

**Claudia Dorothea Weyand**

---

Epidemiologische Studie zur Seroprävalenz  
von Antikörpern gegen die Erreger von  
Aujeszky'scher Krankheit, Hepatitis E,  
Influenza A, Brucellose und Salmonellose  
bei Wildschweinen in Rheinland-Pfalz



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 2017

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.

1<sup>st</sup> Edition 2017

© 2017 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](http://www.doktorverlag.de)

Aus dem Fachbereich Veterinärmedizin  
Professur für Schweine (Innere Medizin und Chirurgie)  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Betreuer: Prof. Dr. Dr. habil. G. Reiner

**Epidemiologische Studie zur Seroprävalenz von Antikörpern gegen  
die Erreger von Aujeszky'scher Krankheit, Hepatitis E, Influenza A,  
Brucellose und Salmonellose bei Wildschweinen in Rheinland-Pfalz**

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

Eingereicht von

**Claudia Dorothea Weyand**

Tierärztin aus Bingen am Rhein

Gießen 2016

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

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

Vorsitzender und 1. Gutachter: Prof. Dr. Dr. habil. G. Reiner

2. Gutachter: Prof. Dr. M. Lierz

Prüfer: PD Dr. R. Hospes

Tag der Disputation: 08.11.2016

## Eidesstattliche Erklärung

Ich habe die vorgelegte Dissertation selbstständig 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 beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.

Koblenz, den 17.02.2016

(Claudia Dorothea Weyand)



## INHALTSVERZEICHNIS

INHALTSVERZEICHNIS .....	I
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	VI
1. Einleitung .....	1
2. Literaturübersicht .....	3
2.1. Das Wildschwein .....	3
2.1.1. Lebensraum und Streifgebiete .....	3
2.1.2. Fortpflanzung und Sozialverhalten.....	4
2.1.3. Ernährung .....	5
2.1.4. Gewichtsentwicklung und Lebenserwartung .....	5
2.2. Aujeszky´sche Krankheit .....	6
2.2.1. Erreger .....	6
2.2.2. Aujeszky´sche Krankheit bei Wild- und Hausschwein.....	7
2.2.2.1. Klinik und Erkrankung .....	7
2.2.2.2. Immunreaktion und passive Immunität.....	9
2.2.2.3. Vorkommen von Antikörpern beim Wildschwein.....	11
2.2.2.4. Vorkommen von Antikörpern beim Hausschwein .....	14
2.2.3. Aujeszky´sche Krankheit bei anderen Tierarten.....	14
2.2.4. Zoonotische Bedeutung .....	15
2.2.5. Anzeige- und Meldepflicht.....	15
2.2.6. Bekämpfung und Prävention.....	16
2.2.7. Methoden zum Antikörpernachweis .....	16
2.3. Hepatitis E .....	21
2.3.1. Erreger .....	21
2.3.2. Hepatitis E bei Wild- und Hausschwein .....	22
2.3.2.1. Klinik und Erkrankung .....	22
2.3.2.2. Immunreaktion und passive Immunität.....	23
2.3.2.3. Vorkommen von Antikörpern beim Wildschwein .....	24
2.3.2.4. Vorkommen von Antikörpern beim Hausschwein .....	26
2.3.3. Hepatitis E bei anderen Tierarten .....	27
2.3.4. Zoonotische Bedeutung .....	28
2.3.5. Anzeige- und Meldepflicht.....	30

2.3.6.	Bekämpfung und Prävention.....	30
2.3.7.	Methoden zum Antikörpernachweis .....	31
2.4.	Influenza A .....	34
2.4.1.	Erreger.....	34
2.4.2.	Influenza A bei Wild- und Hausschwein.....	35
2.4.2.1.	Klinik und Erkrankung .....	35
2.4.2.2.	Immunreaktion und passive Immunität.....	36
2.4.2.3.	Vorkommen von Antikörpern beim Wildschwein .....	37
2.4.2.4.	Vorkommen von Antikörpern beim Hausschwein .....	38
2.4.3.	Influenza A bei anderen Tierarten.....	39
2.4.4.	Zoonotische Bedeutung .....	40
2.4.5.	Anzeige- und Meldepflicht.....	41
2.4.6.	Bekämpfung und Prävention.....	41
2.4.7.	Methoden zum Antikörpernachweis .....	42
2.5.	Brucellose.....	45
2.5.1.	Erreger.....	45
2.5.2.	Brucellose bei Wild- und Hausschwein .....	47
2.5.2.1.	Klinik und Erkrankung .....	47
2.5.2.2.	Immunreaktion und passive Immunität.....	47
2.5.2.3.	Vorkommen von Antikörpern beim Wildschwein .....	48
2.5.2.4.	Vorkommen von Antikörpern beim Hausschwein .....	51
2.5.3.	Brucellose bei anderen Tierarten.....	52
2.5.4.	Zoonotische Bedeutung .....	52
2.5.5.	Anzeige- und Meldepflicht.....	54
2.5.6.	Bekämpfung und Prävention.....	54
2.5.7.	Methoden zum Antikörpernachweis .....	55
2.6.	Salmonellose.....	58
2.6.1.	Erreger.....	58
2.6.2.	Salmonellose bei Wild- und Hausschwein .....	60
2.6.2.1.	Klinik und Erkrankung .....	60
2.6.2.2.	Immunreaktion und passive Immunität.....	61
2.6.2.3.	Vorkommen von Antikörpern beim Wildschwein .....	64
2.6.2.4.	Vorkommen von Antikörpern beim Hausschwein .....	64
2.6.3.	Salmonellose bei anderen Tierarten .....	66

2.6.4.	Zoonotische Bedeutung .....	66
2.6.5.	Anzeige- und Meldepflicht.....	67
2.6.6.	Bekämpfung und Prävention.....	67
2.6.7.	Methoden zum Antikörpernachweis .....	68
3.	Material und Methoden .....	70
3.1.	Herkunft der Proben .....	70
3.1.1.	Gesetzliche Grundlage der Probenahme .....	70
3.1.2.	Untersuchungsgebiet.....	71
3.1.3.	Zeiträume der Probensammlung.....	73
3.1.4.	Entnahme, Versand und Asservierung der Proben.....	73
3.2.	Probendaten.....	73
3.3.	Anzahl und Auswahl der untersuchten Wildschweine .....	73
3.3.1.	Probenanzahl.....	73
3.3.2.	Probenauswahl .....	75
3.4.	Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA).....	80
3.4.1.	Verwendete kommerzielle ELISA-Testkits .....	80
3.4.1.1.	Vorgehensweise bei der Testdurchführung .....	81
3.4.1.2.	Vorbereitung der Proben .....	81
3.4.1.3.	Vorbereitung der Reagenzien.....	81
3.4.1.4.	Methodisches Vorgehen und Unterschiede bei der Durchführung .....	82
3.4.1.5.	Beurteilung der Messergebnisse .....	85
3.5.	PrV-Antikörper-Serumneutralisationstest .....	85
3.5.1.	Vorgehensweise bei der Durchführung.....	85
3.5.1.1.	Vorbereitung der Proben .....	85
3.5.1.2.	Vorbereitung des Monolayers.....	85
3.5.1.3.	Vorbereitung des Testvirus.....	86
3.5.1.4.	Durchführung des Serumneutralisationstests.....	86
3.5.1.5.	Beurteilung der Ergebnisse .....	88
3.6.	Influenza A-Antikörper-Hämagglutinationshemmungstest.....	88
3.6.1.	Vorgehensweise bei der Durchführung.....	89
3.6.1.1.	Vorbereitung der Proben .....	89
3.6.1.2.	Vorbereitung der Hühner-Erythrozyten.....	89
3.6.1.3.	Vorbereitung der Antigene.....	89
3.6.1.4.	Durchführung des Hämagglutinationshemmungstests .....	90

3.6.1.5. Beurteilung der Ergebnisse .....	90
3.7. Datensammlung und Auswertung.....	91
4. Ergebnisse .....	92
4.1. Antikörper gegen das Virus der Aujeszky´schen Krankheit .....	93
4.1.1. Geografische und chronologische Auswertung.....	94
4.1.2. Auswertung der Geschlechts- und Altersverteilung .....	102
4.2. Antikörper gegen Hepatitis E-Virus.....	104
4.2.1. Geografische und chronologische Auswertung.....	104
4.2.2. Auswertung der Geschlechts- und Altersverteilung .....	110
4.3. Antikörper gegen Influenza A-Virus.....	112
4.3.1. Geografische und chronologische Auswertung (ELISA) .....	112
4.3.2. Auswertung der Geschlechts- und Altersverteilung (ELISA).....	118
4.3.3. Geografische und chronologische Auswertung der Influenza A-Virus- Subtypbestimmung (HAHT) .....	120
4.4. Antikörper gegen Brucellen .....	126
4.4.1. Geografische und chronologische Auswertung.....	126
4.4.2. Auswertung der Geschlechts- und Altersverteilung .....	132
4.5. Antikörper gegen Salmonellen .....	134
4.5.1. Geografische und chronologische Auswertung.....	134
4.5.2. Auswertung der Geschlechts- und Altersverteilung .....	139
5. Diskussion.....	141
5.1. Antikörper gegen das Virus der Aujeszky´schen Krankheit .....	144
5.1.1. Geografische und chronologische Verteilung .....	145
5.1.2. Geschlechts- und Altersverteilung .....	148
5.2. Antikörper gegen Hepatitis E-Virus.....	150
5.2.1. Geografische und chronologische Verteilung .....	151
5.2.2. Geschlechts- und Altersverteilung .....	153
5.3. Antikörper gegen Influenza A-Virus.....	155
5.3.1. Geografische und chronologische Verteilung .....	156
5.3.2. Geschlechts- und Altersverteilung .....	159
5.4. Antikörper gegen Brucellen .....	160
5.4.1. Geografische und chronologische Verteilung .....	161
5.4.2. Geschlechts- und Altersverteilung .....	163
5.5. Antikörper gegen Salmonellen .....	165

---

5.5.1. Geografische und chronologische Verteilung .....	166
5.5.2. Geschlechts- und Altersverteilung .....	167
6. Zusammenfassung.....	169
7. Summary.....	171
8. Literaturverzeichnis .....	173
9. Anhang.....	218
10. Danksagung.....	227

**ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS**

A. dest.	Aqua destillata
Ab	Antibody (Antikörper)
Abb.	Abbildung
Abs.	Absatz
Ag	Antigen
AG 1	Altersgruppe 1, 0 - 1 Jahr
AG 2	Altersgruppe 2, 1 - 2 Jahre
AG 3	Altersgruppe 3, > 2 Jahre
AIMPV	Verordnung über die Meldepflicht bei Aviärer Influenza beim Menschen
AK	Landkreis Altenkirchen
Auj.	Aujeszký'sche Krankheit
AujeszkKrV	Verordnung zum Schutz gegen die Aujeszký'sche Krankheit
AW	Landkreis Ahrweiler
AZ	Landkreis Alzey-Worms
B.	Brucella
BIR	Landkreis Birkenfeld
BIT	Eifelkreis Bitburg-Prüm
Bruc.	Brucellose
BrucelloseV	Verordnung zum Schutz gegen die Brucellose der Rinder, Schweine, Schafe und Ziegen
Buchst.	Buchstabe
ca.	circa
CO <sub>2</sub>	Kohlendioxid
COC	Landkreis Cochem-Zell
DAU	Landkreis Vulkaneifel
DIVA	Differentiating Infected from Vaccinated Animals
DNA	DeoxyriboNukleic acid (Desoxyribonukleinsäure)
DÜW	Landkreis Bad Dürkheim
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
EMS	Rhein-Lahn-Kreis
enth.	enthalten
fragl.	fraglich

g	Glycoprotein
GeflPestSchV	Verordnung zum Schutz gegen die Geflügelpest
GfSalmoV	Verordnung zum Schutz gegen bestimmte Salmonellen- infektionen beim Haushuhn und bei Puten
GER	Landkreis Germersheim
Geschl.	Geschlecht
H	Hämagglutinin
HAHT	Hämagglutinationshemmungstest
H-Antigen	Flagellenantigen
HEV	Hepatitis E-Virus
HPAIV	Highly Pathogenic Avian Influenza Virus (hoch pathogenes aviäres Influenza Virus)
HRPO	horseradish peroxidase (Meerrettichperoxidase)
i.d.	in der
IA	Influenza A
IfSG	Infektionsschutzgesetz
IFT	Immunfluoreszenztest
Ig	Immunglobulin
IVPI	intravenöser Pathogenitätsindex
J	Jahr
JJ	Jagdjahr
JS	Jagdstrecke
KBR	Komplementbindungsreaktion
kg	Kilogramm
KH	Landkreis Bad Kreuznach
KIB	Donnersbergkreis
KID	Kolonie infektiöse Einheit
KL	Landkreis Kaiserslautern
km	Kilometer
km <sup>2</sup>	Quadratkilometer
KO	Koblenz Stadt
KSP	Klassische Schweinepest
KUS	Landkreis Kusel
l	Liter

---

log	Logarithmus
LPAIV	Low Pathogenic Avian Influenza Virus (niedrig pathogenes aviäres Influenza Virus)
LPS	Lipopolysaccharid
LTierSG	Landestierseuchengesetz
LUA	Landesuntersuchungsamt Rheinland-Pfalz, Institut für Tierseuchendiagnostik, Blücherstraße 34, 56073 Koblenz
m	männlich
min.	Minuten
ml	Milliliter
MTP	Mikrotiterplatte
MULEWF	Ministerium für Umwelt, Landwirtschaft, Ernährung, Weinbau und Forsten
MYK	Landkreis Mayen-Koblenz
MZ	Landkreis Mainz-Bingen
n	Anzahl
N	Neuraminidase
nAK	neutralisierende Antikörper
nm	Nanometer
NR	Landkreis Neuwied
Nr.	Nummer
NW	Neustadt an der Weinstraße, Stadt
O-Antigen	somatisches Antigen
OD	optische Dichte
OPS	Polysaccharid O-Seitenkette
p.i.	post infectionem
pos.	positiv
Pr.	Probe
PrV	Pseudorabies Virus
PS	Landkreis Südwestpfalz
RBT	Rose-Bengal-Test
RDE	Receptor Destroying Enzyme
RLP	Rheinland-Pfalz

---

RNA	RiboNukleic acid (RiboNukleinsäure)
RP	Rhein-Pfalz-Kreis
Salm.	Salmonellen
SchwSalmoV	Verordnung zur Verminderung der Salmonellen- verbreitung durch Schlachtschweine
SI	Schweineinfluenza
SIM	Rhein-Hunsrück-Kreis
SIV	Schweineinfluenza-Viren
SLA	Serumlängsamagglutination
SNT	Serumneutralisationstest
ssp.	Subspezies
SHV-1	Suides Herpesvirus Typ 1
SÜW	Landkreis Südliche Weinstraße
TierSeuchAnzV	Verordnung über anzeigepflichtige Tierseuchen
TierSG	Tierseuchengesetz
TKrMeldpfIV	Verordnung über meldepflichtige Tierkrankheiten
TMB	Tetramethylbenzidin
TR	Landkreis Trier-Saarburg
TSN	Tierseuchen-Nachrichten-System
U/min	Umdrehungen pro Minute
UZ 1	Untersuchungszeitraum 1, Oktober bis Januar 2011/12
UZ 2	Untersuchungszeitraum 2, Oktober bis Januar 2012/13
UZ 3	Untersuchungszeitraum 3, Oktober bis Januar 2013/14
Verd.-Mi.	Verdünnungsmittel
Verd.-Puff.	Verdünnungspuffer
Verh.	Verhältnis
Vi-Antigen	Kapselantigen
w	weiblich
WIL	Landkreis Bernkastel-Wittlich
WW	Westerwaldkreis
z. B.	zum Beispiel
zpE	zytopathogener Effekt
%	Prozent
§	Paragraf

°C                      Grad Celsius

μl                      Mikroliter

## 1. EINLEITUNG

Das Verbreitungsgebiet des Wildschweins (*Sus scrofa*, LINNAEUS, 1758) erstreckt sich in Europa von Portugal und Spanien über alle west- süd- und mitteleuropäischen Länder und über den Balkan sowie über den größten Teil des europäischen Russland. Es kommt auch im Bundesland Rheinland-Pfalz (Deutschland) vor, wobei die Anzahl jagdlich erlegter Tiere dort in den letzten Jahrzehnten insgesamt stetig angestiegen ist.

Die Schwarzwildpopulation wird als potentieller Überträger von Krankheitserregern auf Hausschweinebestände angesehen, die dort teilweise zu großen wirtschaftlichen Verlusten führen können. Bei Hausschweinen in Deutschland zählen die Erreger der Aujeszky'schen Krankheit und der Brucellose zu den anzeigepflichtigen Tierseuchen. Einige der bei Wildschweinen vorkommenden Erreger sind auch auf den Menschen übertragbar. So stellt das Wildschwein eine zoonotische Bedrohung dar, wenn es mit Pathogenen wie Influenza A- oder Hepatitis E-Viren, Brucellen oder Salmonellen infiziert ist. Zur Verbreitung der genannten Pathogene in der rheinland-pfälzischen Wildschweinpopulation liegen bisher keine oder nicht ausreichende Daten vor.

Das Virus der Klassischen Schweinepest (KSP) gehört zu den meist gefürchteten Tierseuchenerregern. Im Rahmen eines Monitorings dieser Erkrankung bei Wildschweinen in Rheinland-Pfalz werden Tiere entsprechend der Tierseuchenrechtlichen Anordnung des Landesuntersuchungsamtes Rheinland-Pfalz zum Schutz gegen die Schweinepest von den Jagd Ausübungsberechtigten beprobt und die Proben an das Landesuntersuchungsamt, Institut für Tierseuchendiagnostik in Koblenz gesandt.

Dieser Probenpool wurde genutzt, um eine flächendeckende Untersuchung auf Antikörper gegen die Erreger von Aujeszky'scher Krankheit, Hepatitis E, Influenza A, Brucellose und Salmonellose bei Wildschweinen in Rheinland-Pfalz durchzuführen. Ziel dieser Arbeit war die Ermittlung der Seroprävalenzen in der Wildschweinpopulation über die gesamte Fläche des Bundeslandes. Dazu wurde jede der insgesamt 1.936, nach einem geschichteten Stichprobenplan ausgewählten Proben aus den drei aufeinanderfolgenden Jagdjahren 2011/12 bis 2013/14, serologisch auf Antikörper gegen die genannten Erreger untersucht. Neben der

Alters- und Geschlechtsabhängigkeit wurden insbesondere die geografische Verteilung und Häufung von Antikörpernachweisen sowie der chronologische Verlauf der Seroprävalenzen untersucht.

## 2. LITERATURÜBERSICHT

### 2.1. Das Wildschwein

Das Wildschwein (*Sus scrofa* LINNAEUS, 1758) gehört zur Familie der echten Schweine (*Suidae*) aus der Ordnung der Paarhufer (*Artiodactyla*), Unterordnung der Nichtwiederkäuer (*Suiformes*) (AHNE et al., 2000). Es kommt in Europa (z. B. in Deutschland, Italien, Belgien und Frankreich), aber auch in Gebieten in Amerika, Australien, Asien und Nordafrika vor (GOLZE, 2007). In ganz Mitteleuropa ist ausschließlich die Terminalform (*Sus scrofa scrofa*) vertreten (HENNIG, 2007).

Unter Jägern wird das Wildschwein als Schwarzwild bezeichnet (HENNIG, 2000). Die Tiere werden unabhängig vom Geschlecht im ersten Lebensjahr als „Frischlinge“ und während des zweiten Lebensjahres als „Überläufer“ bezeichnet. Ab einem Alter von über zwei Jahren werden männliche Tiere als „Keiler“ und weibliche Tiere als „Bache“ benannt (GOLZE, 2007; HAPP, 2007).

#### 2.1.1. Lebensraum und Streifgebiete

Wildschweine können in sehr verschiedenartigen Lebensräumen, wie Sumpf-, Feld-, und Waldlandschaften gefunden werden (GOLZE, 2007), auch wenn bewaldetes Gebiet bevorzugt wird (ABAIGAR et al., 1994).

In für sie günstigem Gelände sind Wildschweine weitgehend standorttreu. Der Aktionsradius verschiedener Rotten, wie die Sozialgruppen in denen die Tiere leben genannt werden, kann sich auch auf überschneidende Gebiete erstrecken. Die Größe des Streifgebiets ist abhängig von der Beschaffenheit des Geländes (BRIEDERMANN, 2009; MEYNHARDT, 1989). Sie sind meist zwischen ca. 5 km<sup>2</sup> und 12 km<sup>2</sup> groß (HAHN und EISFELD, 1998; KEULING et al., 2008). Wildschweine können bis zu 50 km pro Tag zurücklegen, wobei auch Barrieren wie größere Flüsse kein Hindernis darstellen (ANDRZEJEWSKI und JEZERSKI, 1978). Bei Untersuchungen von Stubbe (in Briedermann, 1980) stammten weniger als 2 % der

markierten, erlegten Tiere von weiter als 50 km Entfernung. Einige Tiere waren über 100 km weit gewandert.

### 2.1.2. Fortpflanzung und Sozialverhalten

Die Fortpflanzungszeit wird bei Wildschweinen auch Rauschezeit genannt und liegt hauptsächlich im Spätherbst, beginnend im Oktober mit Schwerpunkt im November bis Januar. Grundsätzlich gibt es keine Jahreszeit, zu der keine Bachen rauschen und demzufolge auch keine Jahreszeit, in der keine Frischlinge geboren werden. Die weitaus meisten Geburten finden von Februar bis Mai statt, ein zweiter, geringerer Höhepunkt liegt in der Zeit von Juli bis September (HENNIG, 2007). In Abhängigkeit von der Kondition und dem Alter des Muttertieres variiert die Wurfgröße zwischen ein bis zehn Jungtieren (STUBBE und STUBBE, 1977). Meist werden von adulten Bachen zwischen fünf und sechs Frischlinge geboren (BRIEDERMANN, 1971; WIESNER, 1987). Bei Frischlingsbachen beträgt die durchschnittliche Wurfgröße 3,2 (MEYNHARDT, 1988). Am Reproduktionsgeschehen sind bis zu 85 % der Frischlingsbachen ab einem Alter von sieben bis zehn Monaten, 95 % der Überläuferbachen und 95 % der mehrjährigen Bachen beteiligt (GETHÖFFER, 2005). Frischlinge kommen nach einer Tragezeit von  $115,2 \pm 2,3$  Tagen (HENRY, 1968) zur Welt und werden drei bis vier Monate gesäugt.

Weibliche Tiere leben gewöhnlich in Gruppen mit ihrem Nachwuchs und juvenilen Tieren (RUIZ-FONS, 2012). Innerhalb dieser Rotte herrscht eine feste Rangordnung, die sich hauptsächlich am Alter orientiert. Die älteste Bache wird Leitbache genannt und synchronisiert durch die Änderung ihres Hormonspiegels die Rausche in der Rotte und organisiert die Nahrungssuche und Raumnutzung (HAPP, 2007; HENNIG, 2000; MEYNHARDT, 1989).

Männliche Überläufer werden aus der Rotte verstoßen und leben entweder in kleinen Überläuferrotten oder als Einzelgänger (BRIEDERMANN, 2009). Im Allgemeinen wird der Keiler im zweiten Lebensjahr geschlechtsreif (BRIEDERMANN, 2009). Adulte männliche Tiere leben die meiste Zeit im Jahr solitär, außer in der Paarungszeit haben sie normalerweise keinen Kontakt zu den weiblichen Gruppen (RUIZ-FONS, 2012).

### 2.1.3. Ernährung

Wildschweine sind Allesfresser und ernähren sich unter anderem von Eicheln und Bucheckern. Auch Engerlinge, Raupen, Larven, Kleintiere und Aas werden gefressen sowie Rehkitze und Hasen (GERHARD et al., 2010). Kannibalismus kommt unter Schwarzwild ebenfalls vor (GORTAZAR et al., 2002). Landwirtschaftliche Kulturpflanzen wie Mais, Getreide und Kartoffel stellen einen beträchtlichen Teil der aufgenommenen Nahrung. Deren Anteil schwankt abhängig vom natürlichem Nahrungsangebot in den Wäldern zwischen durchschnittlich 43 % und 70 % (BRIEDERMANN, 1967; 2009).

### 2.1.4. Gewichtsentwicklung und Lebenserwartung

Das Geburtsgewicht der Frischlinge beträgt im Mittel 1,1 kg. Die Körpermassenzunahme ist bei den Geschlechtern unterschiedlich ausgeprägt. Die durchschnittlich erreichten Körpermassen [Auszug aus der Tabelle von Koslo, 1975 (in Briedermann 2009)] sind in Tabelle 1 dargestellt. Adulte Bachen können ein Gewicht von 50 - 90 kg erreichen, ausgewachsene Keiler bis zu 150 kg wiegen (GOLZE, 2007).

Unter natürlichen Bedingungen können Wildschweine 8 – 10 Jahre, in Gefangenschaft 15 – 20 Jahre alt werden (GOLZE, 2007; MEYNHARDT, 1989).

**Tabelle 1:** Durchschnittliche Entwicklung der Körpermasse von Wildschweinen in kg;  
Quelle: Koslo, 1975 (Auszug), in Briedermann 2009

Altersgruppe	männlich, Körpermasse in kg	weiblich, Körpermasse in kg
20 Tage bis 4 Monate	13,3	13,4
9 bis 12 Monate	32,9	30,3
19 bis 26 Monate	53,7	50,4

## 2.2. Aujeszky'sche Krankheit

### 2.2.1. Erreger

Der Erreger der Aujeszky'schen Krankheit, Synonyme: Pseudorabiesvirus-Infektion oder Pseudowut, ist das suide Herpesvirus vom Typ 1 (SHV-1). Es handelt sich um ein behülltes Virus aus der Familie der *Herpesviridae* (OSTERRIEDER, 2011) innerhalb der Subfamilie der *Alphaherpesvirinae* im Genus *Varicellovirus* (INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES, 2013a). Es hat einen Durchmesser von ca. 150 – 180 nm (RUIZ-FONS, 2012) mit einem DNA-Doppelstranggenom und ikosaedrischer Symmetrie des Kapsids Vier Genotypen (1 - 4) von SHV-1 werden beschrieben, aber es existiert nur ein Serotyp (FONSECA et al., 2011). Zwischen den einzelnen Virusstämmen bestehen große Unterschiede bezüglich der Virulenz (EICH, 1983).

Tiere aus der Familie der *Suidae* sind die einzigen natürlichen Wirte des SHV-1 (KLUGE et al., 1992; MÜLLER et al., 2011), auch wenn eine große Anzahl anderer Tierarten infiziert werden können (MÜLLER et al., 2011).

Die Genotypen 1 und 2 des SHV-1 sind weltweit verbreitet. Die Genotypen 3 und 4 wurden erstmals in Thailand und Dänemark beschrieben (CHRISTENSEN, 1995). Derzeit ist in der Wildschweinpopulation in Europa vorrangig Genotyp 1 prävalent. Wie viele Varianten des Virus derzeit bei Wildschweinen in Europa zirkulieren und wie diese in Zusammenhang stehen, ist unbekannt (MÜLLER et al., 2010b). In 28 Wildschweinproben aus verschiedenen europäischen Ländern gehörten nahezu alle zu Genotyp 1. Die meisten (n = 17) Isolate ähnelten genetisch dem Virusstamm Kaplan und wurden als Subtyp Ip identifiziert. In neun Tieren wurde der Subtyp Iw gefunden. Die identifizierten Nukleotid-Sequenzen erlauben die Unterteilung in zwei monophyletische Gruppen. Zur einen gehören Tiere aus Nordrhein-Westfalen, Rheinland-Pfalz (Deutschland), Frankreich und Spanien. Zur anderen Tiere aus Brandenburg, Baden-Württemberg, Sachsen, Sachsen-Anhalt (Deutschland), Slowakei, Italien, Frankreich und Ungarn (MÜLLER et al., 2010b). In Rheinland-Pfalz wurde im Jahr 2000 bei einem Wildschwein Genotyp 1 (Subtyp Ip), dessen typischer Vertreter der Referenzstamm Kaplan darstellt, nachgewiesen (ZIMMER, 2013).

Wildschweine werden derzeit als Virusreservoir für SHV-1 in Europa angesehen (RUIZ-FONS, 2012). Auch wenn bis heute eine Übertragung auf Hausschweine in Deutschland und Europa nicht dokumentiert wurde (MÜLLER et al., 2003), stellen mit SHV-1 infizierte Wildschweinbestände eine andauernde Gefahr des Viruseintrags in von Aujeszky'scher Krankheit freie Hausschweinbestände dar (MÜLLER et al., 2011). Allerdings handelt es sich bei Haus- und Wildschwein vermutlich um unterschiedliche Infektionskreisläufe (MÜLLER et al., 2011; MÜLLER et al., 1998; PANNWITZ et al., 2012). Einige Autoren vermuten persistent infizierte Frischlinge als Hauptüberträger innerhalb der Wildschweinpopulationen (LUTZ et al., 2003). Bei Hausschweinen in Zentraleuropa überwog in den letzten Jahren Genotyp 2 (MÜLLER et al., 2010b; STEINRIGL et al., 2012).

## **2.2.2. Aujeszky'sche Krankheit bei Wild- und Hausschwein**

### **2.2.2.1. Klinik und Erkrankung**

Die Übertragung von SHV-1 erfolgt oral, nasal, genital, kolostral und intrauterin sowie über belebte und unbelebte Vektoren (HEINRITZI, 2006), aerogen (GILLESPIE et al., 2000) und durch Kannibalismus (HAHN et al., 1997). Nach oronasaler Infektion repliziert das Virus in den Epithelzellen des oberen Respirationstrakts und kann direkt die Nervenendigungen der sensorischen Neuronen im Nasopharynx, speziell des Nervus olfactorius, Nervus trigeminus und Nervus glossopharyngeus erreichen (METTENLEITER, 2000; METTENLEITER et al., 2012). Durch axonalen, retrograden Transport erreicht das Virus die Zellkörper der infizierten Neuronen, wo es sich weiter vermehrt oder eine latente Infektion verursacht. SHV-1 ist in der Lage, Synapsen zu überwinden und so auch Neuronen höherer Ordnung zu infizieren (POMERANZ et al., 2005). Durch Virämie gelangt das Virus in viele Organe und repliziert im Epithel, Gefäßendothel, Lymphozyten und Makrophagen (KRITAS et al., 1999; METTENLEITER, 2000). Charakteristisch für Herpesviren ist die Fähigkeit zur Entwicklung latenter Infektionen, die zeitlebens (HEINRITZI, 2006) überwiegend in den Ganglia trigeminale persistieren. Der Ausprägungsgrad der klinischen Symptome ist stark von Alter und Immunstatus des Tieres sowie der Infektionsdosis und Virulenz des Virusstammes abhängig (NAUWYNCK, 1997). Auch wurden

unterschiedliche Empfindlichkeiten zwischen Schweinepopulationen beschrieben (REINER et al., 2002).

Bei Saugferkeln stehen nach einer Inkubationszeit von zwei bis vier Tagen (KLUGE et al., 1992) Fieber und eine akute bis perakute Gehirn- und Rückenmarksentzündung im Vordergrund. Die daraus resultierenden neurologischen Störungen sind unter anderem Zwangsbewegungen, epileptiforme Anfälle, zwanghafte Seitenlage und Ruderbewegungen sowie opisthotone Kopfhaltung, auch gastro-intestinale Symptome kommen vor. Bei nicht immunen Ferkeln bis zum Alter von 14 Tagen treten bereits nach 36 – 48 Stunden Symptome auf (HEINRITZI, 2006). Die Letalität beträgt bei Saugferkeln nahezu 100 % (KLUGE et al., 1992).

Ferkel im Alter von drei bis vier Wochen zeigen einen langsameren Krankheitsverlauf mit einer geringeren Letalität von 50 – 70 % (HEINRITZI, 2006). Bei älteren Ferkeln treten nach drei bis sechs Tagen neben Fieber und Gewichtsverlust respiratorische Erscheinungen auf. Nach fünf bis zehn Tagen genesen die meisten Tiere wieder. Tiere mit zentralnervösen Störungen oder Sekundärinfektionen der Lunge sterben oft. Die Letalität liegt meist unter 10 %. (KLUGE et al., 1992).

Bei Läufern und Mastschweinen ist der Verlauf der fieberhaften Infektion mit SHV-1 milder, die Tiere zeigen zentralnervöse Dämpfung, Kaubewegungen, Speicheln, Schläfrigkeit und ggf. Hinterhandschwäche. Respiratorische Erscheinungen und Anorexie stehen im Vordergrund und die Letalitätsrate ist sehr gering. Ältere Mastschweine können symptomlos bleiben (HEINRITZI, 2006).

Bei adulten Tieren manifestiert sich die Infektion, abgesehen von möglicher Somnolenz und zwanghafter Motorik der Kaumuskulatur, meist im Reproduktionstrakt (HEINRITZI, 2006). Erscheinungen bei weiblichen adulten Schweinen sind abhängig vom Trächtigkeitsstadium und äußern sich in Embryontod (Umrauschen), Aborten und Todgeburten zusätzlich zu respiratorischen Symptomen und Fieber (KLUGE und MARE, 1974; METTENLEITER et al., 2012; NAUWYNCK, 1997). Bei Ebern kommt es zu Orchitits und Periorchitis (NAUWYNCK, 1997). Nach Einschleppung in den Bestand ist anfangs mit deutlicher Klinik zu rechnen, dann sinkt die Morbiditätsrate ab (HEINRITZI, 2006). Nach Durchseuchung kommt es zur klinischen Immunität, aber

die Virusausscheidung kann, besonders unter Stresseinfluss, weiter stattfinden (EICH, 1983).

Europäische Wildschweine sind hochempfindlich für die intranasale Infektion mit SHV-1 (MÜLLER et al., 2001). Beim Schwarzwild sind klinische Erscheinungen selten, was darauf hinweist, dass dort zirkulierende Virusvarianten an die Wirtspopulation adaptiert sind und für diese nur geringe Virulenz besitzen (MÜLLER et al., 2001; TOZZINI et al., 1982). Bei einem Ausbruch der Aujeszky'schen Krankheit bei Wildschweinen in Spanien zeigten juvenile und adulte Tiere klinische Symptome, die Mortalität lag zwischen 14 % bei juvenilen und 7,5 % bei adulten Tieren (GORTAZAR et al., 2002). Auch in Deutschland wurden Wildschweine mit neurologischen Störungen gefunden (SCHULZE et al., 2010).

Die experimentelle Infektion von Wildschweinen und Schweinen mit virulenten Stämmen führte zu den gleichen starken Krankheitserscheinungen (MÜLLER et al., 2001).

### **2.2.2.2. Immunreaktion und passive Immunität**

Das SHV-1 ist immunologisch einheitlich (EICH, 1983). Dass die Infektion mit SHV-1 eine humorale (HAFFER et al., 1980) und zellvermittelte (GUTEKUNST, 1979; GUTEKUNST und PIRTLE, 1979; WITTMANN, 1976) Immunantwort auslöst, ist allgemein anerkannt. Die humorale Immunantwort, die nach experimenteller Infektion oder Impfung bei Schweinen nachgewiesen wurde, beruht auf Virusneutralisierenden Antikörpern, Antikörpern welche eine antikörperabhängige zellmedierte Zytotoxizität auslösen und solchen, die fähig sind, eine komplementvermittelte Lyse der infizierten Zielzellen einzuleiten (MARTIN et al., 1986; WITTMANN et al., 1985a; 1985b).

Insbesondere die Glycoproteine (g) C und D der Virushülle induzieren die Bildung neutralisierender Antikörper. Im Frühstadium der Infektion verhindern diese die Adhäsion und Invasion der Zellen (RUIZ-FONS, 2012). Aber auch nicht neutralisierende monoklonale Antikörper gegen gB, gC, gD und gE können das Virus in Anwesenheit von Komplement inaktivieren (FUCHS et al., 1990; NAKAMURA et al., 1990; WATHEN et al., 1985).

Bei Infektion mit dem SHV-1 kommt es nach wenigen Tagen zur zellvermittelten Immunität und dann zur Antikörperbildung. Nach Reinfektion kann es aber trotzdem zur Virusvermehrung und Ausscheidung kommen, da diese Immunreaktion nicht in der Lage ist, das Virus zu eliminieren. Bei überlebenden Tieren geht die akute Infektion stets in eine latente Infektion über, da das Virusgenom lebenslang in den Zellen des Zentralnervensystems, den Tonsillen und in Lymphknoten persistiert (RUIZ-FONS, 2012; WITTMANN, 1984).

Die Reaktivierung oder die erneute Infektion kann in einem Anstieg der Virusneutralisierenden Antikörper resultieren, jedoch gibt es keinen Beweis für eine spezifische Immunantwort auf die Reaktivierung (MENGELING, 1991).

Es wurde gezeigt, dass eine einmalige Infektion mit einem von Wildschweinen stammenden SHV-1 mit geringer Virulenz, wie es in dieser Population zirkuliert, eine langanhaltende, stabile Immunität induziert (MÜLLER et al., 2005).

Bei vergleichender experimenteller Infektion von Schweinen und Wildschweinen werden erstmals spezifische Antikörper gegen SHV-1 am Tag sieben post infectionem (p.i.) gefunden. Neutralisierende Antikörper im Serumneutralisationstest werden ab Tag 15 p.i. oder später detektiert. Die gefundenen Titer an neutralisierenden Antikörpern sind relativ gering, aber in Arealen wo SHV-1 endemisch bei Schwarzwild ist, werden wesentlich höhere Titer neutralisierender Antikörper gefunden (MÜLLER et al., 2001). Eine experimentelle Infektion von Hausschweinen mit verschiedenen SHV-1 Virusisolaten zeigte, dass im Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) nach fünf bis sechs Tagen Antikörper nachweisbar sind, neutralisierende Antikörper ab neun bis zehn Tagen p.i. (MARTIN et al., 1983).

Bis zum siebten Tag p.i. gehören bei Schweinen nachweisbare Antikörper ausschließlich zur Immunglobulin (Ig)-M-Antikörperklasse. Antikörper der IgG-Klasse treten ab dem siebten Tag p.i., IgA ab dem zehnten Tag p.i. auf (RODAK et al., 1987). Nach achtzehn Tagen sind alle drei Antikörperklassen bei infizierten Tieren weiterhin nachweisbar, bei Impfungen nur noch IgG (RODAK et al., 1987). In einer anderen Studie wurden die ersten seropositiven Tiere im Virusneutralisationstest zwölf Tage p.i. identifiziert (HAFFER et al., 1980).

Maternale Antikörper werden von Wildschweinsauen auch noch Jahre nach der Infektion übertragen. Die Menge der übertragenen Antikörper ist abhängig vom Antikörpertiter der Mutter und der aufgenommenen Kolostrummenge (MÜLLER et al., 2005). Kolostral übertragene Antikörper gegen ein aus Wildschweinen in Deutschland isoliertes SHV-1 sind bei Frischlingen bis zu 27 Wochen im ELISA nachweisbar, während neutralisierende Antikörper nur bis zu 15 Wochen post partum vorhanden sind. Die Halbwertszeit der neutralisierenden maternalen Antikörper beträgt beim Schwarzwild 21 Tage (MÜLLER et al., 2005). Bei Ferkeln von natürlich oder experimentell infizierten Hausschweinen war IgM und IgG in den ersten Lebensstagen nachweisbar. Während die IgM-Antikörper rapide auf nicht detektierbare Mengen abfielen, persistierte IgG sehr viel länger. Wie lange sie erhalten blieben, war von der Ursprungskonzentration abhängig. Sauen, die mit einem hoch virulenten Stamm infiziert waren, gaben eine größere Menge spezifischer Antikörper an ihren Nachwuchs weiter, als die mit gering virulenten Stämmen, deren Ferkel im Alter von drei Wochen praktisch keine Antikörper mehr hatten. Einige Tiere entwickelten eine spezifische IgM-Immunantwort ab etwa neun Wochen nach der letzten Kolostrumaufnahme (IGLESIAS und TRUJANO, 1989).

### **2.2.2.3. Vorkommen von Antikörpern beim Wildschwein**

Adulte Tiere sind häufiger seropositiv als Läufer und Frischlinge (LUTZ et al., 2003; PANNWITZ et al., 2012; VENGUST et al., 2005), die Seroprävalenz kann je nach Region und Probenanzahl stark variieren (MÜLLER et al., 2011).

Eine Langzeitstudie in Sachsen-Anhalt (n = 7.209) der Jahre 2000 – 2011 kam zu dem Ergebnis, dass die Antikörperprävalenz in der Zeit bis 2009 signifikant von 4,5 % auf 9,1 % anstieg und sich die Infektion in nord-westlicher Richtung ausbreitet. Die seropositiven Proben waren extrem heterogen verteilt mit Clusterbildung im Osten des Gebiets (DENZIN et al., 2013).

In Bayern wurden 3.034 Proben aus dem Jahr 2013 auf Antikörper gegen SHV-1 untersucht, es wurden insgesamt in 7,1 % der beurteilbaren Proben Antikörper nachgewiesen. Die Seroprävalenzen waren in Niederbayern 21,4 %, in Unterfranken 7,4 %, in der Oberpfalz 6,9 %. In Oberbayern, Oberfranken, Schwaben und

Mittelfranken lagen die Prävalenzen zwischen 0,7 % und 2,9 % (SCHÜRMAN et al., 2013).

Eine Langzeitstudie zeigte insgesamt eine Zunahme der Seroprävalenz von Antikörpern gegen SHV-1 bei Wildschweinen aus Ostdeutschland von 0,4 % auf 15,9 % im Zeitraum von 1985 - 2008 sowie eine Ausbreitungstendenz nach Westen (PANNWITZ et al., 2012). In den Jahren 2006 bis 2008 hatten 18 % der 66 betroffenen Gebiete eine Seroprävalenz über 30 %. Die Seroprävalenzen differierten nicht zwischen den Geschlechtern, aber zwischen den Altersgruppen und betrug 4,7 % bei Tieren von unter einem Jahr, 10,1 % bei Tieren von 1 – 2 Jahren und 16,7 % bei älteren Tieren. Insgesamt zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Wildschweindichte und den ermittelten Seroprävalenzen; dieser Zusammenhang traf allerdings nicht für alle Gebiete zu (PANNWITZ et al., 2012).

Von Schwarzwildproben aus Bayern (n = 20), Rheinland-Pfalz (n = 11) und Baden-Württemberg (n = 63), aus 2010 waren mittels ELISA vier Tiere positiv - zwei weibliche (56 kg, > 2 Jahre bzw. 45 kg, Überläufer) sowie zwei männliche (82 kg, > 2 Jahre bzw. 35 kg, Überläufer) Wildschweine aus je einem Jagdgebiet in Bayern bzw. Rheinland-Pfalz (SATTLER et al., 2012).

Proben aus 2008, die in Sachsen-Anhalt untersucht wurden (n = 1.300), wiesen zu 5,3 % Antikörper gegen SHV-1 mit Clusterbildung im Osten auf (BORGWARDT, 2008). In den Jahren 2007 – 2010 (n = 3.800) waren 6,2 % der Wildschweinproben seropositiv, mit örtlichen Prävalenzen von bis zu 30 % (BORGWARDT, 2011).

Bei zufällig ausgewählten Schwarzwildproben aus dem Jahr 2010 in Rheinland-Pfalz (n = 100) wurden im ELISA (gB) in 5 % der Proben Antikörper gegen SHV-1 nachgewiesen. Die Proben stammten aus 15 Landkreisen und zwei kreisfreien Städten. Die Mehrheit der untersuchten Wildschweine war 1 - 2 Jahre alt (n = 79). Von den männlichen Tieren (n = 68) gehörten 54 Tiere zu dieser Altersgruppe. Fünf Proben aus den Landkreisen Bernkastel-Wittlich (1 von 3), Vulkaneifel (1 von 5) und Ahrweiler (3 von 7) waren positiv. Die Geschlechterverteilung der Positiven war unauffällig. Keines der fünf positiven Tiere war unter einem Jahr alt. Von den 79 Tieren im Alter von 1 – 2 Jahren waren 3,8 %, von den 16 Tieren im Alter von über zwei Jahren waren 12,5 % positiv (LANDESUNTERSUCHUNGSAMT KOBLENZ, 2010).

In 1.221 Proben aus verschiedenen Jagdjahren die auf Antikörper gegen SHV-1 untersucht wurden, wurden folgende Prävalenzen festgestellt: Mecklenburg-Vorpommern (1997 / 1998: 13,1 % positiv und 2000 / 2001: 18 % positiv), Sachsen-Anhalt (2001 / 2002: 5,9 % positiv), Baden-Württemberg (2001 / 2002: 6,9 % positiv), Brandenburg (2004 / 2005: 15,7 % positiv) und Rheinland-Pfalz (2005: 6,0 % positiv). Die rheinland-pfälzischen Proben stammten aus den südlichen Landesteilen. Insgesamt waren 11,26 % der untersuchten Wildschweine im ELISA positiv (KADEN et al., 2009).

In den Jahren 1985 – 1995 und 2004 – 2005 wurde für Brandenburg eine durchschnittliche Seroprävalenz von 2,6 % und 17 % und in Sachsen in den Jahren 2002 – 2006 von 11,9 % ermittelt. Die Seroprävalenz war in den Jahren kontinuierlich angestiegen, die regionalen Prävalenzen waren sehr unterschiedlich und lagen, je nach Landkreis und Jahr, zwischen 0 % und 49,5 % in Brandenburg und 0 % - 66,7 % in Sachsen (MÜLLER et al., 2006).

Bei ausschließlich weiblichen Tieren aus den Jahren 2003 – 2005 aus der Westeifel wiesen annähernd 47 % der Überläufer (n = 15) und 46 % der adulten Tiere (n = 13) Antikörper gegen SHV-1 auf (GETHÖFFER, 2005).

Im Jahr 2000 wurden Proben von Schwarzwild (n = 777) aus der Region Eifel in Rheinland-Pfalz serologisch untersucht, nachdem bei zwei Jagdhunden und einem Wildschwein das SHV-1 nachgewiesen wurde. Insgesamt 22 % waren im ELISA positiv, 11 % in der Serumneutralisation (nachfolgend als Bestätigungstest durchgeführt), wobei von den ELISA positiven im Serumneutralisationstest zwei Proben (1,17 %) verdächtig, 18 Proben (10,53 %) negativ und 64 Proben (37,4 %) nicht auswertbar waren (LANDESUNTERSUCHUNGSAMT KOBLENZ, 2000).

In Proben die zwischen 1993 und 2000 in Nordrhein-Westfalen entnommen wurden (n = 929), wurde eine Prävalenz von 9,4 % bezüglich SHV-1 spezifischer Antikörper festgestellt. Die durchschnittliche Seroprävalenz in der Eifel lag bei 11,4 % (LUTZ et al., 2003). In einer vorangegangenen Studie lag die Seroprävalenz in Nordrhein-Westfalen bei 7 % und stieg mit dem Alter der getesteten Tiere (LUTZ und WURM, 1996).

Proben (n = 841) aus dem Jahr 1991 / 1992 aus vier Regierungsbezirken Niedersachsens waren im ELISA (anti-IgG-Konjugat) zu 0,6 % seropositiv, im

Virusneutralisationstest (n = 661) mit Zusatz von Meerschweinchenkomplement waren 1,5 % (11 Proben), ohne Meerschweinchenkomplement 5 Proben positiv bezüglich SHV-1-Antikörpern (DAHLE et al., 1993).

#### **2.2.2.4. Vorkommen von Antikörpern beim Hausschwein**

Wegen der beträchtlichen wirtschaftlichen Verluste die die Aujeszky'sche Krankheit in der Schweinehaltungen verursacht, zählt sie zu den bedrohlichsten Krankheiten bei Hausschweinen (PANNWITZ et al., 2012).

Heute ist das SHV-1 in weiten Teilen Europas bei Hausschweinen nahezu verschwunden (MOYNAGH, 1997). In infizierten Schweinebeständen unterliegt der Seuchenverlauf jahreszeitlichen Schwankungen mit Höhepunkt in den Monaten Dezember bis April. Für die Ausbreitung der Krankheit ist die Viruslatenz von entscheidender epidemiologischer Bedeutung (WITTMANN, 1984). Dank der Sanierungsmaßnahmen, bei denen teilweise auch eine gE-Deletionsvakzine, welche die Unterscheidung von infizierten und geimpften Tieren nach dem DIVA-Prinzip (Differentiating Infected from Vaccinated Animals) ermöglicht (MÜLLER et al., 2003; MÜLLER et al., 2012; VAN OIRSCHOT et al., 1986), eingesetzt wurde (WITTMANN, 1984), sind die Hausschweinebestände seit 2003 in Deutschland offiziell frei von Aujeszky'scher Krankheit (MÜLLER und METTENLEITER, 2003).

Der letzte Fall von Aujeszky'scher Krankheit bei einem Hausschwein wurde in Deutschland im Jahr 2000 in Nordrhein-Westfalen belegt. Seit dem sind nur vereinzelt Fälle bei Hunden und Wildschweinen aufgetreten (FRIEDRICH-LOEFFLER-INSTITUT, 2014c).

#### **2.2.3. Aujeszky'sche Krankheit bei anderen Tierarten**

Viele Tierarten sind für eine Infektion mit dem SHV-1 empfänglich. Einhufer, Vögel und niedere Affenspezies sind nur experimentell infizierbar (WITTMANN, 1984). Höhere Affenarten (WITTMANN, 1984) und der Mensch (OSTERRIEDER, 2011) scheinen resistent gegenüber einer Infektion mit dem Virus.

Für Hunde (SUTER, 1994), Waschbären (KIRKPATRICK et al., 1980), Katzen, Ratten, Mäuse (KLUGE et al., 1992) und Rinder (HEINRITZI, 2006; HEWICKER et al., 1988) endet die Infektion nach einer Inkubationszeit von ca. drei Tagen meist zwei bis drei Tage nach Auftreten der klinischen Symptome tödlich. Für die Übertragung innerhalb dieser Tiergruppen scheint die ausgeschiedene Virusmenge nicht auszureichend zu sein (EICH, 1983). Sie können das Virus aber auf Schweine übertragen (KLUGE et al., 1992).

Im Gegensatz zum Schwein ist bei anderen Tierarten starker Juckreiz oft das einzige klinisch beobachtete Symptom. (METTENLEITER et al., 2012).

#### **2.2.4. Zoonotische Bedeutung**

Da das Virus der Aujeszky'schen Krankheit für Menschen nicht pathogen ist (JENTZSCH und SCHWEIZER, 1970), wird SHV-1 nicht als zoonotisches Pathogen angesehen. Einige humane Erkrankungsfälle mit mildem Juckreiz und Pruritus an Körper und Extremitäten, der einige Tage anhielt, wiesen jedoch auf die Aujeszky'sche Krankheit als Ursache hin (ANUSZ et al., 1992).

#### **2.2.5. Anzeige- und Meldepflicht**

Die Aujeszky'sche Krankheit ist in Deutschland nach der Verordnung über anzeigepflichtige Tierseuchen bei Hausschweinen und Hausrindern anzeigepflichtig (TierSeuchAnzV, 2011). Wird bei anderen für die Aujeszky'sche Krankheit empfänglichen Tieren der Ausbruch oder der Verdacht eines Ausbruchs der Seuche amtlich festgestellt, so gelten die Maßnahmen von § 5a bis § 14 der Verordnung zum Schutz gegen die Aujeszky'schen Krankheit entsprechend (AujeszkkrV, 2005).

Nach Beschluss der Sitzung der Länderreferenten für Tierseuchenrecht vom 5. und 6. November 2012 sollen serologisch positive Ergebnisse und Virusnachweise bei Wildschweinen keinen Einfluss auf den Freiheitsstatus und die Export Zertifizierung haben. Von einer Eingabe dieser Ergebnisse im Tierseuchen-Nachrichten-System (TSN) ist seitdem abzusehen (ZIMMER, 2014).

## 2.2.6. Bekämpfung und Prävention

Die gesetzlich geregelte Bekämpfung der Aujeszky'schen Krankheit in Hausschweinebeständen erfolgt seit 1980, als die Anzeigepflicht mit der Verordnung zum Schutz gegen die Aujeszky'sche Krankheit eingeführt wurde (AujeszkKrV, 2005). Bis zu diesem Zeitpunkt gab es lediglich eine Meldepflicht, die Bekämpfung war den Bundesländern freigestellt (WITTMANN, 1984).

Im Sinne des § 2 sind nach Anlage 2 der Verordnung zum Schutz gegen die Aujeszky'sche Krankheit sind jährlich in allen Bundesländern je nach Tierbestand Untersuchungen in Zucht- und Mastschweinebeständen durchzuführen (Stichprobenschlüssel des Friedrich-Loeffler-Instituts), um den Freiheitsstatus in Deutschland aufrecht zu erhalten (AujeszkKrV, 2005). In Rheinland-Pfalz wurden 2014 demnach 713 Zucht- und 29 Mastbetriebe beprobt. Die Auswahl der Betriebe erfolgt durch das Landesuntersuchungsamt Koblenz als obere Landesbehörde, die Probenentnahme wird durch die jeweilige Kreisverwaltung beauftragt (PENNECKE, 2014).

Eine Impfung gegen SHV-1 ist epidemiologisch betrachtet nicht sinnvoll, da sich auch Impflinge unter bestimmten Bedingungen infizieren können und das Feldvirus dann dennoch ausscheiden. Der klinische Verlauf ist bei immunisierten Tieren ist milde und wird meist nicht erkannt (WITTMANN, 1984). In Ländern die als offiziell frei von Aujeszky'scher Krankheit gelten, sind die Impfung sowie Heilversuche an seuchenkranken und seuchenverdächtigen Schweinen entsprechend der Verordnung zum Schutz gegen die Aujeszky'sche Krankheit verboten (AujeszkKrV, 2005).

## 2.2.7. Methoden zum Antikörpernachweis

Serologische Test zum Nachweis von Antikörpern gegen SHV-1 sind auf Schweine ausgerichtet, da andere Tiere zu schnell sterben um Antikörper zu entwickeln (WELTORGANISATION FÜR TIERGESUNDHEIT, 2012).

In der Routinediagnostik hat sich der ELISA durchgesetzt, da er gut für große Probenmengen einsetzbar ist (MOENNING et al., 1982). Kommerziell erhältliche ELISA nutzen die indirekte oder kompetitive Technik. In von Aujeszky'scher Krankheit freien Regionen in denen nicht geimpft wird, kann für die Untersuchung, auch im Verdachtsfall, ein ELISA genutzt werden, der Antikörper gegen das Glykoprotein B (gB) des SHV-1 nachweist.

In Impfgebieten ermöglichen ELISA zum Nachweis von Antikörpern die gegen das Glykoprotein E (gE) gerichtet sind die Unterscheidung zwischen geimpften und infizierten Tieren, wenn eine entsprechende Vakzine genutzt wurde (ELOIT et al., 1989; VAN OIRSCHOT et al., 1986).

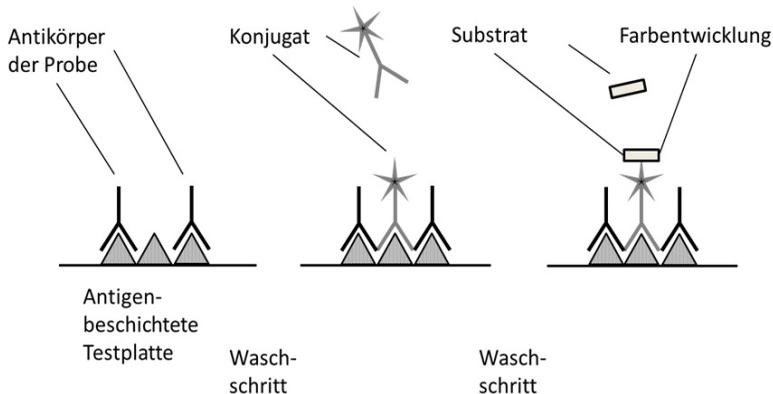
Der ELISA wird, besonders bezüglich der frühen Immunantwort gegen das SHV-1, als sensitiver im Vergleich zum Serum-Virus-Neutralisationstest angesehen (MARTIN et al., 1983) und detektiert sowohl IgG als auch IgM, abhängig von der Spezifität des Konjugats (SCHOENBAUM et al., 1990).

Im ELISA sind falsch positive und fragliche Ergebnisse zu erwarten, die einer weiteren Abklärung mit anderen Testmethoden bedürfen (MÜLLER et a., 2010a). Zum Antikörpernachweis zur Aufrechterhaltung des von Aujeszky'scher Krankheit freien Status und im Verdachtsfall dürfen nur zugelassene ELISA-Tests verwendet werden (FRIEDRICH-LOEFFLER-INSTITIUT, 2014a; 2014b).

Derzeit sind in Deutschland mehrere ELISA zugelassen, zum Beispiel IDEXX<sup>®</sup> PrV/ADV gI und IDEXX<sup>®</sup> PrV/ADV gB, IDEXX<sup>®</sup> Europe B.V.; PrioCHECK<sup>®</sup> PrV gB, Prionics Deutschland; SERELISA Aujeszky gI N, Symbiotics und der ID Screen<sup>®</sup> Aujeszky gB Competition der Firma ID VET(FRIEDRICH-LOEFFLER-INSTITIUT, 2014a). Der letztgenannte ELISA wurde auch in dieser Arbeit verwendet und weist Antikörper der IgM und IgG Klassen nach, die gegen das Glycoprotein B des SHV-1 gerichtet sind.

Das Testprinzip ist in Abbildung 1 dargestellt. Die Durchführung erfolgt auf Mikrotiterplatten (MTP) mit 96 Vertiefungen/Wells im Standardformat mit zwölf Spalten (1-12) und acht Reihen (A-H), die mit den entsprechenden Antigenen beschichtet sind. Befinden sich im Probandenserum Antikörper gegen das Antigen, bilden sich Antigen-Antikörper-Komplexe. Bei Zugabe von enzymmarkierten Antikörpern im Konjugat binden diese an das frei gebliebene Konjugat der MTP. Bei

Zugabe eines Enzymsubstrats wird ein Farbumschlag katalysiert, welcher umgekehrt proportional zur Menge der gebundenen Antikörper der Probe ist (ID VET® INNOVATIVE DIAGNOSTICS, 2013).



**Abbildung 1:** Funktionsprinzip eines Blocking-ELISA

Der Test erkannte von 306 Seren aus zwei verschiedenen Ausbrüchen in Frankreich und Italien alle als positiv und erreichte damit eine Sensitivität von 100 %. Auch die Spezifität des Tests wird mit 100 % angegeben (IDVET®, Stand 20.05.2014).

Zum Nachweis von Antikörpern gegen SHV-1 kann auch der Serumneutralisationstest (SNT), der spezifische und unspezifische virusneutralisierende Aktivität eines Testserums bestimmt, verwendet werden (EICH, 1983).

Dazu wird eine logarithmische Serumverdünnungsreihe hergestellt und mit einer definierten Virusdosis (Testvirus) auf eine für das Virus empfängliche Zellkultur verbracht und inkubiert. Die Beurteilung erfolgt durch eine mikroskopische Untersuchung der Zellkultur hinsichtlich des Auftretens eines zytopathogenen Effekts (zpE).

Sind ausreichend neutralisierende Antikörper (nAK) im Serum enthalten, wird das Virus neutralisiert, sodass das Virus nicht mehr an die Zellen des Indikatorsystems binden kann. Die Zellen bleiben intakt.

Wenn keine/ nicht genügend nAK im Serum enthalten sind, kann sich das Virus in der Zellkultur vermehren und führt zu einem mikroskopisch sichtbaren zytopathogenen Effekt in Form von Plaques im Zellmonolayer. Handelt es sich um eine Virus, das sich ohne zpE vermehrt, so werden indirekte Verfahren zum Virusnachweis [z. B.: Immunfluoreszenztest (IFT)] angewendet. Mit Hilfe rechnerischer Verfahren kann der Titer an nAK berechnet werden (MAYR et al., 1977).

Die Virusneutralisation wird als serologische Referenzmethode (Goldstandard) angesehen (OREN et al., 1993) und ist für den internationalen Handel vorgeschrieben (WELTORGANISATION FÜR TIERGESUNDHEIT, 2012). Der Standard Serum-Virus-Neutralisations-Test scheint nicht Test der Wahl zur Bestimmung der frühen Antikörperbildung zu sein (OREN et al., 1993). Serumneutralisierende Antikörper sind vom 7. Tag p.i. regelmäßig nachweisbar (EICH, 1983). Der Virusneutralisationstest detektierte hauptsächlich IgG-Antikörper, während IgM-Antikörper nicht reagierten (RODAK et al., 1987). Der Zusatz von Meerschweinchen- oder Kaninchenkomplement beim Serum-Virus-Neutralisationstest ist notwendig, um neutralisierende Antikörper bereits in der Frühphase der Infektion (4 – 9 Tage p.i.) zu detektieren (BITSCH und ESKILDSEN, 1976; 1982). Ein solcher Test ohne Komplement scheitert beim Nachweis von neutralisierenden Antikörpern der IgM-Klasse, sogar wenn sie in großer Menge vorliegen und ist abhängig vom Auftreten von IgG-Antikörpern (RODAK et al., 1987). Es ist möglich, dass im Frühstadium der Infektion aufgrund der geringen IgG-Präsenz das Ergebnis der Virusneutralisation negativ ausfällt (HAFFER et al., 1980).

Der Vorteil des Neutralisationstests gegenüber anderen serologischen Methoden liegt vor allem in seiner großen Spezifität, die es auch ermöglicht, Serotypen und Subtypen zu differenzieren (MAYR et al., 1977).

Der ELISA ist dem Radio Immun Assay gleichwertig, aber besser als der SNT und leichter und schneller durchführbar (EICH, 1983). Der SNT und der Immunoblot sind zur Abklärung positiver oder fraglicher Befunde im ELISA geeignet (MÜLLER et al., 2010a). Die Sensitivität des ELISA ist generell der des Virusneutralisationstests im einstündigen Ansatz ohne Komplement überlegen (OREN et al., 1993; WELTORGANISATION FÜR TIERGESUNDHEIT, 2012).

Die ersten Antikörpernachweise waren im Infektionsversuch an Tag 5, Tag 6 und Tag 6 – 7 p.i. in der Latex-Agglutination, in der Serum-Virus-Neutralisation und in verschiedenen ELISA's positiv. Der Zeitpunkt an dem mindestens 95 % der infizierten Tiere ein positives Ergebnis zeigten, lag bei Tag 7, Tag 21 und Tag 7 – 17 p.i.. An den Tagen 5 – 9 p.i. zeigten sich signifikante Unterschiede in der Sensitivität. Anfangs wurden in der Latex-Agglutination signifikant mehr positive Tiere identifiziert. Ab dem 10. Tag p.i. wurden keine statistisch signifikanten Unterschiede in der Sensitivität der insgesamt acht Tests mehr gefunden. Aus seinen Ergebnissen folgert OREN et al., 1993, dass der Differenzierungs-ELISA sensitiver als der Serum-Virus-Neutralisationstest und nur geringfügig weniger sensitiv als die beiden verwendeten Screening-ELISA ist (OREN et al., 1993).

Bei experimentell infizierten Schweinen wurden infizierte Tiere mit der Latex-Agglutination 4 Tage früher als im Serum-Virus-Neutralisations-Test und 2 Tage früher als im ELISA erkannt. Am 8. Tag p.i. identifizierte der Latex-Agglutinations-Test signifikant mehr infizierte Tiere als die beiden anderen Tests und erwies sich als sensitiver und genauso spezifisch wie diese. Bei allen drei Tests wurde die Spezifität mit nahezu 100 % ermittelt (SCHOENBAUM et al., 1990).

## 2.3. Hepatitis E

### 2.3.1. Erreger

Das Hepatitis E-Virus (HEV) ist ein unbehülltes Virus von 32 – 34 nm Durchmesser mit einem RNA-Einzelstrang-Genom positiver Orientierung (MENG et al., 1998) und weist vermutlich eine ikosaedrische Symmetrie auf (THIEL und KÖNIG, 2011).

Es gehört zur Familie der *Hepeviridae*, Genus *Hepevirus* (INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES, 2009). Im Elektronenmikroskop gleicht das HEV sehr den Caliciviren und ist schwer von anderen kleinen runden Viren zu unterscheiden (BRADLEY et al., 1988).

Die Familie der *Hepeviridae* umfasst derzeit zwei Spezies: Hepatitis E-Virus und die bisher nicht zugeordnete Spezies Aviäres Hepatitis E-Virus sowie einige nicht klassifizierte *Hepeviridae* (INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES, 2013b).

Derzeit werden vier Genotypen (1 – 4) unterschieden, die Menschen infizieren können (EMERSON und PURCELL, 2007). Die Genotypen 1 und 2 sind auf den Menschen beschränkt (YUGO und MENG, 2013) und können oft, besonders in Entwicklungsländern, bei Ausbrüchen und Epidemien die durch fäkal kontaminiertes Wasser ausgelöst wurden, isoliert werden (BALAYAN et al., 1983; LU et al., 2006; PURCELL und EMERSON, 2008). Die Genotypen 3 und 4 werden beim Menschen und auch bei anderen Säugetieren gefunden (PAVIO et al., 2010; YUGO und MENG, 2013). Bis heute ist nur ein Serotyp beschrieben (ANDERSON et al., 1999; GUO et al., 2006).

Genotyp 3 ist in Europa bei Menschen und Säugetieren vorherrschend vertreten (LU et al., 2006). Im Jahr 1997 wurde erstmals ein HEV aus Schweinen isoliert (MENG et al., 1997). Alle bisher beim Wildschwein identifizierten Isolate gehören zu Genotyp 3 oder Genotyp 4 (KIM et al., 2011; MICHITAKA et al., 2007; NISHIZAWA et al., 2005; SONODA et al., 2004). In Europa bei Wildschweinen gefundene Isolate wurden alle dem Genotyp 3 zugeordnet (DE DEUS et al., 2008a; RUTJES et al., 2010; KABA et al., 2010; MARTELLI et al., 2008; REUTER et al., 2009). So wurde auch bei Wildschweinen in Deutschland bisher ausschließlich Genotyp 3 identifiziert

(ADLHOCH et al., 2009; KACI et al., 2008; SCHIELKE et al., 2009). HEV ist seit über zehn Jahren in der deutschen Wildschweinpopulation vorhanden (KACI et al., 2008).

In Hausschweinebeständen wurden ebenfalls die Genotypen 3 und 4 identifiziert. In westlichen Ländern ist Genotyp 3 weit verbreitet. So wurde auch in europäischen Ländern, wie den Niederlanden (VAN DER POEL et al., 2001), Spanien (DE DEUS et al., 2007; SEMINATI et al., 2008), Italien (DI BARTOLO et al., 2008; MARTELLI et al., 2010) und Frankreich (KABA et al. 2009) Genotyp 3 identifiziert. Auch in Deutschland wurde Genotyp 3 gefunden (WENZEL et al., 2011; BÄCHLEIN, 2011; BÄCHLEIN et al., 2013). Genotyp 4 wurde aus asiatischen Hausschweinen in Indien (ARANKALLE et al., 2003), China (WANG et al., 2002; YAN et al., 2008; JINSHAN et al., 2010), Japan (NISHIZAWA et al., 2003) und Südkorea (KIM et al., 2011) isoliert.

Der Genotyp, der aus Hühnern isoliert wurde steht in Zusammenhang mit dem Hepatitis-Splenomegalie-Syndrom (HAQSHENAS et al., 2001) und „Big Liver and Spleen Disease“ (PAYNE et al., 1999; RIDDELL, 1997; THIEL und KÖNIG, 2011).

## **2.3.2. Hepatitis E bei Wild- und Hausschwein**

### **2.3.2.1. Klinik und Erkrankung**

Die Virusübertragung von Schwein zu Schwein erfolgt wahrscheinlich auf dem fäkal-oralen Weg (BOUWKNEGT et al., 2011).

In einer Übertragungsstudie betrug  $R_0$  (die durchschnittliche Gesamtzahl neuer Infektionen durch ein infektiöses Tier während seiner gesamten Infektionsperiode in einer empfänglichen Population) unter experimentellen Bedingungen 8,8, was bedeutet, dass HEV effektiv von Schwein zu Schwein übertragen werden kann (BOUWKNEGT et al., 2008b). Es wird angenommen, dass die Mehrheit der Tiere sich mit drei bis sechs Wochen durch Kontakt mit der Muttersau infiziert (FERNANDEZ-BARREDO et al., 2006).

Beim Schwein liegen zwischen Infektion und Virusausscheidung im Kot zwischen drei Tagen (BOUWKNEGT et al., 2008b; MENG et al., 1998) und vier Wochen (HALBUR et al., 2001). Die Virusausscheidung dauert bis zu 7 Wochen an

(FERNANDEZ-BARREDO et al., 2006). Besonders Schweine im Alter von 15 – 18 Wochen (LEBLANC et al., 2007) bzw. 8 – 12 Wochen (SEMINATI et al., 2008) scheinen eine HEV-Infektion durchzumachen. In einem spanischen Schweinebestand wurde bei Tieren im Alter von 8 - 12 Wochen am häufigsten eine Virämie festgestellt. Dort wurde die fäkale Virusausscheidung im selben Alter detektiert (SEMINATI et al., 2008). Die virämische Phase betrug im Experiment 2 – 3 Wochen (HALBUR et al., 2001).

Das Vorhandensein von HEV in Urin und Kot könnte für die hohe Übertragbarkeit in Tierpopulationen verantwortlich sein. Die intravenöse Infektion ist im Experiment effizienter als die fäkal-orale oder Kontaktexposition, spiegelt aber wahrscheinlich nicht den natürlichen Infektionsweg wieder (KASORNDORKBUA et al., 2004).

