Chlamydien werden in der Richtlinie des BMELV folgende Desinfektionsmittel und deren Anwendungskonzentrationen und Einwirkungszeiten genannt:

Laufende Desinfektion: - Peressigsäure: 0,4 %, 1 h
- Handelsdesinfektionsmittel auf Aldehydbasis

Vorläufige Desinfektion: - Formalin: 2 %, 3 h
- Handelsdesinfektionsmittel auf Aldehydbasis

- Schlussdesinfektion:**
- Reinigung
 - Flächendesinfektion (Formalin: 2 %, 3 h; Peressigsäure: 0,4 %, 1 h; Handelsdesinfektionsmittel auf Aldehydbasis)
 - Festmistdesinfektion (Formalin 3 %; Handelsdesinfektionsmittel auf Aldehydbasis)

Für Formalin, der wässrigen Lösung des Gases Formaldehyd, bestand bereits eine erforderliche Umgangsgenehmigung zur praktischen Anwendung im Bereich der Tierhaltung. Derzeit ist Formalin nicht mehr in den Anhängen der Biozid-Richtlinie zu finden, was die praktische Anwendung dieses Stoffes als Desinfektionsmittel fraglich erscheinen lässt.

Tabelle 9: Beispiele für Handelspräparate auf Aldehydbasis nach der 13. DVG-Desinfektionsmittelliste mit Wirkungseintritt innerhalb von 2 h

Handelsname	Wirkstoff	Konzentration
ALDEKOL® DES	Aldehyde (quat. Ammoniumverbindungen)	2 %
ANTISEPT 99	Quat. Ammoniumverbindungen, Aldehyde	3 %
BERGODES® Plus	Aldehyde	1 %
CALGONIT® sterizid	Aldehyde	1 %
DESINTEC® FI des	Aldehyde	1 %
DISINFECT® premium	Aldehyde	1 %
GERMICIDAN FF plus	Aldehyde	2 %
GRENZLAND DES	Aldehyde	1 %
IGAVET® FF spezial	Aldehyde	2 %
INTERCID®	Aldehyde	1 %
LYSOVET® N	Aldehyde	1 %
PERMANENT NEU	Aldehyde	1 %
ROTIE –CID	Aldehyde	1 %
VENNO FF super	Aldehyde	1 %

2.3.5 Wirtsspektrum und Übertragung von *Chlamydia psittaci*

Das aviäre Wirtsspektrum von *Chlamydia psittaci* ist breit gefächert. Insgesamt wurde der Erreger bislang in 467 Vogelspezies aus 30 verschiedenen Ordnungen nachgewiesen (KALETA und TADAY, 2003). Dagegen sind bisher

Chlamydien-Nachweise bei Schildkröten (Klasse Reptilia) eher selten (HOTZEL et al., 2005). Ein weiterer Bericht über den Nachweis von *Chlamydia pneumoniae* beim Afrikanischen Frosch (Klasse Amphibia) liegt von HOTZEL et al. (2001) vor.

Während einige *Chlamydia psittaci*-Serovare jedoch primär eine bestimmte Vogelspezies infizieren (z.B. Serovar A überwiegend Psittaziden, Serovar B oder E vor allem Tauben), treten andere Serovare bei mehreren Vogelarten in gleicher Häufigkeit auf. Der Anteil der *Chlamydia*-spp.-positiven Vogelspezies innerhalb einer Ordnung der Vögel variiert deutlich.

Die aktuelle Liste der Chlamydien-Nachweise bei Vögeln wird eindeutig von **Papageienvögeln** (Psittaciformes) und Tauben (Columbiformes) angeführt, die das Hauptreservoir der Chlamydien darstellen. Die Prävalenz innerhalb der Psittaziden liegt bei 16 bis 81 %, wobei Mortalitätsraten von 50 % und mehr nicht ungewöhnlich sind (RASO et al., 2002).

Bei **Brieftauben** finden sich Seroprävalenzen von 35,9 bis 60 %, bei **Wildtauben** (*Columba livia* forma domestica, sog. Stadttaube) sogar bis 95,6 %. In einem Zeitraum von 1966 bis 2006 wurden insgesamt 51 Studien zu Chlamydien-Infektionen bei Tauben durchgeführt, die eine durchschnittliche Seroprävalenz von 42,3 % ergaben (MAGNINO et al., 2009). Obwohl die meisten Tauben und auch viele Papageien als latente Träger keine klinischen Symptome zeigen, konnte eine hohe Ausscheidungsrate infektiöser EBs mit den Fäzes sowie den Sekreten des Respirationstraktes und den Konjunktiven festgestellt werden (RASO et al., 2002). Bei gesunden Vögeln erfolgt die Ausscheidung im Allgemeinen intermittierend, kann aber durch Stressfaktoren, beispielsweise andere Erkrankungen, Futtermangel, Vergrämungsmaßnahmen an Gebäuden, Brutzeit oder hohen Populationsdruck erhöht werden oder sich zu einer klinisch manifesten Infektion entwickeln (ANDERSEN und VANROMPAY, 2008; NASPHV, 2009).

Auch bei **Wasservögeln**, wie Möwen, Enten, Gänsen oder Pinguinen, können Chlamydien häufiger detektiert werden (BÖNNER, 2006). Dagegen finden sich bei **Hühnervögeln** (Phasiani- oder Galliformes) nur relativ wenige seropositive Tiere (KRAUSS und SCHMEER, 1992, GERLACH, 1993; ANDERSEN und VANROMPAY, 2003).

Puten können schwere Krankheitsverläufe entwickeln (VANROMPAY et al., 1993; RYLL et al., 1994; VANROMPAY et al., 1994; VERMINNEN et al., 2008; BEECKMANN und VANROMPAY, 2008; ENANY et al., 2009). Sie sind nicht endemisch mit bestimmten Serovaren infiziert, jedoch können Wildvögel den Erreger in Putenbestände eintragen (VANROMPAY et al., 1994). An umfassenden Seuchenausbrüchen sind am häufigsten Serovar B oder D beteiligt. Während Serovar B eigentlich mit Tauben assoziiert wird und bei Truthähnen nur schwache klinische Symptome auslöst, konnte Serovar D bisher nur aus Puten und aus keiner anderen Spezies isoliert werden. Schwere Erkrankungen mit hohen Mortalitätsraten bei Puten, aber auch beim Menschen, wurden beschrieben (TAPPE et al., 1989; VANROMPAY et al., 1994). Dennoch erscheint eine endemische Infektion der Puten mit Serovar D aufgrund der Haltungsform und den relativ großen Zeiträumen zwischen den Krankheitsausbrüchen unwahrscheinlich. Möglicherweise stellen andere Vogelspezies das Reservoir der Erreger dar und die Übertragung erfolgt durch direkten und indirekten Kontakt mit Puten bzw. Eintrag des Erregers von außen.

Serovar C wurde bislang nur aus Enten und Schwänen in Europa nachgewiesen. Schwere Krankheitsausbrüche bei Laufvögeln durch Serovar E werden auf eine Übertragung der Chlamydien durch infizierte Tauben zurückgeführt (VANROMPAY et al., 1994; ANDERSEN und VANROMPAY, 2003). Serovar E wurde auch als ursächlich für die schweren humanen Pneumonien Ende der 1920er und Anfang der 1930er Jahre diagnostiziert und konnte darüber hinaus aus einer Vielzahl verschiedener Vogelarten isoliert werden (Puten, Enten Tauben, Strauße, Nandus) (HARKINEZHAD et al., 2007).

Der erste Nachweis von Serovar F gelang in den 90er Jahren bei einem Wellensittich (ANDERSEN, 1997), später isolierten VAN LOOCK et al. (2005) dieses Serovar auch aus Puten.

Serovar E/B wurde von GEENS et al. (2005) erstmals genau charakterisiert und bei Tauben, Enten und Puten detektiert. Es ist den Serovaren B und E sehr ähnlich und reagiert sowohl mit Serovar B- als auch mit Serovar E-spezifischen mABs. Es unterscheidet sich von den beiden anderen Serovaren nur durch wenige Abweichungen im Aminosäuremuster des MOMP und kann nur durch eine Sequenzierung des *ompA* oder durch die von GEENS et al.

(2005) entwickelte Genotyp-spezifische Realtime-PCR eindeutig identifiziert werden.

Grundsätzlich können alle Vogelspezies experimentell mit *C. psittaci* infiziert werden.

Die Übertragung erfolgt primär durch direkten Kontakt mit Fäzes, Urin oder Sekret aus Nase und Konjunktiven infizierter Vögel durch Inhalation oder Ingestion der Chlamydien. Die Ausscheidung der Erreger ist meist intermittierend und variiert in Abhängigkeit von der Virulenz des Stammes, der Infektionsrate, der Resistenzlage und dem Immunstatus des Wirtes. Bei Puten werden die lateralen Nasendrüsen schon ganz früh zu Beginn der Infektion befallen und bleiben über sechzig Tage infiziert, was die Bedeutung der Übertragung mit Sekreten des oberen Respirationstraktes unterstreicht. Auch gelingt die Isolation von *C. psittaci*, besonders im Frühstadium einer Infektion, häufiger und zuverlässiger aus choanalen oder oropharyngealen Abstrichen als aus Kloakentupfern (NÜCHTER, 2004).

Bei Wasser- und Sumpfvogelspezies kann die Transmission der Bakterien auch über kontaminiertes Wasser erfolgen, während bei Granivoren (z. B. Tauben, Fasanen, Sperlinge) die Inhalation kontaminierten Staubes die Hauptinfektionsquelle darstellt. Schließlich kann eine Chlamydiose auch durch die Aufnahme infizierter Beutetiere auf Greifvögel oder Aasfresser übertragen werden (HARKINEZHAD et al., 2008).

Einen weiteren Infektionsherd stellt das Nest dar. Spezies, die die Nahrung für ihre Küken regurgitieren, z.B. Taubenvögel (Columbiformes), Kormorane (Pelecaniformes) oder Reiher (Ciconiiformes), geben den Erreger auf diese Weise an ihre Nestlinge weiter. Bei anderen Arten, u.a. Schneegänsen (Anseriformes) oder Möwen (Lariformes), kommt der Kontamination des Nests mit den Fäzes eine große Bedeutung zu.

Die Rolle von Arthropoden bei der Übertragung der Chlamydien ist nicht eindeutig geklärt, jedoch scheint eine Übertragung von Vogel zu Vogel durch blutsaugende Ektoparasiten wie Läuse, Milben oder Fliegen, selten auch über Bisse oder Wunden, möglich (LONGBOTTOM und COULTER, 2003).

Eine vertikale Transmission über die Eier ist bei Enten, Hühnern, Puten und einigen Wildvögeln beschrieben (ILLNER, 1962; LEHNERT, 1962; WILT et al., 1972; WITTENBRINK et al., 1993), scheint aber nur selten aufzutreten (ANDER-

SEN und VANROMPAY, 2003; HARKINEZHAD et al., 2008). Trotzdem könnten Chlamydien auf diese Weise in einen Bestand eingeführt werden.

Weil *C. psittaci* auch außerhalb eines Wirtes einige Zeit überleben kann (siehe Kapitel 2.3.4), bergen auch mit Fäzes infizierter Wildvögel kontaminiertes Futter oder Einstreu sowie unbelebte Vektoren ein Infektionsrisiko. Daher sind Hygiene und Desinfektion besonders für große Geflügelbestände essentiell, zumal Chlamydien, als gramnegative Bakterien mit hohem Lipidanteil, auf die meisten Detergentien und Desinfektionsmittel sehr empfindlich reagieren.

2.3.6 Klinische Symptome und Verlaufsformen der aviären Chlamydiose

In Abhängigkeit von Infektionsdosis und Erregervirulenz sowie Alter, Empfänglichkeit, Resistenzlage und Immunstatus des Wirtstieres treten unterschiedliche Verlaufsformen und klinische Symptome der Chlamydiose auf. Bei Psittaziden bezeichnete man eine Erkrankung nach einer Infektion mit *Chlamydia psittaci* als Psittakose, bei allen anderen Vögeln als Ornithose (MORANGE, 1895, MEYER, 1942). Da die Krankheitsbilder nach der Infektion jedoch bei allen Vögeln sehr variabel sind und schwerste Verlaufsformen auch bei Nicht-Psittaziden auftreten, erscheint eine Unterscheidung der beiden Begriffe Psittakose und Ornithose nicht mehr sinnvoll (KUMMERFELD und RYLL, 2010). Stattdessen sollte die Bezeichnung „aviäre Chlamydiose“ für alle durch *Chlamydia psittaci* ausgelösten Infektionen verwendet werden, wie es bereits in der englischsprachigen Literatur der Fall ist (ANDERSEN et al., 1997; EUROPEAN COMMISSION, SANCO/AH/R26/2002; ANDERSEN und VANROMPAY, 2008).

Der Verlauf der Krankheit lässt sich in vier Schweregrade unterteilen: subakut, chronisch, subklinisch-persistierend, aktiviert persistierend (Tabelle 7; KALETA, 1997; ROLLE und MAYR, 2007).

Die Psittakose ist unter Papageienvögeln relativ weit verbreitet und verläuft in der akuten Form als systemische, fieberhafte Erkrankung. Neben unspezifischen Symptomen wie Lethargie, Anorexie, gesträubtem Gefieder und Hyperthermie entwickeln die Papageien eine (Kerato-)Konjunktivitis, Blepharitis, Rhinitis und Sinusitis mit serösem bis mukopurulentem (bei bakteriellen Se-

kundärinfektionen) Nasen- und Augenausfluss, serösen bis hämorrhagischen Durchfall mit perikloakaler Verschmutzung, Atembeschwerden, Kachexie und Dehydration. Es gibt jedoch keinen pathognomonischen Krankheitsverlauf, da die genannten Symptome sowohl einzeln als auch in verschiedenen Kombinationen auftreten können. Einige Tiere zeigen zudem neurologische Störungen wie Konvulsionen oder Paralysen. Der Tod wird meist durch Herz-Kreislauf-Versagen verursacht (KRAUSS und SCHMEER, 1992; KALETA, 1997).

Der perakute Verlauf betrifft vor allem Jungtiere und kleine Exoten (z.B. Agaporniden, Prachtfinken) und führt ohne vorherige Symptome innerhalb weniger Stunden zum Tod.

Bei der chronischen Form können Abmagerung, Augen- und Nasenausfluss, zentralnervöse Störungen (Zittern, Krämpfe, Opisthotonus, Lähmungserscheinungen), Diarrhoe, Dyspnoe und Anämie auftreten. In größeren Beständen fallen gehäufte Todesfälle auf. Häufig bestehen chronische Infektionen jedoch ohne klinische Symptome, und es lassen sich lediglich eine Zunahme der Morbidität und Mortalität bei Jungvögeln sowie Fertilitätsstörungen bei Adulten beobachten. Ein akuter Krankheitsausbruch wird dann unter Umständen erst durch endogene oder exogene Stressfaktoren ausgelöst. Dennoch scheiden die Vögel den Erreger intermittierend (bis zu 100 000 IE / g Kot) aus und stellen eine Infektionsquelle für andere Vögel oder Menschen dar (KRAUSS und SCHMEER, 1992; GERLACH, 1993; GYLSTORFF und GRIMM, 1998).

Der Prozentsatz inapparent infizierter Träger wird bei Psittaziden auf 10-40 % geschätzt.

Typische pathologische Veränderungen sind eine fibrinöse Serositis der Körperhöhlen, Luftsäcke und Organoberflächen sowie Aerosacculitis und Myokarditis. Des Weiteren finden sich Bronchopneumonie, Hepatosplenomegalie und katarrhalisch-hämorrhagische Enteritis mit grün-gelb verfärbten Fäzes. Mikroskopisch zeigt sich eine fibronekrotisierende Entzündung mit mononukleärer Leukozyteninfiltration (KRAUSS und SCHMEER, 1992; PEES, 2004; HAFEZ, 2006; ANDERSEN und VANROMPAY, 2008).

Bei Verdacht auf Psittakose sollte anamnestisch nach Veränderungen im Bestand, wie zum Beispiel Zukäufe, vorübergehende Pflege- oder Leasing-Vögel oder der Besuch von Ausstellungen, gefragt werden, da die klinische Symptomatik nur eine Verdachtsdiagnose erlaubt. Röntgenbilder (Hepatospleno-

megalie) oder endoskopische Untersuchungen können den Verdacht erhärten (PEES, 2004), aber keine gesicherte Ätiologie ermöglichen.

Tabelle 10: Verlaufsformen der Psittakose (nach KALETA 1997; aus ROLLE und MAYR, 2007)

Verlaufsform	Inkubationszeit (Tage)	Krankheitsdauer	Symptome, Bemerkungen
Akute, letale systemische Form	3-7	8-14 Tage	Anorexie, Apathie, Atemnot, Diarrhoe; junge Vögel
Subakute bis protrahierte Form	7-14	> 3 Wochen	Anorexie, Apathie, Atemnot, Diarrhoe; adulte Vögel
Chronische Form	30-90	> 2 Monate	Apathie, Kachexie, Diarrhoe, Atemnot; adulte Vögel
Subklinische, persistierende Form	keine	ohne	Häufigste Form, ohne Symptome, Vögel sind sexuell explorativ und performativ; adulte Vögel
Aktivierete, persistierende Form	> 3 Monate bis Jahre	> 2 Monate	Aktivierung durch endogene und exogene Faktoren, dann Apathie, Anorexie, Kachexie, Diarrhoe, respiratorische Symptome; adulte Vögel

Die initiale Psittakose-VO aus dem Jahr 1969 benennt den Erreger der Psittakose mit keinem Speziesnamen sondern schreibt nur von „den Erregern der Psittakose“. Diese Formulierung ist inhaltlich korrekt, entspricht aber nicht mehr den heutigen Kenntnissen. Inzwischen ist bekannt geworden, dass auch *Chl. pneumoniae* (SIEMERS, 1999; STRAUß-THEIS, 2005) und *Chl. abortus* (HERMANN et al., 2000) zu Krankheitsverläufen führen können, die nicht von denen durch *Chl. psittaci* unterschieden werden können.

Laut Psittakose-Verordnung aus dem Jahr 2005 liegt ein „Ausbruch der Psittakose vor, wenn bei einem Papagei oder Sittich *Chlamydophila psittaci* festgestellt worden ist“. Ein Verdacht besteht, wenn „das Ergebnis der klinischen oder pathologisch-anatomischen Untersuchung den Ausbruch der Psittakose vermuten lässt“ (Psittakose-Verordnung, 2005, §1, Satz 2).

Die US-National Association of State Public Health Veterinarians (NASPHV) definiert eine Psittakose anhand folgender Kriterien (NASPHV, 2009):

- Isolation von *C. psittaci* aus einer klinischen Probe eines Vogels („Dreifach-Tupferprobe“), - d.h. Anzüchtung vitaler Chlamydien
- Identifikation des Chlamydienantigens durch Immunfluoreszenz auf infiziertem Gewebe – d.h. weder Anzüchtung noch Speziesdiagnose
- ein mehr als vierfacher serologischer Titeranstieg innerhalb von zwei Wochen – d.h. weder Anzüchtung noch Speziesdiagnose
- Identifikation von *Chlamydiaceae* in Makrophagen in Abstrichen oder Gewebeproben (z.B. Leber, Konjunktiva, Milz, Sekrete des Respirationstraktes) mittels Giménez-, Stamp- oder Macchiavello-Färbung (siehe Kapitel 2.3.2, Abbildung 5) – d.h. weder Anzüchtung noch Speziesdiagnose.

Diese Gesichtspunkte machen weder eine Anzüchtung vitaler Erreger noch dessen Speziesdiagnose notwendig.

Eine mutmaßliche Infektion liegt vor, wenn eine Erkrankung und eines der folgenden Kriterien vorliegen:

- ein einzelner hoher Serumtiter einer Probe, die nach Beginn der klinischen Symptomatik gewonnen wurde
- Nachweis von *Chlamydiaceae*-Antigen mittels ELISA, PCR oder Immunfluoreszenz in Fäzes, Kloakentupfern, Nasen- oder Konjunktivalsekreten

Auch hierbei sind weder eine Anzüchtung vitaler Erreger noch eine Speziesdiagnose vonnöten. Ein einzelner hoher Serumtiter gibt darüber hinaus nur sehr begrenzt Auskunft über den aktuellen Status der Infektion. Andere Infektionen, die zu einer Schwächung des Immunsystems führen, können ebenso zu einem Titeranstieg führen.

Ein Verdachtsfall ist definiert als:

- klinische Erkrankung eines Vogels ohne Bestätigung durch ein Labor, die aber epidemiologisch mit einer Psittakoseinfektion bei einem Vogel in Zusammenhang gebracht werden kann
- ein Vogel ohne klinische Symptome und einem einzelnen hohen Serumtiter oder Detektion von Chlamydienantigen

- Erkrankung mit positiven Ergebnissen nicht-standardisierter Tests oder neuen Testverfahren
- klinische Erkrankung, die auf eine einschlägige Therapie anspricht

Allein aufgrund der klinischen Symptomatik ist eine Chlamydiose kaum sicher zu diagnostizieren, da die Symptome meist unspezifisch und sehr variabel sind. Da auch die eingesetzten Antibiotika nicht spezifisch sind, ist das Ansprechen auf die Therapie ebenfalls kein eindeutiger diagnostischer Beweis.

Bei **Tauben** hat die Chlamydiose (Ornithose) vorwiegend einen chronischen Verlauf, wobei die Inkubationszeit nicht genau bekannt ist (MEYER, 1948; ANDERSEN und VANROMPAY, 2003). Neben der Inhalation ist bei Tauben auch die horizontale Infektion von Jungtieren durch Übertragung von Exkreten und Sekreten sowie der Kropfmilch infizierter Adulttiere aufgrund der ausgeprägten Nestpflege von Bedeutung (HUGHES, 1947; PAGE und GRIMES, 1984). Akute Formen gehen einher mit Anorexie, Kümern und Diarrhoe, einige Tiere entwickeln Konjunktivitis, Ödeme der Augenlider und Rhinitis. Respiratorische Symptome zeigen sich häufig durch rasselnde Atemgeräusche; Tauben mit progressiver Infektion sind schwach und stark abgemagert. Überlebende Vögel bleiben chronisch infiziert und werden latente Träger mit intermittierender Erregerausscheidung.

In den meisten Fällen entwickeln Tauben jedoch keine klinisch manifesten Erkrankungen und werden sofort oder nach einer transienten Diarrhoe latente Träger. Dennoch findet man bei der Sektion dieser Tiere häufig fibrinöse Exsudate in den verdickten Luftsackwänden, der Serosa der Leibeshöhle und gelegentlich auf dem Epikard. Die Leber ist geschwollen, weich und verfärbt, während die Milz häufig vergrößert und dunkel ist. Sekundärinfektionen mit Salmonellen oder Trichomonaden können zu einem Ausbruch der Erkrankung bei persistent infizierten Vögeln und zu einer Exazerbation der klinischen Symptome bei akuten Infektionen führen (ANDERSEN et al., 1997).

Serologische Reihenuntersuchungen im Zeitraum von 1966 bis 2006 ergaben eine durchschnittliche Seroprävalenz von 42,3 % mit einer minimalen Nachweisrate von 10 % und einem Maximum vom 95,6 % (MAGNINO et al., 2009).

Die Infektion kann daher bei Tauben als endemisch angesehen werden.

Puten infizieren sich vorwiegend mit den Serovaren D, E und F (ANDERSEN, 1991; SACHSE et al., 2008). Experimentell konnten auch Infektionen mit den Serovaren A (Psittaziden) und B (Tauben) erreicht werden, wobei der Serovar die schwersten Veränderungen hervorrief, während Serovar B nur milde Erkrankungen verursachte (VANROMPAY et al., 1995a). Nach einer aerogenen Infektion erfolgt die erste Replikation der Chlamydien in den Epithelzellen des oberen Respirationstraktes (laterale Nasendrüsen) und breitet sich dann in den Atemwegen aus. Es kommt zu einer massiven Vermehrung, die in einer Septikämie resultiert, bei der die Erreger Epithelzellen und Makrophagen diverser Organe befallen. Die Inkubationszeit variiert in Abhängigkeit von der Virulenz des Erregerstammes, der Infektionsdosis sowie dem Alter und dem Immunstatus der Puten. Eine Infektion mit hochvirulenten Stämmen ist durch Kachexie, Anorexie, Hyperthermie, Konjunktivitis und Dyspnoe gekennzeichnet. Bei Putenhennen kann die Eiablage auf 10-20 % der Norm zurückgehen und unter Umständen bis zur vollständigen Genesung auf diesem niedrigen Niveau bleiben. Schwach virulente Stämme verursachen dagegen nur geringgradige Anorexie und grün verfärbte Fäzes, die Eiablage ist in der Regel nicht beeinträchtigt. Während bei hochvirulenten Stämmen die Morbidität bei 50-80 % und die Mortalität bei 10-30 % liegen, erkranken nur 5-20 % der Puten nach einer Infektion mit schwach virulenten Stämmen (ANDERSON et al., 1978; HEDBERG et al., 1989; VANROMPAY et al., 1995a).

Die pathologischen Veränderungen sind unabhängig vom Stamm ähnlich, jedoch unterschiedlich stark in der Ausprägung. Wie auch bei den Psittaziden zeigen sich fibrinöse Exsudate und Auflagerungen auf Pleura, Lunge und Perikard, Stauungen in Leber und Milz sowie entzündliche Veränderungen der Luftsäcke (ANDERSEN und VANROMPAY, 2003). In den Exsudaten sind große Mengen mononukleärer Zellen vorhanden, die mit zahlreichen Retikularkörperchen gefüllt sind. Als Ausdruck der vaskulären Schädigung und einer gesteigerten Immunantwort auf die Entzündung und die wachsende Erregerzahl, finden sich bald in allen Organen der Pleura und des Peritoneums fibrinöse Exsudate.

Histologisch zeigen sich sowohl nekrotisierende als auch proliferative Veränderungen, mit deutlich stärkerer Ausprägung bei Jungputen. Epitheloide Pneumonien mit fibrinösen bis fibropurulenten Exsudaten und eine Hepatitis mit geschwollenen Kupffer-Sternzellen und nekrotischen Hepatozyten treten in 80-100 % der Fälle auf. Akut infizierte Tiere zeigen eine katarrhalische Enteritis und sowohl proliferative als auch nekrotisierende Veränderungen in der Milz. Bei männlichen Puten verursachen die Chlamydien eine Orchitis und Epididymitis, die häufig zu plötzlichen Todesfällen durch Ruptur testikulärer Gefäße mit massiven inneren Blutungen führen (VANROMPAY, 2008).

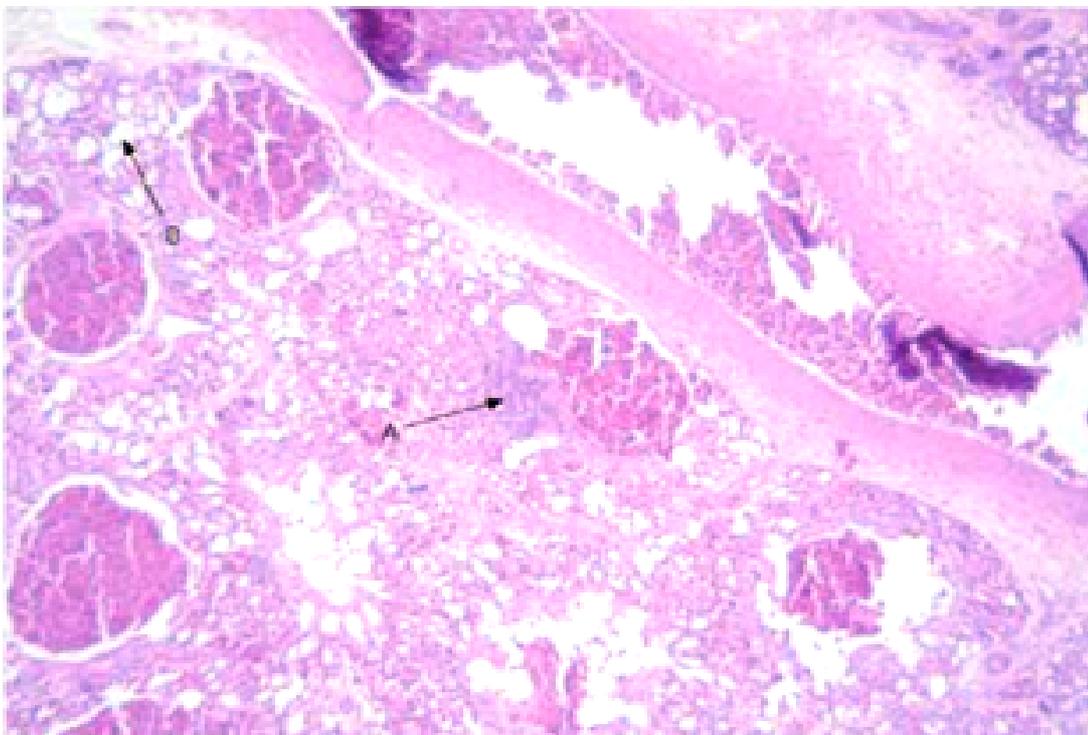


Abbildung 9: HE-Färbung der Lunge einer Pute nach experimenteller Infektion mit dem Texas Turkey Genotyp D Stamm. Lymphozyteninfiltration (Pfeil A) und Bronchodilatation (Pfeil B) (VANROMPAY, 2008)

Die Ornithose der **Enten** und **Gänse** spielt in Europa vor allem eine ökonomische Rolle und hat eine Bedeutung im Gesundheitswesen (HINTON et al., 1933). Bei Enten kommt es zu schweren, oft fatalen Infektionen, die vor allem bei Jungvögeln zu zentralnervösen Störungen, Kachexie und schwerer Enteritis mit oft letalem Ausgang führen. Die Morbidität liegt bei 10-80 %, die Mortalität bei 0-30 %. Allerdings bleiben die Infektionen häufig zunächst symptom-

los, bis sich durch Stress oder Sekundärinfektionen eine klinische manifeste Krankheit entwickelt. Erregerübertragungen bei Pekingenten des Masttyps führen mitunter zu schweren Krankheitsverläufen beim Personal, das in Ställen und auf Schlachthöfen mit diesen Enten arbeitet (ANDREWS et al., 1981; FARMER et al., 1982; KRAUSS und SCHMEER, 1992; NEWMAN et al., 1992; HINTON et al., 1993). Können horizontale Infektionen des Schlachtpersonals nicht wirkungsvoll eingedämmt bzw. verhindert werden, kann es zum Verbot des Schlachtbetriebs durch Gesundheitsämter in Verbindung mit Veterinärämtern kommen (Anonym, 1998; Epidemiologisches Bulletin 29/98, Seite 208-209).

Ähnlich verhält es sich auch bei **Gänsen** (ANDERSEN und VANROMPAY, 2003). (Histo-)pathologisch zeigen sie eine Konjunktivitis, Rhinitis, Polyserositis, (sero-)fibrinöse Perikarditis sowie Hepato- und Splenomegalie (VAN BUUREN et al., 1994). Junggänse zeigen klinisch auch Lahmheiten, Tortikollis und Hängenlassen der Flügel. Die Mortalität liegt bei 12-15 %, bei Junggänsen bis 55 % (KRAUSS und SCHMEER, 1992).

2.3.7 Differenzialdiagnosen der aviären Chlamydiose

Bei **Papageien** und **Sittichen** ist die ebenfalls verlustreiche, heute als Herpesvirusinfektion bekannte Krankheit auszuschließen (PACHECO und BIER, 1930). Mit diesem Thema befasste sich bereits Genesio Pacheco, der im *Instituto Biologico de Defesa Agricola e Animal* in Sao Paulo, Brasilien, an der Unterscheidung der Psittakose von der Herpesvirusinfektion arbeitete (PACHECO, 1931). Obwohl die Ätiologie sowohl der Psittakose als auch der Herpesvirusinfektion zunächst noch unbekannt war, gelang RIVERS und SCHWENTKER, 1931) eine gegenseitige Abtrennung beider Krankheiten auf Grund unterschiedlicher klinischer und pathologisch-anatomischer Befunde (PACHECO und BIER, 1930). Die kausale Klärung der Herpesvirusinfektion gelang wenig später RIVERS (1931) und RIVERS und SCHWENTKER (1932).

Mit der wieder zugelassenen Einfuhr von Papageien und Sittichen über deutsche Grenzkontrollstellen auf der Basis der Psittakoseverordnung erlangte das Papageien-Herpesvirus aktuelle Bedeutung als eine verlustreiche, von der Psittakose eindeutig unterscheidbare, leicht übertragbare Infektionskrankheit.

Vor allem bei **Puten** muss eine Pasteurellose (Geflügelcholera) durch Anzucht der Erreger (*Pasteurella multocida*) ausgeschlossen werden, da klinische Anzeichen und Läsionen einer Chlamydiose ähnlich sein können (ANDERSON und VANROMPAY, 2008). Auch Rotlauf- und Mykoplasmeninfektionen müssen kulturell und / oder serologisch gegenüber den Chlamydien abgegrenzt werden. Colibazillose sowie aviäre Influenza A und Newcastle Disease (aviäres Paramyxovirus 1) sind weitere Differenzialdiagnosen, die symptomatisch mit einer Psittakose / Ornithose verwechselt werden können (KRAUSS und SCHMEER, 1992; ANDERSEN und VANROMPAY, 2003).

Die Salmonellose (*Salmonella enterica* subsp. *enterica*, syn. *Salmonella* Typhimurium) der **Enten** und **Gänse** zeigt sowohl im klinischen Verlauf als auch bei den pathologisch-anatomischen Veränderungen große Übereinstimmungen mit der Ornithose (MATTHES, 1992). Bei Pekingenten führt eine Infektion junger Küken mit *Riemerella anatipestifer* zu einer infektiösen Serositis mit Symptomen und Organveränderungen, die denen der Chlamydiose täuschend ähnlich sind (HINZ, 1992). Außerdem ist auch hier eine Pasteurellose bakteriologisch auszuschließen.

Bei **Tauben** müssen ebenfalls Salmonellen (*Salmonella* Typhimurium), Herpesvirus 1 (PHV-1) oder Paramyxoviren (Pigeon Paramyxovirus Type 1, PPMV-1) aufgrund der ähnlichen Symptomatik differenzialdiagnostisch ausgeschlossen werden. Häufig treten besonders bei Tauben Mischinfektionen mit zwei oder mehr Erregern, vor allem Mykoplasmen und Chlamydien (KRAUSS und SCHMEER, 1992) auf.

Für die Differenzialdiagnose eignen sich Konjunktiva- oder Nasentupferproben oder Fäzesproben, mit denen ein direkter Erregernachweis durchgeführt werden kann (KRAUSS und SCHMEER, 1992; ANDERSON und VANROMPAY, 2008). Dabei muss jedoch die intermittierende Ausscheidung der Chlamydien beachtet werden, so dass ein einzelnes negatives Ergebnis eine Chlamydiose nicht ausschließen kann (GERBERMANN et al., 1991). Bei einem größeren Infektionsgeschehen können auch Organproben verendeter Tiere für den direkten Erregernachweis verwendet werden. Vor allem molekularbiologische Methoden erlauben einen schnellen und relativ sicheren Erregernachweis (ANDERSON und VANROMPAY, 2008; MAGNINO et al., 2009).

Serumproben eignen sich für einen Antikörpernachweis bei der Psittakose mittels verschiedener serologischer Verfahren (KRAUSS und SCHMEER, 1992; ANDERSON und VANROMPAY, 2008), die bereits in der „Frühzeit“ der Psittakoseforschung entwickelt und erprobt wurden (siehe hierzu 3.3).

2.3.8 Prävalenz und geografische Verteilung

Die Chlamydiose der Vögel der Ordnung Psittaciformes ist in Deutschland trotz Bekämpfungsmaßnahmen gem. Psittakose-VO noch immer endemisch. Allerdings suggerieren kontinuierlich fallende Zahlen an angezeigten Fällen mit Erregernachweisen pro Jahr ein allmähliches Abnehmen solcher Anzeigen. Auch wenn die Erkrankung bzw. der gelungene Erregernachweis seit der ersten „Psittakose-Verordnung“ von 1969/70 bis 2011 anzeigepflichtig war, ist die Dunkelziffer erkrankter Psittaziden vermutlich sehr hoch. Aufgrund der relativ häufigen subklinisch verlaufenden Infektionen oder von Fällen mit unspezifischer klinischer Symptomatik sowie unvollständiger Diagnostik, werden viele Psittakoseverdachtsfälle nicht erkannt, nicht angezeigt bzw. Ornithosefälle nicht gemeldet. Abbildung 10 und 11 geben einen graphischen Überblick über die angezeigten Psittakosefälle in Deutschland von 1981-2011 bzw. von 1970 bis 1980, Tabelle 19 zeigt eine detaillierte Auflistung nach Bundesländern getrennt. Aus der Übersicht geht hervor, dass die Zahl der angezeigten Psittakosefälle in den vergangenen dreißig Jahren kontinuierlich rückläufig ist. Der Anstieg in den Jahren 1991 bis 1993 kann auf das Hinzukommen der neuen Bundesländer nach der Wiedervereinigung zurückgeführt werden, die in den vorhergehenden Jahren nicht berücksichtigt wurden.

Absolut werden die meisten Psittakosen in Baden-Württemberg, Bayern, Niedersachsen und Nordrhein-Westfalen nachgewiesen, die wenigsten in Bremen, Hamburg und auch in den neuen Bundesländern (vgl. Tabelle 19, Quelle: BMEVL-Ref. 33 – D. Rönn – 24.03.2011). Dies kann leicht durch die unterschiedlich großen Einwohnerzahlen erklärt werden. Bezieht man diese mit ein und betrachtet die jährliche Verteilung der angezeigten Fälle, ergibt sich ein anderes Bild. Angeführt wird die Liste dann von Thüringen, das im Betrachtungszeitraum am häufigsten die höchste Zahl an Psittakoseanzeigen in Relation zur Einwohnerzahl aufwies (71,4 %), gefolgt von Sachsen-Anhalt (47,6 %)

und Berlin (35,5 %). Ebenfalls überdurchschnittlich viele Psittakosefälle wurden in Hessen (25,8 %) und Sachsen (23,8 %) angezeigt, so dass sich eine Tendenz zu einem vermehrten Vorkommen der Psittakose in der Mitte Deutschlands erkennen lässt.

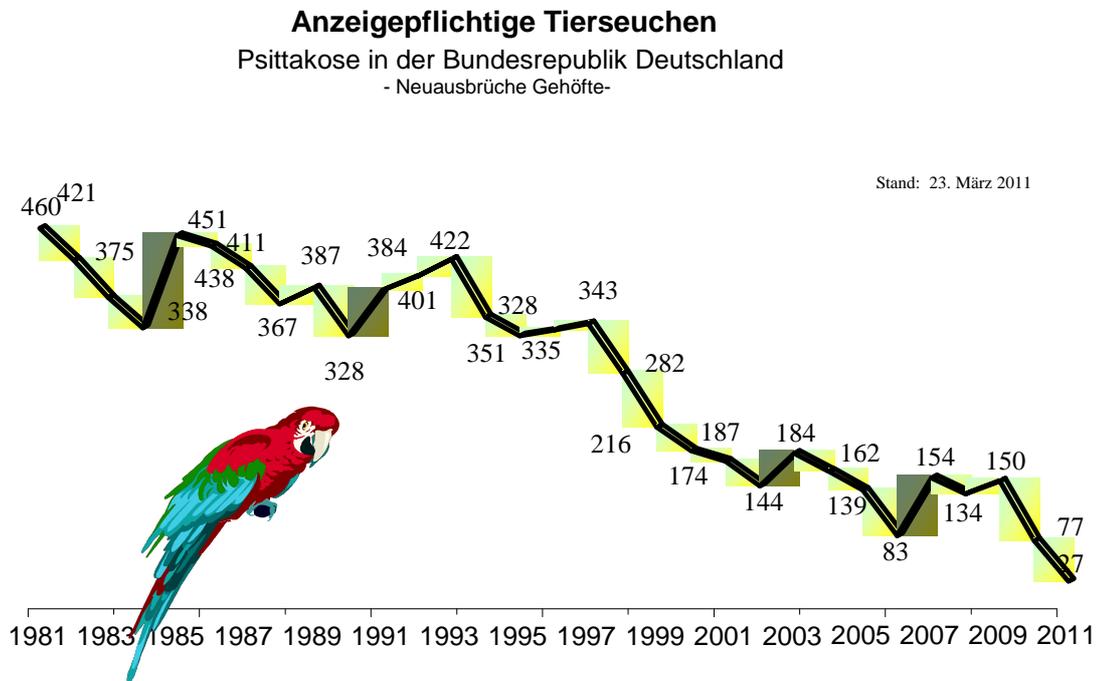


Abbildung 10: Amtlich gemeldete Psittakoseausbrüche auf Gehöften im Zeitraum 1981- 2011 (Stand März 2011); (BMEVL, Ref. 333; Rönn)

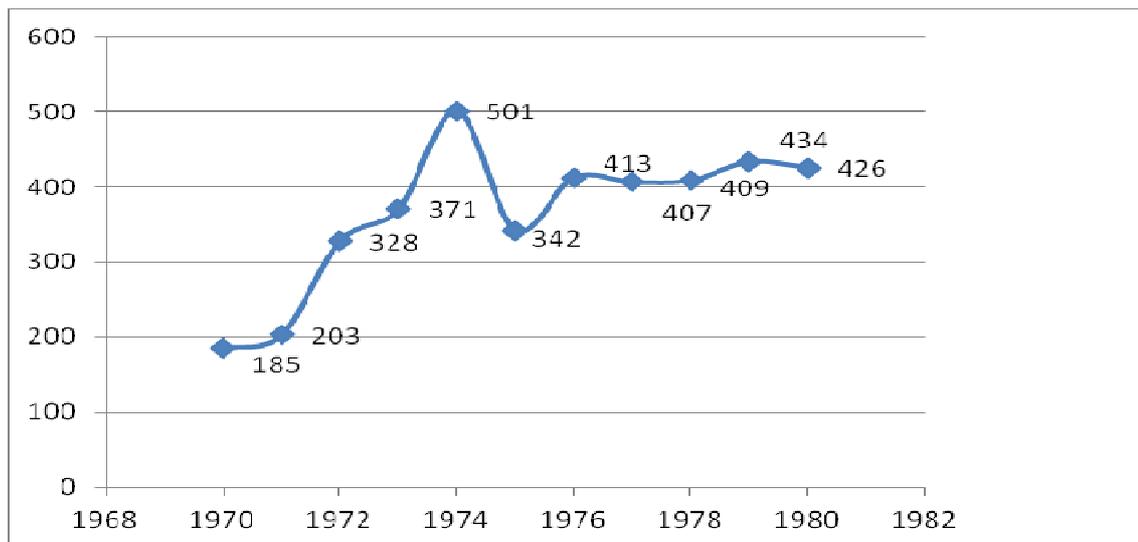


Abbildung 11: Amtliche gemeldete Psittakosefälle von 1970 bis 1980 (Daten gemäß TSN)



Abbildung 12: Deutschlandkarte mit Darstellung der prozentualen Häufigkeiten angezeigter Psittakosefälle je Bundesland (BMEVL,-Ref. 33; D. Rönn, 24.03.2011)

Auch eine jahreszeitliche Häufung ist nicht eindeutig erkennbar. Zwar ist die Zahl der angezeigten Psittakosen in den Sommermonaten etwas geringer, dies könnte jedoch ebenso durch Ferien- und Urlaubszeiten begründet sein. Die meisten Chlamydien-Nachweise wurden jeweils im 1. Quartal des Jahres angezeigt (Abbildung 13).

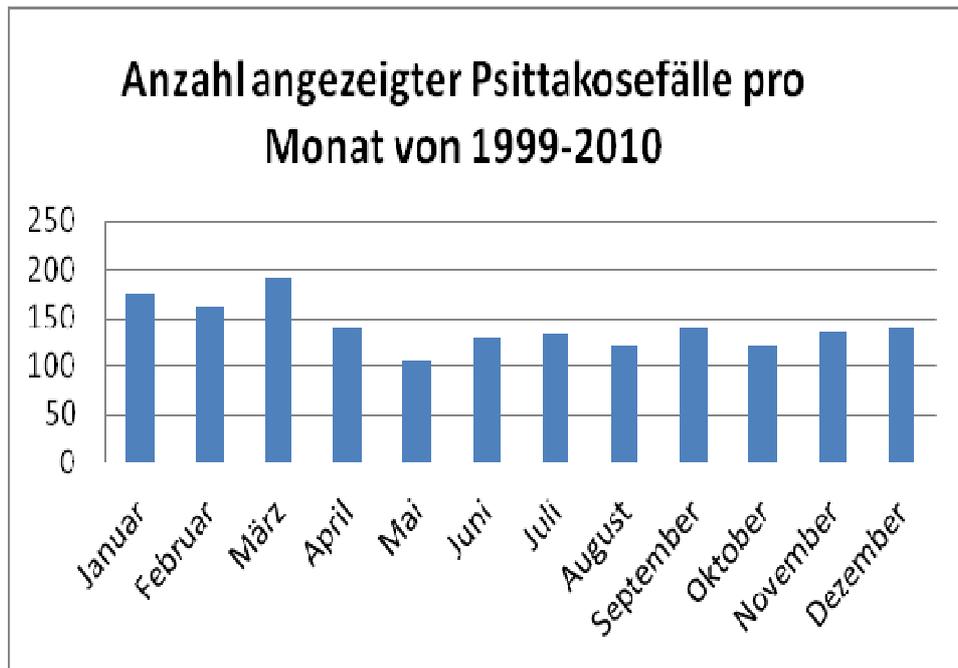


Abbildung 13: Anzahl angezeigter Psittakosen pro Monat von 1999-2011

Die Tabelle 11 enthält Fallzahlen für gemeldete Ornithosefälle beim Hausgeflügel. Zum direkten Vergleich mit den Häufigkeiten der Ornithose sind analoge Fallzahlen zur Geflügeltuberkulose und zu den Vogelpocken angefügt. Mit großem Abstand dominiert die Ornithose der Tauben, wobei gemäß Statistik des BME keine Unterscheidung zwischen Brief-, Rasse- und Fleischtauben getroffen werden konnte. Während des Zeitraums 1970 bis 2011 lässt sich bei der Tauben-Ornithose weder eine Zu- noch eine Abnahme der Fallzahlen erkennen. Diese zwar teilweise stark von Jahr zu Jahr fluktuierenden Fallzahlen bleiben in der Tendenz nahezu dennoch durchschnittlich gleich groß (Tabelle 11 und Abbildung 14). Diese Aussage steht im Gegensatz zum Verlauf der Psittakosefälle der Psittaziden, die in den letzten dreißig Jahren kontinuierlich rückläufig sind (Tabelle 19 (siehe Anhang) und Abbildung 10, 11).

Tabelle 11: Anzahl in Deutschland gemeldeter Fälle der Ornithose (der Nicht-Psittaziden) im Vergleich zur Anzahl der Fälle von Geflügeltuberkulose und Vogelpocken. Quelle: BME, Bonn (P – Pute; G/E – Gans/Ente; H – Hühner; T – Taube; S – Sonstige)

Jahr	Anzahl gemeldeter Fälle in Deutschland der														
	Ornithose					Geflügeltuberkulose					Vogelpocken				
	P	G/E	H	T	S	P	G/E	H	T	S	P	G/E	H	T	S
1970				19				985		2			2	12	
1971			2	71				1003					9	4	
1972			1	60	5			1203					3		1
1973		1		35				2053					6		
1974		2	2	75				1071					35	2	
1975			4	42				918							
1976		4	1	43	62			828					4	41	
1977		2	2	26	1			714					9	2	
1978		3	1	35	4			697		3				1	
1979		6		30				652					2	6	
1980		3	4	57	4			372					5	1	2
1981		3	1	28	4	1	3	507						1	
1982				24	3			630		2				4	3
1983		2	9	32	4			458		4					5
1984				48	6			547		12				7	7
1985		2	11	21	7			511		16				2	6
1986		1		34	15			355		28				2	4
1987			3	21	76			400		2					8
1988		3		71	10		2	372						4	5
1989			2	50	85			288		12			2		9
1990			8	14	5			291		19				3	12
1991		3	4	48	22			242		19			1	7	4
1992	2	3	5	48	12			221		10			2	1	13
1993		3	10	49	10			186		16				8	7
1994				47				171							
1995				71				198							
1996				51				129							
1997				87				154							
1998	1	14	13	66			7	118	3	43					
1999		16	8	58		1	6	114	7	43	1		11	3	13
2000	1	12	15	73			10	106	5	27			21	2	2
2001		2	7	49			9	53	6	16			7	4	4
2002		9	5	47	19		8	99	5	12			28	4	2
2003		5	2	39	8		1	85	5	9			7	2	7
2004		3	7	31	15		3	67	4	31			3	3	4
2005		57	70	31	10	2	6	67	1	28	1		3	2	4
2006	1	1	3	16	10		8	58	2	34			5	2	2
2007			1	17	10		18	41	3	42	1		15	6	3
2008		1	4	22		4	15	35	2	45			2	4	3
2009		3	27	103		1	4	38		13			4	2	
2010		7	5	23			8	39	1	32				3	11
2011		2	4	17	1		9	44	1	39				5	5

S – Sonstige Vögel enthalten Ringfasan, Kanarienvogel, Beo, Finkenvögel, aber auch einen Papagei

Nur vereinzelte Fälle wurden von 1970 bis 2011 bei Pute, Gans, Ente und Huhn gemeldet. Herausragende Ausnahme ist hier nur das Jahr 2005, in dem es zu einer ungewöhnlich hohen Anzahl gemeldeter Ornithose-Fälle durch ein größeres Seuchengeschehen in Sachsen-Anhalt bei Hühnern, Gänsen und Enten kam (siehe unten). Die Zahl der Fälle bei den sonstigen Vögeln (Ringfasan, Kanarienvogel, Beo, Fink) scheint während der ersten 20 Jahre der Meldungen etwas anzusteigen, was ggf. auf eine zunehmende Untersuchungsfrequenz zurückzuführen ist. Ab 1990 sanken die Zahlen jedoch wieder und sind seither auf niedrigem Niveau stabil. Die VO über meldepflichtige Tierkrankheiten erstreckt seine legale Befugnis nur auf das Hausgeflügel.

Die Geflügeltuberkulose ist ganz überwiegend eine Tuberkulose der Hühner. Allerdings gehen die Fallzahlen der Hühnertuberkulose innerhalb des Zeitraums von 1970 bis 2011 deutlich zurück. Seit 1998 tritt die Geflügeltuberkulose auch regelmäßig bei Gänsen, Enten und Tauben auf, allerdings sind auch hier die Zahlen auf sehr niedrigem Niveau stabil. Analog zur Ornithose der sonstigen Vögel steigen die Fallzahlen auch bei der Tuberkulose dieser Vögel. Seit Beginn der 90-er Jahre werden im Tiergesundheitsjahresbericht „sonstige Vögel“ nicht mehr gesondert erfasst, daher kann eine Fortsetzung dieses Trends nicht verfolgt und abschließend erläutert werden.

Die Vogelpocken stellen ein Krankheitsproblem der Hühner, Tauben und der sonstigen Vögel dar. Puten, Gänse und Enten scheinen kaum von Pocken betroffen zu sein (LÜSCHOW und HAFEZ, 2013). Ein sehr schwerer Verlauf der Pocken bei Hühnern wurde im Jahr 2001 beschrieben (KALETA et al., 2001). Die betroffenen braunfiedrigen Legehennen reagierten mit einem mehrwöchigen Rückgang der Legetätigkeit um bis zu 20 % und einer Verlustrate von insgesamt 7 %. Eine Erholung der Hennen konnte trotz Notimpfungen nicht erreicht werden. Dennoch sind die gemeldeten Vogelpockeninfektionen deutlich geringer als die der Geflügeltuberkulose oder der Ornithose und im betrachteten Zeitraum, abgesehen von vereinzelten Ausreißern, konstant auf einem relativ niedrigen Niveau.

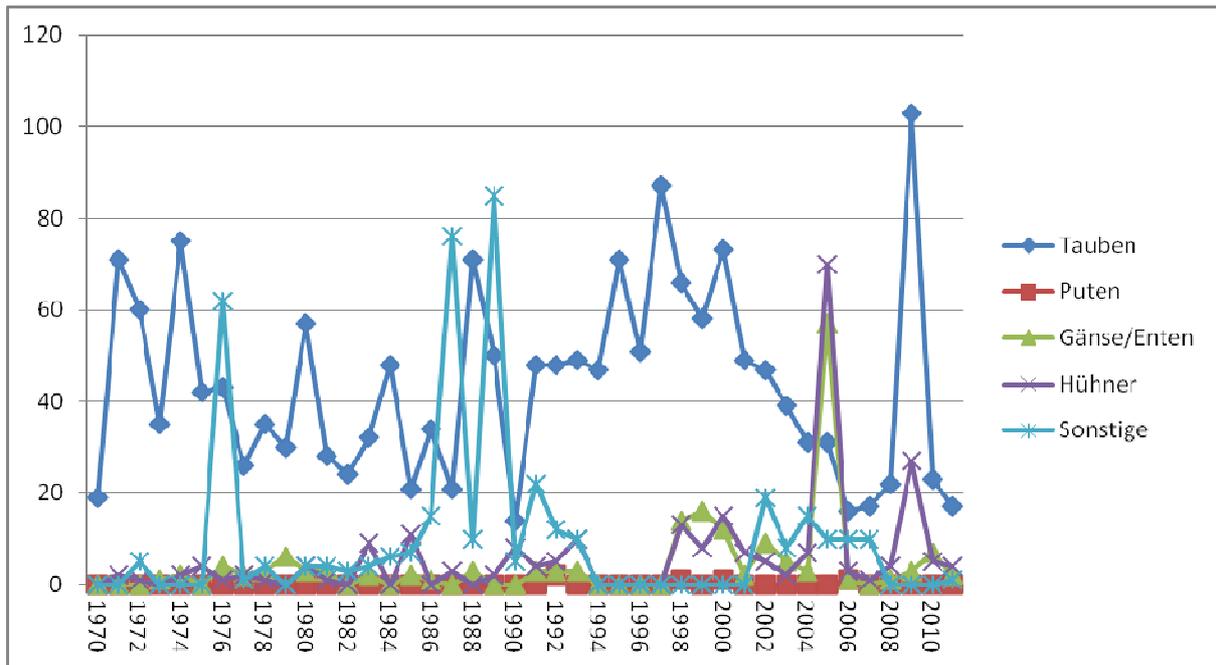


Abbildung 14 Graphische Darstellung der gemeldeten Ornithose-Fälle beim Hausgeflügel im Zeitraum von 1970 bis 2011 (Quelle: Tiergesundheitsjahresberichte)

Die letzten großen Ausbrüche der Ornithose traten immer in größeren Hausgeflügelbeständen auf. Der letzte Ausbruch der aviären Chlamydiose, bei dem auch Menschen infiziert wurden und erkrankten, fand im Jahr 2005 in Sachsen-Anhalt statt (GAEDE et al., 2008). Damals waren mindestens 100 Geflügelbetriebe (Hühner, Enten und Gänse) und 24 Personen, die nachweislich Kontakt mit dem infizierten Geflügel hatten, betroffen. Als auslösendes Agens konnte *Chlamydia psittaci* der Genotypen A und E/B identifiziert werden. Während Genotyp A überwiegend bei Psittaziden vorkommt, wird Genotyp E/B vor allem aus Enten isoliert (BÖNNER, 2006; GEENS et al., 2005). LAROUCAU et al. (2009) berichten von fünf schweren Fällen humaner Ornithose bei Arbeitern einer Entenfarm im ersten Quartal 2006. Sowohl die humanen Proben als auch die Isolate aus Enten zeigten dasselbe PCR-RFLP-Restriktions-Muster, das zwischen dem der Genotypen A und B lag.

In einer Brüterei für Hühner- und Putenküken in Belgien fanden sich Chlamydien der Genotypen A und C bei den Puten bzw. Genotyp D bei den Hühnern und Mischinfektionen mit den drei Genotypen bei den Angestellten des Betriebes (DICKX und VANROMPAY, 2011). Bei der Untersuchung eines Geflügelschlachthofes, ebenfalls in Belgien, erwiesen sich 85 % der Hühner- und

75 % der Putenherden sowohl in der PCR als auch in Zellkultur als positiv für *Chlamydia psittaci* Genotyp D. Dieser Genotyp konnte außerdem bei 87 % der Arbeiter nachgewiesen werden (DICKX et al., 2010).

Auch Tauben spielen als Reservoir für Chlamydien eine große Rolle (Tabelle 5b). DICKX et al. (2010b) isolierten bei 40,6 % der untersuchten Brieftaubenzuchten Genotyp B, C und D bei den Tauben und bei 12,5 % der Züchter Genotyp D.

In einer Studie von VÁZQUEZ et al. (2010) aus dem Jahr 2007 untersuchten die Autoren im Zeitraum von November 2006 bis November 2007 frei lebende Stadttauben in Madrid auf verschiedene Pathogene. Durchschnittlich wurden 52,6 % der Tauben positiv für *Chlamydia psittaci* getestet.

HEDDEMA et al. (2006) stellten bei Stadttauben in Amsterdam eine Seroprävalenz von 7,9 % fest, während in einer Studie aus Kroatien in Zagreb 95,6 % der untersuchten Tauben mittels ELISA positiv auf *C. psittaci* getestet worden sind (PRUKNER-RADOVČIĆ et al., 2005).

Studien aus England belegen bei wilden Tauben eine Prävalenz von *Chlamydia psittaci* zwischen 35,8 und 47,3 % (BRACEWELL und BEVAN, 1986; HAAG-WACKERNAGEL und MOCH, 2004; SHARPLES und BAINES, 2009). Des Weiteren berichten PENNYCOTT et al. (2009), dass bei vielen Gartenvögeln, wie Finken- oder Meisenarten, sehr häufig Chlamydien nachgewiesen werden können und von diesen Tieren ein hohes zoonotisches Risiko für den Menschen ausgeht. Chlamydien-Nachweise bei Wildvögeln müssen nicht gemeldet werden.

Im Rahmen einer größeren Studie des Fachbereichs Biologie der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main zum Bleigehalt im Blut von Meisen im Raum Frankfurt und Schlüchtern (Hessen), wurden parallel auch 778 Pharynx- und Kloakentupferproben für die Untersuchung auf Chlamydien entnommen (Durchführung Heike Anne-Marie Holzinger, 1996). Die 399 untersuchten Blau-, Kohl- und Sumpfmeisen waren dabei klinisch völlig gesund. Der Nachweis einer Erregerausscheidung erfolgte in BGM-Zellkulturen mit anschließender Färbung mit einem Genus-spezifischen, monoklonalen, FITC-konjugierten Antikörper. Insgesamt erwiesen sich 54 % der getesteten Meisen als Chlamydien-positiv.

Um den Einfluss von *Chlamydia psittaci* auf den Gesundheitszustand der Meisen einzuschätzen, dienten als Hilfsparameter die Körpermasse sowie die Länge der Flügelfedern. Für beide Parameter konnten keine signifikanten Unterschiede (Chi²-Test, t-Test, Tabelle 12) zwischen *Chlamydia psittaci*-positiven und –negativen Meisen errechnet werden, so dass die Autoren keinen negativen Einfluss einer *Chlamydia psittaci*-Infektion auf den Gesundheitszustand ableiten konnten (HOLZINGER-UMLAUF et al., 1997).

Tabelle 12: Auf Chlamydien untersuchte Meisen, deren Körpermassen (g) und Ergebnisse der Chlamydien-Nachweise je Spezies (HOLZINGER-UMLAUF et al., 1997).

Spezies	Zahl je Spezies	Körpermassen (KM) und Chlamydien-Nachweise			
		Pos. für <i>Chlamydia</i> spp.		Neg. für <i>Chlamydia</i> spp.	
		KM ± [g]	Anteil pos. [%]	KM ± [g]	Anteil neg. [%]
Blaumeise, <i>Parus caeruleus</i>	43	11,1 ± 0,49	30 / 69,8	11,1 ± 0,70	13 / 30,2
♀ Kohlmeise, <i>Parus major</i>	141	17,2 ± 0,83	76 / 53,9	16,9 ± 0,63	65 / 46,1
♂ Kohlmeise, <i>Parus major</i>	161	18,4 ± 0,97	85 / 52,8	18,3 ± 1,00	76 / 47,2
Sumpfmehse, <i>Parus palustris</i>	32	11,1 ± 0,56	12 / 37,5	11,2 ± 0,57	20 / 62,5
Tannenmeise, <i>Periparus ater</i>	3	-	2 / 66,7	-	1 / 33,3
Weidenmeise, <i>Poecile montana</i>	3	-	1 / 33,3	-	2 / 66,7

Weiterhin untersuchten HOLZINGER-UMLAUF et al. (1997) den Einfluss des Zeitpunktes der Probenahme im jahreszeitlichen Verlauf und die Entnahme der Proben aus Rachen und / oder Kloake.

Auch hier ergaben sich keine gesicherten Einflüsse auf die Häufigkeit der Chlamydien-Nachweise, so dass mit hoher Wahrscheinlichkeit eine Beeinträchtigung der Gesundheit, der Reproduktion und des Wohlbefindens der Meisen durch *Chlamydia psittaci* ausgeschlossen werden kann (HOLZINGER-UMLAUF et al., 1997). Im Gegensatz zu PENNYCOTT et al. (2009) konnten HOLZINGER-UMLAUF et al. (1997) eine Übertragung auf Menschen, die mit den Meisen hantierten, nicht feststellen.

In einer umfangreichen Langzeitstudie über zehn Jahre (1991-2001) untersuchten DOVČ et al. (2005) Papageien, Kanarienvögel, Finken und neun weitere Wildvogelarten in Slowenien. Mit 6,2 % war die Seroprävalenz von *C. psittaci* im indirekten Immunfluoreszenztest bei den Papageien am höchsten, wobei Tiere mit klinischen Symptomen IgG-Titer bis 1:2.560 aufwiesen. Parallel wurden außerdem verschiedene Züchter, Zoohändler und Tierärzte mittels Mikroimmunfluoreszenztest (MIF) untersucht. Mit 18,2 % fanden sich die meisten positiven Proben unter den Zoohändlern, gefolgt von den Papageienzüchtern mit 9,5 %. Die IgG-Titer lagen zwischen 1:32 und 1:64, wobei nur ein Fall humaner Chlamydiose bestätigt wurde.

3 Diagnostik der Psittakose / Ornithose

Häufig erlauben schon eine gründliche Anamnese, die vorherrschenden klinischen Symptome (u.a. Konjunktivitis, Rhinitis, Sinusitis, Atembeschwerden, seröser bis hämorrhagischer Durchfall) sowie ggf. pathologische Befunde die Verdachtsdiagnose Chlamydiose.

Für die Bestätigung galten lange Zeit die Anzuchtung der Chlamydien im embryonierten Hühnerei und mittels Gewebe- oder Zellkulturtechniken als der Goldstandard. Die Erregeranzüchtung in permissiven Zellkulturen mit anschließender Färbung nach Giemsa, Giménez oder Macchiavello oder Anfärbung mittels FITC-konjugierten mAB ist zwar auch heute noch sehr weit verbreitet, birgt jedoch einige Schwierigkeiten. Zum einen werden für die Kultivierung spezielle Zelllinien oder embryonierte Hühnereier sowie spezielle Techniken zur Aufarbeitung der Inokula benötigt, die oft nur in Speziallabors zur Verfügung stehen. Zum anderen erfolgt die Erregerausscheidung über die Fäzes intermittierend, so dass eine einmalige Untersuchung keine endgültige Diagnose ergibt, da es zu falsch-negativen Ergebnissen kommen kann (ELDER und BROWN, 1999).

Aufgrund dieser Schwierigkeiten wurden in den letzten Jahren verschiedene Verfahren entwickelt, die auf dem direkten Nachweis von Antigen, Antikörpern oder DNA basieren.

Grundsätzlich gibt es zwei diagnostische Ansatzpunkte; zum einen der direkte Erregernachweis im Gewebe oder Abstrichpräparat, zum anderen das serologische Screening von Blutproben auf die Anwesenheit von Antikörpern gegen Chlamydien (SACHSE, 2008). Wichtig ist, dass bei den Probennahmen keine Kontamination mit anderen Bakterien oder Pilzen auftritt.

Die OIE (World Organisation for Animal Health) erklärt in ihrer Empfehlung zur aviären Chlamydiose, dass die Diagnose entweder durch Isolierung und Identifikation des Erregers oder anhand eines vierfachen Anstiegs spezifischer humoraler Antikörper in Kombination mit eindeutigen klinischen Symptomen erfolgen sollte (OIE Manual, 2008). Des Weiteren gelten molekularbiologische Methoden wie PCR oder die DNA Microarray Technologie als vergleichbar sensitiv und spezifisch wie die Erregeranzüchtung mittels Zellkultur und werden von der OIE ebenfalls empfohlen (OIE Manual, 2008). Die deut-

sche Psittakose-Verordnung aus dem Jahr 2005 fordert den eindeutigen speziesspezifischen Nachweis von *Chlamydia psittaci*, wobei die Methode zur Feststellung einer Psittakose nicht näher definiert ist.

3.1 Probenentnahme bei Verdacht auf aviäre Chlamydiose

Die Art der Probe und deren Handhabung sind entscheidend für eine sichere Diagnostik. Der Ort der Entnahme ist unter anderem abhängig von den bestehenden klinischen Symptomen. Bei einer akuten Erkrankung sollte *intra vitam* entzündliches oder fibrinöses Exsudat der betroffenen Organe, Konjunktival- und Nasensekret, *post mortem* sollte Blut sowie Gewebeproben von Niere, Lunge, Perikardium, Milz und Leber zur Untersuchung verwendet werden. Handelt es sich um lebende Tiere, eignen sich primär Nasen- oder Pharynx tupferproben zur Erregerisolation. Alternativ können Exkreme, Kloakentupfer oder Konjunktivalabstriche verwendet werden (ANDERSEN, 2004). Wichtigster Grundsatz ist eine möglichst aseptische Gewinnung, da sich Kontaminationen mit anderen Bakterien störend auf die Isolierung der Chlamydien auswirken können. Kommt es dennoch zu Verunreinigungen, können durch Antibiotika Begleitkeime unterdrückt bzw. abgetötet werden. Hierzu ist die Wahl des Antibiotikums entscheidend, da die Vermehrung der Chlamydien nicht gehemmt werden darf. Geeignet sind unter anderem Streptomycin (200 µg/ml), Gentamicin (50 µg/ml) Vancomycin (75 µg/ml) und Nystatin (25 Units/ml) als Antimykotikum (SACHSE et al., 2008). Bei starker bakterieller Verunreinigung können die Proben zusätzlich zur Antibiotikabehandlung zentrifugiert (ANDERSEN, 1997) oder filtriert (Porengröße 450-800 µm) (BEVAN, 1978) werden.

Des Weiteren ist eine sorgfältige Handhabung der Proben entscheidend, um einen Verlust der Infektiosität zu vermeiden. Für die Konservierung von Rickettsien wurde ein Spezialmedium entwickelt, das sich auch für den Transport, als Gefriermedium sowie zur Kultivierung von Chlamydien eignet. Dieser so genannte SPG-Puffer besteht aus Succrose (74,6 g/l), KH₂PO₄ (0,512 g/l), K₂HPO₄ (1,237 g/l) und L-Glutaminsäure (0,721 g/l). Dazu kommen 10 % fetales Kälberserum sowie Antibiotika (s. o.) zur Inhibition von Begleitkeimen (ANDERSEN, 2004; ANDERSEN und VANROMPAY, 2008).

Die Zugabe von Amphotericin B (25 µg/ml) unterbindet die Vermehrung von Schimmelpilzen, aber auch von Hefen.

Bei Proben, die mittels PCR analysiert werden sollen, ist es ratsam, diese in einem DNA-stabilisierenden Puffer zu verwahren (DE GRAVES, 2003).

Aufgrund des zoonotischen Potenzials der Chlamydien müssen bei der Entnahme und weiteren Bearbeitung der Proben bestimmte Vorsichtsmaßnahmen (Tragen von Schutzkleidung, Handschuhen, Atemschutz) beachtet werden, um das Risiko einer oro-nasalen Übertragung auf das Personal zu vermeiden. Eine Infektion kann über Aerosole und Staub von getrockneten Exkrementen sowie durch den Kontakt mit infizierten Tieren und bei einer Autopsie ausgelöst werden. Handschuhe und Mundschutz reduzieren das Risiko einer Übertragung (NASPHV, 2010).

3.2 Antigennachweis

3.2.1 Isolation des Erregers

Die Isolation und Kultivierung der Chlamydien gilt historisch gesehen als der Goldstandard und als die sensitivste Nachweismethode. Sie wurde erstmals 1935 von BURNET und ROUNTREE beschrieben, die den Erreger der Psittakose (damals noch zur Gruppe der Psittakosis-Lymphogranuloma-Venerum-Trachoma-(PLT)-Gruppe gerechnet) in der Chorioallantoismembran sich entwickelnder Hühnerembryonen kultivierten. Fünf Jahre später gelang der Gruppe um RAKE (RAKE et al., 1940) die Vermehrung des Erregers des Lymphogranuloma venerum (heute *Chlamydia trachomatis*) in Dottersackzellen embryonierter Hühnereier. Nachdem in den folgenden Jahren auch die Anzucht anderer Chlamydien mit dieser Methode erfolgreich war, wurde sie routinemäßig in Laboren als Nachweisverfahren für Chlamydien eingesetzt. Die Embryonen sterben 4 bis 14 Tage nach Inokulation der Erreger, man fertigt Abklatschpräparate von den Dottersackmembranen an und kann mittels histologischer Färbungen, zum Beispiel nach Machiavello, Giménez, Giemsa oder modifizierte Ziehl-Neelsen (MZN) die EBs nachweisen (STORZ, 1971; MOULDER, 1984). Auch heute wird diese Embryo-Methode zum Teil noch angewandt, obwohl sie wesentliche Nachteile hat. Die Anzucht ist teuer und auf-

wändig und die Ergebnisse sind schlecht reproduzierbar (SACHSE et al., 2008). Die Anzüchtung ist immer dann zwingende Voraussetzung, wenn für weitergehende Studien der vollständige infektiöse Erreger benötigt wird.

Parallel zur Erregerkultivierung im embryonierten Hühnerei entwickelte sich die Zellkultur und ersetzte erstere ab 1970 zunehmend. Die erfolgreiche Vermehrung der Chlamydien in der Zellkultur ist abhängig von der verwendeten Zelllinie und der Chlamydienspezies. Nach der histologischen Färbung der Monolayer (z. B. Giemsa, Giménez, Machiavello) zeigen sich charakteristische intrazytoplasmatische Einschlüsse der verschiedenen Spezies, die erste Rückschlüsse auf das Isolat und seine Eigenschaften erlauben. *Chlamydia psittaci* kann in vielen Zellkulturtypen angezüchtet werden. Im Allgemeinen werden jedoch BGMK- (Buffalo green monkey kidney), Vero-, McCoy- oder L-Zellen benutzt (VANROMPAY, 1992, TADAY, 1998). Durch Zentrifugation des Inokulums auf die Zellen (WEISS und DRESSLER, 1960) kann die Infektionsrate erhöht werden (ANDERSEN und VANROMPAY, 2008). Der Effekt der Zentrifugation liegt dabei in der Veränderung der Konfiguration der Zellmembran und des Zytoskeletts aufgrund der Zentrifugalkraft (ALLAN und PEARCE, 1979). Durch die Verwendung bestrahlter Zellkulturen erreichten GORDON und QUAN (1965) eine verbesserte Vermehrung der Chlamydien in den Wirtszellen, deren Teilung durch die Bestrahlung gehemmt, die Kernteilung jedoch nicht behindert wurde. Die Kombination von Bestrahlung und Aufzentrifugation der Erregersuspension bei 1000 – 3000 x g und erhöhter Temperatur (bis 37 °C) wurde daraufhin in der Diagnostik der Chlamydieninfektionen eingesetzt (KRAUSS und SCHMEER, 1992). Auch die Behandlung der Zellkulturmedien mit verschiedenen chemischen Substanzen, die durch Hemmung der Nukleinsäure- und Proteinsynthese die Zellteilung der Wirtszellen hemmen und dadurch die Energiebereitstellung für die Vermehrung der Chlamydien erhöhen, führt zu einer Steigerung der Infektionsrate (KRAUSS und SCHMEER, 1992). Für die Behandlung eignen sich u.a. Cytochalasin B (SOMPOLINSKY und RICHMOND, 1974; IVINS und WYRICK, 1978), Cycloheximid (Actidion; ALEXANDER, 1968) oder Ioddesoxyuridin (WENTWORTH und ALEXANDER, 1974).

Nach 2-3 Tagen Inkubation bei 37 °C werden die Zellen mit Methanol fixiert und die Elementarkörperchen mittels histologischer Färbungen, indirekter Immunfluoreszenz oder der Immunperoxidase-Methode sichtbar gemacht. Ty-

pisch sind intrazytoplasmatische runde oder hutförmige Einschlüsse (SACHSE et al., 2008).

Der wesentliche Nachteil der Isolationsmethoden liegt in der Abhängigkeit aussagekräftiger Ergebnisse von einer adäquaten Aufbewahrung und einem optimalen Transport, um die Überlebensfähigkeit der Chlamydien im Probenmaterial zu gewährleisten. Des Weiteren können Kontaminationen der Proben mit Gram-negativen Bakterien zu falsch-positiven Resultaten führen.

Dennoch spielt die Isolation auch heute noch eine wichtige Rolle, wenn es um die Charakterisierung einzelner Isolate oder die Identifizierung von Spezies oder Subtypen geht. So führten erst die Untersuchung der Morphologie der Einschlüsse sowie die Vermehrungscharakteristika in der Zellkultur zur Einteilung von *Chlamydia psittaci* in acht Biotypen (SPEARS und STORZ, 1979).

3.2.2 Abstriche / Abklatsche und Gewebeproben

Wird eine Chlamydieninfektion vermutet, kann von Einzel- oder Sammelproben ein Abstrichpräparat angefertigt werden. Geeignet sind primär Pharynx- oder Nasentupferproben, aber auch Faezes, Kloakentupfer oder Konjunktivalgeschabsel (ANDERSEN, 2004). Die Abklatschpräparate und Abstriche können anschließend mit verschiedenen Verfahren, zum Beispiel mit der Giemsa-Färbung (GIEMSA, 1904), der modifizierten Macchiavello-Färbung (MACCHIAVELLO, 1937), der Stamp-Färbung (STAMP et al., 1950), der Giménez-Färbung (GIMÉNEZ, 1964), oder der modifizierten Ziehl-Neelsen (MZN)-Färbung (ZIEHL, 1882; ANDERSEN, 2004) gefärbt werden. Bei hochgradig Chlamydien-haltigen Proben können auf diese Weise relativ leicht Chlamydien in den Präparaten detektiert werden. Alle tinktorischen Methoden ermöglichen jedoch lediglich eine Genus-, aber keine Spezies- oder gar Subspeziesdiagnose.

Schwieriger wird es zudem, wenn nur wenige Erreger in der Probe enthalten sind. In diesem Fall kann die Sensitivität durch Verwendung Chlamydien-spezifischer Anti-LPS-Antikörper oder Spezies-spezifischer mAbs gegen das MOMP, die an Fluoreszein gekoppelt sind, erhöht werden. Dennoch sollten bei geringem Erregergehalt andere Nachweismethoden, zum Beispiel Immunoassays oder DNA-basierte Verfahren, wie die konventionelle

oder Real-time PCR, bevorzugt werden (SACHSE et al., 2008).

Als Alternative zu Abstrichen und Abklatschpräparaten können auch dünne Gewebeschnitte ($\leq 4 \mu\text{m}$) von Leber, Milz oder Lunge nach Giemsa oder anderen oben genannten Methoden gefärbt werden. Der Nachweis ist jedoch nur Genus-spezifisch und es besteht die Gefahr einer Kreuzreaktion mit anderen Bakterien, die ein LPS besitzen. Auch hier erhöht die Verwendung von mAbs, die direkt gegen Oberflächenantigene wie LPS oder MOMP gerichtet sind, die Sensitivität und Spezifität der Analyse (SACHSE et al., 2008).

3.2.3 Immunoassays

Die meisten kommerziell erhältlichen Antigen-Detektionstests wurden primär zum Nachweis von *Chlamydia trachomatis* beim Menschen entwickelt, sind jedoch auch für den Nachweis von Chlamydien-Infektionen bei Tieren mit anderen Chlamydien geeignet, da sie auf dem Familien-spezifischen LPS-Antigen basieren (SACHSE et al., 2008). Zu den Immunoassays zählen direkte Fluoreszenz-Antikörpertests sowie ELISA-Verfahren. Wesentlicher Vorteil dieser Methoden ist neben der Zeitersparnis vor allem, dass sowohl vermehrungsfähige als auch nicht (mehr) vermehrungsfähige EBs und lösliches LPS-Antigen nachgewiesen werden können (ANDERSEN und VANROMPAY, 2003; SACHSE et al., 2008). Allerdings variieren Spezifität und Sensitivität erheblich in Abhängigkeit von der Art der Probe, dem Erregergehalt und den verwendeten Antikörpern, so dass sie in der Veterinärmedizin nur selten benutzt werden.

3.3 Antikörpernachweis

Der Antikörpernachweis wird vielfältig eingesetzt. Er dient zum einen der Bestätigung einer klinischen apparenten Erkrankung bzw. der An- oder Abwesenheit einer Chlamydien-Infektion, zum anderen erlaubt er epidemiologische Erhebungen über Prävalenzen oder Aussagen über den Immunstatus der Tiere nach Vakzinationen (SACHSE et al., 2008). Zu den Nachweismethoden bei Vögeln gehören im Wesentlichen der indirekte (Micro-) Immunfluoreszenztest (MIF), (WANG und GRAYSTON, 1970), mit dem Immunglobulin G-, IgM- und IgA-

Antikörper erfasst werden, der Komplementfixationstest (CF) insbesondere bei Taubenseren (BEDSON, 1937), der Agargelpräzipitationstest (KRAUSS et al., 1975), verschiedene indirekte ELISAs (SCHMEER, 1982; RUPPNER et al., 1984) sowie diverse Methoden der „elementary body agglutination“ (EBA) (GRIMES, 1986; BIENDL und GERBERMANN, 1988).

Allerdings muss bedacht werden, dass eine positive Serologie alleine aufgrund der hohen Prävalenz der Chlamydien bei Vögeln sowie der langen Persistenz der Anti-Chlamydienantikörper keine absolute Bestätigung einer akut bestehenden Infektion darstellt. Auch können falsch-negative Ergebnisse resultieren, wenn die Proben vor der Serokonversion gewonnen wurden oder die Immunantwort durch eine Behandlung mit Antibiotika reduziert ist (BECKMANN und VANROMPAY, 2008; SACHSE et al., 2008). Deshalb sollte zur Verifizierung einer akuten Infektion immer auch ein Antigen- oder Gennachweis erfolgen. Alternativ erhöhen gepaarte Serumproben die Aussagekraft serologischer Untersuchungen, was jedoch in dringenden Fällen zu lange dauert. Im Allgemeinen gilt ein vierfacher Titeranstieg als Bestätigung einer Infektion (Chlamydiose-Report der Europäischen Kommission, 2002; ANDERSEN und VANROMPAY, 2003).

Bei klinisch inapparenten Vögeln dagegen kann zwar eine Erregerausscheidung über den Intestinaltrakt erfolgen, der Antikörpergehalt im Blut aber zu gering sein, um einen gesicherten Nachweis zu erbringen (LONGBOTTOM und COULTER, 2003). Aus diesem Grund spielt der Nachweis von Antikörpern gegen Chlamydien in der klinischen Krankheitsdiagnostik nur eine untergeordnete Rolle und dient daher primär epidemiologischen Studien (VANROMPAY et al., 1995).

3.3.1 (Micro-) Immunfluoreszenztest (MIF)

Der MIF-Test wurde 1970 von WANG und GRAYSTONE als Nachweis von *Chlamydia trachomatis* beim Menschen entwickelt, eignet sich aber auch für die Klassifizierung von Chlamydien tierischen Ursprungs (EB und ORFILA, 1982) und für die Serotypisierung aviärer Isolate (ANDERSEN, 1991). Dabei werden Elementarkörperchen der jeweiligen Chlamydienspezies aufgereinigt und zum Nachweis Genus-spezifischer Antikörper im Serum verwendet, wo-

durch eine Differenzierung der Chlamydien bei Koinfektionen mit mehreren Spezies möglich wird (DIFRANCESCO et al., 2006). Mittels gekoppelter Fluoreszenzmarker kann dann eine erfolgreiche Bindung nachgewiesen werden. Da der Test sowohl Antikörper der Klassen IgG als auch IgM detektiert, ist diese Methode sensitiver als der Komplementfixationstest (s.u.) und wurde als Referenzverfahren empfohlen, zumal kommerzielle Untersuchungskits erhältlich sind. Eine neuere Studie lässt aber Zweifel an der Eignung des Tests zur Diagnose der aviären Psittakose aufkommen (VERMINNEN, 2008).

3.3.2 Komplementbindungsreaktion (KBR)

Die Komplementbindungsreaktion ist der erste LPS-basierte Assay und wird am häufigsten in veterinärmedizinischen Laboren für die Untersuchung von Seren aus Tauben verwendet. Einer Serumprobe wird dabei ein definiertes Antigen, in diesem Fall das gruppenreaktive Lipopolysaccharid-Antigen (LPS), zugesetzt, das mit den im Serum enthaltenen Antikörpern einen Komplex bildet. Gibt man Komplement hinzu, wird dieses verbraucht, so dass keine Hämolysen der hinzugefügten Erythrozyten stattfindet. Eine Reduktion der Zelllyse um 50 % oder mehr gilt als positives Ergebnis. Für den Nachweis von Antikörpern gegen *Chlamydia psittaci* ist für die KBR eine Spezifität zwischen 83 und 98,1 % (VRETOU et al., 2007) und eine Sensitivität von 96,4 % (MC CAULEY et al., 2007) angegeben worden. Allerdings variiert die Struktur des LPS je nach Spezies, so dass eine definierte LPS-Komposition äußerst wichtig ist. Obwohl die KBR häufig eingesetzt wird, birgt sie einige Nachteile (ANDERSEN und VANROMPAY, 2008). Zum einen ist das Testantigen nicht kommerziell erhältlich, sondern muss aufwändig hergestellt werden (Anzucht der Chlamydien in der Zellkultur, Inaktivierung, partielle Aufreinigung des Antigens und Suspension in einem geeigneten Puffer), was den Einsatz bei großem Probenumfang problematisch macht. Zum anderen binden die Immunglobuline einiger kleiner Psittazidenarten gar kein Komplement. Einen weiteren Nachteil stellt die Tatsache dar, dass die KBR nur die frühen IgM- und IgG₁-Antikörper nachweist, die bei einer akuten, klinisch manifesten Infektion gebildet werden (GEENS et al., 2005a). Bei chronischen oder klinisch inapparenten Infektionen

dominieren dagegen IgG₂-Antikörper, weswegen eine Differenzierung dieses Infektionsstadiums nicht möglich ist.

Um den technischen Aufwand des Testverfahrens zu reduzieren, haben MAGNINO et al. (2005) eine automatisierte Version des Komplementfixationstests zur Diagnose einer *Chlamydia abortus*-Infektion bei Schafen und Ziegen entwickelt. Das Seramat-System besteht aus einem automatischen Prozessor und einem diagnostischen Kit, das gelöstes Antigen, gebrauchsfertiges Komplement, Hämolyysin und stabilisierte Erythrozyten enthält. Das Antigen wird mittels Glyzinsäure-Extraktion aus LLMCK-Zellen, die mit *Chlamydia trachomatis* LGV-2 infiziert sind, extrahiert. Alle Reaktionsschritte erfolgen automatisch, und das Ergebnis wird als Endpunkt-Verdünnungstiter dargestellt. Die Studie von MAGNINO et al. (2005) hat gezeigt, dass die Übereinstimmung zwischen einem manuellen und dem automatischen CF-Test gut ist. In 13 % der untersuchten Proben stimmten die Ergebnisse beider Verfahren jedoch nicht überein, was bei der Beurteilung berücksichtigt werden muss.

3.3.3 Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

Die Einführung empfindlicher, indirekter Immuntests vor zirka 25 Jahren stellte eine wesentliche Verbesserung der Serodiagnose aviärer Chlamydiosen dar. Im Vergleich mit der KBR detektieren ELISA etwa ein Achtfaches an positiven Proben.

Das Prinzip des ELISA beruht auf der Bindung eines Antikörpers an ein spezifisches Antigen, die von einem Enzym-gekoppelten Sekundärantikörper detektiert wird. Nach Zugabe eines Substrates, welches von dem Enzym umgesetzt wird, kann aufgrund der Intensität der folgenden Farbreaktion auf die Menge an Antigen-Antikörper-Komplex geschlossen werden.

Entscheidender Vorteil dieses Verfahrens ist, dass sich durch Verwendung eines L-Ketten-spezifischen Enzymkonjugates alle Immunglobulinklassen gleichzeitig nachweisen lassen, durch den Einsatz klassenspezifischer Enzymkonjugate jedoch auch eine Differenzierung der Immunglobuline möglich ist, wodurch Rückschlüsse auf den Infektionsstatus gezogen werden können (KRAUSS und SCHMEER, 1992). Als Antigen eignen sich sowohl partikuläre als auch mit Natriumdesoxycholat oder Hitze extrahierte Genus-spezifische

Chlamydienantigene (SCHMEER et al., 1983). Erstere haben den Vorteil, dass zusätzlich zu den Genus-spezifischen Antigenen noch andere, typspezifische Zellwandantigene erkannt werden. Da die Bildung Genus-spezifischer Antikörper auf bestimmte Infektionsphasen begrenzt sein kann (SCHMEER et al., 1987), erhöht sich somit die Sensitivität des Verfahrens.

Im Allgemeinen kommen zwei Verfahren des ELISA zum Einsatz.

Der rekombinante ELISA (rELISA) wurde Mitte der 90er Jahre als Alternative zur KBR beschrieben (GRIFFITH et al., 1996; KALTENBOECK et al., 1997) und basiert auf einem deacylierten, BSA-konjugierten Antigen mit zwei Epitopen, dem $\alpha 2 \rightarrow 4$ gebundenen Disaccharidanteil und dem (2 \rightarrow 8) gekoppelten Chlamydien-spezifischen Epitop.

Beim kompetitiven ELISA (cELISA) nutzt man die Bindung spezifischer monoklonaler Antikörper (mAB) an ein Antigen, die in Gegenwart von Serumantikörpern inhibiert wird. Dabei hängt die Inhibition jedoch wesentlich von der Quantität und Qualität (Affinität) der konkurrierenden Antikörper ab. Als Antigen eignet sich unter anderem das Major Outer Membrane Protein (MOMP). Allerdings zeigt eine Studie über zwei Jahre mit Schafen, dass die Anti-MOMP-Titer nicht zwangsläufig signifikant ansteigen und nach Vakzination mit einer Lebendvakzine individual-spezifisch und von einer natürlichen Infektion nicht zu unterscheiden sind (GERBER et al., 2007).

Seit einigen Jahren gibt es auch kommerziell erhältliche ELISA-Kits für den Nachweis von Antikörpern gegen *Chlamydia psittaci* in Vögeln. Alle diese Tests sind sehr sensitiv, aber wenig spezifisch, da sie häufig auf der Verwendung des gesamten Erregerorganismus, des LPS oder den Membranbestandteilen des LPS basieren. Dabei besteht die Gefahr falsch-positiver Ergebnisse aufgrund der Ähnlichkeit des chlamydialen LPS mit einigen Epitopen Gram-negativer Bakterien, wodurch es zu Kreuzreaktionen kommen kann. Durch sorgfältige Auswahl der mABs kann dieses Problem deutlich reduziert werden. Für die Diagnose von Infektionen mit *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia pneumoniae* und *Chlamydia abortus* gibt es inzwischen kommerzielle Peptid-basierte ELISA-Systeme oder solche, die ein rekombinantes LPS verwenden. Ihre Genauigkeit ist mit der des MIF-Testes vergleichbar, sie sind im Gegensatz dazu aber weniger zeit- und kostenintensiv und einfacher durchzuführen (ANDERSEN und VANROMPAY, 2008).

Dieses Prinzip könnte in der Zukunft auch für die Diagnose von *Chlamydia psittaci* hilfreich sein.

VERMINNEN et al. (2006) verglichen einen kompetitiven, einen indirekten und einen rekombinanten ELISA bei der Detektion von Antikörpern gegen *Chlamydia psittaci* im Serum von Puten miteinander (VERMINNEN et al., 2006). Beim cELISA wurde ein Enzym-konjugierter monoklonaler Antikörper gegen das chlamydiale Lipopolysaccharid verwendet. Die Ergebnisse ergaben eine Sensitivität von 99,4 %, jedoch eine sehr geringe Spezifität (2,7 %). Der indirekte ELISA basierte auf der Bindung von Serumantikörpern an einen Membranprotein-Komplex mit einem Lipopolysaccharid- und einem Lipoglykoproteinanteil. Die Sensitivität lag dabei bei 82,2 %, die Spezifität hingegen bei 100 %. Im dritten Verfahren wurden MOMP-spezifische Antikörper mit Hilfe eines rekombinanten MOMP nachgewiesen, wobei sowohl Sensitivität als auch Spezifität bei 100 % lagen. Damit hat sich diese Methode als die effektivste herausgestellt. Allerdings ist sie nicht Spezies-spezifisch, da das rekombinante MOMP, das von transient transfizierten COS7-Zellen produziert wurde, alle vier variablen sowie auch konservierte Domänen enthält. Damit werden alle Angehörigen des Genus *Chlamydia* detektiert. Nichtsdestotrotz eignet sich der rMOMP-ELISA zur Diagnose der aviären Chlamydiose, da Vögel überwiegend mit *Chlamydia psittaci* infiziert werden und somit ein positives Testergebnis immer ein Hinweis auf eine Infektion mit dieser Subspezies ist. Allerdings ist zu erwähnen, dass *Chlamydia pneumoniae*, primär beim Menschen, beim Pferd und beim Koala vorkommend, sowie *Chlamydia abortus*, Aborterreger bei Wiederkäuern und Schweinen, auch aus dem Kot sowie aus Organproben verschiedener Psittaziden isoliert werden konnten (SIEMERS, 1999; STRAUß-THEIS, 2005).

3.4 DNA-Amplifizierungsmethoden

Einen wesentlichen Fortschritt in der Diagnostik der Chlamydiose stellte die Einführung molekularer Methoden dar, da ein direkter Erregernachweis aus klinischen Proben möglich ist und der Zeitaufwand bis zur Diagnosestellung dadurch auf einen Tag reduziert werden kann.

3.4.1 Konventionelle Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

Mittels PCR ist eine genaue, DNA-basierte Differenzierung zwischen den einzelnen Spezies möglich, wobei in den Literaturberichten vor allem zwei Genomsequenzen zur Amplifikation herangezogen werden; zum einen das ribosomale RNA-Operon (EVERETT et al., 1999; MADICO et al., 2000), zum anderen das für das MOMP-Antigen kodierende *ompA*-Gen (KALTENBOECK et al., 1997a; YOSHIDA et al., 1998). Das MOMP-Antigen besteht aus vier variablen Domänen (VD1-VD4), die jeweils von einer konservierten Region flankiert werden. In letzterer werden Genus- und Spezies-spezifische Merkmale kodiert, während sich Serovar-spezifische Informationen auf den variablen Teilen, vor allem auf VD2 und VD4, befinden. Aufgrund dieser heterogenen Struktur eignet sich das *ompA* sehr gut sowohl für die Diagnostik als auch für Differenzierungsassays innerhalb der Spezies (SACHSE et al., 2008).

Allerdings hängt die Sensitivität der PCR wesentlich von der Menge und Qualität der extrahierten DNA ab. Eine adäquate DNA-Extraktion aus klinischen Proben erfordert eine effektive Gewinnung der Nukleinsäuren, die Entfernung vorhandener DNA-Inhibitoren, Vermeidung einer Nukleinsäuredegeneration und die Sicherstellung einer ausreichenden Konzentration. Aufgrund der häufig sehr stabilen äußeren Hülle ist die DNA-Gewinnung von Bakterien schwieriger als bei Viren oder Säugetieren. Durch physikalische Anreicherungsverfahren, wie zum Beispiel durch Filtration, Zentrifugation oder immunomagnetische Konzentration, kann die Sensitivität deutlich erhöht werden (ANDERSEN und VANROMPAY, 2008).

SACHSE und HOTZEL (2003) beschreiben einen optimierten „**nested PCR-Assay**“ (verschachtelte PCR, Abbildung 15), der auf dem von KALTENBOECK (1997) entwickelten Primersystem basiert. Dabei wird während der ersten Amplifikation ein Genus-spezifisches *ompA*-Produkt (576-597 bp) generiert, das im folgenden Schritt als Template für einen Spezies- und einen Genus-spezifischen Primer dient. Das Endprodukt ist ein *Chlamydia psittaci*-spezifisches Amplikon mit der Größe von 389-404 bp.

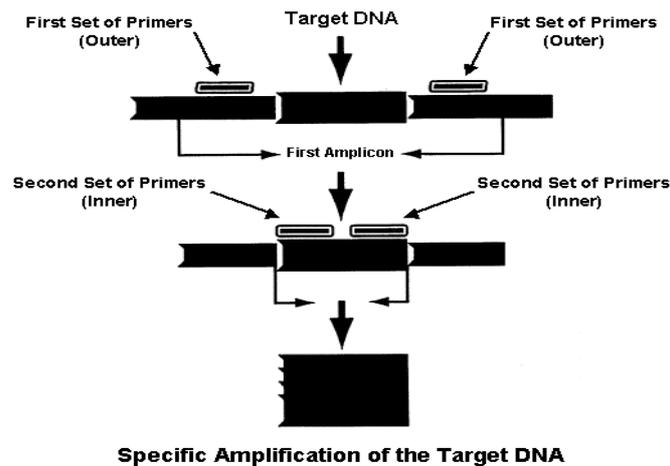


Abbildung 15: Schema der "nested PCR" (SACHSE und HOTZEL, 2003)

Auch wenn sich dieser Assay als sehr geeignet für die Routinediagnostik erwiesen hat, bedeutet die Tatsache, dass die Primer auf der Grundlage der heute veralteten Vier-Spezies-Klassifikation entwickelt wurden, eine massive Einschränkung (SACHSE et al., 2008). HARTLEY et al. (2001) schlagen ein PCR-System vor, dass mit Hilfe des *ompB*-Gens ein familienspezifisches Produkt erstellt. Dieses kann, nach Restriktionsenzymanalyse und / oder einem enzymgekoppelten Oligonukleotidassay, die meisten Chlamydienspezies nach der neuen Klassifizierung identifizieren.

Im Gegensatz zu den *omp*-basierten Verfahren nutzen MADICO et al. (2000) 16S- und 16S-23S Spacer-rRNA-Gene zum Nachweis von *Chlamydia trachomatis*, *C. pneumoniae* und *C. psittaci* mittels einer so genannten Touch-down Enzyme Time Release (TETR)-PCR. Die Primer binden an die heterogensten Zielsequenzen in den Genen und können aufgrund ihrer unterschiedlichen Länge auch parallel in einer Triplex-PCR eingesetzt werden. Die hohe Sensitivität dieser Methode resultiert aus vier wesentlichen Charakteristika. Zum einen dient eine Hot-Start-Polymerase der Vermeidung von Artefakten beim Pipettieren vor der Amplifikation, da sie erst bei einer hohen Temperatur aktiv wird. Außerdem kann bei der TETR-PCR auf Dimethyl-Sulfoxid verzichtet werden, das bislang für die Koamplifikation mehrerer DNA-Targets benötigt wurde, jedoch die Taq-Polymerase hemmt. Des Weiteren wird durch ein

„touchdown protocol for annealing temperatures“ die Spezifität der Primerbindung optimiert, indem die Annealing-Temperatur von hoch nach niedrig abgesenkt wird. Ein „enzyme time release protocol“ erhöht die Zahl der Amplifikationszyklen auf 60 (im Gegensatz zu 30-35 bei der konventionellen PCR), da die Polymerase schrittweise aktiviert wird.

Tabelle 13: Konventionelle PCR-Methoden für Chlamydien (SACHSE et al., 2008)

Specificity	Primer and sequence (5'-3')	Amplicon size (bp)	Target gene	Reference (Remarks)
Chlamydiaceae	16S-FCh: ACGGAAATGACTTCGG 16S-RCh: TACTGGTACGCTCAATT	436	16S rRNA	Messmer et al. (1997) (Nested PCR system with inner primers for <i>C. trachomatis</i> , <i>C. pneumoniae</i> and <i>C. psittaci</i>) ^a
Chlamydiaceae	16SF2: CGCCCGTCACATCATGG 23R: TACTAAGATGTTTCAGTTC	585-600	16-23S spacer region	Everett and Andersen (1999) (Identification of species via REA)
Chlamydiales	dGS-1f: CAAGGTGAGGCTGATGAC dGS-2r: TCGCCTKCAATGCCAAG	352	16-23S spacer region	Borel et al. (2006a)
Chlamydiaceae	191CHOMP: GCI YTI TGG GAR TGY- GGI TGY GCI AC CHOMP371: TTA GAA ICK GAA TTG- IGC RTT IAY GTG IGC IGC	576-597	ompA	Kaltenboeck et al. (1997b), Sachse and Hotzel (2003) (Nested PCR system with inner primers for <i>C. psittaci</i> , <i>C. pecorum</i> , <i>C. trachomatis</i> and <i>C. pneumoniae</i>) ^a
Chlamydiaceae	dGS-1f: CAAGGTGAGGCTGATGAC dGS-1r: AGTGGTCTCCCAAGATTC	750	16-23S spacer region	Lutz-Wohlgröth et al. (2006)
Chlamydiaceae	Ch1: ATGTCCAACTCATCAGACGAG Ch2: CCTCTTTMAGAGGTTTTACC	603	omp2	Hartley et al. (2001) (Identification of species via REA or enzyme-linked oligonucleotide assay)
Chlamydiaceae	16SF2: CGCCCGTCACATCATG 23R: TACTAAGATGTTTCAGTTC	585-600	16-23S rRNA	Everett and Andersen (1999) (Identification of all chlamydial species via REA)
Chlamydiales	23SAPF2: GAACTGAAACCAAGTAGC 23APR: CTGGCTCATCATGCCAAMGG	92	23S	Solidati et al. (2004)
<i>C. felis</i>	23APFeIF: CGCGGAGCGAAGGGGATT 23APFeIR: GGCACCGCTCAACCAATTG	369	23S	von Bombard et al. (2003)
<i>Chlamydia psittaci</i> ^b	CPS 100: CCCAAGGTGAGGCTGATGAC CPS 101: CAACCGTCTAAGACAGTTA	111	16-23S spacer region	Medico et al. (2000) ^b
<i>Chlamydia trachomatis</i>	CTR 70: GCGGTATTTGGGCATCCGAGTAACG CTR 71: TCAATCCAGCGGGTATTACCCGCTT	315	16S rRNA	Medico et al. (2000) ^b
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	CPN 90: GGTCTCAACCCCATCCGTGTCGG CPN 91: TCGCGAAGGCTGATTTCTACAGTT	197	16S rRNA	Medico et al. (2000) ^b
<i>Chlamydia psittaci</i> ^b	CpsiA CpsiB	ca. 300	pmp genes	Laroucau et al. (2007)

a Based on four-species classification of the family Chlamydiaceae.

b Also used as multiplex assay for *Chlamydia trachomatis*, *C. pneumoniae* and *Chlamydia psittaci*.

Auf diese Weise verbessert sich die analytische Sensitivität der PCR ganz entscheidend. Sie beträgt bei der TETR-PCR 0,004-0,063 infection-forming units (IFU) pro PCR-Reaktion gegenüber 0,1-4 IFU pro PCR-Reaktion bei einer konventionellen PCR mit 35 Zyklen. Schließlich besitzt die TETR-PCR noch die Möglichkeit, mehrere DNA-Sequenzen mit verschiedenen Primern gleichzeitig zu amplifizieren (MADICO et al., 2000).

Bereits 2001 berichteten LAROUCAU et al. über eine erhöhte Sensitivität der PCR bei der Diagnose der aviären Chlamydiose durch Primer (CpsiA / CpsiB), deren Zielregion konservierte *pmp* (polymorphic membrane protein)-Gene von *C. abortus* sind. Diese Genfamilie ist beschränkt auf *Chlamydiaceae* und konnte in allen bislang sequenzierten Genomen nachgewiesen werden. Ihre Funktion ist zwar bisher unbekannt, jedoch scheinen sie in der äußeren Membran lokalisiert zu sein (LAROUCAU et al., 2007). In einer Folgestudie (2007) überprüfte diese Arbeitsgruppe die Effektivität des Verfahrens bei der Untersuchung klinischer Proben auf sechs repräsentative *Chlamydia psittaci*-Serovare (Serovar A-F) und Feldisolate. Dabei zeigte sich, dass die *pmp*-PCR der PCR mit *omp* als Zielgen hinsichtlich Sensitivität und Spezifität deutlich überlegen ist und mit der auf den 16S und 16S-23S spacer rRNA-basierten Methode vergleichbar oder sensitiver reagiert. Auch wenn das Genom von *C. psittaci* 6BC noch nicht vollständig entschlüsselt worden ist, können mit den CpsiA/CpsiB-Primern sieben *pmp*-Gene dieses Stammes amplifiziert werden.

3.4.2 Nested PCR-EIA

Um die konventionelle PCR zu vereinfachen und weniger arbeitsintensiv zu gestalten, entwickelten VAN LOOCK et al. (2005) einen „nested PCR-enzyme immunoassay“ (PCR-EIA) zum Nachweis einer *C. psittaci*-Infektion. Diese Methode wurde vorher bereits erfolgreich bei der Untersuchung humaner Proben aus dem Respirationstrakt zur Detektion von *C. pneumoniae* angewandt (GAYDOS et al., 1993; GAYDOS et al., 1994; JANTOS et al., 1998).

Zunächst wird mittels „nested PCR“ ein mit Fluoreszin und Biotin doppelt gelabeltes PCR-Produkt (472 bp) erstellt, das im zweiten Schritt an eine mit Streptavidin beschichtete Mikrotiterplatte gebunden und mittels eines Anti-

Fluoreszin-Peroxidasekonjugates und eines kolorimetrischen Substrats dargestellt wird.

Die Autoren geben die Sensitivität des Verfahrens mit 0,01 (Referenzstämme) bis 0,1 (Feldproben) IFU bei einer Spezifität von 100 % an (VAN LOOCK et al., 2005).

3.4.3 RFLP-PCR

Der Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus (restriction fragment length polymorphism, RFLP, Abbildung 16) beschreibt die Tatsache, dass in der DNA verschiedener Individuen Veränderungen auftreten können. Nach dem PCR-Prozess werden die Produkte durch Restriktionsenzyme (Endonukleasen) verdaut, die an definierten Schnittstellen angreifen und das Amplifikat in zwei Fragmente teilen. Mutationen an der Schnittstelle, Insertionen oder Deletionen in diesem DNA-Anschnitt führen dazu, dass Fragmente variabler Länge entstehen, die mittels Gelelektrophorese aufgetrennt und sichtbar gemacht werden können (GRÜNTZIG et al., 2002).

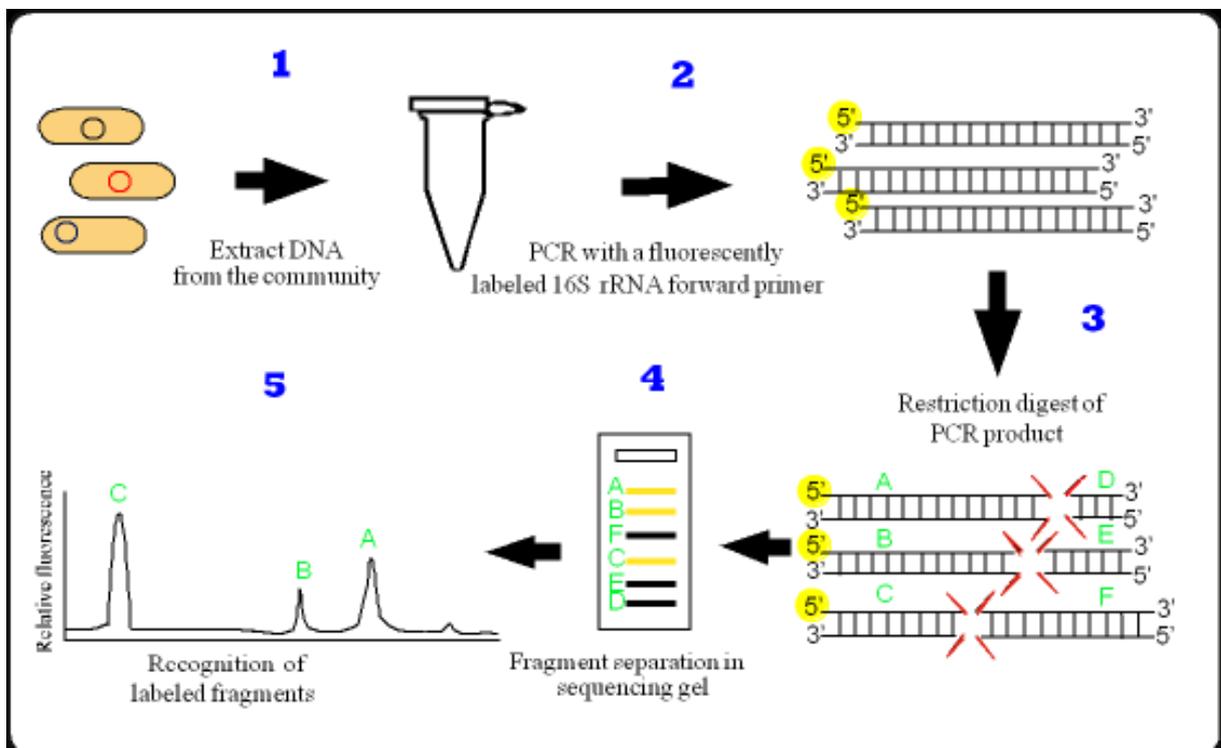


Abbildung 16: Schema der RFLP-PCR (GRÜNTZIG et al., 2002)

Bereits 1999 beschrieben EVERETT und ANDERSEN (1999b) die Identifikation der damals bekannten neun Spezies der Gattung *Chlamydiaceae* sowie die Abgrenzung dieser gegenüber Mykoplasmen durch die PCR-RFLP. Auch eine Differenzierung zwischen den verschiedenen aviären Stämmen ist mit Hilfe einer anschließenden Sequenzanalyse des *ompA*-Gens möglich (GEENS et al., 2005). Diese Methode hat außerdem den Vorteil, dass neue Isolate charakterisiert und in epidemiologischen Studien Stämme mit geringfügigen DNA-Veränderungen zurückverfolgt werden können.

3.4.4 Real-time PCR

Mit konventionellen PCR-Verfahren gelingt nur ein Nachweis der An- oder Abwesenheit eines Pathogens, während mit der Real-time PCR auch eine Quantifizierung der Erregermenge in einer Probe möglich ist. Da die Probengefäße während des Prozesses nicht geöffnet werden müssen, werden Sekundärkontaminationen vermieden und der Assay kann schneller und mit einem höheren Probendurchsatz durchgeführt werden.

Das Prinzip der Real-time PCR beruht auf der Quantifizierung von laserinduzierten Fluoreszenzsignalen, die während der PCR-Zyklen gemessen werden (WILHELM, 2003). Dazu werden, zusätzlich zu den spezifischen Primern, ein oder zwei sequenzspezifische Hybridisierungssonden in den PCR-Ansatz gegeben, die mit unterschiedlichen Donor- bzw. Akzeptorfarbstoffen markiert sind. Wird nun die Sonde durch Licht einer definierten Wellenlänge angeregt, überträgt sich die Fluoreszenz-Emission des Donorfarbstoffes auf den Akzeptorfarbstoff und wird dort unterdrückt (Quencher; Taqman-Technologie, Abbildung 17) oder emittiert (LightCycler-Technologie). Diesen Vorgang bezeichnet man als Fluoreszenz-Energietransfer (FRET). Er findet nur nach spezifischer Hybridisierung zwischen Sonde und Zielsequenz statt. Die Quantifizierung erfolgt dann über den Anstieg des Fluoreszenzsignals, das proportional zur Menge des amplifizierten PCR-Fragments steigt (WILHELM, 2003).

Im Bezug auf die Sensitivität ist diese Methode vergleichbar mit der „nested-PCR“, hat aber den wesentlichen Vorteil, dass das Reaktionsgefäß nach der Reaktion („post-PCR“) nicht mehr geöffnet werden muss und daher Kontaminationen („carry-over“) vermieden werden. Da Primer und markierte Hybridi-

sierungssonden parallel angewandt werden, ist die Bestätigungsreaktion integraler Bestandteil der Real-time PCR (BUSCH, 2007).

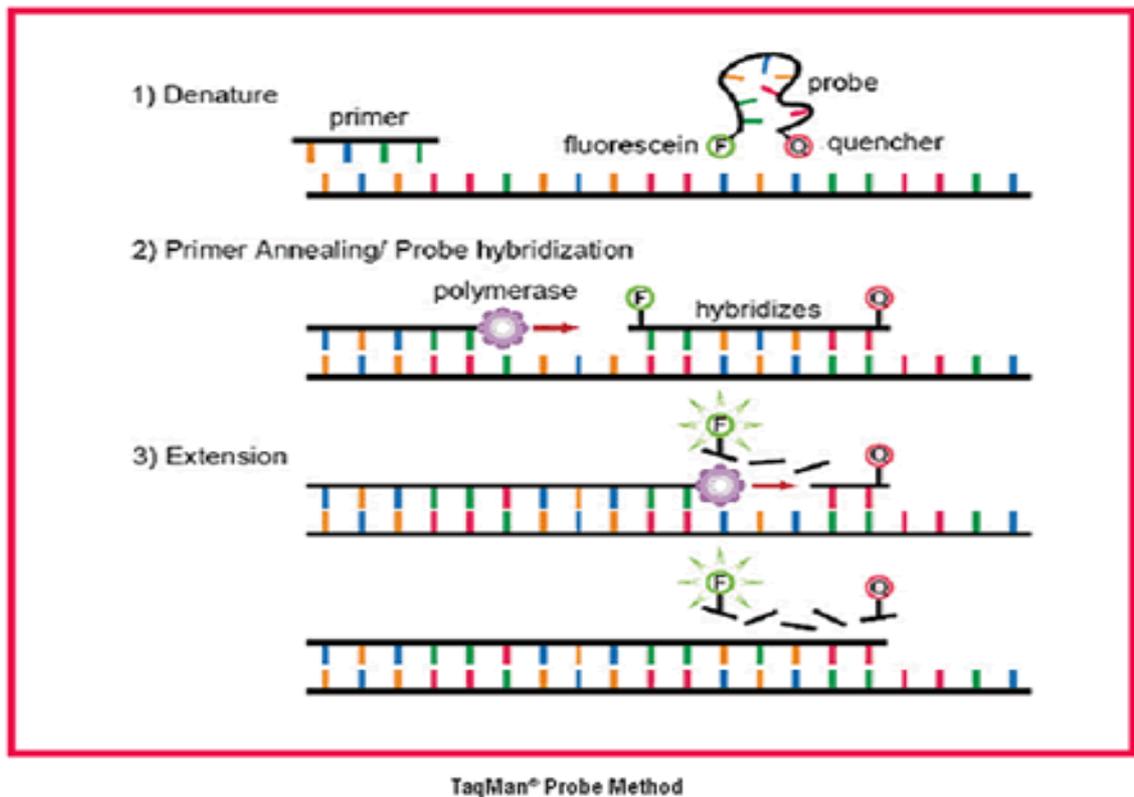


Abbildung 17: Schema einer Real-time PCR (Taqman-Methode)

(www.takarabio.us/images/PCR_TMP.gif)

Im Gegensatz zur konventionellen PCR dient bei den Familien-spezifischen Real-time PCR-Assays häufig das 23S rRNA-Gen als Zielsequenz. Gut validiert und für die Routinediagnostik getestet sind die Methoden von EVERETT et al. (1999a), DE GRAEVES et al. (2003) und EHRIGHT et al. (2006). Dabei ist das Detektionslimit abhängig von der Integrität der Ziel-DNA (EHRIGHT et al., 2006), da aufgrund von Strangbrüchen und partieller Degeneration der DNA während des Extraktionsprozesses Verluste nicht zu vermeiden sind.

DE GRAEVES et al. (2003) entwickelten eine sehr komplexe Real-time PCR-Plattform, die sich durch ein optimiertes DNA-Extraktionsprotokoll mit hohem Template-Ertrag und einer hohen Durchsatzrate auszeichnet. Das System basiert auf der LightCycler-Technologie und ermöglicht einen Erregernachweis auf Genus- sowie Spezieslevel. Durch Zugabe einer Reversen Transkriptase

zum Reaktionsansatz kann die gleichzeitig isolierte RNA in zusätzliche DNA umgeschrieben werden.

Auch GEENS et al. (2005a) verwenden die LightCycler-Technologie basierend auf der Messung von SYBR-Green zur Detektion des rDNA ribosomalen Spacers von *Chlamydia psittaci* und kreierten individuelle Tests zur Differenzierung zwischen den einzelnen Genotypen (A, B, C, D, E, F und E/B). Allerdings ist die Unterscheidung zwischen den sehr nahe verwandten Genotypen A, B und E mit dieser Methode nicht möglich. Dies gelingt jedoch, wenn man in einem Reaktionsansatz nicht-fluoreszierende, kompetitive Oligonukleotide parallel zu TaqMan-Sonden einsetzt und so deren Spezifität erhöht.

Auf der Grundlage charakteristischer Teilstücke des *ompA*-Gens präsentierten PANTCHEV et al. (2009) kürzlich getrennte Assays mit hochspezifischen MGB-Sonden (minor groove binding, (MGBTM)). Diese gehen eine sehr stabile Bindung zu ihrem Ziel-Template ein, wodurch Unterschiede einzelner Nukleotide gezielt für eine Differenzierung genutzt werden können. Auf diese Weise gelang den Autoren die Identifikation von 18 aus 26 Stämmen sowie die Abgrenzung von *C. psittaci* gegenüber *C. abortus*, die aufgrund der engen Verwandtschaft beider Spezies problematisch ist.

Des Weiteren entwickelte PANTCHEV (2010) einen Real-time PCR-Assay auf Basis des 23S-rRNA-Gens, der aufgrund einzelner Nukleotidabweichungen (single nucleotide polymorphism, SNP) eine Unterscheidung aller 26 untersuchten Stämme ermöglichte. Bei beiden Methoden lag die Nachweisgrenze bei 8-80 Chlamydienpartikeln bzw. 4-40 Einschlusskörperchen-bildenden Einheiten pro PCR-Ansatz.

Tabelle 14 gibt einen Überblick über die Real-time PCR-Methoden für Chlamydien.

Mit einer Kombination von Real-time PCR und „High-Resolution Melt (HRM) Analysis“ diagnostizierten und genotypisierten MITCHELL et al. (2009) gezielt *Chlamydia psittaci*. Diese Methode, die erstmals im Jahr 2002 von der Arbeitsgruppe um Dr. Carl Wittwer und Dr. Karl Voelkerding des Pathologischen Instituts der Universität Utah entwickelt wurde, erlaubt nach Aussage der Autoren einen umfassenderen Einblick in die Heterogenität der Spezies als bisherige Diagnoseverfahren.