Beim Hausschwein verläuft die Infektion inapparent (FERNANDEZ-BARREDO et al., 2006; HALBUR et al., 2001; LEE et al., 2009). In experimentell infizierten Schweinen wurden keine Erhöhung der Leberenzyme und mikroskopisch intrahepatische leichte bis moderate Läsionen sowie eine Leberzellschwellung 7 – 27 Tage p.i. festgestellt (HALBUR et al., 2001). Dass die Leber wahrscheinlich das Zielorgan des HEV ist, lässt sich auch aufgrund vergrößerter Leberlymphknoten, lymphoplasmazellulärer Hepatitis und hepatozellulären Nekrosen vermuten (HALBUR et al., 2001).

### **2.3.2.2. Immunreaktion und passive Immunität**

Experimentell mit Schweine-HEV infizierte Tiere bildeten zwischen dem 14. und 55. Tag p.i. IgG-Antikörper und diese Antikörper bleiben bis zur Schlachtung erhalten (MENG et al., 1997; TAKAHASHI et al., 2003b). IgA-Antikörper werden signifikant häufiger bei virämischen Schweinen als bei nicht virämischen Tieren gefunden (55 % vs 10 %), während die Seroprävalenzen von IgG und IgM bei Virämikern und nicht virämischen Tieren ähnlich sind. Dies weist darauf hin, dass die Untersuchung auf IgA-Antikörper bei der Suche nach Virämikern sinnvoller ist (TAKAHASHI et al., 2005).

Bei natürlich infizierten Mastschweinen in Spanien wurde die Serokonversion von IgM und IgA hauptsächlich in einem Alter von 12 Wochen beobachtet, von IgG mit 15 Wochen (DE DEUS et al., 2008b) ähnliche Ergebnisse erbrachte eine Untersuchung

in den USA (IgG / IgM) (MENG et al., 1999). Bei Mastschweinen wird seltener IgM gefunden (WACHECK et al., 2012b; WERRES, 2010). Mit individuellen Unterschieden blieben IgM und IgA vier bis sieben Wochen detektierbar (DE DEUS et al., 2008b).

Es können IgG und IgA Antikörper über das Kolostrum auf die Ferkel übertragen werden (DE DEUS et al., 2008b). Ferkel von stark antikörperpositiven Sauen sind im Alter von zwei Wochen IgG positiv, aber IgM negativ, und der Antikörperspiegel sinkt nach einigen Wochen dramatisch ab (MENG et al., 1997).

Die maternalen Antikörper bei Ferkeln von seropositiven Sauen bleiben drei bis neun Wochen nachweisbar (DE DEUS et al., 2008b; MENG et al., 1997). In einer Studie an Hausschweinen in den USA entwickelten die meisten Ferkel nach dem Rückgang an maternalen Antikörpern eigene Antikörper. IgG Antikörper stiegen nach Serokonversion stetig an und IgM, als Indikator für eine frische Infektion, war bei allen IgG-positiven Tieren detektierbar (MENG et al., 1997). Der IgM-Antikörperspiegel erreichte eine Woche vor IgG-Antikörpern seinen Höhepunkt, sank dann rapide innerhalb von ein bis zwei Wochen ab (MENG et al., 1997).

### **2.3.2.3. Vorkommen von Antikörpern beim Wildschwein**

Serologische Studien zeigten erstmals 1999, dass Wildschweine eine wichtige Rolle als HEV-Reservoir auch für Hausschweine spielen könnten (CHANDLER et al., 1999). Bis zu einer Studie im Jahr 2009 gab es keine aktuellen Daten zu Prävalenzen von HEV und HEV-Antikörpern bei Wildschweinen in Deutschland (ADLHOCH et al., 2009). Die in dieser Arbeit untersuchten unterschiedlichen Probenmaterialien aus dem Jagdjahr 2007 wurden auf Virus-RNA (n = 132) und mit verschiedenen Nachweismethoden auf IgG-Antikörper (n = 107) untersucht und stammten aus verschiedenen Regionen Ost- und Westdeutschlands. Es wurde insgesamt eine altersunabhängige Seroprävalenz von 29,9 % im ELISA ermittelt, bei 68,2 % von 132 Tieren wurde HEV nachgewiesen (ADLHOCH et al., 2009). Die meisten Tiere mit positivem Antikörpernachweis und gleichzeitig positivem Genomnachweis waren in den Altersgruppen 0 – 1 Jahr und > 2 Jahre zu finden. Ein Teil der Proben von Adlhoch stammten aus der Lokalisation Johanniskreuz im

Landkreis Kaiserslautern (n = 48) und aus Hinterweidenthal im Landkreis Südwestpfalz (n = 5) in Rheinland-Pfalz (RP). Bei 86,8 % der untersuchten Wildschweine aus RP konnte HEV-RNA detektiert werden. Proben von 40 Tieren aus RP wurden mit zwei verschiedenen ELISA und einem Line Immunoassay auf HEV-Antikörper untersucht. Von diesen 40 Tieren waren 7,5 % in allen drei Tests positiv. Bei Testung mittels der beiden ELISA lag die Antikörperprävalenz in RP bei 17,5 % und 30 % (ADLHOCH et al., 2009).

Im Jahr 2011 wurde erstmals eine größere Anzahl Wildschweinblutproben innerhalb Deutschlands, die aus nur einer Region stammten, auf HEV-Antikörper untersucht. In der Querschnittsstudie wurde bei 330 getesteten Proben aus allen Kreisen Sachsen-Anhalts (unterschiedliche Probenintensität der Landkreise, 1 % der Jagdstrecke) eine durchschnittliche Seroprävalenz von 33 % (109 Seren positiv, 7 Seren verdächtig) ermittelt, wobei eine räumlich inhomogene Verteilung mit Clusterbildung festgestellt wurde, aber in nahezu allen Regionen Sachsen-Anhalts seropositive Wildschweine identifiziert wurden (DENZIN und BORGWARDT, 2013). Diese ermittelte Seroprävalenz ist der von Adlhoch im Jahr 2009 festgestellten Prävalenz in Proben, die u. a. auch aus den an Sachsen-Anhalt angrenzenden Bundesländern Sachsen und Brandenburg stammten, von 29,9 % sehr ähnlich (DENZIN und BORGWARDT, 2013).

In Baden-Württemberg wurden Proben aus den Jahren 2010 bis 2014 untersucht und eine Antikörperprävalenz von Durchschnittlich 8,3 % in 374 Proben ermittelt. In Proben aus einer Treibjagd im nördlichen Baden-Württemberg wurde bei allen erlegten Tieren Antikörper gefunden. In einem Gebiet westlich von Stuttgart gelang der Antikörpernachweis immer wieder aus einzelnen Proben über einen Zeitraum von drei Jahren (POLLEY und RICHTER, 2015).

In anderen europäischen Ländern kommt das HEV ebenfalls in der Wildschweinpopulation vor. In den Niederlanden wurden in 12 % von 1.029 untersuchten Wildschweinproben Antikörper detektiert und eine Virusprävalenz von 8 % (106 Proben untersucht) ermittelt (RUTJES et al., 2010).

In Spanien wurde mit regionalen Unterschieden insgesamt eine Antikörperprävalenz von 42,7 % (28 % IgG, 22,6 % IgA, 21,3 % IgM) festgestellt (n = 42) (DE DEUS et al., 2008a). Die IgG-Prävalenz lag bei 28 % (n = 42), wobei es keine signifikanten

Unterschiede der HEV-Seroprävalenz zwischen den Geschlechtern und Altersklassen gab, aber die IgG- Prävalenz bei der Altersgruppe der 7 bis 12 Monate alten Tiere mit 100 % signifikant höher lag ( $n = 5$ ) (DE DEUS et al., 2008a).

Auch weltweit wurden HEV-Antikörper bei Wildschweinen gefunden, so zum Beispiel auch in Australien (17 %) (CHANDLER et al., 1999) und Japan (9 % / 3,1 %) (MICHITAKA et al., 2007; SONODA et al., 2004). Nakano et al. vermuten, dass HEV mit importierten Schweinen 1966 nach Japan kam und so die Wildschweinepopulation infiziert wurde (NAKANO et al., 2013).

#### **2.3.2.4. Vorkommen von Antikörpern beim Hausschwein**

Das HEV ist in Schweinehaltungen in Entwicklungsländern und in industrialisierten Ländern weit verbreitet (MENG, 2010). Die Antikörperprävalenzen können bei verschiedenen Beständen unterschiedlich sein (TAKAHASHI et al., 2003a).

Antikörper gegen HEV wurden auch bei Hausschweinen in Deutschland nachgewiesen. So wurde 2010 in Seren aus den Jahren 2007/08 von deutschen Hausschweinen aus 11 Bundesländern und 142 Beständen insgesamt eine IgG-Prävalenz von 49,8 % ( $n = 1.072$ ) mit einem neu entwickelten ELISA ermittelt, wobei diese von 15,6 % in Mecklenburg Vorpommern bis zu 70,7 % in Bayern variierten. In 78,2 % der Haltungen ( $n = 142$ ) wurden positive Tiere gefunden. Von 264 Tieren deren Alter und Geschlecht ermittelbar war, wurden bei ca. 50 % der adulten Tiere, 16,8 % der Ferkel und 31,3 % der Mastschweine Antikörper festgestellt. Die Proben aus RLP wurden zu 55,7 % ( $n = 88$ ) und 85,7 % der Bestände ( $n = 21$ ) als positiv beurteilt (BAECHLEIN et al., 2010). In den Nachbarbundesländern Nordrhein-Westfalen und Baden-Württemberg waren 76,5 % bzw. 85,7 % der Bestände positiv, in Mecklenburg-Vorpommern war die Prävalenz mit 27,3 % am niedrigsten (BAECHLEIN et al., 2010).

In Bayern wurden 68,6 % ( $n = 516$ ) der beprobten Schlachtschweine IgG-positiv getestet (WERRES, 2010). Die Proben stammten von vier Schlachthöfen aus 41 verschiedenen Mastbetrieben. Für die meisten Betriebe ( $n = 16$ ) mit  $n \geq 10$  wurde eine Prävalenz von mindestens 70 % ermittelt (außerdem je ein Betrieb mit 0 % bzw.

6,9 %). Die Wahrscheinlichkeit für ein Schwein seropositiv zu sein, variierte signifikant bei den verschiedenen Schlachthöfen (WERRES, 2010).

Eine Studie, in die Proben von Schweinen aus 276 Haltungen aus elf Bundesländern aus dem Jahr 2011 gingen, ermittelte insgesamt eine Seroprävalenz von 46,9 % (n = 2.273), wobei eine starke Altersabhängigkeit gefunden wurde. So waren von den Mastschweinen im Alter von drei bis neun Monaten 38,4 % und von den über neun Monate alten Sauen 51,4 % positiv (KRUMBHOLZ et al., 2013). In 19,9 % der Bestände wurden dabei keine Antikörper gegen HEV gefunden. Die IgG-Prävalenz variierte signifikant zwischen Nordwestdeutschland (Niedersachsen, Nordrhein Westfalen) und Süddeutschland (Bayern, Baden-Württemberg) mit 20,6 % / 54,9 % der Mastschweine.

### 2.3.3. Hepatitis E bei anderen Tierarten

Die Existenz eines HEV-ähnlichen Virus, wurde erstmals 2010 im Kot von Wanderratten (*Rattus norvegicus*) in Hamburg / Deutschland (JOHNE et al., 2010) und 2012 in Fledermäusen (DREXLER et al., 2012) belegt. In Serum von gehaltenen Kaninchen in China konnte ebenfalls HEV-Genom nachgewiesen werden (Genomübereinstimmung mit den Genotypen 1 – 4 von 46 % - 74 %) (ZHAO et al., 2009).

HEV-Antikörper wurden auch bei vielen anderen Spezies gefunden, wie bei Mungos in Japan (21 %), bei Arbeitspferden in Ägypten (12 %) (SAAD et al., 2007), in anderem Schalenwild in Japan (34,8 %) (TOMIYAMA et al., 2009), bei wildlebenden Ratten in städtischen und ländlichen Gebieten der USA (44 – 90 %) (KABRANE-LAZIZI et al., 1999) sowie in Nagern weltweit (FAVOROV et al., 2000; HE et al., 2002; HIRANO et al., 2003; KABRANE-LAZIZI et al., 1999; KARETNYI IU et al., 1993; SMITH et al., 2002) und weiteren Tierarten (OKAMOTO et al., 2004; VITRAL et al., 2005; ZHANG et al., 2008).

In China wurde bei Pferden, Hunden, Ziegen, Enten, Tauben anti-HEV Immunglobulin G gefunden (ZHANG et al., 2008) sowie bei Hauskatzen in Japan (OKAMOTO et al., 2004). Auch in Brasilien wurden Antikörper in verschiedenen

Tierarten (Kühe, Hunde, Hühner, Schweine, Nager) nachgewiesen (VITRAL et al., 2005).

Nicht humane Primaten entwickeln nach Infektion mit Schweine-HEV eine milde Hepatitis und eine geringfügige Erhöhung der Leberenzyme (MENG et al., 1998).

#### **2.3.4. Zoonotische Bedeutung**

Haus- und Wildschweine stellen weltweit das Hauptreservoir für die Genotypen 3 und 4 des HEV dar (MENG, 2010).

In industrialisierten Ländern steht die Erkrankung beim Menschen meist mit Reisen in endemische Gebiete in Zusammenhang (SCHWARTZ et al., 1999), aber auch nicht reiseassoziierte Infektionen mit Genotyp 3 treten in Europa (BORGES et al., 2008; IJAZ et al., 2005; MANSUY et al., 2004; WICHMANN et al., 2008) und auch in Deutschland (WICHMANN et al., 2008) auf, wo eine Seroprävalenz zwischen 1 % und 5 % ermittelt wurde.

Der Anteil autochthoner Erkrankungen ist, seit Hepatitis E eine diagnostizierbare Erkrankung ist (2001), von 30 – 40 % auf 78 % stetig gestiegen (FABER et al., 2012). Die gemeldeten Hepatitis E-Erkrankungen sind zwischen 2004 und 2013 stetig angestiegen (ROBERT KOCH-INSTITUT, 2011). Zur Zeit ist unklar, inwieweit der Anstieg auf häufigeres Testen oder auf einen wahren Anstieg der Erkrankungszahlen zurückzuführen ist (ROBERT KOCH-INSTITUT, 2010).

Eine hohe Sequenzhomologie von aus Menschen isolierten HEV in Europa mit denen beim Schwein vorkommenden Isolaten konnte nachgewiesen werden (BANKS et al., 2004; VAN DER POEL et al., 2001). Auch in Japan wurden sehr hohe Übereinstimmungen zwischen von Schweinen und Menschen derselben geografischen Region isolierten Viren belegt (TAKAHASHI et al., 2005).

Bereits 1998 wurde mit einer experimentellen Infektion von Primaten gezeigt, dass das Virus die Speziesbarriere überwinden kann (MENG et al., 1998).

Serologische Studien zeigten, dass Personengruppen die häufig engen Kontakt zu Schweinen haben, wie z. B. Tierärzte, Jäger, Schlachter und Landwirte, anscheinend

einem erhöhten Risiko ausgesetzt sind, eine HEV-Infektion zu durchlaufen (BOUWKNEGT et al., 2008a; CARPENTIER et al., 2012; DROBENIUC et al., 2001). Auch in Deutschland wurden bei Forstarbeitern in Brandenburg HEV-Antikörper detektiert (DREMSEK et al., 2012). Bei Menschen die Kontakt zu Schweinen / Wildschweinen hatten, wurden im Vergleich zu anderen Blutspendern öfter HEV-Antikörper gefunden (CHRISTENSEN et al., 2008; DREMSEK et al., 2012; MENG et al., 2002).

Eine Fallkontrollstudie in Deutschland vermutete, dass der Genuss von Wildschweinefleisch und -innereien der Hauptrisikofaktor für eine Hepatitis E Infektion darstellt (WICHMANN et al., 2008). Es konnten auch Einzelerkrankungen durch den Konsum von kontaminiertem Wildschweinefleisch/-innereien (MASUDA et al., 2005; MATSUDA et al., 2003) und Schweineinnereien (YAZAKI et al., 2003) in Verbindung gebracht werden. Auch eine Ansteckung durch den Genuss von anderem Schalenwild scheint möglich (TEI et al., 2003; TOMIYAMA et al., 2009).

Vom klinischen Erscheinungsbild ist die Infektion mit HEV beim Menschen ähnlich dem Verlauf von Hepatitis A und verläuft als akute selbstlimitierende Erkrankung mit subklinischen bis fulminanten Verläufen (EMERSON, 2005). Persistente Infektionen sind in Ausnahmefällen möglich (TAMURA et al., 2007). Schwangere Frauen scheinen eine erhöhte Mortalitätsrate gegenüber nicht schwangeren Frauen zu haben (JILANI et al., 2007), obwohl eine Langzeitstudie über 20 Jahre in Indien nicht zu diesem Ergebnis kommt (BHATIA et al., 2008). Vertikale Übertragung von Mutter auf den Fetus scheint möglich (KUMAR et al., 2001).

Im Gegensatz zu Hepatitis A und anderen enterischen Erkrankungen scheint die Übertragung von Mensch zu Mensch nur eine untergeordnete Rolle zu spielen (AGGARWAL und NAIK, 1994). Genetisch identische HEV wurden bei Blutspendern und den Empfängern dokumentiert (BOXALL et al., 2006; MATSUBAYASHI et al., 2008), wie auch die Übertragung durch Bluttransfusionen (MATSUBAYASHI et al., 2008). Xenotransplantationen mit vom Schwein stammenden Organen stellen ebenfalls eine potentielle Infektionsquelle dar (MENG, 2003).

Die Virämie ist nur von kurzer Dauer und die Ausscheidung erfolgt drei bis vier Wochen mit den Faeces (CLAYSON et al., 1995; TSAREV et al., 1993). Beim Menschen ist das Virus schon vor dem Auftreten von Antikörpern im Blut nicht mehr

nachweisbar (CLAYSON et al., 1995; TSAREV et al., 1993). IgM-Antikörper sind in der akuten Phase nachweisbar (BRYAN et al., 1994) und bleiben maximal drei Monate erhalten (GOLDSMITH et al., 1992). IgG-Antikörper treten später auf als IgA-Antikörper, zirkulieren aber deutlich länger (BRYAN et al., 1994; CLAYSON et al., 1995); können in manchen Fällen nur kurzfristig nachweisbar sein (GOLDSMITH et al., 1992; LI et al., 1994) oder auch bis zu 14 Jahre erhalten bleiben (KHUROO et al., 1993). Die Antikörperprävalenz steigt mit dem Alter (DALTON et al., 2007), die meisten autochthonen Fälle sind bei mittelalten bis älteren Männern dokumentiert (PURCELL und EMERSON, 2008).

### **2.3.5. Anzeige- und Meldepflicht**

Hepatitis E ist bei Tieren nicht anzeige- oder meldepflichtig.

Beim Menschen wird dem Gesundheitsamt gemäß § 6 Absatz 1 Nummer 1 Buchstabe e des Gesetzes zur Verhütung und Bekämpfung von Infektionskrankheiten beim Menschen (Infektionsschutzgesetz) der Krankheitsverdacht, die Erkrankung sowie der Tod an akuter Virushepatitis sowie gemäß § 7 Abs. 1 Nr. 23 Infektionsschutzgesetz der direkte oder indirekte Nachweis von Hepatitis E-Virus, soweit er auf eine akute Infektion hinweist, namentlich gemeldet. Das Gesundheitsamt übermittelt gemäß § 2 Abs. 1 IfSG an die zuständige Landesbehörde nur Erkrankungs- oder Todesfälle und Erregernachweise, die der Falldefinition gemäß § 4 Abs. 2 Nr. 2 Buchstabe a IfSG entsprechen (IfSG, 2000; ROBERT KOCH-INSTITUT, 2007).

### **2.3.6. Bekämpfung und Prävention**

Staatliche Maßnahmen zur Bekämpfung und Prävention der Hepatitis E werden bei Wildschweinen und Schweinen derzeit nicht durchgeführt.

In Deutschland steht kein zugelassener Human- oder Tierimpfstoff zur Verfügung (PAUL-EHRLICH-INSTITUT, 2013a; 2013b).

Zur vollständigen Inaktivierung des HEV ist die Erhitzung von kontaminierten Nahrungsmitteln auf eine Kerntemperatur von 71°C über 20 Minuten geeignet (BARNAUD et al., 2012), weshalb auch das Bundesinstitut für Risikobewertung, neben sorgfältiger Hygiene bei der Zubereitung, empfiehlt, dass Wildschweinfleisch vor dem Genuss gut durcherhitzt wird (BUNDESINSTITUT FÜR RISIKOBEWERTUNG, 2010).

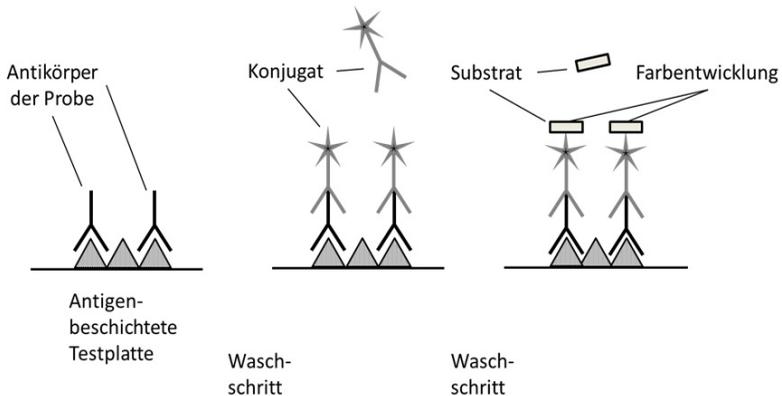
### 2.3.7. Methoden zum Antikörpernachweis

Zur Detektion von Antikörpern stehen verschiedene Immunoassays zur Verfügung, meist Enzyme Linked Immunosorbent Assays (ELISA), Line Assay oder Western Blot (HUANG et al., 2002; LEGRAND-ABRAVANEL et al., 2009; MAST et al., 1998; PERALTA et al., 2009a; ROSE et al., 2010). Die Verwendung von unterschiedlichen Antigenpeptiden und Genotypen als Antigene erschwert den Vergleich der Ergebnisse (GHABRAH et al., 1998; MAST et al., 1998).

Es werden unter anderem kommerzielle ELISA zur Detektion von Antikörpern bei Wildschweinen genutzt, die für die Humanmedizin entwickelt wurden (ADLHOCH et al., 2009). Deren Effizienz zur Detektion von Antikörpern beim Schwein wurde beschrieben (ENGLE et al., 2002). Nutzbare kommerzielle Tests sind zum Beispiel PrioCheck® HEV Ab porcine (ORF2/3, GT1/3), Prionics AG, Schlieren-Zürich, Schweiz; HEV Ab-ELISA (ORF2, GT1), Axiom, Büstadt, Deutschland; *recomLine* HEV IgG assay, Mikrogen GmbH, Neuried, Deutschland.

Seit 2011 steht der auch für diese Arbeit genutzte ID Screen® Hepatitis E Indirect Multi-species ELISA (GT3), ID Vet, Montpellier, Frankreich als kommerzieller indirekter Multispezies-ELISA für die serologische Untersuchung auf IgG-Antikörper zur Verfügung. Dieser nutzt ein rekombinantes Kapsidantigen eines Genotyp 3 HEV, welches in Baculoviren hergestellt wird, aber Kreuzreaktionen mit den anderen Genotypen zeigt (ID Vet, Montpellier, Frankreich. Das Testprinzip ist in Abbildung 2 dargestellt. Die Durchführung erfolgt auf Mikrotiterplatten (MTP) mit 96 Vertiefungen/Wells im Standardformat mit zwölf Spalten (1-12) und acht Reihen (A-H). Da es sich um einen biphasischen ELISA handelt sind nur die geradzahigen Wells mit Antigen (Ag) beschichtet, die ungeradzahigen Wells sind unbeschichtete

Kontrollwells. Befinden sich im Probandenserum Antikörper, bilden sie mit dem Antigen Antigen-Antikörper-Komplexe. Die enzymmarkierten Antikörper des Konjugats binden an die Serumantikörper. Ungebundenes Konjugat wird durch Waschen entfernt. Bei Zugabe eines Enzymsubstrats wird ein Farbumschlag katalysiert. Dieser ist direkt proportional zur Menge der gebundenen Antikörper der Probe (ID VET<sup>®</sup> INNOVATIVE DIAGNOSTICS, 2012).



**Abbildung 2:** Funktionsprinzip eines indirekten ELISA

In diesem Test wird ein Multi-Spezies Konjugat für Schweine, Wildschweine, Wiederkäuer und Menschen verwendet. Bei der vorläufigen Validierung zeigte der Test eine Spezifität von 100 % (COMTET et al., 2011). Keines der experimentell mit *Trichinella spiralis* (11 Tiere) oder dem Virus der Klassischen Schweinepest (28 Tiere) infizierten Tiere wurde Antikörper-positiv getestet, ebenfalls keines der spezifisch pathogenfreien Schweine (7 Tiere). Die acht mit HEV infizierten Tiere (davon 5 Wildschweine) serokonvertierten innerhalb von 7 - 24 Tagen (COMTET et al., 2011), wogegen die optische Dichte in Prozent der Positivkontrolle der Kontrolltiere deutlich im negativen Bereich lag (COMTET et al., 2011), was auf eine gute Sensitivität des Tests hindeutet (DENZIN und BORGWARDT, 2013).

Es können im ELISA rekombinante Proteine oder gekürzte Proteine / Peptide genutzt werden, welche z. B. über *Baculoviridae* vermittelte Expressionssysteme in *Spodoptera frugiperda* Insektenzellen (Sf9) (ROSE et al., 2010), in *Escherichia Coli* (ANDERSON et al., 1999; HU et al., 2008) oder *Trichoplusia ni*-Larven (JIMENEZ DE

OYA et al., 2009) exprimiert werden. Als sekundäre Antikörper können z. B. polyklonale Kaninchen-anti-Schwein IgG genutzt werden (ROSE et al., 2010). Der genutzte Genotyp scheint im Gegensatz zu den rekombinanten Detektionsantikörpern eine geringere Rolle zu spielen (MA et al., 2009). Bei Schweinen scheint es aber Infektionen mit Genotyp 3 zu geben, die nicht immer Antikörper induzieren die mit Genotyp 1 und 2 Peptiden reagieren. Daher ist bei vom Schwein stammenden Proben die Sensitivität der Tests geringer, wenn Genotyp 1- oder 2-Antigene genutzt werden (ROSE et al., 2010). Ähnlich verhält es sich bei Patienten mit nachgewiesener Genotyp 3 Infektion (JIMENEZ DE OYA et al., 2009). Wird Genotyp 1 oder 3 als Antigen genutzt, sind die ermittelten Prävalenzen nahezu identisch, gleichgültig, mit welchem Genotyp die Infektion erfolgte. Daraus wurde abgeleitet, dass nur ein diagnostisches Antigen nötig ist (ENGLE et al., 2002). In einer anderen Studie erwies sich die Kombination von Genotyp 1 und 3 als die beste Variante (WERRES, 2010). Aber auch bei Nutzung des gleichen Genotyps als Antigen wurden schon deutliche Abweichungen in der ermittelten Prävalenz festgestellt (BAECHLEIN et al., 2010). Um eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse zu erreichen wurde vorgeschlagen, homologe Sequenzen eines porcinen HEV vom Genotyp 3 zu nutzen (BAECHLEIN et al., 2010; JIMENEZ DE OYA et al., 2009; PERALTA et al., 2009b). Genauere Studien zeigten, dass die C-terminale Region des Kapsidproteins immundominant ist und deshalb das Mittel der Wahl zur serologischen Diagnostik darstellt (DREMSEK et al., 2012; MENG et al., 2001; PURDY et al., 1993; TANG et al., 2011)

Da es derzeit keinen Goldstandard zur HEV-Antikörperdiagnostik gibt, wird in einigen Arbeiten ein (modifizierter) Line Assay, bei dem die Proteine im Gegensatz zum Western Blot nicht denaturiert werden und der eine Messung von Antikörpern gegen einzelne Antigene des Virus erlaubt, als Referenztest angewendet (KRUMBHOLZ et al., 2013; WACHECK et al., 2012b; WERRES, 2010).

## 2.4. Influenza A

### 2.4.1. Erreger

Die Erreger der Schweineinfluenza (SI) werden den Subtypen H1N1, H1N2 und H3N2 des Influenza A-Virus zugeordnet. Die Erkrankung wird auch Schweinegrippe, Swine Influenza, Swine Flu oder Hog Flu genannt. Bei dem Erreger handelt sich um ein behülltes Virus mit einem Durchmesser von 80 – 120 nm, einem segmentierten RNA-Einzelstranggenom negativer Polarität und acht helikalen Nukleokapsidsegmenten aus der Familie der *Orthomyxoviridae*. Innerhalb der Familie werden sechs Genera unterschieden: *Influenzavirus A*, in dem sich die human- und veterinärmedizinische Vertreter finden lassen, *Influenzavirus B*, *Influenzavirus C*, *Thogotovirus*, *Isavirus* und *Quaranjavirus*. Die Subtypen innerhalb der Spezies Influenza A-Virus werden nach den Antigenstrukturen des Hämagglutinins (H) und der Neuraminidase (N) benannt. (BEER, 2011; INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES, 2013c; NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION, Stand 01.06.2014). Derzeit sind 15 Hämagglutinine und 9 Neuraminidasen bei Influenza A-Viren bekannt (FOUCHIER et al., 2005; RÖHM et al., 1996).

Bei den Influenzaviren werden drei Serotypen (A, B und C) unterschieden, beim Schwein kommt nur Serotyp A vor (HEINRITZI, 2006; TANG et al., 2010). Beim Schwein kommen H1- und H3- Subtypen endemisch sowie H2-, H5-, H7- und H9-Subtypen sporadisch vor (BEER, 2011). So zirkuliert in deutschen Hausschweinebeständen der Subtyp H1N1 seit Jahren endemisch (BUDA et al., 2011).

Die Isolierung von verschiedenen Subtypen (H1N1, H9N2, H4N6, H3N3) mit Gensegmenten aviärer Herkunft spricht nachdrücklich für die Vermutung einer Übertragung von aviären Influenzaviren auf Schweine (REPERANT et al., 2009). Schweine können auch mit humanen Influenzavirusstämmen infiziert werden (HEINRITZI, 2006). Da das Schwein durch humane, aviäre und porcine Influenzaviren infiziert werden kann, gilt es als Wirtstier in dem das Auftreten von reassortanten Influenzaviren, also neuen Subtypen, besonders wahrscheinlich ist (BEER, 2011). Der erste angesehene Beweis dafür, dass ein aviäres Influenza A-

Virus auf Säugetiere (Schweine) übertragen werden könnte, wurde 1981 in Belgien geführt (PENSAERT et al., 1981).

Schwarzwild kann ein potentielles Reservoir für Hausschweine darstellen (REPERANT et al., 2012).

## **2.4.2. Influenza A bei Wild- und Hausschwein**

### **2.4.2.1. Klinik und Erkrankung**

Das Virus wird meist nasal aufgenommen (DUNGWORTH, 1993), in Gebieten mit hoher Schweinedichte ist auch eine aerogene Übertragung möglich (EWALD et al., 1994). Mit Hilfe des Hämagglutinins erfolgt die Adhäsion des Virus an die Zellen des respiratorischen Epithels. Nach endozytotischer Aufnahme in die Zellen führt die Virusreplikation und Virusausscheidung zur Degeneration und Nekrose der Zellen (DUNGWORTH, 1993). Von der nasalen und trachealen Schleimhaut breitet sich das Virus über den gesamten Respirationstrakt aus (HALBUR, 1998). Das Influenzavirus verursacht beim Hausschwein eine typische Pneumonie mit allen dazugehörigen Symptomen (KUIPER, 1985). Die erkrankten Tiere zeigen Fieber, Anorexie, Inaktivität, Husten, abdominale Atmung und andere respiratorische Symptome wie Rhinitis und Niesen; auch Aborte wurden beobachtet. Die Rekonvaleszenz beginnt nach fünf bis sieben Tagen und die Tiere genesen genauso schnell, wie die Erkrankung aufgetreten ist (EASTERDAY und HINSHAW, 1992; MÜLLER et al., 1981). Je nach Schwere der Erkrankung werden nicht immer alle Symptome gezeigt, und es muss mit negativer Auswirkung auf die Fertilität und Produktionsleistung im Bestand gerechnet werden (KUIPER, 1985).

Bei Schwarzwild ist keine Pathologie der Schweineinfluenza dokumentiert. Auch klinische Anzeichen von Infektionen mit Schweineinfluenza-Viren (SIV) sind bei Wildschweinen nicht belegt (REPERANT et al., 2012). Bei betroffenen Wildschweinen ist jedoch wahrscheinlich mit einem analogen Krankheitsverlauf zum Hausschwein zu rechnen.

#### **2.4.2.2. Immunreaktion und passive Immunität**

Die Immunreaktion gegen SIV besteht aus der zellmedierten und humoralen Reaktion. Überwiegend werden Antikörper gegen Hämagglutinin, Neuraminidase, Matrixprotein und Nukleoprotein gebildet (WRIGHT et al., 2007). Nur Antikörper gegen das Hämagglutinin können die Adhäsion des Virus an die Wirtszelle verhindern und die virale Infektivität neutralisieren. Gegen Neuraminidase gerichtete Antikörper vermindern die Freisetzung des Virus aus infizierten Zellen. Antikörper gegen andere Proteine können auch nicht eine Initiation der Infektion verhindern, aber sie können die Abtötung von infizierten Zellen auf dem indirekten Weg bewirken (VAN REETH et al., 2012).

Die Immunität gegen Influenza ist langlebig und subtypspezifisch (WRIGHT et al., 2007). In einer natürlich infizierten Schweineherde wurden auch 28 Monate p.i. noch Antikörper gegen H1N1 in Sauen nachgewiesen; sie können wahrscheinlich auch länger persistieren. Oft ist nicht mit Bestimmtheit zu sagen, ob es sich bei nachgewiesenen Antikörpern um solche handelt, die aufgrund einer Reinfektion mit demselben Pathogen gebildet wurden. Dies kann zur fälschlichen Annahme führen, dass die Antikörper lange persistieren (DESROSIERS et al., 2004). Experimentelle Infektionsstudien zeigten eine kreuzprotektive Wirkung zwischen H1 und H3 Subtypen, ohne dass in der Hämagglutinations-Hemmung kreuzreaktive Antikörper nachweisbar waren (VAN REETH et al., 2012; VINCENT et al., 2008). Im Serum gehören die dominanten Antikörper anfangs zur IgM- später zur IgG-Klasse. Vermutlich ist auch die Bildung lokaler IgA-Antikörper wichtig zum Schutz vor einer Neuinfektion (KAADEN, 2002).

Hämagglutinationshemmende Antikörper können im Serum ab dem siebten bis zehnten Tag p.i. detektiert werden (POMORSKA-MOL et al., 2014) und erreichen ihren Höhepunkt zwei bis drei Wochen p.i., bevor sie nach acht bis zehn Wochen p.i. langsam absinken (HEINEN et al., 2000; LARSEN et al., 2000). Spezifische Antikörper sind frühestens am fünften Tag p.i. feststellbar (CRISCI et al., 2013).

Mit der Kolostralmilch werden humorale Antikörper auf die Ferkel übertragen und verleihen einen Schutz gegen die Erkrankung, mitunter auch vor der Infektion, der etwa zwei bis drei Monate anhält (BEER, 2011). Persistierende maternale Antikörper behindern die Immunantwort auf eine Infektion oder Vakzination (ZIMMERMANN und

PLONAIT, 2004). Ferkel sind durch maternale Antikörper nur unvollständig vor der Erkrankung geschützt (LOEFFEN et al., 2003).

#### **2.4.2.3. Vorkommen von Antikörpern beim Wildschwein**

Es gibt serologische Beweise für Infektionen von Wildschweinen mit den Subtypen H1N1, H1N2 und H3N2 des Influenzavirus in Deutschland, Polen und Spanien, also den Subtypen, die auch häufig Hausschweine betreffen (REPERANT et al., 2012; REPERANT et al., 2009). Es treten alle drei Subtypen der SI in europäischen Wildschweinen auf (RUIZ-FONS et al., 2008).

Die Seroprävalenzen bei Schwarzwild variieren nach geographischer Lage und Subtypen zwischen unter 1 % und 6 %. (REPERANT et al., 2012).

In untersuchten Serumproben von Wildschweinen aus dem Jahr 2010 aus verschiedenen Jagdgebieten Deutschlands (n = 94) wurden bei 2,1 % Antikörper gegen H1N1 mittels ELISA nachgewiesen. Die beiden positiven Tiere stammten aus Rheinland-Pfalz (n = 11) und 63 Proben aus Baden-Württemberg (SATTLER et al., 2012).

Wildschweinblutproben aus fünf deutschen Bundesländern aus verschiedenen Jagdjahren (Mecklenburg-Vorpommern 1997 / 1998 und 2006 (n = 120); Brandenburg 2004 / 2005 (n = 120); Sachsen-Anhalt 2001 (n = 120); Baden-Württemberg 2001 / 2002 (n = 81) und Rheinland-Pfalz 2005 (n = 120) wiesen Seroprävalenzen von 3,1 %; 2,5 %; 8,3 %; 25,9 % und 8,3 % im Hämagglutinationshemmtest auf. Es wurden nur Antikörper gegen H1N1 (3,9 %) und H3N2 (1,5 %) gefunden (nicht gegen H1N2). Antikörper gegen beide Subtypen kamen bei 0,2 % der Tiere vor. Insgesamt wiesen adulte Tiere häufiger Antikörper auf (14,1 %) als Frischlinge (4,2 %) und Läufer (5,5 %). Die durchschnittliche Seroprävalenz lag bei 5,2 % (KADEN et al., 2008). In einer weiteren Veröffentlichung lag diese in den gleichen Gebieten bei 7,84 %. Von 44 Tieren waren zehn Frischlinge, 25 Überläufer und sieben adulte Tiere seropositiv bezüglich Antikörper gegen SIV. Schwarzwild im Alter über einem Jahr war also häufiger positiv, als jüngere Tiere (KADEN et al., 2009).

#### **2.4.2.4. Vorkommen von Antikörpern beim Hausschwein**

Das Influenzavirus stellt einen der wichtigen Infektionserreger für respiratorische Erkrankungen bei Mastschweinen dar (LOEFFEN et al., 1999). Die Subtypen H1 und H3 sind in der Schweineindustrie weltweit verbreitet (OLSEN, 2002; VAN REETH et al., 2008).

Die in der Vergangenheit bei Hausschweinen gefundenen Influenzaviren gehörten zu den Subtypen H1N1-dem Stamm der klassischen Schweineinfluenza und der Mexikogrippe- oder H3N2, einem humanen Influenzastamm der auch für Schweine pathogen ist. (SCHULZE-HORSEL et al., 2009).

Seit Mitte der neunziger Jahre wurde in Europa die Reassortante H1N2 häufig in Hausschweinebeständen nachgewiesen (BROWN et al., 1995; VAN REETH et al., 2000; MAROZIN et al., 2002; SCHRADER und SÜSS., 2003). Diese Viren besitzen ein Hämagglutinin humaner, eine Neuramidase porciner sowie Genomsequenzen aviärer Abstammung (BROWN et al., 1998).

In einem Mastschweinebestand in Baden-Württemberg wurde in Proben aus dem Jahr 2012 der Subtyp H1pdmN2 identifiziert. Dabei handelte es sich um eine Reassortante zwischen dem humanen pandemischen (pdm) Virus des Subtyps H1N1/2009 und einem porcinen Influenzavirus des Subtyps HxN2 (SCHNEIDER-BÜHL et al., 2015)

Antikörper gegen die Subtypen H1N1, H1N2 und H3N2 konnten in Proben der Jahre 2002 / 2003 aus 651 Beständen auch in Europa nachgewiesen werden. In Belgien, Deutschland und Spanien gab es wenige Bestände ohne Antikörper (1 – 4 %). In Italien waren 11,8 % der Bestände seronegativ. Die Seroprävalenzraten für alle drei Subtypen waren in diesen Ländern höher als 50 %, mit Ausnahme der Seroprävalenz für H1N2 in Italien, die bei 35,5 % lag. In Polen waren nur 9 % der Bestände positiv, und es wurden dort nur Antikörper gegen H1N1 gefunden (VAN REETH et al., 2008).

In Norddeutschland wurde in einer Studie im Rahmen des Schweinegesundheitsdienstes festgestellt, dass der Höhepunkt einer Epidemie im Januar / Februar lag und sich schnell ausbreitete, in den Monaten März und April erkrankten deutlich

weniger Tiere. Ebenso wie in anderen Ländern traten die Ausbrüche mit Beginn kalter Witterung auf und erloschen in wärmeren Jahreszeiten (MÜLLER et al., 1981).

In Belgien, Italien, Frankreich und Spanien wurden in den Jahren 2006 – 2008 insgesamt 80 Mastschweinebestände mittels Hämagglutinationshemmungstest auf SI untersucht. Bei 9,7 % der Haltungen konnten keine Antikörper nachgewiesen werden, 49 % wiesen Antikörper gegen einen Subtyp, 38 % gegen zwei Subtypen und 3,9 % gegen alle drei Subtypen auf. In Belgien, Italien und Spanien wurden Antikörper gegen alle drei Subtypen gefunden, in Frankreich wurden keine Antikörper gegen H3N2 nachgewiesen. Ein Einfluss der Jahreszeiten konnte nicht festgestellt werden (KYRIAKIS et al., 2013).

### **2.4.3. Influenza A bei anderen Tierarten**

Zu den zahlreichen empfänglichen Tierarten zählen unter anderem Pferde (SCHEMANN et al., 2014), Hunde (NIKITIN et al., 1972), Wale (LVOV et al., 1978) Wiederkäuer (LOPEZ und WOODS, 1984; REPERANT et al., 2009) und Nerze (KLINGEBORN et al., 1985).

Außer bei Geflügel sind bei anderen Tierarten nur einzelne Subtypen nachgewiesen worden. Die Übertragung durch Geflügel wurde dabei vermutet oder nachgewiesen (BEER, 2011). Bei der aviären Influenza werden nach dem intravenösen Pathogenitätsindex (IVPI) niedrig pathogene aviäre Influenzaviren (Low Pathogenic Avian Influenza Virus = LPAIV) und hoch pathogene aviäre Influenzaviren (Highly Pathogenic Avian Influenza Virus = HPAIV) unterschieden. HPAIV wurden bisher nur innerhalb der Subtypen H5 und H7 gefunden und weisen eine spezifische multibasische Spaltstellensequenz (H<sub>0</sub>-Spaltstelle) im Hämagglutinin auf. Es gibt aber auch LPAIV, die diesen Subtypen angehören (BEER, 2011).

#### 2.4.4. Zoonotische Bedeutung

Über die Übertragung von Influenza A-Viren durch Wildschweine auf den Menschen ist bisher nichts dokumentiert (BUNDESINSTITUT FÜR RISIKOBEWERTUNG, 2006).

Influenza Viren der Subtypen H1, H2, H3 kommen beim Menschen endemisch und H5, H7, H9 (H10) sporadisch vor, wurden aber auch in Schweinen identifiziert (BEER, 2011). Da Schweine mit humanen und aviären Influenzaviren (ko-) infiziert werden können, können sie als „Mixing Vessel“ dienen, so zum Beispiel auch bei der Pandemie 2009, die durch eine Reassortante (aviär/ human/ Schwein) verursacht wurde (NEUMANN et al., 2009).

Influenza A-Viren aller Serotypen (H-Typen) können im Geflügel (insbesondere Wassergeflügel) endemisch vorkommen (BEER, 2011). Der Mensch kann sich durch Kontakt mit Geflügel, Wasservögeln und Schweinen infizieren (BEER, 2011).

Jäger könnten bei der Jagdausübung in Kontakt mit SIV oder aviärer Influenza kommen und sollten bei der Präparation des Wildes, besonders Wildschweinen und Wasservögeln, entsprechende Schutzmaßnahmen ergreifen (REPERANT et al., 2012).

Das Bundesamt für Risikobewertung schätzt das Risiko, sich an Fleisch und Fleischprodukten von Wildschweinen zu infizieren, die mit (aviären) Influenza A-Viren kontaminiert sind, als sehr gering ein (BUNDESINSTITUT FÜR RISIKOBEWERTUNG, 2006).

Es wurde die Hypothese aufgestellt, dass die Übertragung auch durch Wildtiere (auch Schwarzwild) über kontaminiertes Trinkwasser möglich ist (SODDEMANN, 2005).

Beim Menschen ist der klinische Verlauf der Infektion im Wesentlichen mit dem bei Schweinen identisch und wird als „Grippe“ bezeichnet, potentielle Gefahr geht auch beim Menschen von Sekundärinfektionen aus (BEER, 2011). Die Influenza tritt bei Menschen häufig alle ein bis drei Jahre endemisch mit Häufung in den Wintermonaten und pandemisch in Abständen von Jahrzehnten auf (ANONYMOUS, 1990).

### 2.4.5. Anzeige- und Meldepflicht

Die Schweineinfluenza unterliegt in Deutschland keiner Anzeige- oder Meldepflicht (BEER, 2011). Im Gegensatz dazu ist die sogenannte Geflügelpest entsprechend der Verordnung über anzeigepflichtige Tierseuchen (TierSeuchAnzV) anzeigepflichtig. Diese liegt nach der Verordnung zum Schutz gegen die Geflügelpest (GeflPestSchV) vor, wenn durch entsprechende Untersuchungen hochpathogenes aviäres Influenza A-Virus der Subtypen H5 oder H7, das für multiple basische Aminosäuren im Spaltbereich des Hämagglutininmoleküls kodiert (H<sub>0</sub>-Spaltstelle), oder andere Influenzaviren mit einem intravenösen Pathogenitätsindex von mehr als 1,2 (hochpathogenes aviäres Influenzavirus) bei einem gehaltenen Vogel oder hochpathogenes Influenza A-Virus des Subtyps H5N1 bei einem Wildvogel nachgewiesen worden ist. Die niedrigpathogene Influenza bei einem gehaltenen Vogel ist anzeigepflichtig, bei einem Wildvogel meldepflichtig (GeflPestSchV, 2011; TierSeuchAnzV, 2011; TKrmeldpflV, 2011).

Beim Menschen sind Influenzaviren (direkter Nachweis) nach dem Gesetz zur Verhütung und Bekämpfung von Infektionskrankheiten beim Menschen (Infektionsschutzgesetz-IfSG) und der Verordnung über die Meldepflicht bei Aviärer Influenza beim Menschen (Aviäre-Influenza-Meldepflicht-Verordnung) vom 11. Mai 2007 meldepflichtig (AIMPV, 2007; IfSG, 2000).

### 2.4.6. Bekämpfung und Prävention

Beim Schwarzwild findet derzeit keine staatliche Bekämpfung der Influenza statt. Die Verhütung der SI für Hausschweine besteht unter anderem darin, den Kontakt zwischen Haus- und Wildschweinen zu verhindern (REPERANT et al., 2012).

Zur Prophylaxe stehen zur Zeit zwei Impfstoffe zur Verfügung, die für Schweine zugelassen sind (PAUL-EHRLICH-INSTITUT, 2013b). Eine Immunisierung der Tiere ist möglichst mit einem aktuellen Impfantigen durchzuführen. Die große Variabilität des Virus durch den möglichen Antigen shift erschwert dies. Die derzeit zugelassenen Impfstoffe sind trivalent und beinhalten die Antigenkomponenten der Subtypen H1N1 (Haselünne/IDT2617/2003), H3N2 (Bakum/IDT1769/2003) sowie dem neuen Subtyp

H1N2 (Bakum/1832/2000), die aktuell in Hausschweinebeständen vorkommen. Einmalige Vakzination verhindert klinische Erkrankungen durch Stämme dieser Subtypen. Sauen können geimpft werden, sodass die kolostralen Antikörper den Ferkeln einen gewissen Infektionsschutz bieten (BEER, 2011). Neuraminidasehemmer, wie zum Beispiel Tamiflu<sup>®</sup>, sind zur Zeit die einzige Möglichkeit einer zusätzlichen Prophylaxe und bieten Schutz vor Erkrankung (DUERRWALD et al., 2013).

#### **2.4.7. Methoden zum Antikörpernachweis**

Die Diagnose einer akuten SI mit serologischen Methoden erfordert gepaarte Serumproben in etwa drei bis vier Wochen Abstand. Die Serologie kann verwendet werden, um den Immunstatus einer Herde sowie maternale und postvakzinale Antikörper zu bestimmen (VAN REETH et al., 2012).

In der Routinediagnostik wird beispielsweise der ELISA oder der Hämagglutinationshemmungstest eingesetzt, um stattgefundene und aktuelle Infektionen mit SIV nachzuweisen (LEE et al., 1993). Ein Neutralisationstests kann ebenfalls zur Antikörperbestimmung genutzt werden (CIACCI-ZANELLA et al., 2010).

Kommerzielle ELISA können in zwei Gruppen eingeteilt werden, solche, die subtypspezifische Antikörper detektieren und im Vergleich zur Hämagglutinationshemmung eine reduzierte Sensitivität haben (BARBE et al., 2009; LEUWERKE et al., 2008) und solche, die Antikörper gegen ein hochkonserviertes nukleares Antigen des Influenza A-Virus detektieren und generell eine gute Sensitivität haben, aber nicht zwischen Subtypen unterscheiden können (CIACCIZANELLA et al., 2010).

Zur Zeit sind zum Beispiel der ID Screen<sup>®</sup> Influenza A Antibody Competiton, Kurzform FluAcA (Firma ID Vet<sup>®</sup>, Montpellier, Frankreich) und der in dieser Arbeit verwendete IDEXX<sup>®</sup> Influenza A, Testkit zum Nachweis von Antikörpern gegen das Virus der Influenza A (IDEXX<sup>®</sup> Europe B.V.) zugelassen (FRIEDRICH-LOEFFLER-INSTITIUT, 2014a). Dieser weist aufgrund des Blocking-Formats (Testprinzip siehe Seite 17) Antikörper aller Klassen gegen das Nukleoprotein des Influenza A-Virus in Seren bei vielen Tierarten nach. Dieser ELISA ist für den Nachweis bei Wildvögeln,

Hausgeflügel (außer Wachteln und Fasanen), Schweinen und Pferden zugelassen. Der Test ist mit einem konstanten, hochgradig konservierten Nukleoprotein von Influenza A-Virus als Antigen ausgestattet, bietet eine Sensitivität von 95,4 % und eine Spezifität von 99,7 % und einen Expositionsachweis mit wenig falsch-positiven Befunden und ohne subtypbedingte Einschränkungen (IDEXX<sup>®</sup> LABORATORIES, 2010).

Die Hämagglutinationshemmung ist der Standardtest für Handelsuntersuchungen und detektiert Antikörper, die spezifisch gegen das Hämagglutinin der Virushülle gerichtet sind (WELTORGANISATION FÜR TIERGESUNDHEIT, 2004) und ist in der Lage IgM- genauso effizient zu detektieren, wie IgG-Antikörper (YOON et al., 2004). Der Hämagglutinationshemmungstest wird für den quantitativen Nachweis spezifischer Antikörper gegen Viren, die Erythrozyten agglutinieren verwendet. Agglutinine der Virusoberfläche binden an die Erythrozytenmembran, bewirken so eine Vernetzung der Erythrozyten und verändern dadurch deren Sedimentationsverhalten. Sind Antikörper gegen die entsprechenden Viren vorhanden, binden diese an die Agglutinine und verhindern die Agglutination der Erythrozyten. Die antikörperhaltigen Seren werden bis zum Endpunkt verdünnt, wobei die Antigen- sowie die Erythrozytenmenge konstant gehalten wird. Anhand des Hemmungsgrades kann der Gehalt an virusinduzierten hämagglutinationshemmenden Antikörper in der Probe (HAHT-Titer) bestimmt werden (LANDESUNTERSUCHUNGSAUSSCHUSS KOBLENZ, Stand 2015). Da verschiedene Subtypen des Influenza A Virus über unterschiedliche Hämagglutinine verfügen, kann durch Verwendung spezifischer Antiseren eine Subtypisierung erfolgen. Das verwendete Antigen ermöglicht den Nachweis der Stämme des jeweiligen Subtyps (DUERRWALD, 2015).

Im Hämagglutinationshemmungstest wurden keine Kreuzreaktionen von Antikörpern gegen H1N1 und H3N2 festgestellt (HEINEN et al., 2001). Es ist die Möglichkeit der nicht spezifischen Hemmung der Hämagglutination gegeben, auch können unspezifische Agglutinine im Serum vorkommen (EASTERDAY und HINSHAW, 1992). Der Vergleich der Ergebnisse der Hämagglutinationshemmung, die in zeitlichem Abstand oder unterschiedlichen Laboren ermittelt wurden, ist problematisch, da sie zum Beispiel von der angewandten Technik, dem Stamm des Testvirus und der Indikatorzellart abhängen (GOETZ et al., 2004). Der Serum-Virus

Hämagglutinationshemmungstest ist der spezifischste Test, wohingegen der ELISA sensitiver als andere Tests ist (WRIGHT et al., 2007).

Es ist möglich, dass Seren, die im ELISA positiv sind und in der Hämagglutination negativ, tatsächlich Antikörper enthalten, nur nicht mit dem entsprechenden Antigen untersucht wurden (TSE et al., 2012).

## 2.5. Brucellose

### 2.5.1. Erreger

Bakterien der Gattung *Brucella* sind nicht sporenbildende, gram-negative, meist aerobe bis mikroaerophile, kurze Stäbchen aus der Familie der Brucellaceae mit einem Durchmesser von 0,5 – 0,7 µm x 0,6 – 1,5 µm. Es sind unbewegliche, obligat wirtsständige und parasitär lebende Bakterien mit mäßiger Tenazität, die typischerweise intrazellulär wachsen und unter günstigen Bedingungen für mehrere Monate infektionstüchtig bleiben (BAUERFEIND, 2011). In der Gattung *Brucella* werden heute neun Spezies unterschieden: *B. abortus*, *B. canis*, *B. ceti*, *B. melitensis*, *B. microti*, *B. neotomae*, *B. ovis*, *B. pinnipedialis* und *B. suis* (BAUERFEIND, 2011). Kürzlich wurde *B. inopinata* als neue, atypische Brucellenspezies beschrieben, deren bevorzugter Wirt bisher noch nicht identifiziert ist (JIMENEZ DE BAGUES et al., 2014; SCHOLZ et al., 2010).

Die wichtigsten Arten lassen sich nach ihren biochemischen Eigenschaften in 16 Biovare unterteilen (BAUERFEIND, 2011; CORBEL und BANAI, 2005).

Grundsätzlich können alle Brucellenspezies Säugetiere infizieren (GLYNN und LYNN, 2008). Jede Brucellenart ist an bestimmte Hauptwirtsspezies angepasst, zwischen deren Individuen sie bevorzugt zirkuliert. Bei Schweinen wird die Brucellose hauptsächlich durch *B. suis* der Biovare 1, 2 und 3 verursacht. Während *B. suis* Biovar 1 und 3 normalerweise nur Schweineartige infiziert, ist *B. suis* Biovar 2 für Infektionen von Schweineartigen und Feldhasen verantwortlich (MELZER et al., 2006). Infektionen mit *B. abortus* und *B. melitensis* sind beim Schwein möglich. (BAUERFEIND, 2011).

Als Erreger der Schweinebrucellose dominiert in Mitteleuropa der Biovar 2 von *B. suis* (VON DEDEK, 1983). Biovar 2 von *B. suis* kommt nur in Europa vor und besitzt eine geringere Virulenz für den Menschen, während Biovar 1 weltweit und Biovar 3 vor allem in Nordamerika und Südostasien vorkommen (GESELLSCHAFT FÜR INNOVATIVE VETERINÄRDIAGNOSTIK, Stand 16.04.2010). Im Jahr 2009 wurde erstmals *B. suis* Biovar 3 bei Hausschweinen und Wildschweinen in Europa (Kroatien) nachgewiesen (CVETNIC et al., 2009).

Als Reservoir für *B. suis* Biovar 2 in Ost- und Mitteleuropa in Wildtieren werden in erster Linie das Wildschwein und der Hase angegeben (GODFROID und KASBOHRER, 2002). Mit Brucellose verseuchte Hasenpopulationen gefährden nach Ansicht vieler Autoren besonders die Zuchtschweinebestände. Aus Untersuchungsergebnissen wurde gefolgert, dass die Infektionsquelle für sporadische Fälle der Schweinebrucellose in infizierten Hasenpopulationen zu suchen ist, in denen die Verbreitung der Brucellose allerdings auf bestimmte Gebiete begrenzt ist. Auch war beobachtet worden, dass Wildschweine Kontakt zu Schweinebeständen hatten, in denen später Schweinebrucellose ausbrach. Die Ursachen für Neuausbrüche von Schweinebrucellose sollten stets zunächst in *B. suis*-Naturherden gesucht werden (FENSKE und PULST, 1973).

Wildschweine dürften im gleichen Maße wie Hasen als potentielle Infektionsquelle für den Erreger der Schweinebrucellose zu betrachten sein (PANNWITZ, 1984). Auch als Ansteckungsquelle für Rinder sind Wildschweine epizootologisch zu beachten, da die Brucellose bei ihnen enzootisch vorkommt (VON DEDEK, 1983). Wie in vielen Fällen, so wurde auch *B. abortus* vermutlich ursprünglich von Haustierbeständen auf Wildtiere übertragen, die zum Reservoir wurden (RHAN, 2013). Kontakte zwischen Wildschweinen und Hausschweinen in Freilandhaltung sind dabei nicht zu vernachlässigen (WU und RYSER-DEGIORGIS, 2011).

Auch bei Wildschweinen die in Gatterhaltung leben, kommt Brucellose vor (HEINRITZI et al., 1999). In einem untersuchten Gebiet in Spanien wurde eine Rolle von Hausschweinen in der Epidemiologie bei Wildschweinen aufgrund der Intensivhaltung der Schweine für unwahrscheinlich gehalten, da dort keine Hausschweinebestände betroffen waren (CLOSA-SEBASTIA et al., 2010).

Es gibt keine *Brucella*-Art, die speziell an den Menschen adaptiert ist, der Mensch ist Nebenwirt für *B. abortus*, *B. melitensis* und *B. suis* (SELBITZ, 2007).

## 2.5.2. Brucellose bei Wild- und Hausschwein

### 2.5.2.1. Klinik und Erkrankung

Beim Schwein erfolgt die Aufnahme von Brucellen meist oral oder wechselseitig zwischen Eber und Sau beim Deckakt (SCHNURRBUSCH, 2006). Nach Eintritt in die Mucosa und Migration zu den regionalen Lymphknoten mit Hilfe von Phagozyten (RHAN, 2013) verursachen Brucellen häufig generalisierte Infektionen mit einer bakteriämischen Phase, gefolgt von der Manifestation in den Reproduktionsorganen und dem retikuloendothelialen System. Infektionen der natürlichen Wirte sind selten letal, sondern oft mild und manifestieren sich meist bei tragenden Tieren (CORBEL und BANAI, 2005). Es können auch Gelenke, Sehnenscheiden und Zwischenwirbelscheiben besiedelt werden (SCHNURRBUSCH, 2006).

Als Krankheitszeichen werden bei Tieren vorwiegend undulierendes Fieber, Arthritis, Bursitis, Orchitits und Puerperalerkrankungen festgestellt (FRIEDRICH-LOEFFLER-INSTITUT, 2014b). Beim Eber treten Orchitis und /oder Epididymitis bzw. Erkrankungen der akzessorischen Geschlechtsdrüsen auf. Jung- und Altsauen entwickeln eine Endometritis, teilweise auch Salpingitis und rauschen regelmäßig um. Infektion beim Deckakt führt zum Embryontod. Trächtige Sauen können abortieren, bei einer Infektion in der Spätphase der Trächtigkeit werden normal entwickelte Ferkel geboren (HEINRITZI, 2006).

Infektionen des Schweins mit *B. melitensis* und *B. abortus* zeigen meist keine oder nur eine geringe klinische Manifestation (BAUERFEIND, 2011). Einige der mit *B. suis* Biovar 2 infizierten Tiere zeigten im Experiment vorübergehendes Erbrechen, wenige entwickelten eine Arthritis (JUNGERSEN et al., 2006).

### 2.5.2.2. Immunreaktion und passive Immunität

Das Hauptantigen welches für die humorale Immunreaktion verantwortlich ist, ist das smooth Lipopolysaccharid (S-LPS) der Brucellen (OLSEN et al., 2012).

Das Muster der Antikörperproduktion gegen *B. suis* beim Schwein ist nicht genau geklärt, sie sollte gleichartig wie die Antikörperproduktion bei Infektionen mit anderen

Brucellen verlaufen: IgM-Antikörper prädominieren in den ersten zwei Wochen der Infektion, IgG steigt langsam während der ersten drei Wochen der Infektion (BALDWIN und GOENKA, 2006; OLSEN et al., 2012).

Der chronische Charakter einer Brucelleninfektion zeigt, dass die Immunantwort nicht in der Lage ist, Brucellen effektiv in ihrer intrazellulären Nische zu erreichen (LAMONTAGNE et al., 2009; OLSEN et al., 2010).

Schweine im Alter von unter sechs bis acht Monaten bilden nach einer Infektion eine Immunität aus (HEINRITZI, 2006). Saugferkel von mit *B. suis* infizierten Schweinen entwickeln keine zellvermittelte Immunität (KANEENE et al., 1978).

Bei experimentell mit *B. suis* Biovar 2 infizierten Schweinen traten die ersten serologisch positiven Befunde 17 – 21 Tage p.i. auf und blieben bei sechs von neun infizierten Schweinen durchweg bis zum Ende der Untersuchung nach 21 Wochen nachweisbar. Im kompetitiven ELISA waren an Tag 21 vier von sieben und am Tag 98 sieben von sieben Tieren serologisch positiv. Zwei Tiere, bei der Infektion acht und sechzehn Wochen alt, entwickelten keine serologisch nachweisbare Immunantwort und waren bei der Sektion nach 21 Wochen frei von Brucellen. Bei sieben Schweinen verlief die Infektion subklinisch (JUNGERSEN et al., 2006).

Bei siebzehn Schweinen die mit *B. abortus* Biovar 1 infiziert wurden, variierte der Zeitpunkt der nachweisbaren Serokonversion mit verschiedenen Methoden je nach Art der Inokulation und der Individuen. Erstmals nach vier Tagen waren Antikörper im Rose-Bengal-Test (RBT) nachweisbar, der Antikörper-ELISA wurde ab Tag neun p.i. positiv. Es serokonvertierten nicht alle infizierten Tiere. Bei einigen wurde ein biphasischer Verlauf der serologischen Antwort gefunden, welcher aber möglicherweise auf eine Reinfektion zurückzuführen ist. Alle Tiere zeigten nachweislich eine zellvermittelte Immunantwort. Ein Schwein schien resistent gegenüber der Infektion zu sein (STUART et al., 1987).

### **2.5.2.3. Vorkommen von Antikörpern beim Wildschwein**

Im Jahr 2010 wurden in Rheinland-Pfalz 100 zufällig ausgewählte Proben von Wildschweinen im ELISA auf Antikörper gegen Brucellen untersucht. 68 beprobte

Tiere waren männlich, 26 weiblich, sechs ohne Geschlechtsangabe. Bei insgesamt 11 % der getesteten Wildschweine konnten im ELISA Antikörper nachgewiesen werden, wobei eine Probe aus dem Kreis Südwestpfalz fraglich positiv war und sich in der Komplementbindungsreaktion (KBR) nicht als positiv bestätigt hat. Bei einer weiteren Probe konnte die KBR wegen Mangel an Probenmaterial nicht durchgeführt werden. Von 16 Tieren im Alter über 2 Jahre waren 12,5 %, in der Altersgruppe 1 – 2 Jahre waren von 79 Tieren 11,4 % positiv. Keins der positiven Tiere war unter einem Jahr alt. Die im ELISA positiv getesteten Stücke waren fast alle männlich (10 von 68 männlichen Tieren) und stammten aus den Kreisen Germersheim (1/3), Bernkastel-Wittlich (1/3), Südliche Weinstraße (2/8), Neuwied (3/23), Südwestpfalz (2/10), der kreisfreien Stadt Pirmasens (1/2) und der kreisfreien Stadt Kaiserslautern (1/1). Nur eins der positiv getesteten Tiere war weiblich (LANDESUNTERSUCHUNGSAMT KOBLENZ, 2010).

In Folge eines Brucellose-Ausbruchs bei Schweinen in Freilandhaltungen in Mecklenburg-Vorpommern wurden unter anderem 6.108 Blutproben von Wildschweinen des Gebiets untersucht. Die serologische Nachweisrate betrug durchschnittlich 23 %. Davon reagierten ausschließlich im ELISA (Suchtest) 13,7 % der Untersuchten positiv sowie 9,4 % im ELISA und einer weiteren Methode (SLA, RBT, oder KBR) positiv bzw. fraglich. Bei Frischlingen unter einem Jahr lag die Prävalenz zwischen 13,8 % (weiblich) und 15,3 % (männlich). Wildschweine im Alter von ein bis zwei Jahren waren zu 27,9 % (weiblich) / 28,8 % (männlich) seropositiv. Tiere im Alter von über zwei bis fünf Jahren waren zu 31,7 % (weiblich) und 38,4 % (männlich) seropositiv. Ältere Tiere zeigten demnach insgesamt eine höhere Prävalenzrate (ROOST et al., 2010). Ein Teil der Wildschweine wurde auf den Erreger untersucht (Erregerprävalenz 2,9 %). Anhand der Ergebnisse konnte eine direkte Übertragung von *B. suis* Biotyp 2 aus der Schwarzwildpopulation auf die Freilandschweine nicht bewiesen werden, obwohl auch nach Meinung der Autoren das Wildschwein ein Erregerreservoir für Hausschweinebestände darstellt (GERST et al., 2010; ROOST et al., 2010).

In Sachsen-Anhalt wurde im Antikörper-ELISA in einem Probenaufkommen von 2.293 Blutproben von Wildschweinen ein Anstieg der durchschnittlichen Seroprävalenz von Brucellose-Antikörpern von 22,7 % im Jahr 2007 auf 28,8 % im

Jahr 2008 festgestellt, wobei die Prävalenzen sich regional unterschieden (BORGWARDT, 2008).

In einer Studie wurden 885 Seren von Wildschweinen aus fünf Bundesländern mit einem indirekten ELISA (CHECKIT<sup>®</sup>-Brucella suis ELISA, IDEXX, Westbrook, USA) auf Brucellen-Antikörper untersucht. Die Seroprävalenz lag in den verschiedenen Regionen zwischen 0 % und 28,5 %, im Bestätigungstest (KBR, SLA) lag sie niedriger und erreichte bis zu 12,1 %. Exclusive der fraglich-positiven Proben lagen die Prävalenzen im ELISA in Mecklenburg-Vorpommern, Sachsen-Anhalt, Thüringen, Sachsen und Baden-Württemberg im ELISA bei 25,9 %, 20,6 %, 12,9 %, 28,5 % und 0 % (MELZER et al., 2006).

Proben von 763 Wildschweinen aus Mecklenburg-Vorpommern aus den Jahren 1995 – 1996 ergaben bei serologischer Untersuchung (ELISA) für Antikörper gegen Brucellen eine Seroprävalenz von 22 %; 2,5 % der anderen Seren waren fraglich positiv. Die Detektion von Antikörpern gegen Brucellose war unabhängig von Alter und Geschlecht der Getesteten, obwohl die Seroprävalenz mit dem Alter der Probanden stieg, war dies nicht statistisch signifikant (AL DAHOUK et al., 2005). In 62,6 % des gesamten Probenpools waren Antikörper gegen *Yersinia enterocolitica* nachweisbar, die Prävalenz stieg signifikant mit dem Alter der Tiere, war aber ebenfalls geschlechtsunabhängig (AL DAHOUK et al., 2005).

Untersuchte Proben von weiblichen Wildschweinen aus Niedersachsen (n = 122), der Westeifel (n = 50) und dem Pfälzerwald (n = 27) aus den Jahren 2005 – 2006 wurden serologisch mittels Rose-Bengal-Test (RBT) und Serumlangsamagglutination (SLA) auf Antikörper gegen Brucellose untersucht. Frischlinge unter 18 kg Aufbruchgewicht wurden nur in Einzelfällen beprobt. Es wurden bei zwei der 28 Überläufer aus Niedersachsen und bei einem von 15 Überläufern aus der Westeifel Antikörper nachgewiesen. Aufgrund dieser Einzelnachweise wurde eine rückläufige Tendenz von Brucellose beim Wildschwein in diesen Untersuchungsgebieten vermutet (GETHÖFFER, 2005).

Im Einzugsgebiet des Bezirksinstituts Rostock wurden 1.794 Proben von November 1977 und September 1981 mittels Komplementbindungsreaktion (KBR) und Serumlangsamagglutination (SLA) auf Antikörper gegen Brucellen untersucht. 7,9 % der Proben wiesen positive Reaktionen auf (VON DEDEK et al., 1986).

In Neubrandenburg wurden 2.225 Wildschweinblutproben untersucht. Der Anteil serologisch positiver und verdächtiger Ergebnisse betrug 8,7 %. Reagenten wurden in allen 13 kontrollierten Kreisgebieten gefunden (PANNWITZ, 1984).

#### **2.5.2.4. Vorkommen von Antikörpern beim Hausschwein**

In den USA und Nordeuropa (außer Nordirland) wurde *B. abortus* bei Haus- und Nutztieren erfolgreich durch staatliche Programme bekämpft (GLYNN und LYNN, 2008; GODFROID und KASBOHRER, 2002).