Tabelle 14: Real-time PCR-Methoden für Chlamydien (SACHSE et al., 2008)

Specificity	Primers, probe and sequences (5'-3')	Amplicon size (bp)	Target gene	Reference
Chlamydiaceae	TQF: GAAAGAACCCCTGTTAAGGGAG TQR: CTTAACTCCCTGGCTCATG FAM-CAAAGGCCACCCGTCAC-TAMRA	129-132	23S rRNA	Everett et al. (1999b)
Chlamydiaceae	Ch23S-F: CTGAACCAGTAGCTTATAGCGGT Ch23S-R: ACCTCGCGTTTAACTTAACTCC Ch23S-p: FAM-CTCATCATGCAAAAGGCCACCGCG-TAMRA	111	23S rRNA	Biricht et al. (2006)
Chlamydiaceae	ChL23SUP: GGGTTGTAGGGTYGAGRAIAWRRGATC ChL23DN: GAGAGTGGTCTCCCAAGATTCARACTA ChL23LCR: LCRed640-CCTGAGTAGRRCTAGACACGTGAAAC-phosphate CP23FLU: ACGAAARACARAGACKTAWTCGAT-6-FAM	168	23S rRNA	DeGraves et al. (2003b)
Chlamydia psittaci ^a , C. pneumoniae, C. pecorum	CPN23FLU: ACGAAAMACAAAGACCGCTAATCGAT-6-FAM CTR23FLU: ACGAAMGAGAKMAGACYGACCTCAC-6-FAM			
Chlamydia trachomatis	GpF55Ior: TTATTAGACCTATTGGTGGATGCC GpF55Srev: AACGTATMTGCTAGATGATTACTATCCG	151	ompA	Geens et al. (2005b) ^b
C. psittaci	CppsOMPI-F: CACTATGTGGAMGGTGCITCA CppsOMPI-R: CTGCCGGATGCTATGG CppsOMPI-S: FAM-CGCTACTTGGTGTGAC-TAMRA	76	ompA	Bantchev et al. (2008) ^c (MGB™ probe)
C. psittaci	F1-incA-Cpsi: GCCATCATGCTTGTTCGTTT R1-incA-Cpsi: CGCGTGCCACTTGAGA Cpsi-incA-NM: FAM-TCATTGTCATATGGTGCATTGAGGA-NFQ	74	incA	Menard et al. (2006) (MGB™ probe)
C. abortus	QpaOMPI-F: GCAMCTGACACTAAGTGGGTACA QpaOMPI-R: ACAAGCATGTTCAATCCGATAGAGA CpaOMPI-S: FAM-TAAMTACCAGGAAATGGCAAGTTGGTT-TAGCG-TAMRA	82	ompA	Bantchev et al. (2008) ^c

^a Based on four-species classification of the family Chlamydiaceae.

^b Includes primer sets for genotype-specific amplification.

^c Includes internal amplification control consisting of target DNA from the EGFP gene cloned into a plasmid, specific primers and a TaqMan probe (Hoffmann et al., 2006).

Mit der HRM können DNA-Amplifikate im Anschluss an die PCR anhand ihrer Sequenz, der Länge, dem GC-Gehalt oder dem Komplementärstrang charakterisiert werden. Dazu werden spezielle Sättigungsfarben in den PCR-Prozess integriert, die nur in Gegenwart doppelsträngiger DNA fluoreszieren. Während der Erhitzungsphasen denaturiert die DNA und die Fluoreszenz erlischt, sobald die Doppelstrang-DNA in Einzelstränge zerfällt. Dadurch entsteht eine

Schmelzkurve, die aufgezeichnet wird. Da verschiedene genetische Sequenzen individuelle Schmelzpunkte aufweisen und sogar isolierte Basenpaarveränderungen abweichende Schmelzkurven hervorrufen, können über den Vergleich der Kurven Rückschlüsse auf Variabilitäten verschiedener DNA-Proben gezogen werden (MITCHELL et al., 2009).

MITCHELL et al. (2009) nutzten in ihrer Arbeit drei Primer (Ppac, GTpc, GT-F), deren Zielregion variable Abschnitte des *ompA*-Gens von *Chlamydia psittaci* sind. Damit gelang ihnen die zuverlässige Differenzierung der Genotypen A bis F sowie die Abgrenzung dieser gegenüber den nahe verwandten Spezies *C. abortus* und *C. caviae* (Abbildung 18). Der Ppac-Primer stellt einen Panmarker dar, der alle Genotypen von *C. psittaci* und darüber hinaus auch die beiden anderen Spezies amplifizieren kann. GTpc dagegen separiert *C. caviae* und alle *C. psittaci* Genotypen bis auf D und F, wobei letzterer spezifisch durch den GT-F-Primer detektiert werden kann.

Mit dieser Methode wiesen MITCHELL et al. (2009) Genotyp A in 71,4 % aller *C. psittaci* positiven Proben nach, während die Genotypen B und E nur in je 7,2 % der Fälle detektiert wurden.

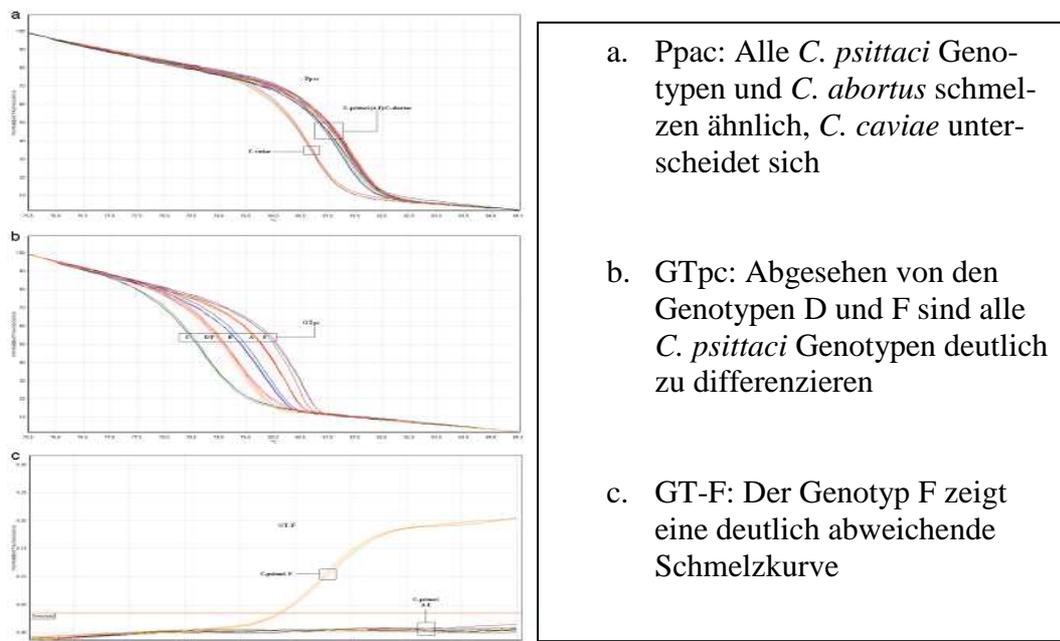


Abbildung 18: HRM-Schmelzkurven (MITCHELL et al., 2009)

3.4.5 DNA-Mikroarray Assay

Da die Anforderungen an die Diagnostik stetig zunehmen, wird es immer wichtiger, nicht nur die Spezies zu identifizieren, sondern auch Informationen über Subspezies, Serotyp oder Genotyp, Toxinbildung sowie andere Virulenzfaktoren zu erhalten. Hier stößt jedoch die PCR-Technik an ihre Grenzen, denn die Erkennung geringfügiger Unterschiede zwischen den Isolaten, wie zum Beispiel Polymorphismen einzelner Nukleotide oder anderer intraspezifischer Variationen, ist mit Standard-Amplifikationsassays problematisch. Auch mit einer Multiplex-PCR können nur wenige Zielsequenzen parallel untersucht werden.

DNA-Mikroarray Assays erlauben die simultane Analyse mehrerer tausend Einzelnachweise schon bei geringen Probenmengen und dienen der Bestimmung der mRNA-Menge spezifischer Gene. Das Prinzip des Verfahrens ist in Abbildung 19 dargestellt.

Aus dem Untersuchungsmaterial wird zunächst die mRNA der Zielgene isoliert, gegebenenfalls aufgereinigt und vermehrt, in cDNA umgeschrieben und mit einem Fluoreszenzfarbstoff markiert. Auf einer Glasplatte, dem „Gen-Chip“, sind alle Gene des zu untersuchenden Organismus als einsträngige DNA angeordnet. Die cDNA wird nun auf den Gen-Chip gegeben und hybridisiert mit dem komplementären Gegenpart auf dem Array. Im Anschluss wird nicht gebundene cDNA in einem Waschschrift entfernt. Nun kann die Fluoreszenz der Doppelstränge mit einem Laser ausgelesen werden, wobei Position, Intensität und Farbe eines jeden Spots Aufschluss über die Expressionsrate des jeweiligen Gens geben.

Vergleicht man zum Beispiel zwei Proben miteinander, von denen Probe A mit einem blauen Farbstoff und Probe B mit einem gelben Farbstoff markiert ist, zeigt ein blaues respektive gelbes Signal eine stärkere Expression des entsprechenden Gens durch Probe A bzw. B an. Analog dazu bedeutet ein grünes Signal eine äquivalente Expressionsrate beider Proben (MEESE und COMTESSE, 2008).

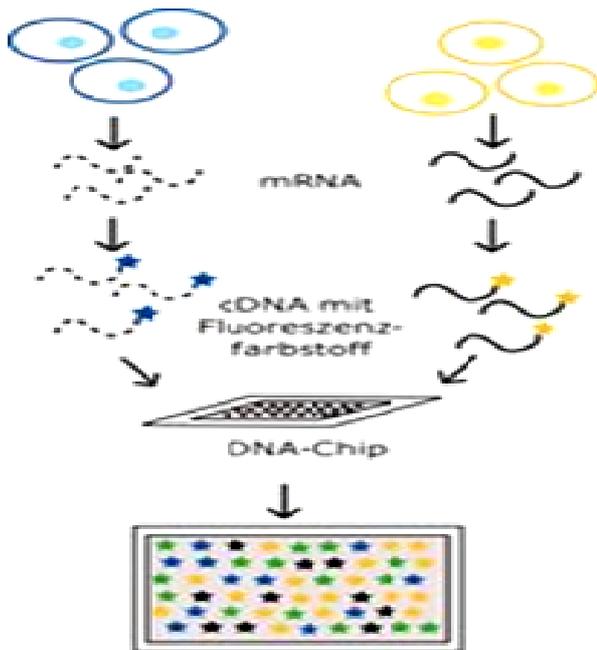


Abbildung 19:
Schema eines DNA-Microarray Assay
(nach www.biosicherheit.de/de/lexikon/)

Es können zwei grundlegende Prinzipien des Mikroarrays unterschieden werden, auch wenn diverse Variationen existieren:

1. Mikroarrays von zuvor präparierten DNA-Klonen oder PCR-Produkten, die in einem zweidimensionalen high-density array auf der Oberfläche gebunden werden oder
2. Mikroarrays von Oligonukleotiden, die *in situ* auf einer passenden Oberfläche synthetisiert werden.

Obwohl Mikroarrays im Bereich der Gen-Transkriptionsanalyse vielseitig bekannt und anerkannt sind, ist ihre Anwendung in der Routinediagnostik bakterieller und viraler Pathogene lange Zeit nur wenig verbreitet gewesen.

SACHSE et al. entwickelten 2005 einen Mikroarray-Assay zur Detektion und Differenzierung der verschiedenen *Chlamydia*-Spezies, mit dem sich auch alle neun Arten der Familie *Chlamydiaceae* unterscheiden lassen. Ein kommerziell erhältliches Array-TubeTM (AT)-System (Clondiag Chip Technologies, Jena, Germany) ermöglicht dabei eine kostengünstige Durchführung von Low- und High-density DNA-Arrays. Zentrale Einheit ist ein Oligonukleotid-Sonden-Array, das auf einem 3 x 3 mm großen chemisch modifizierten Glasträger aufgebracht ist und 50 individuelle Hybridisierungs sondens umfasst. Da das Sonden-Array als Boden in einem Mikrokoreaktionsgefäß integriert ist, das mit Stan-

Standardlaborgeräten einfach prozessiert werden kann, und sich Hybridisierung und Waschschriffe in einem einfachen Inkubationsschüttler durchführen lassen, ist das System in jedem Labor relativ leicht anwendbar.

Auf Basis multipler Sequenzreihen, aus denen ein charakteristisches Segment in der Domäne I des 23S rRNA-Gens identifiziert wurde, kreierte die Autoren Hybridisationssonden für *Chlamydiaceae*. Dieser Bereich enthält sowohl stark konservierte als auch sehr variable Sequenzabschnitte. Der Chip trägt 28 Spezies-spezifische Sonden (für alle neuen Spezies), 3 Genus-spezifische Sonden, 5 Sonden zur Identifikation der nächsten Verwandten der Chlamydien *Simkania negevensis* und *Waddlia chondrophila* sowie eine Hybridisierungs- (Konsensussonde) und eine Färbekontrolle (biotinylierte Oligonukleotide). Zwischen zwei bei allen *Chlamydiaceae* konservierten Stellen wird mit Konsensus-Primern ein PCR-Produkt erzeugt. Dieses schließt einen sehr variablen Bereich mit ein, das so genannte „most variable window“, innerhalb dessen es für jede der neun Arten Sequenzvarianten gibt, die sich eindeutig einer Spezies zuordnen lassen.

Der Arbeitsablauf beginnt zunächst mit einer PCR der genomischen DNA, um das Chlamydien-spezifische Fragment der 23S-rRNA zu amplifizieren, wobei biotinyliertes dUTP zugegeben wird, um das PCR-Produkt zu markieren. Anschließend werden die biotinylierten PCR-Produkte gegen das DNA-Array hybridisiert. Mit Hilfe einer katalytisch induzierten Präzipitationsreaktion wird das Hybridisierungsmuster sichtbar und kann mit dem ArrayTube-Auslesegerät detektiert und analysiert werden.

Der AT Assay eignet sich ebenfalls für den direkten Nachweis von Chlamydien in klinischen Proben (BOREL et al., 2008). Die Sensitivität des Mikroarray Assays ist vergleichbar mit der der Real-time PCR (EHRICHT et al., 2006).

3.4.6 Multilocus VNTR Analysis (MLVA)

Repetitive DNA-Sequenzen mit direkt aneinander angrenzenden, sich wiederholenden Repeats und einer Repeatlänge von etwa 10-100 bp werden als „Variable Number Tandem Repeats“ (VNTR) bezeichnet. Die VNTR zeigen häufig eine höhere Variabilität als die übrige DNA, da sie durch Fehler während der DNA-Replikation um einen oder mehrere Repeatblöcke verlängert

oder verkürzt werden können. Die Länge einer VNTR-Region kann durch PCR schnell ermittelt werden. Bei der „Multi Locus Variable Number Tandem Repeat Analysis“ (MLVA) werden Änderungen in den VNTR-Regionen zur Typisierung verwendet. Die Längen mehrerer VNTR-Regionen werden ermittelt und miteinander verglichen (VERGNAUD und POURCEL, 2006).

Wenn die Repeatlänge einer VNTR-Region bekannt ist, kann die Anzahl der Kopien als Zahl angegeben werden und das Ergebnis der MLVA-Typisierung als Folge von Kopienanzahlen.

Die Berechnung erfolgt nach der Formel:

$$\text{VNTR-Copy number} = \frac{\text{Amplicon Size} - \text{Offset Size}}{\text{Repeat Size}}$$

Diese Zahlenfolgen können einfach weiterverarbeitet und miteinander verglichen werden.

Mit dieser Methode konnten bereits viele Pathogene, wie z. B. *Mycobacterium tuberculosis* (LE FLECHE et al., 2002), *Bacillus anthracis* (LE FLECHE et al., 2001) und *Yersinia pestis* (POURCEL et al., 2004) nachgewiesen werden.

Die Anwendung bei der Diagnostik von *Chlamydia psittaci* wurde jüngst von LAROUCAU et al. (2008) untersucht. Als Basis diente die komplette Genomsequenz von *C. psittaci* 6BC. Mit Hilfe eines Tandem Repeat Finder (TRF)-Programms ermittelten die Autoren zwanzig Tandem Repeats mit einer Repeat Unit von sechs oder mehr bp, von denen sich bei einem PCR-Screening acht als polymorph herausstellten.

Die aktuelle Klassifikation der Chlamydien gründet entweder auf der Serologie, wobei sechs mAbs verwendet werden, die spezifisch gegen die variable Domäne des MOMP repräsentativer Isolate gerichtet sind, oder auf der Sequenz-gestützten RFLP-PCR, die auf dem Gen des MOMP, dem *ompA*, basiert. Dagegen wird die MLVA an nicht verbundenen Sequenzen durchgeführt, die über das gesamte Genom verteilt sind.

Auch wenn die Analyseergebnisse der MLVA in den meisten Fällen mit denen früherer Studien mit den anderen beiden Verfahren übereinstimmen, gibt es doch zwei wesentliche Unterschiede (LAROUCAU et al., 2008): zum einen zeigt die MLVA eine höhere Diversität innerhalb der Stämme, zum anderen können mit dieser Methode die MOMP/*ompA*-basierten Serotypen/Genotypen B und E

nicht systematisch differenziert werden. Letzteres könnte die Tatsache bestätigen, dass keiner der gewählten acht Marker *ompA* als Zielgen hat. Die meisten liegen stattdessen innerhalb der Gene oder ORFs, die für andere Membranproteine kodieren.

Während mit der MLVA Isolate der Genotypen A, D und E eindeutig einer eigenen Gruppe zugeordnet werden können, gelingt diese klare Gruppierung bei den Genotypen B und vor allem E und F nicht. Dennoch ist auch bei Proben, die nicht typisiert werden können, die Bestimmung des Verwandtschaftsgrades zwischen dem Isolat und Referenzstämmen möglich. Ein weiterer Vorteil der MLVA ist, dass die Analyse ohne vorherige Kultivierung der Proben direkt an der extrahierten DNA vorgenommen werden kann. Das Verfahren kann leicht standardisiert werden und ist nur mit einem geringen Kostenaufwand verbunden.

LAROUCAU et al. (2008) zeigen sich überzeugt, dass mit der Verfügbarkeit zusätzlicher Genomsequenzen, neue polymorphe Tandem Repeats bestimmt und für weiterführende Untersuchungen der verschiedenen Stämme bzw. neuen Isolate genutzt werden können.

Einen ähnlichen Ansatz hat auch das Multi Locus Sequence Typing (MLST), ein modernes Verfahren, welches auf der Sequenzierung von mehreren Genabschnitten basiert. Die sequenzierten Genabschnitte sollten dabei möglichst über das gesamte Genom hinweg verteilt vorliegen, um die Anfälligkeit der Methode für Rekombinationsvorgänge zu minimieren. Aufgrund der großen Entfernung zwischen zwei Genen sind in der Regel nur einzelne Gene von einem Rekombinationsereignis betroffen. Für die MLST-Analyse werden speziell solche Gene ausgewählt, die hoch konserviert sind, aber dennoch ausreichend Variationen aufweisen, damit ein hohes Diskriminierungspotenzial erreicht werden kann. Die Translationsprodukte solcher Gene sind in der Regel für grundlegende Stoffwechselfvorgänge in der Bakterienzelle verantwortlich und werden aus diesem Grund auch als Haushaltsgene oder House-keeping-Gene bezeichnet. Sowohl die Anzahl der betrachteten Housekeeping-Gene als auch die ausgewählten Gene selbst können je nach gewähltem MLST-Schema variieren. Ursprünglich wurde die MLST-Methode an *Neisseria*

meningitidis entwickelt (MAIDEN et al., 1998) und in der Folge in leicht abgewandelter Form auch erfolgreich bei *Streptococcus pneumoniae* (ENRIGHT und SPRATT, 1998) und *Staphylococcus aureus* (ENRIGHT et al., 2000) und bei zahlreichen weiteren Spezies (vgl. www.mlst.net) angewendet.

KLINGT und FUXELIUS (2007) testeten dieses Verfahren bei der Diagnose von *C. trachomatis*, so dass die Anwendung für *Chlamydia psittaci* wahrscheinlich ebenfalls möglich ist.

3.5 Diagnostik in der Praxis

Hinsichtlich der Diagnostik muss zwischen der Routinediagnostik im Praxisalltag zur Abklärung einer Infektion / Krankheit und der Diagnostik im Rahmen epidemiologischer Studien unterschieden werden.

Zur Diagnose einer Infektion mit *Chlamydia psittaci* in der Praxis ist die Kombination aus klinischen Symptomen und dem Nachweis von chlamydialen Antigenen aus Blut-, Kot- oder Kloakentupferproben noch immer die Methode der Wahl. Kommerziell erhältliche Kits weisen zwar meist nur das Familien-spezifische LPS-Antigen und damit alle Chlamydien nach (SACHSE et al., 2008), da Vögel jedoch überwiegend durch *Chlamydia psittaci* infiziert werden, kann ein positives Ergebnis als Bestätigung angesehen werden. Zu beachten ist allerdings die häufig intermittierende Erreger-Ausscheidung, so dass ein negatives Ergebnis kein absoluter Ausschluss einer Infektion ist. Daher sollte ein negativer Test auf jeden Fall wiederholt werden. Auch der serologische Nachweis von Antikörpern ist im Bezug auf das Vorliegen einer akuten Infektion nur in Form einer gepaarten Serumprobe im Abstand von zwei bis drei Wochen aussagekräftig.

Molekularbiologische, DNA-basierte Methoden erlauben eine genaue Identifizierung der Spezies und geben damit auch Auskunft über epidemiologische Zusammenhänge. Auf diese Weise werden auch noch immer „neue“ aviäre Chlamydien detektiert, die noch nicht taxonomisch klassifiziert worden sind (SACHSE und SCHUBERT, 2011). Des Weiteren ermöglichen Real-Time-PCR-Methoden auch eine quantitative Aussage über die Erregerdichte, was u. a. für die Beurteilung der Erregerausscheidung nach einer Antibiotikatherapie von Bedeutung ist (SACHSE und SCHUBERT, 2011).

Das Nationale Referenzlabor für Psittakose des Friedrich-Loeffler-Institutes führte 2010 einen Ringversuch zum „Quantitativen Nachweis von *Chlamydothila psittaci* mittels Real-Time-PCR“ durch (SACHSE und SCHUBERT, 2011). Dabei sollten 29 teilnehmende Laboratorien 23 Proben unterschiedlicher Matrices sowohl auf den Gehalt an *Chlamydiaceae* als auch an *Chlamydothila (Chlamydia) psittaci* untersuchen. Für den Nachweis sollten zwei Methoden angewandt werden:

1. Real-Time-PCR, spezifisch für die Familie *Chlamydiaceae* (23S-rtPCR) nach der bereits publizierten Methode des Nationalen Referenzlabors (EHRICHT et al., 2006),
2. Real-Time-PCR, spezifisch für *Chlamydothila psittaci* (ompA-rtPCR) nach der Methode von PANTCHEV et al. (2009).

Die Auswertung der qualitativen Befunde ergab, dass mittels der 23S-rtPCR 96,6 % aller Proben im Bezug auf *Chlamydiaceae* korrekt befundet wurden. Auch der Nachweis von *C. psittaci* wurde in 94,8 % erfolgreich durchgeführt (SACHSE und SCHUBERT, 2011). Bei der Auswertung der quantitativen Befunde konnte 11 Teilnehmern eine sehr gute (2 % Abweichung vom Sollwert) und bei 12 Teilnehmern eine gute (5 % Abweichung) Übereinstimmung der ermittelten Ct-Werte mit den Sollwerten bescheinigt werden (SACHSE und SCHUBERT, 2011). Mit Ausnahme eines einzigen Labors erreichten alle Teilnehmer das vorgegebene Ziel von mehr als 85 % korrekt befundeten Proben. Die Initiatoren des Ringversuchs werteten dies als Beleg für die Robustheit und Reproduzierbarkeit der getesteten Methoden (SACHSE und SCHUBERT, 2011).

Die Entwicklung und Bereitstellung des DNA-Mikroarray-Assay (SACHSE et al., 2005) bedeutete eine wesentliche Verbesserung der Diagnostik. Er ermöglicht den Nachweis und die Identifizierung von Chlamydien und erlaubt über die Nukleotidsequenz auch die Differenzierung nahe verwandter Spezies. Dadurch können auch Mischinfektionen aufgedeckt werden. In einer Vergleichsstudie von BOREL et al. (2007), die den DNA-Mikroarray-Test mit der konventionellen PCR, der Real-Time-PCR und der Immunhistochemie verglichen, erwies sich das neue Verfahren hinsichtlich Sensitivität und Spezifität als den anderen ebenbürtig.

Dennoch sind molekularbiologische Methoden immer noch überwiegend den Referenz- und Speziallaboratorien vorbehalten.

4 Therapie und Prophylaxe

4.1 Therapieggeschichte der aviären Chlamydiose

Bis zur Entdeckung des Erregers im Jahr 1930 durch BEDSON et al. erfolgte die Therapie nur symptomatisch, beispielsweise mit Antiphlogistika, Palliativa und roborierenden Maßnahmen wie Bäder, Waschungen oder der subkutanen Injektion von Kampferöl oder Äther (RITTER, 1880; HAAGEN, 1939; KREBSZ, 1995).

Von mehreren Autoren wurde eine Therapie erkrankter Menschen und Vögel mit Rekonvaleszentenserum empfohlen (ADAMY, 1930; HEGLER, 1930; 1930a; VON TEUBERN, 1930). Nach HAAGEN (1939) kann über den wirklichen Wert einer solchen Behandlung kein abschließendes Urteil abgegeben werden. Folglich werden statt einer als fraglich zu beurteilenden Serumtherapie von HAAGEN (1939) Arzneimittel empfohlen, die eine möglichst frühzeitige Stützung des Kreislaufs durch Gaben von Strophantin, Sympatol oder Cardiazol bewirken sollen. Die ggf. betroffenen Lungen wären nach HEGLER (1930) mit Expektoranzien zu behandeln. Generell seien Behandlungsmaßnahmen mit Antineuralgik, Sedativa, Diäten oder auch kühle Abwaschungen des Körpers und Umschläge sowie möglichst lange Bettruhe ratsam (HAAGEN, 1939).

Rückblickend erscheinen die Versuche zur palliativen Therapie gleichermaßen wechsellvoll und kontrovers wie die Geschichte der Diagnostik. Erst in den 40er Jahren wurden verschiedentlich Sulfonamide, allein oder in Kombination mit Penicillinen, eingesetzt, die durch Inaktivierung von Stoffwechsellzymen die Bakterienvermehrung hemmen sollten. Die Wirkung blieb jedoch aus und MEYER und EDDIE stellten schließlich 1952 endgültig die Sulfonamidresistenz der Chlamydien-Isolate bei Menschen und Papageien fest (MEYER und EDDIE, 1952). Mitte der 50er Jahre gelangen mit Chloramphenicol die ersten therapeutischen Erfolge, jedoch kam es häufig zu Rezidiven und unerwünschten Nebenwirkungen besonders im Zusammenhang mit Fehl- und Überdosierungen. Heute ist Chloramphenicol nicht mehr zur Therapie der Chlamydiosen bei Mensch und Tier zugelassen.

Die entscheidende Wende stellte die Einführung der Tetracykline dar, die über eine Hemmung der Proteinsynthese in den bakteriellen Stoffwechsel eingreifen (FORTH et al., 2001; DRYSDALE et al., 2002). Als optimale Therapie erwies sich damals eine frühzeitige Behandlung erkrankter Menschen mit hohen Dosen (2 g Tetracyclin pro Tag) für mindestens 10 – 14 Tage. Ab 1955 wurde regelmäßig eine Prophylaxe bzw. Metaphylaxe mit tetracyklinhaltigem Futter zunächst bei importierten Papageien, später auch in Geflügelbetrieben und Papageienzuchten, durchgeführt (WACHENDÖRFER et al., 1973; WACHENDÖRFER und LÜTHGEN, 1974; PAGE und GRIMES, 1984; WACHENDÖRFER, 1984; KREBSZ, 1995; ANDERSEN und VANROMPAY, 2008). Aufgrund der Unkenntnis über den Erreger und seinen Übertragungsweg schützten sich die Menschen beim Umgang mit erkrankten Vögeln nur mit dicken Gummihandschuhen, da man von einer reinen Kontaktinfektion ausging (WINKLE, 2000). Erst als sich Berichte über Fälle häuften, in denen sich Menschen allein durch das Betreten eines Raumes mit einem erkrankten Papagei infiziert hatten, erwog man die Möglichkeit einer Staub- und Tröpfcheninfektion und arbeitete mit Atemschutzmasken. Zu den weiteren Maßnahmen gehörten die Tötung bzw. Quarantänisierung erkrankter und verdächtiger Vögel (WINKLE, 2000).

4.2 Therapie der aviären Chlamydiose

Die Psittakose-Verordnung (2005) schreibt bei seuchenerkrankten Vögeln der Ordnung Psittaciformes sowie bei einem Seuchen- und Ansteckungsverdacht eine Zwangsbehandlung vor (§7, Abs.2, §8, Abs.2). Händler und Züchter müssen alle Papageien und Sittiche im Bestand, gegebenenfalls auch Vögel anderer Arten (§7, Abs.3), mit einem „wirksamen Mittel“ tierärztlich behandeln lassen. Außerdem sind alle Psittaziden nach der Einfuhr einer metaphylaktischen Behandlung zu unterziehen.

Chlamydien sind empfindlich gegenüber Substanzen, die die Lipidkomponenten der Zellwand angreifen (ANDERSEN und VANROMPAY, 2003). Allerdings ist eine wirksame Behandlung nur im Stadium der *de novo*-Synthese der Retikularkörper möglich, weil alle Pharmaka in den Bakterienstoffwechsel eingreifen (MATSUMOTO et al., 1970; MAGNINO et al., 2008). Die Elemen-

tarkörperchen verfügen über keine metabolische Aktivität und sind daher nicht durch Therapeutika zu beeinflussen. Sie sind jedoch in Abhängigkeit von den vorherrschenden Umweltbedingungen sehr widerstandsfähig und können bei geeigneten Bedingungen mehrere Monate überleben und Quelle für Reinfektionen sein.

Eine primäre, genetisch fixierte Resistenz besteht gegen Gentamycin, Kanamycin, Vancomycin, Streptomycin, Ristocetin, Neomycin, Mycostatin, Nystatin, Amphotericin B, Bacitracin und alle Sulfonamide (MEYER und EDDIE, 1952; SPEARS und STORZ, 1979; MOULDER, 1984; KRAUSS und SCHMEER, 1992; GYLSTORFF und GRIMM, 1998; BINET und MAURELLI, 2005). Die Resistenz beruht auf rRNA-Mutationen, die zu Veränderungen des MOMP und des Hitzeschockproteins cHSP60 führen (HOGAN et al., 2004; BINET und MAURELLI, 2005).

Wirksam sind dagegen Tetrazykline, Makrolid-Antibiotika, Chloramphenicol, Chinolone, Fluorchinolone sowie Clindamycin, während Penicilline nur einen eingeschränkten hemmenden Effekt auf die Vermehrung der RK haben (Tabelle 15) (ANDERSEN et al., 1997; ANDERSEN, 1998).

Tabelle 15: Wirkstoffe und Wirkmechanismen gegen Chlamydien

Wirkstoff	Entdeckung	Wirkmechanismus	Referenz
Tetrazykline (Chlor-/ und Oxytetrazyklin,	1948	Hemmung der Proteinsynthese der Chlamydien, bakterios-tatisch	Andersen et al., 1997
Makrolide (Erythromycin)	1949	Hemmung der Proteinsynthese der Chlamydien, bakterios-tatisch	Andersen et al., 1997
Chloramphenicol	1947	Hemmung der Proteinsynthese der Chlamydien	Andersen et al., 1997
Chinolone (Enrofloxacin, Difloxacin)	Ca. 1980	Gyrasehemmer, Hemmung der DNA-Replikation, bakterizid	Smith, 1986; Failing et al., 2009
Clindamycin	1970	Hemmung der Elongation wachsender Peptidketten, bakterios-tatisch	Fille et al., 2009
Penicillin	1928	Störung der Zellwandsynthese, Bildung abnorm großer RBs	Andersen, Vanrompay, 2003

In der Psittakose-VO vom 31. Dezember 2005 werden Chlortetrazyklin (CTC), Doxyzyklin und Enrofloxacin als „wirksame Mittel“ zur Therapie der klinisch manifesten Psittakose benannt (Tabelle 16).

Da Chlamydien auf Chinolone deutlich empfindlicher reagieren, führen schon geringe Medikamentendosen zu einer vollständigen Hemmung der Erregervermehrung. Neben Enrofloxacin wurde auch Difloxacin erfolgreich getestet (THEIS, 2007). Aufgrund seiner guten Wasserlöslichkeit kann es sowohl als Injektion als auch über das Trinkwasser oder Futter verabreicht werden.

Im Gegensatz zur Minimalen Hemmkonzentration (MHK) für Chlortetrazyklin und Doxyzyklin von durchschnittlich 0,25 µg/ml, liegt die MHK der Fluorchinolone dagegen bei 0,1 µg/ml (KINNDLE, 2007; THEIS, 2007). Daher sollte diesen bei der Therapie der aviären Chlamydiose der Vorzug gegeben und Difloxacin in die Liste der „wirksamen Mittel“ aufgenommen werden (THEIS, 2007; THEIS et al., 2009).

Doxyzyklin kann in größeren Beständen auch für 42 Tage über das Trinkwasser verabreicht werden. Konzentrationen von 400-800 mg Doxyzyklin-Hyclat pro Liter Wasser führten zu einer Plasmakonzentration von 1 µg/ml, die als wirksam angesehen wird. Allerdings bestehen deutliche Spezies-spezifische Unterschiede bei den erreichten Wirkstoffspiegeln, die auf Unterschiede in der Menge der Wasseraufnahme und beim Metabolismus zurückzuführen sind. Des Weiteren herrschen in der Praxis keine konstanten Umweltbedingungen, so dass Veränderungen der Temperatur, der Luftfeuchtigkeit oder des Futters zu Schwankungen bei der Wasseraufnahme und / oder der Doxyzyklinabsorption und so sowohl zu einer Unterdosierung des Medikaments als auch zu toxischen Plasmakonzentrationen führen können. Deshalb müssen die Vögel bei dieser Therapieform regelmäßig auf eine Doxyzyklin-Toxikose untersucht werden (FLAMMER et al., 2001).

Tabelle 16: Übersicht über Wirkungsspektrum und Dosierung der als wirksam zur Therapie der Psittakose eingestuften Antibiotika (RIVIERE und SPOO, 1995; DORRESTEIN, 1995; KROKER, 1999; BAUMGARTNER und ISENBÜGEL, 1998; RÜBEL und ISENBÜGEL, 2001)

Wirkstoff	Genera der Psittaziden bzw. Vogelgruppen	Dosierung	Dauer der Therapie
CTC	Amazona, Poicephalus, Psittacula, Eclectus, Loriculus, Micropsitta, Lathamus, Psittrichas	5.000 mg/kg Futter	45 Tage
	Agapornis, Cyanoramphus, Eupsittacula, Myiopsitta, Nandayus, Neophema, Nymphicus, Platycercus, Poicephalus, Psephotus	2.500 mg/kg Futter	45 Tage
	Brotogeris, Melopsittacus, Kanarien, Finken, Webervögel	500 mg/kg Futter	30 Tage
	Tauben	5 mg/g Futter	25 Tage
Doxyzyklin	Mittelgroße und größere Psittaziden	75 mg/kg KGW i.m.	6 Injektionen in fünf Tagen, 3 weitere mit viertägigem Abstand

Wirkstoff	Genera der Psittaziden bzw. Vogelgruppen	Dosierung	Dauer der Therapie
Enrofloxacin	Amazona, Poicephalus, Psittacula, Eclectus, Loriculus, Micropsitta, Lathamus, Psittrichas, Agapornis, Cyanoramphus, Eupsittacula, Myiopsitta, Nandayus, Neophema, Nymphicus, Platycercus, Poicephalus, Psephotus	0,5 mg/g Futter	14 Tage

Einen nicht zu vernachlässigenden Faktor für eine erfolgreiche Therapie stellt auch das Immunsystem der Wirte dar. Bei immunkompetenten Tieren reicht zum Teil eine durch Medikamente ausgelöste Bakteriostase, damit das Immunsystem die Erreger vollständig eliminieren kann, während bei geschwächten oder jungen Tieren eine Infektion nach dem Absetzen der Medikation leicht wieder aufflammen kann.

4.3 Resistenz und Persistenz bei *Chlamydia psittaci*

Als resistent gegenüber einem antibakteriellen Chemotherapeutikum wird ein bakterieller Erreger bezeichnet, wenn die Konzentration des Therapeutikums am Ort der Infektion nicht ausreicht, um den Erreger an der Vermehrung zu hindern oder ihn abzutöten und ein therapeutischer Erfolg mit hoher Wahrscheinlichkeit ausbleibt (WITTE und KLARE, 1999; DREES, 2012). Ein Bakterium gilt daher als resistent, wenn die minimale Hemmkonzentration (MHK) höher liegt als die maximal *in vivo* erreichbare, jedoch nicht die toxische Konzentration des Antibiotikums (SCHWARZ und CHASLUS-DANCLA, 2001; BOERLIN und WHITE, 2006). Die MHK ist die niedrigste Konzentration eines

Wirkstoffes (angegeben in µg/ml bzw. mg/l), bei der unter definierten *in vitro*-Bedingungen die Vermehrung von Bakterien innerhalb einer festgelegten Zeitspanne verhindert wird (DIN 58940). Die Definition der Resistenz berücksichtigt neben der minimalen Hemmkonzentration des Chemotherapeutikums für den Erreger auch die Pharmakokinetik der Substanz und das klinische Ergebnis. Die Klassifizierung eines Erregers im Bezug auf die Wirksamkeit eines bestimmten Antibiotikums in empfindlich, intermediär oder resistent sollte daher alle drei Komponenten berücksichtigen (WITTE und KLA-RE, 1999). Der Unterschied zwischen einer „echten“ Resistenz und einer erhöhten Widerstandskraft oder Unempfindlichkeit (z. B. thermo“resistente“ Sporen) liegt in der genetischen Determination der Resistenz und deren Weitergabe als Stammeigenschaft (DGK, 2000).

Im Wesentlichen lassen sich vier verschiedene Resistenzmechanismen unterscheiden:

- Verminderung der Wirkstoffkonzentration:
 - Unzugänglichkeit der Zielstruktur, z. B. durch eine Permeabilitätsbarriere
 - Effluxpumpen zur Ausschleusung eines Wirkstoffes aus der Bakterienzelle über Membran-assoziierte Transportproteine
- Produktion inaktivierender Enzyme: Wirkstoffinaktivierung durch Spaltung oder Modulation
- Resistente Zielmoleküle:
 - fehlende Zielstruktur
 - Veränderung der Zielstruktur
- Evolutionär veränderte Stoffwechselwege: Entwicklung alternativer Stoffwechselwege (DGK, 2000; MADIGAN und MARTINKO, 2006).

Viele Bakterien verfügen über „natürliche“ Resistenzen, d.h. sie sind aufgrund ihrer biologischen Eigenschaften unempfindlich gegenüber bestimmten Wirkstoffen, da sie der Substanz keinen Angriffspunkt bieten. Dies gilt beispielsweise für gramnegative Bakterien im Bezug auf Benzylpenicillin, da dieses die äußere bakterielle Zellwand nicht passieren kann. Daneben gibt es die „erworbenen“ Resistenzen, die im Laufe der Zeit durch Mutationen im Bakteriengenom oder durch horizontalen Gentransfer z.B. über Plasmide entstehen und dem Erreger einen Selektionsvorteil bieten (SCHWARZ und

CHASLUS-DANCLA, 2001; MCDERMOTT et al., 2003; BOERLIN und WHITE, 2006).

Resistenzen entstehen entweder spontan oder induziert durch einen entsprechenden Selektionsdruck. Je nach Geschwindigkeit ihrer Entwicklung unterscheidet man One-Step- und Multi-Step-Resistenzen. Erstere entstehen bereits nach wenigen Expositionen des Keims mit dem Wirkstoff (z. B. Streptomycin), während letztere mehrere Mutationsschritte umfassen, bis die Resistenz genetisch fixiert ist (z. B. Tetrazykline, Sulfonamide) (MUTSCHLER et al., 2008; KROKER, 2010). Resistenzen entwickeln sich immer zeitlich versetzt zur Entdeckung und Anwendung einer antimikrobiellen Substanz (SCHWARZ und CHASLUS-DANCLA, 2001).

In der Regel wird die Resistenz anhand von *in vitro*-Untersuchungen bestimmt, auch wenn dies häufig die *in vivo*-Situation nicht genau widerspiegelt. Für die Bestimmung der Antibiotikaresistenz stehen verschiedene Verfahren zur Verfügung.

Agardiffusionstest

Diese Methode ist ein kostengünstiger und schnell durchführbarer Empfindlichkeitstest für die Routinediagnostik und wurde 1966 von BAUER et al. (1966) etabliert. Eine definierte Bakterienmenge wird auf einer Agarplatte ausgespatelt, auf die dann ein Antibiotikatestblättchen mit einer definierten Wirkstoffmenge aufgelegt wird. Der Wirkstoff diffundiert in den umgebenden Agar und produziert einen Wirkstoffgradienten um das Blättchen. Je nach Empfindlichkeit des Bakteriums entsteht ein unterschiedlich großer Hemmhof um das Blättchen, dessen Durchmesser (in mm) eine qualitative Einteilung des Bakteriums in „empfindlich“, „intermediär“ oder „resistent“ erlaubt. Bei der Durchführung des Tests muss eine strenge Durchführungsvorschrift eingehalten werden, da die Ergebnisse sonst massiv variieren können (ALTREUTHER et al., 1997; STOCK et al., 2001). Abweichungen können durch unterschiedliche Schichtdicken des Agars, das Alter der Agarplatten oder Veränderungen der Inokulumdichte verursacht werden (WIEDEMANN et al., 1983).

E-Test

Dem E-Test liegt ein ähnliches Prinzip zugrunde wie dem Agardiffusionstest, allerdings wird statt der Blättchen ein Teststreifen verwendet, der den Wirkstoff in einem größeren Konzentrationsbereich beinhaltet. Anhand einer Skalierung kann die Konzentration des Wirkstoffs an der jeweiligen Stelle des Teststreifens abgelesen werden. Dies erlaubt eine quantitative Beurteilung der Empfindlichkeit. Die MHK wird hier definiert als die Stelle, an der keine Bakterienvermehrung mehr zu sehen ist (CZAPIEWSKI, 2010).

Bouillon-Dilutionsverfahren

Dieses Verfahren ist ein Reihenverdünnungstest mit einem flüssigen Medium und erlaubt ebenfalls eine quantitative Beurteilung des Empfindlichkeitsverhaltens (CZAPIEWSKI, 2010). Die MHK entspricht derjenigen geringsten Konzentration, bei der *in vitro* keine Erregervermehrung in Form von sichtbarer Trübung nachweisbar ist (WIEGAND et al., 2008; RODLOFF, 2009). Man unterscheidet ein Mikro- und ein Makrodilutionsverfahren.

Bouillon-Mikrodilution

Industriell hergestellte Mikrotiterplatten mit Volumina von 50-100 µl werden mit verschiedenen Antibiotika in unterschiedlichen Konzentrationen beschickt. Das gefrorene oder gefriergetrocknete Antibiotikum wird mit einer definierten Bakteriensuspension resuspendiert. Dieses Verfahren gilt als das am besten geeignete und robusteste System für die Empfindlichkeitsprüfung und den Vergleich von Empfindlichkeitsdaten (ALTREUTHER et al., 1997; STOCK et al., 2001). Die Arbeitsgruppe „Antibiotikaresistenz“ der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft e.V. (DVG) empfiehlt für die Durchführung der Mikrodilution standardisierte Arbeitsanweisungen wie die des Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (SCHWARZ et al., 2003). Für die Interpretation der Ergebnisse können entweder klinische oder epidemiologische Grenzwerte herangezogen werden. Klinische Grenzwerte (clinical breakpoints) erlauben eine Aussage über die Wirksamkeit eines Antibiotikums gegenüber einem Bakterium und eine Einteilung der Erreger in „sensibel“, „intermediär“ oder „resistent“. Epidemiologische Grenzwerte (epidemiological cut-off values) dienen der frühzeitigen Bewertung von Resistenzent-

wicklungen und werden im Monitoring eingesetzt. Hier werden die Bakterien in „Wildtype“ oder „non-Wildtype“ bei Überschreitung der Grenzwerte eingeteilt (KAHLMETER et al., 2003; SCHWARZ et al., 2010). Die CLSI hat für die Bestimmung der MHK mittels Mikrodilution eine genaue Durchführungsvorschrift verfasst (CLSI-Dokument M31-A3, 2008), die auch spezifisch für die Tiermedizin ausgelegte Grenzwerte enthält (SCHWARZ et al., 2010).

Bouillon-Makrodilution

Bei dieser Variante können einzelne Antibiotika in individuellen Konzentrationen überprüft werden. Der Test wird mit Reagenzgläsern mit einem Flüssigkeitsvolumen von 2-5 ml durchgeführt. Das Medium enthält die zu testenden Antibiotika in unterschiedlichen Konzentrationen und eine standardisierte Suspension des Erregers. Durch die individuelle Herstellung der Verdünnungsreihen beinhaltet dieses Verfahren jedoch eine relativ hohe Zahl möglicher Fehlerquellen und bedeutet einen hohen Arbeitsaufwand (CZAPIEWSKI, 2010).

Polymerasekettenreaktion

Mittels PCR können relevante Resistenzgene einfach und mit hoher Sensitivität und Spezifität nachgewiesen werden.

Die Frage der Resistenzentwicklung gegenüber antimikrobiellen Medikamenten spielt bei der Therapie bakterieller Infektionen zunehmend eine Rolle. Wie bereits erwähnt, besitzen Chlamydien gegenüber einer Vielzahl von Antibiotika eine natürliche Resistenz. Tetracykline sind dagegen noch wirksam, obwohl bereits eine große Zahl anderer weit verbreiteter Erreger, z. B. etliche Enterobakterien (*E. coli*, Klebsiellen, Salmonellen, Shigellen) sowie Clostridien, Mykobakterien und anaerobe Streptokokken, Resistenzen erworben haben (SPEER et al., 1992). Auch bei einigen Chlamydien ist eine Resistenzentwicklung bekannt. So berichten BINET und MAURELLI (2005) von einer Dosis-abhängigen Resistenz von *C. trachomatis* gegen Rifampin und Spectinomycin. Die Rifampin-Resistenz ist seit 1979 bekannt und basiert auf einer Mutation im *rpoB*-Gen, das für die β -Untereinheit der RNA-Polymerase kodiert. Aktuell eingesetzte Antibiotika binden an 16S- oder 23S-rRNA und beeinflussen so die Translation. Bei Spectinomycin, das als Modellwirkstoff

bei der Analyse der Empfindlichkeit gegenüber *C. trachomatis* diente, sank die Empfindlichkeit durch eine Modifikation im 16S-RNA-Ziel der Chlamydien (C-U-Basenaustausch an Position 1192) um das 500-fache. Die Frequenz dieser Mutationen liegt für Rifampin bei 7×10^{-7} , für Spectinomycin etwa zehnmal höher bei 10^{-6} .

Resistenzen in rRNA-Genen sind generell rezessiv oder kodominant. Die Menge an rRNA-Operon-Kopien im Genom beeinflusst die Frequenz spontaner Resistenzen gegenüber ribosomal wirksamen Antibiotika. Daher treten diese vermehrt bei Bakterien mit geringen Kopiezahlen auf, da anderenfalls der selektive Vorteil einer Mutation in einem rRNA-Gen durch die Fülle unveränderter Gene überdeckt würde. Chlamydien besitzen nur ein bis zwei rRNA-Operons (*C. psittaci* nur eines), so dass rRNA-Mutationen machbare und wahrscheinliche Mechanismen zur Resistenzbildung sind (BINET und MAURELLI, 2005).

Bei *C. trachomatis* ist eine Resistenz gegen die Fluorochinolone Ciprofloxacin und Ofloxacin *in vitro* bekannt geworden (JONES et al., 1990; NOTOMI et al., 1999). Sie beruht auf einer Serinsubstitution, einer häufigen Mutation bei Fluorochinolon-resistenten Bakterien. Allerdings entwickelten sich diese erst nach etwa elf Passagen in Kultur, also deutlich über eine normale Behandlungsdauer *in vivo* hinaus. *C. pneumoniae* zeigte dagegen auch nach mehreren Passagen bei subinhibitorischen Fluorochinolon-Konzentrationen keine Resistenzbildung (MORRISEY et al., 2002).

Für *C. psittaci* liegen keine Studien zur Resistenzentwicklung vor. Auch konnten die Studien von THEIS (2007) und KINNDLE (2007) an Hand von mehreren Isolaten keine deutlichen Hinweise auf erworbene Resistenzen nachweisen.

FAILING et al. (2006) führten eine Untersuchung zur Bestimmung der Hemmkonzentration 50 % (inhibitory concentration 50 %, IC₅₀) für vier Antibiotika durch. Getestet wurden die beiden Tetrazykline *Chlortetracyclin* und *Doxycyclin* sowie die Fluorochinolone *Enro-* und *Difloxacin* in fünf unterschiedlichen Konzentrationen (0,0; 0,25; 0,50; 1,0; 10,0 µg/ml) hinsichtlich ihrer Wirkung auf die Vermehrung der Chlamydien in BGM-Zellkulturen und die Bildung von Einschlusskörperchen. Die Autoren empfehlen die Verwendung der IC₅₀ anstelle der MHK, da diese Angabe deutlich präziser zu be-

rechnen ist. Die IC_{50} berücksichtigt alle Werte aller Wirkstoffkonzentrationen, während die MHK nur die höchste Wirkstoffkonzentration angibt, bei der keine Chlamydieneinschlüsse mehr sichtbar sind. Die Studie ergab, dass die IC_{50} für die Tetrazykline (Chlortetracyclin 0,807 $\mu\text{g/ml}$, Doxycyclin 0,497 $\mu\text{g/ml}$) deutlich höher liegt als die der Fluorochinolone (Enrofloxacin 0,180 $\mu\text{g/ml}$, Difloxacin 0,168 $\mu\text{g/ml}$). Für eine vollständige Hemmung der Einschlusskörperchenbildung war bei den Fluorochinolonen eine Konzentration von 1,0 $\mu\text{g/ml}$ ausreichend, während 10 $\mu\text{g/ml}$ Tetrazyklin benötigt wurden. FAILING et al. werteten dies als Hinweis auf eine Resistenz von *Chlamydia psittaci* gegenüber Tetrazyklinen (FAILING et al., 2006).

Neben der natürlichen Resistenz spielt auch die ebenfalls mögliche Persistenz nach einem Therapieversagen eine große Rolle. Erstmals wurde dieses Phänomen bereits 1933 von MEYER et al. beschrieben. Die Persistenz beschreibt ein vitales, aber nicht kultivierbares Vermehrungsstadium, das durch vier Merkmale charakterisiert wird (BEATTY et al., 1994; GIEFFERS et al., 2004):

1. Unfähigkeit zur Produktion von Elementarkörperchen
2. veränderte Genexpression (reduzierte Level von Omp1 und OmcB)
3. veränderte Morphologie der Retikularkörperchen
4. Reversibilität der Persistenz nach Elimination des Induktionsstimulus.

Ein deutliches Anzeichen einer Persistenz ist das fehlende Fortschreiten der Infektion nach 72 h, wenn normalerweise die Bildung der neuen Elementarkörperchen erfolgt. Die Retikularkörperchen können sich nicht mehr binär teilen, sondern häufen nur Chromosomen an, wodurch große, anormale Formen entstehen.

Morphologisch fallen abweichende Formen auf, d.h. die Einschlussvakuolen sind kleiner, während die Retikularkörperchen darin deutlich größer sind als bei einem regulären Replikationszyklus. Elektronenmikroskopisch zeigen sich die Unterschiede noch deutlicher, wobei die Veränderungen in Abhängigkeit von Induktionsstimulus variieren. GOELLNER et al. (2006) verglichen die Auswirkungen einer Behandlung mit DAM (Deferoxamin-Methansulfonat), Penizillin G und Interferon Gamma (IFN- γ) im Bezug auf eine Persistenz. Dabei entstanden unter Eisenentzug durch DAM RBs doppelter Größe mit unregelmäßiger Form und gewellter Oberfläche. Eine Penizillin-

behandlung führte dagegen zu Einschlussvakuolen mit wenigen, dicht gepackten RBs, die in Größen von normal bis zehnfach vergrößert und in unterschiedlichen Formen auftraten. Unter IFN- γ -Einfluss entwickelten sich 2- bis 4-fach vergrößerte RBs variabler Form mit amorphem, granulärem Material im Zentrum (Abbildung 20).

In allen Modellen war die Persistenz reversibel, wobei sich die schnellste Erholung im DAM-System vollzog.

GIEFFERS et al. (2004) untersuchten die Induktion der Persistenz *in vitro* über 72 h mit Ciprofloxacin, Doxzyklin, Rifampin und Erythromycin bei *C. pneumoniae*. Bei Antibiotika-Konzentrationen von 0,5 $\mu\text{g/ml}$ fanden sich keine lebenden EBs mehr und eine Reaktivierung war ebenfalls nicht möglich.

Letzteres gelang aber bereits bei 0,38 $\mu\text{g/ml}$ und bei 0,25-0,13 $\mu\text{g/ml}$ gab es auch überlebende EBs. Ab Konzentrationen von 0,13 $\mu\text{g/ml}$ bestand kein Unterschied mehr zwischen behandelten und unbehandelten Proben.

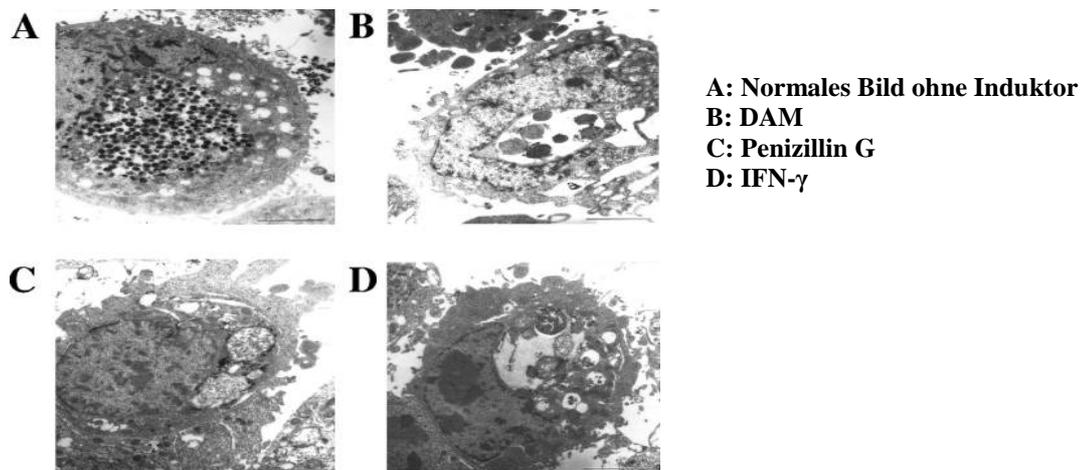


Abbildung 20: Transmissionselektronenmikroskopisches Bild chlamydiärer Einschlüsse 48 p.i. (GOELLNER et al., 2006)

Die Ergebnisse waren für alle untersuchten Wirkstoffe vergleichbar, allerdings zeigte sich bei Doxzyklin der größte Persistenz-induzierende Effekt. Der Vergleich der Expression der Cystein-reichen 60 kDa *omcB*- und *ompG*-Gene unter dem Einfluss subinhibitorischer Konzentrationen von Ciprofloxacin (0,38 $\mu\text{g/ml}$) und Doxzyklin (0,05 $\mu\text{g/ml}$) ergab für Ciprofloxacin eine Reduktion der Genexpression um das 5,9- bzw. 4,1-

fache, für Doxyzyklin um das 4,9- bzw. 5,2-fache. Die Expression von *omcB* und *ompG* steigt normalerweise gegen Ende des Entwicklungszyklus an, wenn die Umwandlung der Retikular- in die Elementarkörperchen erfolgt. Nach 48 h in Antibiotika-freiem Medium normalisierten sich die Expressionslevel wieder.

Neben den Antibiotika können *in vitro* auch ein Mangel an essentiellen Nährstoffen (z.B. Aminosäuren, Glukose, Eisen), Zytokine (Interferon γ) oder Infektionen mit Phagen den normalen Entwicklungszyklus unterbrechen (HOGAN et al., 2004). Vor allem Eisenmangel hemmt die Infektiosität der Bakterien und verursacht deutlich erkennbare morphologische Veränderungen, die sich jedoch von denen in anderen Persistenzsystemen unterscheiden. Interferon γ wirkt durch eine Aktivierung der wirtseigenen Indolamin-2,3-Dioxygenase (IDO), die Tryptophan abbaut, welches zu den essentiellen Aminosäuren vieler Chlamydienspezies gehört (BYRNE et al., 1986). Da IFN γ auch bei der primären Immunantwort gebildet wird, könnte die Persistenz in diesem Fall eine reguläre Ausweichstrategie der Chlamydien sein, um dem Abwehrsystem des Wirtes zunächst zu entgehen.

Nach Elimination des Stimulus bzw. Substitution des fehlenden Nährstoffes ist die Persistenz reversibel und der normale Entwicklungszyklus wird mit der Bildung von Elementarkörperchen wieder aufgenommen. Zu den überzeugendsten Anzeichen für eine Persistenz *in vivo* gehören die Beobachtung veränderter morphologischer Formen, der Nachweis chlamydiärer Makromoleküle in erkrankten Wirten, die nicht kultivierbar sind, wiederkehrende Infektionen, wenn eine Neuinfektion ausgeschlossen werden kann, sowie eine klinisch erkennbare Antibiotikaresistenz (HOGAN et al., 2004). Elektronenmikroskopische Untersuchungen ergaben, dass die morphologischen Veränderungen der Retikularkörper *in vitro* und *in vivo* vergleichbar sind. Allerdings ist dies allein noch kein Beweis für eine persistente Infektion. Erst der Nachweis vitaler, jedoch atypischer Chlamydien in infizierten Geweben, ohne dass diese kultiviert werden können, bestätigt die Persistenz (HOGAN et al., 2004).

Der molekulare Mechanismus der Persistenz ist bislang nicht eindeutig geklärt und bei *C. psittaci* auch kaum untersucht, da das Genom noch nicht vollständig sequenziert worden ist. Bei *C. trachomatis* und *C. pneumoniae*

wurden mehrere Untersuchungen durchgeführt, die jedoch zum Teil zu sehr gegensätzlichen Ergebnissen kamen. Das liegt zum einen an den unterschiedlichen Mechanismen zur Persistenzinduktion, spiegelt zum anderen aber auch die Variationen innerhalb der Spezies und Stämme, der Wirtszelllinien und sonstigen experimentellen Bedingungen wider. Hinsichtlich des mRNA-Expressionsprofils finden sich dennoch einige Übereinstimmungen zwischen den verschiedenen Studien. Es kommt zu einer Herunterregulation der Gene, die in der Endphase des Entwicklungszyklus exprimiert werden, zu einer Herunterregulation der Gene, die für Proteine zur Zellteilung kodieren sowie zu einem reduzierten Verhältnis von MOMP zu Hsp60 (*ompA*-zu-*groEL* Quotient) (GOELLNER et al., 2006). In den von GOELLNER et al. untersuchten Persistenzmodellen mit DAM, Penicillin G und IFN- γ zeigten sich zum Teil jedoch Unterschiede bei der Genexpression. Analysiert wurden 27 Gene, die für Membranproteine, Proteine der Stressantwort sowie für Proteine der Transkriptionsregulation, der Signaltransduktion und der RE-EB-Differenzierung kodieren. Das DAM-Modell stellte sich dabei als das belastbarste heraus, mit einer hohen Regenerationsrate nach Eisensubstitution und den geringsten Schwankungen bei der Genexpression, was einen schnellen Wechsel in das Persistenzstadium vermuten lässt.

Die stärkste Reaktion fand im IFN- γ -Modell statt, bei dem es zunächst zu einer massiven Hochregulation einiger Gene kam, dann jedoch die mRNA-Expression fast vollständig eingestellt wurde. Dies deckt sich mit Ergebnissen anderer Studien (BYRNE et al., 1986; ROTHERMEL et al., 1983) und könnte auf einem Tryptophanmangel beruhen (s. o.). Des Weiteren könnte es bei diesem System zu einer Überlappung von Interferon-Wirkung und Eisenmangel kommen, da IFN γ auch Transferrinrezeptoren herunterreguliert und damit zu geringeren Eisenkonzentrationen in der Wirtszelle führt.

Im Gegensatz zu den anderen Systemen zeigt sich bei der Penicillin G-induzierten Persistenz eher eine Hochregulation vieler Gene, insbesondere derer für die Stressantwort sowie für Membranproteine. Die Autoren erklären dies mit der Tatsache, dass Penicillin primär die Zellwandsynthese beeinflusst und weniger den Metabolismus beeinträchtigt (GOELLNER et al., 2006). Eine vorübergehend verstärkte Expression solcher Gene, die normalerweise erst gegen Ende des Entwicklungszyklus aktiviert werden (für Membran-

proteine, DNA-Kondensation, RB-EB-Differenzierung, Signaltransduktion und Translationsregulation), zu Beginn der Persistenzinduktion, könnte so interpretiert werden, dass die Bakterien versuchen, ihren Entwicklungszyklus zu beschleunigen, um dem Immunsystem zuvorzukommen.

Folglich lässt sich festhalten, dass die Etablierung und Aufrechterhaltung der Persistenz, unabhängig von Induktionsstimulus, mit einer Herunterregulation der sogenannten „späten“ Gene einhergeht. Dazu gehören die Gene für Membranproteine (*omcB*, *omcA*, *pomp*'s), Transkriptionsregulatoren (*sigA*, *sig28*, *sig54*), Zellteilungsfaktoren (*ftsW*) und für Faktoren der RB-EB-Differenzierung (*atoC*, *atoS*) (GOELLNER et al., 2005). Des Weiteren zeigte die Untersuchung, dass in allen drei Persistenzmodellen (DAM, INF γ , Penicillin G) das Gentranskript für die chlamydiale CADD (Chlamydia Protein Associating with Death Domains) herunterreguliert wurde. Die Autoren interpretieren dies als das Bestreben der aberranten, persistenten Chlamydien, in der Wirtszelle zu verbleiben (GOELLNER et al., 2005).

Da persistente Infektionen relativ leicht entstehen können, ist es besonders wichtig, auf ein strenges Therapieregime zu achten. Vor allem in größeren Beständen muss sichergestellt werden, dass alle Tiere eine ausreichend hohe Menge des Antibiotikums aufnehmen, um wirksame Blutplasmaspiegel zu erreichen und die Therapiedauer unbedingt eingehalten wird. Chinolone gelten derzeit noch als sehr wirksam und man geht von einer vollständigen Abtötung aller Infektionen und Erkrankungen durch *Chlamydia psittaci* nach einer adäquat durchgeführten Therapie aus. Bei Tetrazyklinen sind für *Chlamydia trachomatis* bereits Resistenzen bekannt, die zu einem Therapieversagen und somit zu einer persistenten Infektion führen können. Ob es sich dabei um direkte oder phänotypische Resistenzen handelt, die als Einzelfall auftreten, ist bislang unklar.

Allerdings sind bereits multiresistente *Chlamydia trachomatis*-Stämme bekannt, die gegen eine Vielzahl von Antibiotika mit unterschiedlichen Wirkmechanismen resistent geworden sind. Dies deutet auf einen globalen Resistenzmechanismus hin, zum Beispiel eine Membranalteration, die die Aufnahme der Medikamente in die Zellen verhindert (HOGAN et al., 2004; BINET und MAURELLI, 2005).

Wie oben erwähnt, spielt auch das Immunsystem der infizierten Vögel eine wesentliche Rolle bei der Erregerelimination, so dass es unter Umständen trotz unzureichender Therapie zu einer vollständigen Genesung kommt. Auf der anderen Seite kann eine Schwächung des Immunsystems zu einem Wiederaufflammen einer persistenten Infektion führen. Das bestätigt auch die Hypothese, dass Immunfaktoren wie Interferon- γ eine signifikante Rolle bei der Persistenz *in vivo* spielen.

4.4 Immunität und Impfung gegen *Chlamydia psittaci*

Da die Erreger der Psittakose auch in die Blutbahn gelangen und dem Immunsystem präsentiert werden, können während und kurz nach der Infektion im Serum Antikörper der Klassen IgM, IgG und IgA detektiert werden, die auch diagnostisch verwertbar sind. Parallel dazu entsteht auch eine zelluläre Immunität, die jedoch ebenfalls nicht von Dauer ist (HAHN et al., 2008). Durch vertikale Transmission maternalen Antikörper sind Jungvögel zunächst vor einer klinisch manifesten Chlamydiose geschützt. Im Alter von drei bis vier Wochen ist jedoch der Antikörperspiegel so weit abgesunken, dass dann häufig Infektionen mit nachfolgender Erkrankung auftreten (VERMINNEN et al., 2008). Ziel einer Impfung muss es also sein, zum einen die geimpften Tiere gegen eine frühzeitige Neuinfektion zu immunisieren und die Erregerausscheidung der Infizierten zu minimieren. Zum anderen ist transovariellen Infektionen vorzubeugen und die vertikale Antikörpertransmission zu steigern.

Seit dem Ende des 19. Jahrhunderts wird intensiv nach einer wirkungsvollen Vakzine gesucht, um großen Seuchengeschehen vorzubeugen. Abgesehen von einzelnen Versuchen mit attenuierten Lebendvakzinen, erbrachten die klassischen Herstellungsverfahren (Erreger-Inaktivierung und Adjuvans) und Immunisierungsstrategien mit ganzen, attenuierten Organismen, verschiedenen attenuierten Vektoren oder Subunit-Vakzinen nur mäßige Erfolge bei experimentellen Belastungsinfektionen (HÉCHARD et al., 2004).

Die Idee der DNA-Vakzine entstand im Jahr 1989 in den Vereinigten Staaten, vier Jahre später gelang dann die Immunisierung von Mäusen gegen das Influenza A-Virus (ULMER et al., 1993).

Das Prinzip basiert auf dem direkten Transfer nackter bakterieller Plasmid-DNA in eine tierische Zelle. Dazu wird ein Gen, das für ein bestimmtes immunogenes Protein kodiert, in ein eukaryotisches Expressionsplasmid integriert. Dieses Vakzinationsplasmid dient anschließend der Wirtszelle als Vorlage für die Synthese des kodierten Proteins, das dann vom Körper als Fremdartigen erkannt wird und eine entsprechende Immunantwort auslöst. DNA-Vakzinationen induzieren eine spezifische humorale Immunität, die durch $CD4^+$ -T-Lymphozyten mediiert ist und zur Produktion Antigen-spezifischer Antikörper führt. Des Weiteren bildet sich eine zelluläre Immunität durch die Aktivierung von $CD8^+$ -T-Lymphozyten, die eine wesentliche Bedeutung bei der Bekämpfung intrazellulärer Pathogene hat. Die Induktion der zytotoxischen T-Lymphozytenantwort umfasst sowohl die direkte Transfektion Antigen-präsentierender Zellen (APC) als auch eine Kreuzaktivierung der APCs durch Antigene aus Muskelzellen (HÉCHARD et al., 2004). Die Applikation der DNA-Vakzinen erfolgt üblicherweise intramuskulär oder intradermal, aber auch eine intranasale, intravaginale oder orale Immunisierung ist möglich (HÉCHARD et al., 2004).

Der Vorteil der DNA-Vakzine ist ihre einfache und kostengünstige Herstellung, Lagerung und Anwendung, und es entstehen im Gegensatz zu konventionellen Impfstoffen keine Nebenwirkungen oder Unverträglichkeiten. Des Weiteren kann eine sehr spezifische humorale und zelluläre Immunantwort initiiert werden, die eine Differenzierung von induzierter und infektionsbedingter Immunität ermöglicht (MOR, 1998). Dennoch bestehen auch Risiken. Da der injizierte DNA-Abschnitt in das Wirtsgenom integriert wird, kann es bei wiederholten Injektionen zu einer immunologischen Toleranz oder sogar zu einer Autoimmunreaktion kommen (MOR et al., 1996; MOR et al., 1997).

VANROMPAY et al. führten bereits vor mehr als zehn Jahren Studien zur DNA-Immunisierung von Puten durch (VANROMPAY et al., 1999a; VANROMPAY et al., 1999b; VANROMPAY et al., 2001). Verwendet wurde eine MOMP-basierte DNA-Vakzine, die zum Schutz vor schweren klinischen Erkrankungen und Läsionen führte und die Erregerausscheidung reduzierte. Die Puten entwickelten sowohl eine humorale als auch eine zelluläre Immunität und zeigten

sich gegenüber einer aerogenen Infektion unempfindlicher, auch wenn kein vollständiger Schutz erreicht wurde.

CHENG et al. (2007) konnten zeigen, dass der Effekt der DNA-Vakzinen durch die Zugabe von Oligodeoxynukleotiden (ODN) mit CpG-Motiven als Adjuvans noch verstärkt wird, da besonders die zellvermittelte Immunität bei der Psittakose eine wesentliche Rolle spielt. CpG-ODN aktiviert das Immunsystem durch Stimulation von APCs und Induktion der Zytokinsekretion (z.B. IL-12, IFN- γ).

Durch Optimierung des *Codon Bias* und die Kopplung der Plasmid-DNA an Polyethylenimin (PEI), ein kationisches Polymer, erreichten VERMINNEN et al. (2010) bei Puten eine verbesserte zelluläre Aufnahme und eine höhere Stabilität der DNA-Vakzine bei der Applikation als Aerosol. Unter dem *Codon Bias* versteht man die Varianten bestimmter Gensequenzen unterschiedlicher Spezies. Die meisten Aminosäuren können durch mehrere Codons, also Basen-Triplets, kodiert werden. Welche Kodierung präferiert wird, ist speziesspezifisch. Durch Anpassung des *Codon Bias* der DNA-Vakzine an Puten verbesserte sich die zelluläre Aufnahme der Vakzine signifikant, und es zeigte sich eine deutlich höhere Genexpressionsrate sowie Immunogenität (VERMINNEN et al., 2010).

Studien zu Impfungen bei Psittaziden sind in der Literatur relativ selten zu finden. Eine aktuelle Arbeit von HARKINEZHAD et al. (2009) zeigt jedoch, dass Wellensittiche nach der Immunisierung mit einer MOMP-DNA-Vakzine signifikant weniger und schwächer ausgeprägte klinische Symptome aufweisen als Placebo-Kontrolltiere. Des Weiteren wurden deutlich weniger makroskopische Läsionen und Ausscheidung sowie eine reduzierte Replikationsrate der Chlamydien festgestellt. Darüber hinaus konnten die Autoren darlegen, dass das Vorhandensein zirkulierender Antikörper vor der Vakzination keinen inhibitorischen Effekt auf die Serokonversion hat. Dies ist insofern ein entscheidender Punkt, da zum einen eine vorhergehende Feldinfektion mit entsprechender Antikörperbildung selten völlig ausgeschlossen werden kann und zum anderen Jungvögel in den ersten 2 Lebenswochen maternale Antikörper besitzen, die zunächst auch vor einer klinisch manifesten Erkrankung schützen (VERMINNEN et al., 2008). Im Alter von 3-4 Wochen, wenn die maternalen Antikörper verschwunden sind, sind dann gerade die Jungvögel

besonders anfällig für schwere Erkrankungen, da sich ihr eigenes Immunsystem erst im Aufbau befindet. Eine frühe Impfung könnte daher unterstützend wirken und fatale Krankheitsverläufe verhindern.

5 Psittaziden in Deutschland – Rechtsgrundlagen

In Deutschland rangieren Ziervögel nach Angaben des Zentralverbandes Zoologischer Fachbetriebe (ZZF e.V.) mit ca. 3,5 Millionen (Stand Mai 2010) auf Platz 4 der beliebtesten Haustiere, wobei die Zahlen seit 1995 (ca. 5 Mio.) rückläufig sind. Den größten Teil machen dabei nach Schätzung des ZZF mit ca. 50 % die Wellensittiche (~ 1,7 Mio.) aus. Die Anzahl der Papageien und Sittiche wird vom ZZF auf etwa 180.000 bis 240.000 Tiere geschätzt, wobei genauere Zahlen nicht verfügbar sind.

Da inzwischen viele freilebende Papageien- und Sitticharten unter die Anhänge I (A) und II (B) der Artenschutz-VO fallen, stammen heute viele Vögel bereits aus Nachzuchten (Abbildung 21), während die Zahl der Importe deutlich zurückgegangen ist. Wurden 1996 noch 7.682 Papageien und Sittiche importiert, waren es 2010 nur noch 127 Tiere und somit ein Rückgang von über 95 % (Abbildung 22). Die Ursprungsländer liegen überwiegend in Südamerika oder Asien (besonders in den Philippinen).

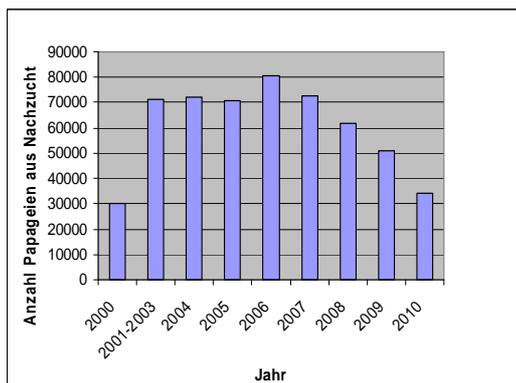


Abbildung 21: Anzahl der Psittaziden aus deutschen Nachzuchten von 2000 - 2010
(Quelle AZ-Nachzuchtstatistik)

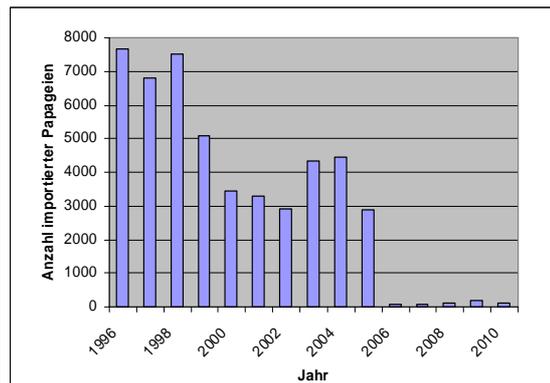


Abbildung 22: Anzahl importierter Psittaziden 1996-2010
(Quelle WA-Datenbank VIA des Bundesamtes für Naturschutz)

Der Handel mit Psittaziden wird international wesentlich durch das **Washingtoner Artenschutzübereinkommen** (WA) beeinflusst, das dem Erhalt

gefährdeter Tier- und Pflanzenarten dienen soll. Der offizielle Titel der am 03.03.1973 getroffenen Vereinbarung lautet „Übereinkommen über den internationalen Handel mit gefährdeten Arten freilebender Tiere und Pflanzen“ oder international „Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora“, kurz **CITES**. Der Inhalt des WA – eines non-governmental documents – wurde von deutscher Seite in nationales Recht überführt. Das WA wurde bislang von 175 Staaten ratifiziert (zuletzt Bosnien und Herzegowina 2009, www.cites.org) und verpflichtet die Mitgliedsstaaten zur Kontrolle der Ein- und Ausfuhr geschützter Arten, zur Reduktion des Nutzungsumfanges bei Bestandsgefährdungen und zur Bekämpfung des illegalen Handels.

In dem Übereinkommen sind über 5.000 Tier- und knapp 30.000 Pflanzenarten in je drei Schutzkategorien eingeteilt (Anhang I - III).

Anhang I enthält unmittelbar vom Aussterben bedrohte Arten, deren Handel grundsätzlich verboten und nur in Ausnahmefällen zugelassen ist. Für diese Arten ist sowohl vom Ausfuhrland als auch vom Importstaat eine Genehmigung notwendig.

Anhang II umfasst bedrohte, aber nicht akut gefährdete Arten, deren Nutzung und Handel zwar kontrolliert, aber nicht vollständig unterbunden werden soll. Hier genügt eine Ausfuhrgenehmigung des Exportlandes für den Handel.

Anhang III listet national reglementierte Arten oder Populationen auf, für deren Schutz eine internationale Kontrolle des Handels notwendig erscheint.

Die Entsprechungen des WA finden sich in den **EU-Rechtsgrundlagen** Verordnung (EG) Nr. 338/97 und Verordnung (EU) Nr. 709/2010. In letzterer finden sich die Anhänge A – D, die im Wesentlichen eine Entsprechung der Anhänge I – III des WA darstellen. Anhang D enthält zusätzlich Arten, die aktuell nicht bedroht sind, mit denen aber umfangreich gehandelt wird und die daher unter verstärkter Beobachtung stehen.

Alle Tiere, die in den Anhängen des WA aufgeführt sind, benötigen einen Nachweis über ihre Herkunft. Jeder, der ein solches Tier besitzt oder die tatsächliche Verfügungsgewalt inne hat, ist daher verpflichtet, bei amtlichen Kontrollen die Herkunft des Tieres mit einer sogenannten CITES-Bescheinigung nachweisen zu können.

In Deutschland wurden die internationalen Vorgaben des WA und der EU in der **Bundesartenschutzverordnung** in nationales Recht umgesetzt.

Anlage 1 beinhaltet geschützte einheimische und europäische Arten, Anlage 2 umfasst die Anhänge I und II des WA und in Anlage 3 finden sich nicht-europäische Greifvögel. Des Weiteren ist hier die Kennzeichnungspflicht für Vögel aus Zuchtbetrieben (geschlossener Fußring) und Tiere anderer Herkunft (offener Fußring oder Transponder) sowie die Aufzeichnungspflicht für Händler über Aufnahme und Auslieferungen festgeschrieben (Abschnitt 2 und 4).

6 Staatliche Bekämpfungsmaßnahmen und Rechtsgrundlagen der Psittakose

6.1 Die Anfänge staatlicher Bekämpfungsmaßnahmen

Während der Psittakose-Pandemie 1929 / 1930 ergriffen die USA als erstes Land staatliche Maßnahmen zur Eindämmung der Seuche und erließen ein Importverbot für Papageien. Dies wurde danach in vielen anderen von der Pandemie betroffenen Staaten umgesetzt. Dennoch kam es zu keiner gemeinsamen, länderübergreifenden Vorgehensweise in Europa und anderen Kontinenten gegen diese neuartige Seuche der Vögel (KREBSZ, 1995; WINKLE, 2000).

Aufgrund des Wiederanstiegs der Erkrankungen und Todesfälle bis zum März 1932 erließen die USA erstmals ein Gesetz zur Bekämpfung der Psittakose, das sich auf alle Psittaziden bezog, da man Wellensittiche als Hauptinfektionsquelle humaner Infektionen identifiziert hatte. Durch ein Handelsverbot für Papageien innerhalb der Vereinigten Staaten wollte man die Zuchten Psittakose-frei bekommen. Alle Personen oder Firmen, die mit Psittaziden Umgang hatten, mussten sich beim Staatlichen Gesundheitsamt eintragen lassen. Außerdem mussten schriftliche Belege über An- und Verkäufe sowie Erkrankungen und Todesfälle angefertigt und für zwei Jahre aufbewahrt werden. Für Zucht und Handel war ein Erlaubnisschein des Gesundheitsamtes notwendig, der erst nach zweimaliger Laboruntersuchung (direkter Erregernachweis negativ) erteilt wurde. Die Vögel mussten beim Verkauf mindestens acht Monate alt und durch einen nummerierten Fußring gekennzeichnet sein (KREBSZ, 1995). Diese Maßnahmen erwiesen sich als sehr erfolgreich: waren zwischen 1932 und 1934 noch 62 % der Bestände mit den Psittakose-Erregern infiziert, sank die Zahl bis 1937 auf unter 1 %.

Im Deutschen Reich wurden angesichts der Krankheits- und Todesfälle in mehreren Ländern Europas sowie Nord- und Südamerikas zwischen 1879 bis 1929 zunächst keinerlei rechtliche Schritte zur Bekämpfung der Psittakose unternommen. Der erste Rechtsakt erfolgte auf der Basis des § 7

Staatliche Bekämpfungsmaßnahmen und Rechtsgrundlagen der Psittakose – Die Anfänge staatlicher Bekämpfungsmaßnahmen

Viehseuchengesetz vom 23. Juni 1880 in der Fassung vom 26. Juni 1909 (Schutz des heimischen Geflügels gegen die Ansteckung durch Importtiere). Am 14. Januar 1930 erging die Viehseuchenpolizeiliche Anordnung betreffend der Einfuhr von Papageien und Sittichen. Im Satz 1 dieser Anordnung heißt es lapidar „Die Einfuhr von Papageien und Sittichen ist bis auf weiteres verboten.“ Anlässe für diese Viehseuchenpolizeiliche Anordnung waren (i) die erkannte Übertragbarkeit des Erregers der Psittakose auch auf Menschen; (ii) die Übertragbarkeit dieses Erregers auf nutzbare Haustiere; (iii) die noch unbekanntes Ursachen und Verbreitungswege des Psittakose-Erregers. In den hierzu ergangenen Erläuterungen wird ebenfalls mitgeteilt, dass Papageien im Besitze von Artisten, die ihre Papageien nachweislich für „Kunstvorführungen“ benötigen, eine Einfuhrgenehmigung von den Grenzkontrollstellen erhalten können, wenn die betreffenden Papageien bei einer Untersuchung als gesund befunden worden sind (HELLICH und STÖRIKO, (1953).

Das Deutsche Reich hatte 1934 im Wesentlichen die US-amerikanische Regelung mit dem „Gesetz zur Bekämpfung der Papageienkrankheit“ vom 03. Juli 1934 übernommen. 1937 erfolgte eine Ausdehnung der Vorschriften auf alle papageienartigen Vögel und es wurde Pflicht, die Tiere zu beringen. Bei dem Verdacht einer Psittakoseinfektion wurde eine bakteriologische Untersuchung durchgeführt und bei einem positiven Ergebnis der Bestand unschädlich beseitigt.

Im Runderlass des Ministeriums des Inneren des Deutschen Reichs vom 23. August 1934 wird darauf hingewiesen, dass die Viehseuchenpolizeiliche Anordnung nicht nur die Einfuhr sondern auch die Durchfuhr (Einfuhr mit Wiederausfuhr) umfasst.

Im Deutschen Reich wurde – auch unter gebührender Berücksichtigung der Kenntnisse und Erfahrungen mit der Bekämpfung der Psittakose in den USA – am 03. Juli 1934 das „Gesetz zur Bekämpfung der Papageienkrankheit (Psittakosis) und anderer übertragbarer Krankheiten“ vom Reichstag beschlossen. Zur Ausführung dieses Gesetzes wurden vier Verordnungen erlassen. Das Psittakosegesetz bestimmt unter anderem (i) § 1: Züchter und Händler von Papageien und Sittichen bedürfen einer Genehmigung durch die unteren Verwaltungsbehörden; (ii) § 2: Züchter und Händler müssen

Staatliche Bekämpfungsmaßnahmen und Rechtsgrundlagen der Psittakose – Die Anfänge staatlicher Bekämpfungsmaßnahmen

über Erwerb und Abgabe ihrer Papageien und Sittiche Buch führen, das der Polizeibehörde, dem beamteten Arzt und dem beamteten Tierarzt auf Verlangen vorzulegen ist; (iii) § 3: Wenn Erkrankungen und Todesfälle bei Papageien und Sittichen *vermehrt* auftreten, ist der Tierhalter, ggf. auch der Tierarzt, verpflichtet, dem beamteten Arzt und Tierarzt Anzeige zu erstatten. (iv) § 4: Der zuständige beamtete Tierarzt ist befugt, Bestände und Zuchten von Papageien und Sittichen zu besichtigen und auf ihren Gesundheitszustand zu untersuchen; (v) § 5: Wird die Papageienkrankheit festgestellt, kann die Polizeibehörde die Vernichtung und unschädliche Beseitigung ansteckungsverdächtiger Tiere sowie die nötigen Desinfektionen anordnen; (vi) § 6: Vorschriften über die Haltung und Versendung von Papageien und Sittichen können vom Reichsminister des Inneren erlassen werden; (vii) § 7 Erkrankungen und Todesfälle eines Menschen sowie jeder Verdacht ist der Polizeibehörde unverzüglich anzuzeigen; (viii) § 8: Reichsminister des Inneren erlässt Vorschriften über die Ermittlung der Krankheit und über die anzuordnenden Schutzmaßnahmen. (ix) § 9ff: Strafbestimmungen und Inkrafttreten.

Zum Gesetz zur Bekämpfung der Papageienkrankheit vom 03. Juli 1934 wurde am 14. August 1934 die Verordnung zur Bekämpfung der Papageienkrankheit erlassen. Artikel 1 dieser VO definiert die Begrifflichkeiten der „Papageien und Sittiche“ gemäß der damals gebräuchlichen zoologischen Systematik und den „Züchter“ im Sinne des Gesetzes. Artikel 2 beschreibt die Befugnisse der unteren Verwaltungsbehörde und des beamteten Tierarztes. Artikel 3 enthält detaillierte Angaben zur formalen Gestaltung der vorgeschriebenen Bücher über Erwerb und Abgabe der Tiere. Artikel 4 nennt Vorschriften zum Vollzug der unverzüglichen Anzeigepflicht beim mehrfachen Auftreten von Erkrankungs- und Todesfällen. Artikel 5 fordert die Absonderung kranker, krankheitsverdächtiger und ansteckungsverdächtiger Tiere und deren Unterbringung in einem gesonderten Raum. Der beamtete Tierarzt hat die Seuchenfeststellung vom „Ergebnis der bakteriologischen Untersuchung“ abhängig zu machen, wobei die eigentliche Untersuchung von toten oder getöteten Vögeln durch das Robert-Koch-Institut in Berlin zu erfolgen hat. Artikel 6 schreibt die „bakteriologische Untersuchung“ vor, was als Bezug zum Nachweis des sog. Nocardischen Bazillus zu sehen ist. Die Tö-

Staatliche Bekämpfungsmaßnahmen und Rechtsgrundlagen der Psittakose – Die Anfänge staatlicher Bekämpfungsmaßnahmen

tung durch einen Desinfektor hat mit Chloroform in einem geschlossenen Gefäß zu erfolgen. Die weiteren Artikel 7 bis 16 beziehen sich auf organisatorische und methodische Gesichtspunkte der Bekämpfung, der Art und Höhe zu zahlender Entschädigungen infolge der angeordneten Tötungen und letztlich der wieder erlangten Seuchenfreiheit.

Das Gesetz zur „Bekämpfung der Papageienkrankheit und anderer übertragbarer Krankheiten“ blieb über das Ende des II. Weltkriegs, der Besatzungszeit und dem Beginn der Bundesrepublik Deutschland hinaus in Kraft. Bedingt durch die Wiedererlangung eines gewissen Wohlstands ab der Währungsreform 1949 stieg entgegen den Bestimmungen des zitierten Gesetzes der illegale Import und illegale Handel in nicht akzeptierbarem Maße. Weil eine erfolgversprechende Behandlung der an Psittakose erkrankten Papageien und Sittiche mit den nunmehr auch in der Bundesrepublik Deutschland erhältlichen Tetrazyklinen möglich erschien, wurde seitens des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten (BML) in Bonn an einer grundlegenden Neufassung der Ziele und Maßnahmen zur Bekämpfung der Psittakose gearbeitet. Nach mehrfacher Anhörung des vom BML einberufenen Sachverständigenrates und nach Ausräumung vieler, teilweise gegensätzlicher Auffassungen des BML und der geladenen Experten über eine erfolgversprechende Bekämpfungsstrategie wurde schließlich ein grundlegend neu gestaltetes Gesetz vom Bundestag nach Anhörung und Zustimmung des Bundesrates verabschiedet.

Ab 1967 wurde in Deutschland der Import von Psittaziden wieder gestattet, aber alle importierten Vögel wurden einer prophylaktischen Behandlung mit Tetrazyklinen in staatlich anerkannten Quarantänezentren unterworfen (KREBSZ, 1995).

Mit der Aufnahme der Psittakose in das Bundesseuchengesetz im Jahr 1961 wurde der Oberbegriff der Ornithose eingeführt, der bisher die Psittakose der Papageien und Sittiche und die Chlamydiose der Nicht-Psittaziden unterschied. Dies sollte der besseren Erfassung humaner Infektionen dienen.

Die Viehseuchenverordnung vom 24. November 1964 regelte schließlich das Verbot der Ein- und Durchfuhr von Papageien und Sittichen aus dem Ausland und legte die prophylaktische Behandlung importierter Vögel mit einem Breitband-Antibiotikum in Quarantäne fest.

Eine Erleichterung für die Züchter brachte die „Verordnung zum Schutz gegen die Psittakose und Ornithose“ vom 09. Juli 1970, da nun bei amtlicher Feststellung der Chlamydiose nicht mehr der gesamte Bestand getötet werden musste, sondern eine Therapie erfolgen konnte. Allerdings war die Anordnung der Tötung bei gegebenem Verdacht einer Ausbreitung der Seuche weiterhin möglich.

6.2 Gesetzliche Regelungen in Deutschland heute

6.2.1 Die Anzeigepflicht

Die Einführung der Anzeigepflicht für Tierseuchen allgemein hat verschiedene Gründe. Zum einen haben Tierseuchen eine volkswirtschaftliche Bedeutung, weil zu ihrer Eindämmung unter Umständen große Bestände gekeult werden müssen oder viele Tiere verenden. Zum anderen besteht eine nicht unerhebliche Gefährdung der menschlichen Gesundheit, da es sich bei vielen Tierseuchen um Zoonosen handelt und so die Möglichkeit der Ausbreitung und Übertragung der Infektion auf den Menschen besteht (BÄTZA, 1992).

Voraussetzungen für die Einführung einer Anzeigepflicht sind jedoch ausreichende Kenntnisse über die Epidemiologie, ausreichende und zuverlässige diagnostische Verfahren und geeignete Maßnahmen für die staatliche Bekämpfung. Letzteres umfasst unter anderem die Vorbeugung der Einschleppung sowie die Tilgung der Seuche durch Impfung, Therapie oder Tötung der Tiere (BRÜHANN, 1983; BÄTZA, 1992; PFISTERER, 1999). Diese Voraussetzungen, insbesondere im Bezug auf geeignete Maßnahmen für die staatliche Bekämpfung, sind bei der aviären Chlamydiose nicht gegeben, weshalb die Abschaffung der Anzeigepflicht die einzig logische Konsequenz war (BÄTZA, 2013).

6.2.2 Das Tierseuchengesetz

Das Tierseuchengesetz (TierSG) wurde ursprünglich als „Viehseuchengesetz“ am 26. Juni 1909 erlassen und war im gesamten Deutschen Reich gültig. Mit dem Änderungsgesetz vom 28. März 1980 wurde die Bezeichnung „Tierseuchengesetz“ eingeführt und der Geltungsbereich über das Nutzvieh hinaus auf alle Haustiere (§ 1 Satz 2: „...von Menschen gehaltene Tiere einschließlich Bienen und Gehegewild, jedoch ausschließlich der Fische“) sowie Süßwasserfische ausgeweitet.

Das Tierseuchengesetz dient zum einen der Abwehr der Einschleppung von Tierseuchen aus dem Ausland durch Vorschriften über die Ein-, Durch- und Ausfuhr von Tieren und tierischen Erzeugnissen sowie Rohstoffen, zum anderen regelt es die Bekämpfung von Tierseuchen im Inland, wobei die Maßnahmen eng miteinander verzahnt sind und sich gegenseitig ergänzen.

Viele gefährliche Tierseuchen, z. B. Lungenseuche, Maul- und Klauen-Seuche oder Tuberkulose, konnten aufgrund der konsequenten Umsetzung in Deutschland bereits weitgehend oder vollständig getilgt werden.

Kapitel I des TierSG regelt die „Bekämpfung von Tierseuchen beim innergemeinschaftlichen Verkehr sowie bei der Ein- und Ausfuhr“. Demnach ist das innergemeinschaftliche Verbringen sowie Ein- und Ausfuhr seuchenkranker Tiere oder an Tierseuchen gestorbener Tiere sowie von Teilen oder Erzeugnissen von diesen verboten. Ausnahmen können gemacht werden, wenn eine vorherige Abtötung der Tierseuchenerreger gewährleistet ist. Die Einhaltung der Vorschriften wird an definierten Zollstellen (Tierärztliche Grenzkontrollstellen) überprüft (PITTLER und VALDER, 1992).

In Kapitel II finden sich zunächst allgemeine Vorschriften zur Ermittlung der Tierseuchenausbrüche sowie Schutzmaßnahmen gegen die allgemeine und besondere Gefahr durch Tierseuchen. Des Weiteren ist hier die Anzeigepflicht festgelegt, die Tierbesitzer, Tierärzte und andere Personen, die gewerblich mit Tieren umgehen, verpflichtet, Tierseuchenausbrüche oder Verdachtsfälle der zuständigen Behörde anzuzeigen. Welche Tierseuchen angezeigt werden müssen, ist in der „Verordnung über anzeigepflichtige Tierseuchen“ (TierSeuchAnzV) dargelegt, die bis 2011 (siehe unten) auch die Anzeigepflicht für die Psittakose fordert (BRÜHANN, 1983; PITTLER und VALDER,

1992). Die Psittakose ist jedoch die einzige Tierseuche, die im Tierseuchengesetz zusätzlich explizit geregelt ist. Nach § 17g ist für die Zucht und den Handel mit Papageien und Sittichen eine Erlaubnis der Behörde notwendig, die nur erteilt werden kann, wenn die nötige Sachkunde sowie die erforderlichen Räumlichkeiten zur Bekämpfung der Psittakose vorhanden sind.

Bei allen anderen Haustieren ist eine Infektion mit *Chlamydia* spp. dagegen meldepflichtig nach der „Verordnung über meldepflichtige Tierkrankheiten“, die auf § 78a Absatz 2 Tierseuchengesetz beruht. Diese Verordnung führt Tierkrankheiten auf, die nicht staatlich bekämpft werden, über die aber ein ständiger Überblick hinsichtlich betroffener Tierarten und deren Standorte vorhanden sein soll. Zum einen können so Veränderungen in der Infektiosität und Pathogenität des Erregers frühzeitig festgestellt und geeignete Bekämpfungsmaßnahmen veranlasst werden, zum anderen sind die Daten für die Berichte im Rahmen internationaler Verpflichtungen (Internationales Tierseuchenamt, Weltgesundheitsorganisation, Europäische Gemeinschaft u. a.) vonnöten. Dennoch sind alle zur Bekämpfung der Psittakose gesetzlich vorgeschriebenen Maßnahmen im Bedarfsfall auch hier anzuwenden.

Das bisher geltende Tierseuchengesetz wurde bis zum Jahr 2004 mehrfach geändert und modifiziert. Durch Bekanntmachungen von vielen Neufassungen wurde es zunehmend unübersichtlich. Die grundlegende Neufassung dieses Gesetzes enthält Aktualisierungen auf der Basis neuer wissenschaftlicher Erkenntnisse und darüber hinaus konkrete Anpassungen an die heute gängige Gesetzestechnik. Das Prinzip der Vorbeuge an Stelle der Bekämpfung steht nunmehr im Vordergrund, was sich auch in der neuen Bezeichnung „Tiergesundheitsgesetz“ ausdrückt (BÄTZA, 2013). Allerdings stehen in diesem neu gefassten Gesetz zahlreiche Ermächtigungen zum Erlass von Verordnungen, die bisher noch nicht in Schriftform vorliegen.

6.2.3 Die Psittakoseverordnung

Noch heute gilt die o. g. Verordnung zum Schutz gegen die Psittakose und Ornithose vom 14. August 1934 (Psittakose-VO), nun in der Fassung der Bekanntmachung vom 20. Dezember 2005 (BGBl. I S. 3531). Sie definiert Papageien und Sittiche als Vögel der Ordnung Psittaciformes und einen Aus-

bruch der Psittakose, wenn bei diesen Vögeln *Chlamydia [Chlamydophila] psittaci* nachgewiesen wurde. Ein Verdacht liegt dagegen vor, wenn die klinischen und pathologisch-anatomischen Untersuchungsbefunde einen Ausbruch befürchten lassen.

Die neue Verordnung verpflichtet Züchter und Händler, die Vögel mit Fußringen eindeutig und individuell zu kennzeichnen. Die Fußringe werden vom Zentralverband Zoologischer Fachbetriebe Deutschlands e. V., Frankfurt a. M. (*Zentralverband*) oder vom Bundesverband für fachgerechten Natur- und Artenschutz, Hambrücken (*Bundesverband*) abgegeben, wenn der Züchter / Händler eine Erlaubnis nach § 17g des Tierseuchengesetzes vorweisen kann. Diese Erlaubnis bestätigt die für die Bekämpfung der Psittakose erforderliche Zuverlässigkeit und Sachkunde der Personen sowie das Vorhandensein entsprechender Räumlichkeiten für die Separierung erkrankter Psittaziden sowie Geräte und Materialien für die Reinigung und Desinfektion. Demnach müssen „Händler und Züchter von Papageien und Sittichen ausreichend Kenntnisse haben über

- 1) Biologie der Papageien und Sittiche.
- 2) Benennung und Unterscheidung der wichtigsten gehandelten Psittaziden-Arten.
- 3) Aufzucht, Haltung (auch in Käfigen), Fütterung und allgemeine Hygiene.
- 4) a) Psittakose: Ansteckungswege, Symptome, Krankheitsverlauf bei Sittichen und Papageien sowie beim Menschen; Schutzmaßnahmen, Desinfektion.
b) Andere wichtige Krankheiten der Papageien und Sittiche.
- 5) Gesetzliche Bestimmungen zur Bekämpfung der Psittakose beim Menschen und bei Papageien und Sittichen.
a) Einschlägige Bestimmungen des Infektionsschutzgesetzes.
b) Einschlägige tiereseuchenrechtliche Vorschriften, Tierseuchengesetz, Psittakoseverordnung.
- 6) Die wichtigsten Bestimmungen des Tierseuchengesetzes.“

Nach § 3 der Psittakose-Verordnung (2005) müssen die Fußringe mit einem „Z“ (Zentralverband) oder einem „B“ (Bundesverband), dem Namen des Landes, in dem die Beringung durchgeführt wurde, sowie einer fortlaufenden

Nummer versehen sein. Alternativ kann die Kurzbezeichnung eines Züchtereinvereins, die Nummer des Züchters, die letzten beiden Ziffern des Beringungsjahres und eine für jeden Züchter fortlaufende Nummer verwendet werden. Über Erwerb und Abgabe von Psittaziden sowie Behandlungen gegen Psittakose ist ein Nachweisbuch nach der Anlage zu §4 zu führen (Abbildung 23 und 24).

**Nachweisbuch
über Aufnahme, Erwerb, Abgabe und Behandlung
von Papageien und Sittichen**

Name des Händlers/Züchters*):

Wohnort:

Straße: Telefon:

Verkaufsraum*):

Gehege*):

Erlaubnis nach § 17g des Tierseuchengesetzes

erteilt am

durch
(zuständige Behörde)

Abbildung 23: Vordruck des Nachweisbuches über Aufnahme, Erwerb, Abgabe und Behandlung von Papageien und Sittichen nach BGBl. 2005 Teil I Nr. 74 S. 3536

Die Schutzmaßnahmen gegen Psittakose gliedern sich in Maßnahmen **vor** amtlicher Feststellung der Psittakose oder des Psittakose-Verdachts (§ 5) und solche nach amtlicher Feststellung (§ 6). Demnach müssen sofort alle betroffenen Papageien und Sittiche abgesondert werden und dürfen weder den Bestand verlassen noch dürfen Vögel in den Bestand verbracht werden. Verdächtige Tiere sind so aufzubewahren, dass sie nicht mit Menschen oder anderen Tieren in Kontakt kommen können. Auch Futterreste und Einstreu dürfen nicht aus dem Bestand entfernt werden. Für das Betreten der Räume, in denen die Papageien untergebracht sind, ist Schutzkleidung inklusive Atemschutz notwendig, die anschließend sofort abzulegen ist.

Nach der amtlichen Feststellung müssen vom Besitzer deutlich sichtbar Schilder mit der Aufschrift "Psittakose - Unbefugter Zutritt verboten"

angebracht und an den Ein- und Ausgängen saugfähige Bodenmatten ausgelegt werden. Die Fußböden sind täglich unter Anleitung eines beamteten Tierarztes zu reinigen und zu desinfizieren.

Nach § 7 ist sowohl die Behandlung mit einem „wirksamen Mittel“ als auch die Tötung der Vögel möglich, wobei letzteres durch die Behörde angeordnet werden kann, wenn der Verdacht einer Weiterausbreitung der Seuche besteht. Die Psittakoseverordnung bezieht sich jedoch nicht nur auf Zuchtbestände oder Händler, sondern gilt äquivalent auch für private Haltungen oder Tierschauen.

Die Psittakose gilt als erloschen im Sinne der Verordnung, wenn alle betroffenen Tiere entweder verendet bzw. getötet oder erfolgreich behandelt worden sind. Letzteres wird durch die zweimalige Untersuchung von Sammelkotproben frühestens fünf Tage nach Abschluss der Behandlung und im Abstand von fünf Tagen überprüft, bei der keine Chlamydien mehr nachweisbar sein dürfen. Alternativ können frühestens zehn Tage nach Behandlungsbeginn Blutproben entnommen und auf eine ausreichend hohe Wirkstoffkonzentration des Antibiotikums analysiert werden. Abschließend müssen dann fünf Tage nach Behandlungsende stichprobenartig gezogene Einzelkotproben erregungsfrei sein.

Sinngemäß können alle Maßnahmen gegen die Psittakose auch bei dem Verdacht einer Ornithose bei Nicht-Psittaziden durch die Behörden angeordnet werden.

Staatliche Bekämpfungsmaßnahmen und Rechtsgrundlagen der Psittakose – Gesetzliche Regelungen in Deutschland heute

Lfd. Nr.	Vogelart	Selbst geächtete Vögel		Erworbene Vögel			Abgegebene Vögel		
		Beringung am:	Kennzeichen (Ring-Nr.)	erworben am:	von: (Name und Anschrift)	Kennzeichen (Ring-Nr.)	abgegeben am:	an: (Name und Anschrift)	Kennzeichen (Ring-Nr.)
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

Lfd. Nr.	Abgang durch Tod		Tierärztliche Behandlung			Bemerkungen		
	Kennzeichen (Ring-Nr.)	Ursache	Beginn	Art und Dosierung des Arzneimittels	Ende			
11	12	13	14	15	16	17	18	19

Abbildung 24: Vordruck des Nachweisbuches über Aufnahme, Erwerb, Abgabe und Behandlung von Papageien und Sittichen nach BGBl. 2005 Teil I Nr. 74 S. 3537

6.2.4 Verordnung zur Änderung der Verordnung über anzeigepflichtige Tierseuchen und der Verordnung über meldepflichtige Tierkrankheiten (TierSeuchAnzVuaÄndV)

Diese Änderungsverordnung vom 19.07.2011 gilt seit dem 26.07.2011. Darin wird u. a. die Anzeigepflicht für Psittakose in der Verordnung über anzeigepflichtige Tierseuchen aufgehoben (Artikel 1) und durch die Aufnahme der „Chlamydiose (*Chlamydia* spp.)“ in der Verordnung über meldepflichtige Tierseuchen ersetzt. Damit unterscheidet der Gesetzgeber nicht mehr zwischen „Psittakose“ und „Ornithose“, sondern fasst beide Begriffe als „Chlamydiose“ zusammen.

Als Begründung für die Änderung wird die geringe volkswirtschaftliche Bedeutung der Psittakose angeführt, da sich „die jährlich angezeigten Ausbrüche in Beständen (...) seit etwa zehn Jahren stabil um die Zahl 150“ bewegen. Weiter heißt es, dass „eine gänzliche Tilgung des Erregers aus deutschen Tierbeständen ... auch bei einer fortbestehenden Anzeigepflicht aus verschiedensten Gründen nicht erreichbar“ ist. Um der Bedeutung der Infektion als Zoonose Rechnung zu tragen und weiterhin einen Überblick über die epidemiologische Situation zu behalten, bleibt die Meldepflicht für „Chlamydiose“ bestehen. Dieser einheitliche Begriff ersetzt im Rahmen der Harmonisierung mit dem internationalen Sprachgebrauch die bisherigen Bezeichnungen, „da keine wissenschaftlichen Gründe für eine Unterscheidung zwischen Psittakose und Ornithose vorliegen“. Damit folgt der Gesetzgeber einer in Fachkreisen lange geforderten Empfehlung zur Vereinheitlichung der Begrifflichkeiten (KALETA et al., 1998; KUMMERFELD et al., 2010).

6.2.5 Weitere rechtliche Regelungen in Deutschland

6.2.5.1 Verordnung über das innergemeinschaftliche Verbringen und die Einfuhr von Tierseuchenerregern (Tierseuchenerreger-Einfuhrverordnung)

Diese Verordnung ermöglicht es, wissenschaftlichen Einrichtungen für Forschungen oder zur Herstellung von Sera, Impfstoffen oder diagnostischen Mitteln Tierseuchenerreger aus anderen Ländern nach Deutschland einzuführen, wenn eine entsprechende Genehmigung durch die Behörde vorliegt. Diese wird erteilt, wenn „hierfür ein Bedürfnis besteht und Belange der Tierseuchenbekämpfung nicht entgegenstehen“ (§ 3). In der Anlage 1 sind die Tierseuchenerreger aufgelistet, für die eine Einfuhrgenehmigung erteilt werden kann. Hier findet sich auch *Chlamydia psittaci* als Erreger der Papageienkrankheit.

6.2.5.2 Binnenmarkt-Tierseuchenschutz-Verordnung (BmTierSSchV)

Diese Verordnung vom 6. April 2005 findet nach § 1 u.a. Anwendung bei lebenden Papageien, Sittichen und sonstigen Vögeln und regelt den Transport dieser Tiere innerhalb der Europäischen Gemeinschaft sowie die Einfuhr nach Deutschland aus Drittländern. Sie dient dem Schutz der Tiere aber auch dem Schutz vor einer Ausbreitung von Tierseuchenerregern durch unkontrollierten Tier- und Warenverkehr.

Papageien und Sittiche müssen demnach von einer amtstierärztlichen Bescheinigung begleitet und so gekennzeichnet sein, dass der Betrieb, aus dem sie stammen oder in dem sie sich zuletzt aufgehalten haben, eindeutig festgestellt werden kann (Anlage 3 zu § 8 Abs. 1 und 4; Anlage 8 zu § 18). Eine Ausnahme gilt nur bei Wohnsitzverlegung, wenn maximal „drei nicht zur Abgabe an Dritte bestimmte Tiere“ mitgenommen werden.

Das innergemeinschaftliche Verbringen oder die Einfuhr sind dagegen verboten, wenn im Herkunftsbetrieb in den letzten zwei Monaten vor dem Versand Psittakose aufgetreten ist (oder *Chlamydia psittaci* nachgewiesen wurde)

oder eine tierärztliche Behandlung gegen Psittakose durchgeführt worden ist (Anlage 5 zu § 9a).

Aus Drittländern eingeführte Vögel der Ordnung Psittaciformes müssen zunächst für 30 Tage in eine Quarantäneeinrichtung verbracht, darin unter Beobachtung durch die Behörden stehen und dort mindestens zu Beginn und am Ende der Quarantänezeit tierärztlich untersucht werden. Anschließend muss ein Transport unmittelbar zum Bestimmungsort erfolgen (Unterabschnitt 3, §§ 32, 35).

Des Weiteren kann die zuständige Behörde anordnen, dass bei einem innergemeinschaftlichen Verbringen die voraussichtliche Ankunftszeit der Vögel mindestens einen Werktag vorher angezeigt wird. Bei Gefahr einer Seuchenausbreitung ist die Behörde außerdem befugt, Quarantäne, Tötung und unschädliche Beseitigung oder andere Maßnahmen zu veranlassen (Unterabschnitt 2, §§ 19, 20).

6.2.5.3 Infektionsschutzgesetz (IfSG)

Das Infektionsschutzgesetz (zuletzt geändert am 07. August 2013) dient seit 01. Januar 2001 der Verhütung und Bekämpfung von Infektionskrankheiten des Menschen und ersetzt damit das Bundesseuchengesetz vom 04. Mai 1961, das in § 8, Abs. 1, Nr. 8 die Orni-those / Psittakose nennt. Im Gegensatz zum Tiergesundheitsgesetz unterschied das IfSG nie zwischen einer Anzeige- und Meldepflicht. Im IfSG ist definiert, welche Infektionen und labordiagnostischen Erregernachweise bei Verdacht, Erkrankung oder Tod meldepflichtig sind. Dabei ist genau festgelegt, welche Angaben bei einer Meldung gemacht werden müssen und was davon durch das Gesundheitsamt an das Robert-Koch-Institut weitergeleitet werden muss. Dort wird anhand dieser Daten ein Infektionsepidemiologisches Jahrbuch erstellt und publiziert.

Nach § 7 Abs. 1 Nr. 7 IfSG ist der direkte oder indirekte Nachweis von *Chlamydia psittaci* beim Menschen meldepflichtig, wenn ein Hinweis auf eine akute Infektion besteht. Bei einem gehäuften Auftreten der Erkrankung (z. B. bei Risikogruppen wie Vogelhalter, Beschäftigte auf Geflügelfarmen, Tierärzte u. a.) muss das Gesundheitsamt informiert werden, um in Zusammenarbeit mit den Veterinärbehörden die Ursachen aufzuklären und Schutz- und Be-

kämpfungsmaßnahmen einzuleiten. Abbildung 25 zeigt die gemeldeten Ornithose-Fälle beim Menschen im Zeitraum von 1992 bis 2011.

In Abschnitt 9 (§ 44 - 53) ist außerdem die Tätigkeit mit Krankheitserregern genauer reglementiert. Demnach ist für die Tätigkeit mit Krankheitserregern eine Erlaubnis der Behörde notwendig. Eine Ausnahme gilt für Ärzte, Zahnärzte und Tierärzte, soweit es sich um labordiagnostische, nicht gezielte Untersuchungen im Rahmen einer Patientenbehandlung handelt. Die Erlaubnis wird erteilt, wenn der Antragsteller ein entsprechendes human-, zahn- oder veterinärmedizinisches oder ein pharmazeutisches Studium absolviert hat oder eine mindestens zweijährige hauptberufliche Tätigkeit mit Krankheitserregern unter Aufsicht einer sachkundigen Person nachweisen kann. Soll am Erreger selbst und ohne Bezug zu einem diagnostischen Fall gearbeitet werden (gezielte Laborarbeiten), ist eine weitergehende Genehmigung erforderlich. Eine solche Genehmigung wird nur erteilt, wenn geeignete Laboreinrichtungen und qualifiziertes Personal vorhanden sind.

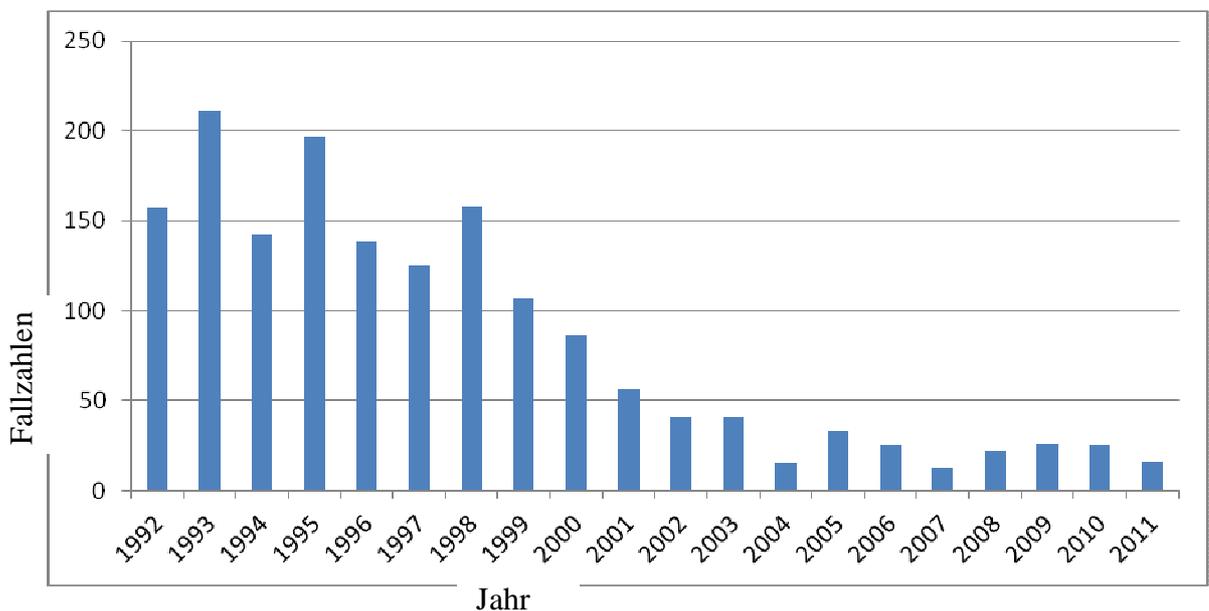


Abbildung 25: Gemeldete Ornithose-Fälle des Menschen in Deutschland 1992-2011 (Daten des BfR, Bericht über die epidemiologische Situation der Zoonosen in Deutschland)

6.3 Gesetzliche Regelungen in der Europäischen Union

6.3.1 Entscheidung der Kommission vom 16. Oktober 2000 zur Festlegung der Veterinärbedingungen und Veterinärbescheinigungen sowie Quarantänebedingungen für die Einfuhr von anderen Vogelarten als Geflügel

Nach dieser Entscheidung ist die Einfuhr von Vögeln aus Drittländern in die Europäische Union an bestimmte Bedingungen geknüpft. Demnach muss der Versender der Vögel von der zuständigen Behörde des Ausfuhrlandes registriert sein. Die Vögel müssen von einer Veterinärbescheinigung (Anhang A) begleitet sein, in einzeln gekennzeichneten Käfigen oder Lattenkisten transportiert und nach der Einfuhr direkt von einer zugelassenen Quarantänestation aufgenommen werden. Dort bleiben die Tiere mindestens 30 Tage quarantänisiert und werden mindestens zu Beginn und am Ende dieses Zeitraums von einem amtlichen Tierarzt untersucht. Des Weiteren ist eine labor-diagnostische Untersuchung auf die Newcastle-Krankheit sowie klassische Geflügelpest durchzuführen.

Gemäß Artikel 5 sind alle Psittaciformes beim Verdacht oder einer bestätigten Infektion mit *Chlamydia psittaci* „nach einem von der Behörde zugelassenen Verfahren zu behandeln und die Quarantäne ist nach dem letzten gemeldeten Fall um mindestens zwei Monate zu verlängern“. Außerdem sind alle Psittaciformes bei der Ankunft in der Quarantäne einzeln durch Beringen des Fußes oder durch einen Mikrochip zu kennzeichnen (Artikel 6, Anhang B, Kapitel 2, Buchstabe B).

6.3.2 Richtlinie 2003/99/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 17. November 2003 zur Überwachung von Zoonosen und Zoonoseerregern und zur Änderung der Entscheidung 90/424/EWG des Rates sowie zur Aufhebung der Richtlinie 92/117/EWG des Rates

Kapitel 1, Artikel 1, Satz 1:

„Diese Richtlinie soll sicherstellen, dass Zoonosen, Zoonoseerreger und diesbezügliche Antibiotikaresistenzen ordnungsgemäß überwacht und lebensmittelbedingte Krankheitsausbrüche in epidemiologischer Hinsicht gebührend untersucht werden, um die Erfassung der zur Bewertung der diesbezüglichen Entwicklungstendenzen und Quellen erforderlichen Informationen in der Gemeinschaft zu ermöglichen.“

Diese Richtlinie verpflichtet die Mitgliedsstaaten, das Auftreten und die Häufigkeit von Zoonosen sowie Antibiotikaresistenzen zu überwachen und einmal jährlich einen Bericht an die Kommission zu übermitteln. Des Weiteren wird die Benennung gemeinschaftlicher und nationaler Referenzlabore für die Analyse und Untersuchung von Zoonosen und Zoonoseerregern festgelegt. Die nationalen Referenzlabore sind im Amtsblatt der Europäischen Union vom 05. Dezember 2006 (Aktenzeichen K(2006) 5856) veröffentlicht worden. Das Nationale Referenzlabor (NRL) für Chlamydien der Bundesrepublik Deutschland befindet sich im Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit, Standort Jena. Leiter des Nationalen Referenzlabors ist seit 1998 Herr Dr. rer. nat. Konrad Sachse (SACHSE et al., 2004).