Im Jahr 2006 und 2004 wurde je ein Seuchenfall in Brandenburg (Mast) und in Mecklenburg-Vorpommern (Ferkel, Mastferkel – 25 kg) festgestellt. Die letzten Fälle von Schweinebrucellose wurden in den Jahren 2014 und 2015 in Baden-Württemberg, Nordrhein-Westfalen, Bayern (Mastschweine) und Mecklenburg-Vorpommern (Ferkel) sowie 2011 in Schleswig-Holstein (Zuchteber) und im Jahr 2009 in Brandenburg belegt (FRIEDRICH-LOEFFLER-INSTITUT, 2014c).

Im Jahr 2008 / 2009 kam es in fünf Landkreisen Mecklenburg-Vorpommerns zu Infektionen mit *B. suis*. In allen Beständen galt eine Einschleppung über indirekte Vektoren aus dem Schwarzwildbestand der Umgebung als wahrscheinlich (ROOST et al., 2010), konnte aber nicht belegt werden (GERST et al., 2010). Eine infizierte Haltung wurde über konsequente Rückverfolgung des Tier- und Fahrzeugverkehrs entdeckt. Der Erregereintrag erfolgte in drei Beständen vermutlich sechs bis neun Monate vor Seuchenfeststellung (ROOST et al., 2010).

Sporadische, bakteriell belegte Ausbrüche von *B. suis* Biovar 2 wurden in Zuchtbetrieben im Zeitraum 1995 – 2004 in Deutschland festgestellt (AL DAHOUK et al., 2005; KAUTZSCH et al., 1995).

In den Jahren 1985 – 1995 wurden im Gebiet der alten und neuen Bundesländer in Deutschland im Durchschnitt 2,4 Ausbrüche je Jahr ermittelt, und 1993 blieb die gesamte Hausschweinepopulation Deutschlands erstmals ohne Brucellosefeststellung (KAUTZSCH et al., 1995).

KAUTZSCH et al., untersuchten 1994 einen Fall von Brucellose in einem Schweinezuchtbetrieb mit drei ortsgetrennten Schweinehaltungen im Landkreis Leipzig, in dem das akute Verferkeln bei einer größeren Anzahl von Sauen innerhalb eines kurzen Zeitraums beobachtet wurde und folgerte, das dort schon vor klinischer Manifestation eine primäre Ausbreitung stattgefunden haben musste. Alle nicht gekeulten Schweine über vier Monate wurden serologisch untersucht, 44 % erwiesen sich als positiv. Die Einschleppung erfolgte offensichtlich über direkte Kontakte zur Schwarzwildpopulation und wurde durch Umsetzung von Mastläufern verbracht (KAUTZSCH et al., 1995).

In Kroatien wurden Seren aus 1.997 Schweineherden aus 11 Regionen untersucht und die mittlere Herdenprävalenz lag bei nahezu 3,4 % bezüglich Antikörpern gegen Brucellen (CVETNIC et al., 2009).

### **2.5.3. Brucellose bei anderen Tierarten**

Brucellen haben ein breites Wirtsspektrum. So kommt Brucellose auch bei anderen Tierarten vor, so auch bei Rehen und Hasen in Deutschland / *B. suis* Biovar 2 (FENSKE und PULST, 1973; STING, 2013; STING et al., 2014).

In einer Untersuchung wurden Proben aus Deutschland von Schalenwild (29 Muffelwild, 35 Damwild, 96 Rotwild, 169 Rehwild und 70 Schwarzwild) mittels Serumlangsamagglutination (SLA) / Komplementbindungsreaktion (KBR) auf das Vorliegen von Antikörpern gegen *B. abortus* und *B. melitensis* Antigen getestet. Davon reagierten sechs Stück Rotwild und vier Stück Schwarzwild positiv (WEBER, 1981).

### **2.5.4. Zoonotische Bedeutung**

Brucellose kommt bei Menschen in Ländern um das Mittelmeer sowie im Nahen Osten und Südamerika vor (PAPPAS et al., 2006). Die Brucellose des Menschen ist in Deutschland eine selten auftretende Erkrankung, die meist im Ausland erworben wird (GODFROID et al., 2005).

Die wichtigsten Ansteckungsquellen für den Menschen sind Ziegen, Schafe, Rinder, Schweine und Hunde. Als Erreger kommen vor allem *B. melitensis* (Malta-Fieber – Hauptwirt Schaf und Ziege), *B. abortus* (Bangsche Krankheit – Hauptwirt Rind) und *B. suis* (Hauptwirt Schwein) in Frage (WEBER und KRAUSS, 1975). Insgesamt ist *B. melitensis* weltweit in der Klinik die am häufigsten beim Menschen isolierte Spezies (PAPPAS et al., 2005).

Der Mensch infiziert sich durch den Verzehr kontaminierter Rohmilch bzw. Rohmilchkäse oder den Kontakt mit infizierten Tieren. Dabei ist die Übertragung auch perkutan und über den Respirationstrakt möglich. Es handelt es sich in der Regel um Infektionen mit *B. melitensis*, oder *B. abortus*, seltener mit *B. suis* Biovar 1, sehr selten Biovar 2 (GODFROID et al., 2005). Der Konsum von kontaminierten und unzureichend erhitzten Nahrungsmitteln kann eine Infektion hervorrufen (AL DAHOUK et al., 2005). Das Landesamt für Verbraucherschutz Sachsen-Anhalt schätzt das Risiko, sich mit Produkten von einheimischen Wildschweinen mit Brucellen zu infizieren und an Brucellose zu erkranken für die Bevölkerung, außer bei mit Wildbret in Berührung kommenden Berufsgruppen, als sehr gering ein (BORGWARDT, 2008). So wurden zwei Fälle von Brucellose bei Jägern dokumentiert (STARNES et al., 2004).

Wegen der geringen Inzidenz und Virulenz von *B. suis* Biovar 2 für den Menschen ist die von Schweinen ausgehende Gefährdung der Bevölkerung in Mitteleuropa geringer einzustufen als in Amerika (BAUERFEIND, 2011; GODFROID und KASBOHRER, 2002). Biovar 1 (LUCERO et al., 2008) und Biovar 3 besitzen eine deutlich höhere Virulenz für den Menschen (GESELLSCHAFT FÜR INNOVATIVE VETERINÄRDIAGNOSTIK, Stand 16.04.2010), ebenso Biovar 4 (GODFROID et al., 2005).

*B. melitensis* ist für den Menschen besonders pathogen (Maltafieber), gefolgt von *B. suis* und *B. abortus* (Bang'sche Krankheit). Der akute Verlauf ist charakterisiert durch undulierendes Fieber und Bakteriämie. Die chronische Organmanifestation ist vielgestaltig: Splenohepatomegalie, Orchitis, Osteomyelitis, Arthritis, Endocarditis, Encephalitis (BISPING, 1979). *B. abortus* und *B. canis* verursachen beim Menschen gewöhnlich mildere Erkrankungen (CORBEL und BANAI, 2005; MELZER, 2011).

### 2.5.5. Anzeige- und Meldepflicht

Nach der Verordnung über anzeigepflichtige Tierseuchen ist die Brucellose von Rind, Schwein, Schaf und Ziege, verursacht durch *B. melitensis*, *B. abortus* oder *B. suis* anzeigepflichtig (BrucelloseV, 2005; TierSeuchAnzV, 2011). Die infektiöse Epididymitis des Schafbocks, ausgelöst durch *B. ovis*, ist ebenfalls anzeigepflichtig (TierSeuchAnzV, 2011).

Deutschland ist seit 1999 amtlich anerkannt frei von Rinder-, Schaf- und Ziegenbrucellose (2003/467/EG und 1993/52/EWG). Die Überwachung des Status „amtlich brucellosefrei“ erfolgt auf der Grundlage der nationalen Brucellose-Verordnung in der Fassung vom 20. Dezember 2005 in Umsetzung der Richtlinie 64/432/EWG (Rinder und Schweine) bzw. der Richtlinie 91/68/EWG für Schafe und Ziegen (MELZER, 2011).

Ein Schweinebestand gilt als brucellosefrei, wenn seit mindestens einem Jahr Brucellose der Schweine oder Verdacht auf Brucellose nicht festgestellt worden ist und ein eventuell in dem selben Betrieb gehaltener Rinderbestand anerkannt brucellosefrei ist (BrucelloseV, 2005).

Beim Menschen ist der direkte oder indirekte Nachweis von *Brucella* spp. gemäß der Falldefinitionen des Robert-Koch-Instituts meldepflichtig. Dem Gesundheitsamt wird dieser gemäß § 7 Abs. 1 Nr. 4 IfSG namentlich gemeldet, soweit er auf eine akute Infektion hinweist. Darüber hinaus stellt das Gesundheitsamt gemäß § 25 Abs. 1 IfSG ggf. eigene Ermittlungen an. Das Gesundheitsamt übermittelt gemäß § 11 Abs. 1 IfSG an die zuständige Landesbehörde nur Erkrankungs- oder Todesfälle und Erregernachweise, die der Falldefinition gemäß § 4 Abs. 2 Nr. 2 Buchst. a IfSG entsprechen (IfSG, 2000; ROBERT KOCH-INSTITUT, 2007).

### 2.5.6. Bekämpfung und Prävention

Bei Wildschweinen findet derzeit keine staatliche Bekämpfung der Brucellose statt.

Impfungen gegen die Brucellose der Rinder, Schweine, Schafe und Ziegen und Heilversuche sind verboten (BrucelloseV, 2005).

Jägern wird dazu geraten, Handschuhe beim Umgang mit erlegtem Wild zu tragen, um einer Brucellose vorzubeugen (STARNES et al., 2004).

### 2.5.7. Methoden zum Antikörpernachweis

Keiner der verfügbaren serologischen Tests ist für die Diagnose der Schweinebrucellose am Einzeltier zuverlässig (WELTORGANISATION FÜR TIERGESUNDHEIT, 2010a). Es wird empfohlen, serologische Testergebnisse auf Herden- oder Kollektivbasis zu interpretieren (OLSEN et al., 2012).

Die meisten standardisierten serologischen Tests wurden ursprünglich für die Detektion von Infektionen durch *B. abortus* bei Rindern entwickelt und nutzen die Polysaccharid O Seitenkette (O-PS) des Lipopolysaccharid (LPS) von *B. abortus* als Antigen (OLSEN et al., 2012). Zur Validierung serologischer Tests sollten die Ergebnisse auf Übereinstimmung mit dem tatsächlichen Infektionsstatus der Tiere geprüft werden (GODFROID, 2002). Derzeit werden in serologischen Test smooth Lipopolysaccharide (LPS) verwendet. Deren O-PS besitzen Epitope, die dem LPS von *Yersinia enterocolitica* serotyp O:9 (JUNGERSEN et al., 2006), und *Escherichia coli* O:157 ähnlich sind und kreuzreagieren können (BUNDLE et al., 1989; VON DEDEK et al., 1986).

Je nach Untersuchungsziel und Tierart sind in Deutschland verschiedene serologische Methoden für die Überwachungsuntersuchungen zugelassen. Beim Schwein werden für den Antikörpernachweis im Blutserum der Rose-Bengal-Test (RBT), die Serumlangsamagglutination (SLA), die zu den Agglutinationstests gehören (POESTER et al., 2010) und die Komplementbindungsreaktion (KBR) genannt (FRIEDRICH-LOEFFLER-INSTITUT, 2014b). Die SLA und die KBR sind einzusetzen, sofern bei der Erstuntersuchung von in die Besamungsstationen einzustellenden Tieren während der letzten 15 Tage der Quarantäne mittels RBT ein positives Ergebnis aufgetreten ist (FRIEDRICH-LOEFFLER-INSTITUT, 2014b). Meist wird zuerst mit einem Screening-Test mit hoher Sensitivität und evtl. geringerer Spezifität, etwa einem indirekten ELISA untersucht. Positive Proben sollten in einem Bestätigungstest mit guter Sensitivität und hoher Spezifität, etwa einem kompetitiven

ELISA (POESTER et al., 2010) oder dem Rose-Bengal-Test (ROGERS et al., 1989) untersucht werden.

Das Verfahren des indirekten Antikörper-ELISA eignet sich als Screening-Test (POESTER et al., 2010). So zum Beispiel der ID Screen® Brucellosis Serum Indirekt Multi-species ELISA der Firma IDvet, der IgG-Antikörper gegen *B. abortus*, *B. melitensis* und *B. suis* in Serum und Plasma nachweist und auch in dieser Arbeit verwendet wurde (Testprinzip siehe Seite 31). Die Mikrotiterplatten sind mit spezifischem *B. abortus* LPS-Antigen beschichtet. Da Antikörper gegen *B. suis* mit dem LPS von *B. abortus* kreuzreagieren und der Test mit einem Multispezieskonjugat durchgeführt wird, kann er auch für die Detektion von Antikörpern gegen *B. suis* beim Schwein verwendet werden (IDVET®, Stand 16.04.2010). Bei 20 Wildschweinseren und zehn Hausschweinseren, die mit der KBR als positiv getestet wurden, zeigte der ELISA eine Sensitivität von 100 %. Von 376 Hausschweinseren wurde keines falsch-positiv getestet, was eine Spezifität von 100 % belegt. Der Hersteller weist ausdrücklich auf mögliche Kreuzreaktionen mit *Yersinia enterocolitica* hin (IDVET®, Stand 16.04.2010).

Agglutinationstests können generell nicht genutzt werden, um effektiv eine Infektion mit *B. ovis* oder *B. canis* – den Spezies von Brucellen, die nur in der R-Form wachsen, nachzuweisen (POESTER et al., 2010).

Komplementbindende Antikörper treten zeitlich später auf als agglutinierende Antikörper und bleiben viele Monate bestehen. Agglutinierende Antikörper fallen nach zwei bis drei Monaten stark ab (BATHKE, 1987; ROOST et al., 2010).

Die Präsenz von Antikörpern gegen *Brucella* bedeutet nicht, dass das Tier zum Zeitpunkt der Probenahme eine aktuelle Infektion durchmacht, die Infektion kann zeitlich zurückliegen (BEVINS et al., 1996; GODFROID, 2002). Andererseits können bei Carriern die Antikörpertiter schon wieder abgesunken sein, wodurch die Möglichkeit besteht, dass die aktuelle Prävalenz der Brucellose höher liegt, als in Antikörper-Screenings ermittelt (GODFROID, 2002). So wurden auch bei Altkeilern mit serologisch negativem Ergebnis ebenfalls Brucellen angezüchtet (GERST et al., 2010; ROOST et al., 2010).

Mittels serologischer Untersuchungen können Infektionen mit *B. melitensis*, *B. abortus* und *B. suis* nicht unterschieden werden, was die Interpretation von

serologischen Untersuchungen bei Wildtieren in einigen Regionen erschwert (RHYAN, 2013).

Bei der Befundinterpretation sollte die Möglichkeit serologischer Kreuzreaktionen mit *Yersinia enterocolitica* nicht außer Acht gelassen werden. Das trifft besonders dann zu, wenn keine klinischen Erscheinungen auftreten und die serologischen Ergebnisse nicht durch Erregeranzüchtung bestätigt werden können (KAUTZSCH et al., 1995). Die Zeit der Antikörperpräsenz unterschied in einer Untersuchung bei *B. suis* Biovar 2 und *Yersinia enterocolitica* Serotyp O:9. Falsch-positive Reaktionen, verursacht durch *Yersinia enterocolitica*, waren nur zwei bis neun Wochen nach der Inokulation serologisch feststellbar, wogegen die experimentell mit *B. suis* Biovar 2 infizierten Tiere bis zum Ende der Untersuchung nach 21 Wochen durchweg positiv getestet wurden. Dies könnte genutzt werden, um zwischen Herden zu differenzieren, die mit *B. suis* oder *Yersinia enterocolitica* infiziert sind (JUNGERSEN et al., 2006).

Schweineseren können auch unspezifische Antikörper enthalten, die zusätzlich die Spezifität von konventionellen Tests, insbesondere der SLA, reduzieren können. Außerdem reagiert Schweine-Komplement mit Meerschweinchen-Komplement, was die Sensitivität der Komplement-Bindungsreaktion vermindert (WELTORGANISATION FÜR TIERGESUNDHEIT, 2010a).

Studienergebnisse zeigten für den indirekten ELISA, den kompetitiven ELISA und den Fluoreszenz-Polarisations-Assay eine Sensitivität von 98,9 %, 96,6 % und 98,8 % und eine Spezifität von 99,9 %, 99,5 % und 98,3 % (PAULO et al., 2000). Indirekten ELISA-Tests wurde eine höhere Sensitivität als der Komplementbindungsreaktion, dem Immunfluoreszenztest, der gepufferten Plattenagglutination und dem kompetitiven ELISA nachgewiesen, die Komplement-Bindungs-Reaktion zeigte eine Spezifität von 99,9 % (NIELSEN et al., 1999).

## 2.6. Salmonellose

### 2.6.1. Erreger

Salmonellen sind gram-negative Stäbchenbakterien aus der Familie der Enterobacteriaceae mit einer Größe von  $0,7 - 1,5 \mu\text{m} \times 2,0 - 5,0 \mu\text{m}$ . Fast alle Bakterien der Gattung *Salmonella* sind peritrich begeißelt und dadurch beweglich (POPOFF und LE MINOR, 2005). Es sind widerstandsfähige, teilweise ubiquitär vorkommende, fakultativ anaerobe, fakultativ intrazelluläre Bakterien, die sich bei  $7 - 45 \text{ }^\circ\text{C}$  vermehren und bei einem pH von 4,0 bis 9,5 überleben können (EKPERIGIN und NAGARAJA, 1998) und in geeigneten organischen Substraten Wochen, Monate oder sogar Jahre persistieren (SCHWARTZ, 1999).

Die Unterteilung des Genus *Salmonella* erfolgt nach biochemischen Kriterien (POPOFF und LE MINOR, 2005). Im Genus *Salmonella* werden folgende Spezies unterschieden: *Salmonella enterica* und *Salmonella bongori*. Die Ergebnisse einer Untersuchung aus dem Jahr 2004 legten nahe, dass es sich bei einem isolierten Bakterium um eine neue Spezies mit Namen *Salmonella subterranea* handelt (SHELOBOLINA et al., 2004). Die Spezies *Salmonella enterica* lässt sich weiter nach biochemischen Eigenschaften in Subspezies (ssp.) unterteilen: ssp. *enterica*, ssp. *salamae*, ssp. *arizonae*, ssp. *diarizonae*, ssp. *houtenae*, ssp. *indica* (LE MINOR et al., 1986; POPOFF et al., 2004). Die Subspezies VII wurde 1996 beschrieben (BOYD et al., 1996). Derzeit ist es üblich, nur noch für die Serovare von *Salmonella enterica* ssp. *enterica* eigene Namen zu verwenden (SELBITZ, 2011).

Entsprechend ihrer Antigenformel werden die diagnostisch relevanten Serovare nach dem Kauffmann-White-Le-Minor-Schema aufgelistet. Die Antigenformel beinhaltet Nummern und Buchstaben, die für O-Antigene (somatische Antigene), Vi-Antigene (Kapselantigene) und die beiden Phasen der H-Antigene (Flagellenantigene) stehen (POPOFF und LE MINOR, 2005; SELBITZ, 2011).

Serovare mit gemeinsamen Haupt-O-Antigenen werden zu Gruppen zusammengefasst. *Salmonella* Typhisuis und *Salmonella* Choleraesuis gehören zum Beispiel zur Gruppe O7, *Salmonella* Typhimurium zur Gruppe O4 (SELBITZ, 2011).

Innerhalb der Serovare können nach Fermentationseigenschaften Biovare und nach ihrer Empfindlichkeit gegenüber bestimmten Bakteriophagen Phagovare unterschieden werden (POPOFF und LE MINOR, 2005).

Es sind mehr als 2.500 Serovare von Salmonellen bekannt und diese können in wirtsadaptierte Serovare, die nur phylogenetisch eng verwandte Spezies infizieren, z. B.: *Salmonella* Typhi und *Salmonella* Gallinarum, und nicht wirtsadaptierte Serovare, z. B.: *Salmonella* Typhimurium und *Salmonella* Enteritidis, die ein breites Wirtsspektrum haben, unterteilt werden (WALLIS, 2001).

*Salmonella* Choleraesuis und *Salmonella* Typhisuis sind an das Schwein adaptierte Serovare. Nicht an das Schwein adaptiert, aber häufig vorkommend ist *Salmonella* Typhimurium (HEINRITZI, 2006). *Salmonella* Derby hat möglicherweise eine gewisse Anpassung an das Schwein erreicht (SELBITZ, 2011).

Einige Serotypen, wie *Salmonella* Typhi und *Salmonella* Paratyphi sind streng an den Menschen adaptiert und haben keinen anderen bekannten natürlichen Wirt (POPOFF und LE MINOR, 2005).

Das Genus *Salmonella* ist weltweit verbreitet (MENTABERRE et al., 2013). Die anteilmäßig größte Bedeutung kommt in Deutschland und vielen anderen Ländern dem nicht wirtsadaptierten Serovar Typhimurium zu (BUNDESINSTITUT FÜR RISIKOBEWERTUNG, 2008; NAGEL, 2011; VISSCHER et al., 2011; VOLF et al., 2012). *Salmonella* Choleraesuis kommt nur vereinzelt in Europa vor. *Salmonella* Enteritidis tritt bei Schweinen nur dann auf, wenn diese in engem Kontakt zu Geflügel gehalten werden. *Salmonella* Dublin kann beim Schwein auftreten, wenn sie in engem Kontakt zu Rindern gehalten werden. Andere *Salmonella* Typen werden in weniger als 5 % der Fälle gefunden (VAN DER WOLF, 2004). In Spanien war die Salmonellenprävalenz bei Wildschweinen, die in rinderreichen Gegenden lebten höher, als bei denen aus rinderfreien Gebieten (NAVARRO-GONZALEZ et al., 2012).

## 2.6.2. Salmonellose bei Wild- und Hausschwein

### 2.6.2.1. Klinik und Erkrankung

Die Übertragung von Salmonellen geschieht meist auf fäko-oralem Weg, aber auch durch Nasensekret und Speichel, da nach oraler Aufnahme sehr schnell die Tonsillen kontaminiert werden (BRUMME et al., 2007; CARLSON et al., 2012). Diese können persistent besiedelt werden und dann als Reservoir der Infektion dienen (BAELE et al., 2001; NAGEL, 2011). Über kurze Distanzen ist auch der Infektionsweg über kontaminierte Aerosole und Staubpartikel möglich (FEDORKA-CRAY et al., 1994). Bereits wenige Schweine die auf niedrigem Level Salmonellen ausscheiden, können die Übertragung auf viele Schweine im Bestand verursachen (GRAY et al., 1996).

Infektionen mit wirtsadaptierten Salmonellen (primäre Salmonellosen) sind für die jeweilige Tierart hochpathogen und durchdringen nach oraler Infektion die Darmschleimhaut (WEISS, 2007). Erkrankungen des Schweins werden vor allem durch die an das Schwein angepassten Serovare Choleraesuis und Typhisuis ausgelöst (REED et al., 1986; SELBITZ, 2011). Auch die Infektion mit *Salmonella* Typhimurium und anderen nicht adaptierten Salmonellen kann zu klinischen Erkrankungen (sekundären Salmonellosen) führen. Sehr viel häufiger sind aber latente Infektionen, bei denen es zu einer Besiedlung des Organismus kommt, dies aber nicht zu einer sichtbaren Erkrankung des Tieres führt (SELBITZ, 2013). Infektionen mit weniger an das Schwein adaptierten Serovaren verlaufen häufig inapparent (SELBITZ, 2011) und auf den Darm beschränkt (WEISS, 2007).

Die klinischen Symptome einer Schweinesalmonellose sind das Ergebnis einer Septikämie oder einer Enterocolitis (BASKERVILLE und DOW, 1973).

Die septikämische Salmonellose kommt häufig bei Absatzferkeln jünger als fünf Monate vor, kann aber auch bei adulten Tieren die Ursache von Aborten oder plötzlichen Todesfällen sein (WILCOCK und SCHWARTZ, 1992) und verläuft perakut oder akut (WEISS, 2007). Die septikämische Salmonellose wird gewöhnlich von *Salmonella* Choleraesuis hervorgerufen (WILCOCK und SCHWARTZ, 1992). Plötzliche Todesfälle sind bezeichnend für die septikämische Verlaufsform und die Mortalität der Septikämie ist in der Regel hoch (PLONAIT und BICKHARDT, 1997).

Tiere, die die akute Septikämie überleben, können unterschiedliche Symptome, wie Hepatitis, Pneumonie (BASKERVILLE und DOW, 1973), Enterocolitis, gelegentlich auch Meningoencephalitis (WILCOCK und OLANDER, 1977) und Aborte entwickeln (WILCOCK und SCHWARTZ, 1992). Bei Infektionen mit *Salmonella Choleraesuis* werden die ersten klinischen Symptome gewöhnlich 36 - 48 Stunden nach der Erregeraufnahme beobachtet (GRAY et al., 1996). Klinisch fallen dabei oft bläuliche Hautverfärbungen der Ohrmuscheln, der Rüsselscheibe, am Unterbauch und an den Gliedmaßen auf (PLONAIT und BICKHARDT, 1997).

Ausbrüche von Salmonellose in Form einer Enterocolitis werden am häufigsten nach dem Absetzen bis zu einem Alter von etwa vier Monaten beobachtet (WILCOCK und SCHWARTZ, 1992). Die Erkrankung in Form einer Enterocolitis kann akut oder chronisch verlaufen und kann beim Schwein gewöhnlich *Salmonella* Typhimurium, oder weniger oft, *Salmonella* Choleraesuis zugeschrieben werden (WILCOCK und SCHWARTZ, 1992) und äußert sich in einer sekretorischen Diarrhoe (CLARKE und GYLES, 1987), die gleichzeitig mit der Entzündung und Nekrose der Schleimhaut, als auch unabhängig davon auftreten kann. Die seltene Erkrankung durch *Salmonella* Typhisuis verläuft chronisch mit nekrotisierender Kolitis (PLONAIT und BICKHARDT, 1997).

Die Diarrhoe ist das Ergebnis von gesteigerter Natrium-Resorption und verringerter Chlorid-Sekretion aufgrund cholera-like und shiga-like Enterotoxinen (STEPHEN et al., 1985) sowie von lokalen Entzündungsvorgängen in der Schleimhaut (LIT).

### **2.6.2.2. Immunreaktion und passive Immunität**

Besonders die auf der Oberfläche der Salmonellen verankerten Lipopolysaccharid-Moleküle (LPS) wirken als Antigene und lösen die Synthese verschiedener Antikörper aus (STEINBACH, 2002). Modifikationen der Struktur des Lipid A ermöglicht Salmonellen sich der Immunantwort zu entziehen (KRÜGER, 2011), durch Veränderungen an der Fettsäurestruktur des Lipid A wird die Erkennbarkeit der immunologisch relevanten Rezeptoren reduziert (KRÜGER, 2011).

Generell sind Antikörper effizienter bei der Elimination extrazellulärer Bakterien als bei fakultativ intrazellulären Bakterien, die in der Wirtszelle in einer antikörperfreien

Umgebung replizieren können. Antikörper spielen trotzdem eine Rolle bei dem Schutz vor diesen Bakterien, da diese auch im extrazellulären Raum angesiedelt sind, wo sie für Antikörper erreichbar sind (HAESEBROUCK et al., 2004). Die humorale Immunantwort scheint für den Schutz vor erneuter Infektion von Vorteil zu sein (MITTRUCKER et al., 2000).

Die Induktion der Serokonversion durch *Salmonella* Typhimurium ist abhängig vom Bakterienstamm (VAN PARYS et al., 2013). Antikörper die durch unterschiedliche Serovare induziert sind, zeigen nur ein geringes Maß an Kreuzprotektivität (WALLIS, 2001). Salmonellenantikörper der Isotypen IgG1 und IgG2 wiesen eine höhere Serovarspezifität auf als IgM-Antikörper (STEINBACH et al., 2003a).

Der Prozentsatz an serologisch positiven Schweinen in einem Bestand kann ein Maß für die Anzahl der salmonelleninfizierten Tiere in dem Betrieb sein. Im Rahmen des EU-Projekts „Salmonella in pork (Salinporc)“ wurde dieser Zusammenhang auch festgestellt (VON ALTROCK et al., 2000).

Es ist bekannt, dass einige serologisch positive Tiere nicht mehr mit Salmonellen infiziert sind und dass Salmonellenausscheider in der Frühphase der Infektion serologisch negativ sein können. Einige Tiere serokonvertieren nie. Serologisch negative Tiere können in der Vergangenheit infiziert gewesen sein und auch ausgeschieden haben (WELTORGANISATION FÜR TIERGESUNDHEIT, 2010b).

Der als Ausdruck des Gesamtgehaltes der Salmonella-Antikörper des Serums erfasste Antikörperprozentwert wird in hohem Maße durch die Menge der Antikörper des Isotyps IgM bestimmt, wie Steinbach bei einer Untersuchung von vier Mast- und drei Zuchtbeständen auf Antikörper gegen *Salmonella* Typhimurium und *Salmonella* Choleraesuis feststellte (STEINBACH et al., 2003a).

Ein Schwein das mit Salmonellen infiziert wurde, ist meist nach 4 – 24 Tagen serologisch positiv. Serologisch negativ werden Tiere oft nach 109 Tagen (VAN DER GAAG et al., 2001). Es serokonvertieren nicht alle Tiere (NIELSEN et al., 1995).

Im Infektionsversuch mit *Salmonella* Choleraesuis wurde gezeigt, dass der Infektionsweg die Entwicklung der humoralen und zellulären Immunität beeinflusst (GRAY et al., 1995). Beim Vergleich der intranasalen und Magen-Darm-Infektionsroute zeigten beide Gruppen eine nachweisbares IgG, IgM und IgA im

Serum, kein intestinal nachweisbares IgA und Stimulation peripherer B-Zellen. Die intranasal infizierten Schweine zeigten stärkere Klinik und mikroskopische Läsionen in mehr Gewebearten und eine höhere T-Zell-Aktivierung sowie anfangs eine höhere Ausscheidung im Kot, während die andere Gruppe höhere IgG-Titer im Serum erreichte. Die diskontinuierliche Ausscheidung von *Salmonella* Choleraesuis über mindesten 12 Wochen erfolgte unabhängig vom Infektionsweg (GRAY et al., 1995).

Bei experimentell mit *Salmonella* Typhimurium infizierten Schweinen (n = 43) schieden alle bis auf ein Tier den Erreger innerhalb der ersten Woche p.i. aus. Die Ausscheidung sank ab der siebten Woche p.i. rapide auf unter 10 % der Untersuchten ab. Es zeigten alle bis auf eines der infizierten Tiere im ELISA signifikant erhöhte optische Dichten. Das Maximum der anti-LPS-Immunantwort wurde an Tag 22 (86 % der Untersuchten) erreicht. An Tag 30 p.i. waren 92 % der 43 Tiere seropositiv. Der Zeitpunkt der Serokonversion war jedoch sehr unterschiedlich und lag zwischen dem 6. und 37. Tag p.i. (NIELSEN et al., 1995). 18 Wochen p.i. hatten noch 67 % der Untersuchten Antikörper gegen *Salmonella* Typhimurium (NIELSEN et al., 1995).

Nach Infektion mit *Salmonella* Typhimurium war eine deutliche Reaktion der LPS-Antikörper bereits eine Woche nach Infektionsbeginn zu beobachten. Der Gesamtantikörperspiegel war mit 22,5 % nach einer Woche, bzw. 52,9 % nach zwei Wochen als positiv zu beurteilen (Cut off 40 %). Während die Konzentration der den IgM angehörigen Antikörper in der zweiten Woche bereits wieder abfiel, stieg die Konzentration der Antikörper von IgG1 und IgG2 bis zum Versuchsende nach drei Wochen weiter an (STEINBACH et al., 2003b).

Es zeigten in einer Studie unter natürlichen Bedingungen bei einer Infektion mit *Salmonella* Typhimurium 30,5 % (n = 60) der Ausscheider keine Antikörperbildung. Bei 40,9 % der seropositiven Tiere konnten keine Salmonellen isoliert werden (KRANKER et al., 2003).

Maternale Antikörper persistieren länger als acht Wochen, die serologischen Ergebnisse innerhalb eines Bestandes mit subklinischer *Salmonella enterica*-Infektion zeigten einen Abfall der Antikörper von der Geburt bis zum Alter von 61 Tagen. Die Serokonversion erfolgte im letzten Drittel der Mastphase, die Ausscheidung wurde in der Aufzuchtphase und vermehrt während

der ersten Masthälfte beobachtet. (BELOEIL et al., 2003). In einer Studie in Italien waren die maternalen Antikörper nach 60 Tagen nicht mehr detektierbar und die Tiere zeigten eine klare Serokonversion zwischen Tag 90 und Tag 150 (MERIALDI et al., 2008).

### **2.6.2.3. Vorkommen von Antikörpern beim Wildschwein**

Nachweisliche Erkrankungen beim Schwarzwild sind selten (BRIEDERMANN, 2009). In erkrankten und erlegten Wildschweinen aus Thüringen (n = 118) wurden bei 24 Tieren *Salmonella* Choleraesuis identifiziert. Diese konnten fünf epidemiologischen Gruppen, von denen zwei im gleichen Territorium und drei in unterschiedlichen Regionen angesiedelt waren, zugeordnet werden. Die unterschiedlichen epidemiologischen Gruppen trugen die jeweiligen Salmonellen der Region in sich (METHNER et al., 2010).

Bei einem in Brandenburg tot aufgefundenen, etwa zehn Monate alten Wildschwein wurde unter anderem eine septikämische Infektion mit *Salmonella* Choleraesuis nachgewiesen (SCHULZE et al., 2003).

### **2.6.2.4. Vorkommen von Antikörpern beim Hausschwein**

Im Rahmen der epidemiologischen Basisauswertung der von dem Unternehmen QS Qualität und Sicherheit GmbH gesammelten Daten des Salmonellenmonitorings der Jahre 2003 bis 2009 wurden die über 20.000 teilnehmenden Betriebe zu etwa 82 % in Kategorie I ( $\leq 20$  % positive Befunde), zu ca. 14 % in Kategorie II ( $>20$  % und  $\leq 40$  % positive Befunde) und zu 4 % in Kategorie III ( $>40$  % positive Befunde) eingeordnet, wobei in der südlichen Region die Prävalenz deutlich niedriger lag als im Nordwesten. Die Proben wurden entsprechend dem Stichprobenschlüssel der Schweinesalmonellenverordnung entnommen, der Cut-off lag dementsprechend stets bei 40 % OD (MERLE, 2011; MERLE et al., 2011).

Eine Grundlagenstudie ergab bei Schlachtschweinproben aus den Jahren 2006 und 2007 unter Heranziehung des Hersteller-cut-off, dass 32,3 % der 2.482 Proben aus

80 Schlachthöfen in Deutschland als positiv und 458 Proben als fraglich positiv zu bewerten waren (BUNDESINSTITUT FÜR RISIKOBEWERTUNG, 2008).

Bei einer Untersuchung in Niedersachsen mit Tieren aus vier verschiedenen Haltungen, die der Kategorie III angehörten, hatten über 40 % (n = 60) nachweisbare Antikörper im Fleischsaft (VISSCHER et al., 2011).

Es wurden auch Proben von 1.830 Schlachtschweinen aus unterschiedlichen Haltungen und Regionen Deutschlands, welche über ein Jahr gesammelt wurden, auf Antikörper gegen Salmonellen untersucht. Bei einem cut-off von 40 % waren 9,6 % der Tiere Antikörper-positiv, aber nur ein Viertel der bakteriologisch positiven Tiere zeigte ein positives serologisches Ergebnis. Eine Senkung des cut-off-Grenzwertes ergab keinen größeren Zusammenhang zwischen den bakteriologischen und serologischen Ergebnissen. 79 % der Tiere lagen unter dem Cut-off von 20 % OD (METHNER et al., 2011).

Bei 355 Schweineherden aus den Niederlanden die im Mittel 62 Proben stellten, hatten nahezu 11 % eine Seroprävalenz von 0 %, die höchste festgestellte Seroprävalenz lag bei 98 % (VAN DER WOLF et al., 2001).

In der Schweiz wurde in 4 % (n = 200) von gepoolten Fleischsaftproben die von Schlachtschweinen stammten, Salmonellenantikörper gefunden (WACHECK et al., 2012a).

In Italien wurden Proben aus fünf Haltungen untersucht; an Tag 150 lag die Seroprävalenz zwischen 35,7 % und 82,7 %. Ein Anstieg wurde zwischen Tag 150 und Tag 270 in allen Herden beobachtet (MERALDI et al., 2008).

Von 125 Proben aus 31 Farmen in Nordirland waren 57,6 % serologisch negativ und 23,2 % / 19,2 % positiv/ schwach positiv. Es wurde keine signifikanter Zusammenhang zwischen positivem ELISA-Ergebnis und einem positivem bakteriologischem Nachweis gefunden (BELSUE et al., 2011).

### 2.6.3. Salmonellose bei anderen Tierarten

Die meisten Tierarten sind empfänglich für Salmonelleninfektionen (POPOFF und LE MINOR, 2005), unter anderem auch Wildvögel (MILLAN et al., 2004; WILLIAMS et al., 1976), über die die Infektion eingeschleppt werden kann, Nagetiere (DAVIES und WALES, 2013; KILONZO et al., 2013; TRUONG et al., 2013), Hasenartige (VIEIRA-PINTO et al., 2011) und Rinder (MENTABERRE et al., 2013). Bei wildlebenden Vögeln ist der Anteil an Typhimurium-Isolaten besonders hoch, auch Reptilien können ein großes Serovarspektrum beherbergen (SELBITZ, 2011).

### 2.6.4. Zoonotische Bedeutung

Salmonellen sind ein wichtiges zoonotisches Pathogen (VAN DER WOLF, 2004). Die Infektion mit ubiquitär vorkommenden Serovaren wie *Salmonella* Typhimurium erfolgt meist durch kontaminierte Lebensmittel (POPOFF und LE MINOR, 2005). Bakterien der Gattung *Salmonella* sind in Ländern der Nordhalbkugel eine der häufigsten Ursachen von gastro-enteralen Erkrankungen des Menschen (ROBERT KOCH-INSTITUT, 2002). Außer in Ozeanien und Nordamerika kommen beim Mensch üblicherweise die *Salmonella* Enteritidis und *Salmonella* Typhimurium am häufigsten vor (HENDRIKSEN et al., 2011). Im Jahr 2010 wurden auf EU-Ebene 99.020 *Salmonella*-Infektionen beim Menschen gemeldet, wobei das sechste Jahr in Folge ein Rückgang zu verzeichnen war (EUROPÄISCHE BEHÖRDE FÜR LEBENSMITTELSICHERHEIT, 2012). Im Jahr 2012 wurden in Deutschland 6.022 Erkrankungsfälle mit *Salmonella* Typhimurium gemeldet (ROBERT KOCH-INSTITUT, 2013).

*Salmonella enterica* wird vom Menschen gewöhnlich durch kontaminierte Nahrungsmittel aufgenommen (HENDRIKSEN et al., 2011). Inzwischen sind Salmonelleninfektionen des Schweins in vielen Ländern als Ausgangspunkt für die Lebensmittelinfektionen des Menschen nachgewiesen. In Deutschland wird davon ausgegangen, dass etwa 20 % aller Salmonellosen des Menschen auf Schweinefleisch zurückgehen (STEINBACH und HARTUNG, 1999). Immer wenn Schweine im Magen-Darm-Trakt Salmonellen tragen, kann es zur Kontamination des Schlachtkörpers und der Fleischprodukte kommen (BERENDS et al., 1996).

Auch Wildschweinfleisch wird als potentielle Quelle für humane Infektionen in Betracht gezogen (TENHAGEN, 2008).

### 2.6.5. Anzeige- und Meldepflicht

Beim Rind ist die Salmonellose gemäß der Verordnung über anzeigepflichtige Tierseuchen anzeigepflichtig (TierSeuchAnzV, 2011).

Bei allen anderen Tierarten ist das Auftreten der Salmonellenerkrankung oder deren Erreger nach der Verordnung über meldepflichtige Tierkrankheiten (TKrMeldpflV) § 1 meldepflichtig. Ausgenommen sind Salmonelleninfektionen, für die eine Mitteilungspflicht nach § 4 der Verordnung zum Schutz gegen bestimmte Salmonelleninfektionen beim Haushuhn und bei Puten (Geflügel-Salmonellen-Verordnung) besteht (GfISalmoV, 2014; TKrMeldpflV, 2011).

Humane Infektionen sind meldepflichtig. Dem Gesundheitsamt werden gemäß § 6 Abs. 1 Nr. 1 Buchstabe n IfSG der Krankheitsverdacht, die Erkrankung sowie der Tod an Paratyphus / Typhus abdominalis sowie gemäß § 7 Abs. 1 Nr. 39 (Paratyphus) bzw. Nr. 40 (Typhus abdominalis) IfSG alle direkten Nachweise von *Salmonella* Paratyphi und *Salmonella* Typhi namentlich gemeldet. Außerdem wird dem Gesundheitsamt gemäß § 7 Abs. 1 Nr. 41 IfSG der direkte oder indirekte Nachweis von sonstigen *Salmonella* Serovaren, soweit er auf eine akute Infektion hinweist, namentlich gemeldet (IfSG, 2000; ROBERT KOCH-INSTITUT, 2007).

### 2.6.6. Bekämpfung und Prävention

Bei Wildschweinen findet derzeit keine staatliche Bekämpfung der Salmonellen statt (ZIMMER, 2015).

Die Bekämpfung der Infektion von Schweinen mit nicht wirtsadaptierten Salmonellen dient der Verhinderung von Erkrankungen und Verlusten, aber in höherem Maß zielt sie auf die epidemiologisch relevante Reduzierung der Erregerbelastung des jeweiligen Tierbestandes (SELBITZ, 2013).

In der Europäischen Union wird die Salmonellenbekämpfung durch die Zoonosen-Überwachungs-Richtlinie 2003/99/EG und die Zoonosen-Bekämpfungs-Verordnung (EG) Nr. 2160/2003 geregelt (PIONTOWSKI, 2011).

Die in Deutschland seit März 2007 geltende Verordnung zur Verminderung der Salmonellenverbreitung durch Schlachtschweine (Schweine-Salmonellen-Verordnung) verpflichtet alle Schweinemastbetriebe regelmäßig ihren Salmonellenstatus durch Antikörperbestimmungen nach einem Stichprobenschlüssel aus Fleischsaftproben, oder Blutproben frühestens zwei Wochen vor der Schlachtung, zu ermitteln. Der gesetzlich festgelegte Schwellenwert für den positiven Antikörpernachweis liegt dabei bei einer optischen Dichte von 40 %, also deutlich über dem wissenschaftlichen Schwellenwert (SchwSalmoV, 2007).

### **2.6.7. Methoden zum Antikörpernachweis**

Serologische Untersuchungen können genutzt werden, um die Intensität und den zeitlichen Ablauf des Salmonellengeschehens in Schweinebeständen zu erfassen (STEINBACH et al., 2003a). Maternale Antikörper können nicht von den selbst gebildeten unterschieden werden (BELOEIL et al., 2003).

Die vorausgegangene Antikörperbildung kann durch den ELISA nachgewiesen werden, wobei positive Befunde mit großer Sicherheit eine vorliegende oder vorausgegangene Infektion beweisen. Durch einen serologisch negativen Befund kann jedoch die Salmonellenfreiheit eines Tieres oder Bestandes nicht belegt werden (STEINBACH, 2002). Es können Serum oder Fleischsaftproben zur Untersuchung auf gebildete Antikörper mittels ELISA verwendet werden (NIELSEN et al., 1998), wobei die Ergebnisse aus der Zwerchfellpfeilermuskulatur am besten mit den Ergebnissen der korrespondierenden Serumproben übereinstimmen (NOBMAN, 2011).

In Deutschland sind derzeit mehrere ELISA für die Testung von Schweineproben nach § 17c TierSG zugelassen, zum Beispiel PrioCHECK® Salmonella Ab porcine 2.0, Prionics, Deutschland und pigtype® Salmonella Ab, QIAGEN, Leipzig (Nachfolger des Salmotype®). Der Test der Firma QIAGEN ermöglicht keine Differenzierung der Antikörperklassen mehr, da sich das in der Realität als nicht

zwingend notwendig erwiesen hat. Der IDEXX<sup>®</sup> Swine Salmonella, Testkit zum Nachweis von Antikörpern gegen Salmonellen beim Schwein, IDEXX<sup>®</sup>, Europe B.V. (Nachfolger des HerdCheck<sup>®</sup>) detektiert IgG-Antikörper gegen die Serotypen B, C1 und D. Diese Serotypen stellen beim Schwein die Mehrheit der krankmachenden Serovare dar und werden mit guter Sensitivität und Spezifität (99,4 %) und mit einer extrem niedrigen falsch-positiven Detektionsrate nachgewiesen (FRIEDRICH-LOEFFLER-INSTITUT, 2014a; IDEXX<sup>®</sup> LABORATORIES, 2011; QIAGEN LEIPZIG, 2014). Dieser ELISA (Testprinzip siehe Seite 31) wurde auch in der vorliegenden Arbeit verwendet.

## **3. MATERIAL UND METHODEN**

### **3.1. Herkunft der Proben**

#### **3.1.1. Gesetzliche Grundlage der Probenahme**

Die für die vorliegende Untersuchung verwendeten Proben wurden entsprechend den Tierseuchenrechtlichen Anordnungen des Landesuntersuchungsamtes Rheinland-Pfalz zum Schutz gegen die Schweinepest entnommen (LANDESUNTERSUCHUNGSAMT KOBLENZ, 2014). Hierin werden die Jagdtausübungsberechtigten verpflichtet, von allen untersuchungspflichtigen Tieren Proben zu nehmen und an das Landesuntersuchungsamt, Blücherstraße 34, 56073 Koblenz, Institut für Tierseuchendiagnostik / ITSD (LUA) zu senden.

In den gefährdeten Bezirken (ehemalige Impfgelände von Wildschweinen gegen Klassische Schweinepest) und Intensivmonitoringgebieten (Gebiete ohne Impfung gegen die Klassische Schweinepest, die gefährdeten Bezirke umgebend) müssen demnach alle erlegten und verendet aufgefundenen Wildschweine beprobt werden. Im Monitoringgebiet (Gebiete ohne Impfung gegen die Klassische Schweinepest, nicht in der Nähe der gefährdeten Bezirke) sind alle verendet aufgefundenen sowie alle erlegten Wildschweine bis zu einem Gewicht von 30 kg (aufgebrochen) beprobungspflichtig.

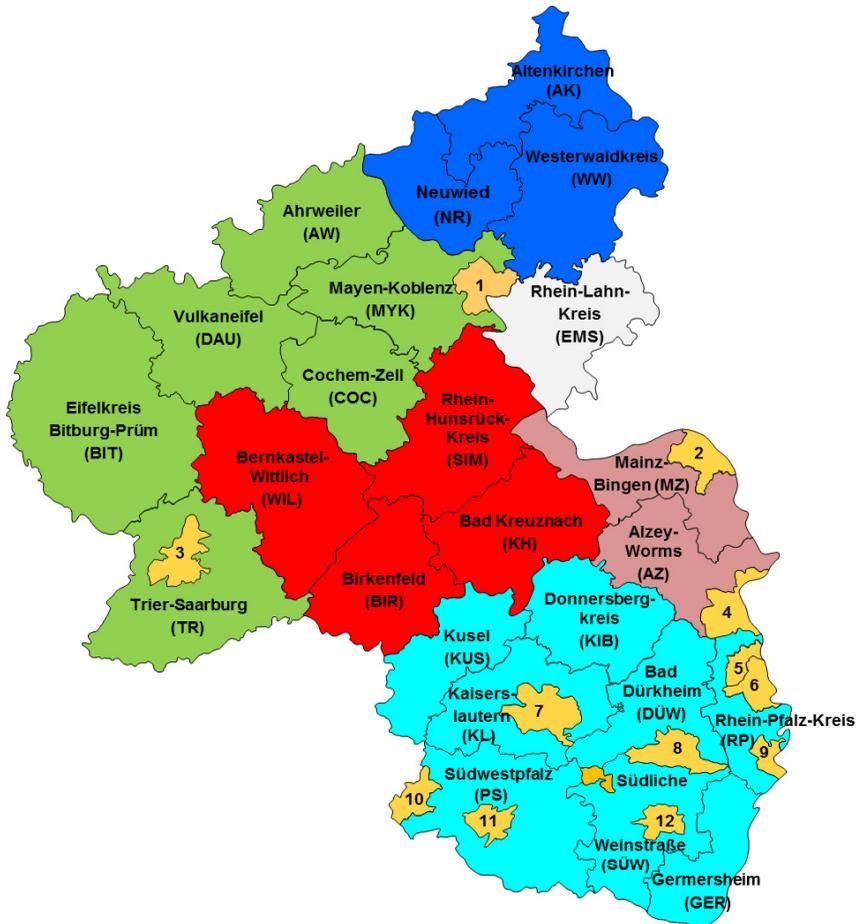
Die gefährdeten Bezirke (im Westerwald und in südwestlichen Teilen der Pfalz) vom 01.04.2011 wurden ab dem 18.06.2012 zu Intensivmonitoringgebieten erklärt. Seit dem 25.03.2013 ist ganz Rheinland-Pfalz einheitliches Monitoringgebiet (LANDESUNTERSUCHUNGSAMT KOBLENZ, 2013; MINISTERIUM FÜR UMWELT LANDWIRTSCHAFT ERNÄHRUNG WEINBAU UND FORSTEN, 2012).

### 3.1.2. Untersuchungsgebiet

Das Untersuchungsgebiet umfasst das gesamte Bundesland Rheinland-Pfalz (RLP). Dieses liegt im Süd-Westen Deutschlands und hat eine Gesamtfläche von ca. 20.000 km<sup>2</sup>, wovon ca. 8.300 km<sup>2</sup> bewaldet sind. Verwaltungsrechtlich ist RLP in 24 Landkreise und 12 kreisfreie Städte untergliedert. Benachbart ist im Norden das Bundesland Nordrhein-Westfalen, im Osten das Bundesland Hessen und im Südosten das Bundesland Baden-Württemberg. An der südwestlichen Grenze liegen der EU-Mitgliedsstaat Frankreich und das Bundesland Saarland. Westlich liegen angrenzend die EU-Mitgliedsstaaten Luxemburg und Belgien.

In der vorliegenden Arbeit werden die 24 Landkreise und 12 kreisfreien Städte in Anlehnung an die geografischen Gegebenheiten in sechs Regionen zusammengefasst, die wie folgt unterteilt sind (Abbildung 3):

- Westerwald: Altenkirchen, Neuwied, Westerwaldkreis sowie die kreisfreie Stadt Koblenz
- Taunus: Rhein-Lahn-Kreis
- Eifel: Ahrweiler, Cochem-Zell, Eifelkreis Bitburg-Prüm, Mayen-Koblenz, Trier-Saarburg, Vulkaneifel, sowie die kreisfreie Stadt Trier
- Hunsrück: Bad Kreuznach, Bernkastel-Wittlich, Birkenfeld, und Rhein-Hunsrück-Kreis
- Rhein-Hessen: Alzey-Worms, Mainz-Bingen sowie die kreisfreien Städte Mainz und Worms
- Pfalz: Bad Dürkheim, Donnersbergkreis, Germersheim, Kaiserslautern, Kusel, Rhein-Pfalz-Kreis, Südliche Weinstraße, Südwestpfalz sowie die kreisfreien Städte Frankenthal, Kaiserslautern, Landau, Ludwigshafen, Neustadt an der Weinstraße, Pirmasens, Speyer und Zweibrücken



**12 kreisfreie Städte:**

1 Koblenz; 2 Mainz; 3 Trier; 4 Worms; 5 Frankenthal (Pfalz); 6 Ludwigshafen am Rhein; 7 Kaiserslautern; 8 Neustadt an der Weinstraße; 9 Speyer; 10 Zweibrücken; 11 Pirmasens; 12 Landau i.d. Pfalz

**Regionen in Rheinland-Pfalz:**

Westerwald

Taunus

Eifel

Hunsrück

Rhein-Hessen

Pfalz

**Abbildung 3:** Einteilung von Rheinland-Pfalz in sechs Regionen unter Angabe der KFZ-Kennzeichen der jeweiligen Kreise

### **3.1.3. Zeiträume der Probensammlung**

Die Proben für die vorliegende Arbeit wurden jeweils vom 01.10. bis 31.01. von drei aufeinanderfolgenden Jagdjahren gesammelt. Dabei wurden 5.416 Blutproben im Jagdjahr (JJ) 2011/12, 9.965 Blutproben im JJ 2012/13 und 2.304 Blutproben im JJ 2013/14 - im Folgenden auch als Untersuchungszeitraum 1, Untersuchungszeitraum 2 und Untersuchungszeitraum 3 bezeichnet - gesammelt.

### **3.1.4. Entnahme, Versand und Asservierung der Proben**

Nach Aufbruch der Stücke an dem Fund-/ Erlegeort wurden die Blutproben ohne Zusatz von Gerinnungshemmer von den jeweiligen Jägern entnommen und dem LUA zugesandt. Dort wurden sie bei 2.800 Umdrehungen pro Minute (U/min) zentrifugiert und das Serum in Eppendorf Safe-Lock-Tubes 2,0 ml bei -70 °C gefroren bis zur weiteren Untersuchung asserviert.

## **3.2. Probendaten**

Dem Probenbegleitschein zur Untersuchung der Wildschweine auf Schweinepest wurden folgende Informationen entnommen: Einsender, Alter der Tiere (0 - 1Jahr (J), 1 - 2 Jahre, > 2 Jahre), Geschlecht [männlich (m), weiblich (w)], geschätztes Gewicht nach Aufbruch in Kilogramm (kg), Erlege-/ Funddatum, Erlege-/ Fundort (Jagdrevier, Ortsgemeinde, Verbandsgemeinde, Kreis/ kreisfreie Stadt) sowie Zustand der Tiere.

## **3.3. Anzahl und Auswahl der untersuchten Wildschweine**

### **3.3.1. Probenanzahl**

Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung wurde die Abschätzung der notwendigen Stichprobenanzahl mit Hilfe des Statistikprogramms BiAS für Windows, Biometrische Analyse von Stichproben, Version 9.08. Epsilon-Verlag, Hochheim, Darmstadt berechnet und die Untersuchung von insgesamt 2.000 Blutproben angestrebt. Es

wurden Antikörperprävalenzen von 6 % für SHV-1-Antikörper (KADEN et al., 2009), von 30 % für HEV-Antikörper (ADLHOCH et al., 2009), von 8 % für Influenza A-Virus-Antikörper (KADEN et al., 2009), und von 9 % für Brucellen-Antikörper (LANDESUNTERSUCHUNGSAMT KOBLENZ, 2010) in Rheinland-Pfalz erwartet. Bei einer Aussagewahrscheinlichkeit von stets 95 % wurden die maximalen Abweichungen der Prävalenzen vom wahren Wert von  $\pm 1,04$  % für SHV 1-Antikörper, von  $\pm 2,01$  % für HEV-Antikörper, von  $\pm 1,19$  % für Influenza A-Antikörper und von  $\pm 1,25$  % für Antikörper gegen Brucellen errechnet. Da die exakte Populationsgröße nicht ermittelbar war wurde dabei stets von einer unendlich großen Wildschweinpopulation ausgegangen. Da keine Daten zur erwarteten Antikörperprävalenz gegen Salmonellen bei Wildschweinen in Rheinland-Pfalz zur Verfügung standen, konnten diese Berechnungen nicht durchgeführt werden. Es sollten aus den drei Untersuchungszeiträumen jeweils 667 Blutproben untersucht werden.

Die in den jeweiligen Kreisen und kreisfreien Städten zu untersuchenden Probenanzahlen wurden anhand des prozentualen Anteils der Kreise und kreisfreien Städte am Mittelwert der Gesamtjagdstrecke der Jagdjahre 2008/2009 – 2011/2012 in Rheinland-Pfalz - auf Grundlage der Daten des Ministerium für Umwelt, Landwirtschaft, Ernährung, Weinbau und Forsten (MULEWF), Zentralstelle der Forstverwaltung, Referat 4.2, Obere Jagdbehörde in Neustadt - ermittelt und ganzzahlig gerundet.

Am Beispiel des Landkreises Mayen-Koblenz ist die Berechnung in Tabelle 2 dargestellt. Demnach entspricht der Mittelwert des Kreises Mayen-Koblenz 4,48 % von 55.591 (Mittelwert aller Kreise). Damit entfallen bei 667 Proben pro Jagdjahr 30 (29,88) Proben auf diesen Kreis.

**Tabelle 2:** Ermittlung der geplanten Probenanzahl am Beispiel des Kreises Mayen-Koblenz  
 JS = Jagdstrecke; JJ = Jagdjahr; Quelle: Ministerium für Umwelt, Landwirtschaft, Ernährung, Weinbau  
 und Forsten (MULEWF) Zentralstelle der Forstverwaltung, Referat 4.2, Obere Jagdbehörde in  
 Neustadt

	JS im JJ 2008/2009	JS im JJ 2009/2010	JS im JJ 2010/2011	JS im JJ 2011/2012	Mittelwert	Proben- anzahl/JJ
Alle Kreise	80.175	38.793	65.579	37.820	55.591	667
Mayen- Koblenz	4.023	1.579	2.810	1.559	2.493 (4,48 %)	30 (29,88)

Innerhalb der Kreise und kreisfreien Städte wurden die drei Altersgruppen (AG)  
 0 - 1 Jahre = Altersgruppe 1, 1 - 2 Jahre = Altersgruppe 2,  
 > 2 Jahre = Altersgruppe 3 und zwei Geschlechter (m = männlich / w = weiblich)  
 gleich berücksichtigt, wobei sich durch das Runden eine Änderung der ursprünglich  
 angestrebten Anzahl pro Jagdjahr auf 678 Proben pro Jagdjahr ergab. Aufgrund der  
 Beschaffenheit des zur Verfügung stehenden Probenpools und des  
 Probenauswahlverfahrens (siehe Kapitel 3.3.2) wurden insgesamt 1.936 Proben  
 untersucht. Die ursprünglich angestrebte Probenanzahl von 2.000 Proben wurde  
 somit nur unwesentlich unterschritten.

### 3.3.2. Probenauswahl

Die Proben wurden unter erster Präferenz des Alters und zweiter Präferenz des  
 Geschlechts zu gleichen Teilen (soweit innerhalb des Probenaufkommens möglich)  
 im Rahmen eines geschichteten Stichprobenplans und zufällig innerhalb der  
 Landkreise und kreisfreien Städte ausgewählt.

Es wurden insgesamt 1.936 Wildschweinblutproben untersucht. Aus den Regionen  
 Westerwald, Taunus, Eifel, Hunsrück, Rhein-Hessen und Pfalz stammten 197, 120,  
 716, 415, 34 und 454 Proben.

Insgesamt wurden 677 Proben aus Untersuchungszeitraum 1: JJ 2011/12, 667 aus  
 Untersuchungszeitraum 2: JJ 2012/13 und 592 aus dem Untersuchungszeitraum 3:  
 JJ 2013/14 untersucht. Insgesamt stammten die Proben je zur Hälfte von männlichen  
 und weiblichen Tieren. In Altersgruppe 1 wurden 1.333 Proben, in Altersgruppe 2

wurden 399 Proben und in Altersgruppe 3 wurden 203 Proben untersucht. In Tabelle 3, Tabelle 4 und Tabelle 5 sind die entsprechenden Anzahlen der untersuchten Wildschweine je Kreis und kreisfreie Stadt dargestellt. Eine Probe eines weiblichen Tieres aus Untersuchungszeitraum 3 im Landkreis Birkenfeld konnte keiner Altersgruppe zugeordnet werden und ist in Tabelle 5 nicht enthalten.

**Tabelle 3:** Herkunft und Anzahl der untersuchten Wildschweine der Jagdjahre 2011/2012 unter Angabe des Geschlechts (männlich = m, weiblich = w) und des Alters in Jahren (J)

Landkreis / kreisfreie Stadt	untersuchte Proben Jagdjahr 2011/12						
	0-1 J		1-2 J		>2 J		ges.
	m	w	m	w	m	w	
<b>Altenkirchen</b>	2	2	2	2	2	2	12
<b>Westerwald</b>	4	4	4	4	4	4	24
<b>Neuwied</b>	4	4	4	4	4	4	24
<b>Rhein-Lahn-Kreis</b>	17	18	3	2	1	1	42
<b>Ahrweiler</b>	9	8	9	8	3	5	42
<b>Mayen-Koblenz</b>	5	9	7	3	6	0	30
<b>Koblenz Stadt</b>	3	2	0	0	0	1	6
<b>Vulkaneifel</b>	6	5	7	5	2	5	30
<b>Cochem-Zell</b>	20	21	4	3	0	0	48
<b>Eifelkreis Bitburg-Prüm</b>	13	9	2	9	3	0	36
<b>Trier-Saarburg</b>	22	23	2	1	0	0	48
<b>Trier Stadt</b>	3	3	0	0	0	0	6
<b>Bernkastel-Wittlich</b>	29	28	0	2	1	0	60
<b>Rhein-Hunsrück-Kreis</b>	20	20	1	1	0	0	42
<b>Birkenfeld</b>	15	14	0	1	0	0	30
<b>Bad Kreuznach</b>	13	10	2	5	0	0	30
<b>Mainz-Bingen</b>	1	3	1	0	0	0	5
<b>Mainz Stadt</b>	0	0	0	0	0	0	0
<b>Alzey-Worms</b>	1	1	2	2	0	0	6
<b>Worms Stadt</b>	0	0	0	0	0	0	0
<b>Kusel</b>	8	6	0	4	0	0	18
<b>Donnersbergkreis</b>	9	12	3	0	0	0	24
<b>Bad Dürkheim</b>	3	3	3	3	3	3	18
<b>Neustadt a.d. Weinstr. Stadt</b>	1	1	1	1	1	1	6
<b>Rhein-Pfalz-Kreis</b>	1	1	1	1	2	0	6
<b>Frankenthal Stadt</b>	0	0	0	0	0	0	0
<b>Ludwigshafen Stadt</b>	0	0	0	0	0	0	0
<b>Speyer Stadt</b>	0	0	0	0	0	0	0
<b>Kaiserslautern</b>	3	3	3	3	3	3	18
<b>Kaiserslautern Stadt</b>	0	0	0	0	0	0	0
<b>Südwestpfalz</b>	4	4	4	4	4	4	24
<b>Pirmasens Stadt</b>	0	0	0	0	0	0	0
<b>Zweibrücken Stadt</b>	0	0	0	0	0	0	0
<b>Südliche Weinstraße</b>	4	4	4	4	4	4	24
<b>Landau Stadt</b>	0	0	0	0	0	0	0
<b>Germersheim</b>	3	3	3	3	3	3	18
<b>Gesamt</b>	223	221	72	75	46	40	677

**Tabelle 4:** Herkunft und Anzahl der untersuchten Wildschweine der Jagdjahre 2012/2013 unter Angabe des Geschlechts (männlich = m, weiblich = w) und des Alters in Jahren (J)

Landkreis / kreisfreie Stadt	untersuchte Proben Jagdjahr 2012/13						
	0-1 J		1-2 J		>2 J		ges.
	m	w	m	w	m	w	
<b>Altenkirchen</b>	2	2	2	2	2	2	12
<b>Westerwald</b>	4	4	4	4	4	4	24
<b>Neuwied</b>	4	4	4	4	4	4	24
<b>Rhein-Lahn-Kreis</b>	16	16	4	5	1	0	42
<b>Ahrweiler</b>	10	17	10	4	1	0	42
<b>Mayen-Koblenz</b>	6	7	6	7	3	1	30
<b>Koblenz Stadt</b>	1	2	2	1	0	0	6
<b>Vulkaneifel</b>	6	5	7	6	2	4	30
<b>Cochem-Zell</b>	18	19	6	5	0	0	48
<b>Eifelkreis Bitburg-Prüm</b>	16	17	2	1	0	0	36
<b>Trier-Saarburg</b>	17	17	7	7	0	0	48
<b>Trier Stadt</b>	2	3	1	0	0	0	6
<b>Bernkastel-Wittlich</b>	29	29	0	1	1	0	60
<b>Rhein-Hunsrück-Kreis</b>	18	21	2	0	1	0	42
<b>Birkenfeld</b>	9	9	0	0	0	1	19
<b>Bad Kreuznach</b>	14	13	1	2	0	0	30
<b>Mainz-Bingen</b>	1	2	2	1	0	0	6
<b>Mainz Stadt</b>	0	0	0	0	0	0	0
<b>Alzey-Worms</b>	3	3	0	0	0	0	6
<b>Worms Stadt</b>	0	0	0	0	0	0	0
<b>Kusel</b>	7	7	2	2	0	0	18
<b>Donnersbergkreis</b>	11	9	1	2	0	1	24
<b>Bad Dürkheim</b>	3	3	3	3	3	3	18
<b>Neustadt a.d. Weinstr. Stadt</b>	1	1	1	1	1	1	6
<b>Rhein-Pfalz-Kreis</b>	2	2	0	1	1	0	6
<b>Frankenthal Stadt</b>	0	0	0	0	0	0	0
<b>Ludwigshafen Stadt</b>	0	0	0	0	0	0	0
<b>Speyer Stadt</b>	0	0	0	0	0	0	0
<b>Kaiserslautern</b>	3	3	3	3	3	3	18
<b>Kaiserslautern Stadt</b>	0	0	0	0	0	0	0
<b>Südwestpfalz</b>	4	4	4	4	4	4	24
<b>Pirmasens Stadt</b>	0	0	0	0	0	0	0
<b>Zweibrücken Stadt</b>	0	0	0	0	0	0	0
<b>Südliche Weinstraße</b>	4	4	4	4	4	4	24
<b>Landau Stadt</b>	0	0	0	0	0	0	0
<b>Germersheim</b>	4	3	5	4	0	2	18
<b>Gesamt</b>	215	226	83	74	35	34	667

**Tabelle 5:** Herkunft und Anzahl der untersuchten Wildschweine der Jagdjahre 2013/2014 unter Angabe des Geschlechts (männlich = m, weiblich = w) und des Alters in Jahren (J)

Landkreis / kreisfreie Stadt	untersuchte Proben Jagdjahr 2013/14							ges.
	0-1 J		1-2 J		>2 J			
	m	w	m	w.	m.	w.		
<b>Altenkirchen</b>	3	2	3	3	0	1	12	
<b>Westerwald</b>	4	4	4	4	5	3	24	
<b>Neuwied</b>	5	6	6	4	1	1	23	
<b>Rhein-Lahn-Kreis</b>	14	18	0	3	1	0	36	
<b>Ahrweiler</b>	11	10	8	10	2	1	42	
<b>Mayen-Koblenz</b>	13	12	1	2	1	1	30	
<b>Koblenz Stadt</b>	2	3	0	0	1	0	6	
<b>Vulkaneifel</b>	15	14	0	0	0	1	30	
<b>Cochem-Zell</b>	23	23	1	1	0	0	48	
<b>Eifelkreis Bitburg-Prüm</b>	17	18	1	0	0	0	36	
<b>Trier-Saarburg</b>	24	23	0	0	0	0	47	
<b>Trier Stadt</b>	2	1	0	0	0	0	3	
<b>Bernkastel-Wittlich</b>	19	15	1	1	0	0	36	
<b>Rhein-Hunsrück-Kreis</b>	19	16	1	0	0	0	36	
<b>Birkenfeld</b>	4	14	0	0	0	0	18	
<b>Bad Kreuznach</b>	4	5	1	0	1	0	11	
<b>Mainz-Bingen</b>	2	1	1	2	0	0	6	
<b>Mainz Stadt</b>	0	0	0	0	0	0	0	
<b>Alzey-Worms</b>	3	2	0	0	0	0	5	
<b>Worms Stadt</b>	0	0	0	0	0	0	0	
<b>Kusel</b>	7	10	1	0	0	0	18	
<b>Donnersbergkreis</b>	8	5	0	0	0	0	13	
<b>Bad Dürkheim</b>	3	3	3	3	4	2	18	
<b>Neustadt a.d. Weinstr. Stadt</b>	2	1	0	1	0	2	6	
<b>Rhein-Pfalz-Kreis</b>	2	1	0	1	1	1	6	
<b>Frankenthal Stadt</b>	0	0	0	0	0	0	0	
<b>Ludwigshafen Stadt</b>	0	0	0	0	0	0	0	
<b>Speyer Stadt</b>	0	0	0	0	0	0	0	
<b>Kaiserslautern</b>	3	3	3	3	2	3	17	
<b>Kaiserslautern Stadt</b>	0	0	0	0	0	0	0	
<b>Südwestpfalz</b>	4	4	3	4	4	3	22	
<b>Pirmasens Stadt</b>	0	0	0	0	0	0	0	
<b>Zweibrücken Stadt</b>	0	0	0	0	0	0	0	
<b>Südliche Weinstraße</b>	6	5	6	5	0	2	24	
<b>Landau Stadt</b>	0	0	0	0	0	0	0	
<b>Germersheim</b>	7	3	1	3	0	4	18	
<b>Gesamt</b>	226	222	45	50	23	25	591	

### 3.4. Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Jede der Proben wurde serologisch mittels Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) in Einzelbestimmung auf Antikörper gegen die Erreger der Aujeszky'schen Krankheit, Hepatitis E, Influenza A, Brucellose sowie Salmonellose untersucht.

#### 3.4.1. Verwendete kommerzielle ELISA-Testkits

##### **ID Screen® Aujeszky gB Competition,**

kompetitiver ELISA zum Nachweis von Antikörpern der Klassen IgM und IgG gegen das Glykoprotein B des Aujeszky Disease Virus in Serum oder Plasma von Haus- und Wildschweinen.

(ID VET® innovative diagnostics, Montpellier - Frankreich) Zulassungs-Nr.: FLI-B 526, nachfolgend als Auj.-gB-ELISA bezeichnet.

##### **ID Screen® Hepatitis E Indirect Multi-Spezies,**

indirekter biphasischer ELISA zum Nachweis von Antikörpern der IgG-Klasse gegen das Hepatitis E-Virus (HEV) in Serum und Plasma von Schweinen und Wildschweinen. (ID VET® innovative diagnostics, Montpellier - Frankreich), nachfolgend als HEV-Ab-ELISA bezeichnet.

##### **Influenza A Virus Antibody Test Kit,**

Testkit zum Nachweis aller Antikörperklassen gegen das Virus der Influenza A in Serum von Wildvögeln, Hausgeflügel (außer Wachteln und Fasane), Schweinen und Pferden. (IDEXX® LABORATORIES). Zulassungs-Nr.: FLI-B 444, nachfolgend als IA-Ab-ELISA bezeichnet.

##### **ID Screen® Brucellosis Serum Indirect,**

indirekter ELISA zum Nachweis von Antikörpern der IgG-Klasse gegen *Brucella abortus*, *B. melitensis* oder *B. suis* in Serum und Plasma, von Rindern, Schafen, Ziegen und Schweinen. (ID VET® innovative diagnostics, Montpellier - Frankreich) Zulassungs-Nr.: FLI-B 590, nachfolgend als Bruc.-Ab-ELISA bezeichnet.

**Swine Salmonella Antibody Test Kit,**

ELISA zum Nachweis von IgG Antikörpern gegen Salmonellen der Serotypen B, C1 und D in Serum-, Plasma und Fleischsaftproben von Schweinen. (IDEXX<sup>®</sup> LABORATORIES) Zulassungs-Nr.: BGVV-B 305, nachfolgend als Salm.-Ab-ELISA bezeichnet.

**3.4.1.1. Vorgehensweise bei der Testdurchführung**

Alle fünf kommerziellen ELISA-Testsysteme wurden nach den Gebrauchsinformationen des jeweiligen Herstellers durchgeführt. Die Bestandteile der ELISA-Testsysteme wurden gekühlt gelagert, vor Gebrauch auf Raumtemperatur (18-26 °C) gebracht und die Reagenzien durch leichtes Schütteln gemischt. Es erfolgte stets die Durchführung im Tagansatz.

**3.4.1.2. Vorbereitung der Proben**

Alle Proben wurden unmittelbar vor der Untersuchung bei Raumtemperatur aufgetaut und durch vorsichtiges Schütteln homogenisiert. Für den IA-Ab-ELISA wurden die Proben vorab im Verhältnis 1:10, für den Salm.-Ab-ELISA im Verhältnis 1:20 in einer Vorplatte mit dem entsprechenden Verdünnungspuffer oder Probenverdünner gemischt.

**3.4.1.3. Vorbereitung der Reagenzien**

Die Waschlösungen des Auj.-gB-ELISA, des Bruc.-Ab-ELISA und des HEV-Ab-ELISA wurden 20-fach, die des IA-Ab-ELISA und des Salm.-Ab-ELISA im Verhältnis 1:10 mit Aqua destillata (A. dest.) verdünnt und gut durchgemischt.

Das Konjugat für den Auj.-gB-ELISA, den Bruc.-Ab-ELISA und HEV-Ab-ELISA wurde im Verh. 1:10 mit dem jeweiligen Verdünnungsmittel frisch angesetzt. Für den IA-Ab-ELISA und den Salm.-Ab-ELISA ist das Konjugat gebrauchsfertig im Lieferumfang enthalten.

#### **3.4.1.4. Methodisches Vorgehen und Unterschiede bei der Durchführung**

Beim Auj.-gB-ELISA wurde, nach Vorlage von 50 µl Verdünnungspuffer, 50 µl der jeweiligen Probe in die Wells pipettiert, beim Bruc.-Ab-ELISA und HEV-Ab-ELISA wurden 190 µl Verdünnungsmittel vorgelegt und je 10 µl der Probe hinzugegeben. Mit den Kontrollseren dieser Tests wurde ebenso verfahren.

Beim biphasischen HEV-Ab-ELISA werden die Probe und Kontrollseren jeweils in zwei nebeneinander liegende Wells gegeben, in ein mit Ag beschichtetes Probenwell (geradzahlig) und ein unbeschichtetes Kontrollwell (ungeradzahlig).

Aus den Probenvorverdünnungen des IA-Ab-ELISA und des Salm.-Ab-ELISA wurden je 100 µl auf die entsprechenden Wells aufgebracht, ebenso von den gebrauchsfertigen Kontrollen.

Nach Inkubation gemäß Gebrauchsanweisung und dem dreimaligen Waschen mittels eines Washer -Typ Columbus Plus™ der Firma Tecan® mit der jeweils vorbereiteten Waschlösung wurde in alle Vertiefungen des IA-Ab-ELISA und des Salm.-Ab-ELISA 100 µl gebrauchsfertiges Konjugat pipettiert. Beim Auj.-gB-ELISA, beim Bruc.-Ab-ELISA und HEV-Ab-ELISA wurde das entsprechend vorbereitete Konjugat in gleicher Menge verwendet und unter den jeweiligen für das ELISA-Testkit vorgeschriebenen Bedingungen und Zeitvorgaben der inkubiert.

Bei allen Tests folgte ein weiterer Waschschrift und die Zugabe von 100 µl Tetramethylbenzidin-Substratlösung (TMB) in alle Vertiefungen.

Die Substratinkubation erfolgte beim Auj.-gB-ELISA, beim Bruc.-ELISA und HEV-Ab-ELISA unter Lichtausschluss. Nach dem Stoppen der Reaktion durch Zugabe von je 100 µl Stopplösung in die Kavitäten wurde die optische Dichte (OD) bei der vorgegebenen Wellenlänge mit einem Absorbance Rader für MTP der Firma Tecan® Austria GmbH, Typ Sunrise™ Seriennummer 1109225919, nach Kalibrierung des Photometers gegen Luft als Leerwert, gemessen. Diese und weitere Unterschiede bei der Durchführung der Tests sind in Tabelle 6 und Tabelle 7 aufgezeigt.

**Tabelle 6:** Unterschiede der verwendeten ELISA-Tests: Auj.-gB-ELISA, HEV-Ab-ELISA, IA-Ab-ELISA

Parameter	Auj.-gB-ELISA	HEV-Ab-ELISA	IA-Ab-ELISA
Verdünnung der Waschlösung	1:20 mit A. dest.	1:20 mit A. dest.	1:10 mit A. dest.
Kontrollen	Ein pos., ein neg. Kontrollserum; 50 µl Verdünnungspuffer 4 vorgelegt, 50 µl Kontrollserum  Doppelbestimmung	Ein pos., ein neg. Kontrollserum; 190 µl Verdünnungsmittel 2 vorgelegt, 10 µl Kontrollserum in je ein geradzahliges und ein ungeradzahliges Well  Doppelbestimmung	Ein pos., ein neg. Kontrollserum; je 100 µl unverdünnt  Doppelbestimmung
Antigen	Aujeszký-Disease-Virus-Antigen (Viruslysate)	rekombinantes Capsidprotein eines Genotyp 3 Hepatitis E-Virus	Influenza A-Virusantigen (Epitop des Nukleoproteins)
Probenverdünnung	50 µl Verdünnungspuffer 4 vorgelegt, 50 µl Probe	190 µl Verdünnungsmittel 2 vorgelegt, 10 µl Probe, in je ein geradzahliges und ein ungeradzahliges Well	Vorverdünnung mit Verdünnungspuffer 1:10; 100 µl auf Test-Platte
Probeninkubation	45 min. ± 5 min.	45 min. ± 4 min.	60 min. ± 5 min.
Probeninkubationstemperatur	37 °C ± 2 °C	21 °C ± 5 °C	18 – 26 °C
Antikörper-Konjugat-Lösung	100 µl Anti-gB-Peroxidase-Konjugat, frisch angesetzt 1:10 mit Verdünnungspuffer 3	100 µl Multi-Spezies-Peroxidase-Konjugat, frisch angesetzt mit Verdünnungsmittel 3	100 µl monoklonales Anti-Influenza A-Ak-Enzym-Konjugat, unverdünnt
Konjugatinkubationszeit	30 min. ± 3 min.	30 min. ± 3 min.	30 min. ± 2 min.
Konjugatinkubationstemperatur	37 °C ± 2 °C	21 °C ± 5 °C	18 – 26 °C
Substrat	100 µl TMB-Substrat	100 µl TMB-Substrat	100 µl TMB-Substrat
Substratinkubationszeit	15 min. ± 2 min.	15 min. ± 2 min.	15 min. ± 1 min.
Substratinkubationstemperatur/Bedingungen	37 °C ± 2 °C Lichtausschluß	21 °C ± 5 °C Lichtausschluß	18 – 26 °C
Stoppen der Reaktion	100 µl Stopplösung	100 µl Stopplösung	100 µl Stopplösung
Testwellenlänge	450 nm	450 nm	650 nm

**Tabelle 7:** Unterschiede der verwendeten ELISA-Tests: Bruc.-Ab-ELISA, Salm.-Ab-ELISA

Parameter	<b>Bruc.-Ab-ELISA</b>	<b>Salm.-Ab-ELISA</b>
Verdünnung der Waschlösung	1:20 mit A. dest.	1:10 mit A. dest.
Kontrollen	Ein pos., ein neg. Kontrollserum; 190 µl Verdünnungsmittel 2 vorgelegt, 10 µl Kontrollserum  Doppelbestimmung	Ein pos., ein neg. Kontrollserum; 100 µl unverdünnt  Doppelbestimmung
Antigen	<i>Brucella abortus</i> Lipopolysaccharid	Lipopolysaccharid der Serogruppen B, C1 und D
Probenverdünnung	190 µl Verdünnungsmittel 2 vorgelegt, 10 µl Probe	Vorverdünnung mit Probenverdünner 1:20, 100 µl auf der Testplatte
Probeninkubation	45 min. ± 4 min.	30 min. ± 2 min.
Probeninkubations-temperatur	21 °C ± 5 °C	18 °C - 26 °C
Antikörper-Konjugat-Lösung	100 µl Anti-Multi-spezies-IgG-Peroxidase-Konjugat	100 µl Anti-Schwein HRPO-Konjugat unverdünnt
Konjugatinkubationszeit	30 min. ± 3 min.	30 min. ± 2 min.
Konjugatinkubations-temperatur	21 °C ± 5 °C	18 °C - 26 °C
Substrat	100 µl TMB-Substrat	100 µl TMB-Substrat
Substratinkubations-Zeit	15 min. ± 2 min.	15 min. ± 1 min.
Substratinkubations-temperatur/Bedingungen	21 °C ± 5 °C Lichtausschluß	18 °C - 26 °C
Stoppen der Reaktion	100 µl Stopplösung	100 µl Stopplösung
Testwellenlänge	450 nm	650 nm

### **3.4.1.5. Beurteilung der Messergebnisse**

Die Messdaten wurden entsprechend der Vorgaben des jeweiligen Herstellers mit der Software Version Magellan™ Standard 6.6 der Firma Tecan® Austria GmbH bezüglich der Validierung der Tests und der Probenergebnisse berechnet und bewertet.

## **3.5. PrV-Antikörper-Serumneutralisationstest**

Bei positiven (pos.) und fraglichen (fragl.) ELISA-Ergebnissen bezüglich des Vorhandenseins von Antikörpern gegen das Virus der Aujeszky'schen Krankheit wurde nachfolgend ein Serumneutralisationstest (SNT) zum Nachweis neutralisierender Antikörper (nAK) in den Seren durchgeführt.

Die Durchführung des Tests erfolgte nach den Vorgaben der Amtlichen Methodensammlung, herausgegeben vom Friedrich-Loeffler-Institut, Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit, in der Fassung von August 2013. Die verwendeten Materialien und Reagenzien sind im Anhang Seite 224 aufgelistet.

### **3.5.1. Vorgehensweise bei der Durchführung**

#### **3.5.1.1. Vorbereitung der Proben**

Vor der Untersuchung wurden die Serumproben im Verhältnis 1:2 mit Erhaltungsmedium verdünnt und 30 min. bei 56 °C inaktiviert.

#### **3.5.1.2. Vorbereitung des Monolayers**

Es wurde eine einen Tag alte Vero-Zellkultur (African Green Monkey) verwendet. Die Zellen wurden mit einer Dichte von  $10^5$  Zellen/ml in Anzuchtmedium ausgesät, die Inkubation erfolgte bei 37 °C in 5%iger CO<sub>2</sub>-Atmosphäre im Brutschrank, sodass nach einem Tag ein konfluenter Monolayer entstanden ist. Vor Durchführung des SNT erfolgte ein Mediumwechsel.

### 3.5.1.3. Vorbereitung des Testvirus

Das PrV VA 65 Referenzstamm Kaplan wurde unmittelbar vor Gebrauch mit Erhaltungsmedium auf eine Virusarbeitsdosis von 100 KID<sub>50</sub>/50µl (200 KID<sub>50</sub>/100µl) eingestellt. Der Verdünnungsfaktor wurde nach folgendem Verfahren berechnet:

Titer log<sub>10</sub> KID<sub>50</sub>/0,1ml Ausgangsvirus : 10<sup>2,3\*</sup> = log<sub>10</sub> Virusverdünnung

- entlogarithmieren
- reziproker Wert = Virusverdünnung

$$* 10^{2,3} = 200 \text{ KID}_{50}/0,1 \text{ ml} = 100 \text{ KID}_{50}/50\mu\text{l}$$

#### Beispiel:

Der Titer des Ausgangsvirus beträgt 10<sup>6,601</sup> KID<sub>50</sub>/ml = 10<sup>5,601</sup> KID<sub>50</sub>/0,1ml:

$$10^{5,601} : 10^{2,3} = 10^{3,301}$$

- entlogarithmieren: 3,301 log<sub>10</sub> = 2000
- reziproker Wert: 1:2000 = Virusverdünnung

### 3.5.1.4. Durchführung des Serumneutralisationstests

Die zu testenden Seren wurden in 2-er Stufen, beginnend mit der Verdünnung 1:2 verdünnt. Dazu werden in die Kavitäten der 1. Verdünnungsstufe 100 µl des 1:2 mit Erhaltungsmedium verdünnten Serums gegeben. In die Kavitäten der anderen Reihen werden je 50 µl Erhaltungsmedium vorgelegt. Danach werden je 50 µl aus den Kavitäten der ersten Verdünnungsstufe in die Kavitäten der nächsten Reihe gegeben, durchmischt, und die Verdünnungsreihe entsprechend fortgesetzt. Die letzten 50 µl werden verworfen. Die Untersuchung erfolgte im Doppelansatz bis zur Verdünnungsstufe 1:128. In jede Kavität der Serumverdünnungen wurden 50 µl des Testvirus zugegeben.

### Mitgeführte Kontrollen

- 4 Zellkontrollen (nur Zellen mit Erhaltungsmedium)
- pro Serum 2 virusfreie Serumkontrollen (1:2 Basisverdünnung 50 µl Serum + 50 µl Zellen)
- ein negatives Kontrollserum (virusfreie Serumkontrolle, dann 1:2 und 1:4 mit Testvirus verdünnt), Doppelansatz
- 1 stark positives Kontrollserum (virusfreie Serumkontrolle), dann bis zu einer Verdünnungsstufe von 1:2.048 mit Testvirus verdünnt, Doppelansatz
- 1 schwach positives Kontrollserum (virusfreie Serumkontrolle), dann bis zu einer Verdünnungsstufe von 1:64 verdünnt, Doppelansatz

Um den tatsächlichen Virusgehalt zu prüfen erfolgte eine Rücktitration der Virusarbeitsdosis (z. B.: 1:2.000) in  $\log_2$ -Schritten im 4-fach Ansatz, beginnend bei einer 1:10 Verdünnung (12 Verdünnungsschritte), jedoch ohne Zugabe von Testserum. Die Berechnung der Virustitration erfolgte nach Spaerman und Kaerber (MAYR et al., 1974) mit der Formel:

$\text{Log}_{10}\text{KID}_{50}\text{-Endpunkt-Verdünnung} = \left( x - \frac{d}{2} + d \sum \frac{r}{n} \right)$ , wobei

$x$  der  $\log_{10}$  des reziproken Wertes der niedrigsten Verdünnung ist, bei der alle Reagenten positiv sind;

$d$  dem  $\log_{10}$  des Verdünnungsfaktors entspricht;

$n$  der Zahl der Reagenten entspricht, die für jede Verdünnung eingesetzt wurden;

$r$  der Anzahl der positiven Reagenten pro Verdünnungsstufe entspricht.

Der Virusgehalt wurde nach folgendem Vorgehen berechnet:

$\text{Log}_{10}\text{KID}_{50}\text{-Endpunkt-Verdünnung} : \text{Log}_{10}\text{-Verdünnungsfaktor}$

- Entlogarithmieren = Virusgehalt  $\text{KID}_{50}/0,1\text{ml}$

#### Beispiel:

Der errechnete Virustiter beträgt  $10^{5,502} = \text{Log}_{10}\text{KID}_{50}\text{-Endpunkt-Verdünnung}$ ,  
Verdünnungsfaktor 2000 ( $10^{3,301}$ ):

$$10^{5,502} : 10^{3,301} = 10^{2,201}$$

- entlogarithmieren:  $2,201 \log_{10} = 158,85 \text{ KID}_{50}/0,1\text{ml}$

### 3.5.1.5. Beurteilung der Ergebnisse

Die Auswertung erfolgte nach drei Tagen Inkubation bei 37 °C in 5%iger CO<sub>2</sub>-Atmosphäre über die mikroskopische Beurteilung des Zellmonolayers hinsichtlich des Vorhandenseins eines zpE.

Der Test wurde als valide beurteilt, wenn die Rücktitration des Testvirus zwischen 30 und 300 KID<sub>50</sub> lag, bzw. die positiven Kontrollseren den angegebenen Titer (+/- ein bis maximal zwei log<sub>2</sub>-Stufen) aufwiesen.

Die Berechnung des Neutralisationstiter der Seren erfolgte nach Behrens und Kaerber (MAYR et al., 1977) mit der Formel:

$$\text{Neutralisationstiter} = V - [d(S - 0,5)]$$

(-log; ND<sub>50</sub>)

$V$  = -log der ersten Serumverdünnung, bei der 100% der Reagenten positiv waren;

$d$  = -log des Verdünnungsfaktors;

$S$  = Summierungsverhältnis =  $\frac{\text{Summe aller positiven Reagenten von 0 \% - 100 \%}}{\text{Reagentenzahl pro Verdünnung}}$

## 3.6. Influenza A-Antikörper-Hämagglutinationshemmungstest

Proben mit positivem oder fraglichem Nachweis von Antikörpern gegen das Virus der Influenza A im ELISA wurden mittels Hämagglutinationshemmungstest (HAHT) auf Antikörper gegen die Subtypen H1N1, H1N2 und H3N2 untersucht. Die Durchführung des Tests erfolgte nach den Vorgaben der Amtlichen Methodensammlung, herausgegeben vom Friedrich-Loeffler-Institut, Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit, in der Fassung von August 2013 und wurde mit den im Landesuntersuchungsamt standardmäßig verwendeten Stämmen durchgeführt, die nach Angaben des Friedrich-Loeffler-Instituts zur Detektion der in Rheinland-Pfalz vermuteten Subtypen geeignet sind. Die verwendeten Materialien und Reagenzien sind im Anhang auf Seite 225 aufgelistet.

### **3.6.1. Vorgehensweise bei der Durchführung**

#### **3.6.1.1. Vorbereitung der Proben**

Zur Elimination thermostabiler und thermolabiler Inhibitoren sowie unspezifischer Agglutinine gegen Influenzaviren, wurden die Schweineseren mit Choleafiltrat von *Vibrio cholerae*-Kulturflüssigkeit (RDE) vorbehandelt. Die RDE-Gebrauchslösung wurde 1:20 in Kalziumsalzlösung verdünnt. Anschließend wurden 0,05 ml Serum mit 0,2 ml RDE versetzt und 18 Stunden bei 37 °C inkubiert. Nach Zugabe von 0,25 ml Na-Citratlösung wurde das Serum-RDE-Gemisch für 30 Minuten bei 56 °C inkubiert. Anschließend wurden 0,5 ml der vorbehandelten Seren mit 0,05 ml einer 50 %-igen Hühnererythrozyten-Suspension versetzt. Nach einer Stunde bei 4 °C wurde dieses Gemisch 10 min. bei 1.000g zentrifugiert und der Überstand für die Untersuchung verwendet.

#### **3.6.1.2. Vorbereitung der Hühner-Erythrozyten**

In Alsever-Lösung stabilisiertes Hühnerblut wurde bei 4 °C und 1.045 g für ca. 10 min. zentrifugiert und der Überstand verworfen. Anschließen erfolgte dreimaliges Waschen des Erythrozytenpellets mit physiologischer Kochsalzlösung. Die Erythrozyten wurden mit physiologischer Kochsalzlösung auf eine 10 %-ige Konzentration eingestellt. Als Gebrauchsverdünnung diente eine 1 %-ige Hühnererythrozyten-Suspension in physiologischer NaCl-Lösung.

#### **3.6.1.3. Vorbereitung der Antigene**

Die Antigene wurden auf eine Arbeitsdosis von vier hämagglutinierenden Einheiten eingestellt. Dazu wurde das Virus zunächst in  $\log_2$ -Schritten titriert. Um die erforderliche Verdünnung des Antigens zu erhalten, wurde der Antigentiter durch vier geteilt.

Beispiel:

Das Testantigen hat einen HA-Titer von 256. Um 4 HA-Einheiten zu erhalten muss man das Testantigen x-fach verdünnen, d.h.:

$$256 : x \text{ (Verdünnung)} = 4 \text{ (HA)}$$

- $256 = 4 \text{ (HA)} \cdot x$
- $256 : 4 \text{ (HA)} = x \text{ (Verdünnung)}$

Das heißt, man muss das Antigen 1:64 verdünnen, um vier HA-Einheiten zu erhalten.

### **3.6.1.4. Durchführung des Hämagglutinationshemmungstests**

Die Seren wurden in  $\log_2$ -Schritten in einer 96-Well-Mikrotiterplatte, beginnend bei 1:2 mit einem Volumen von 25  $\mu\text{l}$  je Kavität verdünnt. Dies gilt ebenfalls für die Kontrollseren. Die erste Vertiefung diente als Serumkontrolle ohne Viruszusatz.

Es wurden 25  $\mu\text{l}$  der auf vier HA-Einheiten eingestellten Antigensuspension in die Vertiefungen der Serumverdünnungen (nicht der Serumkontrolle) gegeben und die Platten wurden zur Durchmischung geschüttelt. Es folgte eine Inkubation des Serum-Virus-Gemisches für (30-)45 min. bei Zimmertemperatur, um die Antigen-Antikörperbindung zu ermöglichen.

Dann wurden pro Kavität der Mikrotiterplatte 25  $\mu\text{l}$  Hühnererythrozyten-Suspension zugegeben und die Platten zum Mischen vorsichtig geschüttelt. Es folgte eine Inkubation für 30 min. bei 4 °C.

### **3.6.1.5. Beurteilung der Ergebnisse**

Die Auswertung erfolgte an der schräggestellten Platte. Das heißt, die Erythrozyten sammeln sich an der tiefsten Stelle des Bodens der Mikrotiterplatte zu einem knopfförmigen Sediment, das beim Schräghalten der Platte nach unten ausläuft. Als Hämagglutinationshemmungstiter gilt der reziproke Wert der Serumverdünnung, bei der die Hämagglutination noch vollständig gehemmt wird.

Proben mit einem Titer ab 1:10 wurden als verdächtig, mit einem Titer  $\geq 1:40$  als positiv bewertet.

### **3.7. Datensammlung und Auswertung**

Die anfallenden Probanddaten wurden im Laborinformations- und Managementsystem Ladia® der Firma BALVI® GmbH erfasst und gesammelt. Nach Abruf der Probanddaten aus Ladia® wurden diese in eine Tabelle im Microsoft-Excel-Format überführt und mit den für die vorliegende Arbeit ermittelten Ergebnissen ergänzt sowie in eine numerische Form umgewandelt.

Diese Excel-Tabelle wurde in das Statistikprogramm IBM SPSS Statistics®, Version 20.0 übertragen. Die Daten wurden entsprechend der Fragestellungen mit diesem Programm selektiert und mit dessen statistischen Analysefunktionen (Kreuztabellen, Mittelwerte, deskriptive Statistik) ausgewertet.

Zur Darstellung der Ergebnisse in Diagrammform wurde Microsoft-Excel genutzt. Zur geografischen Darstellung in dieser Arbeit wurden die Präsentationsvorlagen des Landesamtes für Vermessung und Geobasisinformation RLP entsprechend der Gegebenheiten und Anforderungen dieser Arbeit modifiziert.

## 4. ERGEBNISSE

Von den insgesamt 1.936 untersuchten Proben von Wildschweinen aus ganz RLP hatten 54,4 % mindestens ein positives Ergebnis bezüglich Antikörper gegen den Erreger der Aujeszky'sche Krankheit, Hepatitis E-Virus, Influenza A-Virus, Brucellen oder Salmonellen.

Antikörper gegen Aujeszky'sche Krankheit, Hepatitis E-Virus, Influenza A-Virus, Brucellen und Salmonellen lagen bei 57,1 %; 88,8 %; 84,6 %; 72,2 % und 54,5 % der untersuchten Wildschweine als einziger Antikörpernachweis vor. Bei 42,9 %; 11,2 %; 15,4 %; 27,8 % und 45,5 % der Tiere, die Antikörper gegen Aujeszky'sche Krankheit, Hepatitis E-Virus, Influenza A-Virus, Brucellen oder Salmonellen aufwiesen, konnte gegen mindestens einen weiteren Erreger Antikörper nachgewiesen werden (siehe Anhang Seite 226).

#### 4.1. Antikörper gegen das Virus der Aujeszky'schen Krankheit

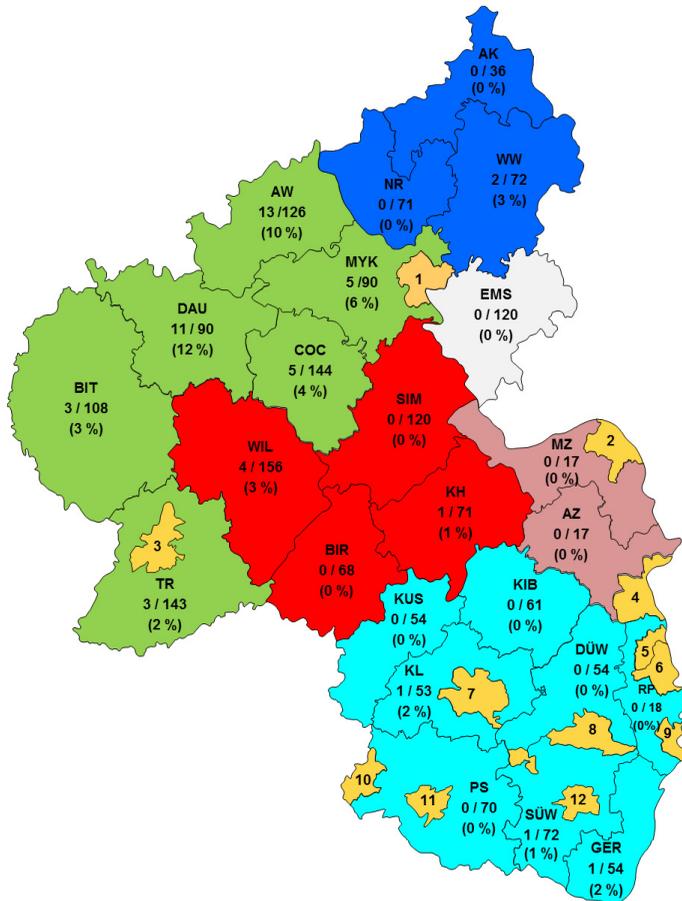
Von den insgesamt 1.936 Proben aus ganz RLP die auf Antikörper gegen SHV-1 untersucht wurden, waren im Antikörper-ELISA 47 (2,4 %) als positiv und fünf (0,3 %) als verdächtig zu bewerten.

Von 47 Proben, die im ELISA als positiv beurteilt wurden waren im SNT 40 Proben positiv, drei Proben nicht auswertbar und vier Proben konnten aufgrund mangelnden Probenmaterials nicht im SNT untersucht werden. Fünf Proben wurden im ELISA als verdächtig beurteilt. Von diesen waren drei Proben positiv (zwei Proben nicht beurteilbar) im SNT. Von den drei Proben mit verdächtigem ELISA-Ergebnis und nachfolgend positivem Ergebnis im SNT stammte eine aus der Region Westerwald (Westerwaldkreis, Untersuchungszeitraum 3, Altersgruppe 2, männlich); eine aus der Region Hunsrück (Landkreis Bernkastel-Wittlich Untersuchungszeitraum 3, Altersgruppe 1, männlich) und eine aus der Region Pfalz (Landkreis Germersheim, Untersuchungszeitraum 1, Altersgruppe 3, männlich). Da der SNT als Goldstandard für den SHV-1-Antikörpernachweis gilt (OREN et al., 1993) muss davon ausgegangen werden, dass diese Proben Antikörper enthielten. Aus diesem Grund werden diese im Folgenden den positiven Ergebnissen zugerechnet. Die Gesamtprävalenz in RLP für SHV-1-Antikörper lag unter Berücksichtigung der SNT-Ergebnisse insgesamt bei 2,6 %.

Im Untersuchungszeitraum 1 bestätigten sich im SNT 93,5 % (29 / 31) der untersuchten Wildschweine als positiv, zwei Proben waren nicht auswertbar. Im Untersuchungszeitraum 2 bestätigten sich im SNT 100 % (5 / 5) der Untersuchten als positiv, eine Probe wurde wegen Mangel an Probenmaterial nicht untersucht. Im Untersuchungszeitraum 3 bestätigten sich 75 % (9 / 12) der untersuchten Proben als positiv, drei Proben waren nicht auswertbar und drei Proben konnten wegen Mangel an Probenmaterial nicht untersucht werden.

### **4.1.1. Geografische und chronologische Auswertung**

Die Verteilung der Antikörpernachweise (ELISA und/ oder SNT) sowie die Anzahl der untersuchten Wildschweine in den Kreisen und kreisfreien Städten der verschiedenen Regionen sind in Abbildung 4 dargestellt.



#### 12 kreisfreie Städte:

1 Koblenz: 0 / 18 (0 %) ; 2 Mainz: 0 / 0 ; 3 Trier: 0 / 15 (0 %) ; 4 Worms: 0 / 0 ;  
 5 Frankenthal (Pfalz): 0 / 0 ; 6 Ludwigshafen am Rhein: 0 / 0 ; 7 Kaiserslautern: 0 / 0 ;  
 8 Neustadt an der Weinstraße: 0 / 18 (0 %) ; 9 Speyer: 0 / 0 ; 10 Zweibrücken: 0 / 0 ;  
 11 Pirmasens: 0 / 0 ; 12 Landau i.d. Pfalz: 0 / 0

#### Regionen in Rheinland-Pfalz:

Westerwald

Taunus

Eifel

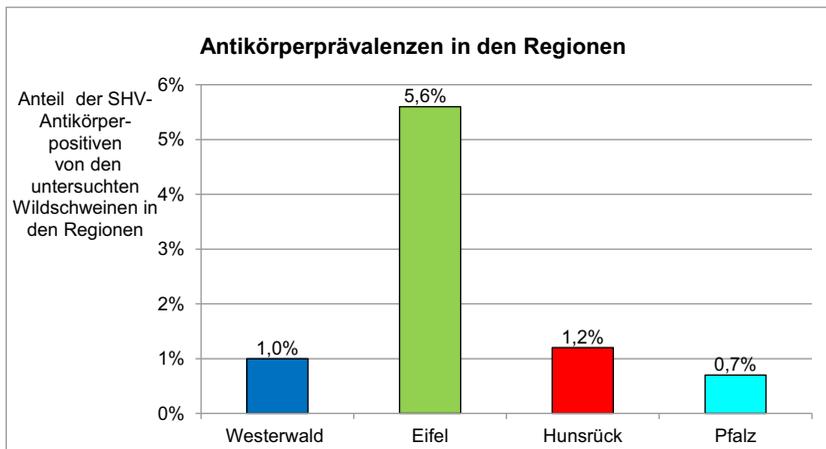
Hunsrück

Rhein-Hessen

Pfalz

**Abbildung 4:** Übersichtskarte der Antikörpernachweise gegen Aujeszky'sche Krankheit in RLP, positiv/ untersucht (ganzzahliger gerundeter prozentualer Anteil der positiven von den untersuchten Wildschweinen in diesem Landkreis)

Die Verteilung der ELISA-Antikörpernachweise auf die einzelnen Regionen in Bezug auf die Anzahl der in den Regionen untersuchten Wildschweine ist in Diagramm 1 dargestellt. In der Region Eifel lag der Anteil der positiven Ergebnisse mit 5,6 % (40 / 716) am höchsten. Die Regionen Hunsrück, Westerwald und Pfalz lagen mit 1,2 % (5 / 415), 1 % (2 / 197) und 0,7 % (3 / 454) positiven Ergebnissen deutlich niedriger. Ein im ELISA verdächtiges Ergebnis hatten in der Region Hunsrück ein Tier (im nachfolgenden SNT positiv), in der Region Westerwald zwei Tiere (davon eins im SNT positiv) und in der Region Pfalz zwei Tiere (davon ein Tier im SNT positiv). In den Regionen Taunus (n = 120) und Rhein-Hessen (n = 34) konnten bei keinem der untersuchten Wildschweine Antikörper gegen SHV-1 nachgewiesen werden. Der Effekt der Region war signifikant mit  $p < 0,001$ .



**Diagramm 1:** SHV-1-Antikörpernachweise aller drei Untersuchungszeiträume in Bezug auf die in den Regionen untersuchten Wildschweine

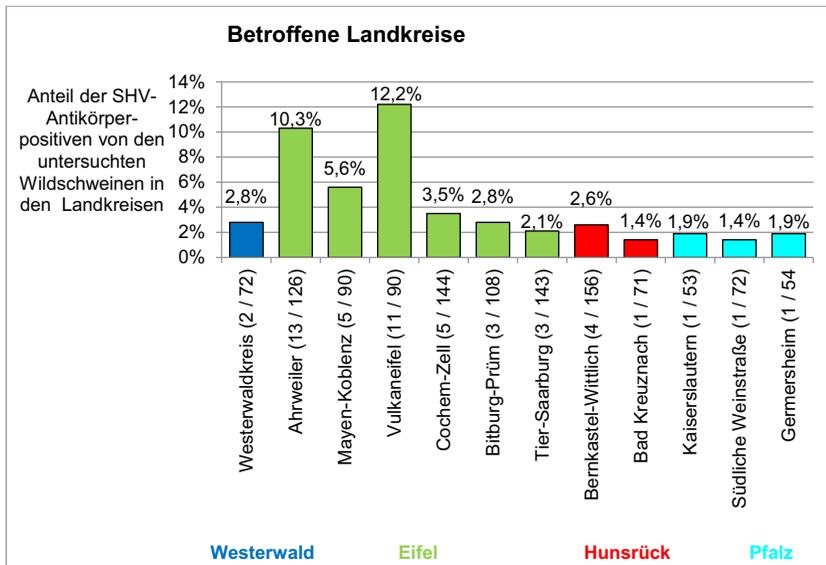
Die ermittelten Prävalenzen in den Landkreisen sind in Diagramm 2 ersichtlich. Die beiden positiv getesteten Wildschweine in der Region Westerwald stammten aus dem Westerwaldkreis, in dem 69 Tiere negativ, ein Tier positiv und zwei Tiere mit verdächtigem Ergebnis auf SHV-1-Antikörper in ELISA untersucht wurden. Eins der beiden Tiere mit verdächtigem ELISA-Ergebnis erzielte im nachfolgenden SNT ein positives Ergebnis.

In der Region Eifel stammten die meisten positiven Proben aus den Landkreisen Ahrweiler (13 / 126) und Vulkaneifel (11 / 90). Die gesamten Prävalenzen in den Landkreisen Ahrweiler und Vulkaneifel waren mit 10,3 % und 12,2 % die höchsten aller Landkreise.

Obwohl innerhalb der Region Eifel in den Landkreisen Cochem-Zell und Trier-Saarburg mehr Proben in die Untersuchung eingegangen, sind lagen die Prävalenzen dort deutlich niedriger. Im Landkreis Mayen-Koblenz waren 5,6 % der untersuchten Wildschweine Antikörper-positiv, obwohl nur 90 Proben in diesem Landkreis untersucht wurden, hatte Mayen-Koblenz damit die dritthöchste Prävalenz der Region. Im Eifelkreis Bitburg-Prüm waren drei von 108 Proben Antikörper-positiv.

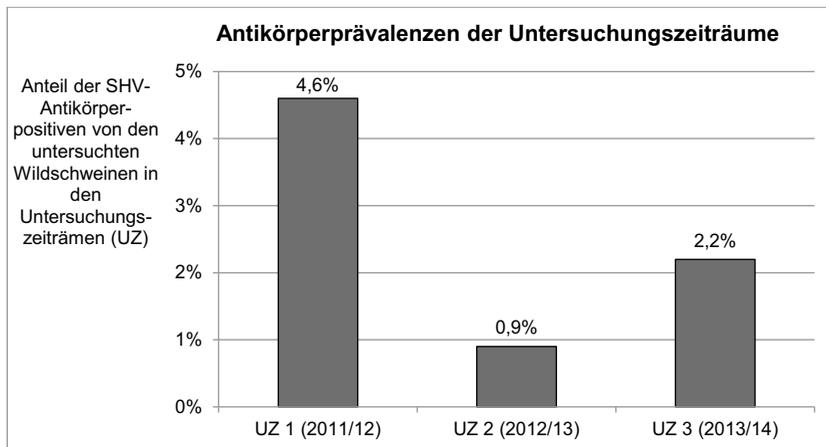
In der Region Hunsrück wurde im Landkreis Bernkastel-Wittlich eine Prävalenz von 2,6 % (4 / 156) ermittelt, eine dieser Proben hatte dort ein verdächtiges Ergebnis im ELISA und bestätigte sich im nachfolgenden SNT als positiv. In Bad Kreuznach lag die Prävalenz bei 1,4 % (1 / 71).

Die beiden positiven Einzeltiere in der Region Pfalz stammten aus den Landkreisen Kaiserslautern (dort erzielte auch eine Probe ein verdächtiges Ergebnis im ELISA) und Südliche Weinstraße. Im Landkreis Germersheim wurde ein Tier als positiv beurteilt, diese eine, als im ELISA verdächtig beurteilte Probe, von insgesamt 54 Untersuchten war im nachfolgenden SNT als positiv beurteilt worden. Der Effekt der Landkreise war signifikant mit  $p < 0,001$ .



**Diagramm 2:** prozentualer Anteil der nachgewiesenen SHV-1-Antikörper in den betroffenen Landkreisen, unter Angabe der Anzahl der positiven von den untersuchten Wildschweinen

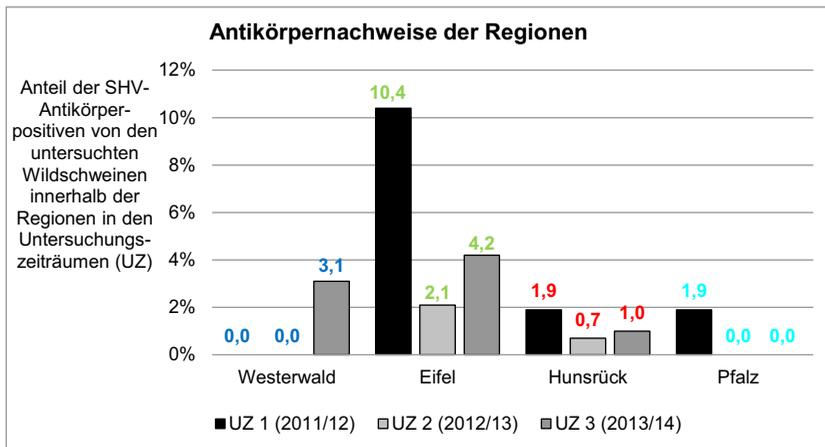
Im Untersuchungszeitraum 1 waren 31 von 677 (4,6 %) der Untersuchten Antikörper-positiv (eine Probe verdächtig im ELISA und im nachfolgenden SNT positiv). Im Untersuchungszeitraum 2 waren sechs von 667 (0,9 %) der untersuchten Wildschweine positiv und im Untersuchungszeitraum 3 waren 13 von 592 (2,2 %) untersuchten Proben positiv. Vier Proben waren im Untersuchungszeitraum 3 als verdächtig im ELISA beurteilt worden. Von diesen vier wurden zwei im nachfolgenden SNT positiv beurteilt. Die Antikörperprävalenzen der Untersuchungszeiträume sind in Diagramm 3 dargestellt. Der Effekt des Untersuchungszeitraums war signifikant mit  $p < 0,001$ .



**Diagramm 3:** prozentualer Anteil der positiven von den untersuchten Wildschweinen bezüglich SHV-1 Antikörper in den drei Untersuchungszeiträumen (UZ)

In der Region Eifel wurden in allen drei Untersuchungszeiträumen positive SHV-1-Antikörpernachweise geführt. In Bezug auf die untersuchten Proben war die Prävalenz dort 10,4 % (25 / 240 Proben positiv) im Untersuchungszeitraum 1. Diese sank im darauffolgenden Jahr auf 2,1 % (5 / 240 Proben positiv), um im Untersuchungszeitraum 3 auf 4,2 % (10 / 236 Proben positiv) anzusteigen. Im Hunsrück wurde ebenfalls im Untersuchungszeitraum 1 die für diese Region höchste SHV-1-Antikörperprävalenz ermittelt, welche dort bei 1,9 % (3 / 162 Proben positiv) lag. Dort wurden im nachfolgenden Zeitraum nur bei einem Tier (von 151 Untersuchten) Antikörper nachgewiesen und im Untersuchungszeitraum 3 war bei einem der 102 Tiere ein Antikörper-Nachweis möglich (verdächtiges im ELISA, SNT-Ergebnis positiv). In der Pfalz waren ausschließlich im Untersuchungszeitraum 1 Antikörpernachweise möglich. Bei drei Tieren von 156, welche in der Region Pfalz im Untersuchungszeitraum 1 untersucht wurden, wurden Antikörper festgestellt (ein Tier mit verdächtigem ELISA-Ergebnis und positivem SNT-Ergebnis). Bei einem Tier von 142 untersuchten Wildschweinen dieser Region im Untersuchungszeitraum 3 wurde ein verdächtiges ELISA Ergebnis ermittelt, welches sich im SNT nicht als positiv bestätigte. In der Region Westerwald waren bei zwei Tieren von 65 Untersuchten aus Untersuchungszeitraum 3 ein Antikörpernachweis möglich (zwei Tiere mit verdächtigem ELISA-Ergebnis, davon ein Tier mit positivem Ergebnis im nachfolgenden SNT). In den Regionen Taunus

und Rhein-Hessen konnten in allen Zeiträumen keine SHV-1- Antikörper nachgewiesen werden (Diagramm 4).



**Diagramm 4:** SHV-1-Antikörpernachweise innerhalb der Regionen in Bezug auf die jeweils in den drei Untersuchungszeiträumen (UZ) in der jeweiligen Region untersuchten Wildschweine (Angaben in Prozent)

Der Anteil der SHV-1-Antikörper positiven ELISA-Ergebnisse von den Untersuchten der Landkreise der jeweiligen Region, innerhalb der drei Untersuchungszeiträume kann Tabelle 8 entnommen werden.

Die beiden SHV-1-Antikörper positiven Proben aus der Region Westerwald wurden im Untersuchungszeitraum 3 im Westerwaldkreis entnommen. In diesem Kreis wurden in diesem Zeitraum 21 Proben negativ, eine Probe positiv im ELISA getestet (zwei Proben verdächtig im ELISA, davon eine im nachfolgenden SNT mit positivem Ergebnis).

Die meisten positiven Ergebnisse in der Region Eifel entfielen auf die Landkreise Ahrweiler, Vulkaneifel und Eifelkreis Bitburg-Prüm im Untersuchungszeitraum 1 sowie auf die Landkreise Mayen-Koblenz und Cochem-Zell im Untersuchungszeitraum 3. Von den insgesamt 13 Antikörper-positiven Proben im Landkreis Ahrweiler (Region Eifel) stammten fünf Proben aus der Gemeinde Lind. Vier dieser Proben wurden am 19.11.2011 entnommen. Von den insgesamt drei positiven Proben im Landkreis Trier-Saarburg waren zwei am 28.11.2011 aus der Gemeinde Aach, direkt an der Grenze zum Eifelkreis Bitburg-Prüm (Region Eifel)

ingesandt worden. Eine weitere positive Probe dieses Landkreises stammte aus Föhren (Nähe Landkreis Berncastel-Wittlich).

Drei positive Proben in der Region Hunsrück wurden im Untersuchungszeitraum 1 entnommen. Im Untersuchungszeitraum 3 wurde eine von 36 Proben im Landkreis Berncastel-Wittlich im ELISA verdächtig beurteilt, die sich im nachfolgenden SNT als positiv herausstellte. Die drei positiv getesteten Proben aus dem Landkreis Berncastel-Wittlich (Region Hunsrück) aus Untersuchungszeitraum 1 stammten aus den Gemeinden Bettenfeld (Nähe Landkreis Vulkaneifel und Eifelkreis Bitburg-Prüm), Enkirch (Nähe Rhein-Hunsrück-Kreis) und Heidweiler (Nähe Landkreis Trier-Saarburg). Im Untersuchungszeitraum 3 wurde in diesem Landkreis eine Probe im ELISA als verdächtig und im nachfolgenden SNT positiv beurteilt.

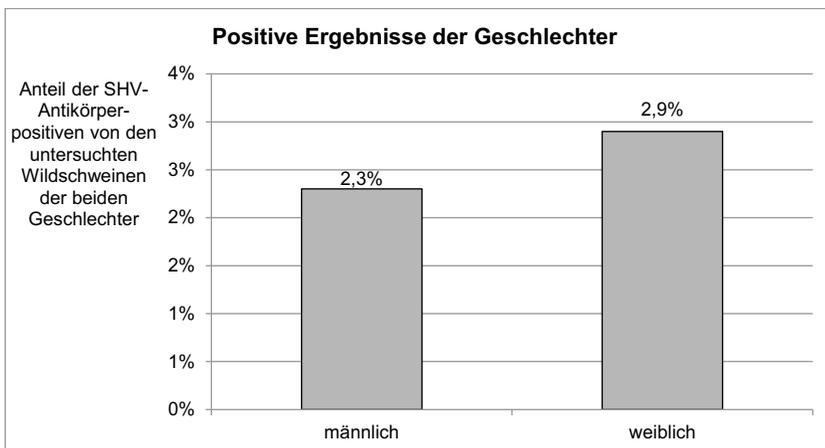
Die insgesamt drei positiven Proben aus der Region Pfalz stammten aus den Landkreisen Kaiserslautern (Untersuchungszeitraum 1 (1 / 18), Stadt Otterberg und Südliche Weinstraße (Untersuchungszeitraum 1 (1 / 24), Stadt Annweiler am Trifels sowie aus dem Landkreis Germersheim (Untersuchungszeitraum 1 (1 / 18), Ortsgemeinde Rülzheim. Die positive Probe aus dem Landkreis Germersheim hatte im ELISA ein verdächtiges und im SNT ein positives Ergebnis. Im Landkreis Kaiserslautern wurde eins der untersuchten Wildschweine aus Untersuchungszeitraum 3 im ELISA als verdächtig beurteilt (im SNT negativ).

**Tabelle 8:** Anteil der SHV-Antikörper positiven Ergebnisse von den untersuchten Wildschweinen in den Landkreisen der jeweiligen Region innerhalb der drei Untersuchungszeiträume (UZ)

Region	LANDKREIS	UZ 1 (2011/12)	UZ 2 (2012/13)	UZ 3 (2013/14)
<b>Westerwald</b>	WW	0 / 24	0 / 24	2 / 24 (8,3 %)
<b>Eifel</b>	AW	9 / 42 (21,4 %)	2 / 42 (4,8 %)	2 / 42 (4,8 %)
	MYK	1 / 30 (3,3 %)	0 / 30	4 / 30 (13,3 %)
	DAU	8 / 30 (26,7 %)	3 / 30 (10 %)	0 / 30
	COC	2 / 48 (4,2 %)	0 / 48	3 / 48 (6,2 %)
	BIT	3 / 36 (8,3 %)	0 / 36	0 / 36
	TR	2 / 48 (4,2 %)	0 / 48	1 / 47 (2,1 %)
<b>Hunsrück</b>	WIL	3 / 60 (5 %)	0 / 60	1 / 36 (2,8 %)
	KH	0 / 30	1 / 30 (3,3 %)	0 / 11
<b>Pfalz</b>	KL	1 / 18 (5,6 %)	0 / 18	0 / 17
	SÜW	1 / 24 (4,2 %)	0 / 24	0 / 24
	GER	1 / 18 (5,6 %)	0 / 18	0 / 18

#### 4.1.2. Auswertung der Geschlechts- und Altersverteilung

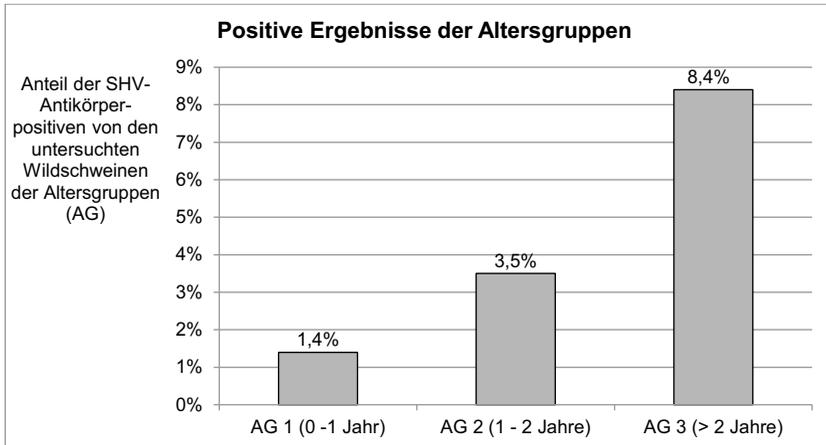
Es wurden jeweils 968 Proben beider Geschlechter auf SHV-1-Antikörper untersucht. 47 Proben wurden im ELISA als positiv und fünf als verdächtig bewertet. Drei der fünf im ELISA verdächtigen Tiere hatten im SNT ein positives Ergebnis. Es waren 2,3 % der männlichen (22 Tiere) und 2,9 % (28 Tiere) der weiblichen untersuchten Wildschweine Antikörper-positiv. Der Anteil der positiven Ergebnisse innerhalb der beiden Geschlechter ist in Diagramm 5 dargestellt.



**Diagramm 5:** prozentualer Anteil der SHV-1-Antikörpernachweise innerhalb der beiden Geschlechter der untersuchten Wildschweine

In Altersgruppe 1, Altersgruppe 2 und Altersgruppe 3 wurden insgesamt 1.333, 399 und 203 Tiere untersucht.

Ein Tier mit negativem Ergebnis konnte wegen fehlender Angabe keiner Altersgruppe zugeordnet werden. In jeder Altersgruppe wurde je eins der im ELISA verdächtigen Tiere im nachfolgenden SNT als positiv beurteilt. Wie in Diagramm 6 dargestellt, stieg der Anteil SHV-1-Antikörper positiver Tiere mit dem Alter. Innerhalb der in den Altersgruppen Untersuchten sind 1,4 % (19 Tiere) in Altersgruppe 1; 3,5 % (14 Tiere) in Altersgruppe 2 und 8,4 % (17 Tiere) in Altersgruppe 3 als SHV-1-Antikörper positiv beurteilt worden. Der Effekt der Altersgruppe war signifikant mit  $p < 0,001$ ).



**Diagramm 6:** prozentualer Anteil der SHV-1-Antikörpernachweise innerhalb der Altersgruppen (AG) der untersuchten Wildschweine

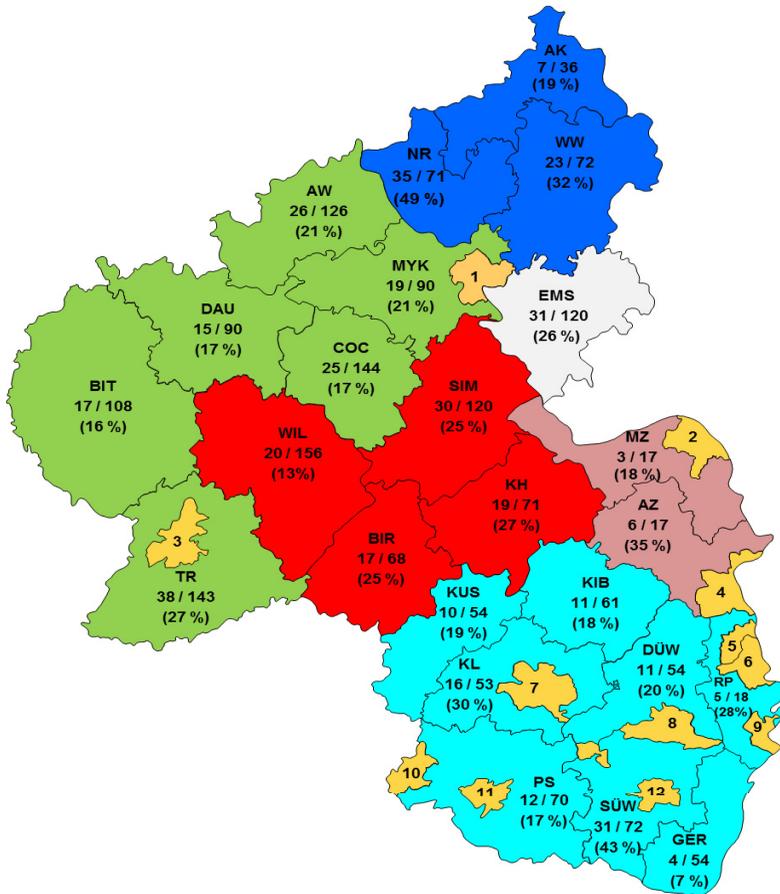
Innerhalb von Altersgruppe 1 waren mit 68,4 % (13 Tiere) die weiblichen Tiere anteilmäßig mehr betroffen als in den beiden anderen Altersgruppen, in denen die beiden Geschlechter mit 47,1 % - 52,9 % etwa gleich betroffen waren.

## **4.2. Antikörper gegen Hepatitis E-Virus**

Es wurden 1.936 Proben aus ganz RLP im ELISA auf Antikörper gegen HEV untersucht. Davon wurden 444 als positiv (22,9 %) und 24 (1,2 %) als verdächtig beurteilt.

### **4.2.1. Geografische und chronologische Auswertung**

Die Verteilung der Antikörpernachweise sowie die Anzahl der untersuchten Wildschweine in den Kreisen und kreisfreien Städten der verschiedenen Regionen sind in Abbildung 5 dargestellt. In allen beprobten Landkreisen und kreisfreien Städten wurden positive Ergebnisse ermittelt.



#### 12 kreisfreie Städte:

1 Koblenz: 3 / 18 (17 %) ; 2 Mainz: 0 / 0 ; 3 Trier: 2 / 15 (13 %) ; 4 Worms: 0 / 0 ;  
 5 Frankenthal (Pfalz): 0 / 0 ; 6 Ludwigshafen am Rhein: 0 / 0 ; 7 Kaiserslautern: 0 / 0 ;  
 8 Neustadt an der Weinstraße: 8 / 18 (44 %) ; 9 Speyer: 0 / 0 ; 10 Zweibrücken: 0 / 0 ;  
 11 Pirmasens: 0 / 0 ; 12 Landau i.d. Pfalz: 0 / 0

#### Regionen in Rheinland-Pfalz:

Westerwald

Taunus

Eifel

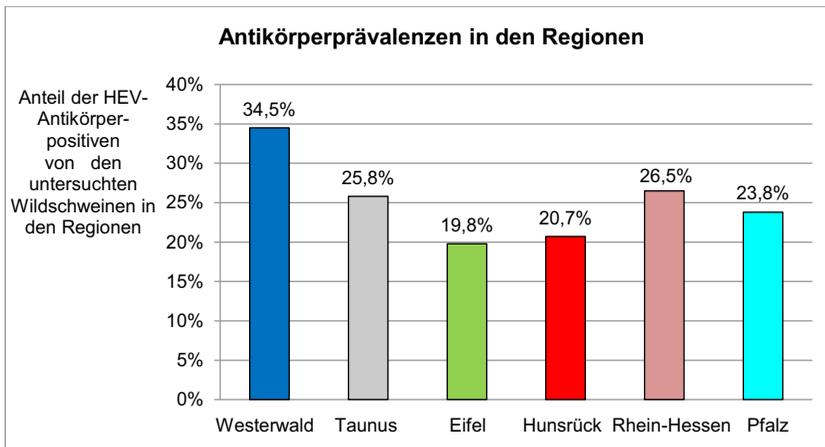
Hunsrück

Rhein-Hessen

Pfalz

**Abbildung 5:** Übersichtskarte über Antikörpernachweise gegen HEV in RLP, positiv/ untersucht (ganzzahlig gerundeter prozentualer Anteil der positiven von den untersuchten Wildschweinen in diesem Landkreis)

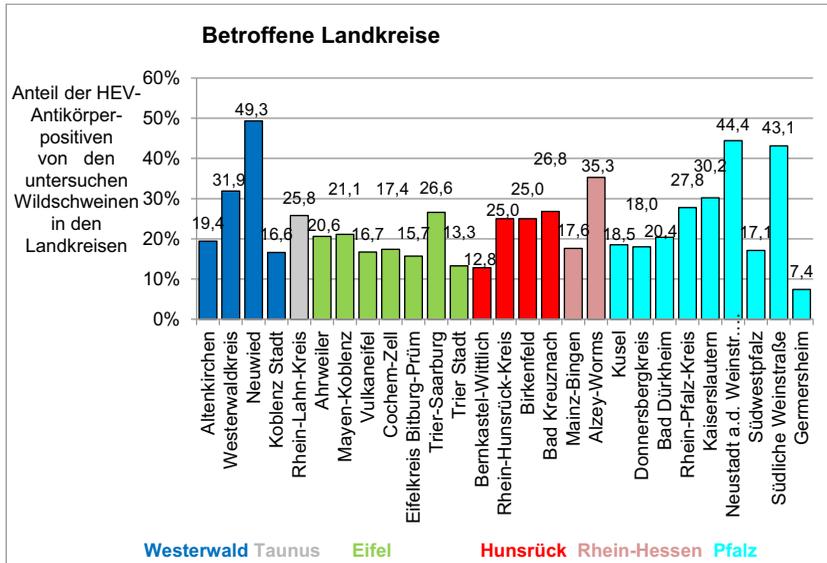
Die Verteilung der positiven Antikörpernachweise auf die einzelnen Regionen in Bezug auf die Anzahl der in den jeweiligen Regionen untersuchten Wildschweine, ist in Diagramm 7 dargestellt. In allen sechs Regionen lag die Prävalenz insgesamt über 19 %. In der Region Westerwald lag der Anteil der positiven Ergebnisse mit 34,5 % (68 / 197) am höchsten. In der Region Rhein-Hessen mit 26,5 % (9 / 34), der Region Taunus mit 25,8 % (31 / 120) und der Region Pfalz mit 23,8 % (108 / 454) war der Anteil der positiven Ergebnisse etwas niedriger. In den Regionen Eifel und Hunsrück wurden mit 19,8 % (142 / 716) und 20,7 % (86 / 415) die niedrigsten regionalen Prävalenzen festgestellt. Der Effekt der Region war signifikant mit  $p = 0,001$ .



**Diagramm 7:** HEV-Antikörpernachweise aller drei Untersuchungszeiträume in Bezug auf die in den Regionen untersuchten Wildschweine

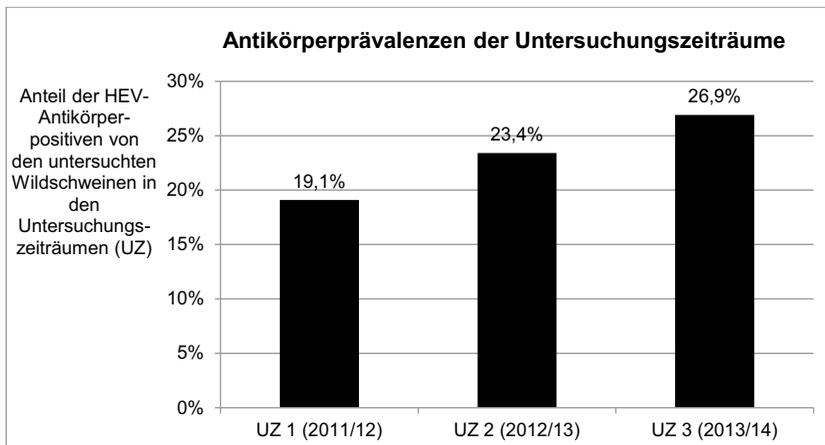
In Diagramm 8 sind die Anteile der HEV-Antikörper-positiven von den untersuchten Wildschweinen in den betroffenen Landkreisen und kreisfreien Städten dargestellt. Im Landkreis Neuwied wurde mit 49,3 % (35 / 71) die höchste Prävalenz in RLP erreicht. Am niedrigsten war die regionale Prävalenz im Landkreis Germersheim mit 7,4 % (4 / 54). Die höchste Prävalenz wurde mit 26,6 % (38 / 143) in der Region Eifel von dem Landkreis Trier-Saarburg erreicht. Innerhalb der Region Hunsrück war die Prävalenz im Landkreis Bernkastel-Wittlich mit 12,8 % (20 / 156) die niedrigste. Prävalenzen über 30 % wurden auch im Landkreis Alzey-Worms mit 35,3 % (6 / 17)

in der Region Rhein-Hessen, Neustadt an der Weinstraße mit 44,4 % (8 / 18) und Südliche Weinstraße mit 43,1 % (31 / 69) in der Region Pfalz erreicht.



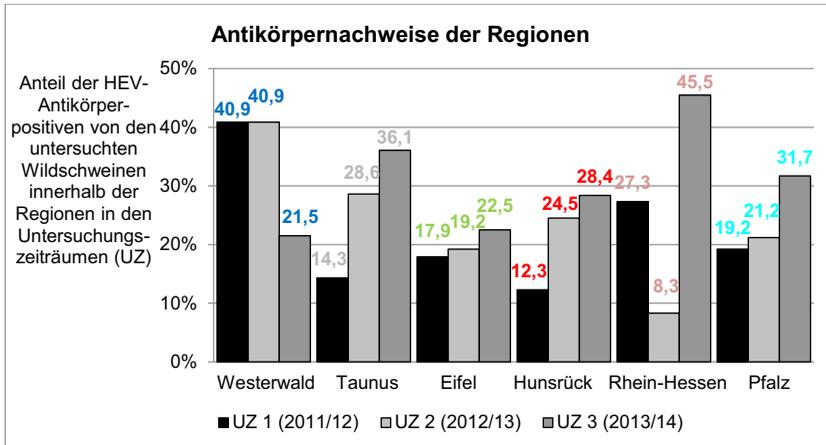
**Diagramm 8:** prozentualer Anteil der nachgewiesenen HEV-Antikörper von den in den betroffenen Landkreisen untersuchten Wildschweinen

Im Untersuchungszeitraum 1 waren 129 von 677 Proben (19,1 %) positiv (13 Tiere verdächtig), Im Untersuchungszeitraum 2 waren 156 von 667 Proben (23,4 %) positiv (6 Tiere verdächtig). Im Untersuchungszeitraum 3 waren 159 von 592 Proben (26,9 %) positiv (5 Tiere verdächtig). Die Antikörperprävalenzen der drei Untersuchungszeiträume sind in Diagramm 9 dargestellt. Der Anteil der positiven war zwischen den Untersuchungszeiträumen kontinuierlich angestiegen.



**Diagramm 9:** prozentualer Anteil der positiven von den untersuchten Wildschweinen bezüglich HEV-Antikörper in den drei Untersuchungszeiträumen (UZ)

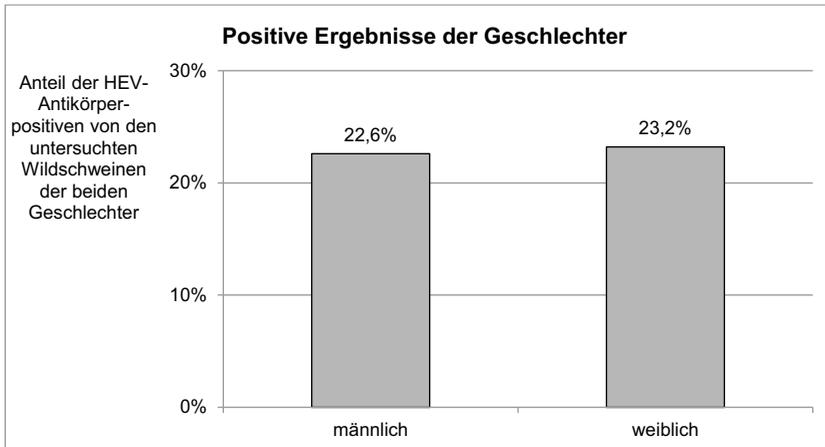
Der höchste Anteil positiver Proben stammte aus Untersuchungszeitraum 3 der Region Rhein-Hessen mit 45,5 % (5 / 11 Proben positiv). Innerhalb der Region Westerwald wurden im Untersuchungszeitraum 1 und Untersuchungszeitraum 2 die höchste Prävalenz ermittelt. In allen anderen Regionen stieg der Anteil positiver Ergebnisse zwischen den Untersuchungszeiträumen eins und drei an (Diagramm 10). Die Antikörperprävalenz im Untersuchungszeitraum 2 in Rhein-Hessen resultierte aus einem positiv getesteten Einzeltier.



**Diagramm 10:** HEV-Antikörpernachweise innerhalb der Regionen in Bezug auf die jeweils in den drei Untersuchungszeiträumen (UZ) in der jeweiligen Region untersuchten Wildschweine (Angaben in Prozent)

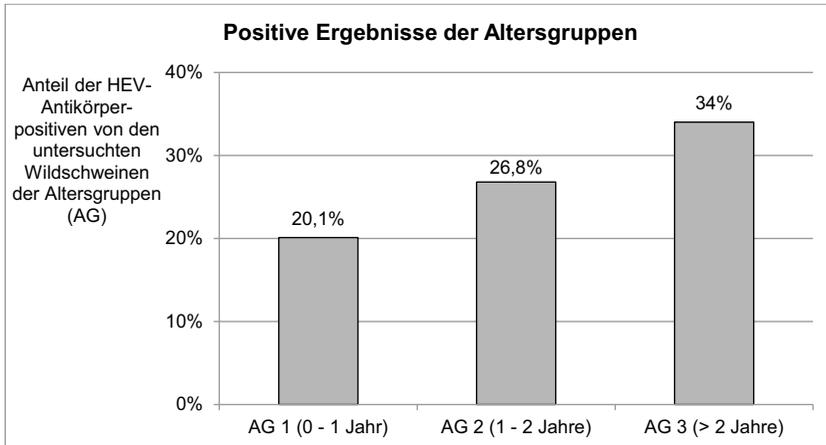
#### 4.2.2. Auswertung der Geschlechts- und Altersverteilung

Von den jeweils 968 untersuchten Wildschweinen beider Geschlechter wurden 444 Proben positiv und 24 Proben als verdächtig bezüglich HEV-Antikörper beurteilt. Es wiesen 22,6 % aller männlichen und 23,2 % aller weiblichen Tiere Antikörper auf. In Diagramm 11 ist der Anteil der positiven Ergebnisse innerhalb der beiden Geschlechter dargestellt. Der Einfluss des Geschlechts war statistisch nicht signifikant.



**Diagramm 11:** prozentualer Anteil der HEV-Antikörpernachweise innerhalb der beiden Geschlechter der untersuchten Wildschweine

In Altersgruppe 1, Altersgruppe 2 und Altersgruppe 3 wurden 1.333, 399 und 203 Tiere untersucht. Ein Tier mit negativem Ergebnis konnte wegen fehlender Angabe keiner Altersgruppe zugeordnet werden. Wie in Diagramm 12 dargestellt, stieg der Anteil HEV-Antikörper positiver Tiere mit dem Alter an. Innerhalb der in den Altersgruppen Untersuchten waren 20,1 % (268 Tiere) in Altersgruppe 1; 26,8 % (107 Tiere) in Altersgruppe 2 und 34,0 % (69 Tiere) in Altersgruppe 3 als HEV-Antikörper positiv beurteilt worden. Der Effekt der Altersgruppe war signifikant mit  $p < 0,001$ .