Die überwachungspflichtigen Zoonosen sind im Anhang 1 der Richtlinie aufgeführt. Die Psittakose gehört in die Kategorie der in Abhängigkeit von der epidemiologischen Situation überwachungspflichtigen Zoonosen.

7 Nachweise und Bekämpfung der Psittakose / Ornithose in anderen Mitgliedsstaaten der Europäischen Union

Die Entwicklung von Tierseuchen und Zoonosen weltweit, ihre Verbreitung, Häufigkeit und Bekämpfung wird durch die Weltorganisation für Tiergesundheit (gegründet 1924 unter dem Namen OIE – Office Internationale des Epizooties; seit 2003 umbenannt in World Organisation for Animal Health, jedoch weiterhin mit dem Akronym OIE) kontinuierlich erfasst, über das WAHIS (World Animal Health Information System) ausgewertet und auf der Online-Datenbank WAHID (World Animal Health Information Database) veröffentlicht. Die Datenbank gibt einen ausführlichen Überblick über den Status quo der Tiergesundheit mit der Option, den Schwerpunkt auf einzelne Länder oder Ländergruppen, bestimmte Tierseuchen, Kontrollmaßnahmen oder einen Vergleich zweier Länder zu setzen. Auf diese Weise kann das Infektionsgeschehen weltweit beobachtet und kontrolliert werden, wodurch eine Ausbreitung aufflammender Infektionsherde frühzeitig erkannt und eingedämmt werden kann. Gleichzeitig ermöglicht die Datenbank eine Erfolgskontrolle bestehender Eradikations- und Präventionsprogramme. Allerdings ist die OIE auf die Mitarbeit der Länder angewiesen, die die entsprechenden Daten erfassen und weiterleiten müssen.

Da die aviäre Chlamydiose nicht in allen EU- und Dritt-Ländern anzeige- oder meldepflichtig war und ist, können die übermittelten Daten nur als Anhaltspunkt und Richtschnur herangezogen werden und zeigen nicht die tatsächliche Verbreitung von *Chlamydia psittaci*, da auch eine hohe Dunkelziffer zu vermuten ist. Weiterhin wird in der OIE-Datenbank nicht zwischen Psittakose und Ornithose differenziert, sondern nur allgemein die Aviäre Chlamydiose dargestellt. Tabelle 18 gibt einen Überblick über erfasste Nachweise der Aviären Chlamydiose von 1996 bis heute sowie Anzeige- bzw. Meldepflichten und Bekämpfungsmaßnahmen in den einzelnen Ländern Europas. Darin wird deutlich, dass knapp 75 % der Länder Infektionen mit *Chlamydia psittaci* amtlich erfassen. Allerdings beziehen sich die Kontrollmaßnahmen in den meisten Ländern nur auf Nutzgeflügel, während privat gehaltene Psittaziden gar nicht oder nicht separat erfasst werden.

In **Österreich** ist seit 1991 die Psittakose aller Vögel nach dem Tierseuchengesetz (§ 16, § 45b) beim Veterinäramt anzeigepflichtig. Danach müssen alle erkrankten Psittaziden einer 30 - 45-tägigen Behandlung unterzogen werden, deren Erfolg nach Abschluss durch eine mikrobiologische Untersuchung bestätigt werden muss. Alternativ kann der Besitzer die Tötung der Vögel veranlassen. Das Zoonosengesetz klassifiziert die Psittakose als eine „je nach epidemiologischer Situation überwachungspflichtige Zoonose“.

In der **Schweiz** fällt die „Chlamydiose der Vögel“ nach dem Tierschutzgesetz vom 1. Juli 1966 und der Tierseuchenverordnung vom 27. Juni 1995 (Art. 212 und Art. 250-254, 11. Abschnitt: „Chlamydiose der Vögel“) unter die „zu bekämpfenden Seuchen“ und muss unverzüglich dem Kantonstierarzt gemeldet werden. Dieser kann dann die Tötung aller erkrankten sowie die Behandlung oder Tötung aller übrigen Vögel des Bestandes anordnen.

Auch in den **Niederlanden** gehört die Aviäre Chlamydiose zu den anzeigepflichtigen Tierseuchen nach der „Regeling preventie, bestrijding en monitoring van besmettelijke dierziekten en zoonosen en TSE's“ (letzte Fassung vom 07. Juni 2005) Seit 2003 werden alle Fälle kontinuierlich erfasst.

Frankreich hat im „Code rural“ vom 01. Dezember 1979 (Art. D.223-1), einer Art Landwirtschaftsrahmengesetz, eine Meldepflicht festgelegt, die Tierhalter, Tierärzte sowie Labore verpflichtet, den Nachweis von *Chlamydia psittaci* (kulturell oder mittels PCR) bei allen Vogelspezies bei der Behörde zu melden. Jedoch dient diese Meldung nur der Erfassung und zieht keine weiteren, wie auch immer gearteten seuchenrechtlichen Schritte nach sich. Allerdings können bei Gefahr der „Volksgesundheit“ nach Art. L2212-2 des „Code general des collectivités territoriales“ durch den Bürgermeister oder örtliche Behörden staatliche Bekämpfungsmaßnahmen angeordnet werden.

In **Großbritannien** ist der Umgang mit der Psittakose erstmals in der „Psittacosis or Ornithosis Order“ von 1953 geregelt, die später in den „Animal Health Act 1981“ integriert wurde. Hier sind allgemeine und spezielle Maßnahmen zur Bekämpfung verschiedener Tierseuchen und Zoonosen dargelegt. Vorschriften hinsichtlich des Importes von Vögeln, Geflügel oder Eiern finden sich in der „Importation of Birds, Poultry and Hatching Eggs Order“ aus dem Jahr 1979.

Zurzeit besteht eine Anzeigepflicht nur für humane Infektionen mit *Chlamydia psittaci*, die unter „Zoonotic Diseases reportable under the Reporting of Injuries, Diseases, and Dangerous Occurrences Regulations, 1995“ fallen. Infektionen bei Vögeln müssen dagegen nicht gemeldet oder angezeigt werden. Die VLA (Veterinary Laboratories Agency, Weybridge) erfasst jedoch in ihrem jährlichen VIDA Report (Veterinary Investigation Surveillance Report) auch die aviäre Chlamydiose. Allerdings wird bei der Diagnostik von Tierproben im Allgemeinen ein Testverfahren eingesetzt, mit dem nicht zwischen verschiedenen Spezies im Genus *Chlamydia* unterschieden werden kann (Zoonosis Report, UK 2009, defra). Daher ist eine Aussage über die tatsächliche Inzidenz der Psittakose in Großbritannien nicht möglich. Die Zahlen des VIDA-Reports sind in Tabelle 17 dargestellt.

Tabelle 17: Anzahl der im VIDA Report erfassten Infektionen der aviären Chlamydiose in Großbritannien von 1995 bis 2009

Jahr	Anzahl	Jahr	Anzahl	Jahr	Anzahl
1995	108	2000	28	2005	5
1996	93	2001	16	2006	2
1997	50	2002	23	2007	2
1998	83	2003	17	2008	1
1999	77	2004	9	2009	3

Kroatien schreibt in der „Official Gazette 7/10 und 14/10“, erlassen im Jahr 2001 durch das Ministerium für Landwirtschaft, Fischerei und ländliche Entwicklung, Maßnahmen zur Vorbeugung und Eradikation der Aviären Chlamydiose für Ziervogel und andere als Haustiere gehaltenen Vögel sowie Tauben vor, die für die Zucht, den Verkauf oder für Ausstellungen gehalten werden. Bestände müssen mindestens zweimal jährlich sowie zusätzlich in Verdachtsfällen auf Chlamydien untersucht werden, wobei der Kot von mindestens 10 % der Tiere an drei aufeinander folgenden Tagen getestet werden muss. Positive oder verdächtige Resultate müssen dem Veterinäramt gemeldet werden. Der

Tierarzt entscheidet, ob eine Behandlung möglich und sinnvoll ist und muss diese überwachen.

Nachdem im Jahr 2007 ein Anstieg humaner Chlamydiose-Infektionen zu verzeichnen war, wurde intensiver geforscht. Dazu wurden 411 Proben (Fäzes, Kloaken-Tupfer, „Triple-Swaps“: Konjunktiven, Pharynx, Kloake) verschiedener Vogelarten (Papageien, Kanarienvögel, Finken) aus privaten Haushalten, von Händlern und von Züchtern sowie Tauben mit einem ELISA-Testkit auf *Chlamydia psittaci* untersucht. Bei nicht eindeutigen Resultaten erfolgte eine Verifizierung mittels PCR (KRIŽEK et al., 2012). Die Ergebnisse zeigen, dass insgesamt 17 % der untersuchten Proben *Chlamydia psittaci*-positiv waren, wobei der höchste Anteil positiver Vögel bei Züchtern und Händlern nachgewiesen werden konnte. Von den untersuchten Tauben waren 23 % positiv. Die Autoren schließen aus diesen Ergebnissen auf ein hohes zoonotisches Risiko für den Menschen, sich durch Vögel mit *Chlamydia psittaci* zu infizieren (KRIŽEK et al., 2012). Des Weiteren mahnen sie an, dass das Bewusstsein der Züchter und Händler für dieses Risiko zu gering ist, und empfehlen eine umfangreichere Aufklärung seitens der Behörden (KRIŽEK et al., 2012).

Seit 2005 werden die Daten zum Infektionsgeschehen von der OIE auch in einer Übersichtskarte bildlich dargestellt, die einen schnellen Überblick ermöglichen soll. Exemplarisch sind in Abbildung 26 die Jahre 2005, 2008 und 2011 auf der Weltkarte sowie für Europa dargestellt. Die Karten zeigen, dass die Aviäre Chlamydiose überwiegend auf der Nordhalbkugel der Erde verbreitet, diagnostiziert worden bzw. amtlich zu Kenntnis gelangt ist.

Nachweise und Bekämpfung der Psittakose / Ornithose in anderen Mitgliedsstaaten der Europäischen Union

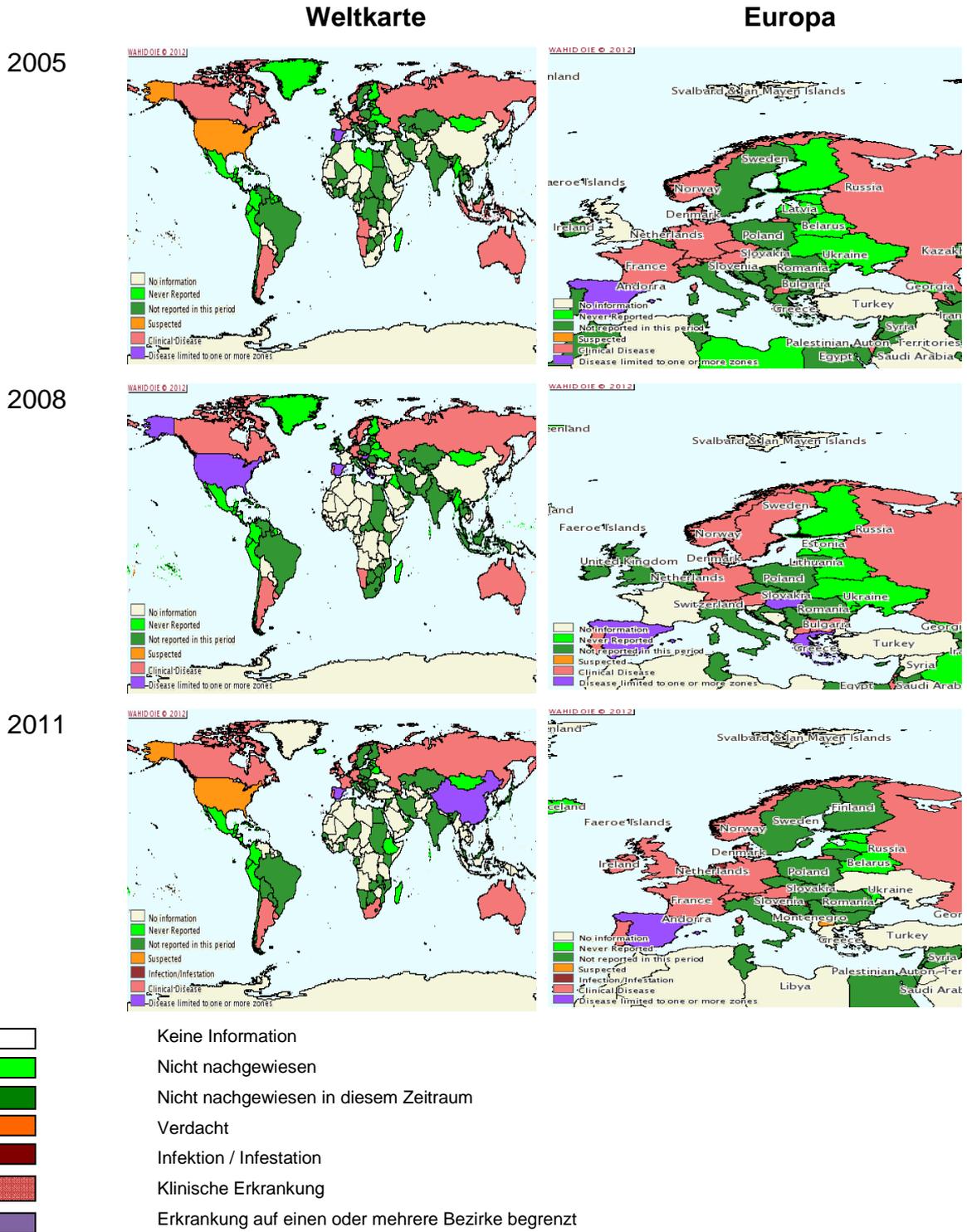


Abbildung 26: Geografische Verteilung der Aviären Chlamydiose in den Jahren 2005, 2008 und 2011 nach WAHID OIE, Disease distribution maps, Stand 01/2012

Tabelle 18: Übersicht über Anzeige- und Meldepflicht in den Ländern Europas sowie das Auftreten der Aviären Chlamydie für den Zeitraum von 1996-2010 nach OIE WAHID Interface

Land	Anzeige-/ Meldepflicht	Maßnahmen (Stand 1. Halbjahr 2010)	Vorkommen 1996-2008	Vorkommen seit 2009
Albanien	+	Keine	Keine Information	Dom.: keine Information Wild: Klinik
Belgien	+	SG, M, Sc, GÜ, ZÜ, IT, K	- Letzte Meldung 1995	Dom.: - Wild: keine Information
Bosnien- Herzegowina	+	Keine Information	Keine Information Letzte Meldung 1968	Keine Information
Bulgarien	+	Sc, GÜ, T	Meldungen 2002, 2003, 2006, 2008	Dom.: -, letzter Fall 2008 Wild: -, letzter Fall unbekannt
Dänemark	+	SG, GÜ, IT	Klinik	Dom.: Klinik Wild: keine Information
Deutschland	+	SG, IT	Klinik	Dom.: Klinik Wild: keine Information
England (United Kingdom)	Keine Information	Keine Information	Meldungen 1996-2004, 2008 beschränkt auf einige Be- zirke	Dom.: Klinik Wild: Klinik
Estland	-	SG bis 1. Halbjahr 2006, seither keine Meldung	-	-
Finnland	+	SG, GÜ	2008 bei Wildvögeln	Dom.: - Wild: -
Frankreich	+	Keine	Klinik	Dom.: Klinik Wild: Klinik
Griechenland	-	Keine Information	2008 Meldung für einzelne Be- zirke	Dom.: beschränkt auf einzelne Be- zirke Wild: keine Information
Island	+	SG, GÜ	-	Dom.: - Wild: -
Irland	+	Keine Information	-	Dom.: Klinik (2010) Wild: keine Information
Italien	-	Keine Information	Letzte Meldung 1995 Meldung 2000-2004	Dom.: keine Information Wild: einzelne Bezirke

Land	Anzeige-/ Meldepflicht	Maßnahmen (Stand 1. Halbjahr 2010)	Vorkommen 1996-2008	Vorkommen seit 2009
Kroatien	+ Seit 2010	SG, Sc, MK, T	Meldung 2002-2004	Dom.: bestätigte Infektion ohne Klinik Wild: keine Information
Lettland	+	Keine	-	Dom.: - Wild: -
Liechtenstein	+ Seit 2006, seit 2009 nur für Dom.	SG, GÜ, IT, MK	-	Dom.: - Wild: -
Litauen	+ Seit 2008	GÜ	-	Dom.: - Wild: -
Luxemburg	+ Aufgehoben seit 2008	Keine	Meldung 1990, 2005-2008	Dom.: - Wild: -
Malta	-	Therapie bis 2008, seit 2009 keine Meldung	Meldung 1997-2001	Dom.: keine Information Wild: keine Information
Mazedonien	-	GÜ	Meldung 2004-2008	Dom.: Verdacht, serologisch nicht bestätigt Wild: keine Information
Moldavien	-	SG, M, Sc, GÜ	-	Dom.: - Wild: -
Montenegro	+	SG	-	Dom.: - Wild: -
Niederlande	+ Seit 2009 nur für Dom.	Keine	Meldung 1996-2007	Dom.: - Wild: -
Norwegen	+ Seit 2009 nur für Dom.	Keine	1996-1998 serologisch nach- weisbar ohne Klinik, 2001-2008 Klinik	Dom.: Klinik Wild: keine Information
Österreich	+ Seit 2010 nur für Dom.	Keine	Klinik	Dom.: Klinik Wild: keine Information
Polen	+ Seit 2007	Keine	Meldung 1996, 1997, 1999, 2003 (Dom.), 2007 (Wild)	Dom.: - Wild: -
Portugal	-	Keine Information	Klinik	Dom.: Klinik Wild: bestätigte Infektion ohne Klinik

Land	Anzeige-/ Meldepflicht	Maßnahmen (Stand 1. Halbjahr 2010)	Vorkommen 1996-2008	Vorkommen seit 2009
Rumänien	+ Seit 2008, seit 2009 nur für Dom.	GÜ	-	Dom.: - Wild: -
Schweden	+ Seit 2009 nur für Dom.	Keine	Klinik	Dom.: Klinik Wild: keine Information
Schweiz	+ Seit 2009 nur für Dom.	SG, GÜ, IT, MK	Klinik	Dom.: Klinik Wild: keine Information
Serbien	+ Seit 2009 nur für Dom.	SG	2007, ohne Klinik	Dom.: - Wild: -
Slowakei	- Seit 2009 nur für Dom.	Keine Information	Meldung 1990, 2001	Dom.: - Wild: -
Slowenien	+ Seit 2009 nur für Dom.	IT	Meldung 1996-2006, 2002-2004 ohne Klinik	Dom.: - Wild: -
Spanien	+ Seit 2009 nur für Dom.	SG, GÜ	Meldung 1996-1998, seit 2005 beschränkt auf einzelne Bezirke	Dom.: beschränkt auf einzelne Bezirke Wild: keine Information
Tschechien	+ Seit 2009 nur für Dom.	Keine	Meldung 2005, 2007	Dom.: - Wild: -
Ungarn	- Seit 2009 nur für Dom.	Keine Information	Meldung 2008 für einzelne Bezirke	Dom.: keine Information Wild: beschränkt auf Bezirke
Zypern	+ Seit 2009 nur für Dom.	SG	Meldung 2002, 2004	Dom.: - Wild: -

Dom.: Haus- und Nutzgeflügel /-vögel
Wild: Wildvögel
SG: Sicherheitsvorkehrungen an der Grenze
M: Monitoring

Sc: Sceening
GÜ: Generelle Überwachung
ZÜ: Zielorientierte Überwachung
IT: Innerstaatliche Transportüberwachung

K: Keulung
MK: Modifizierte Keulung
T: Therapie

8 Internationale Projekte

8.1 COST Action 855 – *Animal Chlamydiosis and the Zoonotic Implications*

COST (European Co-Operation in the field of Scientific and Technological Research) ist eine der ältesten Institutionen, die die Zusammenarbeit von Wissenschaftlern und Forschern in Europa unterstützt. Durch die COST-Action 855 werden Zusammenkünfte (Tagungen, Workshops, short term scientific missions) der beteiligten Wissenschaftler ermöglicht und finanziell gefördert. Die eigentlichen Forschungsarbeiten im Labor oder Feld werden durch diese Action nicht finanziert. Das human- und veterinärmedizinische Forschungsprojekt *Action 855* über die Chlamydiose und ihre Bedeutung als Zoonose dauerte vier Jahre vom 13.09.2003 bis 04.11.2007 und fand statt unter aktiver Beteiligung von 6 Mitgliedsstaaten (Belgien, Deutschland, Irland, Italien, Schweiz, Großbritannien). Leiter des Management Committee (MC) war kontinuierlich Dr. Konrad Sachse vom Bundesinstitut für Tiergesundheit, Friedrich-Loeffler-Institut, Standort Jena. Außerdem beteiligten sich Forscher aus weiteren 12 europäischen und 8 anderen Ländern (Australien, Argentinien, China, Japan, Mazedonien, Schweiz, USA, Bosnien-Herzegowina).

Die jährlich einmal stattfindenden Workshops wurden von den Projektteilnehmern organisiert und fanden statt

2003: Preliminary meeting im September in Dublin, Irland

2003: 1. Workshop im November in Brüssel, Belgien

2004: 2. Workshop im September in Budapest, Ungarn

2005: 3. Workshop im September in Siena, Italien

2006: 4. Workshop im September in Midlothian, Schottland

2007: 5. Workshop im September in Pulawy, Polen

2008: 6. Workshop im Juli in Aarhus, Dänemark.

Die Ergebnisse des gesamten Projektes wurden im „Progress Report“ im März 2008 veröffentlicht.

(<http://www.vetpathology.uzh.ch/forschung/CostAction855/progressreport-2.html>)

Das Ziel der Studie war es, die Ausbreitung und Bedeutung der Chlamydiosen (*Chlamydia psittaci*, *C. abortus*, *C. pneumoniae*, u.a.) in Europa (Mensch, Säugetiere und Vögel) anhand epidemiologischer Daten zu eruieren und das Risiko für die öffentliche Gesundheit durch Tiere einzuschätzen.

Dazu wurden fünf Arbeitsgruppen (Working Groups, WGs) zu spezifizierten Themen gegründet:

1. Entwicklung und Validierung neuer und bestehender diagnostischer Tests
2. Feld-Evaluation diagnostischer Test
3. Beurteilung des Zoonose-Risikos durch tierische Chlamydiosen
4. Grundlagenforschung zu Pathogenese, Virulenzfaktoren und Immunreaktionen
5. Entwicklung neuer Vakzinen

Abbildung 27 gibt einen Überblick über den organisatorischen Aufbau des COST 855-Projektes.

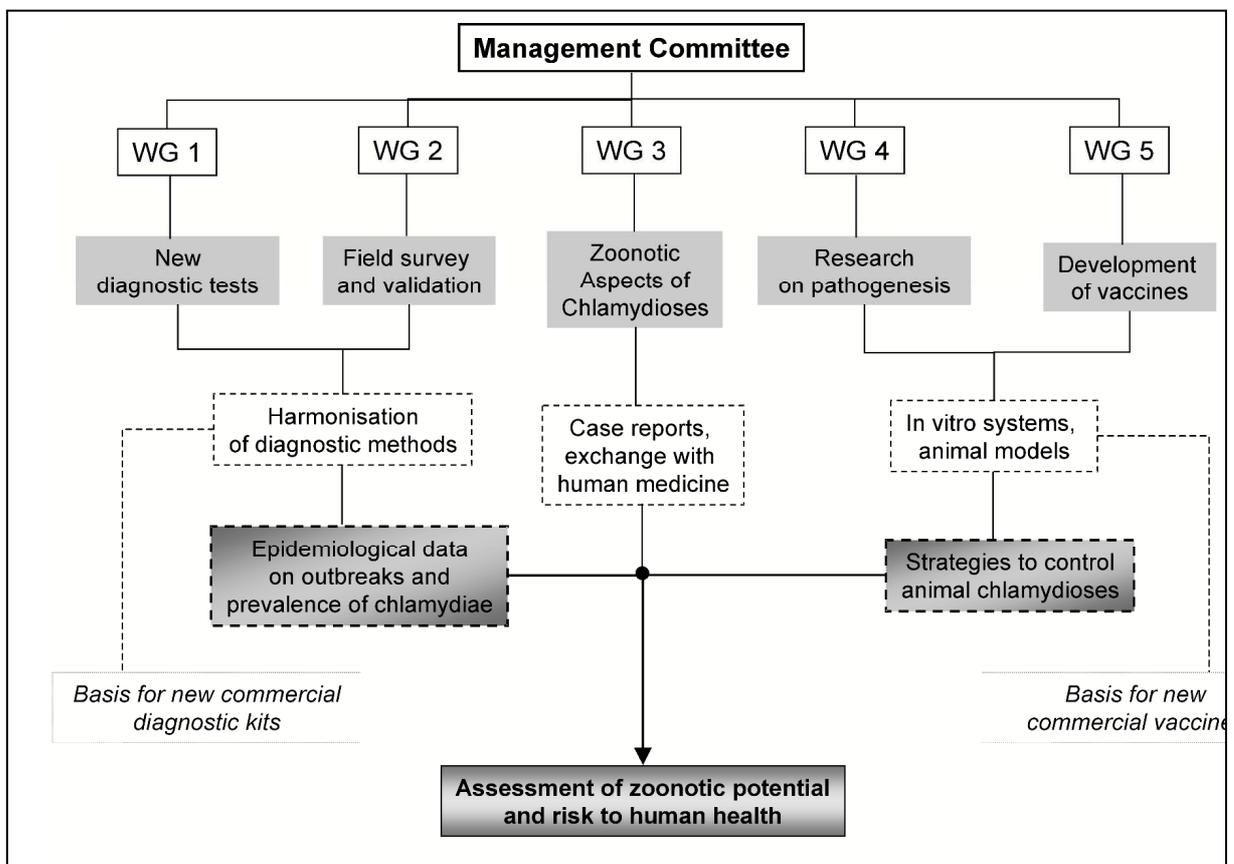


Abbildung 27: Organisation der COST Action 855
 (http://www.vetpathology.uzh.ch/forschung/CostAction855/members/Tech_Annex_05.pdf)

Im Bereich der Diagnostik wurden neue Real-Time-PCR-Assays, die DNA-Microarray-Technologie sowie die MLVA (Multiple Loci Variable Number of Tandem Repeats Analysis) entwickelt und auf ihre Praxistauglichkeit getestet (vgl. Kapitel 3.4.6 Diagnostik). Des Weiteren erwies sich ein Nested PCR-enzyme- immunuassay als hoch sensitiv und spezifisch für den Nachweis chlamydialer DNA bei Vögeln.

Aufgrund einiger Besonderheiten nach Infektionen mit Chlamydien, wie u. a. die Abwesenheit klassischer Virulenzfaktoren, ein großes Spektrum an klinischen Manifestationen oder die Tendenz zur Chronizität, stellt sich die Pathogenese der Chlamydiose relativ kompliziert dar. Im Rahmen der Arbeitsgruppe 4 konnte jedoch ein wesentlicher Mechanismus der Chronizität entschlüsselt werden. Durch Modulation und Inhibition der Apoptose gelingt es *Chlamydia psittaci*, über einen langen Zeitraum in der Wirtszelle zu persistieren (GOELLNER et al., 2006). Des Weiteren gelang es den Forschern durch Infektionsversuche die Interaktion von *C. psittaci* mit anderen Pathogenen des Respirationstraktes wie dem aviären Metapneumovirus, *E. coli* oder *Ornithobacterium rhinotracheale* nachzuweisen.

Im Bereich der Impfstoffe zeigte die experimentelle DNA-Vakzine gegen *C. psittaci* einen effektiven Schutz für Puten mit deutlicher Reduktion der klinischen Erscheinungen, der Erregerausscheidung und der pathologischen Gewebeläsionen. Dagegen erwies sich die Vakzination mit rekombinantem MOMP als weniger wirksam. Diese neuartigen Impfstoffe fanden jedoch bisher keine praktische Anwendung.

Die Untersuchungen hinsichtlich des Zoonosepotentials von *C. psittaci* ergaben eine weite Verbreitung des Erregers in Europa, wodurch es immer wieder zu humanen Infektionen kommt. Als Infektionsquellen traten überwiegend große Geflügelbestände (v. a. Puten- und Entenmastbetriebe), aber auch Psittaziden aus privaten Haltungen sowie Tauben auf.

Die Ergebnisse der COST Action 855 zeigen deutlich, dass die Psittakose / Ornithose eine weltweite Bedeutung hat und viele Forschergruppen beschäftigt. Durch die länderübergreifende Kooperation können die Ergebnisse und Erfahrungen einzelner Forscher im Zusammenhang betrachtet, ausgewertet und so zu einem umfangreichen Gesamtbild zusammengefügt werden. Durch

den internationalen Handel verbreiten sich Infektionen schnell über Ländergrenzen hinweg, so dass die Kommunikation umso wichtiger wird.

Auch deshalb wurde 2004 in Budapest ein Workshop gemeinsam mit der *European Society for Chlamydia Research* durchgeführt, in der überwiegend Humanmediziner und Biologen vertreten sind.

8.2 EFSA – Import frei lebender Vögel in die EU

Die Europäische Kommission, durch die Hand des EFSA Panels on Animal Health and Animal Welfare (AHAV) beauftragte die European Food Safety Authority (EFSA) in Parma, Italien, eine Studie anzufertigen, die sich speziell mit dem Risiko des Imports von Vögeln (außer Hausgeflügel) hinsichtlich der Chlamydien befassen sollte. Der Auftrag lautete: *Opinion of the Scientific Panel on Animal Health and Welfare (AHAW) on a request from the Commission related with animal health and welfare risks associated with the import of wild birds other than poultry into the European Union*. An der Erarbeitung des 2006 an die EFSA gelieferten Scientific Reports waren beteiligt: James Michael Sharp (Vorsitz), M. Broom, H. Clough, L. Crosta, G. Dorrestein, E. F. Kaleta, K. Stafford, G. Theodoropoulos.

Die Europäische Union war von 1999 bis zum Verbot des Importes von Vögeln aus Wildfängen mit 800.000 Tieren pro Jahr der größte Importeur von Wildvögeln weltweit. Im Oktober 2005 wurde als Reaktion auf die „Vogelgrippe“ zunächst ein vorläufiges Einfuhrverbot für Wildvögel erlassen, das mit der Verordnung (EG) Nr. 318/2007 mit Wirkung ab 01.07.2007 in einem dauerhaften Importverbot bestimmter Vogelarten aus Drittstaaten in die Europäische Gemeinschaft mündete.

Die Studie sollte alle relevanten Aspekte der Tiergesundheit und des Tierschutzes vom Fangen der Vögel bis zur Abgabe an den endgültigen Halter betrachten und der Bericht stellt somit eine Art HACCP-Konzept für Tiergesundheit und Tierschutz dar.

Am Anfang steht die Gefahrenanalyse. Im Bezug auf die Tiergesundheit bedeutet dies die Gefahr der Einschleppung pathogener Agentien, die in einem Tier oder einem tierischen Produkt vorkommen und daher in die EU importiert werden können. Hinsichtlich des Tierschutzes sind als „Gefahr“ alle Umstände

einzustufen, die das Wohlbefinden des Tieres beeinträchtigen können (Umweltbedingungen, Ernährung, Stress usw.).

Die anschließende Risikoanalyse gliedert sich in vier Schritte:

1. Freisetzungsphase: Beschreibt die notwendigen Schritte bis zur Freisetzung eines bestimmten Agens und bewertet qualitativ und quantitativ die Wahrscheinlichkeit einer Freisetzung in der EU
2. Expositionsphase: Beschreibt die möglichen Expositionswege und bewertet qualitativ und quantitativ die Möglichkeit einer Exposition der Zielgruppe (hier Wildvögel) durch das gefährdende Agens
3. Erkennung, Beschreibung und Bewertung der möglichen Konsequenzen
4. Risikobewertung: Abschließende Einschätzung

Die Risikobewertung der Tiergesundheit und des Tierschutzes unterscheidet sich dabei deutlich. Während es sich beim Infektionsrisiko um ein konstantes Risiko handelt, dass ein Agens X durch wildgefangene Vögel in die EU eingeschleppt wird und sich dort etabliert, ist der Einfluss auf das Wohlbefinden ein variables Risiko, das durch viele verschiedene Faktoren beeinflusst wird.

Die Analyse des Gesundheitsrisikos umfasst folgende Fragen:

1. Wie hoch ist das Risiko der Freisetzung eines Agens X (aus dem Exportland im Importland)?
2. Kommt es zu einer Freisetzung, wie hoch ist dann das Risiko einer Exposition der einheimischen Vogelpopulation (inklusive des Wirtschaftsgeflügels)?
3. Kommt es zu einer Exposition, wie hoch sind dann das Risiko (und die Wahrscheinlichkeit) einer Ausbreitung und Etablierung des Infektionserregers in der EU?

Der Report betrachtet dabei im Einzelnen die Aviäre Influenza, Newcastle Disease, bakterielle Infektionen, im Besonderen die Aviäre Chlamydiose und weitere virale Erkrankungen.

Bei Wildvögeln gibt es wenig gesicherte Informationen über mögliche Infektionen, zumal die Tierseuchenüberwachung in vielen Exportländern nur unzurei-

chend durchgeführt wird. Die in der EU-Verordnung geforderte indirekte Diagnostik mit Hilfe von Sentinel-Tieren ist außerdem sehr ungenau.

In den letzten Jahren hat allerdings die Zucht von Psittaziden im Inland stark zugenommen, so dass die Zahlen wildgefangener und exportierter Vögel deutlich zurückgegangen sind. Zwischen 1999 und 2003 stammten bereits 66 % der importierten Psittaziden aus Zuchtbetrieben. Bei Passeriformes dagegen liegt der Anteil an Zuchttieren nur bei 2-7 %. Allerdings schwankt die Qualität der Zuchtbetriebe stark und die Überwachung der Betriebe im Exportland ist oft unzureichend, so dass der Gesundheitszustand der Vögel aus diesen Betrieben nicht immer eindeutig nachzuvollziehen ist.

Eine weitere Schwierigkeit ergibt sich aus der Tatsache, dass die Herkunft der Vögel (Wildfang oder Zucht) oft nicht eindeutig zu bestimmen ist, da der Wert einiger Arten sehr hoch ist und der illegale Handel mit diesen Tieren besonders in armen Ländern eine lukrative Einnahmequelle darstellt.

Risikobewertung der Aviären Chlamydiose:

Die Einschätzung des Risikos einer Einschleppung der Aviären Chlamydiose ist besonders problematisch. Durch das häufige Vorkommen latenter Infektionen ohne klinische Symptome und der oft intermittierenden Erregerausscheidung ist eine schnelle Diagnose sehr schwierig.

Die Autoren des Berichts gehen davon aus, dass der größte Teil der importierten Vögel mit *Chlamydia psittaci* infiziert ist. Der Erreger ist in den Haupt-Exportländern (88 % der importierten Psittaziden stammen aus Afrika) weit verbreitet, auch wenn kaum konkrete Zahlen zu Prävalenzen vorliegen. Die Wahrscheinlichkeit, dass ein infizierter Vogel nach dem Fang für den Export vorgesehen wird, ist unter anderem davon abhängig, wie groß der Stress für das Tier beim Fangen war, da dadurch latente Infektionen zu klinischen Symptomen führen können. Kranke Tiere dürfen nicht exportiert werden.

Ein weiteres Risiko stellen der Transport zur und der Aufenthalt in der Auffangstation im Exportland dar. Auch hier kann Stress (Verlust der Freiheit, Kontakt mit Menschen, Kontakt mit anderen Vögeln, Temperatur, Nahrungsveränderungen) zu einer Herabsetzung der Leistungen des Immunsystems und damit zu einer klinisch sichtbaren Krankheit zunächst latenter Träger oder zu einer Neuinfektion nicht infizierter Vögel führen. Durch die hohe

Kontagiosität der Chlamydien und der zum Teil großen Anzahl an Tieren an den Exporthäfen besteht ein hoher Infektionsdruck, der die Ausbreitung der Erreger begünstigt. Die Identifikation infizierter Vögel bereits im Exportland ist sehr variabel und unter anderem abhängig von der Spezies, dem Alter, dem Stresslevel und den diagnostischen Möglichkeiten.

Legale Transporte erfolgen immer per Luftfracht und müssen den IATA-Richtlinien entsprechen. Das Exportland muss OIE-Mitglied sein und jede Lieferung muss von einem Tiergesundheitszeugnis begleitet sein, dass von einem Amtstierarzt ausgestellt wurde. Dieses Zeugnis umfasst Angaben über den Nachweis einer Quarantänezeit von 21 Tagen im Exportland, bei Zuchtbetrieben den Nachweis, dass Aviäre Influenza, Newcastle Disease und Aviäre Chlamydiose überwacht werden und in einem Zeitraum von 30 bzw. 60 Tagen (Chlamydiose bei Psittaziden) nicht aufgetreten sind, sowie den Nachweis einer klinischen Untersuchung der Vögel am Verladetag. Von 2000 bis 2003 wurden ca. 2,8 Millionen Wildvögel legal in die EU importiert. Parallel floriert der illegale Handel mit wertvollen Arten, die oft unter schlechten hygienischen Bedingungen transportiert werden und keinerlei veterinärmedizinischer oder seuchenrechtlicher Kontrolle unterliegen.

Erster Kontrollpunkt legal importierter Vögel in der EU sind die Grenzkontrollstellen, in denen ein Amtstierarzt die Begleitdokumente prüft und stichprobenartige Kontrollen und gegebenenfalls Probenahmen bei den Tieren vornimmt (Directive 91/496/EEC). 2005 waren 16 Grenzkontrollstellen in 13 Ländern aktiv, wobei die meisten Lieferungen über Brüssel, London und Lissabon abgewickelt wurden. Von den Grenzkontrollstellen werden die Vögel dann zu den Quarantänestationen in 17 EU-Mitgliedstaaten verbracht. Dabei werden auf dem Landweg zum Teil noch große Entfernungen zurückgelegt, was zum einen weiteren Stress für die Tiere bedeutet, zum anderen aber auch die Gefahr einer Kontamination der Umwelt mit infektiösem Material birgt, da die LKW oft nicht ausreichend gegen den Austritt von Fäzes oder anderem Tiermaterial gesichert sind.

In der Entscheidung des Rates der Europäischen Kommission 2000/666/EC ist festgelegt, dass alle Vögel (außer Geflügel) nach dem Import für mindestens 30 Tage in eine Quarantänestation verbracht und dort innerhalb von 24 Stunden durch einen Tierarzt begutachtet werden müssen. Alle Psittaziden müs-

sen individuell gekennzeichnet werden. Für die Bewertung des Infektionsstatus der importierten Vögel werden Sentinel-Hühner eingesetzt, bei denen frühestens 21 Tage nach Ankunft und spätestens 3 Tage vor Ablauf der regulären Quarantänefrist eine Blutserologie zum Nachweis von Antikörpern gegen Newcastle Disease, Aviäre Influenza und *Chlamydia psittaci* durchgeführt werden muss. Als Option besteht die Möglichkeit, auch auf neue oder neuartige Erreger, wie z. B. West-Nil- und Usutu-Virus zu untersuchen. Alternativ zu den Antikörpernachweisen können Kloaken- oder Fäzestupfer virologisch untersucht werden, wobei bei Lieferungen unter 60 Vögel alle, bei größeren Lieferungen mindestens 60 Tiere beprobt werden müssen.

Die Quarantänezeit stellt für die Vögel eine weitere hohe Belastung dar. Die Mortalitätsrate während der Quarantäne liegt bei 6-8 %, so dass hier ein weiterer kritischer Punkt zu berücksichtigen ist.

Die Autoren der Studie kommen schließlich zu folgenden Empfehlungen im Umgang mit importierten Vögeln:

1. Empfehlungen im Bezug auf den Handel:

- Die Distanz zwischen den Grenzkontrollstellen und den Quarantänestationen sollte minimiert werden, um Landtransporte über große Entfernungen sowohl vor dem Hintergrund des Tierschutzgedankens als auch im Hinblick auf die Gefahr einer Umweltkontamination durch austretende, potentiell infektiöse Tierprodukte zu vermeiden.
- Der Import von Vögeln aus Zuchtbetrieben sollte dem von Wildfängen vorgezogen werden, da die Adaptation an eine Gefangenschaft für viele Wildvögel eine enorme Belastung darstellt.
- Wenn eine Zucht bestimmter Arten in Gefangenschaft erfolgreich ist, sollte diese innerhalb der EU stattfinden und nicht in den Ursprungsländern, um das Risiko einer Einschleppung von Infektionserregern zu umgehen und die Belastung der Vögel durch lange Transporte zu vermeiden. Des Weiteren erfüllen viele Drittländer nicht die EU-Standards im Bezug auf die Bedingungen für Zuchtbetriebe und die Tierseuchenlage ist oft unklar.
- Die Entwicklung und Anwendung von Techniken zur Identifikation einzelner Vögel und zur Differenzierung zwischen Zucht- und Wildtieren soll gefördert werden.

- Der illegale Handel muss strenger überwacht und erschwert werden.
2. Empfehlungen im Bezug auf den Transport:
- Die Bandbreite und die Qualität der Daten zu Fangzahlen, Verletzungen und Mortalität wildgefangener Vögel muss verbessert werden, um kritische Punkte identifizieren und Probleme beheben zu können.
 - Infrastruktur, Personalschulung und Monitoring in den Einrichtungen der Drittländer müssen verbessert werden.
 - Die Labordiagnostik im Herkunftsland muss optimiert werden.
 - An den Grenzkontrollstellen sollten alle Vögel durch einen fachkundigen Tierarzt untersucht werden.
 - Die Transportfahrzeuge sollten bereits als Teil der Quarantänestation angesehen und entsprechend ausgerüstet werden.
 - Todesfälle von Vögeln während der Quarantäne sollten analysiert und Ursachenforschung betrieben werden.
3. Empfehlungen im Bezug auf die Tiergesundheit:
- Aufgrund des hohen Risikos einer Einschleppung von Infektionserregern sollte die Notwendigkeit des Importes grundsätzlich überdacht werden.
 - Die indirekte Diagnostik des Gesundheitsstatus importierter Vögel in Quarantänestationen durch Sentinel-Hühner ist aufgrund unterschiedlicher Empfänglichkeit für bestimmte Erreger oft unzureichend. Eine mikrobiologische und virologische Untersuchung wird daher angeraten.
 - Die Ergebnisse der Untersuchung auf Aviäre Influenza, Newcastle Disease und Aviäre Chlamydiose sollten zentral erfasst und zugänglich werden, um Rückschlüsse auf die Prävalenz im Herkunftsland zu erhalten.
 - Die diagnostischen Verfahren sollten verbessert und zwischen den einzelnen Untersuchungsstätten harmonisiert werden.

9 Europäische Kommission und Chlamydiose

Wegen der fortbestehenden Probleme für die Gesundheit von Mensch und Tier sowie der negativen Beeinflussung des internationalen Handels durch die Chlamydiose hatte die Europäische Kommission das Scientific Committee on Animal Health and Animal Welfare eine Expertenkommission (Working Group) einberufen, die einen wissenschaftlichen Bericht anfertigen sollte zum Thema „Avian Chlamydiosis as a Zoonotic Disease and Risk Reduction Strategies“. Der angefertigte Report wurde von der EU-Kommission am 16. April 2002 angenommen und ist unter

„http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scah/out73_en.pdf„ einsehbar.

Die Working Group wurde geleitet von Dr. Dennis J. Alexander, Mitglieder der Gruppe waren Gino Conzo, Italien, Erhard F. Kaleta, Deutschland, Silvio Magnino, Italien, Konrad Sachse, Deutschland und Daisy Vanrompay, Belgien. Zunächst wurde der bisher bekannte Kenntnisstand über Chlamydien zusammengetragen zu Terminologie, Ätiologie, Wirtsspektrum, Krankheitsformen, Erregerausbreitung zwischen Vögeln, diagnostische Methoden, Vakzinationen, Behandlung erkrankter Vögel und Infektionen des Menschen.

Die Working Group sprach in ihrem abschließenden Bericht folgende Empfehlungen aus:

- weitere Restriktionen für den Import frei lebender Vögel und Befürwortung von vermehrten Inlandzuchten. Quarantäne für Importvögel.
- Quarantäne von 21 Tagen aller für den Export bestimmten Vögel bereits im Exportland.
- Im EU-Inland erneute Quarantäne mit diagnostischer Untersuchung aller Vögel.
- Vollständige Separierung der importierten Vögel in kleine Gruppen und deren Untersuchung mittels PCR.
- Trennung bereits erkrankter von noch gesund erscheinenden Vögeln in den Quarantäne-Einrichtungen.
- Tetrazykline dienen nur der Behandlung kranker Vögel. Eine prophylaktische Behandlung gesund erscheinender Vögel wird nicht empfohlen.

- Zur weiteren Reduzierung des Infektionsrisikos für Menschen soll eine weitere Restriktion des Handels mit Ziervögeln (nicht aber Hausgeflügel) erfolgen.
- Brieftauben sollen nur an Reisen und Ausstellungen teilnehmen dürfen, wenn sie vorher auf Chlamydien mit negativem Ergebnis untersucht wurden.
- Enten und Gänse sind unter den Bedingungen eines all in – all out zu halten mit Reinigung und Desinfektion zwischen Neueinstellungen.
- Vorbeugende Maßnahmen für das Personal (Handschuhe, Gesichtsschutz und medizinische Untersuchungen) müssen verpflichtend sein.
- Weitere Verbesserungen und Validierung bisher gebräuchlicher diagnostischer Methoden.
- Schließlich bezeichnete die Arbeitsgruppe noch Teilgebiete, die einer besonderen Erforschung bedürfen. Dies sind im Einzelnen Themen der Diagnostik, der Pathogenese, der Microarray-Technologie, der Epidemiologie und der Möglichkeiten aktiver Immunisierung.

Sämtliche Empfehlungen der Working Group wurden dem Ständigen Veterinärausschuss der EU schriftlich vorgelegt und mit Erläuterungen vom Vorsitzenden Dr. D. J. Alexander vorgetragen. Zur Umsetzung sollen in absehbarer Zeit neue, EU-einheitliche Rechtsnormen geschaffen werden.

10 Darstellung einer erfolgreichen länderübergreifenden Seucheneradikation am Beispiel der Tollwut

Für die Darstellung einer erfolgreichen länderübergreifenden Seucheneradikation wurde die Tollwut gewählt, auch wenn es sich hierbei um eine virale Infektion handelt. Die Bekämpfungsmaßnahmen der klassischen Tollwut sind jedoch ein Paradebeispiel für die erfolgreiche Ausrottung einer Tierseuche auf der einen Seite, auf der anderen Seite zeigt das Beispiel der Fledermaustollwut, welche die Grenzen einer Bekämpfung gesetzt sind.

10.1 Allgemeiner Überblick zur Tollwut

Die Tollwut gehört zu den ältesten bekannten Zoonosen. Der Erreger, das Lyssavirus aus der Familie der Rhabdoviridae, Genus *Lyssavirus* (Abbildung 28), infiziert alle Säugetiere sowie den Menschen und ist weltweit verbreitet. Laut Angaben des „WHO-Rabies-Bulletin“ gibt es jährlich über 55.000 humane Todesfälle durch Tollwut, wobei über 95 % der Betroffenen in Asien und Afrika leben.

Steckbrief des Tollwuterregers

- Ordnung: Mononegavirales
- Familie: Rhabdoviridae
- Genus: Lyssavirus

- Negativ-Strang RNA-Virus
- Identifikation von mindestens 7 verschiedenen Genotypen, 4 weitere werden vermutet
- Aufgrund unterschiedlicher biologischer Eigenschaften (Pathogenität, Apoptoseinduktion, Rezeptorerkennung usw.) werden 2 Phylogruppen unterschieden:
 - Phylogruppe I: Genotyp 1, 4, 5, 6, 7
 - Phylogruppe II: Genotyp 2, 3
- Hauptreservoir für alle Genotypen sind Fledermäuse
- Die klassische Tollwut wird durch Genotyp 1 ausgelöst

Abbildung 28: Steckbrief des Tollwuterregers (WHO-Rabies-Bulletin)

10.1.1 Ätiologie, Übertragung und Pathogenese

Das Lyssavirus ist ein neurotropes, behülltes, einsträngiges RNA-Virus mit negativer Polarität, das im Zytoplasma der Wirtszelle repliziert. Aufgrund der lipidhaltigen Hülle ist das Virus gegenüber Umwelteinflüssen nur mäßig widerstandsfähig und kann durch Erhitzen (≥ 56 °C), UV-Licht oder Lösungsmittel schnell inaktiviert werden. Jedoch ist es relativ resistent im Bezug auf Fäulnisprozesse und Autolyse virushaltiger Tierkörper, so dass es im Tierkadaver bis zu 90 Tage infektiös bleibt (<http://www.patho.vetmed.uni-muenchen.de/61-Tollwut.pdf>).

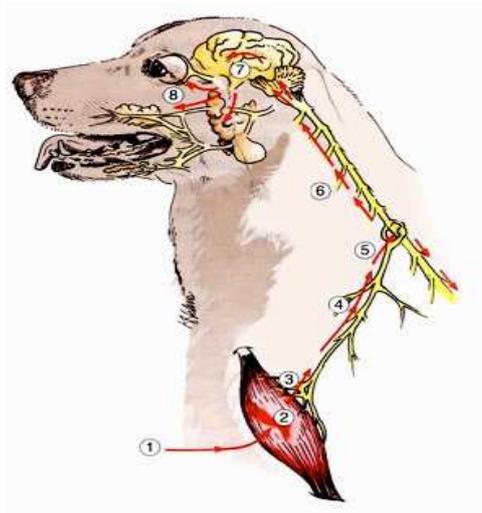
Die Übertragung des Lyssa-Virus erfolgt primär mit dem Speichel infizierter Tiere entweder transdermal durch Bisswunden oder andere Hautläsionen oder durch direkten Schleimhautkontakt mit infektiösem Material, wobei neben Speichel vor allem Nervengewebe und Zerebralflüssigkeit Viruspartikel enthalten (WHO Rabies Bulletin).

Abbildung 29 zeigt den Transport des Tollwutvirus nach transdermalem Eintritt zum Gehirn. Zunächst erfolgt in der Regel eine Infektion der Myozyten, in denen eine erste Virusreplikation stattfindet; selten werden periphere Nervenzellen direkt befallen. Über die Bindung an Acetylcholinrezeptoren werden dann periphere Nervenzellen infiziert und das Virus gelangt durch Interaktion mit Dynein über einen retrograden axonalen Transport über die Spinalganglien ins Rückenmark.

Nach der Infektion der Hirnzellen breitet sich das Virus über einen anterograden axoplasmatischen Transport im peripheren Nervensystem, u.a. den Augen und den Speicheldrüsen, aus und wird so wieder ausgeschieden. In der Regel kommt es nach der Virusinokulation trotz massiver Virusreplikation nicht zu einem Absterben, sondern zu einer Umpolung der befallenen Nervenzellen, so dass fortan virale statt der zelleigenen Proteine synthetisiert werden (WHO, Rabies Bulletin).

Die Inkubationszeit liegt, in Abhängigkeit vom Virusstamm, der Virusmenge und der Eintrittspforte, zwischen 6 Wochen und 2 Jahren, im Mittel jedoch bei 2 bis 3 Monaten. Mit Beginn der klinischen Symptome breitet sich das Virus im gesamten Körper aus. Die eigentliche Krankheitsdauer beträgt nur 1 bis 7 Tage und führt zum Tod durch Atemlähmung (WHO, Rabies Bulletin).

Darstellung einer erfolgreichen länderübergreifenden Seucheneradikation am Beispiel der Tollwut – Allgemeiner Überblick zur Tollwut



1. Muskel (Myozyten)
2. Periphere Nervenzellen
3. Retrograder Transport
4. Spinalganglion
5. Rückenmark
6. Gehirn
7. Speichel- / Tränendrüsen

Abbildung 29: Darstellung des retrograden Infektionsweges des Lyssavirus vom peripheren Muskel ins Zentralnervensystem (<http://www.patho.vetmed.uni-muenchen.de/61Tollwut.pdf>)

10.1.2 Klinische Symptome der Tollwut im Tier

Der klinische Verlauf wird in drei Phasen unterteilt (nach WHO, Rabies Bulletin):

Prodromalstadium: - 1-3 Tage

- leichte Verhaltensänderungen, z. B. Aggression, Scheu, Nervosität, Schluckbeschwerden (Pharynxlähmung), Speichelfluss, Hydrophobie
- wird häufig übersehen

Exzitationsstadium: - Aggression, Unruhe, Bissigkeit

- Pharynxlähmung, Speichelfluss
- charakteristisches hohes, heiseres Bellen bei Hunden
- Tod durch Krämpfe ist schon in diesem Stadium möglich

Paralysestadium: - aufsteigende Paralyse mit Lähmung der Gliedmaßen-, Rumpf- und Gesichtsmuskulatur; dadurch schaumiger Speichel am Maul

- Tod meist nach 3-4 Tagen

Darstellung einer erfolgreichen länderübergreifenden Seucheneradikation am Beispiel der Tollwut – Allgemeiner Überblick zur Tollwut

Je nach Ausprägung der Symptomatik spricht man von „rasender Wut“ beim Vorherrschen des Exzitationsstadiums, oder von „stiller Wut“, wenn Lähmungserscheinungen dominieren.

10.1.3 Epidemiologie der Tollwutinfektion

Mit Ausnahme weniger Länder ist die Tollwut weltweit verbreitet, wie auch aus der Übersichtskarte der OIE aus dem 2. Halbjahr 2009 (Abbildung 30) hervorgeht. Das Hauptreservoir stellen Carnivore und Viverridae (Katzenartige) dar und stellen so den Vermehrungszyklus sicher. Vögel, Reptilien und Amphibien gelten als refraktär (OIE, 2004).

Abhängig vom Übertragungszyklus wird zwischen der sylvatischen und der urbanen Tollwut unterschieden. Erstere betrifft primär fleischfressende Wildtiere (Füchse, Wölfe, Waschbären, Fledermäuse), und es kommt nur selten zu Infektionen von Menschen oder Haustieren. Dagegen ist die urbane Tollwut weit bedeutender für die Gesundheitsgefährdung des Menschen, da hiervon v. a. streunende und verwilderte Hunde betroffen sind und es häufig zu Infektionen durch Bissverletzungen kommt. Laut WHO-Angaben leben über die Hälfte der Weltbevölkerung in Tollwutendemiegebieten.

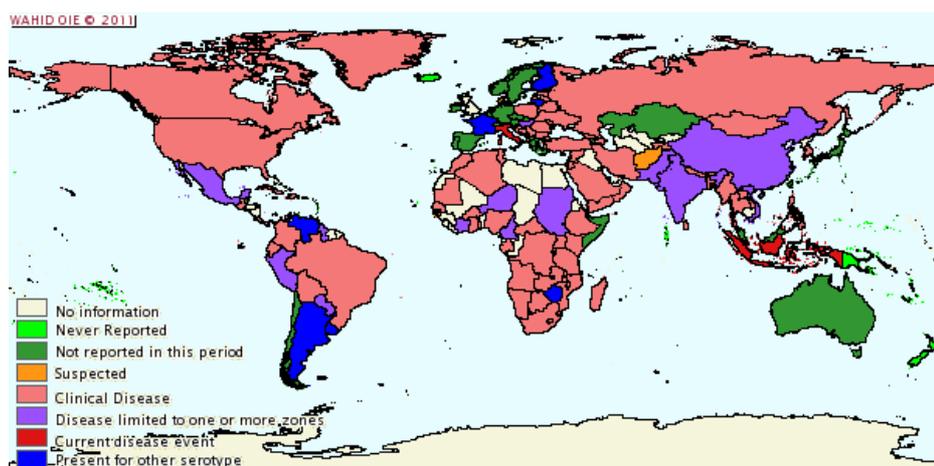


Abbildung 30: Übersicht über den Tollwutstatus weltweit im 2. Halbjahr 2009 (OIE, Disease distribution maps)

10.1.4 Diagnostik beim Verdacht auf Tollwut

Die klinischen Symptome erlauben eine Verdachtsdiagnose, wobei Automutilation und Allotriophagie weitere Hinweise geben. Der Virusnachweis *intra vitam* aus Speichel, Nackenhautbiopsien oder Korneazellen ist oft ungenau, so dass eine gesicherte Diagnose nur *post mortem* durch Untersuchung des Hirngewebes möglich ist.

Histologisch finden sich vorherrschend eine nicht eitrige Enzephalomyelitis, eine Ganglioneuritis sowie die charakteristischen Negri-Körperchen (eosinophile zytoplasmatische Einschlusskörperchen aus viralen Nukleokapsid-Aggregaten), die jedoch nicht in allen histologischen Schnitten nachzuweisen sind (<http://www.patho.vetmed.uni-muenchen.de/61%20Tollwut.pdf>).

Die häufigste und von WHO und OIE empfohlene Nachweismethode ist der Antigennachweis mittels **FAT (Fluorescent Antibody Test)**, der bereits nach 1-2 Stunden Ergebnisse liefert. Zur Bestätigung der FAT bzw. zur Bestimmung des Virusisolates dient ein Inokulationstest, bei dem die Virusreplikation in lebenden Neuroblastomzellen oder Mäusen nachgewiesen wird (WHO Rabies Bulletin).

Der molekularbiologische Nachweis von Virus-RNA mittels RT-PCR wird bereits in der humanmedizinischen Diagnostik eingesetzt, gehört aber noch nicht zu den von der WHO empfohlenen Standardmethoden und sollte stets mit anderen Nachweisverfahren kombiniert werden.

10.1.5 Bekämpfungsstrategien gegen die Tollwut in Deutschland

In Deutschland ist die Bekämpfung der Tollwut in der Verordnung zum Schutz gegen die Tollwut vom 4. Oktober 2010 („Tollwut-Verordnung“) geregelt und anzeigepflichtig (§ 9 Tierseuchengesetz). Nach dieser Verordnung besteht zwar keine Impfpflicht für Haustiere, jedoch kann „die zuständige Behörde ... Impfungen gegen die Tollwut anordnen, soweit dies 1. aus Gründen der Tierseuchenbekämpfung oder 2. zum Schutz vor der Tierseuche erforderlich ist“ (TollwV § 2 (2)).

Darstellung einer erfolgreichen länderübergreifenden Seucheneradikation am Beispiel der Tollwut – Allgemeiner Überblick zur Tollwut

Im Falle eines Tollwutausbruches oder bei Tollwutverdacht kann die Behörde die „sofortige Tötung und unschädliche Beseitigung“ aller seuchenverdächtigen Tiere anordnen. Eine Ausnahme besteht für seuchenverdächtige Hunde und Katzen, wenn sie „nachweislich unter wirksamem Impfschutz stehen“ (§ 7).

Seit der Reform der Tollwutverordnung im Dezember 2005 gilt der Impfschutz bei Hunden und Katzen als wirksam, wenn „Wiederholungsimpfungen jeweils innerhalb des Zeitraumes durchgeführt worden sind, den der Impfstoffhersteller für die jeweilige Wiederholungsimpfung angibt“ (§ 1 (3b)). Dieser Zeitraum umfasst bei vielen Impfstoffen bis zu drei Jahre, so dass die bis 2005 übliche jährliche Auffrischungsimpfung nicht mehr vonnöten ist. Impfstoffe für Tiere dürfen nur aus nicht mehr vermehrungsfähigen Erregern hergestellt und nicht bei seuchenkranken oder verdächtigen Tieren eingesetzt werden (TollwV § 2 (1)); eine Therapie erkrankter Tiere ist verboten (§ 2 (3)).

Auch europaweit wird die Tollwut durch gesetzliche Regelungen überwacht und kontrolliert. Durch flächendeckende parenterale Impfungen von Haustieren, Quarantäne und Registrierung von Hunden sowie die Kontrolle streunender Tiere konnte die urbane Tollwut in Deutschland und weiten Teilen West- und Mitteleuropas erfolgreich eingedämmt werden. Problematisch ist dagegen immer noch die sylvatische Tollwut, die sich seit 1945 stetig Richtung Westen verbreitete und Mitte der 70-er Jahre nahezu in ganz Mitteleuropa zu finden war. Über 80 % der Tollwutfälle in Europa traten bei Wildtieren und insbesondere bei Füchsen auf (WHO Rabies Bulletin).

Die ersten Versuche zur Bekämpfung der Wildtiertollwut mit konventionellen Methoden wie Giftködern, Abschuss, Fallenstellen, hormonelle Sterilisation oder auch Begasung von Fuchsbauten blieben erfolglos. Erst seit der Einführung der oralen Impfung 1978 (in Deutschland seit 1983) ging die Zahl der Infektionen bei Füchsen deutlich zurück, so dass heute viele Länder „tollwutfrei“ sind (WHO Rabies Bulletin).

Insbesondere die Entwicklung maschinell herstellbarer Köder (sog. „Tübinger Köder“) ermöglichte flächendeckende Impfprogramme, die sich 1995 in Deutschland auf eine Fläche von 215.000 der insgesamt 357.021 Quadratkilometern erstreckten (FREULING et al., Tierseuchen-Jahresbericht (TJB), 2007).

Darstellung einer erfolgreichen länderübergreifenden Seucheneradikation am Beispiel der Tollwut – Ist Deutschland wirklich tollwutfrei?

Dennoch gelang es lange Zeit nicht, die Tollwut vollständig zu eliminieren. Da die Tierseuchenbekämpfung in der Bundesrepublik in den Zuständigkeitsbereich der Bundesländer fällt, gab es lange Zeit keine einheitliche Strategie der Impfaktionen. Dadurch konnten infizierte Füchse immer wieder „durchschlüpfen“ und andere Tiere anstecken.

Seit 1996 traten durch die erfolgreiche Kombination von oraler Immunisierung und verstärkter Jagd auf Füchse nur noch vereinzelt Tollwutfälle auf. Dennoch kam es, ausgehend von einem Infektionsherd in Hessen, zu einem Wiederaufblühen der Tollwutfälle auch in bereits „tollwutfreien“ Bundesländern wie Rheinland-Pfalz und Baden-Württemberg in den Jahren 2004/2005. Die Impfaktionen wurden daraufhin intensiviert und länderübergreifend koordiniert. Durch den Einsatz von computergesteuerten Köderabwurfssystemen für die Flugzeugauslage und einem satellitengestützten Ortungssystem gelang es, die Impfköder flächendeckend zu verteilen. Schwer zugängliche urbane und semiurbane Gebiete wurden per Handauslage beködert (FREULING et al., TJB 2007).

Der letzte Tollwutfall wurde in Deutschland am 03. Februar 2006 diagnostiziert (FREULING et al., TJB 2007). Danach wurden die Impfaktionen noch zwei Jahre weiter geführt und seit dem 28. September 2008 gilt Deutschland nach den offiziellen Angaben der OIE als tollwutfrei. Diesen Status erhält ein Land, wenn in einem Zeitraum von zwei Jahren kein Fall von Tollwut beim Menschen oder bei Tieren nachgewiesen worden ist (BMELV).

10.2 Ist Deutschland wirklich tollwutfrei?

Der Status der Tollwutfreiheit Deutschlands beruht auf den Kriterien der OIE, die nur das Virus der klassischen Tollwut als Kriterium heranzieht. Dagegen definiert die Weltgesundheitsorganisation WHO diesen Status als „Freiheit von jeglichen Tollwutviren“. Dieses Kriterium erfüllt Deutschland eindeutig nicht! Auch wenn die klassische Tollwut der Füchse getilgt ist, ist die Bundesrepublik eines der Länder in Europa mit der größten Ausbreitung der Fledermaustollwut (FREULING et al., TJB 2007).

Darstellung einer erfolgreichen länderübergreifenden Seucheneradikation am Beispiel der Tollwut – Ist Deutschland wirklich tollwutfrei?

Die Europäischen Fledermaustollwutviren (European Bat Lyssavirus, EBLV-1a / 1b und -2) sind eng mit den klassischen Tollwut-Erregern verwandt, unterscheiden sich jedoch von diesen durch ihren Infektionszyklus bei insektenfressenden Fledermäusen. Im Zeitraum von 1954 bis 2009 wurden in Europa insgesamt 931 Fledermäuse mit EBLV an das WHO *Collaborating Centre for Rabies Surveillance and Research* des Friedrich-Loeffler-Instituts (FLI) gemeldet, wobei über 90 % der Infektionen in Dänemark, den Niederlanden, Deutschland und Polen gemeldet wurden, außerdem in Frankreich, Spanien, England und Osteuropa (Abbildung 31).

In Deutschland liegt das Hauptverbreitungsgebiet im Norden und deckt sich mit dem Lebensraum der Breitflügelfledermaus (*Eptesicus serotinus*), die als wichtigstes Reservoir des EBLV-1 gilt. EBLV-2 tritt dagegen sehr viel seltener auf und wird primär bei Wasser- und Teichfledermäusen (*Myotis* spp.) diagnostiziert (FREULING, 2009, RKI: Epidemiologisches Bulletin, Nr. 8, 2011).

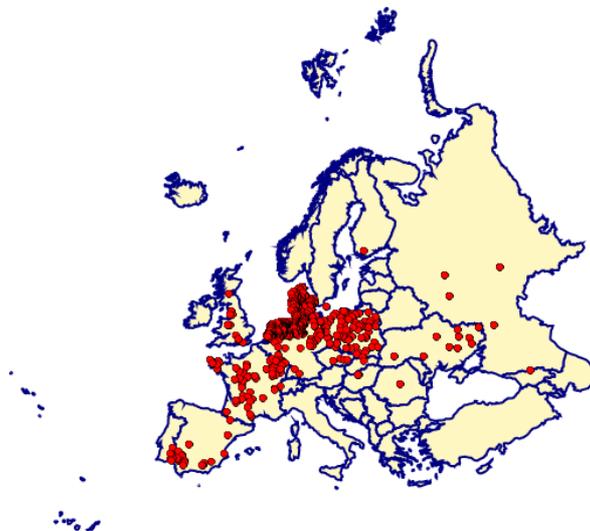


Abbildung 31: Übersicht über das Auftreten der Fledermaustollwut in Europa im Zeitraum von 1977 bis 2010 (Rabies Bulletin Europe)

Die vorhandenen humanen Impfstoffe gegen die klassische Tollwut bieten auch einen wirksamen Schutz gegen die Fledermaustollwut. Da Fledermäuse aufgrund ihrer versteckten Lebensweise nur selten in Kontakt mit Menschen kommen, ist das Risiko einer Übertragung relativ gering. Dennoch ist es notwendig, die Fledermaustollwut weiter zu beobachten. Das Friedrich-Loeffler-

Darstellung einer erfolgreichen länderübergreifenden Seucheneradikation am Beispiel der Tollwut – Ist Deutschland wirklich tollwutfrei?

Institut (FLI) untersucht seit einigen Jahren sowohl bei Totfunden als auch bei lebenden Tieren die EBLV-Prävalenz in der Fledermauspopulation, um Erkenntnisse über die Dynamik des Infektionsgeschehens zu erhalten (FREULING et al., TJB 2007).

Abbildung 32 zeigt die Anzahl an Tollwutfällen in Europa bei domestizierten Tieren, Wildtieren und Fledermäusen in den vergangenen dreißig Jahren, die von der WHO und vom FLI erfasst wurden (Rabies-Bulletin-Europe). Dabei handelt es sich bei den Wildtieren zu knapp 90 % um Infektionen bei Füchsen. Aus dem Diagramm wird deutlich, wie der hohe Ausgangswert bei der klassischen Tollwut durch konsequente Bekämpfungsmaßnahmen auf null reduziert werden konnte. Dagegen stellt sich die Fledermaustollwut deutlich als Konstante mit relativ geringen Schwankungen dar. Dies verdeutlicht, dass EBLV in der Fledermauspopulation endemisch ist.

Solange es weltweit die Fledermaustollwut gibt, kann letztlich für kein Land der Status „tollwutfrei“ gelten.

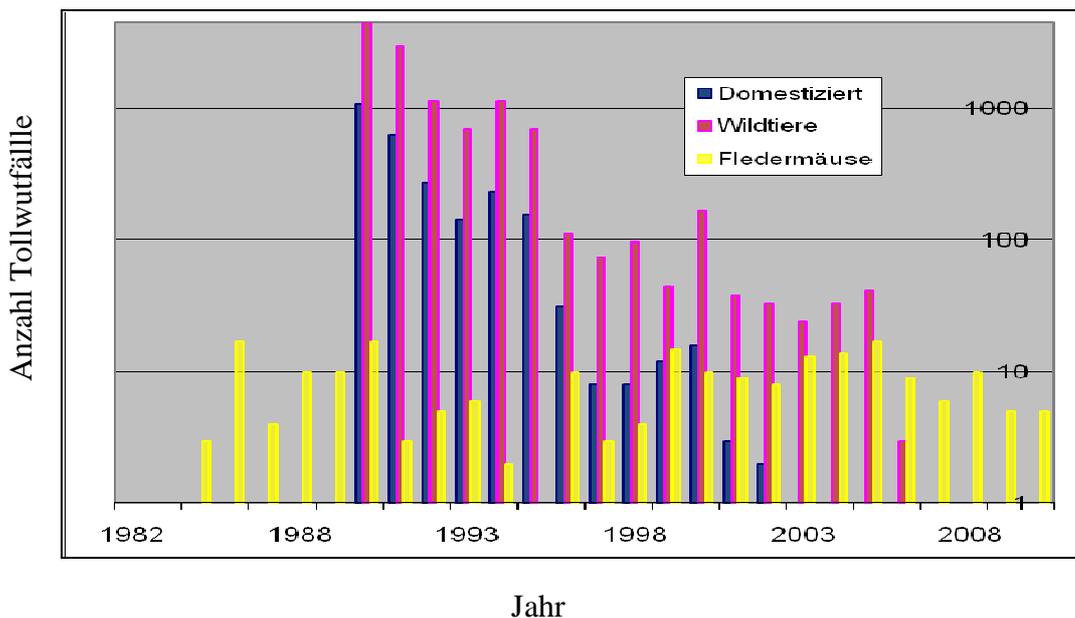


Abbildung 32: Logarithmische Darstellung der Anzahl an erfassten Tollwutfällen bei domestizierten Tieren, Wildtieren sowie Fledermäusen von 1982 bis 2010

10.3 Fazit

Das Beispiel der Tollwut verdeutlicht die Problematik der Tierseuchenbekämpfung und stellt zwei wesentliche Punkte heraus. Zum einen gelingt eine

Darstellung einer erfolgreichen länderübergreifenden Seucheneradikation am Beispiel der Tollwut – Fazit

effektive Eindämmung einer Infektionskrankheit nur, wenn flächendeckend, gezielt und gut koordiniert länderübergreifend gehandelt wird. Zum anderen müssen ein wirksamer, oral zu applizierender Impfstoff sowie eine effiziente Methode zu dessen Verteilung existieren, so dass möglichst alle potenziell infektionsempfänglichen Wirte immunisiert werden können. Bezogen auf die Tollwut bei Füchsen waren diese beiden Parameter vollkommen erfüllt. Mit der Entwicklung des Impfstoffes in den 70-iger Jahren und der Möglichkeit der oralen Immunisierung waren die Grundvoraussetzungen der erfolgreichen Seuchenbekämpfung geschaffen. Durch den Abwurf der Köder mit Flugzeugen gelang die flächendeckende Verteilung des Impfstoffs, doch erst nachdem länderübergreifend eine einheitliche Strategie verfolgt wurde, konnten die Virusausbreitung gestoppt und der Infektionszyklus unterbrochen werden. Wichtig für den Erfolg war dabei auch, dass Füchse im Wesentlichen territorial leben. Häufig lebt ein Rüde mit einer oder mehreren Fähen in einem Rudel, in dem auch eine gemeinsame Welpenaufzucht erfolgt. Männliche Füchse verlassen mit etwa einem halben Jahr ihr Rudel und suchen sich ein eigenes Revier. Je nach Umgebungsbedingungen kann dieses in Waldgebieten bis zu 40 km² groß sein, in urbanen Regionen dagegen auch nur 1 km² (LABHARDT, 1996). Aufgrund dieser Standorttreue konnten fast alle Tiere mit den Impfködern versorgt und die Tollwut der Füchse getilgt werden.

Anders verhält es sich dagegen bei Fledermäusen, bei denen das Tollwutvirus immer noch endemisch ist. Wichtigster Punkt ist, dass es bis heute keinen Impfstoff gegen das EBVL-Virus für Fledermäuse gibt. Hinzu kommt die zurückgezogene und versteckte Lebensweise der zudem sehr scheuen, dämmerungsaktiven Tiere, die eine Überwachung deutlich schwieriger macht als bei den Füchsen. Des Weiteren halten europäische Fledermäuse in der Regel Winterschlaf in versteckten Höhlen oder Bunkern und legen dazu zwischen dem Sommer- und dem Winterlager zum Teil auch größere Distanzen zurück (GEBHARD, 1997). Auf diese Weise kommt es zu einer Durchmischung verschiedener Fledermausgruppen, wodurch das Virus weiter verbreitet wird. Der Status der Tollwutfreiheit kann also auf absehbare Zeit nur für die klassische Tollwut gelten.

11 Diskussion

Mit der Aufhebung der Anzeigepflicht für die Psittakose durch die Neufassung der Verordnung über anzeigepflichtige Tierseuchen vom 19. Juli 2011 endete eine lange währende Diskussion über die Notwendigkeit einer staatlichen Bekämpfung und Reglementierung der Psittakose.

Die Psittakose gehörte Ende des 19. bis etwa Mitte des 20. Jahrhunderts zu den gefürchteten Anthroozoonosen bzw. auch Zooanthroponosen mit mehreren schweren Epidemien auf der ganzen Welt. Aus diesem Grund wurde sie seit 1934 mit Einführung des Gesetzes zur Bekämpfung der Papageienkrankheit staatlich bekämpft und gehörte seit 1969 zu den anzeigepflichtigen Tierseuchen (PFISTERER, 1999).

Doch trotz aller Bekämpfungsmaßnahmen zählte die Psittakose mit 300 bis 400 Fällen jährlich bis zum Jahr 2000 zu den am häufigsten angezeigten Tierseuchen (PFISTERER, 1999). Danach sank die Zahl kontinuierlich, ohne dass sich jedoch an den Kontrollmaßnahmen etwas verändert hätte und liegt aktuell bei deutlich weniger als 100 Anzeigen je Jahr.

Es mag angemessen sein, den deutlichen Rückgang angezeigter Psittakosen als einen Erfolg staatlicher Bekämpfungsmaßnahmen anzusehen und zu werten. Für diese Sichtweise würde die über mehr als 40 Jahre bestehende Anzeigepflicht sprechen, die einen Rückgang der Ornithose der Nicht-Psittaziden nicht bewirken konnte.

Auch die Bedeutung der aviären Chlamydiose als Zooanthroponose stellt sich heute wesentlich geringer dar als noch vor 100 Jahren. Seit der Entdeckung der Tetrazykline in den 40er Jahren des vorigen Jahrhunderts ist die Erkrankung sowohl beim Menschen als auch beim Vogel gut therapierbar und nimmt nur dann einen fatalen Verlauf, wenn eine korrekte Diagnose misslang oder ein unwirksames Arzneimittel verabreicht wurde. Die letzten größeren Ausbrüche betrafen ausschließlich Personenkreise, die als besonders gefährdet eingestuft werden müssen, d. h. Züchter, Händler, Tierpfleger oder Tierärzte (GAEDE et al., 2007). Insgesamt ist die Zahl gemeldeter humaner Ornithosen in den letzten 15 Jahren kontinuierlich rückläufig und hat sich seit 2004 auf unter 30 Erkrankungen pro Jahr (2009: 26; 2010: 25) eingependelt (Abbildung 33).

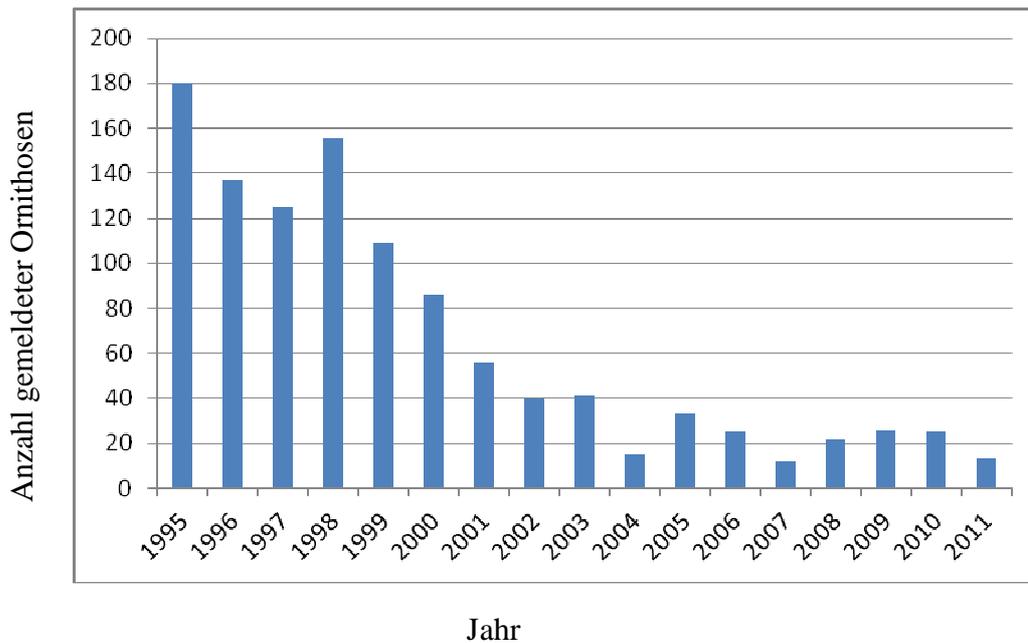


Abbildung 33: Darstellung der gemeldeten Fälle humaner Ornithosen von 1995 bis 2011 (Daten aus den Infektionsepidemiologischen Jahrbüchern des Robert-Koch-Institutes)

Damit steht die Chlamydiose ganz am Ende der Statistik der jährlich auftretenden Zoonosen, die im Bezug auf bakterielle Erreger aktuell von der Campylobacter-Enteritis (2009: 62.827; 2010: 65.714) und der Salmonellose (2009: 31.408; 2010: 25.307) angeführt wird (Zahlen aus Jahresstatistik Robert-Koch-Institut 2010). Die bedeutendste virusbedingte Zoonose ist zurzeit die Norovirus-Gastroenteritis mit 140.441 Neuerkrankten im Jahr 2010 (2009: 110.884) und mehr als 80.000 Fällen im Jahr 2012 (Stand 38. KW, Epidemiologisches Bulletin 41/12, RKI).

Der letzte größere Ornithoseausbruch in Deutschland ereignete sich 2005 in Sachsen-Anhalt und Thüringen und betraf über 100 Hausgeflügelbestände und 24 Personen, von denen sieben stationär behandelt werden mussten und eine Person starb. Als auslösendes Agens wurde *Chlamydia psittaci* der Genogruppe A und E/B identifiziert (GAEDE et al., 2005).

11.1 Symptomatologie und Pathologie bei verschiedenen Vogelarten / -gruppen

Bei einer Gegenüberstellung der angezeigten bzw. gemeldeten Fälle der Psittakose / Ornithose mit akutem Krankheitsverlauf und der Prävalenz von *Chlamydia psittaci* bei den verschiedenen Vogelarten, ergibt sich eine erhebliche Diskrepanz. Prävalenzen von bis zu 80 % bei Psittaziden und sogar bis zu 95 % bei Wildtauben zeigen die ubiquitäre Präsenz des Erregers in der Vogelpopulation. Auch bei frei lebenden Vögeln – z. B. bei Meisen – ist die Zahl der Infektionen hoch, entzieht sich aber sowohl der Meldepflicht als auch einer Therapie (HOLZINGER-UMLAUF et al., 1997).

In Relation dazu ist die Zahl schwerer Krankheitsverläufe beim Vogel verschwindend gering. Hier wird deutlich, dass es sich bei *Chlamydia psittaci* nicht unbedingt um einen aggressiven Erreger handelt, sondern im Regelfall eine Koexistenz zwischen den Chlamydien und ihren natürlichen Wirten möglich ist. Zu einem akuten Krankheitsgeschehen kommt es erst, wenn das Immunsystem des Wirtes aufgrund anderer Faktoren geschwächt ist. Dazu gehören alle Formen von Stress, sei es durch Futter- oder Wassermangel, durch sozialen Stress oder Veränderungen der Lebensbedingungen, sowie durch andere Infektionen.

Vor allem bei den **Psittaziden**, bei denen man aufgrund der jahrelangen strengen gesetzlichen Überwachung auf eine große Bedeutung schließen könnte, treten perakute und akute Verlaufsformen der Chlamydiose vor allem bei jungen oder geschwächten Vögeln auf. Die überwiegende Zahl der Infektionen verläuft subklinisch persistierend, also ohne Symptome und daher häufig auch unbemerkt (SACHSE und GROßMANN, 2002; HARKINEZHAD et al., 2008; VANROMPAY, 2008).

Auch bei **Tauben** kommt es eher selten zu akuten Krankheitssymptomen. Stattdessen dominieren auch hier vor allem chronische oder subklinisch persistierende Infektionen, die mit einer permanenten oder intermittierenden Erregerausscheidung einhergehen (KRAUSS und SCHMEER, 1992). Die Infektion ist bei Tauben endemisch und scheint primär durch einen Eltern-Nestling-Übertragungszyklus aufrecht erhalten zu werden (ANDERSEN und VANROMPAY, 2003).

Bei **Puten** kommt es abhängig vom Serovar zu schweren (Serovar A) oder eher subakuten (Serovar B) Verlaufsformen der Chlamydiose. Allerdings scheint *Chalymdia psittaci* bei Puten nicht endemisch zu sein, so dass Infektionen meist auf einen Erregereintrag durch Wildvögel in einen Bestand zurückzuführen sind (KRAUSS und SCHMEER, 1992; ANDERSEN und VANROMPAY, 2003).

Enten und **Gänse** zeigen zwar zum Teil schwere Krankheitsverläufe, allerdings wird auch hier die Infektion durch andere Faktoren begünstigt und tritt erst auf, wenn die Tiere geschwächt sind (BÖNNER, 2006; GEENS et al., 2005). So läßt sich zusammenfassen, dass die Bedeutung der aviären Chlamydiose als Auslöser schwerer Erkrankungen unter Berücksichtigung der Verbreitung des Erregers in der Vogelpopulation als eher gering einzustufen ist.

11.2 Pathologie und Pathogenese

Durch ihren biphasischen Entwicklungszyklus unterscheiden sich Chlamydien deutlich von anderen Bakterien. Dieser ermöglicht zum einen eine weitgehend vor dem Immunsystem des Wirtes geschützte Vermehrung und zum anderen chronisch persistierende Infektionen. Nach der Infektion der Wirtszelle mit den infektiösen Elementarkörperchen erfolgt die Umwandlung in das vermehrungsfähige Stadium der Retikularkörperchen. Diese teilen sich innerhalb der Wirtszelle unter Zuhilfenahme der zelleigenen Organellen als Energielieferanten und bilden so durch Reduktionsvorgänge bis zu 1000 neue Elementarkörperchen (EVERETT, 2000; HARKINEZHAD et al., 2008).

Eine weitere besondere Eigenschaft der Chlamydien ist, dass sie die natürliche Apoptose der Wirtszelle hemmen und dadurch einen vorzeitigen Verlust ihres „Lebensraums“ unterbinden können. Erst wenn ausreichend Elementarkörperchen in der Zelle vorhanden sind, werden sie durch Zelllyse oder Exozytose freigesetzt und die Wirtszelle geht zugrunde (ROEDEL et al., 2008). Dies erklärt auch die typischen pathologischen Befunde infizierter Vögel wie eine fibrinöse Serositis der Körperhöhlen und Luftsäcke, Myokarditis, Bronchopneumonie, Hepatosplenomegalie sowie eine katarrhalisch-hämorrhagische Enteritis. Mikroskopisch dominiert eine fibronekrotisierende Entzündung

mit mononukleärer Leukozyteninfiltration (KRAUSS und SCHMEER, 1992; PEES, 2004; HAFEZ, 2006; ANDERSEN und VANROMPAY, 2008).

Die Mechanismen der Persistenz und die genauen Ursachen, wann und warum es zu einer persistierenden Infektion kommt, sind nicht abschließend geklärt. Untersuchungen verschiedener Autoren zeigen, dass sich eine persistierende Infektion *in vitro* durch zu gering dosierte Antibiotikagaben oder den Mangel essentieller Nährstoffe induzieren lässt (GIEFFERS et al., 2004; GOELLNER et al., 2006; HOGAN et al., 2004; BYRNE et al., 1986). In diesem Fall unterbleibt die Teilung der Retikularkörperchen, und es kommt stattdessen nur zur Replikation der Chromosomen, die mit einer starken Größenzunahme der Retikularkörperchen einhergeht (GIEFFERS et al., 2004). In den meisten Fällen ist die Persistenz reversibel, und es entsteht eine akut verlaufende Krankheit, wenn das kausale Agens (Antibiotikum, Nährstoffmangel) entfällt (GIEFFERS et al., 2004; GOELLNER et al., 2006).

Alle diese Besonderheiten des Entwicklungszyklus von *Chlamydia psittaci* erschweren eine Therapie, weil Antibiotika im Allgemeinen auf das Vermehrungsstadium von Bakterien Einfluss nehmen und daher nur in der Phase der Retikularkörperchen gegen Chlamydien wirken. Auf der anderen Seite scheinen die Erreger bei einem Wirt mit intaktem Immunsystem oft eine latent persistierende Infektion „vorzuziehen“, wofür wiederum die hohe Prävalenz bei relativ seltenen Krankheitsausbrüchen spricht.

11.3 Diagnostik und Differenzialdiagnosen

Am sichersten und eindeutigsten ist die Diagnose beim Vorliegen klinischer Symptome in Verbindung mit einem Erregernachweis.

Mit den klassischen Methoden der Histologie und Zellkultur war eine Infektion mit *Chlamydia psittaci* lange Zeit jedoch nur schwer und aufwändig zu diagnostizieren. Eine Erregeranzüchtung im embryonierten Hühnerei mit anschließender Färbung war lange der Goldstandard, jedoch für eine schnelle Diagnose gänzlich ungeeignet. Generell ist der direkte Erregernachweis bei einer Chlamydieninfektion nur bedingt aussagekräftig, da auch ein negatives Ergebnis aufgrund der intermittierenden Erregerausscheidung keinesfalls eine Infektion ausschließt (ELDER und BROWN, 1999).

Auch die indirekte Diagnose durch den Nachweis von Antikörpern im peripheren Blut liefert bei fehlenden klinischen Symptomen nur unzureichende Auskunft über den aktuellen Status einer Infektion.

Seit der Einführung verschiedener molekularbiologischer Verfahren hat sich die Diagnostik jedoch erheblich verbessert, so dass nun innerhalb eines Tages ein eindeutiges Ergebnis vorliegen kann.

Neben den klassischen PCR-Verfahren, die sich auf den Nachweis einzelner Gene beschränken, wurden in den letzten zehn Jahren zunehmend komplexere Systeme entwickelt.

DNA-Mikroarray-Assays erlauben beispielsweise die simultane Analyse mehrerer tausend Einzelnachweise schon bei geringen Probenmengen und dienen der Bestimmung der mRNA-Menge spezifischer Gene. SACHSE et al. (2005) entwickelten einen Mikroarray-Assay zur Detektion und Differenzierung der verschiedenen *Chlamydia*-Spezies, der auch kommerziell erhältlich ist. Diese Methode eignet sich auch zum Nachweis von *Chlamydia psittaci* in klinischen Proben (BOREL et al., 2008).

Ein etwas anderes Prinzip liegt der sogenannten „Multi Locus Variable Number Tandem Repeat Analysis“ (MLVA) zugrunde. Sie beruht auf der Variabilität der „Variable Number Tandem Repeats“ (VNTR), repetitiver DNA-Sequenzen, die größere speziesspezifische Unterschiede aufweisen als die übrige DNA. Bei der MLVA werden die Längen mehrerer VNTRs bestimmt und miteinander verglichen (VERGNAUD und POURCEL, 2006).

LAROUCAU et al. (2008) etablierten diese Methode für die Diagnostik von *Chlamydia psittaci*. Die Methode eignet sich besonders gut für die Klärung der Verwandtschaftsverhältnisse der verschiedenen Genotypen und Serovare.

Durch die Möglichkeiten der molekularbiologischen Methoden sind heute also eine schnelle und sehr genaue Diagnose und damit auch eine umgehende Behandlung der aviären Chlamydiose möglich.

Sämtliche molekularbiologischen Methoden führen jedoch niemals zur Darstellung des gesamten Genoms und schon gar nicht zur Anzüchtung und Vermehrung der Chlamydien. Dies ist insbesondere dann ein erheblicher Mangel, wenn experimentelle Übertragungsversuche im Rahmen von Wirksamkeitsprüfungen neuer Impfstoffe erfolgen sollen. Um diesen fundamentalen Mangel

der molekularbiologischen Methoden zu umgehen, wird es auch zukünftig Bestrebungen zur Anzüchtung der Chlamydien geben müssen.

Differenzialdiagnostisch müssen vor allem bei einer chronischen Infektion, die oft mit sehr unspezifischen Symptomen einhergeht, verschiedene andere bakterielle Infektionen ausgeschlossen werden. Bei Puten ist dies vor allem die Pasteurellose, die klinisch ein sehr ähnliches Bild hervorrufen kann, aber auch die Colibazillose und aviäre Influenza A können symptomatisch leicht mit der aviären Chlamydiose verwechselt werden (ANDERSEN und VANROMPAY, 2003, 2008).

Die Salmonellose und Riemerellose muss vor allem bei Enten und Gänsen durch Anzüchtung und Differenzierung ausgeschlossen werden, da hier sowohl im Bezug auf den klinischen Verlauf als auf im Hinblick auf die pathologisch-anatomischen Veränderungen große Ähnlichkeiten bestehen (KÖHLER, 1992; MATTHES, 1992).

11.4 Therapie

Eine wirksame Therapie mit Antibiotika ist nur im Stadium der *de novo*-Synthese der Retikularkörperchen erfolgreich möglich, da nur sie metabolische Aktivität zeigen und damit für Pharmaka angreifbar sind (MAGNINO et al., 2008). Während die klassischen Antibiotika aus der Gruppe der Tetracykline durch Hemmung der Proteinsynthese bakteriostatisch wirken (ANDERSEN et al., 1997), also nur eine Vermehrung unterbinden, haben Chinolone durch Hemmung der Gyrase und damit der DNA-Replikation eine bakterizide Wirkung (SMITH, 1986). Besonders Chinolone zeigen bereits in geringen Konzentrationen eine sehr gute Wirksamkeit gegen *Chlamydia psittaci* und können leicht über das Trinkwasser verabreicht werden (FAILING et al., 2006; THEIS, 2007; KINNDLE, 2007).

Allerdings kann es durch unzureichende Wirkstoffspiegel der eingesetzten Antiinfektiva zu einer persistierenden Form der aviären Chlamydiose kommen. Als Ursache für die Unterdosierung sind zum einen Diagnose- und Therapiefehler zu nennen, wenn die Chlamydiose nicht als solche erkannt und daher falsch behandelt wird, zum anderen gestaltet sich die Applikation der Medika-

mente aufgrund des stark divergierenden Nahrungsspektrums und der variierenden Wasseraufnahme der verschiedenen Arten teilweise schwierig (PFISTERER, 2000; KUMMERFELD und RYLL, 2010).

Die Psittakose-Verordnung, die bis zum Juli 2012 in Kraft war, schrieb eine Zwangsbehandlung infizierter Vögel mit einem „wirksamen Mittel“ vor und nannte als solche Chlortretrazyklin, Doxyzyklin und Enrofloxacin. Mit der Aufhebung der Anzeigepflicht für die Psittakose und der Aufhebung der Psittakose-Verordnung entfällt auch die Verpflichtung einer Zwangsbehandlung infizierter Vögel. Dies ist aus vielfältigen Gründen, insbesondere wegen der unerwünschten Nebenwirkungen (Mykosen der Atmungsorgane, Verweigerung der Futteraufnahme) einer Langzeittherapie sehr zu begrüßen.

Zum einen erscheint es wenig sinnvoll, importierte und auch klinisch unauffällige Psittaziden mit Antibiotika zu behandeln, wenn in einem Bestand die Diagnose Psittakose gestellt wurde. Bei einer persistierenden Infektion findet keine Teilung der Retikularkörperchen statt, so dass sich die pharmakologische Wirkung gar nicht entfalten kann. Andererseits fördert die „wirkungslose“ Gabe von Antibiotika die Resistenzbildung der Bakterien.

Chlamydien verfügen über eine natürliche Resistenz gegenüber verschiedenen Aminoglykosiden und Sulfonamiden sowie alle Antimykotika. Viele Resistenzen sind auf rRNA-Genen lokalisiert und die Menge an rRNA-Operon-Kopien im Genom beeinflusst die Frequenz spontaner Resistenzen gegenüber ribosomalen Antibiotika. Da *Chlamydia psittaci* nur ein rRNA-Operon besitzt, ist die Wahrscheinlichkeit einer Resistenzbildung durch rRNA-Mutationen relativ hoch (BINET und MAURELLI, 2005).

Um auch weiterhin eine hohe Wirksamkeit der vorhandenen Antibiotika zu gewährleisten, sollte daher nur bei klinischer Symptomatik, die stets mit einer Chlamydienvermehrung einhergeht, eine korrekt dosierte Behandlung durchgeführt werden. Dabei ist es wichtig, auf eine ausreichende Wirkstoffkonzentration und Wirkdauer des Antibiotikums im Tier zu achten und den Vermehrungszyklus der Chlamydien sowie die intermittierende Ausscheidung bei der Therapie zu berücksichtigen (GIEFFERS et al., 2004; BINET und MAURELLI, 2005).

Folglich ist demnach festzuhalten, dass der in der Vergangenheit im Rahmen der Psittakose-Verordnung geforderte Anspruch an eine „wirksame Behand-

lung“ mit dem Ziel einer langfristigen „Freiheit“ der Bestände von *Chlamydia psittaci* aufgrund der Biologie des Erregers nicht erfüllt werden kann. Bereits KALETA et al. (1998) kritisierten, dass auch nach unter klinischen Gesichtspunkten erfolgreicher Therapie eine tatsächliche Erregerelimination nicht bewiesen werden kann. So werden auch mit hoher Wahrscheinlichkeit nach Abschluss einer Bestandsbehandlung nach strikt durchgeführter amtlicher Bekämpfung bei den Kontrolluntersuchungen erneut positive Tiere auftreten (KALETA et al., 1998). Dies ist zum Teil auch den zunehmend sensibleren Nachweismethoden geschuldet, da beispielsweise nach erfolgreicher Therapie in der PCR Erreger-DNA aus abgestoßenen Zellen nachgewiesen werden kann, obwohl keine lebenden Bakterien mehr vorhanden sind.

11.5 Prophylaxe

In Anbetracht der weiten Verbreitung von *Chlamydia psittaci* in der Vogelwelt und der relativ dazu seltenen Krankheitsausbrüche kann die aviäre Chlamydiose schon fast als opportunistische Infektion gesehen werden. Für die Entstehung schwerer Krankheitsverläufe sind, insbesondere bei den Psittaziden, in der Regel andere zusätzliche begünstigende Faktoren nötig, die zu einem Ungleichgewicht zwischen Wirtsimmunität und Erregerdominanz führen.

Zu den wichtigsten prophylaktischen Maßnahmen gehören daher optimale Haltungs- und Ernährungsbedingungen, eine stressfreie Umgebung und ein gutes Hygienemanagement.

Die Volieren sollten regelmäßig gereinigt und desinfiziert werden, da Chlamydien mit den Fäzes ausgeschieden werden und es bei Unterlassen zu einer Akkumulation der Erreger kommen kann. Bei Haltungen mit wechselnden Tiergruppen sollte ein striktes Rein-Raus-Verfahren eingehalten werden. Artgerechte Ernährung und Haltungsbedingungen fördern die Gesundheit und das Wohlergehen der Vögel. Unter diesen Umständen verfügen die Tiere über ein gutes Immunsystem, das eine latent persistierende Infektion kontrollieren kann.

Ein regelmäßiges Erreger- und Antikörperscreening innerhalb eines Bestandes gibt Aufschluss über die aktuelle Prävalenz. Durch diese Untersuchungen

als positiv erkannte Vögel sollten separiert und von der Zucht ausgeschlossen werden.

Neu zugekaufte Tiere sollten zunächst in Quarantäne gehalten werden. Zum einen sollten Untersuchungen auf das Vorliegen einer aviären Chlamydiose oder das Vorhandensein von Antikörpern gegen *Chlamydia psittaci* durchgeführt werden. Zum anderen bedeuten Veränderungen der Umwelt und des sozialen Gefüges in einer Gruppe sowohl für den „Neuling“ als auch für den bisherigen Bestand Stress, der das Aufflammen einer latenten Infektion begünstigen kann.

Eine regelmäßige prophylaktische Behandlung mit Antibiotika erscheint auch unter dem Aspekt einer möglichen Resistenzbildung nicht sinnvoll und sollte unterlassen werden. Dadurch werden außerdem Pilzinfektionen, insbesondere die Aspergillose, gefördert, was wiederum zu einer Schwächung des Immunsystems und damit zu neuen Infektionen, also einem Circulus vitiosus führt.

11.6 Vakzination

Die Vakzination gestaltet sich aufgrund der besonderen Biologie von *Chlamydia psittaci* relativ schwierig. Bis heute gibt es keinen voll wirksamen Impfstoff und auch nach einer überstandenen Infektion ist der Schutz durch die gebildeten humoralen und zellulären Antikörper nur kurzzeitig gegeben (HAHN et al., 2008). In Beständen, in denen Chlamydien endemisch sind, werden Jungvögel in den ersten Wochen durch vertikal übertragene maternale Antikörper vor einer klinisch manifesten aviären Chlamydiose geschützt. Mit absinkendem Antikörperspiegel in der 3. bis 4. Lebenswoche steigt jedoch das Risiko einer akuten Infektion.

Impfversuche mit attenuierten Lebendvakzinen, verschiedenen Vektoren oder Subunit-Vakzinen brachten bisher nur mäßige Erfolge (HÉCHARD et al., 2004). Seit Beginn der 90-er Jahre wurde dann mit DNA-Vakzinen experimentiert. Diese veranlassen durch den Transfer eines bakteriellen Plasmids in die Wirtszelle letztere dazu, ein spezifisches Fremdprotein zu produzieren, das wiederum die Entstehung einer zytotoxischen T-Lymphozytenantwort induziert (HÉCHARD et al., 2004). Auf diese Weise wird eine sehr spezifische humorale und zelluläre Immunantwort initiiert, die jedoch auch das Risiko birgt, dass es

bei wiederholten Injektionen zu einer immunologischen Toleranz oder sogar zu einer Autoimmunreaktion kommt (MOR et al., 1996; MOR et al., 1997).

Studien mit MOMP-basierten DNA-Vakzinen von VANROMPAY et al. (1999, 2001) führten bei Puten zwar zur Bildung einer Immunität sowie zu einer deutlichen Verringerung der Empfänglichkeit und der klinischen Symptome, boten aber keinen vollständigen Schutz. Durch Zugabe von Adjuvanzen (CHENG et al., 2007) und Optimierung der Aminosäurekodierung (VERMINNEN et al., 2010) konnte die Effektivität der DNA-Vakzine deutlich gesteigert werden.

Da bei Psittaziden kaum ein wirtschaftliches Interesse besteht und die klassische Psittakose überwiegend chronisch oder latent verläuft und auch aufgrund der guten Therapierbarkeit nur in wenigen Fällen fatale Krankheitsverläufe verursacht, gibt es kaum Untersuchungen zur Vakzination von Papageien. HARKINEZHAD et al. (2009) immunisierten Wellensittiche mit einer MOMP-DNA-Vakzine und stellten eine deutliche Verringerung der klinischen sowie pathologisch-anatomischen Veränderungen und eine reduzierte Erregerausscheidung fest. Des Weiteren konnten die Autoren zeigen, dass die Vakzine keinen inhibitorischen Einfluss auf die Serokonversion nimmt, so dass mit einer Impfung im frühen Lebensalter die immunologische Lücke geschlossen werden könnte, die zwischen der physiologischen Elimination der maternalen Antikörper und dem Aufbau einer eigenen Immunität bei Jungvögeln entsteht.

Da die DNA-Vakzine relativ einfach und kostengünstig herzustellen und zu lagern ist und leicht intramuskulär appliziert werden kann, stellt sie im Bereich der Nutzgeflügelhaltung grundsätzlich eine gute Möglichkeit der Prophylaxe dar. Auch wenn eine Infektion mit *Chlamydia psittaci* dadurch nicht verhindert werden kann, verläuft die Krankheit deutlich milder und hohe Verlusten können vermieden werden. Allerdings ersetzt dies nicht eine artgerechte Haltung und vor allem ein gutes Hygienemanagement, um Stress und damit eine Schwächung des Immunsystems der Vögel zu vermeiden. Da aber auch durch die Impfung kein absoluter Schutz vor einer Infektion gegeben ist und die Chlamydien durch die gebildeten Antikörper nicht vollständig eliminiert werden, eignet sich die Vakzination nicht zur Eindämmung der Verbreitung des Erregers.

Bei Puten und anderen Arten des Hausgeflügels sollte der Fokus bei der Eliminierung der Chlamydien liegen. Der Beginn solcher Erregereliminierung hat bei den Zuchttieren zu beginnen. Der relativ kurze Generationswechsel begünstigt die Erfolgsaussichten einer Eliminierung beim Hausgeflügel.

Im Bereich der privaten Psittazidenhaltung erscheint eine Vakzination wenig sinnvoll, weil unnötig. Bei einem intakten Immunsystem des Vogels, artgerechten Haltungsbedingungen und guter Hygiene entstehen selten klinisch manifeste Krankheitsformen. Kommt es dennoch zu einem akuten Verlauf, kann dieser im Regelfall erfolgreich mit Antibiotika bekämpft werden. Hier sind die Aufklärung der Besitzer über die Problematik und die Sensibilisierung für eine artgerechte Haltung von größerer Bedeutung für die Beherrschung der aviären Chlamydiose. Nehmen Infektionen der Menschen ihren Ausgangspunkt von Psittaziden, so ist auch in solchen Situationen einer Therapie mit wirksamen Antiinfektiva der Vorzug zu geben.

Problematisch gestaltet sich jedoch die Applikation des Impfstoffes. Die bestehenden DNA-Vakzinen können intramuskulär, aber auch intranasal oder oral verabreicht werden. Eine intramuskuläre Injektion oder intranasale Gabe kommt eigentlich nur für handzahme Tiere aus kleineren oder privaten Haltungen in Frage. Schon bei größeren Beständen sind diese Formen der Applikation aufgrund des hohen Zeit- und Managementaufwandes und der dabei unvermeidlichen Beunruhigung der Vögel schwierig und kaum effizient durchführbar.

Bei der großflächigen Immunisierung gegen die klassische Tollwut hat sich die orale Impfung mittels Impfköder als praktikabelste Methode erwiesen. Dies ist jedoch bei Vögeln aufgrund der Vielzahl an Arten und Nahrungsspezialisierungen nicht umsetzbar, so dass eine flächendeckende Immunisierung von Wildvögeln in dieser Form nicht möglich ist.

Die Entschlüsselung der kompletten Genomsequenz von *Chlamydia psittaci* ermöglicht seit kurzem neue Einblicke in die Pathogenitätsmechanismen des Erregers und eröffnet vielleicht weitere Ansätze und Möglichkeiten für eine erfolgreiche Vakzination (SETH-SMITH et al., 2010; VOIGT et al., 2011; VOIGT et al., 2012; DEAN, 2012).

11.7 Staatliche Bekämpfung

Ziel und Zweck der Einführung staatlicher Bekämpfungsmaßnahmen war die Eindämmung und letztlich Ausrottung der Psittakose, wie es später für die klassische Tollwut erfolgreich durchgeführt werden konnte. Doch dieses Ziel ist unter Berücksichtigung der biologischen Eigenschaften von *Chlamydia psittaci* und den Charakteristika der Infektion nicht erreichbar. Zu den Problemen einer tierseuchenrechtlichen Beurteilung des Gefahrenpotentials gehören einerseits die große biologische Vielfalt der Psittaziden (mehr als 350 Spezies) und deren weltweite Verbreitung in den unterschiedlichsten Klimazonen, andererseits aber auch die Tatsache, dass Papageien schon lange nicht mehr das Hauptreservoir der Chlamydien darstellen, sondern ebenso viele Wildvögel, Tauben und Nutzgeflügel wie Hühner, Puten oder Enten (KALETA und TADAY, 2003; KUMMERFELD und RYLL, 2010). In einer Studie zur Prävalenz von *Chlamydia psittaci* in der Vogelpopulation aus dem Jahr 1998 zeigte GERBERMANN, dass nur 9,8 % der untersuchten Psittaziden den Erreger ausschieden, dagegen bei Meisen 54 % und bei Puten sogar bis 76 % Ausscheider zu finden waren (GERBERMANN, 1998; KUMMERFELD, 2010).

Die Vermutung, dass *Chlamydia psittaci* inzwischen zur „normalen“ Keimflora der meisten Vögel gehört wird durch die Tatsache gestützt, dass die Zahl der angezeigten Psittakosen in den letzten Jahren stetig gesunken ist, obwohl sich an den staatlichen Bekämpfungsmaßnahmen nichts geändert hat.

Unter anderem ist ein Grund für den Rückgang der Infektion auch in der Abnahme der Haltungen von Psittaziden sowie dem Importverbot für viele Vogelarten zu suchen (KUMMERFELD, 2010). Letzteres liegt zum einen daran, dass der internationale Handel mit Vögeln im Rahmen der Vogelgrippeproblematik stark reglementiert wurde, zum anderen aber auch daran, dass immer mehr Vogelarten vom Aussterben bedroht sind und der Import von gefangenen Wildvögeln aus Drittländern daher verboten ist. Daher stammt inzwischen der überwiegende Teil der Psittaziden in Deutschland aus Nachzuchten, so dass die Neueinschleppung der Erreger über Importtiere deutlich reduziert ist. Dies ist neben dem Aspekt des Tier- und Artenschutzes auch noch in anderer Hinsicht zu begrüßen. Für importierte Vögel gilt eine 30-tägige Quarantänezeit (Binnenmarkt-Tierseuchenschutzverordnung, § 35), die aufgrund der oft suboptimalen Haltungsbedingungen in Quarantäneeinrichtungen mit einem enor-

men Stress für die Tiere verbunden ist. Dies führt zu einer Schwächung des Immunsystems in deren Folge sich latente Infektionen mit *Chlamydia psittaci* zu einer akuten Chlamydiose entwickeln können (MÜSSEMEIER, 1957; SCHIEL, 1982). In Nachzuchtbeständen ist dagegen durch serologische Kontrolle und gezielte Therapie, Zucht und im schlimmsten Fall Ausmerzungen eine bessere Kontrolle des Infektionsgeschehens gegeben.

11.8 Tollwut – ein Beispiel einer erfolgreichen Tierseuchenbekämpfung?

Als erfolgreiche „Ausrottung“ einer Tierseuche durch gezielte staatliche Bekämpfungsmaßnahmen wird oft die Tollwut angeführt. Dennoch kann selbst hier nur von einem Teilerfolg gesprochen werden, da zwar die klassische Tollwut weitgehend zurückgedrängt werden konnte, die Fledermaustollwut jedoch nach wie vor präsent ist und immer wieder auch zu Infektionen anderer Tiere und des Menschen führt. An diesem Beispiel wird deutlich, wie viele Faktoren den Erfolg der Tierseuchenbekämpfung beeinflussen können. Die klassische Tollwut ist im Allgemeinen auf bestimmte Endemiegebiete begrenzt, innerhalb derer infizierte Tiere, vor allem Füchse, leben. Des Weiteren existiert ein hochwirksamer Impfstoff, der leicht in Form einer oralen Impfung verabreicht werden kann, da die zu immunisierenden Tiere ein vergleichbares Nahrungsspektrum besitzen. Auf diese Weise war es durch das gezielte und großflächige Ausbringen von Impfködern möglich, einen Großteil der Füchse zu immunisieren und so Infektionsherde in der Wildtierpopulation einzudämmen und mit der Zeit quasi zu eliminieren.

Anders stellt sich die Problematik bei der Fledermaustollwut dar. Gegen das EBVL-Virus existiert bis dato kein wirksamer Impfstoff, auch wenn Kreuzimmunitäten mit dem klassischen Impfvirus bekannt sind. Aufgrund der zurückgezogenen Lebensweise und des im Vergleich zum Fuchs gänzlich anderen Nahrungsspektrums der Fledermäuse gestaltet sich außerdem auf der einen Seite die Überwachung der Tiere schwierig, auf der anderen Seite kommt es durch die Vermischung verschiedener Tiergruppen beim Wechsel zwischen Winter- und Sommerquartier zu einem regelmäßigen Neueintrag des Virus.

Daher blieben die Maßnahmen zur Bekämpfung der Fledermaustollwut bislang weitgehend ohne Erfolg und der Status der Tollwutfreiheit kann sich für Deutschland nur auf die klassische Tollwut beziehen.

Hinsichtlich der Bekämpfung der aviären Chlamydiose lassen sich einige Parallelen zur Fledermaustollwut feststellen. Wie die Fledermäuse besetzen auch Vögel sehr große Lebensräume und viele Arten legen beim Wechsel vom Sommer- in ihr Winterquartier große Entfernungen zurück. Bei diesen „Reisen“ vermischen sich Tiere aus unterschiedlichen Regionen und übertragen so die Chlamydien auch auf gesunde, noch nicht infizierte Tiere. Hinzu kommt, dass die Vögel aufgrund der Strapazen des langen Fluges oft geschwächt und deshalb empfänglicher für Infektionen sind. Bei latent oder subakut infizierten Tieren kann es so durch die Schwächung des Immunsystems auch zu einer massiven Erregervermehrung und zum Entstehen einer klinisch manifesten Erkrankung kommen.

11.9 Aviäre Chlamydiose in Europa

Betrachtet man neben Deutschland die anderen Länder Europas, so spielt die Psittakose im Bezug auf staatliche Überwachung und Bekämpfung nur eine untergeordnete Rolle. Mit Ausnahme von Österreich und den Niederlanden besteht in keinem EU-Staat eine Anzeigepflicht. Infektionen mit *C. psittaci* sind überwiegend im Bereich des Nutzgeflügels wegen des wirtschaftlichen Schadens durch größere Krankheitsgeschehen und aufgrund des Zoonosepotentials von Bedeutung und werden aus diesem Grund im Rahmen des Zoonosemonitorings mit erfasst. Dagegen wird die Chlamydiose-Prävalenz bei Psittaziden in den meisten Ländern nicht registriert. PFISTERER (2000) schlug vor, die Zucht von und den Handel mit Psittaziden auf den Bereich der Europäischen Union zu beschränken (Importverbot aus Drittstaaten) und eine EU-weite Anzeigepflicht einzuführen, um eine Quarantäne bei Importen aus EU-Staaten zu umgehen. Aus heutiger Sicht erscheinen diese Maßnahmen nicht geeignet, um eine Eindämmung oder gar Eliminierung der aviären Chlamydiose zu erreichen. Die Übersichtskarten des OIE über die geographische Verteilung der aviären Chlamydiose zeigen jedoch, dass die Infektion

quasi weltweit, in Europa wie auch in Nordamerika, Russland und Australien, endemisch ist. Für Südamerika, Afrika und Asien existieren nur lückenhafte Informationen, da die OIE auf die Mitarbeit und Weitergabe von Daten durch die einzelnen Länder angewiesen ist. Es ist aber davon auszugehen, dass *Chlamydia psittaci* auch in diesen Ländern verbreitet ist. Ein Importverbot für Psittaziden aus Drittländern beschränkt daher maximal den Neueintrag von Erregern, nicht jedoch die endemische Infektion innerhalb der EU. Die Forderung nach einer EU-weiten Anzeigepflicht ist mit dem Wegfall der Anzeigepflicht für die Psittakose in Deutschland hinfällig.

Dass die Chlamydiose trotzdem von weltweitem Interesse ist, zeigt auch das COST Action Projekt 855, an dem sich über 100 Wissenschaftler aus insgesamt 24 Ländern über vier Jahre (2003 - 2007) mit der Epidemiologie und der Verbreitung verschiedener Chlamydien (*C. psittaci*, *C. abortus*, *C. pneumoniae*) in Europa beschäftigt haben. Dieses Projekt hat wesentlich dazu beigetragen, die Diagnostik voranzutreiben, das Verständnis für die Epidemiologie des Erregers zu verbessern und ein internationales Netzwerk von Forschern zu etablieren, das einen permanenten Erfahrungs- und Erkenntnisaustausch ermöglichte. In diesem Sinne hat sich auch das bei der EFSA etablierte Projekt mit dem Thema internationaler Tierverkehr und Ausbreitung von Seuchenerregern bewährt.

12 Fazit

Es lässt sich sagen, dass die aviäre Chlamydiose eine weitverbreitete Tierseuche ist, die aufgrund ihres zoonotischen Potentials und des möglichen wirtschaftlichen Schadens bei klinischen Manifestationen in Hausgeflügelbeständen von gewisser Bedeutung ist. Durch den internationalen Handel kann sich der Erreger ohne entsprechende Überwachung und Präventionsmaßnahmen weltweit verbreiten. In der Wildtierpopulation scheint *Chlamydia psittaci* endemisch zu sein, führt jedoch primär bei jungen oder geschwächten Vögeln zu klinisch manifesten Erkrankungen. Die Chlamydiose der Psittaziden, die Psittakose, tritt nur vereinzelt auf und wird aufgrund vielfach unvollständiger Diagnostik oft nicht als solche erkannt.

Durch die modernen diagnostischen Möglichkeiten, wie verschiedenen PCR- und Micro-Array-Techniken, und die gute Therapierbarkeit mit Antibiotika hat *Chlamydia psittaci* heutzutage ihren früheren Schrecken verloren. Diesem Umstand und der Tatsache, dass aufgrund der Biologie des Erregers eine vollständige Elimination nicht zu erreichen scheint, ist die langjährige Forderung vieler Wissenschaftler nach Abschaffung der Anzeigepflicht für die Psittakose und Aufhebung der Unterscheidung von Psittakose und Ornithose geschuldet. Diese Forderung ist mit der „Verordnung zur Änderung der Verordnung über anzeigepflichtige Tierseuchen und der Verordnung über meldepflichtige Tierkrankheiten (TierSeuchAnzVuaÄndV)“ weitgehend erfüllt worden, indem die Anzeigepflicht für Psittakose auf eine Meldepflicht reduziert wurde. In der aktualisierten „Verordnung über meldepflichtige Tierkrankheiten“ vom 19. Juli 2011 wird des Weiteren nicht mehr zwischen Psittakose und Ornithose unterschieden, sondern der Begriff „Chlamydiose“ eingeführt.

Mit der Aufhebung der Anzeigepflicht entfallen auch die Maßnahmen zur Bekämpfung, wie antibiotische Zwangsbehandlung klinisch unauffälliger Tiere oder sogar eine Euthanasie, was im Sinne des Tierschutzes sehr zu begrüßen ist. Des Weiteren entfallen hohe Kosten für Material- und Personalaufwand bei großflächigen Sperrungen betroffener Betriebe.

Da Deutschland in Europa das einzige Land war, das eine derart strikte Bekämpfungsstrategie im Bezug auf die Psittakose verfolgte, ist die Lockerung der Rechtslage nur folgerichtig. Aufgrund der ubiquitären Präsenz von *Chlamydia psittaci* in der Vogelpopulation, der Biologie des Erregers, den sel-

Fazit

tenen schweren Verlaufsformen der Erkrankung und der guten Therapierbarkeit ist eine restriktive Bekämpfung der aviären Chlamydiose aus fachlicher Sicht weder notwendig noch zielführend.