**Diagramm 12:** prozentualer Anteil der HEV-Antikörpernachweise innerhalb der Altersgruppen (AG) der untersuchten Wildschweine

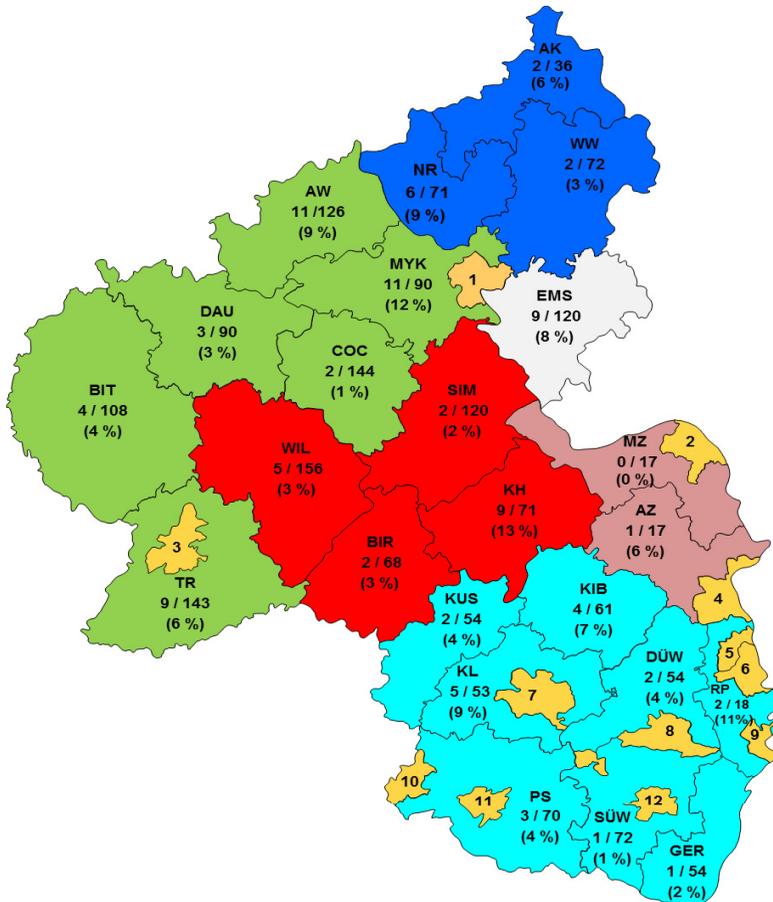
Die Verteilung der positiv getesteten Proben innerhalb der Altersgruppen auf die beiden Geschlechter war anteilmäßig fast identisch. Mit 48,6 - 51,4 % waren die Geschlechter der drei Altersgruppen nahezu gleich betroffen.

### **4.3. Antikörper gegen Influenza A-Virus**

Es wurden 1.936 Proben von Wildschweinen aus ganz RLP mittels ELISA auf Antikörper gegen Influenza A-Virus untersucht. Bei 99 (5,1 %) der untersuchten Wildschweine konnten so Antikörper nachgewiesen werden.

#### **4.3.1. Geografische und chronologische Auswertung (ELISA)**

Die Verteilung der Antikörpernachweise sowie die Anzahl der untersuchten Wildschweine in den Kreisen und kreisfreien Städten der verschiedenen Regionen sind in Abbildung 6 dargestellt.



#### 12 kreisfreie Städte:

1 Koblenz: 1 / 18 (6 %); 2 Mainz: 0 / 0; 3 Trier: 0 / 15 (0 %); 4 Worms: 0 / 0;  
 5 Frankenthal (Pfalz): 0 / 0; 6 Ludwigshafen am Rhein: 0 / 0; 7 Kaiserslautern: 0 / 0;  
 8 Neustadt an der Weinstraße: 0 / 18 (0 %); 9 Speyer: 0 / 0; 10 Zweibrücken: 0 / 0;  
 11 Pirmasens: 0 / 0; 12 Landau i.d. Pfalz: 0 / 0

#### Regionen in Rheinland-Pfalz:

Westwald

Taunus

Eifel

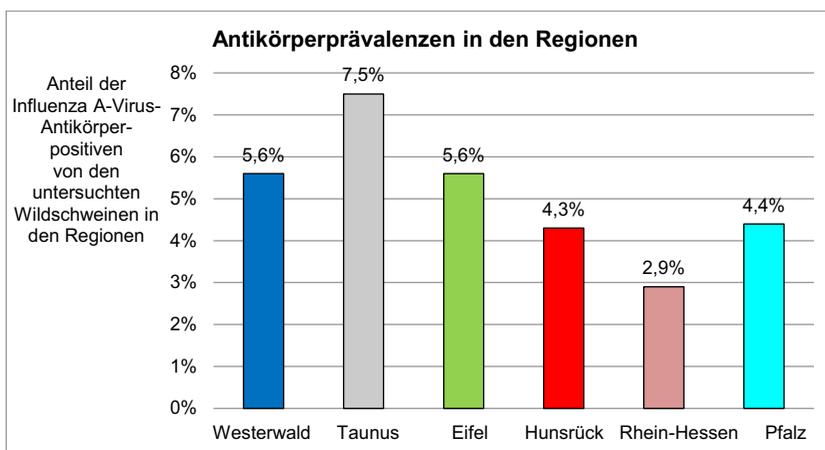
Hunsrück

Rhein-Hessen

Pfalz

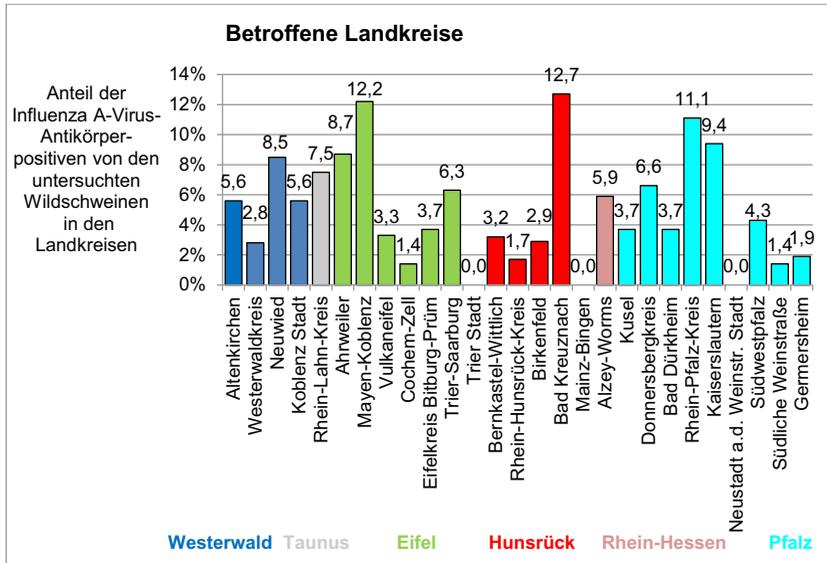
**Abbildung 6:** Übersichtskarte über ELISA-Antikörpernachweise gegen Influenza A in RLP, positiv/ untersucht (ganzzahlig gerundeter prozentualer Anteil der positiven von den untersuchten Wildschweinen in diesem Landkreis)

Es wiesen Tiere aus allen Regionen in RLP im ELISA Antikörper gegen Influenza A-Virus auf. Am höchsten lag der Anteil der positiven Ergebnisse von den Untersuchten in der Region Taunus mit 7,5 % (9 / 120), am niedrigsten in der Region Rhein-Hessen mit 2,9 % (1 / 34). Die Regionen Westerwald (5,6 %; 11 / 197), Eifel (5,6 %; 40 / 716), Hunsrück (4,3 %; 18 / 414) und Pfalz (4,4 %; 20 / 454) wichen geringer von der Gesamtprävalenz von 5,1 % in RLP ab (Diagramm 13). Der Einfluss der Region war statistisch nicht signifikant.



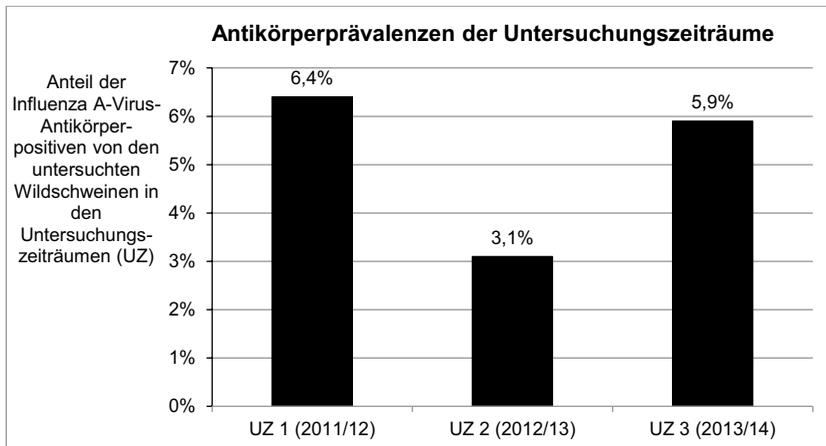
**Diagramm 13:** Influenza A-Virus-Antikörpernachweise (ELISA) aller drei Untersuchungszeiträume, in Bezug auf die in den Regionen untersuchten Wildschweine

In der Region Westerwald war der Landkreis Neuwied mit 8,5 % (6 / 71) am stärksten betroffen. In der Region Taunus / Rhein-Lahn-Kreis betrug die Prävalenz 7,5 % (9 / 120). Innerhalb der Region Eifel war die Prävalenz in den Kreisen Ahrweiler (8,7 %; 11 / 126) und Mayen-Koblenz (12,2%; 11 / 90) besonders hoch. Die regionale Prävalenz im Landkreis Bad Kreuznach, in der Region Hunsrück, lag mit 12,7 % (9 / 71) höher als in den anderen Kreisen dieser Region. In der Pfalz war diese im Rhein-Pfalz-Kreis (11,1 %; 2 / 18) und im Landkreis Kaiserslautern (9,4 %, 5 / 53) höher als in den anderen Kreisen dieser Region. In der kreisfreien Stadt Koblenz, und den Landkreisen Alzey-Worms, Südliche Weinstraße und Germersheim wurden je bei einem Einzeltier, in der Stadt Trier, dem Landkreis Mainz-Bingen und Neustadt an der Weinstraße bei keinem Tier Antikörper gegen Influenza A-Virus nachgewiesen (Diagramm 14).



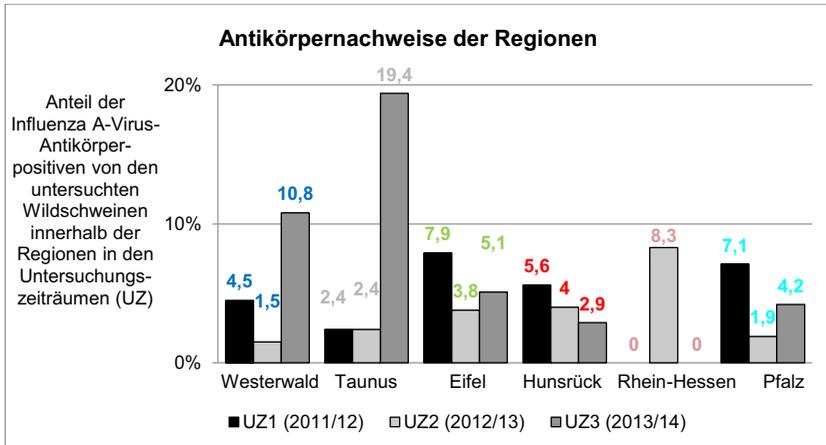
**Diagramm 14:** prozentualer Anteil der nachgewiesenen Influenza A-Virus-Antikörper (ELISA) von den in den betroffenen Landkreisen untersuchten Wildschweinen

Im Untersuchungszeitraum 1 waren im Influenza A-Virus-Antikörper-ELISA 43 von 677 Proben (6,4 %), im Untersuchungszeitraum 2 waren 21 von 667 Proben (3,1 %) und im Untersuchungszeitraum 3 waren 35 von 592 Proben (5,9 %) als positiv beurteilt worden. Die Antikörperprävalenzen die sich aus den positiven ELISA-Ergebnissen für die drei Untersuchungszeiträume ergaben, sind in Diagramm 15 dargestellt. Der Effekt des Untersuchungszeitraums war signifikant mit  $p = 0,016$ .



**Diagramm 15:** prozentualer Anteil der im ELISA positiven von den untersuchten Wildschweinen bezüglich Influenza A-Virus-Antikörper in den drei Untersuchungszeiträumen (UZ)

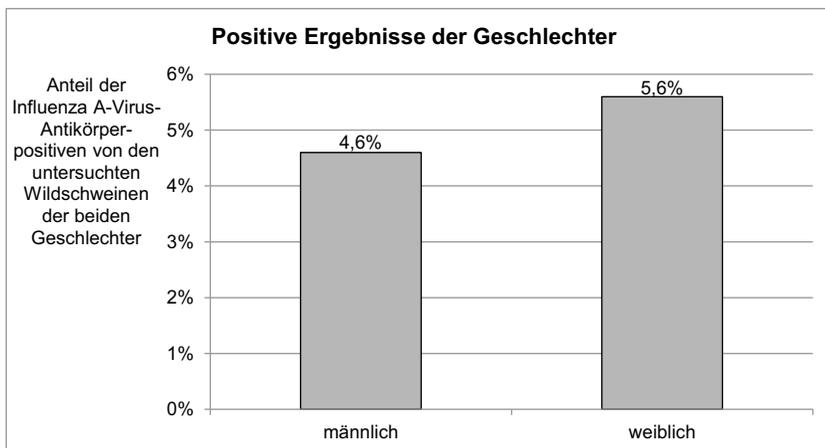
Im Untersuchungszeitraum 1 wurden die höchsten regionalen Prävalenzen für Influenza A-Virus-Antikörper in den Regionen Eifel (7,9 %; 19 / 240), Pfalz (7,1 %; 11 / 156) und Hunsrück (5,6 %; (9 / 162) erreicht. In den Regionen Westerwald und Taunus lagen diese mit 10,8 % (7 / 65) und 19,4 % (7 / 36) im Untersuchungszeitraum 3 innerhalb dieses Zeitraums am höchsten. Die Werte im Westerwald im Untersuchungszeitraum 2, Taunus im Untersuchungszeitraum 1 und 2 sowie Rhein-Hessen im Untersuchungszeitraum 2 beruhten auf Antikörper-positiven Einzeltierergebnissen. Der prozentuale Anteil der Antikörpernachweise in den Regionen, in den jeweiligen Untersuchungszeiträumen ist in Diagramm 16 dargestellt.



**Diagramm 16:** Influenza A-Virus-Antikörpernachweise (ELISA) innerhalb der Regionen in Bezug auf die jeweils in den drei Untersuchungszeiträumen (UZ) in der jeweiligen Region untersuchten Wildschweine (Angaben in Prozent)

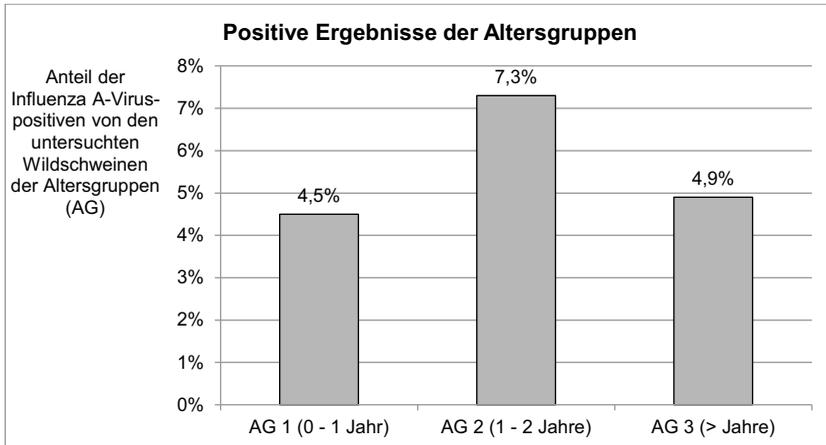
### 4.3.2. Auswertung der Geschlechts- und Altersverteilung (ELISA)

Von den jeweils 968 untersuchten Wildschweinen beider Geschlechter wurden insgesamt 99 Proben im ELISA positiv bezüglich Antikörper gegen Influenza A beurteilt. Es waren 4,6 % der männlichen und 5,6 % der weiblichen untersuchten Wildschweine im ELISA Influenza A-Virus-Antikörper-positiv. Der Anteil der positiven Ergebnisse innerhalb der beiden Geschlechter ist in Diagramm 17 dargestellt. Der Einfluss des Geschlechts war statistisch nur gering signifikant.



**Diagramm 17:** prozentualer Anteil der Influenza A-Virus-Antikörpernachweise (ELISA) innerhalb der beiden Geschlechter der untersuchten Wildschweine

In Altersgruppe 1, Altersgruppe 2 und Altersgruppe 3 wurden 1.333, 399 und 203 Tiere untersucht. Ein Tier mit negativem Ergebnis konnte wegen fehlender Angabe keiner Altersgruppe zugeordnet werden. Innerhalb der in den Altersgruppen Untersuchten waren 4,5 % (60 Tiere) in Altersgruppe 1; 7,3 % (29 Tiere) in Altersgruppe 2 und 4,9 % (10 Tiere) in Altersgruppe 3 als Influenza A-Virus-Antikörper positiv beurteilt worden (Diagramm 18). Der Einfluss der Altersgruppe war statistisch nicht signifikant.



**Diagramm 18:** prozentualer Anteil der Influenza A-Virus-Antikörpernachweise (ELISA) innerhalb der Altersgruppen (AG) der untersuchten Wildschweine

Die Verteilung der positiv getesteten Proben innerhalb der Altersgruppen auf die beiden Geschlechter zeigte, dass die weiblichen Tiere der Altersgruppe 2 mit 62,1 % häufiger und die männlichen Tiere der Altersgruppe 2 mit 37,9 % weniger betroffen waren als in den Altersgruppen 1 und 3. In Altersgruppe 1 und 3 waren beide Geschlechter mit 50,0 % - 51,7 % etwa gleich stark betroffen.

### 4.3.3. Geografische und chronologische Auswertung der Influenza A-Virus-Subtypbestimmung (HAHT)

Alle 99 Proben mit positivem Influenza A-Virus-Antikörpernachweis im ELISA wurden nachfolgend im HAHT auf Antikörper gegen die Subtypen H1N1, H1N2 und H3N2 untersucht. Bei 46 Tieren mit positivem oder verdächtigem Ergebnis konnte bestimmt werden, gegen welchen Subtyp des Influenza A-Virus die Antikörper gerichtet waren. Eins dieser Tiere (Region Hunsrück, Kreis Bad Kreuznach) wies Antikörper gegen H1N1 und gleichzeitig H3N2 auf. Die meisten der im HAHT bestimmten Antikörper waren gegen den Subtyp H1N1 gerichtet (17 positive und 15 verdächtige Proben). Antikörper gegen den Subtyp H1N2 konnten in keiner Probe nachgewiesen werden (eine Probe nicht auswertbar). Der HAHT bezüglich des Subtyp H3N2 wurde bei sechs Tieren als positiv und bei neun Tieren als verdächtig beurteilt. Alle Ergebnisse der im HAHT untersuchten Wildschweine sind Tabelle 9 zu entnehmen. In Bezug auf den gesamten Probenumfang in RLP von 1.936 untersuchten Wildschweinen (Voruntersuchung im ELISA) wurden Antikörper mit positivem oder verdächtigem Ergebnis im HAHT gegen die Subtypen H1N1 / H3N2 in 1,7 bzw. 0,8 % und insgesamt 47 positive / verdächtige Antikörpernachweise in 1.936 Proben (2,4 %) festgestellt.

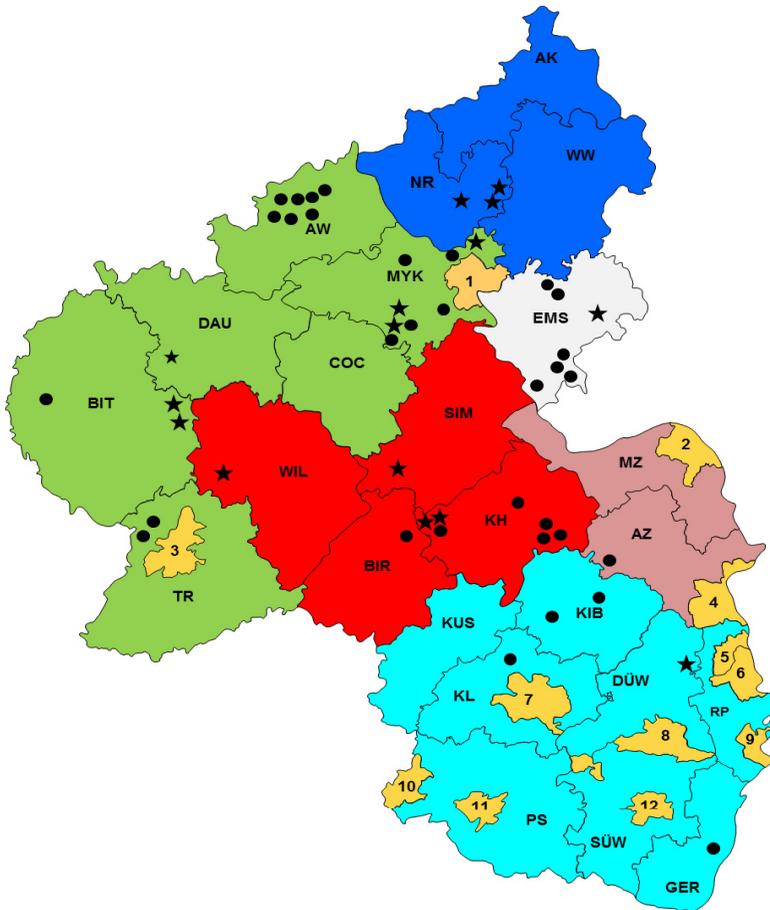
**Tabelle 9:** Ergebnisse der Influenza A Virus Subtypenbestimmung im Hämagglutinationshemmungstest hinsichtlich der Subtypen H1N1, H1N2 und H3N2

Subtyp	negativ	positiv	verdächtig	nicht auswertbar
H1N1	67	17	15	0
H1N2	98	0	0	1
H3N2	84	6	9	0

In Abbildung 7 ist die geografische Verteilung der positiven und verdächtigen Antikörpernachweise im HAHT bezüglich der Subtypen H1N1 und H3N2 dargestellt. Antikörper gegen den Influenza A-Virus-Subtyp H1N1 wurden in allen Regionen außer der Region Westerwald mit positivem oder verdächtigem Ergebnis im HAHT nachgewiesen. Es konnten zwei geografische Vorkommen (Cluster) von positiven/verdächtigen Antikörpernachweisen gegen H1N1 im HAHT festgestellt werden. Zum Einen (Cluster 1) lagen diese in den Kreisen Ahrweiler, Mayen-Koblenz und Rhein-Lahn-Kreis (Region der nördlichen Eifel und Taunus). Zum Anderen (Cluster 2) stammten diesbezüglich positive/ verdächtige Proben aus dem Landkreis

Bad Kreuznach in der Region Hunsrück sowie aus den benachbarten Landkreisen Birkenfeld (Region Hunsrück) und Alzey-Worms (Region Rhein-Hessen) sowie dem Donnersbergkreis und dem Landkreis Kaiserslautern (Region Pfalz). Im südlichen (Landkreis Germersheim) und westlichen RLP (Landkreis Trier-Saarburg und Eifelkreis Bitburg-Prüm) wurden Antikörper gegen den Subtyp H1N1 bei Einzeltieren nachgewiesen.

Antikörper gegen den Influenza A-Virus-Subtyp H3N2 wurden in allen Regionen außer in der Region Rhein-Hessen nachgewiesen. Geografische Vorkommen von positiven/ verdächtigen Antikörpern nachweisen gegen den Influenza A-Virus-Subtyp H3N2 lagen zum Einen im Gebiet der Landkreise Neuwied, Mayen-Koblenz und Rhein-Lahn-Kreis (Cluster 1). Innerhalb dieses Cluster wurden außer im Landkreis Neuwied (nur H3N2 Antikörper nachweise) auch Antikörper gegen den Subtyp H1N1 nachgewiesen. Im Landkreis Ahrweiler wurden nur Antikörper gegen den Subtyp H1N1 identifiziert. Zum Anderen lagen die geografischen Vorkommen von Antikörpern nachweisen gegen den Subtyp H3N2 nahe der Grenze des westlich in RLP gelegenen Eifelkreis Bitburg-Prüm zu den Landkreisen Vulkaneifel (Region Eifel) und Bernkastel-Wittlich in der Region Hunsrück (Cluster 2). Außerdem wurden in der Mitte von RLP bei einem Tier aus dem Rhein-Hunsrück-Kreis und zwei Tieren aus dem Landkreis Bad Kreuznach Antikörper gegen den Subtyp H3N2 nachgewiesen (Cluster 3). Im Landkreis Bad Kreuznach wurden auch Antikörper gegen den Subtyp H1N1 bestimmt. In der Region Pfalz (Landkreis Bad Dürkheim) wurden bei einem Einzeltier Antikörper gegen den Subtyp H3N2 nachgewiesen.



**12 Kreisfreie Städte:**

1 Koblenz; 2 Mainz; 3 Trier; 4 Worms; 5 Frankenthal (Pfalz); 6 Ludwigshafen am Rhein; 7 Kaiserslautern; 8 Neustadt an der Weinstraße; 9 Speyer; 10 Zweibrücken; 11 Pirmasens; 12 Landau i.d. Pfalz

**Regionen in Rheinland-Pfalz:**

Westerwald

Taunus

Eifel

Hunsrück

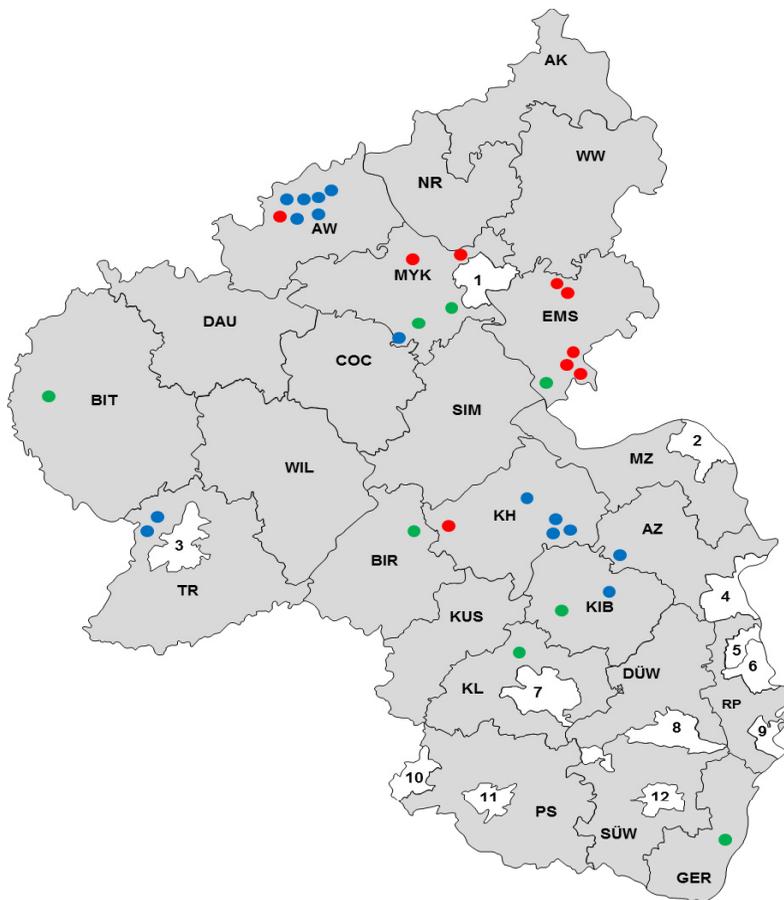
Rhein-Hessen

Pfalz

**Abbildung 7:** Übersichtskarte der positiven und verdächtigen Antikörnernachweise im Hämagglutinationshemmungstest bezüglich Antikörper gegen den Subtyp **H1N1** (●) und den Subtyp **H3N2** (★) des Influenza A-Virus in RLP

Die geografische Verteilung der positiven/ verdächtigen Antikörpernachweise im HAHT bezüglich des Subtyps H1N1 des Influenza A-Virus in den drei Untersuchungszeiträumen in RLP ist in Abbildung 8 dargestellt. Es konnten im Untersuchungszeitraum 1, 2 und 3 insgesamt in acht, fünfzehn und neun Proben Antikörper gegen den Subtyp H1N1 des Influenza A-Virus mit positivem oder verdächtigem Ergebnis im HAHT nachgewiesen werden. In Cluster 1 sind Antikörper gegen den Subtyp H1N1 im Untersuchungszeitraum 1 nur in den südlichen Teilen der Landkreise Mayen-Koblenz und Rhein-Lahn-Kreis nachgewiesen worden. Im Untersuchungszeitraum 2 wurden nord-westlich davon (Landkreis Ahrweiler) gehäuft Antikörper gegen diesen Subtyp identifiziert, wobei diese Proben alle von unterschiedlichen Jagdereignissen stammten. Während im Landkreis Ahrweiler im Untersuchungszeitraum 3 nur bei einem Einzeltier Antikörper gegen den Subtyp H1N1 nachgewiesen wurden, sind im nördlichen Teil des Landkreises Mayen-Koblenz und im nördlichen und südlichen Rhein-Lahn-Kreis im Untersuchungszeitraum 3 mehrfach H1N1- Antikörper nachgewiesen worden. Innerhalb des Cluster 2 von Antikörpern gegen den Subtyp H1N1 lagen die Nachweise im Untersuchungszeitraum 2 mehr nord-östlich und waren häufiger als im Untersuchungszeitraum 1. Im Untersuchungszeitraum 3 wurden innerhalb dieses Cluster nur bei einem Tier im Landkreis Bad Kreuznach Antikörper nachgewiesen.

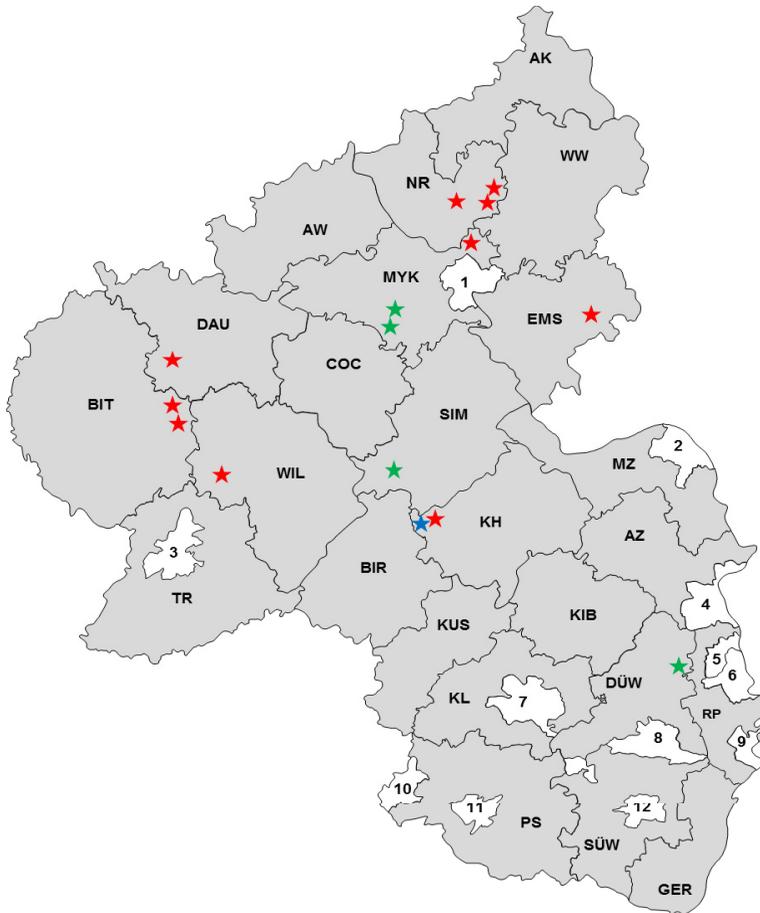
Die geografische Verteilung der positiven/ verdächtigen Antikörpernachweise im HAHT bezüglich des Subtyps H3N2 des Influenza A-Virus in den drei Untersuchungszeiträumen in RLP ist in Abbildung 9 dargestellt. Es konnten im Untersuchungszeitraum 1, 2 und 3 insgesamt in vier, einer und zehn Proben Antikörper gegen den Subtyp H3N2 des Influenza A-Virus mit positivem oder verdächtigem Ergebnis im HAHT nachgewiesen werden. Antikörpernachweise gegen den Subtyp H3N2 wurden in Cluster 1 im Untersuchungszeitraum 1 nur im Landkreis Mayen-Koblenz und in Untersuchungszeitraum 3 nord-östlich davon in den Landkreisen Mayen-Koblenz, Neuwied und Rhein-Lahn-Kreis nachgewiesen. Cluster 2 von H3N2-Antikörpern wies ausschließlich Antikörper aus Untersuchungszeitraum 3 auf. In Cluster 3 wurde in jedem der drei Untersuchungszeiträume je ein positiver Antikörpernachweis gegen den Subtyp H3N2 erbracht.



**12 kreisfreie Städte:**

1 Koblenz; 2 Mainz; 3 Trier; 4 Worms; 5 Frankenthal (Pfalz); 6 Ludwigshafen am Rhein;  
7 Kaiserslautern; 8 Neustadt an der Weinstraße; 9 Speyer; 10 Zweibrücken;  
11 Pirmasens; 12 Landau i.d. Pfalz

**Abbildung 8:** Übersichtskarte der positiven und verdächtigen Antikörpernachweise im Hämagglutinationshemmungstest bezüglich Antikörper gegen den Subtyp H1N1 des Influenza A-Virus im Untersuchungszeitraum (UZ) 1 (●), UZ 2 (●), und UZ 3 (●)



**12 kreisfreie Städte:**

1 Koblenz; 2 Mainz; 3 Trier; 4 Worms; 5 Frankenthal (Pfalz); 6 Ludwigshafen am Rhein; 7 Kaiserslautern; 8 Neustadt an der Weinstraße; 9 Speyer; 10 Zweibrücken; 11 Pirmasens; 12 Landau i. d. Pfalz

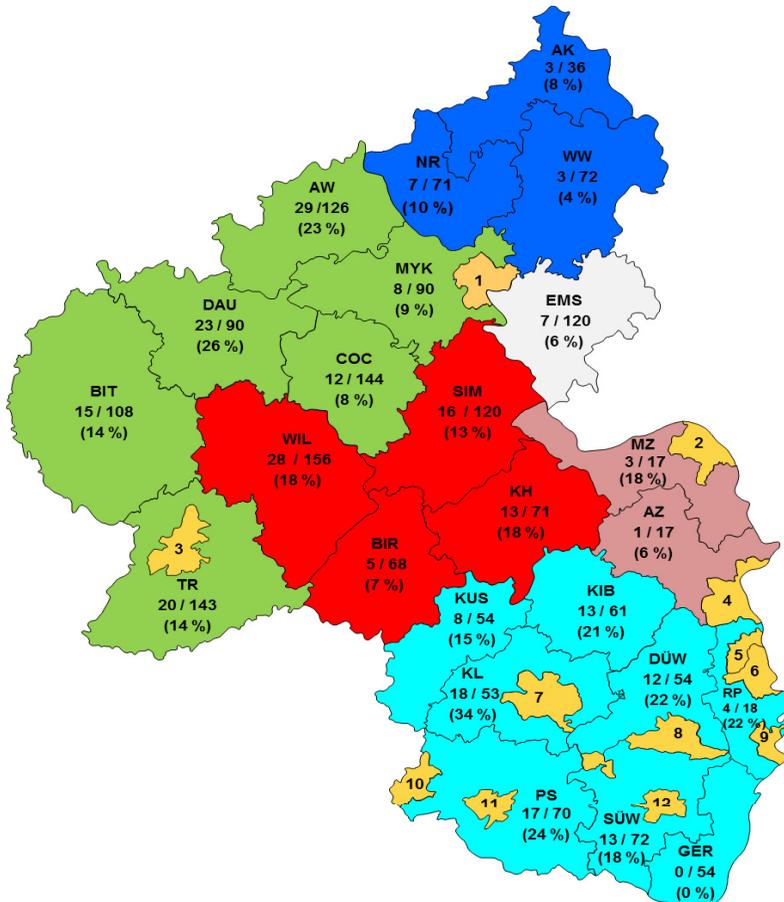
**Abbildung 9:** Übersichtskarte der positiven und verdächtigen Antikörpernachweise im Hämagglutinationshemmungstest bezüglich Antikörper gegen den Subtyp **H3N2** des Influenza A-Virus im Untersuchungszeitraum (UZ) 1 (★) UZ 2 (★), und UZ 3 (★)

## **4.4. Antikörper gegen Brucellen**

Es wurden 1.936 Proben auf Antikörper gegen Brucellen untersucht. Davon wurden im Antikörper-ELISA 283 Proben (14,6 %) als positiv und 17 Proben (0,9 %) als verdächtig bewertet.

### **4.4.1. Geografische und chronologische Auswertung**

Die Verteilung der Antikörpernachweise sowie die Anzahl der untersuchten Wildschweine in den Kreisen und kreisfreien Städten der verschiedenen Regionen sind in Abbildung 10 dargestellt.



#### 12 kreisfreie Städte:

1 Koblenz: 3 / 18 (17 %); 2 Mainz: 0 / 0; 3 Trier: 1 / 15 (7 %); 4 Worms: 0 / 0;  
 5 Frankenthal (Pfalz): 0 / 0; 6 Ludwigshafen am Rhein: 0 / 0; 7 Kaiserslautern: 0 / 0;  
 8 Neustadt an der Weinstraße: 1 / 18 (6 %); 9 Speyer: 0 / 0; 10 Zweibrücken: 0 / 0;  
 11 Pirmasens: 0 / 0; 12 Landau i.d. Pfalz: 0 / 0

#### Regionen in Rheinland-Pfalz:

Westervald

Taunus

Eifel

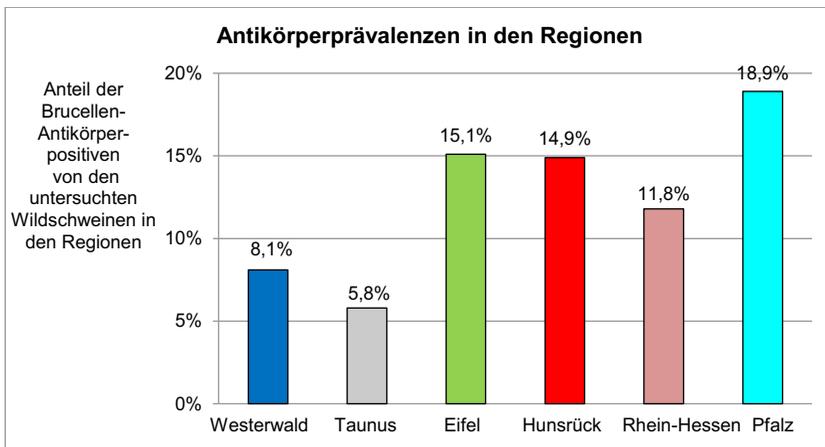
Hunsrück

Rhein-Hessen

Pfalz

**Abbildung 10:** Übersichtskarte über Antikörpernachweise gegen Brucellen in RLP, positiv/ untersucht (ganzzahlig gerundeter prozentualer Anteil der positiven von den untersuchten Wildschweinen in diesem Landkreis)

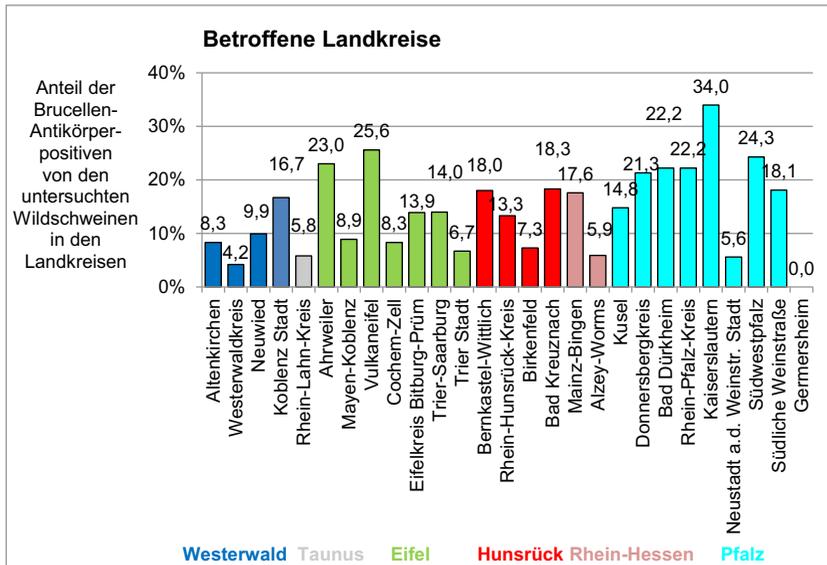
In Diagramm 19 ist der prozentuale Anteil der positiven Ergebnisse von den in den Regionen untersuchten Wildschweinen aller drei Untersuchungszeiträume dargestellt. In allen sechs Regionen waren Antikörper gegen Brucellen nachweisbar. Die benachbarten Regionen Westerwald und Taunus im nördlichen RLP wiesen mit 8,1 % (16 / 197) und 5,8 % (7 / 120) die niedrigsten Prävalenzen auf. In Eifel und Hunsrück wurden anteilmäßig mehr positive Tiere identifiziert. Die Pfalz, im Süden von RLP wies die höchste regionale Prävalenz auf, dort wurden bei 18,9 % der 454 Tiere Antikörper gegen Brucellen nachgewiesen. Der Einfluss der Region war signifikant mit  $p = 0,001$ .



**Diagramm 19:** Brucellen-Antikörpernachweise aller drei Untersuchungszeiträume in Bezug auf die in den Regionen untersuchten Wildschweine

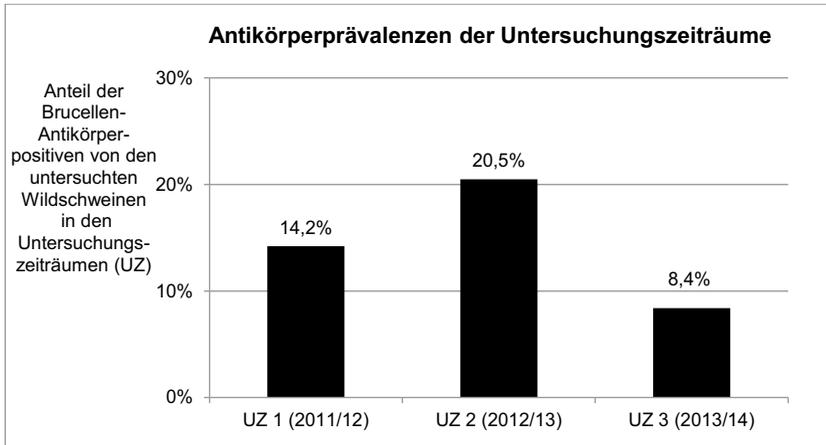
In Diagramm 20 sind die Prävalenzen der betroffenen Landkreise und kreisfreien Städte dargestellt. Im Landkreis Kaiserslautern (Region Pfalz) wurde mit 34,0 % (18 / 53) die höchste Prävalenz in RLP erreicht. Außer Neustadt an der Weinstraße und im Landkreis Germersheim lagen die Prävalenzen der Landkreise in dieser Region alle über 14 % und waren in den Landkreisen Donnersbergkreis mit 21,3 % (13 / 61), Bad Dürkheim mit 22,2 % (12 / 54), Rhein-Pfalz-Kreis mit 22,2 % (4 / 18) und im Landkreis Südliche Weinstraße mit 18,1 % (13 / 72) besonders hoch. In der Region Eifel waren die Landkreise Ahrweiler [23,0 % (29 / 126)] und Vulkaneifel [25,6 % (23 / 90)], in der Region Hunsrück die Landkreise Bernkastel-Wittlich [18,0 % (28 / 156)] und Bad Kreuznach [18,3 % (13 / 71)] besonders stark betroffen.

Die Prävalenzen in Trier Stadt, Alzey-Worms und Neustadt an der Weinstraße beruhen auf positiv getesteten Einzeltieren.



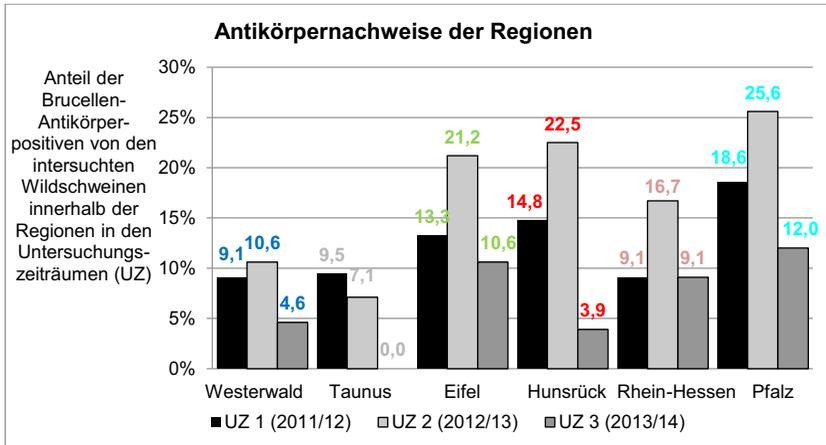
**Diagramm 20:** prozentualer Anteil der nachgewiesenen Brucellen-Antikörper von den in den betroffenen Landkreisen untersuchten Wildschweinen

Im Untersuchungszeitraum 1 waren 14,2 % (96 / 677), im Untersuchungszeitraum 2 20,5 % (137 / 667) und im Untersuchungszeitraum 3 waren 8,4 % (50 / 592) der in diesen Zeiträumen untersuchten Wildschweine Brucellen-Antikörper positiv. Die Antikörperprävalenzen der Untersuchungszeiträume sind in Diagramm 21 dargestellt. Der Anteil der positiven Ergebnisse war im Untersuchungszeitraum 2 am höchsten und im Untersuchungszeitraum 3 am niedrigsten. Der Effekt des Untersuchungszeitraums war signifikant mit  $p < 0,001$ .



**Diagramm 21:** prozentualer Anteil der positiven von den untersuchten Wildschweinen bezüglich Brucellen-Antikörper in den drei Untersuchungszeiträumen (UZ)

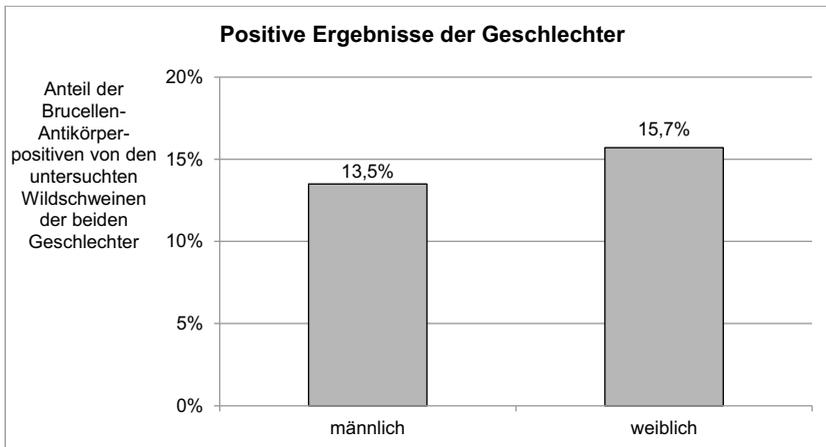
In allen Regionen, außer dem Taunus, wurden im Untersuchungszeitraum 2 die höchsten regionalen Prävalenzen erreicht. Im Untersuchungszeitraum 1 lagen diese immer höher oder gleich hoch wie im Untersuchungszeitraum 3, aber niedriger als im Untersuchungszeitraum 2. Nur in der Region Taunus war der Anteil der Brucellen-Antikörper positiven im Untersuchungszeitraum 1 etwas höher, als im darauffolgenden Untersuchungszeitraum. Es wurden im Untersuchungszeitraum 3 im Taunus keine positiven Befunde erhoben. Die anteilmäßig meisten positiven Ergebnisse wurden im Untersuchungszeitraum 2 in den Regionen Eifel mit 21,2 % (51 / 240), im Hunsrück mit 22,5 % (34 / 151) und der Pfalz mit 25,6 % (40 / 156) ermittelt. Die Antikörperprävalenz im Untersuchungszeitraum 1 und 3 in Rhein-Hessen resultierte aus je einem positiv getesteten Einzeltier (Diagramm 22).



**Diagramm 22:** Brucellen-Antikörpernachweise innerhalb der Regionen in Bezug auf die jeweils in den drei Untersuchungszeiträumen (UZ) in der jeweiligen Region untersuchten Wildschweine (Angaben in Prozent)

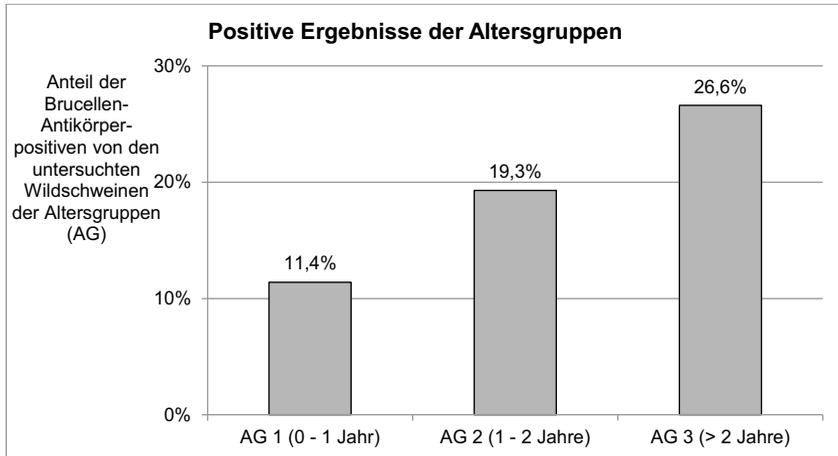
#### 4.4.2. Auswertung der Geschlechts- und Altersverteilung

Es wurden jeweils 968 Proben von Tieren beider Geschlechter untersucht, von denen 283 Proben positiv und 17 Proben verdächtig beurteilt wurden. 13,5 % der männlichen und 15,7 % der weiblichen untersuchten Wildschweine waren Antikörper-positiv bezüglich Brucellen. In Diagramm 23 ist der Anteil der positiven Ergebnisse innerhalb der beiden Geschlechter dargestellt. Der Einfluss des Geschlechts war statistisch nicht signifikant.



**Diagramm 23:** prozentualer Anteil der Brucellen-Antikörpernachweise innerhalb der beiden Geschlechter der untersuchten Wildschweine

In den Altersgruppen 1, 2 und 3 wurden 1.333, 399 und 203 Tiere untersucht. Ein Tier mit negativem Ergebnis konnte wegen fehlender Angabe keiner Altersgruppe zugeordnet werden. Innerhalb der in den Altersgruppen Untersuchten waren 11,4 % (152 Tiere) in Altersgruppe 1; 19,3 % (77 Tiere) in Altersgruppe 3 und 26,6 % (54 Tiere) in Altersgruppe 3 im ELISA positiv. Der Anteil serologisch positiver Ergebnisse stieg kontinuierlich mit dem Alter der untersuchten Wildschweine an (Diagramm 24). Der Effekt des Alters war signifikant mit  $p < 0,001$ ).



**Diagramm 24:** prozentualer Anteil der Brucellen-Antikörpernachweise innerhalb der Altersgruppen (AG) der untersuchten Wildschweine

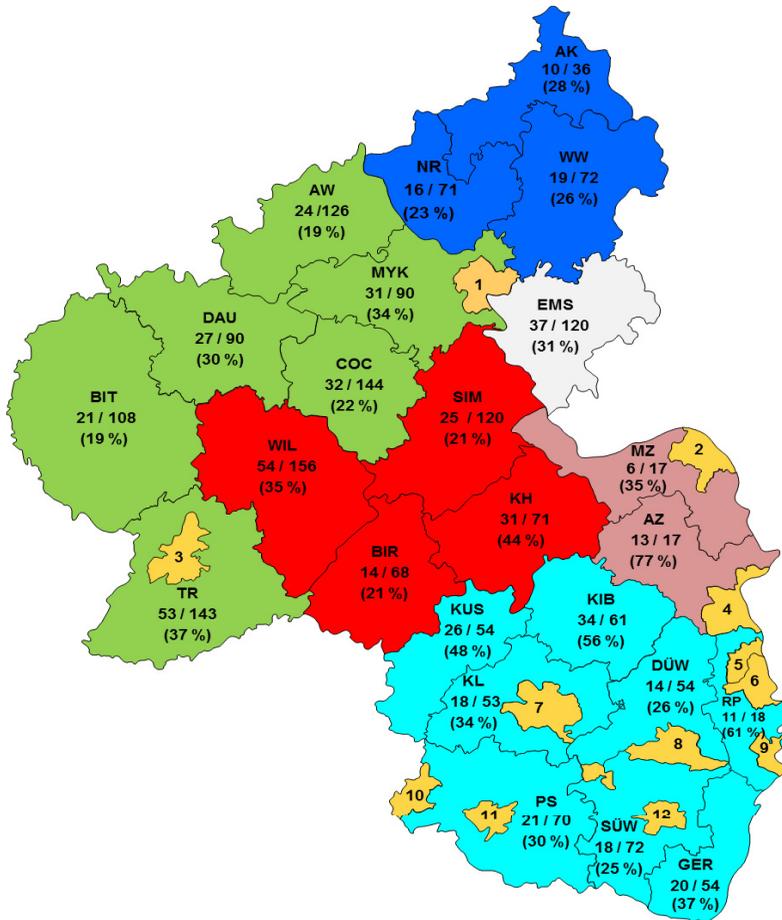
Die Verteilung der positiv getesteten Proben innerhalb der Altersgruppen auf die beiden Geschlechter wies keine signifikanten Unterschiede auf. Mit 44,1 - 55,9 % waren die Geschlechter der verschiedenen Altersgruppen nahezu gleich betroffen.

## **4.5. Antikörper gegen Salmonellen**

Von den insgesamt 1.936 Proben die auf Antikörper gegen Salmonellen untersucht wurden, waren im Antikörper-ELISA 587 (30,3 %) als positiv zu bewerten.

### **4.5.1. Geografische und chronologische Auswertung**

Die Verteilung der Antikörpernachweise sowie die Anzahl der untersuchten Wildschweine in den Kreisen und kreisfreien Städten der verschiedenen Regionen sind in Abbildung 11 dargestellt. In keinem der Landkreise wurden nur negative Ergebnisse erzielt.



#### 12 kreisfreie Städte:

1 Koblenz: 3 / 18 (17 %) ; 2 Mainz: 0 / 0 ; 3 Trier: 1 / 15 (7 %) ; 4 Worms: 0 / 0 ;  
 5 Frankenthal (Pfalz): 0 / 0 ; 6 Ludwigshafen am Rhein: 0 / 0 ; 7 Kaiserslautern: 0 / 0 ;  
 8 Neustadt an der Weinstraße: 8 / 18 (44 %) ; 9 Speyer: 0 / 0 ; 10 Zweibrücken: 0 / 0 ;  
 11 Pirmasens: 0 / 0 ; 12 Landau i.d. Pfalz: 0 / 0

#### Regionen in Rheinland-Pfalz:

Westerwald

Taurus

Eifel

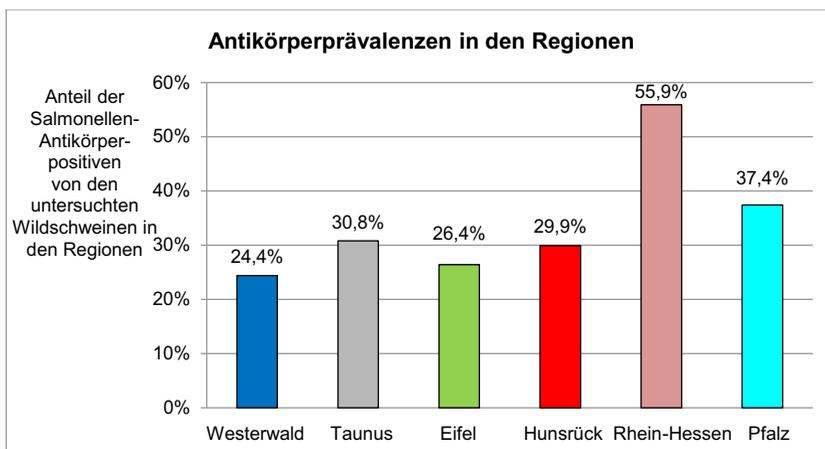
Hunsrück

Rhein-Hessen

Pfalz

**Abbildung 11:** Übersichtskarte über Antikörpernachweise gegen Salmonellen in RLP, positiv/ untersucht (ganzzahlig gerundeter prozentualer Anteil der positiven von den untersuchten Wildschweinen in diesem Landkreis)

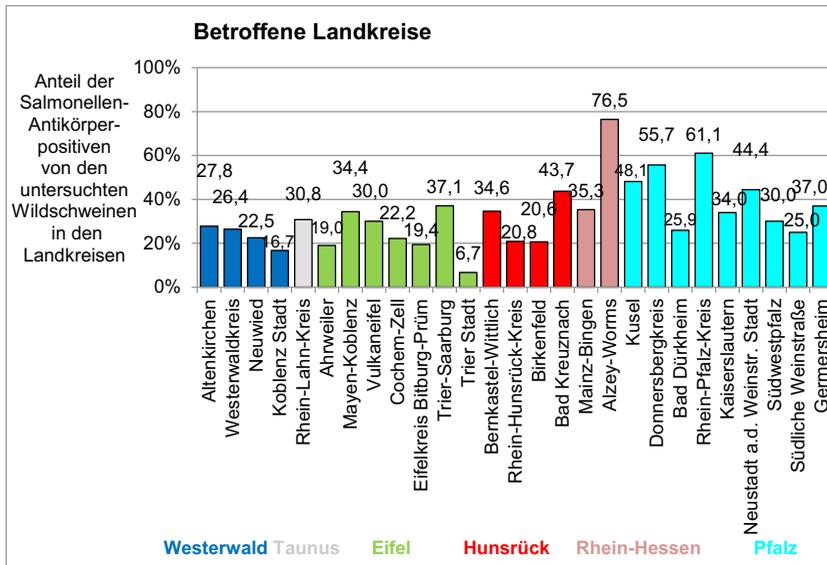
Die Verteilung der positiven Antikörpernachweise aller Untersuchungszeiträume auf die Regionen in Bezug auf die Anzahl der in den Regionen Untersuchten ist in Diagramm 25 dargestellt. In allen sechs Regionen lag die Prävalenz insgesamt über 24 %. Außer in Rhein-Hessen lagen die Prävalenzen zwischen 24,4 % und 37,4 %. In der Region Westerwald wurden 24,4 % (48 / 197), in der Region Taunus 30,8 % (37 / 120), in der Region Eifel 26,4 % (189 / 716), in der Region Hunsrück 29,9 % (124 / 415) und in der Region Pfalz 37,4 % (170 / 454) positiv auf Salmonellen-Antikörper getestet. In der Region Rhein-Hessen lag der Anteil der positiven Ergebnisse mit 55,9 % (19 / 34) am höchsten. Alle Proben dieser Region stammten aus verschiedenen Jagdereignissen. Der Effekt der Region war signifikant mit  $p < 0,001$ ).



**Diagramm 25:** Salmonellen-Antikörpernachweise aller drei Untersuchungszeiträume in Bezug auf die in den Regionen untersuchten Wildschweine

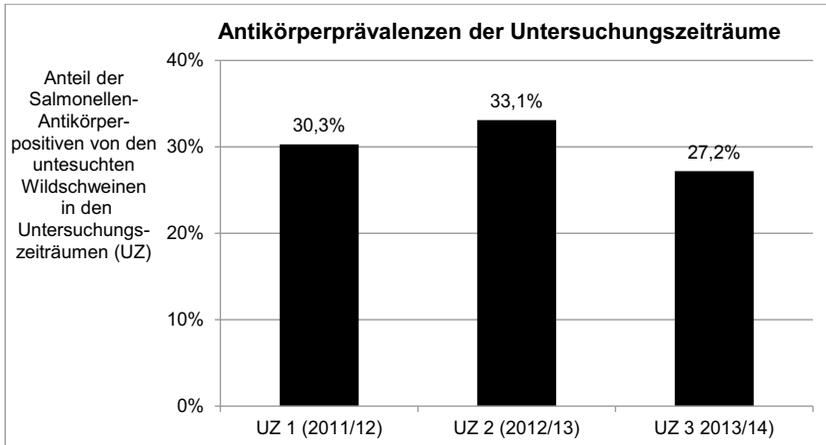
In der Region Westerwald lagen die Prävalenzen der Landkreise zwischen 27,8 % (10 / 36) in Altenkirchen und 16,7 % (3 / 18) in Koblenz Stadt, im Rhein-Lahn-Kreis (Region Taunus) etwas höher bei 30,8 % (37 / 120). In der Region Eifel traten die höchsten Prävalenzen in den Landkreisen Trier-Saarburg mit 37,1 % (53 / 143), Mayen-Koblenz mit 34,4 % (31 / 90) und Vulkaneifel mit 30,0 % (27 / 90) auf. Mit 43,7 % (31 / 71) und 34,6 % (54 / 156) waren in der Region Hunsrück die Landkreise Bad Kreuznach und Berncastel-Wittlich am stärksten betroffen. Der höchste Anteil positiver Tiere in RLP wurde im Landkreis Alzey-Worms (Region Rhein-Hessen) mit

76,5 % (13 / 17) festgestellt. In der Pfalz gab es in den Landkreisen keine Prävalenz unter 25,0 %. Besonders hohe Prävalenzen wurden dort in den Landkreisen Kusel (48,1 %; 26 / 54), Donnersbergkreis (55,7 %; 34 / 61) und Rhein-Pfalz-Kreis (61,1 %; 11 / 18) ermittelt. In Trier Stadt wurde nur ein Einzeltier (1 / 15) positiv getestet (Diagramm 26).



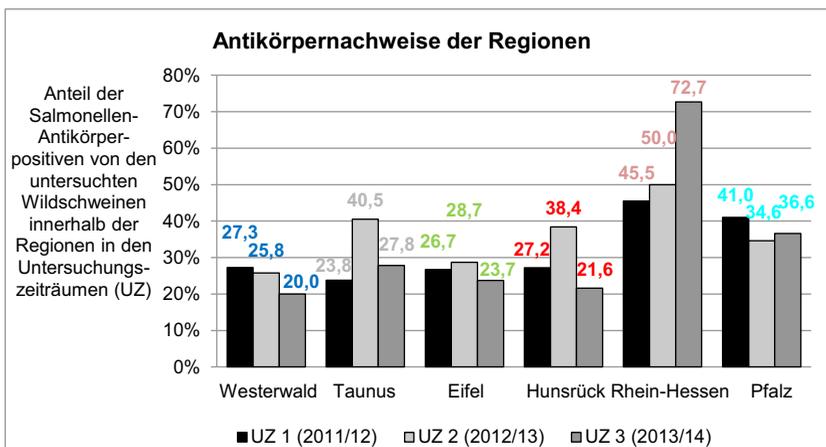
**Diagramm 26:** prozentualer Anteil der nachgewiesenen Salmonellen-Antikörper von den in den betroffenen Landkreisen untersuchten Wildschweinen

Im Untersuchungszeitraum 1 wurden 205 von 677 Proben (30,3 %), im nachfolgenden Untersuchungszeitraum 2 wurden 221 von 667 Proben (33,1 %) und im Untersuchungszeitraum 3 wurden 161 von 592 untersuchten Wildschweinen (27,2 %) als Salmonellen-Antikörper positiv bewertet. Die Antikörperprävalenzen der drei Untersuchungszeiträume sind in Diagramm 27 dargestellt. Der Einfluss des Untersuchungszeitraums war statistisch nicht signifikant.



**Diagramm 27:** Verteilung der im ELISA positiven Proben bezüglich Salmonellen-Antikörper auf die drei Untersuchungszeiträume (UZ)

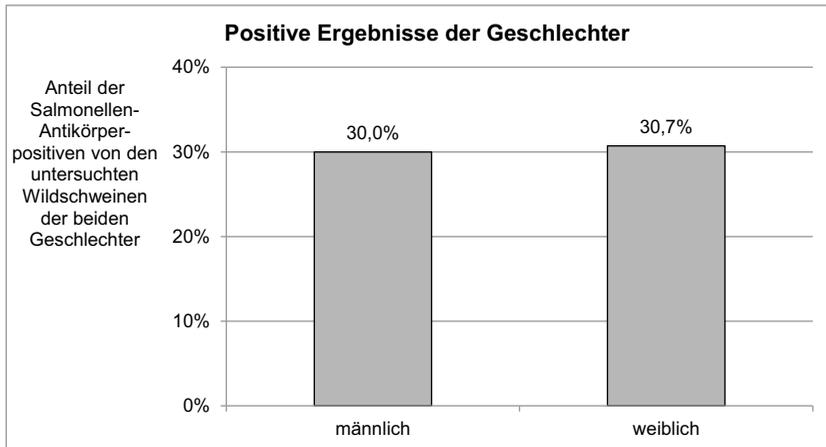
In Rhein-Hessen war die Prävalenz in allen drei Untersuchungszeiträumen die höchste aller Regionen und lag dort im Untersuchungszeitraum 3 mit 72,7 % (8 / 11) am höchsten. Innerhalb der Regionen Taunus, Eifel und Hunsrück wurden im Untersuchungszeitraum 2 mit 40,5 % (17 / 42), 28,7 % (69 / 240) und 38,4 % (58 / 151) die höchsten Prävalenzen ermittelt (Diagramm 28).



**Diagramm 28:** Salmonellen-Antikörpernachweise innerhalb der Regionen in Bezug auf die jeweils in den drei Untersuchungszeiträumen (UZ) in der jeweiligen Region untersuchten Wildschweine (Angaben in Prozent)

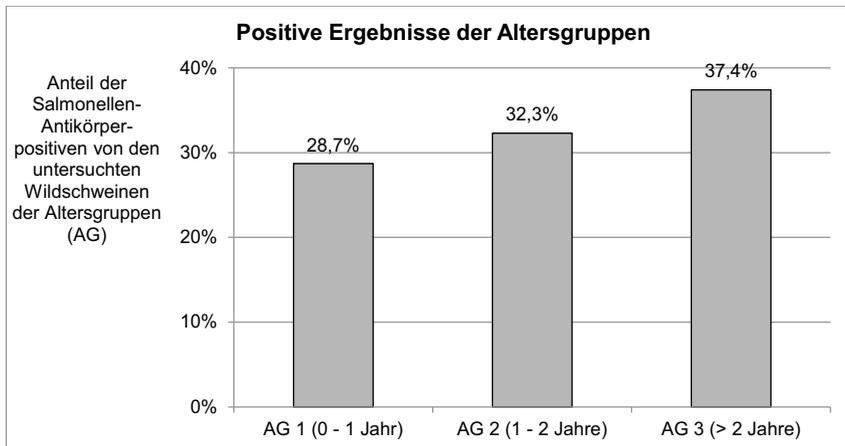
#### 4.5.2. Auswertung der Geschlechts- und Altersverteilung

Von den jeweils 968 untersuchten Wildschweinen beider Geschlechter wurden insgesamt 587 als positiv bezüglich Salmonellen-Antikörper beurteilt. Bei 30,7 % der weiblichen und 30,0 % der männlichen Tiere wurden Antikörper nachgewiesen. In Diagramm 29 ist der Anteil der Antikörpernachweise innerhalb der beiden Geschlechter dargestellt; diese waren etwa gleich stark betroffen.



**Diagramm 29:** prozentualer Anteil der Salmonellen-Antikörpernachweise innerhalb der beiden Geschlechter der untersuchten Wildschweine

In Altersgruppe 1, Altersgruppe 2 und Altersgruppe 3 wurden 1.333, 399 und 203 Tiere untersucht. Ein Tier mit negativem Ergebnis konnte wegen fehlender Angabe keiner Altersgruppe zugeordnet werden. Innerhalb der in den Altersgruppen Untersuchten waren 28,7 % (382 Tiere) in Altersgruppe 1; 32,3 % (129 Tiere) in Altersgruppe 2 und 37,4 % (76 Tiere) in Altersgruppe 3 Salmonellen-Antikörper-positiv (Diagramm 30). Der Einfluss des Alters war geringgradig signifikant mit  $p = 0,05$ .



**Diagramm 30:** prozentualer Anteil der Salmonellen-Antikörpernachweise innerhalb der Altersgruppen (AG) der untersuchten Wildschweine

In Altersgruppe 1 war der Anteil der Salmonellen-Antikörper-positiven beider Geschlechter mit 50,0 % genau gleich groß. In Altersgruppe 2 waren 43,4 % der männlichen und 56,6 % der weiblichen Tiere positiv, während in der Altersgruppe 3 die männlichen Tiere mit 56,6 % unwesentlich stärker betroffen waren als die weiblichen Tiere mit 43,4 %.

## 5. DISKUSSION

Wildschweine werden als Reservoir für SHV-1, HEV, Influenza A-Virus, Brucellen und Salmonellen angesehen und können unter Umständen eine Infektionsquelle für Hausschweine oder den Menschen darstellen (CHANDLER et al., 1999; GODFROID und KASBOHRER, 2002; MENG, 2010; REPERANT et al., 2012; RHYAN, 2013; ROOST et al., 2010; RUIZ-FONS, 2012; TENHAGEN, 2008). Es scheinen aber auch eigene Infektionsketten innerhalb der Wildschweinpopulation existieren zu können (MÜLLER et al., 2010b).

Anhand von Antikörpernachweisen, wie sie auch in dieser Arbeit verwendet wurden, lässt sich keine Aussage über die Erregerprävalenz im Einzeltier und in der Wildschweinpopulation treffen. Wenn Antikörper gegen ein infektiöses Agens nachgewiesen werden, belegt dies lediglich, dass betreffende Tiere Kontakt mit dem Erreger hatten. Es lässt sich nicht sagen, wann der Kontakt stattfand, ob das Tier akut infiziert war und/ oder ob es den Erreger zum Zeitpunkt der Probenentnahme ausschied.

In Rheinland Pfalz ist die Größe der Jagdstrecken seit den 1950er Jahren stark angestiegen. Die Hauptjagdzeit für Schwarzwild liegt in den Wintermonaten (ROEMELT, 2013; ROEMELT et al., 2012). Deshalb konnten die in der vorliegenden Arbeit 1.936 untersuchten Wildschweine aus den drei Jagdjahren 2011/12 – 2013/14 aus einem großen Probenpool von insgesamt 17.685 Proben, die im Rahmen des Monitorings der Klassischen Schweinepest in RLP jeweils in der Zeit vom 01.10. bis 31.01. des Folgejahres eingesandt wurden, ausgewählt werden.

Die in den jeweiligen Kreisen und kreisfreien Städten zu untersuchenden Probenanzahlen wurden anhand des prozentualen Anteils der Kreise und kreisfreien Städte am Mittelwert der Gesamtjagdstrecke der Jagdjahre 2008/2009 – 2011/2012 in Rheinland-Pfalz ermittelt und ganzzahlig gerundet. Trotz des großen Probenpools der zu Auswahl zu Verfügung stand, war es nicht möglich, die drei Altersgruppen 0 - 1 Jahre = Altersgruppe 1, 1 - 2 Jahre = Altersgruppe 2, > 2 Jahre = Altersgruppe 3 innerhalb des geschichteten Stichprobenplans mit erster Präferenz des Alters und zweiter Präferenz des Geschlechts mit der gleichen Probenanzahl zu untersuchen:

Seit Juni 2012 gilt RLP als offiziell frei von Schweinepest bei Haus- und Wildschweinen. Weil in RLP die seit 18.06.2012 geltenden Intensivmonitoringgebiete für Klassische Schweinepest ab dem 25.03.2013 aufgehoben wurden und das Bundesland einheitlich als Monitoringgebiet gilt (LANDESUNTERSUCHUNGSAMT KOBLENZ, 2013), mussten von den Jagdausübungsberechtigten auch in diesen Gebieten nicht mehr alle erlegten und verendet aufgefundenen, sondern nur noch Schwarzwild bis zu einem Gewicht von 30 kg (aufgebrochen) und alle verendet aufgefundenen, krank erlegten oder verunfallten Indikatortiere beprobt werden. Da dadurch nicht ausreichend Proben von Tieren der Altersgruppe 2 (1 – 2 Jahre) und Altersgruppe 3 (> 2 Jahre) zur Verfügung standen, wurden mehr jüngere Tiere aus Altersgruppe 1 (0 – 1 Jahr) untersucht.

Der große Probenpool ermöglichte aber eine flächendeckende Untersuchung von Wildschweinen aus ganz RLP und Aussagen über die geografische Verteilung der Antikörper. Es konnten regionale Antikörperprävalenzen erhoben werden. Weil die Probenzahlen der in den drei aufeinander folgenden Jagdjahren Untersuchten insgesamt und auch in den verschiedenen Jagdjahren in den Kreisen nahezu gleich waren (Tabelle 3, Tabelle 4, Tabelle 5) war es möglich, die Ausbreitung und zeitliche Entwicklung aufzuzeigen.

Maternale Antikörper können nicht von den nach einer Infektion selbst gebildeten unterschieden werden (BELOEIL et al., 2003) und der Zeitpunkt der Serokonversion ist mit nur einer Probe nicht feststellbar. Dies bedeutet, dass es möglich ist, dass in Altersgruppe 1 auch Tiere als positiv beurteilt wurden, die nie selbst mit dem Erreger infiziert waren und die Prävalenz in dieser Altersgruppe tatsächlich niedriger lag, als in dieser Arbeit ermittelt.

Der Anteil untersuchter männlicher und weiblicher Tiere war gleich hoch und ermöglichte eine Aussage, ob eins der Geschlechter häufiger Antikörper gegen den entsprechenden Erreger aufweist.

Durch die Art des Auswahlverfahrens aus einem großen Probenvolumen ist die Möglichkeit der Auswahl mehrerer Proben aus nur einem Jagdereignis und derselben Rotte als eher gering einzustufen, was ein realistisches Bild der Antikörperverteilung in RLP erwarten ließ.

Die Entnahme der Proben erfolgte durch den jeweiligen Jäger und die Entnahmetechnik ist nicht dokumentiert oder beaufsichtigt worden. Verunreinigungen der Proben mit (nicht optisch sichtbarem) Fremdmaterial, die eine Beeinflussung der Testergebnisse nach sich ziehen, konnten nicht ausgeschlossen werden. Bei den Altersangaben handelte es sich um von den jeweiligen Jagdausübenden geschätzte Werte. Dies barg eine gewisse Ungenauigkeit bezüglich der Einteilung der Tier in die Altersgruppe und letztlich auch in der Anzahl der Antikörper-positiven Tiere innerhalb der Altersgruppen.

Andere Faktoren, wie beispielsweise die Zeit zwischen Probenentnahme und Probeneingang und die Temperatur der Proben während des Transports konnten nicht beeinflusst werden. Da es sich aber um Proben handelte die in der Winterzeit entnommen wurden, kann davon ausgegangen werden, dass eine negative Beeinflussung durch hohe Temperaturen wahrscheinlich nicht gegeben war. Insgesamt konnte die Probenqualität jedoch nicht als gut bezeichnet werden. Bei einigen Proben war eine hämolytische Reaktion zu erkennen.

## 5.1. Antikörper gegen das Virus der Aujeszky'schen Krankheit

In der vorliegenden Untersuchung bei Wildschweinen in RLP konnten bei 2,6 % der Untersuchten Antikörper (im ELISA und / oder SNT) gegen SHV-1 nachgewiesen werden, was bestätigt, dass diese empfänglich für die Infektion mit diesem Erreger sind (MÜLLER et al., 2001). Da die akute Infektion bei den überlebenden Tieren stets in eine latente Infektion übergeht (WITTMANN, 1984), kann davon ausgegangen werden, dass diese Tiere auch Virusträger waren und eine potentielle Ansteckungsquelle für Hausschweine in RLP darstellten. Die Hausschweinebestände in Deutschland gelten seit dem Jahr 2003 offiziell als frei von Aujeszky'scher Krankheit (MÜLLER und METTENLEITER, 2003).

Es konnten nicht alle positiven / verdächtigen ELISA -Ergebnisse im nachfolgenden SNT bestätigt werden. Von 1.936 im ELISA untersuchten Wildschweinen wurden 47 positiv und 5 als verdächtig beurteilt. Von den 47 Proben mit positivem ELISA-Ergebnis waren im SNT 40 positiv, drei nicht auswertbar und vier Proben konnten wegen mangelndem Probenmaterial nicht im SNT untersucht werden. Von den fünf Proben mit verdächtigem ELISA-Ergebnis wurden im SNT drei positiv und zwei als nicht auswertbar beurteilt. Die nicht auswertbaren SNT-Ergebnisse bei fünf Proben sind vermutlich auf die schlechte Probenqualität und hämolytische Vorgänge zurückzuführen.

Entgegen der Erwartung war keine der im ELISA positiven / verdächtigen Proben im darauffolgenden SNT als negativ beurteilt worden, obwohl falsch positive Ergebnisse im ELISA zu erwarten waren (MÜLLER et al., 2010a). Wengleich dessen Sensitivität höher eingeschätzt wird, als die des SNT (MARTIN et al., 1983) und die Sensitivität und Spezifität des genutzten ELISA vom Hersteller mit 100 % angegeben wird (IDVET<sup>®</sup>, Stand 20.05.2014). Außerdem wurde bei der Durchführung des SNT kein Meerschweinchen- oder Kaninchenkomplement zugesetzt, wodurch der Test ausschließlich IgG-Antikörper nachwies. Das bedeutet, dass Frühstadien der Infektion kein positives SNT-Ergebnis zur Folge hatten (HAFFER et al., 1980; RODAK et al., 1987), aber im ELISA positiv bewertet wurden, da dieser auch in der Lage ist, IgM-Antikörper nachzuweisen (IDVET<sup>®</sup>, Stand 20.05.2014), die bis Tag 7 p.i. als einzige Antikörperklasse nachweisbar sind, wogegen erst nach 9 – 10 bzw. nach dem 15. Tag IgG-Antikörper im SNT detektierbar werden (MARTIN et al., 1983;

MÜLLER et al., 2001). Vermutlich handelt es sich also bei der Verbreitung des SHV-1 in RLP eher um ein chronisches Geschehen.

Da in dieser Arbeit keine Erregernachweise geführt wurden, ist nicht mit Sicherheit zu sagen, mit welchem Genotyp des SHV-1 die Tiere infiziert waren. Es handelt sich wahrscheinlich um Genotyp 1, da dieser in europäischen Wildschweinen prädominant zu sein scheint und auch bereits mehrfach in Tieren, die aus RLP stammten, nachgewiesen wurde (MÜLLER et al., 2010b; ZIMMER, 2013).

### **5.1.1. Geografische und chronologische Verteilung**

Innerhalb von RLP wurde in der Region Eifel die höchste regionale Prävalenz (5,6 %) ermittelt, die deutlich über der für RLP ermittelten Gesamtprävalenz von 2,6 % lag. Besonders betroffene Landkreise waren die Landkreise Ahrweiler, Vulkaneifel und Mayen-Koblenz mit Antikörperprävalenzen gegen SHV-1 von 10,3 %; 12,2 % und 5,6 %. Das in dieser Arbeit als Region Eifel bezeichnete Gebiet wird weitgehend durch die Flüsse Rhein und Mosel geografisch von den anderen Regionen getrennt und liegt linksrheinisch und links der Mosel im Nordwesten von RLP. Der Landkreis Bernkastel-Wittlich (Region Hunsrück) wird etwa in der Hälfte durch die Mosel geteilt. Alle vier Antikörpernachweise dieses Kreises stammten von Tieren, die links der Mosel in der Verbandsgemeinde Traben-Trarbach (ein Tier) oder in der Verbandsgemeinde Wittlich-Land (drei Tiere) angesiedelt waren und könnten daher epidemiologisch dem Cluster in der Region Eifel angehören.

Eine räumlich inhomogene Verteilung mit Clusterbildung, wie sie in anderen Untersuchungen in der Schwarzwildpopulation beobachtet wurde (BORGWARDT, 2011; DENZIN et al., 2013; MÜLLER et al., 2006), konnte mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit auch für RLP bestätigt werden.

Die Einzelnachweise im Westerwaldkreis (Region Westerwald) und den Landkreisen Bad Kreuznach (Region Hunsrück) sowie Kaiserslautern und Germersheim (Region Pfalz) belegen auch in diesen Landkreisen das Vorhandensein des Virus, welches sich aber anscheinend aus unbekanntem Gründen dort bis jetzt nicht großflächig ausbreiten konnte. Weitere Untersuchungen in der Zukunft mit größerem

Probenumfang könnten mithelfen, die epidemiologische Entwicklung in diesen Landkreisen weiter aufzuklären.

Die Antikörperprävalenz in der Eifel lag in der vorliegenden Arbeit aber mit 5,6 % deutlich niedriger, als die im Jahr 2000 im ELISA (Test der Firma IDEXX®) ermittelte Antikörperprävalenz von 22 % (171 / 777) in dieser Region. In der nachfolgenden Untersuchung im SNT (ohne Komplementzusatz) bestätigten sich 87 von 171 Proben als positiv, sodass im Jahr 2000 von einem Durchseuchungsgrad von ca. 11 % in der Region Eifel ausgegangen wurde (LANDESUNTERSUCHUNGSAMT KOBLENZ, 2000).

Die im Jahr 2010 vom Landesuntersuchungsamt Koblenz ermittelte Antikörperprävalenz im ELISA von 5 % in RLP (LANDESUNTERSUCHUNGSAMT KOBLENZ, 2010) lag höher als die in der vorliegenden Arbeit ermittelte Gesamtprävalenz von 2,6 % aber auch im Jahr 2010 stellte sich die Eifel als die Region dar, in der sich das Schwarzwild am häufigsten mit dem SHV-1-Virus auseinandersetzen musste. Bis auf ein Tier (aus dem Landkreis Bernkastel-Wittlich, Nachbarlandkreis zum Landkreis Vulkaneifel in der Region Eifel) stammten alle der Antikörper-positiven Tiere (5 / 100) im Jahr 2010 aus Landkreisen, die in der vorliegenden Arbeit der Region Eifel zugeordnet wurden, welche in der vorliegenden Arbeit eine Antikörperprävalenz von 5,6 % erreichte. Die Region Eifel wies auch in anderen Arbeiten Prävalenzen von SHV-1-Antikörpern auf, die mit 26 % von 50 Proben aus den Jahren 2003 – 2005 (GETHÖFFER, 2005) wesentlich höher lagen, als die in der vorliegenden Arbeit und auch die im Jahr 2010 ermittelten. Die genannten Untersuchungen belegen, dass das SHV-1 seit über zehn Jahren in RLP in der Wildschweinpopulation verbreitet ist und besonders in der Region Eifel enzootisch auftritt.

Im Gegensatz dazu ermittelte GETHÖFFER, 2005 in der Pfalz keine Antikörper gegen SHV-1, allerdings bei relativ geringer Probenanzahl (n = 27). Dass das Schwarzwild dieser Region nicht mit dem Virus konfrontiert ist, konnte mit den vorliegenden Ergebnissen nicht bestätigt werden. Die in der vorliegenden Arbeit festgestellte regionale Antikörperprävalenz in der Pfalz von 0,7 % von 454 Untersuchten in der Region lag aber deutlich unter der, die aus Schwarzwildproben aus dem Jahr 2005 aus dieser Region mit 6 % (12 / 199) ermittelt wurde (KADEN et al., 2009).

Aus dem westlichen Deutschland liegen ältere Daten vor. In Nordrhein-Westfalen wiesen 9,4 % (LUTZ et al., 2003) und 7 % (LUTZ und WURM, 1996) der untersuchten Wildscheine Antikörper gegen SHV-1 auf. Diese Antikörperprävalenzen liegen im Vergleich zu der aktuellen, hier erhobenen Antikörperprävalenz von 2,6 % eher hoch, könnten sich aber zwischenzeitlich verändert haben. In Niedersachsen wurde ein vergleichsweise niedriger Wert von 0,6 / 1,5 % erreicht, obwohl es sich um benachbarte Bundesländer handelt und die Proben zeitlich früher entnommen wurden (DAHLE et al., 1993).

Im Vergleich zur vorliegenden Arbeit lagen die Antikörperprävalenzen gegen SHV-1 in den östlichen Landesteilen von Deutschland höher. So zum Beispiel in Sachsen-Anhalt zwischen 4,5 % und 9,1 % (BORGWARDT, 2008; 2011; DENZIN et al., 2013; KADEN et al., 2009), in Mecklenburg-Vorpommern und Brandenburg bei 17 % / 18 % (KADEN et al., 2009; MÜLLER et al., 2006). Die Konzentrierung von Seroreagenten in bestimmten Landesteilen (BORGWARDT, 2011) konnte auch in RLP bestätigt werden. Aber im Gegensatz zum Anstieg der Seroprävalenz vom Jahr 2000 bis 2011, der von DENZIN et al., 2013 in Sachsen-Anhalt beobachtet wurde, waren die Prävalenzen in RLP gegenüber dem Jahr 2000 von 11 % auf 2,6 % in der vorliegenden Arbeit gesunken (LANDESUNTERSUCHUNGSAUSSCHUSS KOBLENZ, 2000).

Die Gesamtprävalenz von Antikörpern gegen SHV-1 in RLP lag mit 2,6 % deutlich niedriger als in Bayern. Dort stellten SCHÜRMAN et al., 2013 eine Seroprävalenz von insgesamt 7,1 % fest. Ähnlich wie in der vorliegenden Arbeit waren dort nicht alle Regierungsbezirke gleich betroffen, sondern eine herausragend hohe Anzahl der Reagenten stammte aus Niederbayern, wo die Seroprävalenz bei 21,4 % lag. Gebiete, die nicht an Niederbayern angrenzten, erreichten nur Prävalenzen zwischen 0,7 % und 2,9 %. Dabei muss berücksichtigt werden, dass SCHÜRMAN et al., 2013 alle im Rahmen des KSP-Monitorings eingehende Proben von Januar 2012 bis September 2013 untersuchten und diese nicht nach Zufallsprinzip und unter Berücksichtigung von räumlicher und zeitlicher Verteilung ausgewählt wurden. Damit ist die Gefahr gegeben, dass viele Proben von Tieren aus der gleichen Rotte stammten, die bei dem gleichen Jagdereignis erlegt wurden, in der das SHV-1 eventuell grassierte. In der vorliegenden Arbeit ist diese Wahrscheinlichkeit geringer, da die Proben nach Zufallsprinzip innerhalb eines geschichteten Stichprobenplans ausgewählt wurden. Es ist möglich, dass die ermittelten Seroprävalenzen aus

diesem Grunde niedriger lagen, als die von SCHÜRMAN et al., 2013. Die Untersuchungen von SATTLER et al., 2012 erlauben aufgrund der relativ geringen Probenanzahl (20 Proben aus Bayern) keinen adäquaten Prävalenzvergleich.

Insgesamt kann die Beobachtung von MÜLLER et al., 2011 gestützt werden, dass die Seroprävalenzen je nach geografischer Lage und Probenanzahl, aber auch nach Zusammensetzung des Probenumfangs sehr unterschiedlich sein können.

Die Gesamtprävalenzen von SHV-1-Antikörpern der drei Untersuchungszeiträume der aktuellen Arbeit schwankten deutlich und lagen im Untersuchungszeitraum 1, 2 und 3 bei 4,6 %, 0,9 % und 2,2 %. Dieser zeitliche Verlauf wurde auch bei Betrachtung der Antikörpernachweise der Regionen Eifel und Hunsrück im jeweiligen Untersuchungszeitraum deutlich.

### **5.1.2. Geschlechts- und Altersverteilung**

Bei männlichen Tieren wurde in der vorliegenden Arbeit eine SHV-Antikörperprävalenz von 2,3 %, bei weiblichen von 2,9 % ermittelt. Weibliche Tiere waren somit geringfügig häufiger betroffen als männliche. Einige Studien haben eine höhere Seroprävalenz bei weiblichen Wildschweinen festgestellt (LUTZ et al., 2003; VICENTE et al., 2005). Bei VICENTE et al., 2005 erreichte die Seroprävalenz bei männlichen Tieren ihren Höhepunkt nach der Paarungszeit und sie vermuten deshalb als Ursache das unterschiedliche Alter der Geschlechter bei Eintritt in die Geschlechtsreife sowie eine größere Rolle der venerischen Übertragung für Keiler als für Sauen. Die unterschiedlichen Seroprävalenzen der Geschlechter könnten auch aus der unterschiedlichen Lebensweise der Tiergruppen resultieren, da adulte Bachen das ganze Jahr in der Rotte leben (RUIZ-FONS, 2012) und die Möglichkeit zur Ansteckung eher gegeben ist, als bei den meist solitär lebenden Keilern (GILLESPIE et al., 2000; HEINRITZI, 2006; VICENTE et al., 2005). In einer Untersuchung von PANNWITZ 2012 waren die Antikörperprävalenzen dagegen, wie in der vorliegenden Arbeit nicht geschlechtsabhängig.

Im Jahr 2010 stammten 95 der 100 Untersuchten und alle positiven Proben von Tieren in einem Alter von über einem Jahr (LANDESUNTERSUCHUNGSAMT KOBLENZ, 2010). In mehreren Arbeiten wiesen Tiere mit einem Alter von über

einem Jahr häufiger Antikörper auf als Frischlinge (LUTZ et al., 2003; PANNWITZ et al., 2012; VENGUST et al., 2005). In der vorliegenden Arbeit wurden zu einem Großteil jüngere Tiere untersucht (1.333 Tiere in Altersgruppe 1, 399 Tiere in Altersgruppe 2 und 203 Tiere in Altersgruppe 3). Der Anteil SHV-1-Antikörper positiver Tiere stieg in der vorliegenden Arbeit mit dem Alter der Wildschweine an. Tiere der Altersgruppe 1 wiesen mit 1,4 % die niedrigste Antikörperprävalenz auf. Diese stieg in Altersgruppe 2 auf 3,5 % und erreichte dann in Altersgruppe 3 mit 8,4 % den höchsten prozentualen Anteil. Auch in anderen Untersuchungen wurde diese positive Korrelation festgestellt (LUTZ et al., 2003; PANNWITZ et al., 2012; VENGUST et al., 2005). Dies könnte unter anderem damit begründet werden, dass infizierte Saugferkel meist schnell an einer Infektion versterben (KLUGE et al., 1992), dann nicht mehr als jagdbares Wild in Erscheinung treten und folglich nicht mehr in die Untersuchung eingegangen sind. Bei älteren Ferkeln ist die Letalität geringer (HEINRITZI, 2006). Geht man davon aus, dass dies auch auf das Schwarzwild zutrifft, können persistent infizierte, überlebende Frischlinge, die als Hauptüberträger gelten (LUTZ et al., 2003), das Virus im Laufe ihres Lebens in der Population verbreiten. Ebenfalls steigt mit dem Alter das Risiko einer Erstinfektion und Reinfektion im Laufe des Lebens, was im Anstieg der virus neutralisierenden Antikörper resultieren könnte (MENGELING, 1991). Infizierte Tiere bleiben lebenslang Virusträger (RUIZ-FONS, 2012; WITTMANN, 1984) und potentielle Ansteckungsquelle, wodurch ältere Tiere öfter Antikörper aufweisen.

## 5.2. Antikörper gegen Hepatitis E-Virus

Das Hepatitis E-Virus ist seit mindestens zwanzig Jahren in der deutschen Wildschweinpopulation vorhanden (KACI et al., 2008). Aufgrund der erhobenen Daten konnte bestätigt werden, dass auch Schwarzwild in RLP mit dem Virus konfrontiert war. In 22,9 % der untersuchten Wildschweine konnten im ELISA Antikörper gegen HEV nachgewiesen werden. Da der Genuss des Fleisches infizierter Tiere (WICHMANN et al., 2008) und vermutlich enger Kontakt zu diesen (BOUWKNEGT et al., 2008a; CARPENTIER et al., 2012; DROBENIUC et al., 2001) ein Infektionsrisiko für Menschen darstellen, muss davon ausgegangen werden, dass auch in RLP eine gewisse Gefährdung der Bevölkerung und der Schweinehaltungen vom Schwarzwild ausgeht. In einer der Studie von BÄCHLEIN et al., 2010 wiesen 85,7 % der rheinland-pfälzischen Bestände Tiere mit Antikörpern gegen HEV auf. Insgesamt wurden 55,7 % der 88 Proben aus RLP Antikörper-positiv beurteilt.

Aufgrund der relativ kurzen virämischen Phase von zwei bis drei Wochen (HALBUR et al., 2001) scheint die Bestimmung der Antikörper geeigneter, sich mit geringeren Probenzahlen ein Bild über die Verbreitung des HEV in Wildpopulationen zu machen, als durch die Virusisolation aus Blutproben. IgM- und IgA- Antikörper blieben bei Hausschweinen nur für etwa vier bis sieben Wochen p.i. detektierbar (DE DEUS et al., 2008b), während IgG-Antikörper anscheinend von allen Tieren gebildet wurden und länger erhalten blieben (MENG et al., 1997). Geht man davon aus, dass der Antikörperverlauf bei Wildschweinen genauso verläuft, gewährleistet die Bestimmung der IgG-Antikörper mit dem hier verwendeten ID Screen® Hepatitis E Indirect Multi-Spezies Elisa, dass nicht nur frisch infizierte Tiere identifiziert wurden und erlaubt so einen besseren Überblick über die geografische Verbreitung des HEV in der Schwarzwildpopulation in RLP.

Der in der vorliegenden Arbeit genutzte ID Screen® Hepatitis E Indirect Multi-Spezies-ELISA lässt zuverlässige Ergebnisse erwarten, da er ein rekombinantes Kapsidantigen eines Genotyp 3 HEV nutzt. Dies scheint besonders geeignet zur Antikörperbestimmung, da die C-terminale Region des Kapsidproteins immundominant ist (DREMSEK et al., 2012; MENG et al., 2001; PURDY et al., 1993; TANG et al., 2011) und bei Schwarzwild in Deutschland bisher ausschließlich

Genotyp 3 identifiziert wurde (ADLHOCH et al., 2009; KACI et al., 2008; SCHIELKE et al., 2009).

Mit der hier durchgeführten Untersuchung auf Antikörper gegen HEV lässt sich keine Aussage darüber treffen, mit welchem Genotyp des Virus die Tiere konfrontiert waren. Wahrscheinlich handelte es sich aber auch in RLP um Genotyp 3, da bisher ausschließlich dieser Genotyp bei Wildschweinen in Deutschland identifiziert wurde (ADLHOCH et al., 2009; KACI et al., 2008; SCHIELKE et al., 2009).

### **5.2.1. Geografische und chronologische Verteilung**

Ähnlich wie bei Hausschweinen (BOUWKNEGT et al., 2008b) scheint das HEV bei Schwarzwild effektiv übertragen zu werden, was die in dieser Arbeit ermittelte Gesamtprävalenz in RLP von 22,9 % belegt. In keinem der beprobten Landkreise wurden nur negative Ergebnisse erzielt. Es kann also von einer flächendeckenden Durchseuchung der Schwarzwildpopulation mit dem Erreger ausgegangen werden. Die hohe Stabilität des Virus in der Umwelt (POLLEY und RICHTER, 2015) und die mögliche Übertragung durch Kot und Urin (BOUWKNEGT et al., 2008b; BOUWKNEGT et al., 2009) begünstigen wahrscheinlich die Ausbreitung der Infektion innerhalb von Populationen, die sich einen Lebensraum teilen. Die Antikörperprävalenzen der Regionen lagen außer in der Region Westerwald zwischen 19,8 % und 26,5 %. In der Region Westerwald, welche durch die Flüsse Rhein und Lahn geografisch begrenzt ist, wurde die höchste Antikörperprävalenz von 34,5 % erreicht. Dass diese Region trotzdem mit den anderen Regionen (insbesondere den Landkreisen Rhein-Lahn-Kreis (Region Taunus), Mayen-Koblenz und Ahrweiler (Region Eifel) in epidemiologisch in Verbindung stehen könnte, kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, da Wildschweine im Allgemeinen gute Schwimmer sind (MÖLLERS, 2011).

Landkreise mit Antikörperprävalenzen von über 35 % lagen in den Regionen Westerwald (Landkreis Neuwied 49,3 %), Rhein-Hessen (Landkreis Alzey-Worms 35,3 %) und Pfalz (Neustadt an der Weinstraße 44,4 %; Landkreis Südliche Weinstraße 43,1 %). Warum Schwarzwild in diesen Gegenden besonders häufig betroffen war lässt sich nicht abschließen klären, belegt aber, dass trotz der

Verbreitung des Hepatitis E-Virus in ganz RLP, das Seuchengeschehen nicht in allen Landkreisen gleich ausgeprägt ist.

Obwohl bei experimentellen Infektionen von Schweinen die Virusausscheidung durchschnittlich nur 23 Tage dauerte (BOUWKNEGT et al., 2009), beziehungsweise bis zu sieben Wochen bei natürlicher Infektion andauerte (FERNANDEZ-BARREDO et al., 2006) und wenn man davon ausgeht, dass sich dies bei Schwarzwild ähnlich verhält, scheint diese Zeit ausreichend zur großflächigen Verbreitung des Virus zu sein.

Bezüglich der Verbreitung von HEV und Antikörpern gegen dieses Virus bei Wildschweinen in Deutschland liegen bislang nur wenige Daten vor. ADLHOCH et al., 2009 untersuchten rheinland-pfälzische Wildschweinproben aus den Landkreisen Kaiserslautern und Südwestpfalz (Region Pfalz) unter anderem auf Antikörper gegen HEV. Je nach verwendetem IgG-ELISA wurde für RLP eine Antikörperprävalenz von 17,5 % und 30 % festgestellt. Warum die Ergebnisse der beiden ELISA so unterschiedlich waren, konnte nicht abschließend geklärt werden (ADLHOCH et al., 2009). In der vorliegenden Arbeit wurde für die Region Pfalz eine durchschnittliche Antikörperprävalenz der Landkreise von 23,8 % ermittelt. Diese liegt also genau zwischen den von ADLHOCH et al., 2009 bezifferten Seroprävalenzen der beiden verwendeten ELISA und stellt wahrscheinlich einen realistischen Wert dar.

Im südlich benachbarten Baden-Württemberg wurden, je nach verwendetem ELISA, Antikörperprävalenzen von 22,9 % / 0 % (n = 27), in Brandenburg 17,6 % / 23,5 % (n = 19) und in Sachsen-Anhalt 43,5 % / 91,3 % (n = 33) bei relativ geringer Probenanzahl aus dem Jahr 2007 ermittelt (ADLHOCH et al., 2009).

Drei Jahre später wurde ein größerer Probenumfang (n = 330) von Wildschweinproben aus Sachsen-Anhalt auf Antikörper gegen HEV vom Genotyp 3 untersucht. Die Gesamtprävalenz lag bei 33 %, wobei eine Clusterbildung im Südwesten und den östlichen Landesteilen feststellbar war, aber in nahezu allen Regionen seropositive Tiere identifiziert wurden (DENZIN und BORGWARDT, 2013). Die in der vorliegenden Arbeit ermittelte Gesamtprävalenz in RLP lag mit 22,9 % niedriger. Eine inhomogene Verteilung in RLP kann insofern bestätigt werden, dass die Region Westerwald mit 34,5 % gegenüber den anderen Regionen (Prävalenzen zwischen 19,8 % und 26,5 %) etwas höhere Antikörperprävalenzen aufwies.

Die Seroprävalenzen in Baden-Württemberg wurde in einer neueren Studie mit durchschnittlich 8,3 % beziffert (POLLEY und RICHTER, 2015). Die in der vorliegenden Arbeit ermittelte Gesamtprävalenz in RLP lag mit 22,9 % deutlich höher.

Insgesamt war in RLP ein kontinuierlicher Anstieg der HEV-Antikörperprävalenzen feststellbar. Im Untersuchungszeitraum 1, 2 und 3 wurden diese mit 19,1 %, 23,4 % und 26,9 % ermittelt. Demnach fanden innerhalb der Population in jedem Untersuchungszeitraum Neuinfektionen statt. Dies deutet auch darauf hin, dass sich der Erreger dauerhaft in der Wildschweinpopulation von RLP etabliert hat.

In allen Regionen außer in der Region Westerwald war die hier ermittelte Seroprävalenz zwischen Untersuchungszeitraum 1 und Untersuchungszeitraum 3 angestiegen (Diagramm 10). Warum sich die Region Westerwald diesbezüglich von den anderen Regionen unterschied, kann nicht abschließend geklärt werden. Weitere Untersuchungen in den nachfolgenden Jahren mit idealerweise höheren Probenzahlen dieser Region wären nötig, um festzustellen, ob sich die Infektion dort weiter ausbreitet oder die Antikörperprävalenzen dort tatsächlich dauerhaft sinken.

### **5.2.2. Geschlechts- und Altersverteilung**

Männliche und weibliche Tiere, die in der vorliegenden Arbeit untersucht wurden, waren mit 22,6 % und 23,2 % nahezu gleichermaßen Träger von HEV-Antikörpern. Auch KACI et al., 2008 konnten keinen Zusammenhang zwischen Geschlechtszugehörigkeit und positiven Virusnachweisen herstellen. Offensichtlich ist die Virusübertragung effektiv genug, sodass die Expositionszeit der männlichen Frischlinge von Geburt bis zur Bildung der Überläuferrotten (BRIEDERMANN, 2009) ausreicht um den Eintrag und die Verbreitung des Virus bei beiden epidemiologischen Gruppen zu gewährleisten. Dass beide Geschlechter gleichermaßen Antikörperträger waren, unterstützt die These der fäko-oralen Übertragung (BOUWKNEGT et al., 2011).

In der vorliegenden Arbeit stiegen die Seroprävalenzen innerhalb der Altersgruppen kontinuierlich an und lagen in Altersgruppe 1, 2, und 3 bei 20,1 %, 26,8 % und 34,0 % (Signifikanz  $p < 0,001$ ). Bereits junge Tiere in Altersgruppe 1 wiesen zu einem

Prozentsatz von 20,1 % Antikörper auf. Dies könnte darin begründet sein, dass sich viele dieser Tiere bereits bei der Mutter mit dem Virus infiziert haben, wie FERNANDEZ-BARREDO et al., 2006 dies bereits bei natürlich infizierten Hausschweinen vermuteten. Bei ADLHOCH et al., 2009 gehörten die Tiere im Alter von 0 – 1 Jahr der Altersgruppe an, die mit am häufigsten Antikörper und gleichzeitig Antigen aufwiesen. Diese Tiere könnten auch in RLP das Virus weiter in die Population eintragen. Wie lange die IgG-Antikörper bei Schwarzwild persistieren ist, derzeit nicht bekannt. Wahrscheinlich bleiben sie lange erhalten, sodass bei Tieren mit steigendem Alter auch die Antikörperprävalenz steigt.

### 5.3. Antikörper gegen Influenza A-Virus

Die in der vorliegenden Arbeit festgestellte durchschnittliche Seroprävalenz von Antikörpern gegen Influenza A-Virus von 5,1 % im ELISA in RLP belegt, dass sich die Schwarzwildpopulation in RLP mit dem Erreger auseinandergesetzt hat. Eine Übertragung auf den Menschen (BEER, 2011) oder eine Einschleppung in die Hausschweinebestände durch Wildschweine kann somit nicht ausgeschlossen werden. Haltungen von Hausschweinen in Deutschland wiesen beispielsweise in der Untersuchung von VAN REETH et al., 2008 Seroprävalenzraten von über 50 % für die Subtypen H1N1, H1N2 und H3N2 auf. In Belgien, Deutschland und Spanien waren nur 1 – 4 % der untersuchten Bestände ohne Antikörper.

Der in dieser Arbeit verwendete Influenza A Virus Antibody Test Kit der Firma IDEXX® weist alle Antikörperklassen gegen das Influenza A-Virus in Seren nach, ist aber nicht in der Lage zu bestimmen, gegen welchen Subtyp des Influenza A-Virus die identifizierten Antikörper gerichtet sind (IDEXX® LABORATORIES, 2010).

Es konnte bei 46 von 99 Proben, welche im ELISA ein positives Ergebnis hatten, im HAHT bestimmt werden, gegen welchen Subtyp des Influenza A-Virus die Antikörper gerichtet waren. Proben mit positivem ELISA-Ergebnis bezüglich Influenza A-Virus-Antikörper und nachfolgend negativem HAHT-Ergebnis könnten Antikörper gegen einen Subtyp des Virus enthalten haben, dessen Antigen nicht im HAHT verwendet wurde (TSE et al., 2012).

Die Bewertung des HAHT ist in der Literatur unterschiedlich. So bewerteten zum Beispiel BROWN et al., 1995 Titer von 1:10 als positiv, CHAMBERS et al., 1991 nahmen zur Ermittlung der Seroprävalenz Titer von mindestens 1:40 als Grundlage (BROWN et al., 1995; CHAMBERS et al., 1991). In der vorliegenden Arbeit wurden Titer ab 1:10 als verdächtig und ab 1:40 als positiv beurteilt. Da die im HAHT untersuchten Wildschweine bereits im ELISA positiv bezüglich Antikörper gegen Influenza A-Virus beurteilt wurden, kann davon ausgegangen werden, dass Proben mit verdächtigem Ergebnis im HAHT wahrscheinlich Antikörper gegen den betreffenden Subtyp enthielten. Aus diesem Grunde wurden die betreffenden Ergebnisse in der geografischen und chronologischen Auswertung des HAHT mit berücksichtigt (Abbildung 7, Abbildung 8, Abbildung 9).

Die 99 ELISA-positiven Proben wurden im HAHT auf subtypspezifische Antikörper gegen H1N1, H1N2 und H3N2 untersucht, da diese bekanntermaßen bei Schwarzwild und Hausschweinen vorkommen (REPERANT et al., 2012; REPERANT et al., 2009). Es ist möglich, dass auch noch andere Subtypen des Influenza A-Virus in RLP bei Wildschweinen vorkommen, die Proben mit positivem ELISA-Ergebnis (Influenza A-Virus-Antikörper) in dieser Arbeit aber nicht auf den entsprechenden Subtyp im HAHT untersucht wurden.

### 5.3.1. Geografische und chronologische Verteilung

Bei einer Gesamtprävalenz in RLP im ELISA von 5,1 % für alle drei Untersuchungszeiträume, wie sie in der vorliegenden Arbeit ermittelt wurde, lagen die regionalen Prävalenzen von Norden nach Süden bei 5,6 %, 7,5 %, 5,6 %, 4,3 %, 2,9 % und 4,4 % für die Regionen Westerwald, Taunus, Eifel, Hunsrück, Rhein-Hessen und Pfalz. Auch wenn diese Differenzen nicht statistisch signifikant waren ( $p = 0,68$ ), lagen die Antikörperprävalenzen im Süden des Landes tendenziell etwas niedriger, als in den nördlicheren Regionen. In der Region Taunus (Rhein-Lahn-Kreis) wurde mit 7,5 % die höchste Antikörperprävalenz im Antikörper-ELISA ermittelt. Möglicherweise begünstigt die geografische Isolierung durch die Flüsse Rhein und Lahn in dieser kleinen Region in RLP die endemische Übertragung von Tier zu Tier. In der Region Rhein-Hessen war die ermittelte Antikörperprävalenz von 2,9 % die niedrigste aller Regionen. Ein großes Gebiet dieser Region wird durch die Autobahn A61 geografisch von den benachbarten Regionen abgegrenzt. Dies könnte dazu beitragen, dass weniger Virusträger aus den Nachbarregionen einwandern können.

Entsprechend der im ELISA nachgewiesenen Antikörper gegen Influenza A-Virus war Schwarzwild in den Landkreisen Neuwied (Region Westerwald), Mayen-Koblenz (Region Eifel), Bad Kreuznach (Region Hunsrück), Alzey-Worms (Region Rhein-Hessen) und Rhein-Pfalz-Kreis (Region Pfalz) mit 8,5 %, 12,2 %, 12,7 %, 5,9 % und 11,1 % innerhalb der Regionen am meisten betroffen. Dies zeigt eine räumlich inhomogene Verteilung der Antikörperträger beim Vergleich der Landkreise der gleichen Region.

In 32 von 99 Proben mit positivem Antikörpernachweis gegen Influenza A-Virus im ELISA konnten mittels HAHT mit positivem oder verdächtigem Ergebnis Antikörper gegen den Subtyp H1N1 nachgewiesen werden. Obwohl in allen Regionen in RLP dieser Subtyp nachweisbar war, ließen sich zwei Cluster identifizieren. (Cluster 1: Landkreise Ahrweiler, Mayen-Koblenz und Rhein-Lahn-Kreis, Cluster 2: Landkreise Bad Kreuznach, Birkenfeld, Donnersbergkreis und Kaiserslautern). Die räumliche Nähe der positiven / verdächtigen HAHT-Ergebnisse innerhalb der Kreise spricht für eine mögliche direkte Übertragung von Tier zu Tier (VAN REETH et al., 2012). Die geografisch voneinander isolierten Antikörpernachweise gegen den Subtyp H1N1 in den Landkreisen Bitburg, Trier-Saargeburg und Germersheim könnten aber darauf hinweisen, dass bei der Übertragung auch andere Eintragsquellen eine Rolle spielen.

Die positiven / verdächtigen Nachweisen von Antikörpern gegen den Subtyp H3N2 (Cluster1: Landkreise Neuwied und Mayen-Koblenz, Cluster 2: Landkreis Bitburg-Prüm und angrenzende Bereiche der Landkreise Vulkaneifel und Bernkastel-Wittlich, Cluster 3: Rhein-Hunsrückkreis und Landkreis Bad Kreuznach) sprechen für eine mögliche Übertragung von Tier zu Tier (VAN REETH et al., 2012), die Einzelnachweise im Rhein-Lahn-Kreis und im Landkreis Bad Dürkheim legen aber auch hier die Vermutung nahe, dass es Eintragsquellen außerhalb der Wildschweinpopulation gibt.

Dass die Cluster von Antikörper gegen die Subtypen H1N1 und H3N2 sich geografisch teilweise überlappen und der Nachweis von Antikörpern gegen beide Subtypen bei einem Tier im Landkreis Bad Kreuznach zeigt das mögliche gleichzeitige Vorkommen verschiedener Subtypen in den gleichen Gebieten.

Wie in der Untersuchung von KADEN et al., 2009 konnten in der vorliegenden Arbeit im HAHT keine Antikörper gegen den Subtyp H1N2 in RLP identifiziert werden, was darauf hinweist, dass dieser Subtyp in diesem Bundesland bei Schwarzwild möglicherweise nicht regelmäßig vorkommt.

Die in der vorliegenden Arbeit ermittelte gesamte Antikörperprävalenz von 1,7 % gegen den Subtyp H1N1 ist der von SATTLER et al., 2012 in der südlichen Hälfte Deutschlands ermittelten von 2,1 % sehr ähnlich. Allerdings gingen in die Untersuchungen dieser Autoren nur 11 Proben von Schwarzwild aus RLP ein, von denen eine Probe (9,1 %) positiv beurteilt wurde. In Baden-Württemberg ermittelten

Sattler et al., 2012 in einer von 63 Wildschweinproben (1,6 %) Antikörper gegen den Subtyp H1N1. Damit war die dort ermittelte Antikörperprävalenz der in der vorliegenden Arbeit ermittelten gegen diesen Subtyp ebenfalls sehr ähnlich. Die in der vorliegenden Arbeit ermittelte Gesamtprävalenz von 1,7 % (H1N1-Antikörper) in einem höheren Untersuchungsvolumen von 1.936 Proben aus ganz RLP erlaubt eine realistischere Einschätzung der tatsächlichen Seroprävalenz dieses Subtyps in RLP.

In Wildschweinproben aus RLP aus dem Jahr 2005 (n = 200) wurden Antikörperprävalenzen von 7,5 % und 0,8 % für H1N1 und H3N2 ermittelt (KADEN et al., 2009; KADEN et al., 2008). Im Vergleich zur vorliegenden Arbeit mit Antikörperprävalenzen von 1,7 % und 0,8 % gegen H1N1 und H3N2 scheint das Vorkommen von Antikörperträgern gegen den Subtyp H1N1 in der Zwischenzeit gesunken zu sein.

In der vorliegenden Arbeit wurden insgesamt 47 (2,4 %) positive / verdächtige Antikörpernachweise in 1.936 Proben gegen die Subtypen H1N1 und H3N2 erbracht. Es wurden nur Proben mit vorangehend positivem ELISA-Ergebnis nachfolgend im HAHT untersucht.

In Proben aus verschiedenen Jagdjahren zwischen 1997 und 2005 (Antikörperbestimmung gegen die Subtypen H1N1, H1N2 und H3N2) lagen die Prävalenzen in Brandenburg etwa gleich hoch (2,5 %) und in den Bundesländern Sachsen-Anhalt (8,3 %) und Baden-Württemberg (25,9 %) höher (KADEN et al., 2009; KADEN et al., 2008).

Die Prävalenzen der Untersuchungszeiträume 1, 2, und 3 in RLP lagen in der vorliegenden Arbeit bei 6,4 %, 3,1 % und 5,9 % im Antikörper-ELISA. Wodurch diese Unterschiede zustande kamen kann nicht abschließend geklärt werden, könnte aber durch unterschiedlich starken Eintrag des Virus in die Population durch andere wild lebenden Tierarten, wie zum Beispiel Wassergeflügel, begründet sein.

### 5.3.2. Geschlechts- und Altersverteilung

Antikörper gegen Influenza A-Virus wurden im ELISA bei 4,6 % der männlichen und 5,6 % der weiblichen Tiere festgestellt. Die Übertragung des Virus scheint nicht wesentlich durch die geschlechtsspezifischen Verhaltensweisen beeinflusst zu werden.

In der vorliegenden Arbeit wurde kein signifikanter Unterschied zwischen den Seroprävalenzen der drei Altersgruppen festgestellt. Diese lagen im ELISA in Altersgruppe 1, 2, und 3 bei 4,5 %, 7,3 % und 4,9 %. KADEN et al., 2009 stellten im Gegensatz dazu in ihrer Untersuchung fest, dass Tiere im Alter von über einem Jahr häufiger Antikörper gegen SIV aufwiesen. Die vermutlich langlebige Immunität (WRIGHT et al., 2007) hätte dies auch für die vorliegende Arbeit erwarten lassen. DESROSIERS et al., 2004 räumen ein, dass möglicherweise Reinfektionen mit dem selben Pathogen zu der fälschlichen Annahme führen, dass die Antikörper lange persistieren. Es wäre möglich, dass bei einer geringen Antikörperprävalenz von insgesamt 5,1 % in RLP, wie sie in der vorliegenden Arbeit festgestellt wurde, Reinfektionen mit dem gleichen Pathogen nicht sehr häufig vorkommen.

## 5.4. Antikörper gegen Brucellen

In 14,6 % der 1.936 Wildschweinproben aus RLP konnten mit dem verwendeten ELISA Antikörper gegen Brucellen nachgewiesen werden. Dies belegt, dass auch in diesem Bundesland das Schwarzwild als potenzielle Infektionsquelle für Schweinebrucellose (PANNWITZ, 1984) in Frage kommt. Die Übertragung von Brucellen vom Wildschwein auf den Menschen (AL DAHOUK et al., 2005; GODFROID et al., 2005) ist damit auch in RLP prinzipiell möglich, auch wenn das Risiko -außer bei direktem Kontakt zu Wildbret- wahrscheinlich eher gering ist (BORGWARDT, 2008) und das bei Wildschweinen in Deutschland vorkommende Biovar 2 von *B. suis* (GERST et al., 2010) für den Menschen keine hohe Virulenz besitzt (BAUERFEIND, 2011). Die letzten Fälle von Schweinebrucellose wurden in den Jahren 2014 und 2015 in Baden-Württemberg, Nordrhein-Westfalen, Bayern (Mastschweine) sowie in Mecklenburg-Vorpommern (Ferkel) sowie 2011 in Schleswig-Holstein (Zuchteber) und im Jahr 2009 in Brandenburg belegt (FRIEDRICH-LOEFFLER-INSTITUT, 2014c).

Der hier verwendete ELISA nutzt als Antigen ein *B. abortus* LPS. Dies ähnelt dem von *Yersinia enterocolitica* und *Escherichia coli*, wodurch Kreuzreaktionen möglich sind (BUNDLE et al., 1989; JUNGENSEN et al., 2006; VON DEDEK et al., 1986), worauf der Hersteller ebenfalls hinweist (IDVET<sup>®</sup>, Stand 16.04.2010). Deshalb kann mit der in der vorliegenden Arbeit verwendeten Methode nicht ausgeschlossen werden, dass die Seroprävalenz von Brucellen-Antikörpern tatsächlich niedriger liegt als ermittelt, auch, da kein Bestätigungstest, wie etwa KBR, RBT oder SLA durchgeführt wurde. Andererseits wurden auch schon bei Wildschweinen mit serologisch negativem Ergebnis Brucellen angezüchtet (GERST et al., 2010; ROOST et al., 2010). Indirekte Antikörper-ELISA, wie auch der in der vorliegenden Arbeit verwendete, eignen sich jedoch gut als Screening-Test (POESTER et al., 2010).

Mit dem in dieser Arbeit verwendeten ELISA lässt sich nicht bestimmen, gegen welche Spezies von Brucellen die nachgewiesenen Antikörper gerichtet waren. Infektionen mit *B. melitensis*, *B. abortus* und *B. suis* können mittels serologischer Untersuchungen nicht unterschieden werden (RHYAN, 2013). Da *B. suis* Biotyp 2 in Mitteleuropa als Erreger der Schweinebrucellose vorkommt (VON DEDEK, 1983) und das Schwarzwild dort als Reservoir für *B. suis* Biovar 2 angesehen wird

(GODFROID und KASBOHRER, 2002), könnte es sich um Antikörper gegen diese Brucellen-Spezies handeln. Auch in Mecklenburg-Vorpommern wurde durch bakteriologische und molekularbiologische Untersuchungen ausschließlich *B. suis* Biotyp 2 identifiziert (GERST et al., 2010). Das Vorkommen anderer Brucellen-Spezies, wie *B. abortus* und *B. melitensis* kann jedoch nicht ausgeschlossen werden.

#### 5.4.1. Geografische und chronologische Verteilung

Bei einer durchschnittlichen Antikörperprävalenz von 14,6 % gegen Brucellen in RLP wurden in der vorliegenden Arbeit in allen Landkreisen, außer im Landkreis Germersheim, Antikörperträger identifiziert. Es wurden für die Regionen Westerwald, Taunus, Eifel, Hunsrück, Rhein-Hessen und Pfalz Seroprävalenzen von 8,1 %; 5,8 %; 15,1 %; 14,9 %; 11,8 %; 18,9 % ermittelt. Geografisch lässt sich ein tendenzieller Anstieg der Seroprävalenzen von Norden nach Süden feststellen. Die höchste Seroprävalenz wurde in der Region Pfalz festgestellt. Eine inhomogene Verteilung der hier nachgewiesenen Antikörper innerhalb der Regionen war jedoch feststellbar. So wurden in der Region Eifel in den Landkreisen Ahrweiler und Vulkaneifel Antikörperprävalenzen von 23,0 % und 26,6 % ermittelt, während die anderen Kreise dieser Region Antikörperprävalenzen zwischen 8,3 % (Landkreis Cochem-Zell) und 14,0 % (Landkreis Trier-Saarburg) aufwiesen. Auch in der Region Pfalz lag unter Anderem der Landkreis Kaiserslautern mit einer Antikörperprävalenz von 34,0 % deutlich über der für die Region ermittelten durchschnittlichen Antikörperprävalenz von 18,9 %. Zudem konnten keine Antikörper gegen Brucellen in Proben aus dem Landkreis Germersheim nachgewiesen werden, obwohl in den benachbarten Landkreisen Südliche Weinstraße und Rhein-Pfalz-Kreis 18,1 % und 22,2 % der untersuchten Wildschweine Antikörper aufwiesen.

Im Vergleich zum Jahr 2010, in dem eine Antikörperprävalenz von 11 % in RLP ermittelt wurde (LANDESUNTERSUCHUNGSAMT KOBLENZ, 2010) ist die in der vorliegenden Arbeit ermittelte Gesamtprävalenz mit 14,6 % sehr ähnlich, wenn auch etwas höher.

Gethöffer, 2005 untersuchte unter anderem 50 Proben von Schwarzwild aus der Westeifel (2 % mit positivem Antikörpernachweis) und 27 Proben aus dem Pfälzerwald (0 % mit positivem Antikörpernachweis). Ein Vergleich mit den in der hier vorliegenden Arbeit ermittelten Prävalenzen ist allerdings schwierig, da zum einen nur weibliche Tiere untersucht wurden und in der Westeifel 22 von 50 Proben von Frischlingen stammten, deren Altersgruppe eher geringer betroffen zu sein scheint (AL DAHOUK et al., 2005; ROOST et al., 2010). Zum anderen war die Anzahl der Untersuchten der beiden Regionen im Vergleich zu der der vorliegenden Arbeit dieser Regionen relativ gering.

MELZER et al., 2006 konnten mittels ELISA in keiner der 140 Proben aus Baden-Württemberg Antikörper gegen Brucellen nachweisen.

In Proben aus Mecklenburg-Vorpommern wurden im Antikörper-ELISA Seroprävalenzen von 22 % (AL DAHOUK et al., 2005), 25,9 % (MELZER et al., 2006) und 13,7 % (ROOST et al., 2010) ermittelt. Die in der vorliegenden Arbeit bestimmte durchschnittliche Seroprävalenz von 14,6 % gleicht der von ROOST et al., 2010, die auch die höchste Probenanzahl aufwies (6.108 untersuchte Proben).

In Sachsen und Sachsen-Anhalt wurden im Antikörper-ELISA Seroprävalenzen von Brucellen-Antikörpern zwischen 20,6 % und 28,8 % festgestellt (BORGWARDT, 2008; MELZER et al., 2006), diese scheinen damit höher zu liegen als in RLP.

In Thüringen war die von MELZER et al., 2006 festgestellte Seroprävalenz mit 12,9 % der in der vorliegenden Arbeit ermittelten von 14,6 % in RLP ähnlich.

Auch bei dem Vergleich mit anderen Arbeiten aus anderen Regionen Deutschlands ist zu berücksichtigen, dass insbesondere positive Ergebnisse die im ELISA ermittelt wurden, durch Kreuzreaktionen von Antikörpern die gegen andere Pathogene gerichtet sind, zustande gekommen sein können.

Im Untersuchungszeitraum 1, 2 und 3 waren 14,2 %, 20,5 % und 8,4 % der untersuchten Wildschweine Brucellen-Antikörper positiv. Wodurch dieser Verlauf zustande kam kann hier nicht abschließend geklärt werden. Da die Erkrankung bei natürlichen Wirten selten letal verläuft (CORBEL und BANAI, 2005), wäre mit einem weiteren Anstieg der Antikörperprävalenz von Untersuchungszeitraum 2 auf

Untersuchungszeitraum 3 durch Neuinfektionen zu rechnen gewesen. Es bleibt jedoch zu berücksichtigen, dass nicht alle Schweine im Infektionsversuch (B. suis Biovar 2) eine serologisch nachweisbare Immunantwort entwickelten und gleichzeitig keine Brucellen beherbergen (JUNGERSEN et al., 2006). Es könnte auch bei Wildschweinen der Fall sein, dass sich nicht alle mit dem Erreger konfrontierten Tiere tatsächlich infizieren und sich der Anteil resistenter Tiere erhöht hat.

Berücksichtigt man die Seroprävalenz (ELISA) im Jahr 2010, also etwa ein Jahr vor dem Beginn der vorliegenden Untersuchung, von 11 % in RLP (LANDESUNTERSUCHUNGSAMT KOBLENZ, 2010), so war die Antikörperprävalenz vom Jahr 2010 bis zum Jagdjahr 2012 / 13 (Untersuchungszeitraum 2) kontinuierlich gestiegen, um dann auf 8,4 % zu fallen. Allerdings war der Probenumfang von 100 Tieren im Jahr 2010 gering. Auch wenn in der vorliegenden Arbeit deutlich mehr Tiere untersucht wurden, kann nicht ausgeschlossen werden, dass die Schwankungen der Untersuchungszeiträume lediglich mit einem immer noch zu niedrigen Probenumfang zu begründen sind.

#### **5.4.2. Geschlechts- und Altersverteilung**

Wie bei AL DAHOUK et al., 2005 wurde in der vorliegenden Arbeit kein signifikanter Unterschied der Seroprävalenzen zwischen den Geschlechtern festgestellt. Bei 13,5 % der männlichen und 15,7 % der weiblichen Tiere wurden im ELISA Brucellen-Antikörper nachgewiesen. Im Jahr 2010 war die Antikörperprävalenz bei männlichen Tieren mit 14,7 % ähnlich, bei weiblichen Tieren aber mit 3,8 % (LANDESUNTERSUCHUNGSAMT KOBLENZ, 2010) deutlich niedriger. Allerdings war der Probenumfang mit 68 männlichen getesteten und 26 weiblichen getesteten Tieren in ganz RLP, insbesondere bei den weiblichen Probanden im Jahr 2010 sehr viel niedriger. Die vorliegende Arbeit, in der jeweils 968 Proben von Tieren beider Geschlechter untersucht wurden erlaubt eine objektivere Einschätzung der tatsächlichen Seroprävalenzen der Geschlechter.

In Altersgruppe 1, 2 und 3 wurden in der vorliegenden Arbeit bei 11,4 %, 19,3 % und 26,6 % der untersuchten Wildschweine der jeweiligen Altersgruppe im ELISA Antikörper nachgewiesen (Signifikanz < 0,001). Der Anteil positiver Ergebnisse stieg,

wie auch in der Untersuchung von ROOST et al., 2010 in Mecklenburg-Vorpommern, kontinuierlich mit dem Alter der untersuchten Wildschweine an. Auch bei AL DAHOUK et al., 2005 stieg die Seroprävalenz mit dem Alter, dies war jedoch nicht statistisch signifikant. Der chronische Charakter der Infektion (LAMONTAGNE et al., 2009; OLSEN et al., 2012), die erneute Empfänglichkeit etwa sechs bis zwölf Monate nach Erstinfektion (MAC MILLAN, 1992) und der Eintritt in die Geschlechtsreife könnten Gründe dafür sein.

## 5.5. Antikörper gegen Salmonellen

Die in der vorliegenden Arbeit ermittelte Salmonellen-Antikörper-Prävalenz in RLP von insgesamt 30,3 % belegt, dass die Schwarzwildpopulation in diesem Bundesland Salmonellen beherbergt. Salmonellen stellen ein wichtiges zoonotisches Pathogen dar (VAN DER WOLF, 2004). Die Übertragung auf den Menschen durch kontaminierte Lebensmittel (also auch Wildschweinfleisch) ist möglich (POPOFF und LE MINOR, 2005). Es kann davon ausgegangen werden, dass eine potentielle Infektionsgefahr, besonders mit den nicht an das Schwein angepassten Serovaren, wie z. B. *Salmonella* Typhimurium für den Menschen besteht. Auch wenn METHNER et al., 2010 und SCHULZE et al., 2003 im östlichen Deutschland ausschließlich *Salmonella* Choleraesuis aus Wildschweinen isolierten [an Schweine adaptiertes Serovar (HEINRITZI, 2006)], kann nicht ausgeschlossen werden, dass das beim Menschen häufig gefundene Serovar *Salmonella* Typhimurium (ROBERT KOCH-INSTITUT, 2013) oder auch *Salmonella* Enteritidis in der Wildschweinpopulation vorkommt. Eine Salmonellenübertragung von Wildschweinen auf Hausschweine ist prinzipiell möglich.

Serologische Tests, wie der in der vorliegenden Arbeit verwendete IDEXX® Swine Salmonella ELISA, werden in Schweinebeständen genutzt, um eine etwaige vorausgegangene Infektion nachzuweisen (STEINBACH, 2002). Es kann davon ausgegangen werden, dass dieser Test auch bei Wildschweinen mit guter Sensitivität und Spezifität entsprechende Antikörper der IgG-Klasse nachweist. So ermöglicht er es, ähnlich wie in Schweinebeständen (STEINBACH et al., 2003a), die Intensität des Salmonellengeschehens abzuschätzen. Es bleibt aber auch zu berücksichtigen, dass serologisch positive Tiere den Erreger bereits eliminiert haben könnten. Andererseits könnten sich serologisch negative Tiere möglicherweise in der Frühphase der Infektion befinden (WELTORGANISATION FÜR TIERGESUNDHEIT, 2010b), da entsprechende Antikörper meist erst nach 4 – 24 Tagen nachweisbar sind (VAN DER GAAG et al., 2001).

Der in der vorliegenden Arbeit verwendete ELISA weist IgG-Antikörper gegen Salmonellen der Serogruppen O 4 (B), O 7 (C1) und O 9 (D), die beim Schwein die Mehrheit der krankmachenden Serovare beinhalten, nach. Über das Serovar dem die antikörperinduzierenden Salmonellen angehören, kann mit diesem Test keine

Aussage getroffen werden. METHNER et al., 2010 und SCHULZE et al., 2003 isolierten im östlichen Deutschland ausschließlich *Salmonella* Choleraesuis aus Wildschweinproben. Trotzdem kommt auch *Salmonella* Typhisuis als Ursache der Antikörperbildung in Frage. Beide Serovare haben beim Schwein in Deutschland eher geringe Bedeutung (SELBITZ, 2011). Aber auch andere nicht wirtsadaptierte Serovare, wie zum Beispiel *Salmonella* Typhimurium (SELBITZ, 2011), könnten die Antikörper die in der vorliegenden Arbeit nachgewiesen wurden induziert haben. So ermittelten VIEIRA-PINTO et al., 2003 im Norden Portugals bei Wildschweinen eine Salmonellenprävalenz von 22 % (*Salmonella* Typhimurium und *Salmonella* Rissen).

### 5.5.1. Geografische und chronologische Verteilung

Von den 1.936 Proben aus ganz RLP die in der vorliegenden Arbeit auf Antikörper gegen Salmonellen untersucht wurden, waren 30,3 % als positiv zu bewerten. In allen Landkreisen wurden serologisch Antikörper nachgewiesen. In den einzelnen Regionen lagen die festgestellten Prävalenzen von Norden nach Süden bei 24,4 %, 30,3 %, 26,4 %, 29,9 %, 55,9 % und 37,4 % für die Regionen Westerwald, Taunus, Eifel, Hunsrück, Rhein-Hessen und Pfalz. Bei Betrachtung der Antikörperprävalenzen in den Regionen fällt der in Rhein-Hessen besonders hohe Anteil (55,9 %) an Antikörperträgern auf. Dieser kam durch den herausragend hohen Anteil von Antikörperträgern im Landkreis Alzey-Worms (76,5 %, 13 von 17 Proben positiv) zustande. Von den 13 positiv beurteilten Proben stammten allein acht aus der Ortsgemeinde Gimsheim (in der östlichsten Verbandsgemeinde Eich des Landkreises Alzey-Worms), wo insgesamt neun im November erlegte Tiere beprobt wurden. Die Antikörper-positiven dieser Ortsgemeinde beeinflussten die Gesamtprävalenz dieses Landkreises und letztlich dieser eher kleinen Region, in der nur 34 Tiere beprobt wurden, wesentlich.

Betrachtet man die in der vorliegenden Arbeit ermittelten Antikörperprävalenzen der Landkreise unabhängig von der Zugehörigkeit zu den gebildeten Regionen, sieht man, dass Prävalenzen von 35,3 % oder höher hauptsächlich in den Gebieten der Landkreise Bad Kreuznach (43,7 %), Mainz-Bingen (35,3 %), Alzey-Worms (76,5 %), Donnersbergkreis (55,7 %), Kusel (48,1 %), Rhein-Pfalz-Kreis (61,1 %) und Germersheim (37,0 %) vorkamen. Sieht man einmal vom Gebiet der kreisfreien Stadt

Worms, aus der keine Proben untersucht wurden ab, hat jeder dieser Landkreise mindestens eine gemeinsame Verwaltungsgrenze mit einem Landkreis, der ebenfalls Prävalenzen von mindestens 35,3 % oder höher aufwies.

Untersuchungen von Wildschweinen auf Salmonellen-Antikörper in Deutschland sind selten und bedürfen weiterer Evaluation, um einen zeitlichen und räumlichen Vergleich zu ermöglichen. Dass Salmonellen aber auch in anderen Regionen Deutschlands bei Wildschweinen vorkommen steht außer Frage. So wurde in den Jahren 2006 - 2008 in Thüringen *Salmonella* Choleraesuis bei 24 von 118 Wildschweinen gefunden (METHNER et al., 2010). Dieses Serovar wurde auch in Brandenburg bei einem tot aufgefundenen Wildschwein identifiziert (SCHULZE et al., 2003).

Die Untersuchungszeiträume 1, 2 und 3 der vorliegenden Arbeit wiesen mit 30,3 %, 33,1 % und 27,2 % eine nahezu gleichbleibende Antikörperprävalenz auf. Dies spricht für eine insgesamt gleichmäßige und anhaltende Durchseuchung der Schwarzwildpopulation in RLP mit Salmonellen.

### 5.5.2. Geschlechts- und Altersverteilung

In der vorliegenden Arbeit wurden jeweils 968 Proben von Wildschweinen aus ganz RLP untersucht. 30,7 % der weiblichen und 30 % der männlichen Tiere wurden als Antikörper-positiv beurteilt. Da die beiden Geschlechter nahezu gleich betroffen waren, scheinen die geschlechtsspezifischen Verhaltensweisen bei der Verbreitung der Salmonellen keine Rolle zu spielen.

Die Antikörperprävalenzen von 28,7 %, 32,3 % und 37,4 in den Altersgruppen 1, 2, und 3, wie sie in der vorliegenden Arbeit ermittelt wurden, zeigen, dass der prozentuale Anteil der Antikörperträger mit dem Alter mit statistisch geringer Signifikanz ( $p = 0,05$ ) anstieg. Bei Hausschweinen persistieren die maternalen Antikörper gegen *Salmonella enterica* länger als acht Wochen (BELOEIL et al., 2003). Wenn sich dies in der Wildschweinpopulation genauso verhält, könnte davon ausgegangen werden, dass die Antikörperprävalenz der Altersgruppe 1 in der vorliegenden Untersuchung auch aufgrund maternaler Antikörper zustande kam und nicht nur auf p.i. gebildeten Antikörpern beruhte.

Die Geschlechter und Altersgruppen wiesen in der vorliegenden Arbeit gleichartige Antikörperprävalenzen gegen Salmonellen auf. Bei Hausschweinen können wenige Tiere die geringe Mengen an Salmonellen ausscheiden, viele Schweine im Bestand infizieren (GRAY et al., 1996). Dies könnte auch in der Wildschweinpopulation in RLP der Fall sein. Außerdem spielen in freier Wildbahn wahrscheinlich auch andere Tierspezies bei der Übertragung eine Rolle. So könnten unter anderem Wildvögel, Nagetiere oder Hasenartige durch deren Exkremente oder als Aas dort Salmonellen verbreiten. Da Salmonellen in der Umwelt für lange Zeit überleben können, so zum Beispiel in Vogelkot bis zu zwei Jahre (GAFFURI, 2012), könnte sich Schwarzwild bei der Nahrungssuche und Nahrungsaufnahme infizieren.

## 6. ZUSAMMENFASSUNG

Es wurden 1.936 Blutproben von Wildschweinen aus ganz Rheinland-Pfalz, die im Rahmen des Monitorings der Klassischen Schweinepest an das Landesuntersuchungsamt Koblenz, Institut für Tierseuchendiagnostik, gesandt wurden, untersucht. Die Proben stammten aus drei aufeinanderfolgenden Jagdjahren (2011 / 2012 – 2013 / 2014), jeweils aus den Monaten Oktober bis Januar. Das Bundesland wurde aufgrund der Probenherkunft und in Anlehnung an die geografischen Gegebenheiten in die sechs Regionen Westerwald, Taunus, Eifel, Hunsrück, Rhein-Hessen und Pfalz mit den zugehörigen Landkreisen und kreisfreien Städten eingeteilt.

Mit serologischen Methoden wurden alle Proben auf Antikörper gegen die Erreger von Aujeszky'scher Krankheit, Hepatitis E, Influenza A, Brucellose und Salmonellose untersucht und insgesamt durchschnittliche Seroprävalenzen von 2,6 % (Aujeszky'sche Krankheit), 22,9 % (Hepatitis E), 5,1 % (Influenza A), 14,6 % (Brucellose) und 30,3 % (Salmonellose) in Rheinland-Pfalz ermittelt.

Antikörper gegen die Aujeszky'sche Krankheit wurden am häufigsten in der Region Eifel nachgewiesen (ELISA, SNT). Die Seroprävalenz von 5,6 % in dieser Region lag deutlich über dem rheinland-pfälzischen Durchschnitt.

Es wurden flächendeckend in allen Regionen und Landkreisen Antikörper gegen Hepatitis E im ELISA nachgewiesen. Die regionalen Prävalenzen lagen, außer im Westerwald, zwischen 19,8 % und 26,5 %. In der Region Westerwald lag diese mit 34,5 % am höchsten.

Alle Regionen wiesen Wildschweine mit Antikörpern gegen Influenza A-Virus (ELISA) auf. In den nördlichen Regionen Westerwald (5,6 %), Eifel (5,6 %) und Taunus (7,5 %) lagen die Antikörperprävalenzen für Influenza A tendenziell höher als in den südlichen Regionen Rhein-Hessen (2,9 %) und Pfalz (4,4 %). Die Verteilung der positiven Tiere innerhalb der Regionen auf die Landkreise wies eine Inhomogenität auf. In der Subtypenbestimmung (HAHT) konnten keine Antikörper gegen den Subtyp H1N2 des Influenza A-Virus nachgewiesen werden. In allen Regionen außer im Westerwald konnte der Subtyp H1N1 und außer in der Region Rhein-Hessen der Subtyp H3N2 mit positivem oder verdächtigem Ergebnis identifiziert werden.

Trotzdem war auch die räumliche Verteilung der Antikörper gegen unterschiedlichen Subtypen des Influenza A-Virus nicht homogen. Für beide Subtypen lagen mehrere, sich teilweise überlappende, überregionale Cluster vor.

Antikörper gegen Brucellen (ELISA) konnten in allen Regionen nachgewiesen werden. Die nördlichen Regionen Westerwald (8,1 %) und Taunus (5,8 %) wiesen die niedrigsten, die südliche Region Pfalz (18,9 %) die höchste Seroprävalenz auf. Innerhalb der Regionen unterschieden sich diese bei Vergleich der zugehörigen Landkreise jedoch teilweise deutlich.

Salmonellen-Antikörper (ELISA) wurden in allen Regionen und allen Landkreisen identifiziert. Außer in Rhein-Hessen liegen die Antikörperprävalenzen der Regionen zwischen 24,4 % und 37,4 %. Der höchste Anteil positiver Antikörpernachweise wurde in der Region Rhein-Hessen mit 55,9 % erreicht.

Die Antikörperprävalenzen für Aujeszky'sche Krankheit, Hepatitis E, Brucellose und Salmonellose stiegen mit dem Alter der untersuchten Wildschweine kontinuierlich an. Dieser Effekt war für Salmonellen-Antikörpern nur gering signifikant und konnte bei Influenza A nicht beobachtet werden.

Eine wesentliche Geschlechtsabhängigkeit der Antikörpernachweise konnte nicht festgestellt werden. Die Antikörperprävalenzen weiblicher Tiere waren für Influenza A und Aujeszky'sche Krankheit nur geringfügig höher.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen, dass Wildschweine in Rheinland-Pfalz eine mögliche Infektionsquelle für die Erreger von Aujeszky'scher Krankheit, Hepatitis E, Influenza A, Brucellose und Salmonellose darstellen.