Eine „Freiheit“ von der Chlamydiose, wie es für die klassische Tollwut gelungen ist, ist weder zu erreichen noch notwendig, da das zoonotische Potential des Erregers als gering einzustufen ist und auf einen engen Personenkreis begrenzt ist. Durch die zukünftige Entwicklung wirksamer Vakzinen für Hausgeflügel können größere wirtschaftliche Schäden durch massive Seuchenausbrüche weitgehend vermieden werden, während Infektionen von Psittaziden im Allgemeinen kleinere Haltungen betreffen und daher gut therapierbar sind, solange noch kein spezifischer Impfstoff erhältlich ist.

Die Aufhebung der Anzeigepflicht für Psittakose und die Vereinfachung der Begrifflichkeiten waren wichtige Schritte im Sinne der rechtlichen Regelungssystematik und Gesetzestechnik, des Tierschutzes, der Wirtschaftlichkeit und der internationalen Zusammenarbeit (BÄTZA, 2013).

13 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit werden die Geschichte der Entdeckung von *Chlamydia psittaci*, die Infektion und die von diesem Erreger ausgelösten Krankheitsformen bei Vögeln (Aves), die Häufigkeit und die Wege der Übertragung auf den Menschen sowie verschiedene Möglichkeiten der Diagnose und Bekämpfung vom Beginn der Erforschung vor etwa 130 Jahren bis zur Gegenwart beschrieben und analysiert.

Die aviäre Chlamydiose gehörte noch bis Mitte des 20. Jahrhunderts zu den gefürchteten Tierseuchen, die immer wieder beim Vogel und auch beim Menschen zu schweren Erkrankungen und Todesfällen führte. Da als Quelle und Überträger des Infektionserregers *Chlamydia psittaci* zunächst alleinig Papageien vermutet wurden, entstand 1893 in der wissenschaftlichen Literatur der Begriff „Psittakose“. Mit der Erkenntnis, dass auch andere Vogelarten als Ausgangspunkt und Überträger auftreten, entstand zusätzlich die Bezeichnung „Ornithose“, die jedoch sowohl bei Vögeln als auch beim Menschen als deutlich harmloser eingestuft wurde. Zur Bekämpfung beider Erreger führten die Behörden der Vereinigten Staaten von Amerika sowie Deutschlands Mitte der 1930-er Jahre schließlich ein erstes Gesetz zur Bekämpfung der Papageienkrankheit ein. Die wichtigsten Maßgaben darin waren eine vollständige Importsperrung sowie eine breit angelegte Tötung aller Papageien.

1970 erließ Deutschland, unter Berücksichtigung neuester wissenschaftlicher Erkenntnisse, die „Verordnung zum Schutz gegen die Psittakose und Ornithose“. Darin wurden eine Anzeigepflicht für die Psittakose und eine Meldepflicht für die Ornithose mit entsprechenden Handlungsanweisungen bei einem Seuchenausbruch oder bei gegebenem Seuchenverdacht festgelegt.

In anderen europäischen Ländern bestand hingegen nie eine Anzeige- oder Meldepflicht.

Die Erregeridentifizierung gestaltete sich lange Zeit aufgrund der spezifischen Biologie der Chlamydien sehr schwierig. Die Übertragbarkeit des immer noch unbekanntes Erregers wurde erstmals durch BEDSON et al. (1930) bewiesen. Die Autoren verabreichten Papageienvögeln Filtrate des Darminhaltes toter Vögel und konnten so die Erkrankung reproduzieren. Des Weiteren trugen sie durch Studien an embryonierten Hühnereiern zur Aufklärung des einzigartigen Replikationszyklus der Chlamydien bei.

Zusammenfassung

In vivo konnten in Abstrichen und *post mortem* mittels Abklatschpräparaten mit verschiedenen Färbemethoden (Giemsa, MACCHIAVELLO, STAMP, GIMÉNEZ, Ziehl-Neelsen) intrazelluläre Einschlüsse erkannt und mit dem Krankheitsbild der Chlamydiose assoziiert werden. Die Einführung des Elektronenmikroskops ermöglichte es schließlich, den biphasischen Entwicklungszyklus aus metabolisch inaktiven, jedoch infektiösen Elementarkörperchen (EB), Intermediärkörperchen (IB) und teilungsfähigen Retikularkörperchen (RB) morphologisch zu erfassen und vollständig zu verstehen.

Zur Therapie erkrankter Vögel und Menschen wurden entsprechend der Möglichkeiten vor ca. 100 Jahren Präparate eingesetzt, deren Wirkung gering, deren Nebenwirkungen aber teilweise erheblich waren. Durch die Entwicklung der Tetrazykline Mitte des 20. Jahrhunderts und deren generelle Verfügbarkeit wurde schließlich sowohl für Menschen als auch Tiere eine wirksame Therapie der Chlamydiose möglich. Dadurch sank die Sterblichkeit der Menschen von ca. 30 % auf unter 1 %. Auch die Behandlung erkrankter Psittaziden und der Vögel anderer Arten erwies sich als sehr erfolgreich. Tetrazykline sind auch heute noch neben den Chinolonen die therapeutischen Mittel der Wahl. Allerdings können Tetrazykline und Chinolone nur dann wirksam sein, wenn sich die Chlamydien in der Vermehrungsphase befinden.

Bislang konnte kein wirksamer Impfstoff zur Verhütung der Chlamydiose beim Vogel und beim Menschen sowie zur Unterbindung der Erregerausscheidung entwickelt werden. Experimentelle Studien mit DNA-Vakzinen bieten bisher beim Hausgeflügel zumindest einen teilweisen aber nur kurzfristigen Schutz vor fatalen Verlaufsformen und verkürzen geringfügig die Phase der Erregerausscheidung. Weitere Studien sind daher nötig, um die Sicherheit und Wirksamkeit dieser Vakzinen zu verifizieren und zu verbessern.

Die Diagnostik klinisch manifester und subklinischer Verlaufsformen *in vivo* sowie *post mortem* war wegen des komplexen Entwicklungszyklus von *Chlamydia psittaci* sehr schwierig und aufwändig. Mit der Etablierung molekularbiologischer Methoden konnte die Erregeridentifizierung wesentlich erleichtert, präzisiert und beschleunigt werden. In den letzten Jahren wurden verschiedene PCR- und Microarray-Verfahren entwickelt, die eine sehr genaue Charakterisierung der Chlamydien ermöglichen. Aufgrund dieser fundamentalen Erkenntnisse wurde auch die Taxonomie der Chlamydien 2011 überarbei-

tet, so dass in der Familie Chlamydiaceae nur noch ein Genus *Chlamydia* mit sechs Serotypen und neun Genotypen vertreten ist.

Mit ihrer stringenten Bekämpfungsstrategie seit 1969 bildete die Bundesrepublik Deutschland in Europa eine Ausnahme. In den anderen EU-Mitgliedstaaten und in Nordamerika wird die Zahl der Chlamydiosen zwar registriert, es existiert aber im Allgemeinen keine Anzeige- oder Meldepflicht und auch staatlich geförderte und kontrollierte Bekämpfungsmaßnahmen finden nicht statt. Daher wurde die deutsche Psittakose-Verordnung, die im Seuchenfall auch eine Keulung der Tiere vorsieht, in Fachkreisen seit langem als zu weitgehend kritisiert.

Ziel der Bekämpfungsmaßnahmen der Chlamydiose bis 2011 war die Elimination aller Formen der aviären Chlamydiose durch Tötung oder Behandlung erkrankter Papageien. Allen Maßnahmen zum Trotz sind jedoch die Chlamydien bis heute in der Vogelpopulation weit verbreitet.

Am Beispiel der klassischen Tollwut wird vergleichend dargestellt, dass eine Eradikation des Tollwutvirus grundsätzlich möglich ist. Aber schon bei der Fledermaustollwut greifen die für die Wildtiertollwut etablierten Bekämpfungsstrategien nicht.

Der komplexe Entwicklungszyklus, die hohe Resistenz gegenüber Umwelteinflüssen und Desinfektionsmitteln, das breite Wirtsspektrum sowie das Vorkommen latenter Infektionen machen eine vollständige Tilgung der Chlamydien quasi unmöglich. Sinnvoller sind daher ein verbessertes Hygienemanagement, inklusive Quarantäne zugekaufter Vögel und fachgerechte Desinfektion kontaminierter Bereiche, regelmäßiges Monitoring des Erregers in größeren Vogelbeständen und vor allem eine geeignete Therapie erkrankter Vögel und Menschen mit „wirksamen“ Medikamenten wie Tetracyklinen oder Chinolonen.

Da heutzutage eine schnelle und zuverlässige Diagnose und erfolgreiche Therapie der aviären Chlamydiose den früheren Schrecken nahm, haben auch massive seuchenrechtliche Maßnahmen ihre Berechtigung verloren. Daher wurde folgerichtig im November 2011 die Anzeigepflicht für die Psittakose in eine Meldepflicht umgewandelt. Die Meldepflicht soll den Behörden Auskunft über Häufigkeit und Verlaufsformen der Chlamydiose der Vögel geben. Die Chlamydiose des Menschen unterliegt weiterhin der Meldepflicht gemäß den Anforderungen des Infektionsschutzgesetzes.

14 Summary

Avian chlamydiosis (psittacosis / ornithosis) – retrospective analysis of an epidemic disease with zoonotic implications from the first description to present times

This thesis reviews the history of the discovery of *Chlamydia psittaci*, the infections and diseases in birds, frequency and means of lateral spread to men, various approaches for diagnosis and control from the very beginning approximately 130 years ago to present times.

Up to the middle of the 20th century avian chlamydiosis was one of the most threatening infectious diseases of birds which repeatedly resulted in disease and death of exposed humans. In the beginning, parrots were identified as the only carriers and shedders of the pathogen *Chlamydia (C.) psittaci*. Consequently, in 1893 the term psittacosis was introduced in the scientific literature. After recognition of other avian species as carriers of *C. psittaci* the additional term ornithosis was generated. Ornithosis was initially considered as less harmful for men and birds than psittacosis. In the middle of the 1930s authorities in the United States of America and Germany formed the first legal act to control the disease in parrots. Central means consisted of a complete ban of all imports and mass destruction of all parrots.

In 1970, a reconsideration of current knowledge resulted in the “regulation for the protection against psittacosis and ornithosis” which laid down requirements for the obligation of notification of psittacosis and the legal requirements of ornithosis. Also, detailed instructions in the case of disease onset or the suspicion of disease were provided.

For a long time, the identification of the pathogen was difficult to achieve due to the inherent biological properties of chlamydia. The transmissibility of the still unknown agent was for the first time proven by BEDSON et al. (1930). These authors inoculated psittacine birds with filtrates of intestinal content derived from dead birds and were able to reproduce the disease. They contributed also to the clarification of the unique replication cycle during studies with embryonated chicken eggs. The understanding of the replication cycle of chlamydia was further promoted after the introduction of the electron microscope which resulted in the discovery of the biphasic replication consisting of

Summary

metabolic inactive but infectious elementary bodies (EB), intermediate bodies (IB) and replicating reticulate bodies (RB).

In the middle of the 20th century an effective therapy of chlamydiosis due to *Chlamydia psittaci* was possible for the first time after development, availability and market introduction of tetracyclines. Widespread application of this new drug resulted in reduction of morbidity and mortality rates to less than one percent. Currently, tetracyclines are still the drug of first choice for the therapy of men and birds. The drug therapy was later supplemented by highly effective chinolones.

So far, no protective vaccine was developed to safeguard the health of birds and men. However, DNA-based vaccines provide at least a certain degree of protection against fatal consequences of chlamydial infections in birds. Further studies are needed to improve safety and efficacy of these vaccines.

Clinical and post mortem diagnostics were hampered by the complicated and complex development cycle of *C. psittaci*. With the establishment of molecular biological methods, the identification of this pathogen became easier and faster. Especially in the last few years different PCR and microarray assay protocols were generated which allow an exact characterisation of all chlamydia. As a result of this contemporary work, the taxonomy of chlamydia was updated, so that the family of *Chlamydiaceae* consists now of a single genus *Chlamydia* with nine species.

The strict prevention and eradication policy that was established in the Federal Republic of Germany in 1969 was a unique exception in Europe. Other European member states register only the number of diagnosed chlamydial infections and demand neither reporting of cases nor *notification* and control measures. Also, prevention strategies are not supported in these other European states. The German legislation which may involve eradication of infected psittacine birds in case of an epidemic chlamydiosis has been severely criticized by several experts as going too far.

Until 2011 the aim of the German policy was the elimination of all forms of chlamydiosis in birds by destruction or by treatment of diseased parrots. In spite of these measures chlamydiosis continued to be present in parrots and other avian species. For formal comparison, it can be demonstrated for rabies in foxes, a complete eradication of lyssa is basically possible. In contrast, the

Summary

same prevention strategy failed to be successful in the fight against rabies of free living bats.

In conclusion, the eradication of *Chlamydia psittaci* appears to be not possible due to the complex development circle, its persistence in the environment, the broad avian host range and the existence of latent or persistent infections. Instead, improved biosecurity, including quarantine of newly acquired birds and proper disinfection of contaminated areas, monitoring of the agent in bird collections and above all appropriate treatment of diseased birds and men by “effective drugs”, such as tetracyclines and chinolones are recommended and practised.

Today, the possibility of a fast diagnostic and a successful therapy has taken away the fear of former times, so that the right to realize strong prevention strategies supported by the state has been lost, too. That is why the *obligation of disclosure* has been downgraded to a *notification requirement* in November 2011.

15 Anhang

Tabelle 19: Amtlich angezeigte Psittakosefälle von 1981-2011 (Neue Bundesländer ab 1991) (Quelle: BMEVL-Ref. 33 – D. Rönn – 24.03.2011)

obere Zeile: Absolute Zahl gemeldeter Fälle

untere Zeile: Relative Zahl gemeldeter Psittakosefälle in Relation zur Einwohnerzahl je Bundesland (Zahl pro 100.000 Einwohner)

Rot markiert sind jeweils die drei höchsten Werte eines Jahres

	Ges. Zahl	Baden-Würt.	Bayern	Berlin	Brandenburg	Bremen	Hamburg	Hess.	Meckl. Vorp.	Niedersachs.	NRW	Rhld-Pfalz	Saarland	Sachs.	Sachs. Anh.	SH	Thüringen
1981	460	69 0,64	97 0,77	14 0,4		5 0,76	15 0,84	65 1,07		51 0,64	113 0,63	13 0,32	5 0,49			13 0,46	
1982	421	40 0,37	68 0,54	23 0,66		3 0,45	14 0,78	93 1,53		29 0,37	123 0,69	14 0,35	3 0,29			11 0,39	
1983	375	60 0,56	57 0,45	32 0,92		1 0,15	11 0,62	66 1,09		34 0,42	91 0,51	13 0,32	4 0,39			6 0,21	
1984	338	56 0,52	48 0,38	15 0,43		0 0	8 0,45	49 0,81		33 0,42	91 0,51	24 0,6	1 0,1			13 0,46	
1985	451	91 0,85	96 0,77	10 0,29		5 0,76	7 0,39	45 0,74		44 0,56	112 0,63	31 0,77	0 0			10 0,35	
1986	438	60 0,56	43 0,34	18 0,52		7 1,06	12 0,67	62 1,02		25 0,32	143 0,8	53 1,32	1 0,1			14 0,49	
1987	411	63 0,59	72 0,57	18 0,52		2 0,3	3 0,17	64 1,05		28 0,35	107 0,6	42 1,05	2 0,2			10 0,35	
1988	367	63 0,59	114 0,91	8 0,23		6 0,91	0 0	37 0,61		18 0,23	85 0,48	16 0,4	8 0,79			12 0,42	

Anhang

1989	387	55	165	15		14	0	25		11	71	20	2			9
		0,51	1,32	0,43		2,12	0	0,41		0,14	0,4	0,5	0,2			0,32
1990	328	60	110	11		4	0	17		11	73	29	2			11
		0,56	0,88	0,32		0,61	0	0,28		0,14	0,41	0,72	0,2			0,39
1991	384	68	69	20	22	4	3	52	4	14	64	28	0	10	2	9
		0,63	0,55	0,58	0,88	0,61	0,17	0,86	0,24	0,18	0,36	0,7	0	0,24	0,09	0,32
1992	401	33	87	31	15	2	5	58	8	16	71	19	3	16	9	5
		0,31	0,69	0,9	0,6	0,3	0,28	0,96	0,49	0,2	0,4	0,47	0,29	0,39	0,39	0,18
1993	422	50	63	19	26	5	16	25	3	73	65	14	3	21	14	7
		0,46	0,5	0,55	1,04	0,76	0,9	0,41	0,18	0,92	0,36	0,35	0,29	0,51	0,6	0,25
1994	351	43	59	31	18	0	7	32	9	15	58	6	0	19	29	8
		0,4	0,47	0,9	0,72	0	0,39	0,53	0,55	0,19	0,32	0,15	0	0,46	1,24	0,28
1995	328	37	52	22	11	1	10	13	10	29	62	12	3	25	15	8
		0,34	0,41	0,64	0,44	0,15	0,56	0,21	0,61	0,37	0,35	0,3	0,29	0,6	0,64	0,28
1996	335	41	38	26	14	1	16	13	7	26	36	9	1	31	20	12
		0,38	0,3	0,75	0,56	0,15	0,9	0,21	0,43	0,33	0,2	0,22	0,1	0,75	0,86	0,42
1997	343	38	34	24	17	0	6	19	9	25	60	10	1	46	21	7
		0,35	0,27	0,69	0,68	0	0,36	0,31	0,55	0,32	0,34	0,25	0,1	1,11	0,9	0,25
1998	282	47	27	27	11	0	1	10	10	19	52	14	4	26	2	12
		0,44	0,22	0,78	0,44	0	0,06	0,16	0,61	0,24	0,29	0,35	0,39	0,63	0,09	0,42
1999	216	25	20	21	11	1	1	8	11	16	36	3	2	22	12	15
		0,23	0,16	0,61	0,44	0,15	0,06	0,13	0,67	0,2	0,2	0,07	0,2	0,53	0,51	0,42
2000	187	21	20	24	15	1	1	10	10	8	24	9	6	15	9	3
		0,2	0,16	0,69	0,6	0,15	0,06	0,16	0,61	0,1	0,13	0,22	0,59	0,36	0,39	0,11
2001	174	28	21	19	9	0	0	6	5	13	17	5	1	28	5	4
		0,26	0,17	0,55	0,36	0	0	0,1	0,3	0,16	0,1	0,12	0,1	0,67	0,21	0,14

Anhang

2002	144	15	25	18	14	1	0	3	4	9	17	9	2	9	8	5	5
		0,14	0,2	0,52	0,56	0,15	0	0,05	0,24	0,11	0,1	0,22	0,2	0,22	0,34	0,18	0,22
2003	184	31	27	15	7	0	0	12	3	23	22	5	2	7	12	7	11
		0,29	0,22	0,43	0,28	0	0	0,2	0,18	0,29	0,12	0,12	0,2	0,17	0,51	0,25	0,49
2004	162	25	21	5	5	0	0	13	1	17	32	8	1	6	10	12	6
		0,23	0,17	0,14	0,2	0	0	0,21	0,06	0,21	0,18	0,2	0,1	0,14	0,43	0,42	0,27
2005	139	10	16	7	7	0	0	8	1	8	34	9	3	8	8	15	5
		0,09	0,13	0,2	0,28	0	0	0,13	0,06	0,1	0,19	0,22	0,29	0,19	0,34	0,53	0,22
2006	83	2	11	1	2	0	0	5	2	6	24	7	1	3	8	5	6
		0,02	0,09	0,03	0,08	0	0	0,08	0,12	0,08	0,13	0,17	0,1	0,07	0,34	0,18	0,27
2007	154	15	10	9	7	0	0	13	7	11	35	12	0	15	5	15	0
		0,14	0,08	0,26	0,28	0	0	0,21	0,43	0,14	0,2	0,3	0	0,36	0,21	0,53	0
2008	134	19	15	10	5	0	1	10	3	14	24	10	1	6	4	11	1
		0,18	0,12	0,29	0,2	0	0,06	0,16	0,18	0,18	0,13	0,25	0	0,14	0,17	0,39	0,04
2009	150	28	21	3	2	0	4	7	3	25	21	6	1	14	3	4	8
		0,26	0,17	0,09	0,08	0	0,22	0,12	0,18	0,32	0,12	0,15	0	0,34	0,13	0,14	0,36
2010	77	9	8	2	3	0	1	4	0	9	30	4	2	1	0	1	3
		0,08	0,06	0,06	0,12	0	0,06	0,07	0	0,11	0,17	0,1	0,2	0,02	0	0,04	0,13
2011	52	14	5	1	2	0	1	0	2	4	13	0	4	0	3	2	1
		0,13	0,04	0,03	0,08	0	0,06	0	0,12	0,05	0,07	0	0,39	0	0,13	0,07	0,04

16 Literaturverzeichnis

- Adamy, G. (1930): Klinische Studien über Psittakose. Deutsches Archiv für Klinische Medizin **169**, 301-310.
- Alexander, J. J. (1968): Separation of protein synthesis in meningopneumonitis agent from that in L cells by differential susceptibility to cycloheximide. Journal of Bacteriology **95**, 327-332.
- Allan, I. and Pears, J. H. (1979): Modulation by centrifugation of cell susceptibility to chlamydial infection. Journal of General Microbiology **111**, 87-92.
- Altreuther, P., Boettner, A., Scheer, M., Schmid, P., Traeder, W. und Weiskopf, S. (1997): Anmerkungen zum Resistenzmonitoring in der Tiergesundheit. Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift **110**, 418-421.
- Andersen, A. A. (1991): Serotyping of *Chlamydia psittaci* isolates using serovar-specific monoclonal antibodies with the microimmunfluorescence test. Journal of Clinical Microbiology **29**, 707-711.
- Andersen, A. A. (1997): Two new serovars of *Chlamydia psittaci* from North American birds. Journal of Veterinary Diagnostic Investigations **9**, 159-164.
- Andersen A. A., Grimes J. E. and Wyrick P. B. (1997): Chlamydiosis (psittacosis, ornithosis). In: B. W. Calnek, H. J. Barnes, C. W. Beard, L. R. McDougald and Y. M. Saif (eds.). *Diseases of Poultry*, 10th edition. Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA, pp. 333-349.
- Andersen, A. A. and Vanrompay, D. (2003): Avian chlamydiosis (psittacosis, ornithosis). In: B. W. Calnek, H. J. Barnes, C. W. Beard, L. R. McDougald and Y. M. Saif (eds.). *Disease of Poultry*, 11th edition. Iowa State Press, Blackwell Publishing Company, pp. 863-895.
- Andersen, A. A. (2004): Avian chlamydiosis. In: OIE Biological Standards Commission (ed.). Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals (mammals, birds and bees). Office International des Epizooties, Paris, pp. 856-867.
- Andersen, A. A. and Vanrompay, D. (2008): Avian chlamydiosis (psittacosis, ornithosis). In: Y. M. Saif, A. M. Fadly, J. R. Glisson, L. R. McDougald, L. K. Nolan and D. E. Swayne (eds.). *Diseases of Poultry*, 12th edition. Blackwell Publishing Ltd., Oxford, UK, pp. 971-986.
- Anderson, D. C., Stoerz, P. A. and Kaufman, A. F. (1978): Psittacosis in employees of a turkey processing plant. American Journal of Epidemiology **107**, 140-148.
- Andrews, B. E., Major, R. and Palmer, S. R. (1981): Ornithosis in poultry workers. Lancet **318**, 632-634.

- Apostolov, K. (1980): The effects of iodine on the biological activities of myxoviruses. *Journal of Hygiene (London)* **84**, 381-388.
- Arens, M. und Weingarten (1981): Vergleichende Untersuchungen an Buffalo Green Monkey (BGM-)Zellen und Mäusen zur Isolierung von *Chlamydia psittaci* aus Kot und Organproben von Vögeln. *Zentralblatt für Veterinärmedizin B* **28**, 301-309.
- Armstrong, J. A., Valentine, R. C. and Fildes, C. (1963): Structure and replication of the trachoma agent in cell cultures, as shown by electron microscopy. *Journal of General Microbiology* **30**, 59-73.
- Bachem, X., Selter, Y. und Finkler, Z. (1910): Die von Zülpich im Sommer 1909 ausgehende Epidemie von Lungenerkrankungen und der heutige Stand der Psittakosefrage. *Presse Medicinale S.* 1094 u. *Klinisches Jahrbuch* **23**, 539.
- Bätza, H.-J. (1992): Anzeigepflichtige Tierseuchen. Auswertungs- und Informationsdienst für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten (AID) e. V. Bonn, **48**.
- Bätza, H.-J. (2013): Das neue Tiergesundheitsgesetz – welche Neuerungen ergeben sich? *Berichte des 84. Fachgesprächs über Geflügelkrankheiten*, Hannover, 2./3. Mai 2013, S. 12-15.
- Barett-Bee, K., Newbould, L. and Edwards, S. (1994): The membrane destabilizing action of the antibacterial agent chlorhexidine. *FEMS Microbiological Letter* **119**, 249-254.
- Barros, E. (1929): Epidemia de psittacosis. *Dia Médicinale*, **140**, 143 u. 152.
- Barros, E. (1929): La psittacosis en la republica Argentina. *Dia Médicinale*, **140**, 389 und 407.
- Bauer, A. W., Kirby, W. M. M., Sherris, J. C. and Turck, M. (1966): Antimicrobial susceptibility testing by a standardized single disc method. *American Journal of Clinical Pathology* **45**, 493-496.
- Baumgartner, R. und Isenbügel, E. (1998): Wellensittiche. In: K. Gabrisch & P. Zwart (Hrsg.). *Krankheiten der Heimtiere*. Hannover: Schlütersche & Co, S. 429-486.
- Beatty, W. L., Morrison, R. P. and Byrne, G. I. (1994): Persistent chlamydiae: from cell culture to a paradigm for chlamydial pathogenesis. *Microbiological Reviews* **58**, 686-699.
- Beeckmann, D. S. A. and Vanrompay, D. (2008): Zoonotic *Chlamydophila psittaci* infections from a clinical perspective. *Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **15**, 11-17.
- Bedson, S. P., Western, G. T. and Simpson, S. L., (1930): Observations on the etiology of psittacosis. *The Lancet* **216**, 235-236.

- Bedson, S. P. and Bland, J. O. W. (1932): A morphological study of psittacosis virus, with the description of a developmental cycle. *British Journal of Experimental Pathology* **13**, 461-466.
- Bedson, S. P., Durh, M. Sc. and Belf, D. Sc. (1937): Observations on complement fixation test in psittacosis. *The Lancet* **230**, 1477-1480.
- Bernard, C. (1856): *Leçon de physiologie expérimentale appliquée à la médecine, faites au collège de France*. ISSN 1866-4784.
- Bevan B. J., Cullen G. A. and Read, W. M. F. (1978): Isolation of *Chlamydia psittaci* from avian sources using growth in cell culture. *Avian Pathology* **7**, 203-211.
- Bichat, X. (1803): *Allgemeine Anatomie angewandt auf die Physiologie und Arzneywissenschaft*. Siegfried Lebrecht Crusius, Leipzig.
- Biendl, E. und Gerbermann, H. (1988): Latex-Test als serologische Schnellmethode zur Diagnose von aviären Chlamydieninfektionen. Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e.V.; VI. DVG-Tagung über Vogelkrankheiten, Schwerpunkt Tauben und Wassergeflügel, München 3. und 4. März 1988, S. 290-294.
- Binet, R. and Maurelli, A. T. (2005) : Frequency of spontaneous mutations that confer antibiotic resistance in *Chlamydia spp.* *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **49**, 2865-2873.
- Bland, J. O. W. and Canti, R. G. (1935): The growth and development of psittacosis virus in tissue cultures. *Journal of Pathology and Bacteriology* **40**, 231-241.
- Bönner, B. M. (2006): Isolation und Identifikation von *Chlamydophila psittaci* aus einem Pekingentenbestand. Veterinärmedizinische Dissertation, Gießen. Verlag DVG Service, ISBN 3-938026-75-8.
- Boerlin, P. and White, D. G. (2006): Antimicrobial resistance and its epidemiology. In: Giguère, S., Prescott, J. F., Baggot, J. D., Walker, R. D., Dowling, P. M. (Hrsg.). *Antimicrobial therapy in veterinary medicine*, 4. Auflage, Blackwell Publishing, Iowa, USA, p. 2745.
- Borel, N., Kempf, E., Hotzel, H., Schubert, E., Torgerson, P., Slickers, P., Ehricht, R., Tasara, T., Pospischi, A. and Sachse, K. (2008): Direct identification of *Chlamydiae* from clinical samples using a DNA microarray assay – a validation study. *Molecular and Cellular Probes* **22**, 55-64.
- Bracewell, C. D. and Bevan, B. J. (1986): Chlamydiosis in birds in Great Britain. 1. Serological reactions to *Chlamydia* in birds sampled between 1974 und 1983. *Journal of Hygiene (London)* **96**, 447-451.
- Branham, S. E. McCoy, G. W. and Armstrong, W. (1930): Bacillus psittacosis Nocard, 1893 – Failure to find it in the 1929-30 epidemic in the United States. *Public Health Reports*, Vol. **49**, No. 37, 2153-2160.

- Brühann, W. (1983): Das öffentliche Veterinärwesen. Paul Parey Verlag, Berlin und Hamburg.
- Bosch, S. (1999): Ornithologen und Ornithose – sind Vogelkontakte ein Gesundheitsrisiko? *Die Vogelwarte* **40**, 130-135.
- Burnet, F. M. and Rountree, P. M. (1935): Psittacosis in the developing egg. *Journal of Pathology and Bacteriology* **40**, 471-481.
- Busch, Dr. U. (2007): Real-time PCR. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit* **2**, 111–112. Birkhäuser Verlag, Basel.
- Bush, R. M. and Everett, K. D. E. (2001): Molecular evolution of the *Chlamydiaceae*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **51**, 203–220.
- Byrne, G. I., Lehmann, L. K. and Landry, G. J. (1986): Induction of tryptophan catabolism is the mechanism for gamma interferon-mediated inhibition of intracellular *Chlamydia psittaci* replication in T24 cells. *Infection and Immunity* **53**, 347-351.
- Chang, S. L. (1971): Modern concept of disinfection. *Journal of the Sanitary Engineering Division* **97**, 689-707.
- Cheng He, Shaowen Li, Li Yang, Guimei He and Wei Liu Baoam Yao (2007): Induction of a protective immune response against *Chlamydophila psittaci* in SPF chicken following vaccination with OMP-1 DNA and CpG oligonucleotides as an adjuvant. *Bulletin of the Veterinary Institute of Pulawy* **51**, 351-356.
- CLSI (2008): Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals; approved standard, third edition. Clinical and Laboratory Standards Institute. CLSI document M31-A3. Vol. **28** No. 8.
- Coles, A. C. (1930): Micro-organisms in psittacosis. *The Lancet* **218**, 1011-1012.
- Collier, L. H. (1990): Chlamydia. In: Wilson, G. S. and Miles, A. A. (eds.). *Topley and Wilson's Principles of Bacteriology, Virology and Immunity*. 8th edition. Published Edward Arnold, London, pp. 629-646.
- Costerton J. W., Poffenroth, L., Wilt, J. C. and Kordova, N. (1976): Ultrastructural studies of the nucleotids of the pleomorphic forms of *Chlamydia psittaci* 6BC: a comparison with bacteria. *Canadian Journal of Microbiology* **22**, 16-28.
- Cox, R. L., Kuo, C.-C., Graystone, T. and Campbell, L. A. (1988): Deoxyribonucleic acid relatedness of *Chlamydia* sp. strain TWAR to *Chlamydia trachomatis* and *Chlamydia psittaci*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **38**, 265-268.

- Czapiewski, E. (2010): Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration gegenüber antimikrobiellen Wirkstoffen mit dem Verfahren der Bouillon-Mikrodilution bei pathogenen Bakterien von Fischen und molekulare Charakterisierung von Resistenzgenen. Veterinärmedizinische Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover.
- Daniel, P. (2002): Deregulation von Zellzyklus und Apoptose als molekulare Grundlage der Therapieresistenz von Tumoren. Habilitationsschrift an der Medizinischen Fakultät Charité der Humboldt-Universität zu Berlin.
- David, H. (1931): Über Versuche mit dem Bact. psittacosis NOCARD bei Wellensittichen. Wiener Tierärztliche Monatsschrift **18**, 33-45.
- Dean, D. (2012): Genome sequencing and evolution of *Chlamydophila* and *Chlamydia* species of animal origin. International Plant and Animal Genome Conference. January 14-18, 2012. Abstract.
- DeGraves, F. J., Gao, D. and Kaltenboeck, B. (2003): High-sensitivity quantitative PCR platform. Biotechniques **34**, 106-110, 112-115.
- Di Francesco, A., Baldelli, R., Cevenini, R., Magnino, S., Pignanelli, S., Salvatore, D., Galuppi, R. and Donati, M. (2006): Seroprevalence to *Chlamydiae* in pigs in Italy. The Veterinary Record **159**, 849-850.
- Dickx, V., Geens, T., Deschuyffeleer, T., Tyberghien, L., Harkinezhad, T., Beckmann, D. S. A., Braeckmann, L. and Vanrompay, D. (2010): *Chlamydophila psittaci* zoonotic risk assessment in a chicken and turkey slaughterhouse. Journal of Clinical Microbiology **48**, 3244-3250.
- Dickx, V., Beeckmann, D. S. A., Dossche, L., Tavernier, P. and Vanrompay, D. (2010b): *Chlamydophila psittaci* in homing and feral pigeons and zoonotic transmission. Journal of Medical Microbiology **59**, 1348-1353.
- Dickx, V. and Vanrompay, D. (2011): Zoonotic transmission of *Chlamydophila psittaci* in a chicken and turkey hatchery. Journal of Medical Microbiology **60**, 775-779.
- Diehl, K.H. (1961): Untersuchungen über die Resistenz des Schafabortvirus. Veterinärmedizinische Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover.
- Dorrestein, G. M. und Kummerfeld, N. (1995): Singvögel. In K. Gabrisch & P. Zwart (Hrsg.). *Krankheiten der Heimtiere*. Hannover: Schlütersche Verlagsanstalt und Druckerei. S. 327-396
- Dovč, A., Dovč, P., Kese, D., Vlahović, Pavlak, M. and Zorman-Rijs, O. (2005): Long-term study of chlamydophilosis in Slovenia. Veterinary Research **29** (Supl.1), 23-36.
- Drees, N. (2012): Untersuchung auf antimikrobielle Resistenzen und Vorkommen von Extended-Spectrum-Beta-Lactamasen bei Shigatoxin-Gen tragenden *Escherichia coli*. Veterinärmedizinische Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München.

- Drysdale, M. J., Lentzen, G., Matassova, N., Murchie, A. I., Aboul-Ela and F., Afshar, M. (2002): RNA as a drug target. *Progress in Medical Chemistry* **39**, 73-119.
- Eb, F. and Orfila, J. (1982): Serotyping of *Chlamydia psittaci* by the immunfluorescence test: isolates of ovine origin. *Infection and Immunity* **37**, 1289-1291.
- Eberth, C. J. (1880): Zur Kenntnis der Mycosen bei Thieren. *Virchow's Archiv* **80**, 311-314.
- Ehrich, R., Slickers, P., Goellner, S., Hotzel, H. and Sachse, K. (2006): Optimized DNA microarray assay allows detection and genotyping of single PCR-amplifiable target copies. *Molecular and Cellular Probes* **20**, 60-63.
- Elder, J. and Brown, C. (1999): Review of techniques for the diagnosis of *Chlamydia psittaci* infection in psittacine birds. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigations* **11**, 539-541.
- Elkeles, G. und Barros, E. (1931): Die Psittakosis (Papageienkrankheit) mit besonderer Berücksichtigung der Pandemie des Jahres 1929/30. *Ergebnisse der Hygiene* **12**, 529.
- El-Moug, T., Rogers, D. T., Furr, J. R., El-Falaha, B. M. A. and Russell, A. D. (1985): Antiseptic-induced changes in the cell surface of a chlorhexidine-sensitive and a chlorhexidine-resistant strain of *Providencia stuartii*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **16**, 685-689.
- Enany, M. E., Mousa, H. A. and Salem, H. A. S. (2009): Investigations on the prevalence of chlamydiosis in turkey flocks in Egypt with special emphasis on immunopathological characterization of *Chlamydophila psittaci*. *Global Veterinaria* **3**, 424-428.
- Enright, M. C. and Spratt, B. G. (1998): A multilocus sequence typing scheme for *Streptococcus pneumoniae*: identification of clones associated with serious invasive disease. *Microbiology (Reading, England)* **144**, 3049-3060.
- Enright, M. C., Day, N. P., Davies, C. E., Peacock, S. J. and Spratt, B. G. (2000): Multilocus sequence typing for characterization of methicillin-resistant and methicillin-susceptible clones of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Microbiology* **38**, 1008-1015.
- Everett, K. D. and Hatch, T. P. (1995): Architecture of the cell envelope of *Chlamydia psittaci* 6BC. *Journal of Bacteriology* **177**, 877-882.
- Everett, K. D., Bush, R. M. and Andersen, A. A. (1999): 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. *International Journal of Systematic Bacteriology* **49**, 575-580.

- Everett, K. D., Hornung, L. H. and Andersen, A. A. (1999a): Rapid detection of the *Chlamydiaceae* and other families in the order *Chlamydiales*: three PCR tests. *Journal of Clinical Microbiology* **37**, 575-580.
- Everett, K. D. and Andersen, A. A. (1999b): Identification of nine species of the *Chlamydiaceae* using PCR-RFLP. *International Journal of Systematic Bacteriology* **49**, 803-813.
- Everett, K. D. (2000): *Chlamydia* and *Chlamydiales*: more than meets the eye. *Veterinary Microbiology* **75**, 109-126.
- Failing, K., Theis, H.-P. and Kaleta, E. F. (2006): Determination of the inhibitory concentration 50 % (IC₅₀) of four selected drugs (chlortetracycline, doxycycline, enrofloxacin and difloxacin) that reduce *in vitro* the multiplication of *Chlamydophila psittaci*. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift* **113**, 412-417.
- Failing, K., Kaleta, E. F., Kinndle, M. B. P. and Theis, H.-P. (2009): In vitro-investigation on the susceptibility of *Chlamydophila psittaci* against chlortetracycline, doxycycline, enrofloxacin, difloxacin, clarithromycin and erythromycin. *Tierärztliche Praxis Kleintiere* **37**, 334-341.
- Farmer, H., Chalmers, W. S. and Woolcock, P. R. (1982): *Chlamydia psittaci* isolated from the eyes of domestic ducks (*Anas platyrhynchos*) with conjunctivitis and rhinitis. *The Veterinary Record* **110**, 59.
- Fille, M., Hausdorfer, J., Dierich, M. P. und Miksits, K. (2009): In: Hahn, H., Schulz, T. F., Kaufmann, S. H. E., Suerbaum, S. (Hrsg.). *Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*, 6. Auflage. Springer Lehrbuch, Kap. 102, S. 737. ISBN 978-3-540-46362-7.
- Finkler, D. (1889): Ueber Streptococcen-Pneumonie. *Verhandlungen des 7. Kongress für Innere Medizin*, S. 411-413.
- Flammer, K., Whitt-Smith, D. and Papich, M. (2001): Plasma concentrations of doxycycline in selected psittacine birds when administered in water for potential treatment of *Chlamydophila psittaci* infection. *Journal of Avian Medicine and Surgery* **15**, 276-282.
- Forth, W., Henschler, D. und Rummel, W. (2001): *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*. Urban & Fischer Verlag.
- Freuling, C., Selhorst, T., Ross, S. und Müller, T. (2009): Tollwut in Deutschland – wie groß ist das Restrisiko? Präsentation des FLI.
- Freuling, C. M. (2009): Genetische Charakterisierung von Fledermaustollwutviren in Deutschland und Untersuchung zu ihrer spatiotemporalen Diversität. *Veterinärmedizinische Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover*.
- Fukushi, H. and Hirai, K. (1989): Genetic diversity of avian and mammalian *Chlamydia psittaci* strains and relation to host origin. *Journal of Bacteriology* **71**, 2850-2855.

- Fukushi, H. and Hirai, K. (1992): Proposal of *Chlamydia pecorum* sp. nov. for *Chlamydia* strains derived from ruminants. International Journal of Systematic Bacteriology **42**, 306-308.
- Gaydos, C. A., Fowler, C. L., Gill, V. J., Eiden, J. J. and Quinn, T. C. (1993): Detection of *Chlamydia pneumonia* by polymerase chain reaction-enzyme immunoassay in an immunocompromised population. Clinical Infectious Diseases **17**, 718-723.
- Gaydos, C. A., Roblin, P. M., Hammerschlag, M. R., Hyman, C. L., Eiden, J. J., Schachter, J. and Quinn, T. C. (1994): Diagnostic utility of PCR-enzyme immunoassay, culture, and serology for detection of *Chlamydia pneumoniae* in symptomatic and asymptomatic patients. Journal of Clinical Microbiology **32**, 903-905.
- Gebel, J., Werner, H.-P., Kirsch-Altena, A. and Bansemir, K. (2001): Standardmethoden der DGHM zur Prüfung und Bewertung chemischer Desinfektionsverfahren. mhp Verlag GmbH, Ostring 13, D-65205 Wiesbaden.
- Gebhard, J. (1997): Fledermäuse. Birkhäuser Verlag, Biel-Benken. ISBN 3-7643-5734-7.
- Geens, T., Desplanques, A., van Loock, M., Bönner, B. M., Kaleta, E. F., Magnino, S., Andersen, A. A., Everett, K. D. and Vanrompay, D. (2005): Sequencing of the *Chlamydophila psittaci ompA*-gene reveals a new genotype E/B, and the need for a rapid discriminatory genotyping method. Journal of Clinical Microbiology **43**, 2456-2461.
- Geens, T., Dewitte, A., Boon, N. and Vanrompay, D. (2005a): Development of a *Chlamydophila psittaci* species-specific and genotype-specific real-time PCR. Veterinary Research **36**, 787-797.
- Gerber, A., Thoma, R., Vretou, E., Psarrou, E., Kaiser, C., Doherr, M. G., Zimmermann, D. R., Polkinghorne, A., Pospischil, A. and Borel, N. (2007): Ovine enzootic abortion (OEA): a comparison of antibody responses in vaccinated and naturally-infected swiss sheep over a two year period. BMC Veterinary Research **3**, 24.
- Gerbermann, H. (1998): Psittakose – Probleme der Bekämpfung. DVG-Tagungsbericht "Tierseuchen", 18.-19. Juni 1998. Hannover, S. 143-157.
- Gerlach, H., (1993): The biology of *Chlamydia psittaci*. Chlamydiosis. 2. Seminar in Avian and Exotic Pet Medicine **2**, 154-156.
- Gerlach, H. (1994): Chlamydia. In: Richie, B. W., Harrison, G. J., Harrison, L. R. (eds.). Avian Medicine. Principles and Application. Florida: Wingers, pp. 966-984.

- Gieffers, J., Rupp, J., Gebert, A., Solbach, W. and Klinger, M. (2004): First-choice antibiotics at subinhibitory concentrations induce persistence of *Chlamydia pneumoniae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **48**, 1402-1405.
- Giemsa, G. (1904): Eine Vereinfachung und Vervollkommnung meiner Methylenazur-Methylenblau-Eosin-Färbemethode zur Erzielung der Romanowsky-Nochtschen Chromatinfärbung. *Centralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten, I. Abteilung, Originale* **37**, 308-311.
- Gillespie, J. H. and Timoney, J. F. (1988): Psittacosis and Ornithosis. In: *Hagan and Burner's diseases of domestic animals*, 8th Edition. Cornell University Press, pp. 357-367.
- Goellner, S., Schubert, E., Hotzel, H., Saluz, H. P. und Sachse, K. (2005): Molekulare Mechanismen beim Übergang von *Chlamydophila psittaci* in den persistenten Zustand. 3. Arbeitstagung des nationalen veterinärmedizinischen Referenzlabors für Psittakose „Chlamydieninfektionen der Nutztiere – Diagnostik, Pathogenese und zoonotische Aspekte“; 13. bis 14. Oktober 2005, Jena.
- Goellner, S., Schubert, E., Liebler-Tenorio, E., Hotzel, H., Saluz, H. P., Sachse, K. (2006): Transcriptional response patterns of *Chlamydophila psittaci* in different *in vitro* models of persistent infection. *Infection and Immunity* **74**, 4801-4808.
- Göpel, A. (1979): Voraussetzungen zur Verwendung nicht-homogenisierbarer Keimträger in der Desinfektionsmittelprüfung auf Viruzidie. *Veterinärmedizinische Dissertation*, Gießen.
- Gordon, F. B. and Quan, A. L. (1965): Isolation of the trachoma agent in cell culture. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* **118**, 354-359.
- Gottardi, W. (1991): Iodine and iodine compounds. In: S. S. Block (ed.). *Disinfection, sterilization, and preservation*, 4th edition. Lea & Febinger, Philadelphia, Pa. S. 152-166.
- Grayston, J. T., Wang, S. P., Kuo, C. C. and Campbell, L. A. (1989): Current knowledge on *Chlamydia pneumoniae*, strain TWAR, an important cause of pneumonia and other acute respiratory diseases. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **8**, 191-202.
- Grieb, G. (2010): Minutes of the closed meeting. *International Journal of Systematics and Evolutionary Microbiology* **60**, 2694-2695.
- Grieshaber, S. S., Swanson, J. A. and Hackstadt, T. (2002): Determination of the physical environment within the *Chlamydia trachomatis* inclusion ion-selective ratiometric probes. *Cellular Microbiology* **4**, 273-283.

- Griffiths, P. C., Plater, J. M., Horigan, M. W., Rose, M. P., Venables, C., Dawson, M. (1996): Serological diagnosis of ovine enzootic abortion by comparative inclusion immunofluorescence assay, recombinant lipopolysaccharide enzyme-linked immunosorbent assay, and complement fixation test. *Journal of Clinical Microbiology* **34**, 1512-1518.
- Grimes, J. E. (1986): *Chlamydia psittaci* latex agglutination antigen for rapid detection of antibody activity in avian sera: comparison with direct complement fixation and isolation results. *Avian Diseases* **30**, 60-66.
- Grimes, J. E. and Wyrick, P. B. (1991): Avian chlamydiosis (ornithosis). In: Calnek, B. W., Barnes, H. J., Beard, C. W., Ried, B. M., Yoder, W. M., Yoder Jr., H. W. (eds.). *Diseases of Poultry*, 9th edition. Iowa State University Press, Ames, Iowa. pp. 311-325.
- Grimshaw, T. W. and Moore, J. W. (1875): Phytogenic pneumonia. *Dublin Journal of Medical Science* **II**, 399-420.
- Gylstorff I. and Grimm, F. (1998): Chlamydiales. In: Gylstorff, I. and Grimm, F. (Hrsg.). *Vogelkrankheiten*, 2. Auflage, Ulmer Verlag, Stuttgart, S. 215-220.
- Haag-Wackernagel, D. and Moch, H. (2004): Health hazards posed by feral pigeons. *Journal of Infection* **48**, 307-313.
- Haagen, E. und Mauer, G. (1938): Über eine auf den Menschen übertragbare Viruskrankheit bei Sturmmöwen und ihre Beziehung zur Psittakose. *Centralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten, I. Abteilung, Originale* **143**, 81-88.
- Haagen, E. (1939): Die Papageienkrankheit (Psittacosis). In: Gildemeister, E., Haagen, E. und Waldemann, O. (1939): *Handbuch der Viruskrankheiten mit besonderer Berücksichtigung ihrer experimentellen Erforschung*. Gustav Fischer Verlag, Jena. Band 2, S. 1-24.
- Hafez, H. M. (2006): Psittakose / Ornithose. In: Kaleta, E. F. und Krautwald-Jungmanns, M.-E. (Hrsg.). *Kompendium der Ziervogelkrankheiten*, 3. Auflage. Vet.Kolleg, Schlütersche Verlagsgesellschaft, Hannover. S. 243-249.
- Hahn, H., Kaufmann, S. H. E. und Schulz, T. F. (2008): *Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*; 6. Auflage. Springer Medizin Verlag, S. 423-424.
- Harkinezhad, T., Verminnen, K., van Droogenbroeck, C. and Vanrompay, D. (2007): *Chlamydophila psittaci* Genotype E/B transmission from African grey parrots to humans. *Journal of Medical Microbiology* **56**, 1097-1100.
- Harkinezhad, T., Geens, T. and Vanrompay, D. (2008): *Chlamydophila psittaci* infections in birds: A review with emphasis on zoonotic consequences. *Veterinary Microbiology* **135**, 68-77.

- Harkinezhad, T., Schautteet, K. and Vanrompay, D. (2009): Protection of budgerigars (*Melopsittacus undulatus*) against *Chlamydophila psittaci* challenge by DNA vaccination. *Veterinary Research* **40**, 61-71.
- Hartley, J. C., Kaye, S., Stevenson, S., Bennett, J. and Ridgway, G. (2001): PCR detection and molecular identification of *Chlamydiaceae* species. *Journal of Clinical Microbiology* **39**, 3072-3079.
- Hécharde, C. and Grépinet, O. (2004): DNA vaccination against *Chlamydiaceae*: current status and perspectives. *Veterinary Research* **35**, 149-161.
- Hedberg, K., White, K. E., Fortang, J. C., Korlath, J. A., Friendshuh, K. A., Hedberg, C. W., MacDonald, K. L. and Osterholm, M. T. (1989): An outbreak of psittacosis in Minnesota turkey industry workers: implications for modes of transmission and control. *American Journal of Epidemiology* **130**, 569-577.
- Heddema, E. R., ter Sluis, S., Buys, J. A., Vandenbroucke-Grauls, C. M. J. E., van Wijnen, J. H. and Visser, C. E. (2006): Prevalence of *Chlamydophila psittaci* in fecal droppings from feral pigeons in Amsterdam, The Netherlands. *Applied and Environmental Microbiology* **72**, 4423-4425.
- Hegler, C. (1930): Psittakose (Klinische Erfahrungen beim Menschen). *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift* 1930, S. 677-681.
- Hellich, M. und Störiko, K. R. (1953): Die Deutsche Tierseuchengesetzgebung nebst Ausführungsbestimmungen, 2. Auflage. Paul Parey Verlag, Berlin und Hamburg. S. 480-481; 727-744.
- Higashi, N. (1965): Electron microscopic studies on the mode of reproduction of trachoma virus and psittacosis virus in cell cultures. *Experimental and Molecular Pathology* **4**, 24-39.
- Higuchi, M. D. L., Castelli, J. B., Aiello, V. D., Palomino, S., Reis, M. M., Sambiasi, N. V., Fukasawa, S., Bezerra, H. G. and Ramires, J. A. F. (2000): Great amount of *C. pneumoniae* in ruptured plaque vessel segments at autopsy. A comparative study with stable plaques. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia* **74**, 149-151.
- Hinton, D. G., Shipley, A., Galvin, J. W., Harkin, J. T. and Brunton, R. A. (1993): Chlamydiosis in workers at a duck farm and processing plant. *Australian Veterinary Journal* **70**, 174-176.
- Hinz, K.-H. (1992): Exudative Sepikämie. In: Heider, G. und Moreal, G. (Hrsg.). *Krankheiten des Wirtschaftsgeflügels*. Gustav Fischer Verlag, Jena Stuttgart. Band II, Spezieller Teil 2, 1. Auflage, S. 85-96.
- Hirsch, A. (1860-64): Handbuch der historisch-geographischen Pathologie. 2 Bde, Erlangen.

- Hogan, R. J., Mathews, S. A., Mukhopadhyay, S., Summersgill, J. T. and Timms, P. (2004): Chlamydial persistence: beyond the biphasic paradigm. *Infection and Immunity* **72**, 1843-1855.
- Holzinger-Umlauf, H. A.-M., Marschang, R. E., Gravendyck, M. and Kaleta, E. F. (1997): Investigation on the frequency of *Chlamydia* spp. infection in tits (Paridae). *Avian Pathology* **26**, 779-789.
- Hotzel, H., Blahak, S., Diller, R. and Sachse, K. (2005): Evidence of infection in tortoises by *Chlamydia*-like organisms that are genetically distinct from known *Chlamydiaceae* species. *Veterinary Research Communications* **29**, 71-80.
- Hotzel, H., Grossmann, E. and Sachse, K. (2001): Genetic characterization of a *Chlamydophila pneumoniae* isolate from an African frog and comparison to currently accepted biovars. *Systematic and Applied Microbiology* **24**, 63-66.
- Hughes, D. L. (1947): Ornithosis (Psittacosis) in a Pigeon Flock. *Journal of Comparative Pathology and Therapy* **57**, 67-76.
- Illner, F. (1962): Ein Beitrag zur Enten-Ornithose und ihrer Epizootologie. *Monatshefte für Veterinärmedizin* **17**, 141-146.
- Ivins, B. E. and Wyrick, P. B. (1978): Response auf C3H/HeJ and C3H/HeN mice and their peritoneal macrophages to the toxicity of *Chlamydia psittaci* elementary bodies. *Infection and Immunity* **22**, 620-622.
- Jantos, C. A., Roggendorf, R., Wuppermann, F. N. and Hegemann, J. H. (1998): Rapid detection of *Chlamydia pneumoniae* by PCR-Enzyme-Immunoassay. *Journal of Clinical Microbiology* **36**, 1890-1894.
- Jones, R. B., Vander der Pol, B., Martin, D. H. and Shepard, M. K. (1990): Partial characterization of *Chlamydia trachomatis* isolates resistant to multiple antibiotics. *Journal of Infectious Diseases* **162**, 1309-1315.
- Jürgensen, T. (1874): Croupöse Pneumonie. In: Jürgensen, T., Hertz, H., Rindfleisch, E. (Hrsg.). *Handbuch der Krankheiten des Respirationsapparates*. Verlag Vogel, Leipzig. Bd. 2, S. 3-8.
- Kahlmeter, G., Brown, D. F., Goldstein, F. W., MacGowan, A. P., Mouton, J. W., Osterlund, A., Rodloff, A., Steinbakk, M., Urbaskova, P. and Vatopoulos, A. (2003): European harmonization of MIC breakpoints for antimicrobial susceptibility testing of bacteria. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **52**, 145-148.
- Kajima, M., Sharon, N., Pollard, M. (1964): Electron microscopy of latent psittacosis virus in McCoy cells. *Journal of Bacteriology* **88**, 709-715.
- Kaleta, E. F. (1997): Aktuelle Fragen der Diagnose und Bekämpfung der Psittakose. *Tierärztliche Umschau* **52**, 36-44.

- Kaleta, E. F., Krautwald-Junghanns, M.-E. und Redmann, T. (1998): Die Psittakose (Chlamydiose) der Vögel und die Notwendigkeit einer staatlichen Bekämpfung. *Tierärztliche Praxis* **26** (K), 295-301.
- Kaleta, E. F., Menge, C., Aldinger, S., Annemüller, C., Bonsack, H., Bolte, A. L. und Jäger, S. (2001): Pocken bei Legehennen in Freilandhaltung. *Tierärztliche Praxis* **29** G, 373-380.
- Kaleta, E. F. and Taday E. M. A. (2003): Avian host range of *Chlamydophila* spp. based on isolation, antigen detection and serology. *Avian Pathology* **32**, 435-462.
- Kaltenboeck, B., Heard, D., de Graves, F. J., and Schmeer, N. (1997): Use of synthetic antigens improves detection by enzyme-linked immunosorbent assay of antibodies against abortigenic *Chlamydia psittaci* in ruminants. *Journal of Clinical Microbiology* **35**, 2293-2298.
- Kaltenboeck, B., Schmeer, N. and Schneider, R. (1997a): Evidence for numerous *omp1* alleles of porcine *Chlamydia trachomatis* and novel chlamydial species obtained by PCR. *Journal of Clinical Microbiology* **35**, 1835-1841.
- Kinndle Marta Blanco Peña (2007): Untersuchung der Sensitivität von Chlamydien-Isolaten unter Verwendung verschiedener antibakterieller Wirkstoffe (Chlortetracyclin, Doxycyclin, Enrofloxacin, Difloxacin, Clarithromycin und Erythromycin). Veterinärmedizinische Dissertation, Gießen.
- Klingt, M., Fuxelius, H. H., Goldkuhl, R. R., Skarin, H., Rutemark, C., Andersson, S. G., Persson, K. and Herrmann, B. (2007): High-resolution genotyping of *Chlamydia trachomatis* strains by multilocus sequenz analysis. *Journal of Clinical Microbiology* **45**, 1410-1414.
- Koch, R. (1881): Zur Untersuchung von pathogenen Organismen. Aus: Mitteilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamt, Band I, Berlin.
- Köhler, B. (1992): *Riemerella anatipestifer* bei Pekingenten. Persönliche Mitteilung. Symposium anlässlich des 25jährigen Bestehens des Instituts für Geflügelkrankheiten der Justus-Liebig-Universität Gießen.
- Krauss, H., Breinl, M., Wachendorfer, G. and Valder, W. A. (1975): Use of the agar gel diffusion test for diagnosis of chlamydia infections in cattle and sheep. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift* **88**, 1-4.
- Krauss, H. (1980): Rickettsien- und Chlamydiendesinfektionen – Neue Verfahren in der Laboratoriumsdiagnostik. Akademie für Tierärztliche Fortbildung, Erstes Seminar der Fachgruppe „Virologie und Viruskrankheiten“, 11./12. November 1980.
- Krauss, H. and Schmeer, N. (1992): Aviäre Chlamydiose. In: Heider, G. und Monreal, G. (Hrsg.). *Krankheiten des Wirtschaftsgeflügels*. Gustav Fischer Verlag, Jena Stuttgart: Band II, Spezieller Teil 2, S. 277-308.