## 7. SUMMARY

1,936 blood samples were taken from wild boars from all over the German state of Rhineland-Palatinate and sent to the state's Institute for Animal Disease Diagnostics to check for classical swine fever (CSF). The samples came from three consecutive hunting seasons (2011-12, 2012-13, 2013-14), from October to January in each season. The state was divided into six regions based on the origins of the samples and various geographical features: Westerwald, Taunus, Eifel, Hunsrück, Rheinhessen, and the Palatinate, together with the districts and cities contained in each.

All samples were analysed with serological methods for antibodies against the pathogens of Aujeszky's disease, hepatitis E, influenza A, brucellosis and salmonellosis. The results indicated an overall average seroprevalence of 2.6% for Aujeszky's disease, 22.9% for hepatitis E, 5.1% for influenza A, 14.6% for brucellosis, and 30.3% for salmonellosis in the state.

Antibodies against Aujeszky's disease were most frequently detected in the Eifel region (ELISA, SNT). The seroprevalence of 5.6% in this region was well above the state average.

ELISA testing indicated antibodies against hepatitis E were present in all of the state's regions and districts. The regional prevalences were between 19.8% and 26.5%, except in Westerwald, where the prevalence was the highest at 34.5%.

All regions showed boars with antibodies against the influenza A virus (ELISA). In the northern regions of Westerwald (5.6%), Eifel (5.6%), and Taunus (7.5%), the prevalence of antibodies against influenza A tended to be higher than in the southern regions of Rheinhessen (2.9%) and the Palatinate (4.4%). The distribution of animals testing positive was uneven across the districts within each region. When determining the subtype (with HI tests), no antibodies against the H1N2 subtype of the influenza A virus were detected. Subtype H1N1 was detected in all regions except Westerwald, whereas subtype H3N2 was detected everywhere except Westerwald and Rheinhessen. Nevertheless, the geographical distribution of antibodies against various influenza A virus subtypes was not homogeneous. For both subtypes, there were several, partially overlapping, cross-regional clusters.

Antibodies against brucellosis (ELISA) were detected in all regions. The northern regions of Westerwald (8.1%) and Taunus (5.8%) had the lowest seroprevalences, while the southern region of the Palatinate had the highest (18.9%). Within the regions, there were in some cases quite significant variations when comparing seroprevalence levels at the district level.

Salmonellosis antibodies (ELISA) were identified in all regions and counties. Except in Rheinhessen, the salmonellosis antibody prevalences in the regions ran between 24.4% and 37.4%. The highest proportion of positive antibody detection was in Rheinhessen with 55.9%.

Antibody prevalence for Aujeszky's disease, hepatitis E, brucellosis and salmonellosis rose steadily in correlation with the animals' ages. This was low significant for antibodies against Salmonellosis and not observed with influenza A.

There was no essential gender differentiation in terms of the antibody detection results. Antibody prevalence of female animals were only slightly higher for Influenza A and Aujeszky's disease.

The present study indicates that wild boars in Rhineland-Palatinate represent a possible source of transmission of the pathogens of Aujeszky's disease, hepatitis E, influenza A, brucellosis and salmonellosis.

## 8. LITERATURVERZEICHNIS

- Abaigar, T., Del Barrio, G., Vercad, J.R. (1994):** "Habitat preference of wild boar (*Sus scrofa* L., 1758) in a Mediterranean environment. Indirect evaluation by signs." *Mammalia* 58: 201-210, 564.
- Adlhoch, C., Wolf A., Meisel H., Kaiser M., Ellerbrok H., Pauli G. (2009):** "High HEV presence in four different wild boar populations in East and West Germany." *Veterinary Microbiol* 139(3-4): 270-8.
- Aggarwal, R., Naik S.R. (1994):** "Hepatitis E: intrafamilial transmission versus waterborne spread." *Journal of Hepatology* 21(5): 718-23.
- Ahne, W., Liebich H.G., Strohrer M., Wolf E., König H.E. (2000):** *Zoologie; Lehrbuch für Studierende der Veterinärmedizin und Agrarwissenschaften*, Schattauer Verlag, 1. Auflage.
- AIMPV (2007):** "Verordnung über die Meldepflicht bei Aviärer Influenza beim Menschen (Aviäre-Influenza-Meldepflicht-Verordnung - AIMPV) vom 11. Mai 2007." <http://www.gesetze-im-internet.de/aimpv/BJNR073200007.html>.
- Al Dahouk, S., Nockler K., Tomaso H., Splettstoesser W.D., Jungersen G., Riber U., Petry T., Hoffmann D., Scholz H.C., Hensel A., Neubauer H. (2005):** "Seroprevalence of brucellosis, tularemia, and yersiniosis in wild boars (*Sus scrofa*) from north-eastern Germany." *Journal of Veterinary Medicine B: Infectious diseases and veterinary public health* 52(10): 444-55.
- Anderson, D.A., Li F., Riddell M., Howard T., Seow H.F., Torresi J., Perry G., Sumarsidi D., Shrestha S.M., Shrestha I.L. (1999):** "ELISA for IgG-class antibody to hepatitis E virus based on a highly conserved, conformational epitope expressed in *Escherichia coli*." *Journal of Virological Methods* 81(1-2): 131-42.
- Andrzejewski, R., Jezierski W. (1978):** "Management of wild boar population and its effects on commercial land." *Acta Theriol.* 23: 19-30, 309.
- Anonymous (1990):** "Pschyrembel, Klinisches Wörterbuch." *Klinisches Wörterbuch*, begründet von Otto Dornblüth; 21.-254. Auflage herausgegeben von Prof. Dr. Dr. Willibald Pschyrembel; 255.-256. Auflage bearbeitet von d. Wörterbuchred. d. Verl. unter Leitung von Christoph Zink, de Gruyter Verlag 256. Auflage: 782.
- Anusz, Z., Szweda W., Popko J., Trybala E. (1992):** "[Is Aujeszky's disease a zoonosis?]." *Przegląd Epidemiologiczny* 46(3): 181-6.

- Arankalle, V.A., Chobe L.P., Walimbe A.M., Yergolkar P.N., Jacob G.P. (2003):** "Swine HEV infection in south India and phylogenetic analysis (1985-1999)." *J Med Virol* 69(3): 391-6.
- AujeszkKrV (2005):** "Verordnung zum Schutz gegen die Aujeszký'sche Krankheit, Fassung der Bekanntmachung vom 20. Dezember 2005, die durch Artikel 20 der Verordnung vom 17. April 2014 geändert worden ist." <http://www.gesetze-im-internet.de/bundesrecht/aujeszkkrv/gesamt.pdf>.
- Bächlein, C. (2011):** "Hepatitis E virus in German domestic pigs: occurrence and prevalence. Dissertation, "[http://elib.tiho-hannover.de/dissertations/baechleinc\\_ws11.html](http://elib.tiho-hannover.de/dissertations/baechleinc_ws11.html)."
- Baechlein, C., Schielke A., Johne R., Ulrich R.G., Baumgaertner W., Grummer B. (2010):** "Prevalence of Hepatitis E virus-specific antibodies in sera of German domestic pigs estimated by using different assays." *Veterinary Microbiology* 144(1-2): 187-91.
- Baechlein, C., Seehusen F., Nathues H., grosse Beilage E., Baumgartner W., Grummer B. (2013):** "Molecular detection of hepatitis E virus in German domestic pigs." *Berliner und Münchner Tierärztliche Wochenschrift* 126(1-2): 25-31.
- Baele, M., Chiers K., Devriese L.A., Smith H.E., Wisselink H.J., Vanechoutte M., Haesebrouck F. (2001):** "The gram-positive tonsillar and nasal flora of piglets before and after weaning." *Journal of Applied Microbiology* 91(6): 997-1003.
- Balayan, M.S., Andjaparidze A.G., Savinskaya S.S., Ketiladze E.S., Braginsky D.M., Savinov A.P., Poleschuk V.F. (1983):** "Evidence for a virus in non-A, non-B hepatitis transmitted via the fecal-oral route." *Intervirology* 20(1): 23-31.
- Baldwin, C.L., Goenka R. (2006):** "Host immune responses to the intracellular bacteria *Brucella*: does the bacteria instruct the host to facilitate chronic infection?" *Critical Reviews in Immunology* 26(5): 407-42.
- Banks, M., Bendall R., Grierson S., Heath G., Mitchell J., Dalton H. (2004):** "Human and porcine hepatitis E virus strains, United Kingdom." *Emerging and Infectious Diseases* 10(5): 953-5.
- Barbe, F., Labarque G., Pensaert M., Van Reeth K. (2009):** "Performance of a commercial Swine influenza virus H1N1 and H3N2 antibody enzyme-linked immunosorbent assay in pigs experimentally infected with European influenza viruses." *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 21(1): 88-96.

- Barnaud, E., Rogee S., Garry P., Rose N., Pavio N. (2012):** "Thermal inactivation of infectious hepatitis E virus in experimentally contaminated food." *Applied and Environmental Microbiology* 78(15): 5153-9.
- Baskerville, A., Dow C. (1973):** "Pathology of experimental pneumonia in pigs produced by *Salmonella cholerae-suis*." *Journal of Comparative Pathology* 83(2): 207-15.
- Bathke, W. (1987):** "Brucellose." Beer, J.: *Infektionskrankheiten der Haustiere*, 3. Auflage, Jena, Fischer-Verlag: 648.
- Bauerfeind, R. (2011):** "Gattung *Brucella*." *Tiermedizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre*, Herausgeber: Hans-Joachim Selbitz, Uwe Truyen, Peter Valentin-Weigand, 9. Auflage: 161-169.
- Beer, M. (2011):** "Familie Orthomyxoviridae." *Tiermedizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre*, Herausgeber: Hans-Joachim Selbitz, Uwe Truyen, Peter Valentin-Weigand, 9. Auflage: 570-580.
- Beloelil, P.A., Chauvin C., Proux K., Rose N., Queguiner S., Eveno E., Houdayer C., Rose V., Fravalo P., Madec F. (2003):** "Longitudinal serological responses to *Salmonella enterica* of growing pigs in a subclinically infected herd." *Preventive Veterinary Medicine* 60(3): 207-26.
- Belsue, J.B., Alujas A.M., Porter R. (2011):** "Detection of high serological prevalence and comparison of different tests for *Salmonella* in pigs in Northern Ireland." *The Veterinary Record* 169(6): 153.
- Berends, B.R., Urlings H.A., Snijders J.M., Van Knapen F. (1996):** "Identification and quantification of risk factors in animal management and transport regarding *Salmonella* spp. in pigs." *International Journal of Food Microbiology* 30(1-2): 37-53.
- Bevins, J.S., Blake J.E., Adams L.G., Templeton J.W., Morton J.K., Davis D.S. (1996):** "The pathogenicity of *Brucella suis* biovar 4 for bison." *Journal of Wildlife Diseases* 32(4): 581-5.
- Bhatia, V., Singhal A., Panda S.K., Acharya S.K. (2008):** "A 20-year single-center experience with acute liver failure during pregnancy: is the prognosis really worse?" *Hepatology* 48(5): 1577-85.

- Bilic, I., Jaskulska B., Basic A., Morrow C.J., Hess M. (2009):** "Sequence analysis and comparison of avian hepatitis E viruses from Australia and Europe indicate the existence of different genotypes." *The Journal of General Virology* 90(Pt 4): 863-73.
- Bisping, W. (1979):** "Gattung: Brucella." *Kompendium der veterinärmedizinischen Mikrobiologie, Ein Leitfaden für Studierende, Teil II Spezielle Bakteriologie und Mycologie*; Schaper Philatelie Verlag, M.& H.; 3. überarbeitete Auflage.
- Bitsch, V., Eskildsen M. (1976):** "A comparative examination of swine sera for antibody to Aujeszky virus with the conventional and a modified virus-serum neutralization test and a modified direct complement fixation test." *Acta Veterinaria Scandinavica* 17(2): 142-52.
- Bitsch, V., Eskildsen M. (1982):** "Complement-dependent neutralisation of Aujeszky's disease virus bei antibody." In: *Aujeszky's disease*, ed. Wittmann G., Hall S.A.; Martinus Nijhoff, The Hague, The Netherlands; Seminar in the Animal Pathology Series of the CEC Programme of Coordination of Agricultural Research, held at Tubingen, Germany June 9–10, 1981 17: 41-49.
- Borgen, K., Herremans T., Duizer E., Vennema H., Rutjes S., Bosman A., de Roda Husman A.M., Koopmans M. (2008):** "Non-travel related Hepatitis E virus genotype 3 infections in the Netherlands; a case series 2004 - 2006." *BMC Infectious Diseases* 8: 61.
- Borgwardt, J. (2008):** "Wildhygienische Untersuchungen beim Schwarzwild in Sachsen-Anhalt 2008." Landesamt für Verbraucherschutz Sachsen-Anhalt; Fachbereich 4 Veterinärmedizin, [http://www.verbraucherschutz.sachsen-anhalt.de/fileadmin/Bibliothek/Politik\\_und\\_Verwaltung/MS/LAV\\_Verbraucherschutz/veterinaermedizin/wildtiere/wildhygienische\\_serologische\\_untersuchungen\\_beim\\_schwarzwild.pdf](http://www.verbraucherschutz.sachsen-anhalt.de/fileadmin/Bibliothek/Politik_und_Verwaltung/MS/LAV_Verbraucherschutz/veterinaermedizin/wildtiere/wildhygienische_serologische_untersuchungen_beim_schwarzwild.pdf).
- Borgwardt, J. (2011):** "Aujeszky'sche Krankheit, Serologische Ergebnisse des Monitoring bei Wildschweinen in Sachsen-Anhalt." Landesamt für Verbraucherschutz, Sachsen-Anhalt, [http://www.verbraucherschutz.sachsen-anhalt.de/fileadmin/Bibliothek/Politik\\_und\\_Verwaltung/MS/MS/fachgespraeche/5\\_2\\_Handout\\_zum\\_Vortrag\\_Dr\\_Borgwardt\\_mit\\_Abbildung.pdf](http://www.verbraucherschutz.sachsen-anhalt.de/fileadmin/Bibliothek/Politik_und_Verwaltung/MS/MS/fachgespraeche/5_2_Handout_zum_Vortrag_Dr_Borgwardt_mit_Abbildung.pdf).
- Bouwknegt, M., Engel B., Herremans M.M., Widdowson M.A., Worm H.C., Koopmans M.P., Frankena K., de Roda Husman A.M., De Jong M.C., Van Der Poel W.H. (2008a):** "Bayesian estimation of hepatitis E virus seroprevalence for populations with different exposure levels to swine in The Netherlands." *Epidemiology and Infection* 136(4): 567-76.

- Bouwknegt, M., Frankena K., Rutjes S.A., Wellenberg G.J., de Roda Husman A.M., van der Poel W.H., de Jong M.C. (2008b):** "Estimation of hepatitis E virus transmission among pigs due to contact-exposure." *Veterinary Research* 39(5): 40.
- Bouwknegt, M., Rutjes S.A., Reusken C.B., Stockhofe-Zurwieden N., Frankena K., de Jong M.C., de Roda Husman A.M., Poel W.H. (2009):** "The course of hepatitis E virus infection in pigs after contact-infection and intravenous inoculation." *BMC Veterinary Research* 5: 7.
- Bouwknegt, M., Teunis P.F., Frankena K., de Jong M.C., de Roda Husman A.M. (2011):** "Estimation of the likelihood of fecal-oral HEV transmission among pigs." *Risk Analysis, an official publication of the Society for Risk Analysis* 31(6): 940-50.
- Boxall, E., Herborn A., Kochethu G., Pratt G., Adams D., Ijaz S., Teo C.G. (2006):** "Transfusion-transmitted hepatitis E in a 'nonhyperendemic' country." *Transfusion Medicine* 16(2): 79-83.
- Boyd, E.F., Wang F.S., Whittam T.S., Selander R.K. (1996):** "Molecular genetic relationships of the salmonellae." *Applied and Environmental Microbiology* 62(3): 804-8.
- Bradley, D., Andjaparidze A., Cook E.H., Jr., McCaustland K., Balayan M., Stetler H., Velazquez O., Robertson B., Humphrey C., Kane M., et al. (1988):** "Aetiological agent of enterically transmitted non-A, non-B hepatitis." *The Journal of General Virology* 69 (Pt 3): 731-8.
- Briedermann, L. (1967):** "Die Nahrungskomponenten des Schwarzwildes in der mitteleuropäischen Kulturlandschaft." *Congres des Biologistes du Gibier* Beograd: 207-213.
- Briedermann, L. (1971):** "Zur Reproduktion des Schwarzwildes in der Deutschen Republik." *Tag. Ber. dt. Akad. Landwirtsch.-Wiss., Berlin* 113: 169-186.
- Briedermann, L. (2009):** "Schwarzwild." Neuausgabe, bearbeitet von Burkhard Stöckler, 3. Auflage, Kosmos-Verlag, ISBN: 9783440117255.
- Brown, I.B., Harris P.A., Alexander D.J. (1995):** "Serological studies of influenza viruses in pigs in Great Britain 1991-2." *Epidemiology and Infection* 114(3): 511-520.

- Brown, I.H., Harris P.A., McCauley J.W., Alexander D.J. (1998):** "Multiple genetic reassortment of avian and human influenza A viruses in European pigs, resulting in the emergence of an H1N2 virus of novel genotype." *J Gen Virol* 79 ( Pt 12): 2947-55.
- BrucelloseV (2005):** "Verordnung zum Schutz gegen die Brucellose der Rinder, Schweine, Schafe und Ziegen (Brucellose-Verordnung) in der Fassung der Bekanntmachung vom 20. Dezember 2005, die durch Artikel 17 der Verordnung vom 17. April 2014 geändert worden ist." <http://www.gesetze-im-internet.de/bundesrecht/brucellosev/gesamt.pdf>
- Brumme, S., Arnold T., Sigmarsson H., Lehmann J., Scholz H.C., Hardt W.D., Hensel A., Truyen U., Roesler U. (2007):** "Impact of Salmonella Typhimurium DT104 virulence factors invC and sseD on the onset, clinical course, colonization patterns and immune response of porcine salmonellosis." *Veterinary Microbiology* 124(3-4): 274-85.
- Bryan, J.P., Tsarev S.A., Iqbal M., Ticehurst J., Emerson S., Ahmed A., Duncan J., Rafiqi A.R., Malik I.A., Purcell R.H., et al. (1994):** "Epidemic hepatitis E in Pakistan: patterns of serologic response and evidence that antibody to hepatitis E virus protects against disease." *The Journal of Infectious Diseases* 170(3): 517-21.
- Buda, S., Haas W., Baillet A., Beyrer K., Monazahian M., Pulz M., Benzler J., Harder T., Schweiger B. (2011):** "Humane Fälle mit Infektion durch Schweineinfluenzaviren." *Epidemiologisches Bulletin* [http://edoc.rki.de/documents/rki\\_fv/reddnG1n3v6U/PDF/229y39NII68Q.pdf](http://edoc.rki.de/documents/rki_fv/reddnG1n3v6U/PDF/229y39NII68Q.pdf) 39: 357-359.
- Bundesinstitut für Risikobewertung (2006):** "Fleisch von Wildschweinen, die mit dem Vogelgrippe-Virus infiziertes Wildgeflügel gefressen haben, ist ungefährlich." Stellungnahme Nr.027/2006 des BfR vom 19. April 2006 [http://www.bfr.bund.de/cm/343/fleisch\\_von\\_wildschweinen\\_die\\_mit\\_dem\\_vogelgrippe\\_virus\\_infiziertes\\_wildgefluegel\\_gefressen\\_haben\\_ist\\_ungefaehrlich.pdf](http://www.bfr.bund.de/cm/343/fleisch_von_wildschweinen_die_mit_dem_vogelgrippe_virus_infiziertes_wildgefluegel_gefressen_haben_ist_ungefaehrlich.pdf): 1-5.
- Bundesinstitut für Risikobewertung (2008):** "Grundlagenstudie zur Erhebung der Prävalenz von Salmonellen bei Mastschweinen." Bericht des BfR vom 20. Februar 2008.
- Bundesinstitut für Risikobewertung (2010):** "Hepatitis E-Virus in deutschen Wildschweinen " Information Nr. 012/2010 des BfR

- Bundle, D.R., Cherwonogrodzky J.W., Gidney M.A., Meikle P.J., Perry M.B., Peters T. (1989):** "Definition of Brucella A and M epitopes by monoclonal typing reagents and synthetic oligosaccharides." *Infection and Immunity* 57(9): 2829-36.
- Carlson, S.A., Barnhill A.E., Griffith R.W. (2012):** "Salmonellosis." In: Zimmerman, J.J, Karriker, L.A., Ramirez, A., Schwartz, K.J., Stevenson, G.W., (Eds.) *Diseases of swine*, 10<sup>th</sup> Edition, Wiley-Blackwell-Verlag: 821-833.
- Carpentier, A., Chaussade H., Rigaud E., Rodriguez J., Berthault C., Boue F., Tognon M., Touze A., Garcia-Bonnet N., Choutet P., Coursaget P. (2012):** "High hepatitis E virus seroprevalence in forestry workers and in wild boars in France." *Journal of Clinical Microbiology* 50(9): 2888-93.
- Chambers, T.M., Hinshaw V.S., Kawaoka Y., Easterday B.C., Chandler, J.D., Riddell M.A., Li F., Love R.J., Anderson D.A. (1999):** "Serological evidence for swine hepatitis E virus infection in Australian pig herds." *Veterinary Microbiology* 68(1-2): 95-105.
- Webster R.G. (1991):** "Influenza viral infection of seine in the United States 1988-1989." *Archives of Virology* 1-4(116): 261-265.
- Christensen, L.S. (1995):** "The population biology of suid herpesvirus 1." *APMIS Supplementum* 48: 1-48.
- Christensen, P.B., Engle R.E., Hjort C., Homburg K.M., Vach W., Georgsen J., Purcell R.H. (2008):** "Time trend of the prevalence of hepatitis E antibodies among farmers and blood donors: a potential zoonosis in Denmark." *Clinical Infectious Diseases: official publication of the Infectious Diseases Society of America* 47(8): 1026-31.
- Ciacchi-Zanella, J.R., Vincent A.L., Prickett J.R., Zimmerman S.M., Zimmerman J.J. (2010):** "Detection of anti-influenza A Nukleoprotein antibodies in pigs using a commercial influenza epitope-blocking enzyme-linked immunosorbent assay developed for avian species." *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation: official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc* 22(1): 3-9.
- Clarke, R.C., Gyles C.L. (1987):** "Virulence of wild and mutant strains of *Salmonella typhimurium* in ligated intestinal segments of calves, pigs, and rabbits." *American Journal of Veterinary Research* 48(3): 504-10.

- Clayson, E.T., Myint K.S., Snitbhan R., Vaughn D.W., Innis B.L., Chan L., Cheung P., Shrestha M.P. (1995):** "Viremia, fecal shedding, and IgM and IgG responses in patients with hepatitis E." *Journal of Infectious Diseases* 172(4): 927-33.
- Closa-Sebastia, F., Casas-Diaz E., Cuenca R., Lavin S., Mentaberre G., Marco I. (2010):** "Brucella species antibodies and isolation in wild boar in north-east Spain." *Veterinary Record* 167(21): 826-8.
- Comtet, L., Eiden M., Lecoq A., Lesceu S., Schlosser J., Pourquier P., Groschup M.H. (2011):** "Preliminary validation data of a commercial multi-species ELISA kit for detection of anti-Hepatitis E Virus antibodies in swine." Poster, ID VET, 167, rue Mehdi Ben Barka - 34070 Montpellier, France.
- Corbel, M., J., Banai M. (2005):** "Genus I Brucella " *BERGEY'S MANUAL® of Systematic Bacteriology, Second Edition, Part C, The Alpha-, Beta-, Delta-, and Epsilonproteobacteria* 2: 324, 370-386.
- Crisci, E., Mussa T., Fraile L., Montoya M. (2013):** "Review: influenza virus in pigs." *Molecular Immunology* 55(3-4): 200-11.
- Cvetnic, Z., Spicic S., Toncic J., Majnaric D., Benic M., Albert D., Thiebaud M., Garin-Bastuji B. (2009):** "Brucella suis infection in domestic pigs and wild boar in Croatia." *Revue Scientifique et Technique* 28(3): 1057-67.
- Dahle, J., Patzelt T., Schagemann G., Liess B. (1993):** "Antibody prevalence of hog cholera, bovine viral diarrhoe and Aujeszky's disease virus in wild boars in northern Germany." *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift* 100(8): 330-3.
- Dalton, H.R., Thurairajah P.H., Fellows H.J., Hussaini H.S., Mitchell J., Bendall R., Banks M., Ijaz S., Teo C.G., Levine D.F. (2007):** "Autochthonous hepatitis E in southwest England." *Journal of Viral Hepatitis* 14(5): 304-9.
- Davies, R.H., Wales A.D. (2013):** "Salmonella contamination of cereal ingredients for animal feeds." *Veterinary Microbiology* 166(3-4): 543-9.
- de Deus, N., Peralta B., Pina S., Allepuz A., Mateu E., Vidal D., Ruiz-Fons F., Martin M., Gortazar C., Segales J. (2008a):** "Epidemiological study of hepatitis E virus infection in European wild boars (*Sus scrofa*) in Spain." *Veterinary Microbiology* 129(1-2): 163-70.

- de Deus, N., Casas M., Peralta B., Nofrarias M., Pina S., Martin M., Segales J. (2008b):** "Hepatitis E virus infection dynamics and organic distribution in naturally infected pigs in a farrow-to-finish farm." *Veterinary Microbiology* 132(1-2): 19-28.
- Denzin, N., Borgwardt J. (2013):** "Occurrence and geographical distribution of antibodies to hepatitis E virus in wild boars of Saxony-Anhalt, Germany (2011)." *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift* 126(5-6): 230-5.
- Denzin, N., Borgwardt J., Freuling C., Muller T. (2013):** "Spatio-temporal analysis of the progression of Aujeszky's disease virus infection in wild boar of Saxony-Anhalt, Germany." *Geospatial Health* 8(1): 203-13.
- Desrosiers, R., Boutin R., Broes A. (2004):** *Journal of Swine Health and Production* <https://www.aasv.org/shap/issues/v12n2/v12n2p78.pdf> 12(2): 78-81.
- Dremsek, P., Wenzel J.J., Johne R., Ziller M., Hofmann J., Groschup M.H., Werdermann S., Mohn U., Dorn S., Motz M., Mertens M., Jilg W., Ulrich R.G. (2012):** "Seroprevalence study in forestry workers from eastern Germany using novel genotype 3- and rat hepatitis E virus-specific immunoglobulin G ELISAs." *Medical Microbiology and Immunology* 201(2): 189-200.
- Drexler, J.F., Seelen A., Corman V.M., Fumie Tateno A., Cottontail V., Melim Zerbini R., Gloza-Rausch F., Klose S.M., Adu-Sarkodie Y., Oppong S.K., Kalko E.K., Osterman A., Rasche A., Adam A., Muller M.A., Ulrich R.G., Leroy E.M., Lukashev A.N., Drosten C. (2012):** "Bats worldwide carry hepatitis E virus-related viruses that form a putative novel genus within the family Hepeviridae." *Journal of Virology* 86(17): 9134-47.
- Drobeniuc, J., Favorov M.O., Shapiro C.N., Bell B.P., Mast E.E., Dadu A., Culver D., Iarovoi P., Robertson B.H., Margolis H.S. (2001):** "Hepatitis E virus antibody prevalence among persons who work with swine." *Journal of Infectious Diseases* 184(12): 1594-7.
- Duerwald, R., Schlegel M., Bauer K., Vissiennon T., Wutzler P., Schmidtke M. (2013):** "Efficacy of influenza vaccination and tamiflu(R) treatment-comparative studies with Eurasian Swine influenza viruses in pigs." *PLoS One* 8(4): e61597.
- Duerwald, R., (2015):** "Persönliche Mitteilung, Telefonat 24.09.2015" IDT Impfstoffwerk Dessau-Tornau GmbH, Streezer Weg 15a, 06862 Rodleben, Tel. 03490/18855432

- Dungworth (1993):** "The respiratory system." In K.V.F. Jubb, P.C. Kennedy, N. Plamer (eds.): Pathology of domestic animals, 4<sup>th</sup> edition, Academic Press Inc., San Diego 2.
- Easterday, B.C., Hinshaw V.S. (1992):** "Swine Influenza." In: Leman, A.D., Straw, B.E., Mengeling, W.L., D'Allaire, S., Taylor, D.J., Diseases of swine 7th Edition: 349-357.
- Eich, K.O. (1983):** "Die Aujeszky'sche Krankheit des Schweines." Tierärztliche Praxis, Band 11: 323-330.
- Ekperigin, H.E., Nagaraja K.V. (1998):** "Microbial food borne pathogens. Salmonella." The Veterinary Clinics of North America. Food animal Practice 14(1): 17-29.
- Eloit, M., Fargeaud D., Vannier P., Toma B. (1989):** "Development of an ELISA to differentiate between animals either vaccinated with or infected by Aujeszky's disease virus." Veterinary Record 124(4): 91-4.
- Emerson, S.U., Purcell R.H. (2007):** "Hepatitis E." The Pediatric Infectious Disease Journal 26(12): 1147-8.
- Emerson, S.U., D. Anderson, A. Arankalle, X. J. Meng, M. Purdy, G. G. Schlauder, S. A. Tsarev (2005):** "Hepevirus." Mayo, J. Maniloff, U. Desselberger, L. A. Ball Eds. Virus Taxonomy Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. London. Elsevier Academic Press 853-857.
- Engle, R.E., Yu C., Emerson S.U., Meng X.J., Purcell R.H. (2002):** "Hepatitis E virus (HEV) capsid antigens derived from viruses of human and swine origin are equally efficient for detecting anti-HEV by enzyme immunoassay." Journal of Clinical Microbiology 40(12): 4576-80.
- Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (2012):** "Datenerhebung, wissenschaftliche Zusammenarbeit und Vernetzung." Jahresbericht 2012.
- Ewald, C., Heer A., Havenith U. (1994):** "[Factors associated with the occurrence of influenza A virus infections in fattening swine]." Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift 107(8): 256-62.
- Faber, M.S., Wenzel J.J., Jilg W., Thamm M., Hohle M., Stark K. (2012):** "Hepatitis E virus seroprevalence among adults, Germany." Emerging Infectious Diseases 18(10): 1654-7.

- Favorov, M.O., Kosoy M.Y., Tsarev S.A., Childs J.E., Margolis H.S. (2000):** "Prevalence of antibody to hepatitis E virus among rodents in the United States." *Journal of Infectious Diseases* 181(2): 449-55.
- Fedorka-Cray, P.J., Whipp S.C., Isaacson R.E., Nord N., Lager K. (1994):** "Transmission of Salmonella typhimurium to swine." *Veterinary Microbiology* 41(4): 333-44.
- Fenske, G., Pulst H. (1973):** "Die epizootologische Bedeutung der Hasen- und Wildschweinbruellose." *Monatshefte für die Veterinärmedizin* (14): 537-541.
- Fernandez-Barredo, S., Galiana C., Garcia A., Vega S., Gomez M.T., Perez-Gracia M.T. (2006):** "Detection of hepatitis E virus shedding in feces of pigs at different stages of production using reverse transcription-polymerase chain reaction." *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation: official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc.* 18(5): 462-5.
- Fonseca, A.A., Jr., Magalhaes C.G., Sales E.B., D'Ambros R.M., Ciacci-Zanella J., Heinemann M.B., Leite R.C., Dos Reis J.K. (2011):** "Genotyping of the pseudorabies virus by multiplex PCR followed by restriction enzyme analysis." *ISRN Microbiology* 2011: 458294.
- Fouchier, R.A., Munster V., Wallensten A., Bestebroer T.M., Herfst S., Smith D., Rimmelzwaan G.F., Olsen B., Osterhaus A.D. (2005):** "Characterization of a novel influenza A virus hemagglutinin subtype (H16) obtained from black-headed gulls." *Journal of Virology* 79(5): 2814-22.
- Friedrich-Loeffler-Institiut (2014a):** "Liste der nach § 17c TierSG zugelassenen Mittel, Stand 24.03.2014." [http://www.fli.bund.de/fileadmin/dam\\_uploads/zulassungsstelle/deutsch/02\\_d\\_Zul\\_Mittel.pdf](http://www.fli.bund.de/fileadmin/dam_uploads/zulassungsstelle/deutsch/02_d_Zul_Mittel.pdf).
- Friedrich-Loeffler-Institiut (2014b):** "Brucellose der Rinder, Schweine, Schafe und Ziegen, Stand April 2012." *Amtliche Methodensammlung*, [http://www.fli.bund.de/fileadmin/dam\\_uploads/Publikationen/Amtliche\\_Methodensammlung/Amtliche\\_Methodensammlung20140116-2-Gesamt.pdf](http://www.fli.bund.de/fileadmin/dam_uploads/Publikationen/Amtliche_Methodensammlung/Amtliche_Methodensammlung20140116-2-Gesamt.pdf): 140-163.
- Friedrich-Loeffler-Institiut (2014c):** "Informationen zu anzeigepflichtigen Tierseuchen." *TSIS, TierseuchenInformationssystem*, <http://tsis.fli.bund.de/Reports/Info.aspx>.

- Fuchs, W., Rziha H.J., Lukacs N., Braunschweiger I., Visser N., Luticken D., Schreurs C.S., Thiel H.J., Mettenleiter T.C. (1990):** "Pseudorabies virus glycoprotein gI: in vitro and in vivo analysis of immunorelevant epitopes." *Journal of General Virology* 71 ( Pt 5): 1141-51.
- Gaffuri, A. (2012):** "Salmonella Infections in wild Mammals." In: *Infectious diseases of wild mammals and birds in Europe*, edited by Gavier-Wieden, Duff, Meredith; Wiley-Blackwell-Verlag, 1. Auflage: 392-397.
- GeflPestSchV (2011):** "Verordnung zum Schutz gegen die Geflügelpest (Geflügelpest-Verordnung) in der Fassung der Bekanntmachung vom 8. Mai 2013, die durch Artikel 29 der Verordnung vom 17. April 2014 geändert worden ist." [http://www.gesetze-im-internet.de/bundesrecht/tkrmeldpflv\\_1983/gesamt.pdf](http://www.gesetze-im-internet.de/bundesrecht/tkrmeldpflv_1983/gesamt.pdf).
- GfISalmoV (2014):** "Verordnung zum Schutz gegen bestimmte Salmonelleninfektionen beim Haushuhn und bei Puten (Geflügel-Salmonellen-Verordnung) in der Fassung der Bekanntmachung vom 17. Januar 2014, die durch Artikel 32 der Verordnung vom 17. April 2014 geändert worden ist." [http://www.gesetze-im-internet.de/h\\_salmov/](http://www.gesetze-im-internet.de/h_salmov/).
- Gerhard, K.F., Stinglwagner I., Haseder E. (2010):** *Das große Kosmos Jagdlexikon, Sonderausgabe 2010*, Kosmos-Verlag Stuttgart, ISBN: 9783440123096: 88.
- Gerst, S., Wolf P., Uhl W., Risch K., Wolf C., Gerst K., Seelmann M. (2010):** "Vorkommen der Brucellose beim Schwarzwild in Mecklenburg-Vorpommern; pathologische Befunde und Erreger-/Genomnachweise im Rahmen eines Monitoringprogramms." *Tierärztliche Umschau* 65: 336-341.
- Gesellschaft für Innovative Veterinärdiagnostik (Stand 16.04.2010):** "Serologische und molekularbiologische Untersuchungen bei Nutztieren und der Einsatz von bestandsspezifischen Impfstoffen und Autovakzinen." [http://www.ivd-gmbh.de/Nutztiere\\_V6\\_Infos\\_01-08.pdf](http://www.ivd-gmbh.de/Nutztiere_V6_Infos_01-08.pdf): 17-18.
- Gethöffer, F. (2005):** "Reproduktionsparameter und Saisonalität der Fortpflanzung des Wildschweins (*Sus scrofa*) in drei Untersuchungsgebieten Deutschlands." Dissertation, [http://www.kora.ch/malme/05\\_library/5\\_1\\_publications/G/Gethoeffter\\_2005\\_Reproduktionsparameter\\_&\\_Saisonalitaet\\_Fortpflanzung\\_Wildschwein\\_Deutschland.pdf](http://www.kora.ch/malme/05_library/5_1_publications/G/Gethoeffter_2005_Reproduktionsparameter_&_Saisonalitaet_Fortpflanzung_Wildschwein_Deutschland.pdf).
- Ghabrah, T.M., Tsarev S., Yarbough P.O., Emerson S.U., Strickland G.T., Purcell R.H. (1998):** "Comparison of tests for antibody to hepatitis E virus." *Journal of Medical Virology* 55(2): 134-7.

- Gillespie, R.R., Hill M.A., Kanitz C.L., Knox K.E., Clark L.K., Robinson J.P. (2000):** "Infection of pigs by Aujeszky's disease virus via the breath of intranasally inoculated pigs." *Research in Veterinary Science* 68(3): 217-22.
- Glynn, M.K., Lynn T.V. (2008):** "Brucellosis." *Journal of the American Veterinary Medical Association* 233(6): 900-8.
- Godfroid, J. (2002):** "Brucellosis in wildlife." *Revue Scientifique et Technique* 21(2): 277-86.
- Godfroid, J., Kasbohrer A. (2002):** "Brucellosis in the European Union and Norway at the turn of the twenty-first century." *Veterinary Microbiology* 90(1-4): 135-45.
- Godfroid, J., Cloeckert A., Liautard J.P., Kohler S., Fretin D., Walravens K., Garin-Bastuji B., Letesson J.J. (2005):** "From the discovery of the Malta fever's agent to the discovery of a marine mammal reservoir, brucellosis has continuously been a re-emerging zoonosis." *Veterinary Research* 36(3): 313-26.
- Goetz, C., Prouty K., Chandler N., Munoz R., Jackson T. (2004):** "IDEXX HerdChek Schweineinfluenza-Ak-ELISA." 22. AVID Tagung-Virologie, 15.-17. Sept. 2004, Kloster Banz  
[https://www.httpsproxy.de/www.dvg.net/fileadmin/Bilder/PDF\\_AVID\\_Alt/23tag/Tagungsbericht/Goetz%20SIV.pdf](https://www.httpsproxy.de/www.dvg.net/fileadmin/Bilder/PDF_AVID_Alt/23tag/Tagungsbericht/Goetz%20SIV.pdf).
- Goldsmith, R., Yarbough P.O., Reyes G.R., Fry K.E., Gabor K.A., Kamel M., Zakaria S., Amer S., Gaffar Y. (1992):** "Enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of acute sporadic hepatitis E in Egyptian children." *Lancet* 339(8789): 328-31.
- Golze, M. (2007):** "Landwirtschaftliche Wildhaltung: Damwild, Rotwild, Muffelwild, Schwarzwild und andere Wildarten." Ulmer Verlag, 1. Auflage.
- Gortazar, C., Vicente J., Fierro Y., Leon L., Cubero M.J., Gonzalez M. (2002):** "Natural Aujeszky's disease in a Spanish wild boar population." *Annals of the New York Academy of Sciences* 969: 210-2.
- Gray, J.T., Fedorka-Cray P.J., Stabel T.J., Ackermann M.R. (1995):** "Influence of inoculation route on the carrier state of *Salmonella choleraesuis* in swine." *Veterinary Microbiology* 47(1-2): 43-59.

- Gray, J.T., Fedorka-Cray P.J., Stabel T.J., Kramer T.T. (1996):** "Natural transmission of *Salmonella choleraesuis* in swine." *Applied and Environmental Microbiology* 62(1): 141-6.
- Guo, H., Zhou E.M., Sun Z.F., Meng X.J., Halbur P.G. (2006):** "Identification of B-cell epitopes in the capsid protein of avian hepatitis E virus (avian HEV) that are common to human and swine HEVs or unique to avian HEV." *The Journal of General Virology* 87(Pt 1): 217-23.
- Gutekunst, D.E. (1979):** "Cellular immunity shown in pseudorabies virus-infected pigs by leukocyte migration-inhibition procedure." *American Journal of Veterinary Research* 40(1): 66-8.
- Gutekunst, D.E., Pirtle E.C. (1979):** "Humoral and cellular immune responses in swine after vaccination with inactivated pseudorabies virus." *American Journal of Veterinary Research* 40(10): 1343-6.
- Haesebrouck, F., Pasmans F., Chiers K., Maes D., Ducatelle R., Decostere A. (2004):** "Efficacy of vaccines against bacterial diseases in swine: what can we expect?" *Veterinary Microbiology* 100(3-4): 255-68.
- Haffer, K., Gustafson D.P., Kanitz C.L. (1980):** "Detection of pseudorabies virus antibodies: time of appearance by two serotests." *American Journal of Veterinary Research* 41(8): 1317-8.
- Hahn, E.C., Page G.R., Hahn P.S., Gillis K.D., Romero C., Anelli J.A., Gibbs E.P. (1997):** "Mechanisms of transmission of Aujeszky's disease virus originating from feral swine in the USA." *Veterinary Microbiology* 55(1-4): 123-30.
- Hahn, N., Eisfeld D. (1998):** "Diet and habitat use of wild boar (*Sus scrofa*) in SW-Germany." *Gibier Faune Sauvage* 15: 595-606.
- Halbur, P.G. (1998):** "Porcine viral respiratory disease." *Proc.: 15th Vongr, Inter. Pig Vet. Soc., Birmingham*: 1-9.
- Halbur, P.G., Kasorndorkbua C., Gilbert C., Guenette D., Potters M.B., Purcell R.H., Emerson S.U., Toth T.E., Meng X.J. (2001):** "Comparative pathogenesis of infection of pigs with hepatitis E viruses recovered from a pig and a human." *Journal of Clinical Microbiology* 39(3): 918-23.
- Happ, N. (2007):** "Hege und Bejagung des Schwarzwildes." Kosmos Verlag, 2. Auflage, nach neuesten Erkenntnissen vollständig aktualisiert.

- Haqshenas, G., Shivaprasad H.L., Woolcock P.R., Read D.H., Meng X.J. (2001):** "Genetic identification and characterization of a novel virus related to human hepatitis E virus from chickens with hepatitis-splenomegaly syndrome in the United States." *The Journal of General Virology* 82(Pt 10): 2449-62.
- He, J., Innis B.L., Shrestha M.P., Clayson E.T., Scott R.M., Linthicum K.J., Musser G.G., Gigliotti S.C., Binn L.N., Kuschner R.A., Vaughn D.W. (2002):** "Evidence that rodents are a reservoir of hepatitis E virus for humans in Nepal." *Journal of Clinical Microbiology* 40(12): 4493-8.
- Heinen, P.P., van Nieuwstadt A.P., Pol J.M., de Boer-Luijtz E.A., van Oirschot J.T., Bianchi A.T. (2000):** "Systemic and mucosal isotype-specific antibody responses in pigs to experimental influenza virus infection." *Viral Immunology* 13(2): 237-47.
- Heinen, P.P., de Boer-Luijtz E.A., Bianchi A.T. (2001):** "Respiratory and systemic humoral and cellular immune responses of pigs to a heterosubtypic influenza A virus infection." *The Journal of General Virology* 82(Pt 11): 2697-707.
- Heinritzi, K., Aigner K., Erber M., Kersjes C., von Wangenheim B. (1999):** "[Brucellosis and Aujeszky's disease in a wild boar enclose. Case report]." *Tierärztliche Praxis. Ausgabe G, Grosstiere/Nutztiere* 27(1): 41-6.
- Heinritzi, K. (2006):** "Virale Infektionskrankheiten; Bakterielle Infektionskrankheiten; Pneumonie; Krankheiten des Verdauungstraktes." In: Heinritzi/Gindele, Reiner/Schnurrbusch: *Schweinekrankheiten, B: Spezieller Teil*, ISBN: 9783825283254: 107-162.
- Hendriksen, R.S., Vieira A.R., Karlsmose S., Lo Fo Wong D.M., Jensen A.B., Wegener H.C., Aarestrup F.M. (2011):** "Global monitoring of Salmonella serovar distribution from the World Health Organization Global Foodborne Infections Network Country Data Bank: results of quality assured laboratories from 2001 to 2007." *Foodborne Pathogens and Disease* 8(8): 887-900.
- Hennig, R. (2000):** "Schwarzwild konkret: Beschreibung und Anleitung für Jäger." *Landbuch Verlag, Hannover*, 5. Auflage.
- Hennig, R. (2007):** "Erscheinungsbild und Lebensweise." *Schwarzwild; Biologie, Verhalten*, Hege und Jagd: 9-31.
- Henry, V.G. (1968):** "Length of estrous cycle and gestation in European wild hogs." *J. Wildlife Managem.*, Bd.32, Nr.2: 406.

- Hewicker, M., Willms N., Pohlenz J., Trautwein G. (1988):** "Beitrag zur immunhistologischen Diagnostik der Aujeszky'schen Krankheit des Rindes." Berliner und Münchner Tierärztliche Wochenschrift (101): 19-24.
- Hirano, M., Ding X., Li T.C., Takeda N., Kawabata H., Koizumi N., Kadosaka T., Goto I., Masuzawa T., Nakamura M., Taira K., Kuroki T., Tanikawa T., Watanabe H., Abe K. (2003):** "Evidence for widespread infection of hepatitis E virus among wild rats in Japan." Hepatology Research: the official journal of the Japan Society of Hepatology 27(1): 1-5.
- Hu, W.P., Lu Y., Precioso N.A., Chen H.Y., Howard T., Anderson D., Guan M. (2008):** "Double-antigen enzyme-linked immunosorbent assay for detection of hepatitis E virus-specific antibodies in human or swine sera." Clinical and Vaccine Immunology: CVI 15(8): 1151-7.
- Huang, F.F., Haqshenas G., Shivaprasad H.L., Guenette D.K., Woolcock P.R., Larsen C.T., Pierson F.W., Elvinger F., Toth T.E., Meng X.J. (2002):** "Heterogeneity and seroprevalence of a newly identified avian hepatitis E virus from chickens in the United States." Journal of Clinical Microbiology 40(11): 4197-202.
- IDEXX® Laboratories (2010):** "IDEXX Influenza A Ab Test, Alle Subtypen. Viele Tierarten. Ein einziger Test mit hoher Genauigkeit."
- IDEXX® Laboratories (2011):** "IDEXX Swine Salmonella Ab Test, Validation Data Report."
- IDvet® (Stand 16.04.2010):** "Internal validation report, ID Screen® Brucellosis Serum Indirect Multi-species, Indirect ELISA for detection of antibodies against Brucella abortus, melitensis or suis in bovine, ovine, caprine and porcine serum and plasma."
- IDvet® (2012):** "Testprinzip" Gebrauchsinformation ID Screen® Hepatitis E Indirect Multi-Spezies, indirekter biphasischer ELISA zum Nachweis von Antikörpern gegen das Hepatitis E Virus in Serum und Plasma.
- IDvet® (2013):** "Testprinzip" Gebrauchsinformation ID Screen® Aujeszky gB Competition. Zulassungsnummer FLI-B 526: 2
- IDvet® (Stand 20.05.2014):** "Internal validation report, ID Screen® Aujeszky gB Competition, Competitive ELISA for the detection of anti-gB antibodies of the Aujeszky Disease Virus (ADV) ".

- IfSG (2000):** "Gesetz zur Verhütung und Bekämpfung von Infektionskrankheiten beim Menschen (Infektionsschutzgesetz - IfSG) vom 20. Juli 2000, das zuletzt durch Artikel 2 Absatz 36 und Artikel 4 Absatz 21 des Gesetzes vom 7. August 2013 geändert worden ist." <http://www.gesetze-im-internet.de/bundesrecht/ifsg/gesamt.pdf>.
- Iglesias, G., Trujano M. (1989):** "Studies on maternally derived antibodies to Aujeszky's disease virus in piglets born to naturally or experimentally infected sows." Zentralblatt für Veterinärmedizin. Reihe B. Journal of Veterinary Medicine. Series B 36(1): 57-62.
- Ijaz, S., Arnold E., Banks M., Bendall R.P., Cramp M.E., Cunningham R., Dalton H.R., Harrison T.J., Hill S.F., Macfarlane L., Meigh R.E., Shafi S., Sheppard M.J., Smithson J., Wilson M.P., Teo C.G. (2005):** "Non-travel-associated hepatitis E in England and Wales: demographic, clinical, and molecular epidemiological characteristics." Journal of Infectious Diseases 192(7): 1166-72.
- International Committee on Taxonomy of Viruses (2009):** "9th Report (MSL #25)[http://www.ictvonline.org/taxonomyHistory.asp?taxnode\\_id=20123850&tax\\_name=Hepatitis](http://www.ictvonline.org/taxonomyHistory.asp?taxnode_id=20123850&tax_name=Hepatitis)."
- International Committee on Taxonomy of Viruses (2013a):** "Virus Taxonomy, Herpesviridae." <http://ictvonline.org/virusTaxonomy.asp>.
- International Committee on Taxonomy of Viruses (2013b):** "Virus Taxonomy 2013 Release." <http://ictvonline.org/virusTaxonomy.asp>.
- International Committee on Taxonomy of Viruses (2013c):** "Virus Taxonomy:Release 2013." <http://ictvonline.org/virusTaxonomy.asp>.
- Jentzsch, K.D., Schweizer H. (1970):** "[Human susceptibility to Herpesvirus suis (Aujeszky-virus). 5. Multiplication of the virus in cultivated human cells]." Zeitschrift für die gesamte Hygiene und ihre Grenzgebiete 16(11): 860-6.
- Jilani, N., Das B.C., Husain S.A., Baweja U.K., Chattopadhyaya D., Gupta R.K., Sardana S., Kar P. (2007):** "Hepatitis E virus infection and fulminant hepatic failure during pregnancy." Journal of Gastroenterology and Hepatology 22(5): 676-82.
- Jimenez de Bagues, M.P., Iturralde M., Arias M.A., Pardo J., Cloeckaert A., Zygmunt M.S. (2014):** "The New Strains Brucella inopinata BO1 and Brucella Species 83-210 Behave Biologically Like Classic Infectious Brucella Species and Cause Death in Murine Models of Infection." Journal of Infectious Diseases.

- Jimenez de Oya, N., Galindo I., Girones O., Duizer E., Escribano J.M., Saiz J.C. (2009):** "Serological immunoassay for detection of hepatitis E virus on the basis of genotype 3 open reading frame 2 recombinant proteins produced in *Trichoplusia ni* larvae." *Journal of Clinical Microbiology* 47(10): 3276-82.
- Jinshan, Jirintai, Manglai D., Takahashi M., Nagashima S., Okamoto H. (2010):** "Molecular and serological survey of hepatitis E virus infection among domestic pigs in Inner Mongolia, China." *Arch Virol* 155(8): 1217-26.
- Johne, R., Plenge-Bonig A., Hess M., Ulrich R.G., Reetz J., Schielke A. (2010):** "Detection of a novel hepatitis E-like virus in faeces of wild rats using a nested broad-spectrum RT-PCR." *The Journal of General Virology* 91(Pt 3): 750-8.
- Jungersen, G., Sorensen V., Giese S.B., Stack J.A., Riber U. (2006):** "Differentiation between serological responses to *Brucella suis* and *Yersinia enterocolitica* serotype O:9 after natural or experimental infection in pigs." *Epidemiology and Infection* 134(2): 347-57.
- Kaaden, O.R. (2002):** "Viruskrankheiten der Tiere." *Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre*, Rolle M., Mayr A., Enke Verlag Stuttgart 7. Auflage: 145-374.
- Kaba, M., Davoust B., Marie J.L., Colson P. (2010):** "Detection of hepatitis E virus in wild boar (*Sus scrofa*) livers." *Vet J* 186(2): 259-61.
- Kabrane-Lazizi, Y., Fine J.B., Elm J., Glass G.E., Higa H., Diwan A., Gibbs C.J., Jr., Meng X.J., Emerson S.U., Purcell R.H. (1999):** "Evidence for widespread infection of wild rats with hepatitis E virus in the United States." *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 61(2): 331-5.
- Kaci, S., Nockler K., Johne R. (2008):** "Detection of hepatitis E virus in archived German wild boar serum samples." *Veterinary Microbiology* 128(3-4): 380-5.
- Kaden, V., Lange E., Starick E., Bruer W., Krakowski W., Klopries M. (2008):** "Epidemiological survey of swine influenza A virus in selected wild boar populations in Germany." *Veterinary Microbiology* 131(1-2): 123-32.
- Kaden, V., Lange E., Hänel A., Hlinak A., Mewes L., Hergarten G., Irsch B., Dedek J., Bruer W. (2009):** "Retrospective serological survey on selected viral pathogens in wild boar populations in Germany." *European Journal of Wildlife Research* 55(2): 153-159.

- Kaneene, J.M., Anderson R.K., Johnson D.W., Angus R.D., Muscoplat C.C., Pietz D.E., Vanderwagon L.C., Sloane E.E. (1978):** "Cell-mediated immune responses in swine from a herd infected with *Brucella suis*." *American Journal of Veterinary Research* 39(10): 1607-11.
- Karetnyi Iu, V., Dzhumalieva D.I., Usmanov R.K., Titova I.P., Litvak Ia I., Balaian M.S. (1993):** "[The possible involvement of rodents in the spread of viral hepatitis E]." *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii, i Immunobiologii*(4): 52-6.
- Kasorndorkbua, C., Guenette D.K., Huang F.F., Thomas P.J., Meng X.J., Halbur P.G. (2004):** "Routes of transmission of swine hepatitis E virus in pigs." *Journal of Clinical Microbiology* 42(11): 5047-52.
- Kautzsch, S., Seyfarth D., Schone R., Stehmann R. (1995):** "[An outbreak of brucellosis in pigs and conclusions derived on the epidemiology of this animal disease]." *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift* 108(6): 201-5.
- Keuling, O., Stier N., Roth M. (2008):** "Annual and seasonal space use of different age classes of female wild boar *Sus scrofa* L." *European Journal of Wildlife Research* 54: 403-412.
- Khuroo, M.S., Kamili S., Dar M.Y., Moecklii R., Jameel S. (1993):** "Hepatitis E and long-term antibody status." *Lancet* 341(8856): 1355.
- Kilonzo, C., Li X., Vivas E.J., Jay-Russell M.T., Fernandez K.L., Atwill E.R. (2013):** "Fecal shedding of zoonotic food-borne pathogens by wild rodents in a major agricultural region of the central California coast." *Applied and Environmental Microbiology* 79(20): 6337-44.
- Kim, Y.M., Jeong S.H., Kim J.Y., Song J.C., Lee J.H., Kim J.W., Yun H., Kim J.S. (2011):** "The first case of genotype 4 hepatitis E related to wild boar in South Korea." *Journal of Clinical Virology: the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology* 50(3): 253-6.
- Kirkpatrick, C.M., Kanitz C.L., McCrocklin S.M. (1980):** "Possible role of wild mammals in transmission of pseudorabies to swine." *Journal of Wildlife Diseases* 16(4): 601-14.
- Klingeborn, B., Englund L., Rott R., Juntti N., Rockborn G. (1985):** "An avian influenza A virus killing a mammalian species-the mink. Brief report." *Archives of Virology* 86(3-4): 347-51.

- Kluge, J.P., Mare C.J. (1974):** "Swine pseudorabies: abortion, clinical disease, and lesions in pregnant gilts infected with pseudorabies virus (Aujeszky's disease)." *American Journal of Veterinary Research* 35(7): 991-5.
- Kluge, J.P., Beran G.W., Hill H.T., Platt K.B. (1992):** "Pseudorabies (Aujeszky's Disease) " In: Leman, A.D., Straw, B.E., Mengeling, W.L., D'Allaire, S., Taylor, D.J., *Diseases of swine 7th Edition*: 312-323.
- Kranker, S., Alban L., Boes J., Dahl J. (2003):** "Longitudinal study of Salmonella enterica aerotype Typhimurium infection in three Danish farrow-to-finish swine herds." *Journal of Clinical Microbiology* 41(6): 2282-8.
- Kritas, S.K., Pensaert M.B., Nauwynck H.J., Kyriakis S.C. (1999):** "Neural invasion of two virulent suid herpesvirus 1 strains in neonatal pigs with or without maternal immunity." *Veterinary Microbiology* 69(3): 143-56.
- Krüger, M. (2011):** "Grundlagen und Faktoren zur Beherrschung von Salmonellen und Co. im Darm." *Salmonellen Handbuch Teil 1, Agrar und Veterinär-Akademie* 1.
- Krumbholz, A., Joel S., Neubert A., Dremsek P., Durrwald R., Johne R., Hlinak A., Walther M., Lange J., Wutzler P., Sauerbrei A., Ulrich R.G., Zell R. (2013):** "Age-related and regional differences in the prevalence of hepatitis E virus-specific antibodies in pigs in Germany." *Veterinary Microbiology* 167(3-4): 394-402.
- Kuiper, A. (1985):** "Influenza beim Schwein - eine wirtschaftlich bedeutsame Virusinfektion?" *Der Praktische Tierarzt* 66: 416-420.
- Kumar, R.M., Uduman S., Rana S., Kochiyil J.K., Usmani A., Thomas L. (2001):** "Sero-prevalence and mother-to-infant transmission of hepatitis E virus among pregnant women in the United Arab Emirates." *European Journal of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Biology* 100(1): 9-15.
- Kyriakis, C.S., Rose N., Foni E., Maldonado J., Loeffen W.L., Madec F., Simon G., Van Reeth K. (2013):** "Influenza A virus infection dynamics in swine farms in Belgium, France, Italy and Spain, 2006-2008." *Veterinary Microbiology* 162(2-4): 543-50.
- Lamontagne, J., Forest A., Marazzo E., Denis F., Butler H., Michaud J.F., Boucher L., Pedro I., Villeneuve A., Sitnikov D., Trudel K., Nassif N., Boudjelti D., Tomaki F., Chaves-Olarte E., Guzman-Verri C., Brunet S., Cote-Martin A., Hunter J., Moreno E., Paramithiotis E. (2009):** "Intracellular adaptation of Brucella abortus." *Journal of Proteome Research* 8(3): 1594-609.

**Landesuntersuchungsamt Koblenz (2000):** "Wildscheinproben zur Untersuchung auf Antikörper gegen Aujeszky'sche Krankheit in Rheinland-Pfalz." nicht veröffentlichte Daten.

**Landesuntersuchungsamt Koblenz (2010):** "Wildscheinproben zur Untersuchung auf Antikörper gegen Brucellose und Aujeszky'sche Krankheit in Rheinland-Pfalz." nicht veröffentlichte Daten.

**Landesuntersuchungsamt Koblenz (2013):** "Tierseuchenrechtliche Anordnungen des LUA zum Schutz gegen die Schweinepest vom 25. März 2013."  
<http://lua.rlp.de/downloads/tierseuchenrechtliche-anordnungen/>.

**Landesuntersuchungsamt Koblenz (2014):** "Schweinepest." Tierseucherechtliche Anordnungen des LUA, Monitoring KSP bei Wildschweinen in Rheinland-Pfalz, <http://lua.rlp.de/downloads/tierseuchenrechtliche-anordnungen/>.

**Landesuntersuchungsamt Koblenz (Stand 2015):**"Nachweis von Antikörpern gegen hämagglutinierende Antigene aus Blutproben mittels Hämagglutinationshemmungstest (HAHT)." Standard Operating Procedure; PRM: 0 41.3 0031 01

**Larsen, D.L., Karasin A., Zuckermann F., Olsen C.W. (2000):** "Systemic and mucosal immune responses to H1N1 influenza virus infection in pigs." *Veterinary Microbiology* 74(1-2): 117-31.

**Le Minor, L., Popoff M.Y., Laurent B., Hermant D. (1986):** "[Characterization of a 7th subspecies of Salmonella: *S. choleraesuis* subsp. *indica* subsp. nov]." *Annales de l'Institut Pasteur. Microbiology* 137B(2): 211-7.

**Leblanc, D., Ward P., Gagne M.J., Poitras E., Muller P., Trottier Y.L., Simard C., Houde A. (2007):** "Presence of hepatitis E virus in a naturally infected swine herd from nursery to slaughter." *International Journal of Food Microbiology* 117(2): 160-6.

**Lee, B.W., Bey R.F., Baarsch M.J., Simonson R.R. (1993):** "ELISA method for detection of influenza A infection in swine." *Journal of veterinary diagnostic investigation: Official Publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc* 5(4): 510-5.

**Lee, Y.H., Ha Y., Ahn K.K., Chae C. (2009):** "Localisation of swine hepatitis E virus in experimentally infected pigs." *Veterinary Journal* 179(3): 417-21.

- Legrand-Abravanel, F., Thevenet I., Mansuy J.M., Saune K., Vischi F., Peron J.M., Kamar N., Rostaing L., Izopet J. (2009):** "Good performance of immunoglobulin M assays in diagnosing genotype 3 hepatitis E virus infections." *Clinical and Vaccine Immunology: CVI* 16(5): 772-4.
- Leuwerke, B., Kitikoon P., Evans R., Thacker E. (2008):** "Comparison of three serological assays to determine the cross-reactivity of antibodies from eight genetically diverse U.S. swine influenza viruses." *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation: official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc* 20(4): 426-32.
- Li, F., Zhuang H., Kolivas S., Locarnini S.A., Anderson D.A. (1994):** "Persistent and transient antibody responses to hepatitis E virus detected by western immunoblot using open reading frame 2 and 3 and glutathione S-transferase fusion proteins." *Journal of Clinical Microbiology* 32(9): 2060-6.
- Loeffen, W.L., Kamp E.M., Stockhofe-Zurwieden N., van Nieuwstadt A.P., Bongers J.H., Hunneman W.A., Elbers A.R., Baars J., Nell T., van Zijderveld F.G. (1999):** "Survey of infectious agents involved in acute respiratory disease in finishing pigs." *Veterinary Record* 145(5): 123-9.
- Loeffen, W.L., Heinen P.P., Bianchi A.T., Hunneman W.A., Verheijden J.H. (2003):** "Effect of maternally derived antibodies on the clinical signs and immune response in pigs after primary and secondary infection with an influenza H1N1 virus." *Veterinary Immunology and Immunopathology* 92(1-2): 23-35.
- Lopez, J.W., Woods G.T. (1984):** "Influenza virus in ruminants: a review." *Research Communications in Chemical Pathology and Pharmacology* 45(3): 445-62.
- Lu, L., Li C., Hagedorn C.H. (2006):** "Phylogenetic analysis of global hepatitis E virus sequences: genetic diversity, subtypes and zoonosis." *Reviews in Medical Virology* 16(1): 5-36.
- Lucero, N.E., Ayala S.M., Escobar G.I., Jacob N.R. (2008):** "Brucella isolated in humans and animals in Latin America from 1968 to 2006." *Epidemiology and Infection* 136(4): 496-503.
- Lutz, W., Wurm R. (1996):** "Serological investigations to demonstrate the presence of antibodies to the viruses causing porcine reproductive and respiratory syndrome, Aujeszky's disease, hog cholera and porcine parvovirus among wild boar (*Sus scrofa*, L, 1758) in North Rhine-Westphalia." *Zeitschrift für Jagdwissenschaft* 42: 123-133.

- Lutz, W., Junghans D., Schmitz D., Müller T. (2003):** "A long-term survey of pseudorabies virus infections in European wild boar of western Germany." *Zeitschrift für Jagdwissenschaft* 68: 130-140.
- Lvov, D.K., Zdanov V.M., Sazonov A.A., Braude N.A., Vladimirtceva E.A., Agafonova L.V., Skljanskaja E.I., Kaverin N.V., Reznik V.I., Pysina T.V., Oserovic A.M., Berzin A.A., Mjasnikova I.A., Podcernjaeva R.Y., Klimenko S.M., Andrejev V.P., Yakhno M.A. (1978):** "Comparison of influenza viruses isolated from man and from whales." *Bulletin of the World Health Organization* 56(6): 923-30.
- Ma, H., Song X., Li Z., Harrison T.J., Zhang H., Huang W., Hao W., Kong W., Wang Y. (2009):** "Varying abilities of recombinant polypeptides from different regions of hepatitis E virus ORF2 and ORF3 to detect anti-HEV immunoglobulin M." *Journal of Medical Virology* 81(6): 1052-61.
- Mac Millan, A.P. (1992):** "Brucellosis." In: *Leman, A.D., Straw, B.E., Mengeling, W.L., D'Allaire, S., Taylor, D.J., Diseases of swine 7th Edition: 446-453.*
- Mansuy, J.M., Peron J.M., Abravanel F., Poirson H., Dubois M., Miedouge M., Vischi F., Alric L., Vinel J.P., Izopet J. (2004):** "Hepatitis E in the south west of France in individuals who have never visited an endemic area." *Journal of Medical Virology* 74(3): 419-24.
- Marozin, S., Gregory V., Cameron K., Bennett M., Valette M., Aymard M., Foni E., Barigazzi G., Lin Y., Hay A. (2002):** "Antigenic and genetic diversity among swine influenza A H1N1 and H1N2 viruses in Europe." *J Gen Virol* 83(Pt 4): 735-45.
- Martelli, F., Caprioli A., Zengarini M., Marata A., Fiegna C., Di Bartolo I., Ruggeri F.M., Delogu M., Ostanello F. (2008):** "Detection of hepatitis E virus (HEV) in a demographic managed wild boar (*Sus scrofa scrofa*) population in Italy." *Vet Microbiol* 126(1-3): 74-81.
- Martelli, F., Toma S., Di Bartolo I., Caprioli A., Ruggeri F.M., Lelli D., Bonci M., Ostanello F. (2010):** "Detection of Hepatitis E Virus (HEV) in Italian pigs displaying different pathological lesions." *Res Vet Sci* 88(3): 492-6.
- Martin, S., Wardley R.C., Donaldson A.I. (1983):** "Serological response of pigs infected with Aujeszky's disease virus." *Research in Veterinary Science* 35(2): 227-33.
- Martin, S., Wardley R.C., Donaldson A.I. (1986):** "Functional antibody responses in pigs vaccinated with live and inactivated Aujeszky's disease virus." *Research in Veterinary Science* 41(3): 331-5.

- Mast, E.E., Alter M.J., Holland P.V., Purcell R.H. (1998):** "Evaluation of assays for antibody to hepatitis E virus by a serum panel. Hepatitis E Virus Antibody Serum Panel Evaluation Group." *Hepatology* 27(3): 857-61.
- Masuda, J., Yano K., Tamada Y., Takii Y., Ito M., Omagari K., Kohno S. (2005):** "Acute hepatitis E of a man who consumed wild boar meat prior to the onset of illness in Nagasaki, Japan." *Hepatology* 31(3): 178-83.
- Matsubayashi, K., Kang J.H., Sakata H., Takahashi K., Shindo M., Kato M., Sato S., Kato T., Nishimori H., Tsuji K., Maguchi H., Yoshida J., Maekubo H., Mishiro S., Ikeda H. (2008):** "A case of transfusion-transmitted hepatitis E caused by blood from a donor infected with hepatitis E virus via zoonotic food-borne route." *Transfusion* 48(7): 1368-75.
- Matsuda, H., Okada K., Takahashi K., Mishiro S. (2003):** "Severe hepatitis E virus infection after ingestion of uncooked liver from a wild boar." *Journal of Infectious Diseases* 188(6): 944.
- Mayr, A., Bachmann P.A., Bibrack B., Wittmann G. (1974):** "Quantitative Bestimmung der Virusinfektiosität (Virustitration)." *Virologische Arbeitsmethoden Band I, Zellkulturen-Bebrütete Hühnereier-Versuchstiere*, Gustav Fischer Verlag, Jena; 1. Auflage: 39.
- Mayr, P., Bachmann P.A., Bibrack B., Wittmann G., Kaaden O.R. (1977):** "Neutralisationstest." In: *Virologische Arbeitsmethoden, Band II, Serologie*, VEB Gustav Fischer Verlag, Jena, ISBN: 3437302523: 458-534.
- Melzer, F., Lohse R., Nieper H., Liebert M., Sachse K. (2006):** "A serological study on brucellosis in wild boars in Germany." *European Journal of Wildlife Research* (55): 153-157.
- Melzer, F. (2011):** "Brucellose der Rinder, Schweine, Schafe und Ziegen - Brucellosis." *Friedrich-Loeffler-Institut, Tiergesundheitsjahresbericht 2011*: 60-61.
- Meng, J., Dai X., Chang J.C., Lopareva E., Pillot J., Fields H.A., Khudyakov Y.E. (2001):** "Identification and characterization of the neutralization epitope(s) of the hepatitis E virus." *Virology* 288(2): 203-11.
- Meng, X.J., Purcell R.H., Halbur P.G., Lehman J.R., Webb D.M., Tsareva T.S., Haynes J.S., Thacker B.J., Emerson S.U. (1997):** "A novel virus in swine is closely related to the human hepatitis E virus." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 94(18): 9860-5.