- Krebsz, P. (1995): Die Erforschungsgeschichte der Ornithosen. Marburger Schriften zur Medizingeschichte 32, Peter Lang GmbH.
- Krieg, N. R., Staley, J. T., Brown, D. R., Hedlund, B. P., Paster, B. J., Ward, N. L., Ludwig, W. and Whitman, W. B. (2011): *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd Edition, Springer Verlag, Berlin. Band 4, 843-865.
- Križek, I., Horvatić, D., Gottstein, Z., Steiner, Z., Galović, D., Ervaćinović, Z. and Prukner-Radović, E. (2012): Epidemiological study of *Chlamydophila psittaci* in pet birds in Croatia. *Acta Veterinaria*, **62**, 325-331.
- Kroker, R. (1999): Pharmaka zur Behandlung und Verhütung bakterieller Infektionen. In: W. Löscher, F. R. Ungemach und R. Kroker (Hrsg.). *Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren*, 3. Auflage. Parey Verlag, Berlin. S. 211-246.
- Kroker, R. (2010): Pharmaka zur Behandlung und Verhütung bakterieller Infektionen. In: Löscher, W., Ungemach, F. R. und Kroker, R. (Hrsg.): *Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren*, 8. Auflage. Enke Verlag, Stuttgart. S. 249-295.
- Kühn, A. (1878): Die contagiöse Pneumonie, eine durch Überfüllung der Wohnräume bedingte Krankheitsform. Mit einleitenden Bemerkungen über die Infectionstheorie. *Deutsches Archiv für Klinische Medizin* **21**, 348-372.
- Kummerfeld, N. and Ryll, M. (2010): Aviäre Chlamydiose anstatt Psittakose / Ornithose? *Der Praktische Tierarzt* **91**, 477-482.
- Kuo, C.-C., Stephens, R. S., Bavoil, P. M. and Kaltenboeck, B. (2011). Genus I *Chlamydia*. In: Krieg, N. R., Staley, J. T., Brown, D. R. (Hrsg.). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd Edition, Springer Verlag, Heidelberg, Vol. 4, pp. 846-865.
- Kuyyakanond, T. and Quesnel, L. B. (1992): The mechanism of action of chlorhexidine. *FEMS Microbiological Letter* **100**, 211-216.
- Labhardt, F. (1996): Der Rotfuchs. *Naturgeschichte, Ökologie und Verhalten dieses erstaunlichen Jagdwildes*. Verlag Paul Parey, Hamburg.
- Laroucau, K., Souriau, A. and Rodolakis, A. (2001): Improved sensitivity of PCR for *Chlamydophila* using *pmp* genes. *Veterinary Microbiology* **82**, 155-164.
- Laroucau, K., Trichereau, A., Vorimore, F. and Mahé, A.-M. (2007): A *pmp*-based PCR as a valuable tool for the diagnosis of avian chlamydiosis. *Veterinary Microbiology* **121**, 150-157.
- Laroucau, K., Thierry, S., Vorimore, F., Aaziz, R., Blanco Kinnle Marta Peña, Kaleta, E. F., Hoop, R., Magnino, S., Sachse, K., Myers, G. S. A., Bavoil, P. M., Vergnaud, G. and Pourel, C. (2008): High resolution typing of *Chlamydophila psittaci* by multilocus VNTR analysis (MLVA). *Infection, Genetics and Evolution* **8**, 171-181.

- Laroucau, K., de Barbeyrac, B., Vorimore, F., Clerc, M., Bertin, C., Harkinezhad, T., Verminnen, K., Obeniche, F., Capek, I., Bébéar, C., Durand, B., Zanella, G., Vanrompay, D., Garin-Bastuji, B. and Sachse, K. (2009): Chlamydial infections in duck farms associated with human cases of psittacosis in France. *Veterinary Microbiology* **135**, 82-89.
- Le Fleche, P., Hauck, Y., Onteniente, L., Prieur, A., Denoeud, F., Ramisse, V., Sylvestre, P., Benson, G., Ramisse, F. and Vergnaud, G. (2001): A tandem repeats database for bacterial genomes: application to the genotyping of *Yersinia pestis* and *Bacillus anthracis*. *BMC Microbiology* **1**, 2-15.
- Le Fleche, P., Fabre, M., Denoeud, F., Koeck, J. L. and Vergnaud, G. (2002): High resolution, on-line identification of strains from the *Mycobacterium tuberculosis* complex based on tandem repeat typing. *BMC Microbiology* **2**, 37-49.
- Lehnert, Ch. (1962): Zur Frage der Übertragung des Ornithosevirus über das Brutei bei Enten. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift* **75**, 151-152.
- Levinthal, W. (1930): Die Ätiologie der Psittakosis. *Klinische Wochenschrift* **9**, 654-659.
- Lillie, R. D. (1930): Psittacosis: Rickettsia-like inclusions in man and experimental animals. *Public Health Reports* **45**, 773-778.
- Longbottom, D. and Coulter, L. J. (2003): Animal chlamydiosis and zoonotic implications. *Journal of Comparative Pathology*, **128**, 217-244.
- Ludwig, C. (1852): *Lehrbuch der Physiologie des Menschen*. Heidelberg: C. F. Winter Verlag, Heidelberg.
- Lüschow, D. und Hafez, H. M. (2013): Untersuchungen zum gleichzeitigen Vorkommen des Hühnerpockenvirus (FPV) und des Virus der infektiösen Laryngotracheitis des Huhnes (ILTV) mittels Multiplex Real Time PCR. *Berichte des 84. Fachgesprächs über Geflügelkrankheiten, Hannover, 2./3. Mai 2013*, S. 40-41.
- Macchiavello, A. M. (1937): Estudios sobre tifos exantimatico II. Un nuovo metodo tenir Rickettsia. *Revista Chilena Higiene e Medicina Preventiva* **1**, 101-106.
- Madico, G., Quinn, T. C., Bomann, J. and Gaydos, A. J. (2000): Touchdown enzyme time release-PCR for detection and identification of *Chlamydia trachomatis*, *C. pneumoniae*, and *C. psittaci* using the 16S and 16S-23S spacer rRNA genes. *Journal of Clinical Microbiology* **38**, 1085-1093.
- Madigan, M. T. and Martinko, J. M. (2006): *Brock Mikrobiologie*, 11. Auflage, Pearson Studium Verlag.
- Magnino, S., Giovanni, S., Paoli, C., Arengi, P. and Sambri, V. (2005): Evaluation of an automated complement fixation test (Seramat) for the detection of chlamydial antibodies in sheep and goat sera. *Veterinary Research Communications*, **29** (Suppl. 1) 157-161.

- Magnino, S., Haag-Wackernagel, D., Geigenfeind, I., Helmecke, S., Dovč, A., Pukner-Radovčić, Residbegović, E., Ileski, V., Laroucau, K., Donati, M., Martinov, S. and Kaleta, E. F. (2009): Chlamydial infections in feral pigeons in Europe: Review of data and focus on public health implications. *Veterinary Microbiology* **135**, 54-67.
- Maiden, M. C., Bygraves, J. A., Feil, E., Morelli, G., Russell, J. E., Urwing, R., Zhang, Q., Zhou, J., Zurth, K., Caugant, D. A., Feavers, I. M., Achtmann, M. and Spratt, B. G. (1998): Multilocus sequence typing: a portable approach to the identification of clones within populations of pathogenic microorganisms. *Proceedings of the National Academy of Science USA* **95**, 3140-3145.
- Matsumoto, A. and Manire, P. (1970): Electron microscopic observations on the effects of penicillin on the morphology of *Chlamydia psittaci*. *Journal of Bacteriology* **101**, 278-285.
- Matsumoto, A., Fujiwara, E. and Higashi, N. (1976): Observations of the surface projections of infectious small cells of *Chlamydia psittaci* in thin sections. *Journal of Electron Microscopy (Tokyo)* **25**, 169-170.
- Matsumoto, A. (1982). Electron microscopic observations of surface projections on *Chlamydia psittaci* reticulate bodies. *Journal of Bacteriology* **150**, 358-364.
- Matthes, S. (1992): Salmonella-Infektionen. In: Heider, G. und Moreal, G. (Hrsg.). *Krankheiten des Wirtschaftsgeflügels*, ein Handbuch für Wissenschaft und Praxis. Gustav Fischer Verlag, Jena Stuttgart. Band II, Spezieller Teil 2, S. 110-119.
- McCauley, L. M., Lancaster, M. J., Young, P., Butler, K. L. and Ainsworth, C. G. (2007): Comparison of ELISA and CFT assays for *Chlamydia abortus* antibodies in ovine sera. *Australian Veterinary Journal* **85**, 325-328.
- McCoy, X. (1930): Accidental psittacosis infection among the personell of the hygienic laboratory. *Public Health Reports* **45**, 848.
- McDermott, P. F., Walker, R. D. and White, D. G. (2003): Antimicrobials: modes of action and mechanisms of resistance. *International Journal of Toxicology* **22**, 135-143.
- MacNabb, A. L. (1942): Psittacosis. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 6, Nr. 8.
- Meyer, K. F. and Eddie, B. (1933): Latent psittacosis infections in shell parakeets. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* **30**, 484-488.
- Meyer, K. F. and Eddie, B. (1935): Avian psittacosis. *Journal of Bacteriology* **29**, 67.
- Meyer, K. F. (1942): The ecology of psittacosis and ornithosis. *Medicine* **21**, 175-206.

- Meyer, K. F. (1948): Psittacosis (ornithosis). In: Biester, H. E. and L. H. Schwarte (eds.). *Diseases of Poultry*, 2nd edition. The Iowa State College Press, Ames, Iowa, pp. 513-549.
- Meyer, K. F. and Eddie, B. (1952): Reservoirs of the psittacosis agent. *Acta Tropica*, Basel **9**, 204-215.
- Mields, W. (1980): Prüfung von Desinfektionsmitteln auf Wirksamkeit gegen Chlamydien. Tätigkeitsbericht des Bundesgesundheitsamtes 1977, S. 137-145.
- Mitchell, S. L., Wolff, B. J., Hacker, W. L., Ciembor, P. G., Gregory, C. R., Everett, K. D., Ritchie, B. W. and Winchell, J. M. (2009): Genotyping of *Chlamydophila psittaci* by Real-time PCR and high-resolution melt analysis. *Journal of Clinical Microbiology* **47**, 175-181.
- Mor, G. (1998): Plasmid DNA: a new era in vaccinology. *Biochemistry and Pharmacology* **55**, 1151-1153.
- Mor, G., Singla, M., Steinberg, A. D., Hoffman, S. L., Okuda, K. and Klinman, D. M. (1997): Do DNA vaccines induce autoimmune disease? *Human Genetic Therapy* **8**, 293-300.
- Mor, G., Yamshchikov, G., Sedegah, M., Takeno, M., Wang, R., Houghten, R. A., Hoffman and S., Klinman, D. M. (1996): Induction of neonatal tolerance by plasmid DNA vaccination of mice. *Journal of Clinical Investigation* **98**, 2700-2705. .
- Morange, A. (1895) : De la psittacose, ou infection spéciale déterminée par des peruches. Thesis/Dissertation, Paris.
- Morrison, R. P. (1991): Chlamydial HSP60 and the immunopathogenesis of chlamydial disease. *Seminars in Immunology* **3**, 25-33.
- Morrissey, I., Salman, H., Bakker, S., Farrell, D., Bébéar, C. M. and Rifgway, G. (2002): Serial passage of Chlamydia spp. in sub-inhibitory fluoroquinolone concentrations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **49**, 757-761.
- Moulder, J. W. (1969): Die Psittakosegruppe (Chlamydien).In: Grumbach, A., Kikuth, W. und Bonin, O. (Hrsg.). *Die Infektionskrankheiten des Menschen und ihre Erreger*. 2. Auflage. Thieme Verlag, Stuttgart. S. 298-307.
- Moulder, J. W. (1984): Chlamydiaceae. In: Krieg, N. R. (ed.). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Williams & Wilkins, Baltimore MD, pp. 729-739.
- Müller, J. (1838): *Handbuch der Physiologie des Menschen für Vorlesungen*. Verlag von J. Hölscher, Koblenz.
- Müssemeier, F. (1957): Grundsätzliches zur Tierseuchenbekämpfung. Paul Parey Verlag, Berlin und Hamburg.

- Mutschler, E., Geisslinger, G., Kroemer, H.K., Ruth, P. und Schäfer-Korting, M. (2008): Mutschler Arzneimittelwirkungen. *Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie*. 9. Auflage. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart.
- Newman, C. P., Palmer, S. R., Jirby, F. D. and Caul, E. O. (1992): A prolonged outbreak of ornithosis in duck processors. *Epidemiology and Infection* **108**, 203-210.
- Nocard, E. (1893): Publications du conseil d`hygiène publique et de salubrité du département de la Seine, séance du mars. Chaix, Paris.
- Notomi, T., Ikeda, J. and Nagayama, A. (1999): Minimal inhibitory and minimal lethal concentration against *Chlamydia trachomatis* dependent on the time of addition and duration of the presence of antibiotics. *Chemotherapy* **45**, 242-248.
- Nüchter, H. (2004): Nachweis von *Chlamydophila psittaci* in unterschiedlichen Bereichen in zwei Hähnchen- und zwei Putenschlachtereien mittels direkter Immunfluoreszenz nach Erregeranzüchtung in Buffalo-Green-Monkey-Kidney-Zellkulturen sowie der Polymerase-Ketten-Reaktion mit anschließender Restriktionsenzymanalyse. Veterinärmedizinische Dissertation, Gießen.
- Ost, X. (1883): Über infektiöse Pneumonie. *Korrespondenzblatt Schweizer Ärzte*. S. 424.
- Pacheco, G. and Bier, O. (1930): Epizootic in parrots in Brasil and its relations with the psittacosis. *Relations avec psittacose*. *Arquivos do Instituto Biologico* **4**, 89-120.
- Pacheco, G. (1931): Nouvelles recherches sur la psittace des perroquets. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Seances et Memoires de la Société de Biologie* **106**, 372-374.
- Page, L. A. (1959): Thermal inactivation studies on a turkey ornithosis virus. *Avian Diseases* **3**, 67-79.
- Page, L. A., Grimes, J. E. (1978): Avian chlamydiosis (ornithosis). In: Hofstad, M. S., Barnes, H. J., Calnek, B. W., Yoder, W. M., Yoder jr., H. W. (eds.). *Diseases of Poultry*, 8th edition. Iowa State University Press, Ames, pp. 283-308.
- Pantchev, A., Sting, R., Bauerfeind, R., Tyczka, J. and Sachse, K. (2009): New real-time PCR tests for species-specific detection of *Chlamydophila psittaci* and *Chlamydophila abortus* from tissue samples. *Veterinary Journal* **181**, 145-150.
- Pantchev, A. (2010): Spezies-spezifischer Nachweis von Chlamydien bei Haustieren mittels Real-Time PCR. Veterinärmedizinische Dissertation, Gießen.
- Pasteur, L. (1880): De l`extension de la théorie des germes á l`étiologie de quelques maladies communes. *Bulletin de l`Académie de médecine*. Reihe **2**, S. 435-447.

- Pees, M. (2004): Leitsymptome bei Papageien und Sittichen: Diagnostischer Leitfa-
den und Therapie. Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart.
- Pennycott, T. W., Dagleish, M. P., Wood, A. M. and Barcia, C. (2009): *Chlamydophila*
psittaci in wild birds in the UK. The Veterinary Record **164**, 157-158.
- Pfisterer, U. (1999): Wirksamkeit und Aktualität der Maßnahmen der Psittakose-
Verordnung zur Bekämpfung der Psittakose / Ornithose. Berlin, 1999,
Journal-Nr. 2340.
- Pittler, H. und Valder, W.-A. (1992): Rechtsgrundlagen für die Verhütung und Be-
kämpfung von Tierseuchen beim Wirtschaftsgeflügel – Bundesrepublik
Deutschland, Europäische Wirtschaftsgemeinschaft, Österreich, Schweiz.
In: Heider, G. und Monreal, G. (Hrsg.). *Krankheiten des Wirtschaftsgeflügels*.
Gustav Fischer Verlag, Jena und Stuttgart. Band I, Spezieller Teil 1,
S. 341-353.
- Pourcel, C., Andre-Mazeaud, F., Neubauer, H., Ramisse, F. and Vergnaud, G.
(2004): Tandem repeats analysis for the high resolution phylogenetic analysis
of *Yersinia pestis*. BMC Microbiology **4**, 22.
- Prukner-Radovčić, E., Horvatek, D., Gottstein, Z., Grozdanic, I. C. and Mazija, H.
(2005): Epidemiological investigation of *Chlamydophila psittaci* in pigeons and
free-living birds in Croatia. Veterinary Research Communication **29** (Suppl.1)
17-21.
- Rake, G., McKee, C. M. and Shaffer, M. F. (1940): Agent of lymphogranuloma ven-
erum in the yolk sac of the developing chick embryo. Proceedings of the So-
ciety for Experimental Biology and Medicine **43**, 332-334.
- Rasmussen-Ejde, R. K. (1938): Über eine durch Sturmmöwen übertragene Lungen-
erkrankung auf den Färöern. Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde
und Infektionskrankheiten, I. Abteilung, Originale **143**, 89-91.
- Raso, T. F., Junior, A. B. and Pinto, A. A. (2002): Evidence of *Chlamydophila psittaci*
infection in captive Amazone parrots in Brasil. Journal of Zoo and Wildlife Me-
dicine **33**, 118-121.
- Ritter, J. (1879): Über Pneumotyphus, eine Hausepidemie in Uster. Deutsches Archiv
für Klinische Medizin **25**, 23-66.
- Ritter, J. (1880): Beitrag zur Frage des Pneumotyphus [Eine Hausepidemie in Uster
(Schweiz) betreffend]. Deutsches Archiv für Klinische Medizin **25**, 53-96.
- Rivers, T. M. (1931): A recently described virus disease of parrots and parakeets dif-
fering from psittacosis. Proceeding of the Society for Experimental Biology and
Medicine **29**, 155-156.
- Rivers T. M. and Schwentker, F. F. (1932): A virus disease of parrots and parakeets
differing from psittacosis. Journal of Experimental Medicine **55**, 911-924.

- Rivers, T. M. and Berry, G. P. (1935): Diagnosis of psittacosis in man by means of injections of sputum into white mice. *Journal of Experimental Medicine* **61**, 205-212.
- Riviere, J. E. and Spoo, J. W. (1995): Tetracycline antibiotics. In: H. R. Adams (ed.), *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. Iowa State University Press, Ames, pp. 784-796.
- Robert-Koch-Institut (RKI) (2011): Tollwut in Deutschland: Gelöstes Problem oder versteckte Gefahr? *Epidemiologisches Bulletin* Nr. 8, 28. Februar 2011.
- Rodloff, A. (2009): Antimikrobielle Empfindlichkeitstestung: Grundlagen, Verfahren, Standards. In: Neumeister, B., Geiss, H. K., Braun, R. W., Kimmig, P. (Hrsg.): *Mikrobiologische Diagnostik*, 2. Auflage. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, S. 259-266.
- Rödel, J., Yu, H. und Straube, E. (2008): Induktion eines nekrotischen Zelltodes durch Chlamydien. 4. Arbeitstagung des Nationalen Referenzlabors für Psittakose, 25.-26. September in Jena.
- Rokitansky, C. (1846): *Handbuch der pathologischen Anatomie*. Braumüller und Seidel, Wien.
- Rolle, M. und Mayr, A. (2007): *Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre*, 8. Auflage. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, S. 546-549.
- Rothermel, C. D., Rubin, B. Y. and Murray, H. W. (1983): Gamma-interferon is the factor in lymphokine that activates human macrophages to inhibit intracellular *Chlamydia psittaci* replication. *Journal of Immunology* **131**, 2542-2544.
- Rübel, A. und Isenbügel, E., (2001): Papageien und Sittiche. In: K. Gabrisch und P. Zwart (Hrsg.). *Krankheiten der Heimtiere*, 5. Auflage. Schlutersche GmbH & Co KG, Hannover, S. 521-522.
- Ruppaner, R., Behymer, D. E., DeLong, W. J., Franti, C. E. and Schulz, T. (1984): Enzyme immunoassay of Chlamydia in birds. *Avian Diseases* **28**, 608-615.
- Russell, A. D. and Hugo, W. B. (1988): Perturbation of homeostatic mechanisms in bacteria by pharmaceuticals. In: R. Whittenbury, G. W. Gould, J. G. Banks and R. G. Board (eds.). *Homeostatic mechanisms in microorganisms*. Bath University Press, Bath, England, pp. 206-219.
- Ryll, M., Hinz, K.-H., Neumann, U. und Behr, K. P. (1994): Pilotstudie über das Vorkommen von *Chlamydia psittaci*-Infektionen in kommerziellen Putenherden Niedersachsens. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift* **101**, 163-165.
- Sachse, K. und Großmann, E. (2002): Chlamydienerkrankungen der Nutz- und Haustiere – Zoonotisches Potential der Erreger und diagnostische Fragen. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift* **109**, 142-148.

- Sachse, K. und Hotzel, H. (2003): Detection and differentiation of *chlamydiae* by nested PCR. *Methods in Molecular Biology* **216**, 123-136.
- Sachse, K., Schimmel, D., Hotzel, H., Schubert, E., Melzer, F., Berndt F. und Reinhold, P. (2004): Chamydien und Chlamydiosen. In: Mettenleiter, T. C. (Hrsg.). *50 Jahre Tierseuchenforschung in Jena von 1954 bis 2004*. S. 28-33.
- Sachse, K., Hotzel, H., Slickers, P., Ellinger, T. and Ehricht, R. (2005): DNA microarray-based detection and identification of *Chlamydia* and *Chlamydophila* spp. *Molecular and Cellular Probes* **19**, 41-50.
- Sachse, K., Vretou, E., Livingstone, M., Borel, N., Pospischil, A. and Longbottom, D. (2008a): Recent developments in the laboratory diagnosis of chlamyial infections. *Veterinary Microbiology* **135**, 2-21.
- Sachse, K., Laroucau, K., Hotzel, H., Schubert, E., Ehricht, R. and Slickers, P. (2008b): Genotyping of *Chlamydophila psittaci* using a new DNA microarray assay based on sequence analysis of *ompA* genes. *BMC Microbiology* **8**, 63-75.
- Sachse, K. und Schubert, E. (2011): Quantitaiver Nachweis von *Chlamydophila psittaci* mittels Real-Time-PCR. *Der Lab Loeffler – News für das Labor*, 04/2011, S.4-6.
- Schiel, H. (1982): Probleme der Haltung während der Quarantäne von Psittaciformes. Fachtagung November 1982 am LUA Oberschließheim, S. 62-64.
- Schmeer, N. (1982): Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) zum Nachweis von Antikörpern bei der Taube am Beispiel der Ornithose. Veterinärmedizinische Dissertation, Gießen.
- Schmeer, N., Arens, M., Krauss, H., Schiefer, H. G. and Weidner, W. (1983): Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for IgG- and IgM- antibodies in chlamydial infections of humans. *Zentralblatt für Bakteriologie, Mikrobiologie und Hygiene [A]* **256**, 119-131.
- Schmeer, N., Schnorr, K. L., Perez-Martinez, J. A. and Storz, J. (1987): Dominance of *Chlamydia psittaci*-specific IgG2 subclass in the humoral immune responses of naturally and experimentally infected cattle. *Veterinary Immunology and Immunopathology* **15**, 311-322.
- Schwarz, S. and Chaslus-Dancla, E. (2001): Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance. *Veterinary Research* **32**, 201-225.
- Schwarz, S., Böttner, A., Hafez, H.M., Kehrenberg, C., Kietzmann, M., Klarmann, D., Klein, G., Krabisch, P., Kuhn, T., Luhofer, G., Richter, A., Traeder, W., Waldmann, K.H., Wallmann, J. und Werckenthin, C. (2003): Empfindlichkeitsprüfung bakterieller Infektionserreger von Tieren gegenüber antimikrobiellen Wirkstoffen: Methoden zur *in-vitro* Empfindlichkeitsprüfung und deren Eignung

in Hinblick auf die Erarbeitung therapeutisch nutzbarer Ergebnisse. Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift **116**, 353-361.

- Schwarz, S., Silley, P., Simjee, S., Woodford, N., van Duijkeren, E., Johnson, A.P. and Gaastra, W. (2010): Editorial: assessing the antimicrobial susceptibility of bacteria obtained from animals. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **65**, 601-604.
- Seth-Smith, H. M. B., Harris, S. R., Rance, R., West, A. P., Severin, J. A., Ossewaarde, J. M., Cutcliff, L. T., Skilton, R. J., Marsh, P., Parkhill, J., Clarke, I. N. and Thomson, N. R. (2011): Genome sequence of the zoonotic pathogen *Chlamydia psittaci*. *Journal of Bacteriology* **193**, 1282-1283.
- Sharples, E. and Baines, S. J. (2009): Prevalence of *Chlamydia psittaci*-positive cloacal PCR tests in wild avian casualties in the UK. *The Veterinary Record* **164**, 16-17.
- Siemers, N. E. (1999): Die nested PCR zur Diagnostik und Differenzierung von *Chlamydia psittaci* und *Chlamydia pneumoniae* in Untersuchungsmaterialien von Vögeln und Menschen. Veterinärmedizinische Dissertation, Giessen.
- Smith, J. T. (1986): Wirkmechanismus der Chinolone. *Infection* **14**, Supl.1.
- Sompolinsky, D. and Richmond, S. (1974): Growth of *Chlamydia trachomatis* in McCoy cells treated with cytochalasin B. *Applied Microbiology* **28**, 912-914.
- Spears, P. and Storz, J. (1979): Biotyping of *Chlamydia psittaci* based on inclusion morphology and response to diethylaminoethyl-dextran and cycloheximide. *Infection and Immunity* **24**, 224-232.
- Speer, B. S., Shoemaker, N. B. and Salyers, A. A. (1992): Bacterial resistance to tetracycline: mechanism, transfer and clinical significance. *Clinical Microbiology Reviews* **5**, 387-399.
- Spencer, W. N. and Johnson, F. W. (1983): Simple transport medium for the isolation of *Chlamydia psittaci* from clinical material. *The Veterinary Record* **113**, 535-536.
- Stamp, J. T., McEwen, A. D., Watt, J. A. and Nisbet, D. I. (1950): Enzootic abortion in ewes: transmission of the disease. *The Veterinary Record* **62**, 251-254.
- Starr, T. J. Pollard, M., Tanami, Y. and Moore, R. W. (1960): Cytochemical studies with psittacosis virus by fluorescence microscopy. *Texas Report on Biology and Medicine* **18**, 5001-507.
- Stock, I. und Wiedemann, B. (2001): Qualitätssicherung und Qualitätskontrollen in der Antibiotika-Empfindlichkeitsbestimmung von Bakterien mit der Mikrodilution. *Chemotherapeutisches Journal* **10**, 78-98.
- Storz, J. (1971): *Chlamydia* and *Chlamydia*-induced disease. C. C. Thomas Publisher, Springfield Illinois, pp. 132-145.

- Storz, J. and Krauss, H. (1985): Chlamydia. In: H. Blobel und T. Schliesser (Hrsg.). *Handbuch der bakteriellen Infektionen bei Tieren*. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York, Band 5, S. 447-531.
- Strauch, D. und Böhm, R. (2002): Reinigung und Desinfektion in der Nutztierhaltung und Veredelungswirtschaft. Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart.
- Strauß-Theis, D. (2004): Nachweis und Differenzierung von *Chlamydophila psittaci* und *Chlamydophila pneumoniae* mittels der nested multiplex Polymerasekettenreaktion in aviären Untersuchungsmaterialien im Vergleich zum Nachweis von Chlamydien mit der erweiterten Immunfluoreszenz. Veterinärmedizinische Dissertation, Giessen.
- Taday, E. M. A. (1998): Organveränderungen und Erregernachweise nach Infektionen mit *Chlamydia* sp. beim Vogel unter besonderer Berücksichtigung des aviären Wirtsspektrums. Veterinärmedizinische Dissertation, Giessen.
- Tappe, J. P., Andersen, A. A. and Cheville, N. F. (1989): Respiratory and pericardial lesions in turkeys infected with avian or mammalian strains of *Chlamydia psittaci*. *Veterinary Pathology* **26**, 386-395.
- Teubern, V., von (1930): Beitrag zur Therapie der Psittakosis. Vortrag bei der medizinischen Gesellschaft, Leipzig am 11. 11. 1930; referiert in der Klinischen Wochenschrift 1930, S. 1237 (zit. aus Haagen, 1939).
- Theis, H.-P. (2007): *In-Vitro*-Prüfung der Empfindlichkeit von aviären Chlamydien gegen Difloxazin im Vergleich zu den als „wirksame Mittel“ eingestuftem Arzneimitteln Chlortetrazyklin, Doxizylin und Enrofloxazin. Veterinärmedizinische Dissertation, Giessen.
- Ulmer, J. B., Donnelly, J. J., Parker, S. E., Rhodes, G. H., Felgner, P. L., Dwarki, V. J., Gromkowski, S. H., Deck, R. R., DeWitt, C. M., Friedmann, A., Hawe, L. A., Leander, K. R., Martinez, D., Perry, H. C., Shiver, J. W., Montgomery, D. L. and Liu, M. A. (1993): Heterologous protection against influenza by injection of DNA encoding a viral protein. *Science* **259**, 1745-1749.
- van Buuren, C. E., Dorrestein, G. M. and Van Dijk, J. E. (1994): Chlamydia infections in birds: A review on the pathogenesis and histopathological features. *Veterinary Quarterly* **16**, 38-41.
- van Loock, M., Geens, T., de Smit, L., Nauwynck, H., van Empel, P., Naylor, C., Hafez, H. M., Goddeeris, B. M. and Vanrompay, D. (2005a): Key role of *Chlamydophila psittaci* on Belgian turkey farms in association with other respiratory pathogens. *Veterinary Microbiology* **107**, 91–101.
- Vanrompay, D., Ducatelle, R. and Haesebrouck, F. (1992): Diagnosis of avian chlamydiosis: specificity of the modified Giménez staining on smears and comparison of the sensitivity of isolation in eggs and three different cell cultures. *Zentralblatt für Veterinärmedizin* **B 39**, 105-112.

- Vanrompay, D., Ducatelle, R., Haesebrouck, F. and Hendrickx, W. (1993): Primary pathogenicity of an European isolate of *Chlamydia psittaci* from turkey poults. *Veterinary Microbiology* **38**, 103-113.
- Vanrompay, D., Ducatelle, R. and Haesebrouck, F. (1994): Pathogenicity for turkeys of *Chlamydia psittaci* strains belonging to the avian serovars A, B and D. *Avian Pathology* **23**, 247-262.
- Vanrompay, D., Ducatelle, R. and Haesebrouck, F. (1995): *Chlamydia psittaci* infections: a review with emphasis on avian chlamydiosis. *Veterinary Microbiology* **45**, 93-119.
- Vanrompay, D., Mast, J., Ducatelle, R., Haesebrouck, F. and Goddeeris, B. (1995a): *Chlamydia psittaci* in turkeys: pathogenesis of infections in avian serovars A, B and D. *Veterinary Microbiology* **47**, 245-256.
- Vanrompay, D., Charlier, G., Ducatelle, R. and Haesebrouck, F. (1996): Ultrastructural changes in avian *Chlamydia psittaci* serovar A-, B-, and D-infected Buffalo Green Monkey cells. *Infection and Immunity* **64**, 1265-1271.
- Vanrompay, D., Butaye, P., Sayada, C., Ducatelle, R. and Haesebrouck, F. (1997): Characterization of avian *Chlamydia psittaci* strains using *omp* I restriction mapping and serovar-specific monoclonal antibodies. *Research in Microbiology* **148**, 327-333.
- Vanrompay, D., Cox, E., Volckaert, G. and Goddeeris, B. (1999a): Turkeys are protected from infection with *Chlamydia psittaci* by plasmid DNA vaccination against the major outer membrane protein. *Clinical and Experimental Immunology* **118**, 49-55.
- Vanrompay, D., Cox, E., Vandebussche, F., Volckaert, G. and Goddeeris, B. (1999b): Protection of turkeys against *Chlamydia psittaci* challenge by gene-gun based DNA immunizations. *Vaccine* **17**, 2628-2635.
- Vanrompay, D., Cox, E., Kaiser, P., Lawson, S., van Loock, M., Volckaert, G. and Goddeeris, B. (2001): Protection of turkeys against *Chlamydia psittaci* challenge by parenteral and mucosal inoculations and the effect of turkey interferon on genetic immunization. *Immunology* **103**, 106-112.
- Vázquez, B., Esperón, F., Neves, E., López, J., Ballesteros, C. and Muñoz, M. J. (2010): Screening for several potential pathogens in feral pigeons (*Columba livia*) in Madrid. *Acta Veterinaria Scandinavica* **52**, 45-51.
- Vergnaud, G. and Pourcel, C. (2006): Multiple locus VNTR (variable number tandem repeat) analysis. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, S. 83-104.
- Verminnen, K., Duquenne, B., De Keukeleire, D., Duim, B., Pannekoek, Y., Braeckman, L. and Vanrompay, D. (2008): Evaluation of a *Chlamydia psittaci* diagnostic platform for zoonotic risk assessment. *Journal of Clinical Microbiology* **46**, 281-285.

- Virchow, R. (1847): Ueber die Standpunkte in der wissenschaftlichen Medicin. Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie und für klinische Medicin **1**, 3-19.
- Voigt, A., Schöfl, G., Heidrich, A., Sachse, K. and Saluz, H.-P. (2011): Full-length *de novo* sequence of the *Chlamydophila psittaci* type strain 6BC. Journal of Bacteriology **193**, 2662-2663.
- Voigt, A., Schöfl, G. and Saluz, H.-P. (2012): The *Chlamydia psittaci* genome: A comparative analysis of intracellular pathogens. PLoS ONE **7** (4).
- Vretou, E., Psarrou, E., Kaisar, M, Vlisidou, I., Salti-Montesanto, V. and Longbottom, D. (2001): Identification of protective epitopes by sequencing of the major outer membrane protein gene of a variant strain of *Chlamydia psittaci* serotype 1 (*Chlamydophila abortus*). Infection and Immunity **69**, 607-612.
- Vretou, E., Radouani, F., Psarrou, E., Kritikos, I., Xylouri, E. and Mangana, O. (2007): Evaluation of two commercial assays for the detection of *Chlamydophila abortus* antibodies. Veterinary Microbiology **123**, 153-161.
- Wachendörfer, G., Lüthgen, W., Ehlkes, G. und Berger, J. (1973): Ein Beitrag zur Resistenz von *Chlamydia psittaci* gegen Chlortetrazyklin. Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift **86**, 106-111.
- Wachendörfer, G. and Lüthgen, W. (1974): Chlortetracycline impregnated food pellets for the prophylaxis and therapy of psittacosis/ornithosis in psittacines and pigeons. Avian Pathology **3**, 105-114.
- Wachendörfer, G. (1984): Auftreten und Bekämpfung der Psittakose / Ornithose in der Bundesrepublik Deutschland. Tierärztliche Praxis **12**, 455-467.
- Wang, S. P. and Graystone, J. T. (1970): Immunologic relationship between genital TRIC, lymphogranuloma venerum, and related organisms in a new microtiter indirect immunofluorescence test. American Journal of Ophthalmology **70**, 367-374.
- Weiss, E., Dressler, H. R. (1960): Centrifugation of Rickettsiae and viruses onto cells and its effect on infection. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine **103**, 691-695.
- Wentworth, B. B. and Alexander, E. R. (1974): Isolation of *Chlamydia trachomatis* by use of 5-iodo-2-deoxyuridine treated cells. Journal of Applied Microbiology **27**, 912-916.
- Wiedemann, B., Hildebrand, G., Weppelmann, G. und Mannheim, W. (1983): Reproduzierbarkeit von Messergebnissen mit dem Agardiffusionstest bei der Empfindlichkeitsprüfung von Bakterien. Ärztliches Labor **29**, 363-372.
- Wiegand, I., Hilpert, K. and Hancock, R. E. (2008): Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. Nature protocols **3**, 163-75.

- Wilhelm, J. (2003): Entwicklung real-time-PCR-basierter Methoden für die moderne DNA-Analytik. Inauguraldissertation, Fachbereich Biologie, Chemie und Geowissenschaften, Justus-Liebig-Universität, Gießen.
- Wilt, P. C., Kordová, N. and Wilt, J. C. (1972): Preliminary characterization of a chlamydial agent isolated from embryonated snow goose eggs in northern Canada. *Canadian Journal of Microbiology* **18**, 1327-1332.
- Winkle, S. (2000): Die Seuchengeschichte der Papageienkrankheit. *Hamburger Ärzteblatt* **2**, 50-58.
- Witte, W. und Klare, I. (1999): Antibiotic resistance in bacterial pathogens: microbiological and epidemiological aspects. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung – Gesundheitsschutz*, Springer Verlag, Berlin **42**, 8-16.
- Wittenbrink, M. M., Mrozek, M. and Bisping, W. (1993): Isolation of *Chlamydia psittaci* from chicken egg: evidence of egg transmission. *Journal of Veterinary Medicine* **B 40**, 451-452.
- Wolff, M. (1883): Eine weitverbreitete thierische Mycose. In: *Virchows Archiv* **92**, 252-285.
- Wynter Blyth, A. (1875): An infectious form of pneumonia. *The Lancet* **105**, 416-417.
- Yoshida, H., Kishi, Y., Shiga, S. and Hagiwara, T. (1998): Differentiation of *Chlamydia* species by combined use of polymerase chain reaction and restriction endonuclease analysis. *Microbiology and Immunology* **42**, 411-414.
- Ziehl, F. (1882): Zur Färbung des Tuberkelbacillus. *Deutsche Medizinische Wochenschrift* **8**, 451.

Internetquellen

- Burkhardt, J. N. (2003): Untersuchung zur Desinfektion von *Chlamydophila pneumoniae* und *Chlamydia trachomatis* mit schleimhauttauglichen Desinfektionsmitteln. <http://www.db-thueringen.de/servlets/DerivateServlet/ Derivate-2134/Burkh.pdf>.
- DEFRA: Department for Environment, Food and Rural Affairs (UK). Zoonosis Report 2009. <http://archive.defra.gov.uk/foodfarm/farmanimal/diseases/atoz/zoonoses/documents/reports/zoonoses2009.pdf>
- DNA-Microarray. bioSicherheit: Gentechnik – Pflanzen – Umwelt, BioSafeNet, Lexikon. www.biosicherheit.de/de/lexikon/202.dna_microarray.html
- European Commission SANCO/AH/R26/2002. Avian chlamydiosis as a zoonotic disease and risk reduction strategies. Report of the Scientific Committee on Animal Health and Animal Welfare. Adopted 16 April 2002

Grüntzig, V., Stres, B., Ayala del Río, H. L. and Tiedje, J. M. (2002): Improved protocol for T-RFLP by capillary electrophoresis. rdp8.cme.msu.edu/html/t-rflp_jul02.html

High-resolution DNA melting analysis. www.path.utah.edu/news/hi-res-dna-melting-analysis

Kröner, H.-P. (2011): Skript zum Teil "Medizingeschichte" der GTE-Vorlesung. http://campus.uni-muenster.de/fileadmin/einrichtung/egtm/pbsurvey/GTE/WS_2011/Skript_Med.Gesch_2011.pdf

Meese, E. and Comtesse, N. (2008): Gen-Expressionsanalyse mit DNA-Micro-arrays (DNA-Chip Technologie). Institut für Humangenetik, Universität des Saarlandes. www.unisaarland.de/fak8/heinzle/de/teaching/Aufbaupraktikum_Bioinf/-V5_Meese_Aufbau_bioinfo_2008.pdf

NASPHV: National Association of state public health veterinarians (USA). Compendium of measures to control *Chlamydophila psittaci* infection among humans (psittacosis) and pet birds (avian chlamydiosis), 2010. www.nasphv.org/documentsCompendiaPsittacosis.html

Tollwut-Vortrag, Institut für Pathologie der Ludwig-Maximilians-Universität München. <http://www.patho.vetmed.uni-muenchen.de/61%20Tollwut.pdf>

VLA: Veterinary Laboratories Agency (UK). VIDA (Veterinary Investigation Surveillance) Report 2009. http://vla.defra.gov.uk/reports/rep_vida09.htm

Vereinigung für Artenschutz, Vogelhaltung und Vogelzucht (AZ) e. V. http://www.azvogelzucht.de/content/nachzuchtstatistik_anzeigen.html

WA-Datenbank VIA des Bundesamtes für Naturschutz. <http://217.76.106.34/cites/index.html>

Rechtliche Bestimmungen

Verordnung zum Schutz gegen die Psittakose und Ornithose vom 20. Dezember 2005 (BGBl. I Nr. 74 vom 23.12.2005 S. 3532) Gl.-Nr.: 7831-41-4.

Tierseuchengesetz in der Fassung der Bekanntmachung vom 22. Juni 2004 (BGBl. I S. 1260; 3588), zuletzt geändert durch Artikel 3 des Gesetzes vom 21. Dezember 2006 (BGBl. I S. 3294) Stand: Neu gefasst durch Bek. v. 22.6.2004 I 1260; 3588; zuletzt geändert durch Art. 3 G v. 21.12.2006 I 3294.

Verordnung über das innergemeinschaftliche Verbringen sowie die Einfuhr und Durchfuhr von Tieren und Waren (Binnenmarkt-Tierseuchenschutzverordnung - BmTierSSchV). In der Fassung der Bekanntmachung vom 6. April 2005 (BGBl. I S. 997) die zuletzt durch Artikel 5 der Verordnung vom 14. Juli 2010 (BGBl. I S. 929) geändert worden ist.

Gesetz zur Verhütung und Bekämpfung von Infektionskrankheiten beim Menschen (Infektionsschutzgesetz – Ifgs). In der Fassung der Bekanntmachung vom

20.07.2000 (BGBl. I S. 1045) zuletzt geändert durch: Artikel 2a vom 17. Juli 2009 (BGBl. I S. 2091).

Verordnung über anzeigepflichtige Tierseuchen (TierSeuchAnzV). In der Fassung der Bekanntmachung vom 19. Juli 2011 (BGBl. I S. 1404).

Verordnung über meldepflichtige Tierkrankheiten (TKrMeldpflV) in der Fassung der Bekanntmachung vom 11. Februar 2011 (BGBl. I S. 252), die durch Artikel 2 der Verordnung vom 19. Juli 2011 (BGBl. I S. 1403) geändert worden ist.

Verordnung zur Änderung der Verordnung über anzeigepflichtige Tierseuchen und der Verordnung über meldepflichtige Tierkrankheiten (TierSeuchAnzVuaÄndV) in der Fassung der Bekanntmachung vom 19.07.2011 (BGBl. I S. 1403 (Nr. 37)), Geltung ab 26.07.2011.

Verordnung zum Schutz wild lebender Tier- und Pflanzenarten (Bundesartenschutzverordnung – BartSchV) vom 16. Februar 2005 (BGBl. I S. 258, 896), die zuletzt durch Artikel 22 des Gesetzes vom 29. Juli 2009 (BGBl. I S. 2542) geändert worden ist.

Verordnung zum Schutz gegen die Tollwut (Tollwut-Verordnung). In der Fassung der Bekanntmachung vom 4. Oktober 2010 (BGBl. I S. 1313).

Richtlinie des BMELV über Mittel und Verfahren für die Durchführung der Desinfektion bei anzeigepflichtigen Tierseuchen (323-35130/0001, Stand Februar 2007); letzte Aktualisierung November 2009.

Entscheidung der Kommission vom 16. Oktober 2000 zur Festlegung der Veterinärbedingungen und Veterinärbescheinigungen sowie der Quarantänebedingungen für die Einfuhr von anderen Vogelarten als Geflügel (bekannt gegeben unter Aktenzeichen K(2000) 3012) (2000/666/EG).

Richtlinie 2003/99/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 17. November 2003 zur Überwachung von Zoonosen und Zoonoseerregern und zur Änderung der Entscheidung 90/424/EWG des Rates sowie zur Aufhebung der Richtlinie 92/117/EWG des Rates.

Verordnung (EG) Nr. 318/2007 der Kommission vom 23. März 2007 zur Festlegung der Veterinärbedingungen für die Einfuhr bestimmter Vogelarten in die Gemeinschaft sowie der dafür geltenden Quarantänebedingungen.

Entscheidung der Kommission vom 5. Dezember 2006 zur Änderung der Richtlinien 64/432/EWG, 90/539/EWG, 92/35/EWG, 92/119/EWG, 93/53/EWG, 95/70/EG, 2000/75/EG, 2001/89/EG und 2002/60/EG des Rates und der Entscheidung 2001/618/EG der Kommission in Bezug auf die Listen der nationalen Referenzlaboratorien und der staatlichen Institute (bekannt gegeben unter Aktenzeichen K(2006) 5856) (2006/911/EG).

Verordnung (EG) Nr. 338/97 des Rates vom 9. Dezember 1996 über den Schutz von Exemplaren wildlebender Tier- und Pflanzenarten durch Überwachung des Handels (Amtsblatt Nr. L 061 vom 03/03/1997 S. 0001 – 0069).

Verordnung (EU) Nr. 709/2010 der Kommission vom 22. Juli 2010 zur Änderung der Verordnung (EG) Nr. 338/97 des Rates über den Schutz von Exemplaren wildlebender Tier- und Pflanzenarten durch Überwachung des Handels.

Washingtoner Artenschutzübereinkommen (WA): Übereinkommen über den internationalen Handel mit gefährdeten Arten freilebender Tiere und Pflanzen, abgeschlossen in Washington am 03. März 1973.

Tierseuchengesetz (Schweiz) vom 1. Juli 1966 (Stand am 1. Juni 2008) (<http://www.admin.ch/ch/d/sr/9/916.40.de.pdf>). *Die Bundesversammlung der Schweizerischen Eidgenossenschaft*, gestützt auf die Artikel 31, 64 und 69 der Bundesverfassung nach Einsicht in eine Botschaft des Bundesrates vom 3. September 1965.

Tierseuchenverordnung (TSV) (Schweiz) vom 27. Juni 1995 (Stand am 1. Januar 2011) (<http://www.admin.ch/ch/d/sr/9/916.401.de.pdf>). *Der Schweizerische Bundesrat*, gestützt auf die Artikel 16, 20 Absatz 3 und 53 Absatz 1 des Tierseuchengesetzes vom 1. Juli 1966 (Gesetz).

Tierseuchengesetz (Österreich), RGBI. Nr. 177/1909 zuletzt geändert BGBl. I Nr. 36/2008 (http://www.jusline.at/Tierseuchengesetz_%28TSG%29.html).

Bundesgesetz zur Überwachung von Zoonosen und Zoonoseerregern (Zoonosengesetz) (Österreich) (NR: GP XXII RV 1085 AB 1138 S. 125. BR: AB 7407 S. 727.) [CELEX-Nr.: 32003L0099].

Regeling preventie, bestrijding en monitoring van besmettelijke dierziekten en zoönosen en TSE's (Niederlande), Regeling van 7. juni 2005, nr. TRCJZ/2005/1411 (http://wetten.overheid.nl/BWBR0018397/geldigheidsdatum_29-03-2011).

Code rural et de la pêche maritime, version modifiée (titre) du 1 décembre 1979, Version en vigueur au 12 juin 2012.
<http://www.legifrance.gouv.fr/affichCode.do?cidTexte=LEGITEXT000006071367>

Veterinary Act, Artical 12, Paragraph 1, Official Gazette 41/7. Ministry of Agriculture, Fisheries and Rural Development. Instructions on the Manner of Implementing the Animal Health Control Measures prescribed by the Order on Measures to protect Animals from infectious and parasitic Diseases and the Financing thereof in 2010.

Code rural et de la pêche maritime, version modifiée (titre) du 1 décembre 1979, Version en vigueur au 12 juin 2012.
<http://www.legifrance.gouv.fr/affichCode.do?cidTexte=LEGITEXT000006071367>

Veterinary Act, Artical 12, Paragraph 1, Official Gazette 41/7. Ministry of Agriculture, Fisheries and Rural Development. Instructions on the Manner of Implementing the Animal Health Control Measures prescribed by the Order on Measures to protect Animals from infectious and parasitic Diseases and the Financing thereof in 2010.

Animal Health Act 1981 (Überarbeitungen 1998, 2005) (England, Schottland, Wales).
http://www.legislation.gov.uk/ukpga/1981/22/pdfs/ukpga_19810022_en.pdf.

Literaturverzeichnis

DIN EN 1040:2006-3: Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika - Quantitativer Suspensionsversuch zur Bestimmung der bakteriziden Wirkung (Basistest) chemischer Desinfektionsmittel und Antiseptika - Prüfverfahren und Anforderungen (Phase 1).

DIN 58940-3: 2007-10. Titel (deutsch): Medizinische Mikrobiologie – Empfindlichkeitsprüfung von mikrobiellen Krankheitserregern gegen Chemotherapeutika - Teil 3: Agar-Diffusionstest.

<http://www.dgk-ev.de/Pub/DGKRESIS.pdf>. Stellungnahme der Fachgruppe Mikrobiologie und Betriebshygiene in der Deutschen Gesellschaft für Wissenschaftliche und Angewandte Kosmetik e.V. (DGK), 2000. Resistenz von Mikroorganismen gegen antimikrobielle Biozide.

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Entwicklung des modernen Krankheitskonzeptes, aus KRÖNER 2011..	6
Abbildung 2: Entwicklungsstadien des Psittakoseerregers (aus: S. BEDSON und J. BLAND, 1932).....	14
Abbildung 3: Taxonomie der Chlamydiales (BUSH und EVERETT, 2001)	17
Abbildung 4: Neue Taxonomie der Klasse Chlamydia (nach KRIEG et al., 2011)....	18
Abbildung 5: Beispiele für die tinktorische Darstellung der Einschlüsse von <i>Chlamydia psittaci</i>	23
Abbildung 6: Elektronenmikroskopische Aufnahme von <i>Chlamydia psittaci</i>	24
Abbildung 7: Schematische Darstellung des Wandaufbaus eines Elementarkörpers von <i>Chlamydia psittaci</i> 6BC (nach EVERETT und HATCH, 1995).	26
Abbildung 8: Replikationszyklus der Chlamydien (aus EVERETT, 2000).....	28
Abbildung 9: HE-Färbung der Lunge einer Pute nach experimenteller Infektion mit dem Texas Turkey Genotyp D Stamm. Lymphozyteninfiltration (Pfeil A) und Bronchodilatation (Pfeil B) (VANROMPAY, 2008)	43
Abbildung 10: Amtlich gemeldete Psittakoseausbrüche auf Gehöften im Zeitraum 1981- 2011 (Stand März 2011); (BMEVL, Ref. 333; Rönn)	47
Abbildung 11: Amtliche gemeldete Psittakosefälle von 1970 bis 1980 (Daten gemäß TSN).....	47
Abbildung 12: Deutschlandkarte mit Darstellung der prozentualen Häufigkeiten angezeigter Psittakosefälle je Bundesland (BMEVL,-Ref. 33; D. Rönn, 24.03.2011)48	
Abbildung 13: Anzahl angezeigter Psittakosen pro Monat von 1999-2011	49
Abbildung 14: Graphische Darstellung der gemeldeten Ornithose-Fälle beim Hausgeflügel im Zeitraum von 1970 bis 2011 (Quelle: Tiergesundheitsjahresberichte)	52
Abbildung 15: Schema der "nested PCR" (SACHSE und HOTZEL, 2003).....	68
Abbildung 16: Schema der RFLP-PCR (GRÜNTZIG et al., 2002)	71
Abbildung 17: Schema einer Real-time PCR (Taqman-Methode)	73
Abbildung 18: HRM-Schmelzkurven (MITCHELL et al., 2009)	76
Abbildung 19:	78
Abbildung 20: Transmissionselektronenmikroskopisches Bild chlamydiärer Einschlüsse 48 p.i. (GOELLNER et al., 2006).....	96
Abbildung 21: Anzahl der Psittaziden aus deutschen Nachzuchten von 2000 - 2010 (Quelle AZ-Nachzuchtstatistik)	103

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 22: Anzahl importierter Psittaziden 1996-2010	103
Abbildung 23: Vordruck des Nachweisbuches über Aufnahme, Erwerb, Abgabe und Behandlung von Papageien und Sittichen nach BGBl. 2005 Teil I Nr. 74 S. 3536 .	114
Abbildung 24: Vordruck des Nachweisbuches über Aufnahme, Erwerb, Abgabe und Behandlung von Papageien und Sittichen nach BGBl. 2005 Teil I Nr. 74 S. 3537 .	116
Abbildung 25: Gemeldete Ornithose-Fälle des Menschen in Deutschland 1992-2011 (Daten des BfR, Bericht über die epidemiologische Situation der Zoonosen in Deutschland)	120
Abbildung 26: Geografische Verteilung der Aviären Chlamydiose in den Jahren 2005, 2008 und 2011 nach WAHID OIE, Disease distribution maps, Stand 01/2012	127
Abbildung 27: Organisation der COST Action 855.....	132
Abbildung 28: Steckbrief des Tollwuterregers (WHO-Rabies-Bulletin)	142
Abbildung 29: Darstellung des retrograden Infektionsweges des Lyssavirus vom peripheren Muskel ins Zentralnervensystem	144
Abbildung 30: Übersicht über den Tollwutstatus weltweit im 2. Halbjahr 2009 (OIE, Disease distribution maps)	145
Abbildung 31: Übersicht über das Auftreten der Fledermaustollwut in Europa im Zeitraum von 1977 bis 2010 (Rabies Bulletin Europe)	149
Abbildung 32: Logarithmische Darstellung der Anzahl an erfassten Tollwutfällen bei domestizierten Tieren, Wildtieren sowie Fledermäusen von 1982 bis 2010	150
Abbildung 33: Darstellung der gemeldeten Fälle humaner Ornithosen von 1995 bis 2011 (Daten aus den Infektionsepidemiologischen Jahrbüchern des Robert-Koch-Institutes)	153

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Übersicht zur Zahl wissenschaftlicher Publikationen über die Psittakose im Zeitraum von 1879 bis 1939 (Zahlen aus HAAGEN, 1939).....	7
Tabelle 2: Übersicht zu den ersten Fällen der Psittakose beim Menschen	9
Tabelle 3: Frühe Phasen bei der Erforschung der Psittakose	10
Tabelle 4: Im Robert Koch-Institut in Berlin in den Jahren 1935/36 und 1936/37 auf Psittakose untersuchte und als infiziert erkannte Vögel (Quelle: Haagen, 1939)	15
Tabelle 5: In der Literatur verwendete Namen für die Chlamydiose und ihre Erreger.....	15
Tabelle 6: Genotypen und Wirte (ANDERSEN, 1991; SACHSE et al., 2008)	19
Tabelle 7: Identifikation von <i>C. psittaci</i> -Genotypen und Subgruppen basierend auf der Analyse publizierter <i>ompA</i> -Sequenzen (nach SACHSE et al., 2008b).....	21
Tabelle 8: Beispiele für direkte Darstellung von Chlamydien mittels Färbung.....	24
Tabelle 9: Beispiele für Handelspräparate auf Aldehydbasis nach der 13. DVG-Desinfektionsmittelliste mit Wirkungseintritt innerhalb von 2 h	33
Tabelle 10: Verlaufsformen der Psittakose (nach KALETA 1997; aus ROLLE und MAYR, 2007)	39
Tabelle 11: Anzahl in Deutschland gemeldeter Fälle der Ornithose (der Nicht-Psittaziden) im Vergleich zur Anzahl der Fälle von Geflügeltuberkulose und Vogelpocken. Quelle: BME, Bonn	50
Tabelle 12: Auf Chlamydien untersuchte Meisen, deren Körpermassen (g) und Ergebnisse der Chlamydien-Nachweise je Spezies (HOLZINGER-UMLAUF et al., 1997).	54
Tabelle 13: Konventionelle PCR-Methoden für Chlamydien (SACHSE et al., 2008)..	69
Tabelle 14: Real-time PCR-Methoden für Chlamydien (SACHSE et al., 2008)	75
Tabelle 15: Wirkstoffe und Wirkmechanismen gegen Chlamydien	86
Tabelle 16: Übersicht über Wirkungsspektrum und Dosierung der als wirksam zur Therapie der Psittakose eingestufteten Antibiotika (RIVIERE und SPOO, 1995; DORRESTEIN, 1995; KROKER, 1999; BAUMGARTNER und ISENBÜGEL, 1998; RÜBEL und ISENBÜGEL, 2001)	88
Tabelle 17: Anzahl der im VIDA Report erfassten Infektionen der aviären Chlamydiose in Großbritannien von 1995 bis 2009	125

Tabellenverzeichnis

Tabelle 18: Übersicht über Anzeige- und Meldepflicht in den Ländern Europas sowie das Auftreten der Aviären Chlamydiose für den Zeitraum von 1996-2010 nach OIE WAHID Interface.....	128
Tabelle 19: Amtlich angezeigte Psittakosefälle von 1981-2011 (Neue Bundesländer ab 1991) (Quelle: BMEVL-Ref. 33 – D. Rönn – 24.03.2011)	176

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. Erhard F. Kaleta, der mir die Möglichkeit gab, diese Arbeit in der Klinik für Vögel, Reptilien, Amphibien und Fische der Justus-Liebig-Universität Gießen durchzuführen.

Ich danke ihm für die Bereitstellung des Themas und die intensive Betreuung trotz räumlicher Distanz sowie die jederzeitige Ansprechbarkeit und Hilfestellung bei der Erstellung und schnellen Durchsicht meiner Arbeit.

Der Bibliothek des Zentralen Institutes des Sanitätsdienstes der Bundeswehr in Kiel, insbesondere Frau Piotter, danke ich für die Unterstützung und Hilfsbereitschaft bei der Beschaffung diverser Artikel.

Des Weiteren danke ich meinem Ehemann Denis und Conny für ihre Unterstützung und Geduld und dafür, dass sie immer an mich geglaubt haben.

Meinen Eltern danke ich für die finanzielle und moralische Unterstützung während des Studiums und der Zeit der Promotion.



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

VVB LAUFERSWEILER VERLAG
STAUFENBERGRING 15
D-35396 GIESSEN

Tel: 0641-5599888 Fax: -5599890
redaktion@doktorverlag.de
www.doktorverlag.de

ISBN: 978-3-8359-6104-3



9 783835 196104 3

Photo cover: © Eric Isselée - Fotolia.com