- Meng, X.J., Halbur P.G., Shapiro M.S., Govindarajan S., Bruna J.D., Mushahwar I.K., Purcell R.H., Emerson S.U. (1998):** "Genetic and experimental evidence for cross-species infection by swine hepatitis E virus." *Journal of Virology* 72(12): 9714-21.
- Meng, X.J., Dea S., Engle R.E., Friendship R., Lyoo Y.S., Sirinarumitr T., Urairong K., Wang D., Wong D., Yoo D., Zhang Y., Purcell R.H., Emerson S.U. (1999):** "Prevalence of antibodies to the hepatitis E virus in pigs from countries where hepatitis E is common or is rare in the human population." *Journal of Medical Virology* 59(3): 297-302.
- Meng, X.J., Wiseman B., Elvinger F., Guenette D.K., Toth T.E., Engle R.E., Emerson S.U., Purcell R.H. (2002):** "Prevalence of antibodies to hepatitis E virus in veterinarians working with swine and in normal blood donors in the United States and other countries." *Journal of Clinical Microbiology* 40(1): 117-22.
- Meng, X.J. (2003):** "Swine hepatitis E virus: cross-species infection and risk in xenotransplantation." *Current Topics in Microbiology and Immunology* 278: 185-216.
- Meng, X.J. (2010):** "Hepatitis E virus: animal reservoirs and zoonotic risk." *Veterinary Microbiology* 140(3-4): 256-65.
- Mengeling, W.L. (1991):** "Anamnestic immune response of pigs to pseudorabies virus: latent virus reactivation versus direct oronasal and parenteral exposure to virus." *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation: official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc* 3(2): 133-6.
- Mentaberre, G., Porrero M.C., Navarro-Gonzalez N., Serrano E., Dominguez L., Lavin S. (2013):** "Cattle drive Salmonella infection in the wildlife-livestock interface." *Zoonoses and Public Health* 60(7): 510-8.
- Merialdi, G., Barigazzi G., Bonilauri P., Tittarelli C., Bonci M., D'Incau M., Dottori M. (2008):** "Longitudinal study of Salmonella infection in Italian farrow-to-finish swine herds." *Zoonoses and Public Health* 55(4): 222-6.
- Merle, R. (2011):** "QS Salmonellenmonitoring bei Schlachtschweinen: Epidemiologische Basisauswertung der Jahre 2003 bis 2009." *Tierärztliche Umschau* (66): 439-443.
- Merle, R., Kosters S., May T., Portschi U., Blaha T., Kreienbrock L. (2011):** "Serological Salmonella monitoring in German pig herds: results of the years 2003-2008." *Preventive Veterinary Medicine* 99(2-4): 229-33.

- Methner, U., Heller M., Bocklisch H. (2010):** "Salmonella enterica subspecies enterica serovar Choleraesuis in a wild boar population in Germany." European Journal of Wildlife Research 56(4): 493-502.
- Methner, U., Rammler N., Fehlhaber K., Rosler U. (2011):** "Salmonella status of pigs at slaughter-bacteriological and serological analysis." International Journal of Food Microbiology 151(1): 15-20.
- Mettenleiter, T.C. (2000):** "Aujeszky's disease (pseudorabies) virus: the virus and molecular pathogenesis-state of the art, June 1999." Vet Res 31(1): 99-115.
- Mettenleiter, T.C., Ehlers B., Müller T., Yoon K.J., Teifke J.P. (2012):** "Herpesviruses." In: Zimmerman, J.J, Karriker, L.A., Ramirez, A., Schwartz, K.J., Stevenson, G.W., (Eds.) Diseases of swine, 10<sup>th</sup> Edition, Wiley-Blackwell-Verlag: 421-446.
- Meynhardt, H. (1988):** "Mein Leben unter Wildschweinen" Schwarzwild-Report, Neumann-Neudamm Verlag, 7. Auflage.
- Meynhardt, H. (1989):** "Biologie und Verhalten." Schwarzwild-Bibliothek Bd. 1, Neumann-Neudamm Verlag, 1. Auflage.
- Michitaka, K., Takahashi K., Furukawa S., Inoue G., Hiasa Y., Horiike N., Onji M., Abe N., Mishiro S. (2007):** "Prevalence of hepatitis E virus among wild boar in the Ehime area of western Japan." Hepatology Research: the official journal of the Japan Society of Hepatology 37(3): 214-20.
- Millan, J., Aduriz G., Moreno B., Juste R.A., Barral M. (2004):** "Salmonella isolates from wild birds and mammals in the Basque Country (Spain)." Revue Scientifique et Technique 23(3): 905-11.
- Ministerium für Umwelt Landwirtschaft Ernährung Weinbau und Forsten (2012):** "Schweinepestsituation beim Schwarzwild in Rheinland-Pfalz, 8. Lagebericht vom 26.06.2012 (Abschlussbericht)." [http://www.lwk-rlp.de/fileadmin/lwk/Landwirtschaft/tierische\\_Erzeugung/Lagebericht.pdf](http://www.lwk-rlp.de/fileadmin/lwk/Landwirtschaft/tierische_Erzeugung/Lagebericht.pdf).
- Mittrucker, H.W., Raupach B., Kohler A., Kaufmann S.H. (2000):** "Cutting edge: role of B lymphocytes in protective immunity against Salmonella typhimurium infection." Journal of Immunology 164(4): 1648-52.
- Moenning, V., Woldesenbert P., Fey H.R., Liess B., Fopotka H.D., Behrens F. (1982):** "Comparative evaluation of ELISA and neutralization test for the diagnosis of Aujeszky's disease." In: Current Topics in Veterinary Medicine and Animal Science 17. Aujeszky's Disease, Wittmann G. und Hall S.A., Eds. Martinus Jijhoff, The Hague, The Netherlands (51).

- Möllers, F. (2011):** "Wasser, Wald und Wildschweine." In: Wildschweine, Kosmos-Verlag, 2. Auflage, ISBN: 978-3-440-12793-3: 27.
- Moynagh, J. (1997):** "Aujeszky's disease and the European Community." *Veterinary Microbiology* 55(1-4): 159-66.
- Müller, E., Knocke K.W., Willers H., Joachims R. (1981):** "Occurrence of swine influenza in northern Germany." *Der Praktische Tierarzt* 62(8): 669-672.
- Müller, T., Teuffert J., Ziedler K., Possardt C., Kramer M., Staubach C., Conraths F.J. (1998):** "Pseudorabies in the European wild boar from eastern Germany." *Journal of Wildlife Diseases* 34(2): 251-8.
- Müller, T., Teuffert J., Zellmer R., Conraths F.J. (2001):** "Experimental infection of European wild boars and domestic pigs with pseudorabies viruses with differing virulence." *American Journal of Veterinary Research* 62(2): 252-8.
- Müller, T., Batza H.J., Schluter H., Conraths F.J., Mettenleiter T.C. (2003):** "Eradication of Aujeszky's disease in Germany." *Journal of Veterinary Medicine. B, Infectious diseases and veterinary public health* 50(5): 207-13.
- Müller, T., Mettenleiter T.C. (2003):** "Aujeszky'sche Krankheit." Tiergesundheitsjahresbericht 2003, Friedrich-Loeffler-Institut, Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit; [http://www.fli.bund.de/fileadmin/dam\\_uploads/Jahresberichte/TG-JB/TGJB\\_2003.pdf](http://www.fli.bund.de/fileadmin/dam_uploads/Jahresberichte/TG-JB/TGJB_2003.pdf): 37-38.
- Müller, T., Teuffert J., Staubach C., Selhorst T., Depner K.R. (2005):** "Long-term studies on maternal immunity for Aujeszky's disease and classical swine fever in wild boar piglets." *Journal of Veterinary Medicine. B, Infectious diseases and veterinary public health* 52(10): 432-6.
- Müller, T., Hlinak A., Schaarschmidt U., Muluneh A., Nieper H., Hahn E., Conraths F.J. (2006):** "Pseudorabiesvirus-Infektionen beim Schwarzwild in Brandenburg und Sachsen." *Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft, Arbeitskreis Veterinärmedizinische Infektionsdiagnostik (AVID), Tagung "Virologie", 13.-15. Sept. 2006.*
- Müller, T., Klupp B., Freuling C.M., Junghans D., Fröhlich A., Hlinak A. (2010a):** "Abklärung "ELISA-positiver und fraglicher" Befunde bei serologischen Untersuchungen zur Aufrechterhaltung eines AK-freien Status." *Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft, Arbeitskreis Veterinärmedizinische Infektionsdiagnostik (AVID), Tagung 15.-17. Sept. 2010, [http://avid.dvg.net/fileadmin/Bilder/PDF\\_AVID\\_Alt/AVID-Tagung\\_Virologie\\_2010/AVID2010\\_Mueller\\_T.pdf](http://avid.dvg.net/fileadmin/Bilder/PDF_AVID_Alt/AVID-Tagung_Virologie_2010/AVID2010_Mueller_T.pdf).*

- Müller, T., Klupp B.G., Freuling C., Hoffmann B., Mojczic M., Capua I., Palfi V., Toma B., Lutz W., Ruiz-Fon F., Gortazar C., Hlinak A., Schaarschmidt U., Zimmer K., Conraths F.J., Hahn E.C., Mettenleiter T.C. (2010b):** "Characterization of pseudorabies virus of wild boar origin from Europe." *Epidemiology and Infection* 138(11): 1590-600.
- Müller, T., Hahn E.C., Tottewitz F., Kramer M., Klupp B.G., Mettenleiter T.C., Freuling C. (2011):** "Pseudorabies virus in wild swine: a global perspective." *Archives of Virology* 156(10): 1691-705.
- Müller, T., Mettenleiter T.C., Beer M., Blome S., Reinking E. (2012):** "Geimpft oder infiziert? Markerimpfstoffe im Kampf gegen Tierseuchen." *FoRep* 2/2012 *Berichte aus der Forschung*, [http://www.bmelv-forschung.de/fileadmin/dam\\_uploads/ForschungsReport/FoRep2012-2/FLI\\_Impfstoffe.pdf](http://www.bmelv-forschung.de/fileadmin/dam_uploads/ForschungsReport/FoRep2012-2/FLI_Impfstoffe.pdf): 12-15.
- Nagel, H. (2011):** "Handlungsansätze zur praktischen Beherrschung von Salmonellen." In: *Salmonellen Handbuch Teil 2, Agrar und Veterinär-Akademie*, 1. Auflage: 21-37.
- Nakamura, T., Ihara T., Nagata T., Ishihama A., Ueda S. (1990):** "A complement-dependent neutralizing monoclonal antibody against glycoprotein II of pseudorabies virus." *Veterinary Microbiology* 24(2): 193-8.
- Nakano, T., Takahashi K., Arai M., Okano H., Kato H., Ayada M., Okamoto H., Mishiro S. (2013):** "Identification of European-type hepatitis E virus subtype 3e isolates in Japanese wild boars: molecular tracing of HEV from swine to wild boars." *Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases* 18: 287-98.
- National Center for Biotechnology Information (Stand 01.06.2014):** "Influenzavirus A." <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi>.
- Nauwynck, H.J. (1997):** "Functional aspects of Aujeszky's disease (pseudorabies) viral proteins with relation to invasion, virulence and immunogenicity." *Veterinary Microbiology* 55(1-4): 3-11.
- Navarro-Gonzalez, N., Mentaberre G., Porrero C.M., Serrano E., Mateos A., Lopez-Martin J.M., Lavin S., Dominguez L. (2012):** "Effect of cattle on Salmonella carriage, diversity and antimicrobial resistance in free-ranging wild boar (*Sus scrofa*) in northeastern Spain." *PLoS One* 7(12): e51614.
- Neumann, G., Noda T., Kawaoka Y. (2009):** "Emergence and pandemic potential of swine-origin H1N1 influenza virus." *Nature* 459(7249): 931-9.

- Nielsen, B., Baggesen D., Bager F., Haugegaard J., Lind P. (1995):** "The serological response to Salmonella serovars typhimurium and infantis in experimentally infected pigs. The time course followed with an indirect anti-LPS ELISA and bacteriological examinations." *Veterinary Microbiology* 47(3-4): 205-18.
- Nielsen, B., Ekeroth L., Bager F., Lind P. (1998):** "Use of muscle fluid as a source of antibodies for serologic detection of Salmonella infection in slaughter pig herds." *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation: official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc* 10(2): 158-63.
- Nielsen, K., Gall D., Smith P., Vigliocco A., Perez B., Samartino L., Nicoletti P., Dajer A., Elzer P., Enright F. (1999):** "Validation of the fluorescence polarization assay as a serological test for the presumptive diagnosis of porcine brucellosis." *Veterinary Microbiology* 68(3-4): 245-53.
- Nikitin, A., Cohen D., Todd J.D., Lief F.S. (1972):** "Epidemiological studies of A-Hong Kong-68 virus infection in dogs." *Bulletin of the World Health Organization* 47(4): 471-9.
- Nishizawa, T., Takahashi M., Mizuo H., Miyajima H., Gotanda Y., Okamoto H. (2003):** "Characterization of Japanese swine and human hepatitis E virus isolates of genotype IV with 99 % identity over the entire genome." *J Gen Virol* 84(Pt 5): 1245-51.
- Nishizawa, T., Takahashi M., Endo K., Fujiwara S., Sakuma N., Kawazuma F., Sakamoto H., Sato Y., Bando M., Okamoto H. (2005):** "Analysis of the full-length genome of hepatitis E virus isolates obtained from wild boars in Japan." *The Journal of General Virology* 86(Pt 12): 3321-6.
- Nobman, J.A. (2011):** "Untersuchungen zur Vergleichbarkeit der Ergebnisse des serologischen Nachweises von Salmonella-Antikörpern bei Schlachtschweinen in Blutserum und Fleischsaft aus verschiedenen Muskelpartien." *Berliner und Münchner Tierärztliche Wochenschrift* 124: 313-319.
- Okamoto, H., Takahashi M., Nishizawa T., Usui R., Kobayashi E. (2004):** "Presence of antibodies to hepatitis E virus in Japanese pet cats." *Infection* 32(1): 57-8.
- Olsen, C.W. (2002):** "The emergence of novel swine influenza viruses in North America." *Virus Research* 85(2): 199-210.

- Olsen, J.E., Garin-Bastuji B., Blasco J.M., Nicola A.M., Samarino L. (2012):** "Brucellosis." In: Zimmerman, J.J, Karriker, L.A., Ramirez, A., Schwartz, K.J., Stevenson, G.W., (Eds.) Diseases of swine, 10<sup>th</sup> Edition, Wiley-Blackwell-Verlag: 697-708.
- Olsen, S.C., Bellaire B.H., Roop R.M., Thoen C.O. (2010):** "Brucella." In: Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals, Gyle J.F., Prescott J.F., Songer J.G., Thoen C.O., 4<sup>th</sup> Edition, Wiley-Blackwell Verlag, ISBN: 9780813812373: 429-442.
- Oren, S.L., Swenson S.L., Kinker D.R., Hill H.T., Hu H.L., Zimmerman J. (1993):** "Evaluation of serological pseudorabies tests for the detection of antibodies during early infection." Journal of Veterinary Diagnostic Investigation: official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc 5(4): 529-33.
- Osterrieder, K. (2011):** "Familie Herpesviridae." Tiermedizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre, Herausgeber: Hans-Joachim Selbitz, Uwe Truyen, Peter Valentin-Weigand 9. Auflage: 440-467.
- Pannwitz, G., Freuling C., Denzin N., Schaarschmidt U., Nieper H., Hlinak A., Burkhardt S., Klopries M., Dedek J., Hoffmann L., Kramer M., Selhorst T., Conraths F.J., Mettenleiter T., Muller T. (2012):** "A long-term serological survey on Aujeszky's disease virus infections in wild boar in East Germany." Epidemiology and Infection 140(2): 348-58.
- Pannwitz, S. (1984):** "Serologische Übersichtsuntersuchungen auf Brucellose bei Wildschweinen." Monatshefte für die Veterinärmedizin 39(18): 627-628.
- Pappas, G., Akritidis N., Bosilkovski M., Tsianos E. (2005):** "Brucellosis." New England Journal of Medicine 352(22): 2325-36.
- Pappas, G., Papadimitriou P., Akritidis N., Christou L., Tsianos E.V. (2006):** "The new global map of human brucellosis." Lancet Infectious Diseases 6(2): 91-9.
- Paul-Ehrlich-Institut (2013a):** "Impfstoffe."  
<http://www.pei.de/DE/Arzneimittel/impfstoff-impfstoffe-fuer-den-menschen/impfstoffe-fuer-den-menschen-inhalt.html?nn=3252206#doc3257840bodyText2>.
- Paul-Ehrlich-Institut (2013b):** "Schweineimpfstoffe."  
<http://www.pei.de/DE/Arzneimittel/impfstoff-impfstoffe-fuer-tiere/schweine/schweine-node.html>.

- Paulo, P.S., Vigliocco A.M., Ramondino R.F., Marticorena D., Bissi E., Briones G., Gorchs C., Gall D., Nielsen K. (2000):** "Evaluation of primary binding assays for presumptive serodiagnosis of swine brucellosis in Argentina." *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 7(5): 828-31.
- Pavio, N., Meng X.J., Renou C. (2010):** "Zoonotic hepatitis E: animal reservoirs and emerging risks." *Veterinary Research* 41(6): 46.
- Payne, C.J., Ellis T.M., Plant S.L., Gregory A.R., Wilcox G.E. (1999):** "Sequence data suggests big liver and spleen disease virus (BLSV) is genetically related to hepatitis E virus." *Veterinary Microbiology* 68(1-2): 119-25.
- Pennecke, J. (2014):** "Untersuchungen zur Aufrechterhaltung des Status des "frei von Aujeszky'scher Krankheit" in Deutschland." Persönliche Mitteilung; Landesuntersuchungsamt Rheinland Pfalz, Ref. 23; Tierseuchen, Tierschutz.
- Pensaert, M., Ottis K., Vandeputte J., Kaplan M.M., Bachmann P.A. (1981):** "Evidence for the natural transmission of influenza A virus from wild ducts to swine and its potential importance for man." *Bulletin of the World Health Organization* 59(1): 75-8.
- Peralta, B., Biarnes M., Ordonez G., Porta R., Martin M., Mateu E., Pina S., Meng X.J. (2009a):** "Evidence of widespread infection of avian hepatitis E virus (avian HEV) in chickens from Spain." *Veterinary Microbiology* 137(1-2): 31-6.
- Peralta, B., Casas M., de Deus N., Martin M., Ortuno A., Perez-Martin E., Pina S., Mateu E. (2009b):** "Anti-HEV antibodies in domestic animal species and rodents from Spain using a genotype 3-based ELISA." *Veterinary Microbiology* 137(1-2): 66-73.
- Piontowski, A. (2011):** "Salmonellen beim Schwein-rechtlich betrachtet." *Salmonellen Handbuch Teil 1, Agrar und Veterinär-Akademie*, 1. Auflage.
- Plonait, H., Bickhardt K. (1997):** "Salmonelleninfektion und Salmonellose." In: *Lehrbuch der Schweinekrankheiten*, Parey Verlag, Berlin, 2. neubearbeitete Auflage: 344-348.
- Poester, F.P., Nielsen K., E. S.L., Yu W.L. (2010):** "Diagnosis of Brucellosis." *The Open Veterinary Science Journal* 4: 46-60.

- Polley, B., Richter M. (2015):** "Hepatitis E-Virus-Antikörper in baden-württembergischen Wildschweinen; Bericht aus dem Laboralltag." Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt Stuttgart, [https://dl.dropboxusercontent.com/u/8384843/Homepage/CVUAS\\_HepatitisE\\_Wildschwein\\_2015.pdf](https://dl.dropboxusercontent.com/u/8384843/Homepage/CVUAS_HepatitisE_Wildschwein_2015.pdf).
- Pomeranz, L.E., Reynolds A.E., Hengartner C.J. (2005):** "Molecular biology of pseudorabies virus: impact on neurovirology and veterinary medicine." *Microbiology and Molecular Biology Reviews* : MMBR 69(3): 462-500.
- Pomorska-Mol, M., Markowska-Daniel I., Kwit K., Czyzewska E., Dors A., Rachubik J., Pejsak Z. (2014):** "Immune and inflammatory response in pigs during acute influenza caused by H1N1 swine influenza virus." *Archives of Virology* 159(10): 2605-2614.
- Popoff, M.Y., Bockemuhl J., Gheesling L.L. (2004):** "Supplement 2002 (no. 46) to the Kauffmann-White scheme." *Research in Microbiology* 155(7): 568-70.
- Popoff, M.Y., Le Minor L.E. (2005):** "Genus XXXIII Salmonella." *BERGEY'S MANUAL® OF Systematic Bacteriology, Second Edition, Part B, The Gammaproteobacteria* 2: 764-792.
- Purcell, R.H., Emerson S.U. (2008):** "Hepatitis E: an emerging awareness of an old disease." *Journal of Hepatology* 48(3): 494-503.
- Purdy, M.A., McCaustland K.A., Krawczynski K., Spelbring J., Reyes G.R., Bradley D.W. (1993):** "Preliminary evidence that a trpE-HEV fusion protein protects cynomolgus macaques against challenge with wild-type hepatitis E virus (HEV)." *Journal of Medical Virology* 41(1): 90-4.
- Qiagen Leipzig (2014):** Persönliche Mitteilung Frau Seifert; [sanda.seifert@qiagen.com](mailto:sanda.seifert@qiagen.com).
- Reed, W.M., Olander H.J., Thacker H.L. (1986):** "Studies on the pathogenesis of *Salmonella typhimurium* and *Salmonella choleraesuis* var. *kunzendorf* infection in weanling pigs." *American Journal of Veterinary Research* 47(1): 75-83.
- Reiner, G., Melchinger E., Kramarova M., Pfaff E., Buttner M., Saalmuller A., Geldermann H. (2002):** "Detection of quantitative trait loci for resistance/susceptibility to pseudorabies virus in swine." *Journal of General Virology* 83(Pt 1): 167-72.

- Reperant, L.A., Rimmelzwaan G.F., Kuiken T. (2009):** "Avian influenza viruses in mammals." *Revue Scientifique et Technique* 28(1): 137-59.
- Reperant, L.A., Osterhaus A.D.M.E., Kuiken T. (2012):** "Influenza Virus Infections, ." In: *Infectious diseases of wild mammals and birds in Europe*, edited by Gavier-Wieden, Duff, Meredith; Wiley-Blackwell-Verlag, 1. Auflage: 37-58.
- Reuter, G., Fodor D., Forgach P., Katai A., Szucs G. (2009):** "Characterization and zoonotic potential of endemic hepatitis E virus (HEV) strains in humans and animals in Hungary." *J Clin Virol* 44(4): 277-81.
- Rhyan, J.C. (2013):** "Pathogenesis and pathobiology of brucellosis in wildlife." *Rev Sci Tech* 32(1): 127-36.
- Riddell, C. (1997):** "Hepatitis-splenomegaly syndrome." Calnek BW et al. Editors. *Diseases of Poultry*. Ames (IA): Iowa State University Press: 1041.
- Robert Koch-Institut (2002):** "Bakterielle Gastroenteritiden in Deutschland 2001." *Epidemiologisches Bulletin*  
[http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2002/Ausgabenlinks/50\\_02.pdf?\\_\\_blob=publicationFile](http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2002/Ausgabenlinks/50_02.pdf?__blob=publicationFile): 417-419.
- Robert Koch-Institut (2007):** "Falldefinitionen des Robert Koch-Instituts zur Übermittlung von Erkrankungs- oder Todesfällen und Nachweisen von Krankheitserregern."  
[http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/IfSG/Falldefinition/Falldefinition.pdf?\\_\\_blob=publicationFile](http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/IfSG/Falldefinition/Falldefinition.pdf?__blob=publicationFile).
- Robert Koch-Institut (2010):** "Aktuelle Zunahme der Hepatitis-E-Meldezahlen in Deutschland." *Epidemiologisches Bulletin*  
[http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2010/Ausgaben/34\\_10.pdf?\\_\\_blob=publicationFile](http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2010/Ausgaben/34_10.pdf?__blob=publicationFile) 34: 346.
- Robert Koch-Institut (2011):** "Web-basierte Abfrage der Meldedaten gemäß Infektionsschutzgesetz (IfSG), SURVSTAT@RKI 2.0,  
<https://survstat.rki.de/Default.aspx>."
- Robert Koch-Institut (2013):** "Web-basierte Abfrage der Meldedaten gemäß Infektionsschutzgesetz (IfSG), SURVSTAT@RKI 2.0,  
<https://survstat.rki.de/Default.aspx>."

- Rodak, L., Smid B., Valicek L., Jurak E. (1987):** "Four-layer enzyme immunoassay (EIA) detection of differences in IgG, IgM and IgA antibody response to Aujeszky's disease virus in infected and vaccinated pigs." *Veterinary microbiology* 13(2): 121-33.
- Roemelt, M., Klingelhofer I., Koenig A., Braun B., Zimmer K., Reiner G. (2012):** "Classical Swine Fever in Wild Boars as a permanent Threat for Pig Herd Health: Success of official Control Measures." 4th Symposium of Porcine Health Management, 25.-27 April 2012, Bruges, Belgium.
- Roemelt, M. (2013):** "Klassische Schweinepest bei Wildschweien in Rheinland-Pfalz: Erfolg offizieller Kontrollmaßnahmen." Dissertation, [http://geb.uni-giessen.de/geb/volltexte/2013/10147/pdf/RoemeltMaria\\_2013\\_10\\_16.pdf](http://geb.uni-giessen.de/geb/volltexte/2013/10147/pdf/RoemeltMaria_2013_10_16.pdf).
- Rogers, R.J., Cook D.R., Ketterer P.J., Baldock F.C., Blackall P.J., Stewart R.W. (1989):** "An evaluation of three serological tests for antibody to *Brucella suis* in pigs." *Aust Vet J* 66(3): 77-80.
- Röhm, C., Zhou N., Suss J., Mackenzie J., Webster R.G. (1996):** "Characterization of a novel influenza hemagglutinin, H15: criteria for determination of influenza A subtypes." *Virology* 217(2): 508-16.
- Roost, H., Seelmann M., Konow M., Klopries M., Melzer F., Wölk R., Kay M., Dey E., Mildner H., Heyne H. (2010):** "Untersuchung zur Früherkennung und Überwachung der Schweinebrucellose (*Brucella suis*) in Freilandhaltungen in Mecklenburg-Vorpommern." *Tierärztliche Umschau* 65: 278-284.
- Rose, N., Boutrouille A., Fablet C., Madec F., Eloit M., Pavo N. (2010):** "The use of Bayesian methods for evaluating the performance of a virus-like particles-based ELISA for serology of hepatitis E virus infection in swine." *Journal of Virological Methods* 163(2): 329-35.
- Ruiz-Fons, F., Segales J., Gortazar C. (2008):** "A review of viral diseases of the European wild boar: effects of population dynamics and reservoir role." *Veterinary Journal* 176(2): 158-69.
- Ruiz-Fons, F. (2012):** "Herpesvirus infections; Aujeszky's Disease, or Pseudorabies." In: *Infectious diseases of wild mammals and birds in Europe*, edited by Gavier-Wieden, Duff, Meredith; Wiley-Blackwell-Verlag, 1. Auflage: 3-36.
- Rutjes, S.A., Lodder-Verschoor F., Lodder W.J., van der Giessen J., Reesink H., Bouwknegt M., de Roda Husman A.M. (2010):** "Seroprevalence and molecular detection of hepatitis E virus in wild boar and red deer in The Netherlands." *Journal of Virological Methods* 168(1-2): 197-206.

- Saad, M.D., Hussein H.A., Bashandy M.M., Kamel H.H., Earhart K.C., Fryauff D.J., Younan M., Mohamed A.H. (2007):** "Hepatitis E virus infection in work horses in Egypt." *Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases* 7(3): 368-73.
- Sattler, T., Sailer E., Wodak E., Schmoll F. (2012):** "[Serological detection of emerging viral infections in wild boars from different hunting regions of Southern Germany]." *Tierärztliche Praxis Ausg G, Grosstiere/Nutztiere* 40(1): 27-32.
- Schneider-Bühl, L., Polley B., Süß-Dombrowski C., Müller S., Harder T., Hoferer M., Sting R. (2015):** "Nachweis des neuen Influenza A Subtyps H1pdmN2 in einem Schweinebestand mit schwerer respiratorischer Symptomatik." *Berliner Münchner Tierärztliche Wochenschrift*, DOI-Nummer: 10.2376/0005-9366-12820 128: 20-23.
- Schemann, K., Toribio J.A., Taylor M.R., Ward M.P., Dhand N.K. (2014):** "Survey of Australian equine veterinarians evaluating their biosecurity training and perceptions and opinions about the management of the 2007 equine influenza outbreak." *Australian Veterinary Journal* 92(4): 93-100.
- Schielke, A., Sachs K., Lierz M., Appel B., Jansen A., Johne R. (2009):** "Detection of hepatitis E virus in wild boars of rural and urban regions in Germany and whole genome characterization of an endemic strain." *Virology Journal* 6: 58.
- Schnurrbusch, U. (2006):** "Physiologie und Pathologie der Fortpflanzung weiblicher Tiere, Brucellose." In: Heinritzi/Gindele, Reiner/Schnurrbusch: *Schweinekrankheiten*, ISBN: 9783825283254: 257-258.
- Schoenbaum, M.A., Beran G.W., Murphy D.P. (1990):** "A study comparing the immunologic responses of swine to pseudorabies viral antigens based on the ELISA, serum virus neutralization, and latex agglutination tests." *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation: official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc* 2(1): 29-34.
- Scholz, H.C., Nockler K., Gollner C., Bahn P., Vergnaud G., Tomaso H., Al Dahouk S., Kampfer P., Cloeckeaert A., Maquart M., Zygmunt M.S., Whatmore A.M., Pfeffer M., Huber B., Busse H.J., De B.K. (2010):** "Brucella inopinata sp. nov., isolated from a breast implant infection." *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 60(Pt 4): 801-8.
- Schrader, C., Süß J. (2003):** "Genetic characterization of a porcine H1N2 influenza virus strain isolated in Germany." *Intervirology* 46(1): 66-70

- Schulze, C., Neumann G., Grutze I., Engelhardt A., Mirle C., Ehlert F., Hlinak A. (2003):** "[Case report: Porcine circovirus type 2 infection in an European wild boar (*Sus scrofa*) in the state of Brandenburg, Germany]." DTW. Deutsche Tierärztliche Wochenschrift 110(10): 426-8.
- Schulze, C., Hlinak A., Wohlsein P., Kutzer P., Muller T. (2010):** "Spontaneous Aujeszky's disease (pseudorabies) in European wild boars (*Sus scrofa*) in the federal state of Brandenburg, Germany." Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift 123(9-10): 359-64.
- Schulze-Horsel, T. (2009):** "Frage und Antwort; Influenza-Problem?" Wochenblatt für Landwirtschaft und Landleben 23: 4-5.
- Schürmann, E.-M., Boll K., Singer H., Neubauer-Juric A. (2013):** "Aujeszky'sche Krankheit: Erste Ergebnisse des Wildschwein-Monitorings in Bayern." Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft (DVG), Fachgruppe AVID; 6. Riemser-Diagnostiktage, 21.-22. November 2013.
- Schwartz, E., Jenks N.P., Van Damme P., Galun E. (1999):** "Hepatitis E virus infection in travelers." Clinical Infectious Diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America 29(5): 1312-4.
- Schwartz, K.J. (1999):** "Salmonellosis." STRAW, P., MENGERLING, W., D'ALLAIRE u. TAYLOR, D, Diseases of swine, Wiley-Blackwell-Verlag, 8<sup>th</sup> Edition: 535-551.
- SchwSalmov (2007):** "Verordnung zur Verminderung der Salmonellenverbreitung durch Schlachtschweine (Schweine-Salmonellen-Verordnung) vom 13. März 2007, die durch Artikel 27 der Verordnung vom 17. April 2014 geändert worden ist." <http://www.gesetze-im-internet.de/bundesrecht/schwsalmov/gesamt.pdf>.
- Selbitz, H.J. (2007):** "Gattung Brucella." In: Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre : 127 Tabellen / Michael Rolle/Anton Mayr. Hrsg. von Anton Mayr. Unter Mitarb. von Mathias Büttner, 8. überarbeitete Auflage, Enke-Verlag Stuttgart: 412-418.
- Selbitz, H.J. (2011):** "Gattung Salmonella." Tiermedizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre, Herausgeber: Hans-Joachim Selbitz, Uwe Truyen, Peter Valentin-Weigand 9. Auflage: 199-214.
- Selbitz, H.J. (2013):** "Impfungen bei Schweinen." Der Praktische Tierarzt, Suppl. zum Heft 2 94: 8-17.

- Seminati, C., Mateu E., Peralta B., de Deus N., Martin M. (2008):** "Distribution of hepatitis E virus infection and its prevalence in pigs on commercial farms in Spain." *Veterinary Journal* 175(1): 130-2.
- Shelobolina, E.S., Sullivan S.A., O'Neill K.R., Nevin K.P., Lovley D.R. (2004):** "Isolation, characterization, and U(VI)-reducing potential of a facultatively anaerobic, acid-resistant Bacterium from Low-pH, nitrate- and U(VI)-contaminated subsurface sediment and description of *Salmonella subterranea* sp. nov." *Applied and Environmental Microbiology* 70(5): 2959-65.
- Smith, H.M., Reporter R., Rood M.P., Linscott A.J., Mascola L.M., Hogrefe W., Purcell R.H. (2002):** "Prevalence study of antibody to ratborne pathogens and other agents among patients using a free clinic in downtown Los Angeles." *The Journal of Infectious Diseases* 186(11): 1673-6.
- Sodemann, W. (2005):** "Influenza in Deutschland: Als Zoonose durch Trinkwasser übertragbar? Hinweise und Indizien." *Umwelt-Medizin-Gesellschaft*, 18. Jahrgang, Ausgabe 1/2005, wissenschaftlicher Originalbeitrag, *Infektionskrankheiten*: 49-60.
- Sonoda, H., Abe M., Sugimoto T., Sato Y., Bando M., Fukui E., Mizuo H., Takahashi M., Nishizawa T., Okamoto H. (2004):** "Prevalence of hepatitis E virus (HEV) Infection in wild boars and deer and genetic identification of a genotype 3 HEV from a boar in Japan." *Journal of Clinical Microbiology* 42(11): 5371-4.
- Starnes, C.T., Talwani R., Horvath J.A., Duffus W.A., Bryan C.S. (2004):** "Brucellosis in two hunt club members in South Carolina." *Journal of the South Carolina Medical Association* 100(4): 113-5.
- Steinbach, G., Hartung M. (1999):** "[Attempt to estimate the share of human *Salmonella* infections, which are attributable to *Salmonella* originating from swine]." *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift* 112(8): 296-300.
- Steinbach, G. (2002):** "Bekämpfung von *Salmonella*-Infektionen bei Schweinen - Möglichkeiten und Grenzen von serologischen Untersuchungen." *Fleischwirtschaft* 12: 93-96.
- Steinbach, G., Kröll U., Meyer H., Methner U. (2003a):** "Die Brauchbarkeit serologischer Untersuchungen bei der Analyse des *Salmonellen*geschehens in Schweinebeständen." *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift* 116: 281-287.

- Steinbach, G., Methner U., Springer S., Lindner T., Selbitz H.J. (2003b):** "Untersuchungen zur humoralen Immunantwort des Schweins nach experimenteller Infektion mit Salmonella Typhimurium." Berliner Münchner Tierärztliche Wochenschrift 116: 124-129.
- Steinrigl, A., Revilla-Fernandez S., Kolodziejek J., Wodak E., Bago Z., Nowotny N., Schmoll F., Kofer J. (2012):** "Detection and molecular characterization of Suid herpesvirus type 1 in Austrian wild boar and hunting dogs." Veterinary Microbiology 157(3-4): 276-84.
- Stephen, J., Wallis T.S., Starkey W.G., Candy D.C., Osborne M.P., Haddon S. (1985):** "Salmonellosis: in retrospect and prospect." Ciba Foundation Symposium 112: 175-92.
- Sting, R. (2013):** "Brucellose bei einem Reh - Eine fast vergessene Tierseuche bei Wiederkäuern, Bericht aus dem Laboralltag."  
[http://www.cvuas.de/pub/beitrag.asp?subid=0&Thema\\_ID=8&ID=1669&Pdf=N0](http://www.cvuas.de/pub/beitrag.asp?subid=0&Thema_ID=8&ID=1669&Pdf=N0).
- Sting, R., Schwabe I., Oehme R., Elschner M.C., Melzer F. (2014):** "First report of a Brucella suis infection in roe deer (Capreolus capreolus)." Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift 127(3-4): 120-2.
- Stuart, F.A., Corbel M.J., Brewer R.A. (1987):** "Experimental Brucella abortus infection in pigs." Veterinary Microbiology 14(4): 365-79.
- Stubbe, W., Stubbe M. (1977):** "Vergleichende Beiträge zur Reproduktions- und Geburtsbiologie von Wild- und Hausschwein." Beiträge zur Jagd- und Wildforschung Band 16: 212-231.
- Suter, P.F. (1994):** "Infektionskrankheiten, Pseudowut, Aujeszky'sche Krankheit, Juckpest, infektiöse Bulbäparalyse (Pseudorabies)." In: Praktikum der Hundeklinik, Hans G. Niemand, Peter F. Suter, Studienausg./hrsg. von Peter F. Suter.-Berlin Parey, 2000, 8. Auflage: 217-218.
- Takahashi, M., Nishizawa T., Miyajima H., Gotanda Y., Iita T., Tsuda F., Okamoto H. (2003a):** "Swine hepatitis E virus strains in Japan form four phylogenetic clusters comparable with those of Japanese isolates of human hepatitis E virus." The Journal of General Virology 84(Pt 4): 851-62.
- Takahashi, M., Nishizawa T., Okamoto H. (2003b):** "Identification of a genotype III swine hepatitis E virus that was isolated from a Japanese pig born in 1990 and that is most closely related to Japanese isolates of human hepatitis E virus." Journal of Clinical Microbiology 41(3): 1342-3.

- Takahashi, M., Nishizawa T., Tanaka T., Tsatsralt-Od B., Inoue J., Okamoto H. (2005):** "Correlation between positivity for immunoglobulin A antibodies and viraemia of swine hepatitis E virus observed among farm pigs in Japan." *Journal of General Virology* 86(Pt 6): 1807-13.
- Tamura, A., Shimizu Y.K., Tanaka T., Kuroda K., Arakawa Y., Takahashi K., Mishiro S., Shimizu K., Moriyama M. (2007):** "Persistent infection of hepatitis E virus transmitted by blood transfusion in a patient with T-cell lymphoma." *Hepatology Research: the official journal of the Japan Society of Hepatology* 37(2): 113-20.
- Tang, J.W., Shetty N., Lam T.T., Hon K.L. (2010):** "Emerging, novel, and known influenza virus infections in humans." *Infectious Disease Clinics of North America* 24(3): 603-17.
- Tang, X., Yang C., Gu Y., Song C., Zhang X., Wang Y., Zhang J., Hew C.L., Li S., Xia N., Sivaraman J. (2011):** "Structural basis for the neutralization and genotype specificity of hepatitis E virus." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108(25): 10266-71.
- Tei, S., Kitajima N., Takahashi K., Mishiro S. (2003):** "Zoonotic transmission of hepatitis E virus from deer to human beings." *Lancet* 362(9381): 371-3.
- Tenhagen (2008):** "Pathogene Mikroorganismen in Wildfleisch." *BVL Berichte zur Lebensmittelsicherheit* 2008: 30-31.
- Thiel, H.-J., König M. (2011):** "Familie Hepeviridae." *Tiermedizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre*, Herausgeber: Hans-Joachim Selbitz, Uwe Truyen, Peter Valentin-Weigand, 9. Auflage: 638-640.
- TierSeuchAnzV (2011):** "Verordnung über anzeigeplichtige Tierseuchen in der Fassung der Bekanntmachung vom 19. Juli 2011, die durch Artikel 1 der Verordnung vom 12. Juni 2013 geändert worden ist." <http://www.gesetze-im-internet.de/tierseuchanzv/BJNR011780991.html>.
- TKrMeldpflV (2011):** "Verordnung über meldepflichtige Tierkrankheiten in der Fassung der Bekanntmachung vom 11. Februar 2011, die zuletzt durch Artikel 5 der Verordnung vom 17. April 2014 geändert worden ist." [http://www.gesetze-im-internet.de/bundesrecht/tkrmeldpflv\\_1983/gesamt.pdf](http://www.gesetze-im-internet.de/bundesrecht/tkrmeldpflv_1983/gesamt.pdf).
- Tomiyama, D., Inoue E., Osawa Y., Okazaki K. (2009):** "Serological evidence of infection with hepatitis E virus among wild Yezo-deer, *Cervus nippon yesoensis*, in Hokkaido, Japan." *Journal of Viral Hepatitis* 16(7): 524-8.

- Tozzini, F., Poli A., Della Croce G. (1982):** "Experimental infection of European wild swine (*Sus scrofa* L.) with pseudorabies virus." *Journal of Wildlife Diseases* 18(4): 425-8.
- Truong, Q.L., Seo T.W., Yoon B.I., Kim H.C., Han J.H., Hahn T.W. (2013):** "Prevalence of swine viral and bacterial pathogens in rodents and stray cats captured around pig farms in Korea." *Journal of Veterinary Medical Science / the Japanese Society of Veterinary Science* 75(12): 1647-50.
- Tsarev, S.A., Emerson S.U., Tsareva T.S., Yarbough P.O., Lewis M., Govindarajan S., Reyes G.R., Shapiro M., Purcell R.H. (1993):** "Variation in course of hepatitis E in experimentally infected cynomolgus monkeys." *Journal of Infectious Diseases* 167(6): 1302-6.
- Tse, M., Kim M., Chan C.H., Ho P.L., Ma S.K., Guan Y., Peiris J.S. (2012):** "Evaluation of three commercially available influenza A type-specific blocking enzyme-linked immunosorbent assays for seroepidemiological studies of influenza A virus infection in pigs." *Clinical and Vaccine Immunology : CVI* 19(3): 334-7.
- Van der Gaag, M.A., Saatkamp H.W., Huirne R.B.M. (2001):** "Elicitation of expert knowledge on dynamics of Salmonella infections and contamination in the pork chain." *Salin pork 2001 4<sup>th</sup> Symposium on Epidemiology and Control of Salmonella and other Food Borne Pathogens in Pork 2.-5. Sept. 2001, Leipzig, Proceedings: 259-261.*
- Van der Poel, W.H., Verschoor F., van der Heide R., Herrera M.I., Vivo A., Kooreman M., de Roda Husman A.M. (2001):** "Hepatitis E virus sequences in swine related to sequences in humans, The Netherlands." *Emerging Infectious Diseases* 7(6): 970-6.
- Van der Wolf, P. (2004):** "Monitoring von Salmonella im Schweinebestand: Worauf kommt es an?" *Der Praktische Tierarzt* 1(85): 40-45.
- Van der Wolf, P.J., Wolbers W.B., Elbers A.R., van der Heijden H.M., Koppen J.M., Hunneman W.A., van Schie F.W., Tielen M.J. (2001):** "Herd level husbandry factors associated with the serological Salmonella prevalence in finishing pig herds in The Netherlands." *Veterinary Microbiology* 78(3): 205-19.
- Van Oirschot, J.T., Rziha H.J., Moonen P.J., Pol J.M., van Zaane D. (1986):** "Differentiation of serum antibodies from pigs vaccinated or infected with Aujeszky's disease virus by a competitive enzyme immunoassay." *Journal of General Virology* 67 ( Pt 6): 1179-82.

- Van Parys, A., Boyen F., Leyman B., Verbrugge E., Maes D., Haesebrouck F., Pasmans F. (2013):** "Induction of seroconversion and persistence of Salmonella Typhimurium in pigs are strain dependent." *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 36(5): 465-71.
- Van Reeth, K., Brown I.H., Pensaert M. (2000):** "Isolations of H1N2 influenza A virus from pigs in Belgium." *Vet Rec* 146(20): 588-9.
- Van Reeth, K., Brown I.H., Durrwald R., Foni E., Labarque G., Lenihan P., Maldonado J., Markowska-Daniel I., Pensaert M., Pospisil Z., Koch G. (2008):** "Seroprevalence of H1N1, H3N2 and H1N2 influenza viruses in pigs in seven European countries in 2002-2003." *Influenza and Other Respiratory Viruses* 2(3): 99-105.
- Van Reeth, K., Brown I.H., Olsen C.W. (2012):** "Influenza Virus." In: Zimmerman, J.J, Karriker, L.A., Ramirez, A., Schwartz, K.J., Stevenson, G.W., (Eds.) *Diseases of swine*, 10<sup>th</sup> Edition, Wiley-Blackwell-Verlag: 557-571.
- Vengust, G., Valencak Z., Bidovec A. (2005):** "Presence of antibodies against Aujeszky's disease virus in wild boar (*Sus scrofa*) in Slovenia." *Journal of Wildlife Diseases* 41(4): 800-2.
- Vicente, J., Ruiz-Fons F., Vidal D., Höfle U., Acevedo P., Villanua D., Fernández-de-Mera I.G., Martín M.P., Gortazar C. (2005):** "Serosurvey of Aujeszky's disease virus infection in European wild boar in Spain." *The Veterinary Record* 156(408-412).
- Vieira-Pinto, M., Morais L., Caleja C., Themudo P., Torres C., Igrejas G., Poeta P., Martins C. (2011):** "Salmonella sp. in game (*Sus scrofa* and *Oryctolagus cuniculus*)." *Foodborne Pathogens and Disease* 8(6): 739-40.
- Vincent, A.L., Ma W., Lager K.M., Janke B.H., Richt J.A. (2008):** "Swine influenza viruses, a North American perspective." *Advances in Virus Research* 72: 127-54.
- Visscher, C.F., Klein G., Verspohl J., Beyerbach M., Stratmann-Selke J., Kamphues J. (2011):** "Serodiversity and serological as well as cultural distribution of Salmonella on farms and in abattoirs in Lower Saxony, Germany." *International Journal of Food Microbiology* 146(1): 44-51.
- Vitral, C.L., Pinto M.A., Lewis-Ximenez L.L., Khudyakov Y.E., dos Santos D.R., Gaspar A.M. (2005):** "Serological evidence of hepatitis E virus infection in different animal species from the Southeast of Brazil." *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 100(2): 117-22.

- Volf, J., Stepanova H., Matiasovic J., Kyrova K., Sisak F., Havlickova H., Leva L., Faldyna M., Rychlik I. (2012):** "Salmonella enterica serovar Typhimurium and Enteritidis infection of pigs and cytokine signalling in palatine tonsils." *Veterinary Microbiology* 156(1-2): 127-35.
- Von Altrock, A., Schutte A., Hildebrandt G. (2000):** "[Results of the German investigation on the EU project "Salmonella in Pork (Salinork)"--1. Investigations in the farms]." *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift* 113(5): 191-201.
- Von Dedek, J. (1983):** "Zur Epizootiologie der Schweinebrucellose unter besonderer Berücksichtigung von Erregerreservoirien." *Monatshefte für die Veterinärmedizin* (38): 852-856.
- Von Dedek, J., Loepelmann H., Nattermann H. (1986):** "Serologische Untersuchungen auf Brucellose und Tularämie beim Schwarzwild." *Monatshefte für die Veterinärmedizin*(41): 150-153.
- Wacheck, S., Sarno E., Martlbauer E., Zweifel C., Stephan R. (2012a):** "Seroprevalence of anti-hepatitis E virus and anti-Salmonella antibodies in pigs at slaughter in Switzerland." *Journal of Food Protection* 75(8): 1483-5.
- Wacheck, S., Werres C., Mohn U., Dorn S., Soutschek E., Fredriksson-Ahomaa M., Martlbauer E. (2012b):** "Detection of IgM and IgG against hepatitis E virus in serum and meat juice samples from pigs at slaughter in Bavaria, Germany." *Foodborne Pathogens and Disease* 9(7): 655-60.
- Wallis, T.S. (2001):** "Salmonella pathogenesis and immunity: we need effective multivalent vaccines." *Veterinary Journal* 161(2): 104-6.
- Wang, Y.C., Zhang H.Y., Xia N.S., Peng G., Lan H.Y., Zhuang H., Zhu Y.H., Li S.W., Tian K.G., Gu W.J., Lin J.X., Wu X., Li H.M., Harrison T.J. (2002):** "Prevalence, isolation, and partial sequence analysis of hepatitis E virus from domestic animals in China." *J Med Virol* 67(4): 516-21.
- Wathen, L.M., Platt K.B., Wathen M.W., Van Deusen R.A., Whetstone C.A., Pirtle E.C. (1985):** "Production and characterization of monoclonal antibodies directed against pseudorabies virus." *Virus Research* 4(1): 19-29.
- Weber, A., Krauss H. (1975):** "Aktuelle Zoonosen in der tierärztlichen Praxis, Erkrankungen durch Bakterien, Brucellose." *Tierärztliche Praxis, Band 3*: 271-272.

- Weber, A. (1981):** "Zum Vorkommen von Antikörpern gegen Brucellen (Br. abortus, Br. melitensis und Br. canis) bei Schalenwild in der Bundesrepublik Deutschland." Zeitschrift für Jagdwissenschaft 27: 191-195.
- Weiss, E. (2007):** "Verdauungsorgane, Darm, Diphteroid-nekrotisierende Darmentzündung, Salmonellose." Grundriss der speziellen pathologischen Anatomie der Haustiere, 6. Auflage, herausgegeben von Erwin Dahme und Eugen Weiss: 138.
- Weltorganisation für Tiergesundheit (2004):** "(OIE), Manual of Diagnostik Tests and Vaccines for Terrestrial Animals " <http://www.oie.int/manual-of-diagnostic-tests-and-vaccines-for-terrestrial-animals/>.
- Weltorganisation für Tiergesundheit (2010a):** "Porcine Brucellosis." (OIE), Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals [http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahm/2.08.05\\_PORCINE\\_BRUC.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.08.05_PORCINE_BRUC.pdf).
- Weltorganisation für Tiergesundheit (2010b):** "Salmonellosis." (OIE), Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals <http://www.oie.int/manual-of-diagnostic-tests-and-vaccines-for-terrestrial-animals/>.
- Weltorganisation für Tiergesundheit (2012):** "Aujeszky's Disease." (OIE), Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, [http://www.oie.int/fileadmin/Home/fr/Health\\_standards/tahm/2.01.02\\_AUJESZKYS\\_DIS.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/fr/Health_standards/tahm/2.01.02_AUJESZKYS_DIS.pdf).
- Wenzel, J.J., Preiss J., Schemmerer M., Huber B., Plentz A., Jilg W., (2011):** "Detection of hepatitis E virus (HEV) from porcine livers in Southeastern Germany an high sequence homology to human HEV isolates." Journal of Clinical Virology: the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology 52(1): 50-4.
- Werres, C. (2010):** "Entwicklung eines ELISA zum Nachweis von Hepatitis E Antikörpern aus Serum und Fleischsaft des Schweins." [http://edoc.ub.uni-muenchen.de/11961/1/Werres\\_Carolin.pdf](http://edoc.ub.uni-muenchen.de/11961/1/Werres_Carolin.pdf).
- Wichmann, O., Schimanski S., Koch J., Kohler M., Rothe C., Plentz A., Jilg W., Stark K. (2008):** "Phylogenetic and case-control study on hepatitis E virus infection in Germany." The Journal of Infectious Diseases 198(12): 1732-41.
- Wiesner, H. (1987):** "Wildschwein." In: Krankheiten der Wildtiere. Exotische und heimische Tiere in der Tierarztpraxis, Herausgeber Gabisch, K., Zwart, ISBN 10: 3877060455, Schlütersche Verlagsanstalt, Hannover: 531-545.

- Wilcock, B.P., Olander H.J. (1977):** "Neurologic disease in naturally occurring Salmonella choleraesuis infection in pigs." *Veterinary Pathology* 14(2): 113-20.
- Wilcock, B.P., Schwartz K.J. (1992):** "Salmonellosis." In Leman, A.D., Straw, B.E., Mengeling, W.L., D'Allaire, S., Taylor, D.J., *Diseases of swine 7th Edition*: 750-783.
- Williams, B.M., Richards D.W., Lewis J. (1976):** "Salmonella infection in the herring gull (*Lans argentatus*)." *Veterinary Record* 98(3): 51.
- Wittmann, G. (1976):** "Cell-mediated immunity in Aujeszky disease virus infected pigs. H. Influence of lymphocytes on macrophage migration." *Zentralblatt für Veterinärmedizin. Reihe B. Journal of Veterinary Medicine. Series B* 23(5-6): 520-8.
- Wittmann, G. (1984):** "Stand der Bekämpfung der Aujeszky'schen Krankheit in der Bundesrepublik Deutschland." *Tierärztliche Praxis, Band 12*: 141-147.
- Wittmann, G., Leitzke I., Hohn U. (1985a):** "[Cell-mediated cytotoxicity and lymphocyte stimulation in Aujeszky's disease. I. In experimentally infected swine]." *Zentralblatt für Veterinärmedizin. Reihe B. Journal of Veterinary Medicine. Series B* 32(2): 101-15.
- Wittmann, G., Leitzke I., Hohn U. (1985b):** "[Cell-mediated cytotoxicity and lymphocyte stimulation in Aujeszky's disease. II. Following vaccination of swine and subsequent infection]." *Zentralblatt für Veterinärmedizin. Reihe B. Journal of Veterinary Medicine. Series B* 32(3): 181-96.
- Wright, P.F., Neumann G., Kawaoka Y. (2007):** "Orthomyxoviruses." In: D.M. Knipe, PM Howley (eds.) *Fields Virology, 5th Edition*, Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins: 1691-1740.
- Wu, N., Ryser-Degiorgis M.P. (2011):** "Wildschweinprojekt "Risiko für die Übertragung von Krankheiten von Wild- auf Hausschweine im Freiland in der Schweiz", Schlussbericht." Zentrum für Fisch- und Wildtiermedizin, Abteilung Wildtiere, Institut für Tierpathologie, Vetsuisse Fakultät, Universität Bern [http://www.baselland.ch/fileadmin/baselland/files/docs/vsd/vjf/jagd/wildschweinprojekt\\_schlussbericht.pdf](http://www.baselland.ch/fileadmin/baselland/files/docs/vsd/vjf/jagd/wildschweinprojekt_schlussbericht.pdf).
- Yan, Y., Zhang W., Shen Q., Cui L., Hua X. (2008):** "Prevalence of four different subgenotypes of genotype 4 hepatitis E virus among swine in the Shanghai area of China." *Acta Vet Scand* 50: 12.

- Yazaki, Y., Mizuo H., Takahashi M., Nishizawa T., Sasaki N., Gotanda Y., Okamoto H. (2003):** "Sporadic acute or fulminant hepatitis E in Hokkaido, Japan, may be food-borne, as suggested by the presence of hepatitis E virus in pig liver as food." *J Gen Virol* 84(Pt 9): 2351-7.
- Yoon, K.J., Janke B.H., Swalla R.W., Erickson G. (2004):** "Comparison of a commercial H1N1 enzyme-linked immunosorbent assay and hemagglutination inhibition test in detecting serum antibody against swine influenza viruses." *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation: official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc* 16(3): 197-201.
- Yugo, D.M., Meng X.J. (2013):** "Hepatitis E virus: foodborne, waterborne and zoonotic transmission." *International Journal of Environmental Research and Public Health* 10(10): 4507-33.
- Zhang, W., Shen Q., Mou J., Gong G., Yang Z., Cui L., Zhu J., Ju G., Hua X. (2008):** "Hepatitis E virus infection among domestic animals in eastern China." *Zoonoses and Public Health* 55(6): 291-8.
- Zhao, C., Ma Z., Harrison T.J., Feng R., Zhang C., Qiao Z., Fan J., Ma H., Li M., Song A., Wang Y. (2009):** "A novel genotype of hepatitis E virus prevalent among farmed rabbits in China." *Journal of Medical Virology* 81(8): 1371-9.
- Zimmer, K. (2013):** "Persönliche Mitteilung, Typisierung von Aujeszky-Virusisolaten."
- Zimmer, K. (2014):** "Persönliche Mitteilung, Aujeszky-Ergebnisse von Wildschweinen."
- Zimmer, K. (2015):** "Persönliche Mitteilung, Bekämpfung der Salmonellose bei Wildschweinen in Rheinland-Pfalz."
- Zimmermann, W., Plonait H. (2004):** "Erkrankung SI (swine influenza)." *Lehrbuch der Schweinekrankheiten*, Hrsg. Karl-Heinz Waldmann, Michael Wendt; begründet von Hans Plonait und Klaus Bickhardt, Georg Thieme Verlag 4. Auflage: 123-126.

## 9. ANHANG

<b>Abbildung 1:</b>	Funktionsprinzip eines Blocking-ELISA	18
<b>Abbildung 2:</b>	Funktionsprinzip eines indirekten ELISA	32
<b>Abbildung 3:</b>	Einteilung von Rheinland-Pfalz in sechs Regionen unter Angabe der KFZ-Kennzeichen der jeweiligen Kreise	72
<b>Abbildung 4:</b>	Übersichtskarte der Antikörpernachweise gegen Aujeszky'sche Krankheit in RLP, positiv/ untersucht (ganzzahlig gerundeter prozentualer Anteil der positiven von den untersuchten Wildschweinen in diesem Landkreis)	95
<b>Abbildung 5:</b>	Übersichtskarte über Antikörpernachweise gegen HEV in RLP, positiv/ untersucht (ganzzahlig gerundeter prozentualer Anteil der positiven von den untersuchten Wildschweinen in diesem Landkreis)	105
<b>Abbildung 6:</b>	Übersichtskarte über ELISA-Antikörpernachweise gegen Influenza A in RLP, positiv/ untersucht (ganzzahlig gerundeter prozentualer Anteil der positiven von den untersuchten Wildschweinen in diesem Landkreis)	113
<b>Abbildung 7:</b>	Übersichtskarte der positiven und verdächtigen Antikörpernachweise im Hämagglutinationshemmungstest bezüglich Antikörper gegen den Subtyp H1N1 und den Subtyp H3N2 des Influenza A-Virus in RLP	122
<b>Abbildung 8:</b>	Übersichtskarte der positiven und verdächtigen Antikörpernachweise im Hämagglutinationshemmungstest bezüglich Antikörper gegen den Subtyp H1N1 des Influenza A-Virus im Untersuchungszeitraum (UZ) 1, UZ 2 und UZ 3	124
<b>Abbildung 9:</b>	Übersichtskarte der positiven und verdächtigen Antikörpernachweise im Hämagglutinationshemmungstest bezüglich Antikörper gegen den Subtyp H3N2 des Influenza A-Virus im Untersuchungszeitraum (UZ) 1, UZ 2 und UZ 3	125
<b>Abbildung 10:</b>	Übersichtskarte über Antikörpernachweise gegen Brucellen in RLP, positiv/ untersucht (ganzzahlig gerundeter	

prozentualer Anteil der positiven von den untersuchten  
Wildschweinen in diesem Landkreis) 127

**Abbildung 11:** Übersichtskarte über Antikörpernachweise gegen  
Salmonellen in RLP, positiv/ untersucht (ganzzahlig  
gerundeter prozentualer Anteil der positiven von den  
untersuchten Wildschweinen in diesem Landkreis) 135

<b>Tabelle 1:</b> Durchschnittliche Entwicklung der Körpermasse von Wildschweinen in kg	5
<b>Tabelle 2:</b> Ermittlung der geplanten Probenanzahl am Beispiel des Kreises Mayen-Koblenz	75
<b>Tabelle 3:</b> Herkunft und Anzahl der untersuchten Wildschweine der Jagdjahre 2011/2012 unter Angabe des Geschlechts (männlich = m, weiblich = w) und des Alters in Jahren (J)	77
<b>Tabelle 4:</b> Herkunft und Anzahl der untersuchten Wildschweine der Jagdjahre 2012/2013 unter Angabe des Geschlechts (männlich = m, weiblich = w) und des Alters in Jahren (J)	78
<b>Tabelle 5:</b> Herkunft und Anzahl der untersuchten Wildschweine der Jagdjahre 2013/2014 unter Angabe des Geschlechts (männlich = m, weiblich = w) und des Alters in Jahren (J)	79
<b>Tabelle 6:</b> Unterschiede der verwendeten ELISA-Tests: Auj.-gB-ELISA, HEV-Ab-ELISA, IA-Ab-ELISA	83
<b>Tabelle 7:</b> Unterschiede der verwendeten ELISA-Tests: Bruc.-Ab-ELISA, Salm.-Ab-ELISA	84
<b>Tabelle 8:</b> Anteil der SHV-Antikörper positiven Ergebnisse von den untersuchten Wildschweinen in den Landkreisen der jeweiligen Region innerhalb der drei Untersuchungszeiträume (UZ)	101
<b>Tabelle 9:</b> Ergebnisse der Influenza A Virus Subtypenbestimmung im Hämagglutinationshemmungstest hinsichtlich der Subtypen H1N1, H1N2 und H3N2	120

<b>Diagramm 1:</b>	SHV-1-Antikörpernachweise aller drei Untersuchungszeiträume in Bezug auf die in den Regionen untersuchten Wildschweine	96
<b>Diagramm 2:</b>	prozentualer Anteil der nachgewiesenen SHV-1-Antikörper in den betroffenen Landkreisen, unter Angabe der Anzahl der positiven von den untersuchten Wildschweinen	98
<b>Diagramm 3:</b>	prozentualer Anteil der positiven von den untersuchten Wildschweinen bezüglich SHV-1 Antikörper in den drei Untersuchungszeiträumen (UZ)	99
<b>Diagramm 4:</b>	SHV-1-Antikörpernachweise innerhalb der Regionen in Bezug auf die jeweils in den drei Untersuchungszeiträumen (UZ) in der jeweiligen Region untersuchten Wildschweine (Angaben in Prozent)	100
<b>Diagramm 5:</b>	prozentualer Anteil der SHV-1-Antikörpernachweise innerhalb der beiden Geschlechter der untersuchten Wildschweine	102
<b>Diagramm 6:</b>	prozentualer Anteil der SHV-1-Antikörpernachweise innerhalb der Altersgruppen (AG) der untersuchten Wildschweine	103
<b>Diagramm 7:</b>	HEV-Antikörpernachweise aller drei Untersuchungszeiträume in Bezug auf die in den Regionen untersuchten Wildschweine	106
<b>Diagramm 8:</b>	prozentualer Anteil der nachgewiesenen HEV-Antikörper von den in den betroffenen Landkreisen untersuchten Wildschweinen	107
<b>Diagramm 9:</b>	prozentualer Anteil der positiven von den untersuchten Wildschweinen bezüglich HEV-Antikörper in den drei Untersuchungszeiträumen (UZ)	108
<b>Diagramm 10:</b>	HEV-Antikörpernachweise innerhalb der Regionen in Bezug auf die jeweils in den drei Untersuchungszeiträumen (UZ) in der jeweiligen Region untersuchten Wildschweine (Angaben in Prozent)	109
<b>Diagramm 11:</b>	prozentualer Anteil der HEV-Antikörpernachweise innerhalb der beiden Geschlechter der untersuchten Wildschweine	110

<b>Diagramm 12:</b> prozentualer Anteil der HEV-Antikörpernachweise innerhalb der Altersgruppen (AG) der untersuchten Wildschweine	111
<b>Diagramm 13:</b> Influenza A-Virus-Antikörpernachweise (ELISA) aller drei Untersuchungszeiträume, in Bezug auf die in den Regionen untersuchten Wildschweine	114
<b>Diagramm 14:</b> prozentualer Anteil der nachgewiesenen Influenza A-Virus-Antikörper (ELISA) von den in den betroffenen Landkreisen untersuchten Wildschweinen	115
<b>Diagramm 15:</b> prozentualer Anteil der im ELISA positiven von den untersuchten Wildschweinen bezüglich Influenza A-Virus-Antikörper in den drei Untersuchungszeiträumen (UZ)	116
<b>Diagramm 16:</b> Influenza A-Virus-Antikörpernachweise (ELISA) innerhalb der Regionen in Bezug auf die jeweils in den drei Untersuchungszeiträumen (UZ) in der jeweiligen Region untersuchten Wildschweine (Angaben in Prozent)	117
<b>Diagramm 17:</b> prozentualer Anteil der Influenza A-Virus-Antikörpernachweise (ELISA) innerhalb der beiden Geschlechter der untersuchten Wildschweine	118
<b>Diagramm 18:</b> prozentualer Anteil der Influenza A-Virus-Antikörpernachweise (ELISA) innerhalb der Altersgruppen (AG) der untersuchten Wildschweine	119
<b>Diagramm 19:</b> Brucellen-Antikörpernachweise aller drei Untersuchungszeiträume in Bezug auf die in den Regionen untersuchten Wildschweine	128
<b>Diagramm 20:</b> prozentualer Anteil der nachgewiesenen Brucellen-Antikörper von den in den betroffenen Landkreisen untersuchten Wildschweinen	129
<b>Diagramm 21:</b> prozentualer Anteil der positiven von den untersuchten Wildschweinen bezüglich Brucellen-Antikörper in den drei Untersuchungszeiträumen (UZ)	130
<b>Diagramm 22:</b> Brucellen-Antikörpernachweise innerhalb der Regionen in Bezug auf die jeweils in den drei Untersuchungszeiträumen (UZ) in	

der jeweiligen Region untersuchten Wildschweine (Angaben in Prozent)	131
<b>Diagramm 23:</b> prozentualer Anteil der Brucellen-Antikörpernachweise innerhalb der beiden Geschlechter der untersuchten Wildschweine	132
<b>Diagramm 24:</b> prozentualer Anteil der Brucellen-Antikörpernachweise innerhalb der Altersgruppen (AG) der untersuchten Wildschweine	133
<b>Diagramm 25:</b> Salmonellen-Antikörpernachweise aller drei Untersuchungszeiträume in Bezug auf die in den Regionen untersuchten Wildschweine	136
<b>Diagramm 26:</b> prozentualer Anteil der nachgewiesenen Salmonellen-Antikörper von den in den betroffenen Landkreisen untersuchten Wildschweinen	137
<b>Diagramm 27:</b> Verteilung der im ELISA positiven Proben bezüglich Salmonellen-Antikörper auf die drei Untersuchungszeiträume (UZ)	138
<b>Diagramm 28:</b> Salmonellen-Antikörpernachweise innerhalb der Regionen in Bezug auf die jeweils in den drei Untersuchungszeiträumen (UZ) in der jeweiligen Region untersuchten Wildschweine (Angaben in Prozent)	138
<b>Diagramm 29:</b> prozentualer Anteil der Salmonellen-Antikörpernachweise innerhalb der beiden Geschlechter der untersuchten Wildschweine	139
<b>Diagramm 30:</b> prozentualer Anteil der Salmonellen-Antikörpernachweise innerhalb der Altersgruppen (AG) der untersuchten Wildschweine	140

## **Serumneutralisationstest**

- **Zelllinie**

VERO 76 (African Green Monkey Kidney), Katalognummer 228 (Friedrich-Löffler-Institut, 17493 Greifswald-Insel Riems)

- **Virusstamm**

PrV VA 65, entspricht PrV Referenzstamm Kaplan, laufende Nr. 388  
(Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten der Tiere, Institut für epidemiologische Diagnostik, 16868 Wusterhausen/ Dosse)

- **Referenzseren**

Nr. 1827 PrV positiv

Nr. 2309 PrV negativ

(Friedrich-Löffler-Institut, 17493 Greifswald-Insel Riems)

- **Anzuchtmedium**

**50 % MEM Eagle Medium**, Firma PAN<sup>TM</sup> BIOTECH, Katalognummer P04-10152  
HBSS (Hank`s Balanced Salt Solution)

L-Glutamine

1 % NEAA (Non-Essential Amino Acid)

0,85 g/L NaHCO<sub>3</sub>

**50 % MEM Eagle Medium**, Firma PAN<sup>TM</sup> BIOTECH, Katalognummer P04-08500  
EBSS (Earle`s Balanced Salt Solution)

L-Glutamine

2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>

**+10 % FKS (fetales Kälberserum)**, Firma PAN<sup>TM</sup> BIOTECH,

Artikelnummer P30-202

**+1 % Pen/Strep-PreMix**, CELLPURE<sup>®</sup>, Firma ROTH<sup>®</sup>, Artikelnummer HP10

- **Erhaltungsmedium**

**50 % MEM Eagle Medium**, Firma PAN<sup>TM</sup> BIOTECH, Katalognummer P04-10152  
HBSS (Hank`s Balanced Salt Solution)

L-Glutamine

1 % NEAA (Non-Essential Amino Acid)

0,85 g/L NaHCO<sub>3</sub>

**50 % MEM Eagle Medium**, Firma PAN™ BIOTECH, Katalognummer P04-08500  
EBBS (Earle`s Balanced Salt Solution)

L-Glutamine

2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>

**+3 % FKS (fetales Kälberserum)**, Firma PAN™ BIOTECH, Artikelnummer P30-202

**+1 % Pen/Strep-PreMix**, CELLPURE®, Firma ROTH®, Artikelnummer HP10

## Hämagglutinationshemmungstest

- **Virusstämme**

H1N1: Influenza-A-sw-Belzig 02/01 606/3

H1N2: Influenza-A-sw-Bakum 1832/00 606/3

H3N2: Influenza-A-sw-Bakum/909/93

- **RDE Cholerafiltrat von Vibrio-Cholerae-Kulturflüssigkeit (SIGMA C 8772)**

Firma SIGMA-ALDRICH®, Produktnummer C8772

- **Kalziumsalzlösung, pH 7,2**

1 l destilliertes Wasser

1 g Calciumchloriddihydrat (CaCl<sub>2</sub> · 2H<sub>2</sub>O)

9 g Natriumchlorid (NaCl)

1,2 g Borsäure (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>)

0,052 g Natriumboratdecahydrat (Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub> · 10H<sub>2</sub>O)

- **1,5 %ige Natriumcitratlösung, pH 7,2**

1,6 g Natriumcitratlösung (Na<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub> · 2H<sub>2</sub>O)

100 ml Phosphat buffered saline (PBS):

- NaCl (8 g / 1.000 ml)
- KCl (0,2 g / 1.000 ml)
- Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> x 2H<sub>2</sub>O (0,2 g / 1.000 ml)

## Berechnung der Mono- und Mehrfachinfektionen

SHV-1_INFL_HEV_ BRUC_SAL		Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozente	Kumulierte Prozente
Gültig	0	863	44,6	45,6	45,6
	1	313	16,2	16,6	62,2
	10	117	6	6,2	68,4
	11	67	3,5	3,5	71,9
	100	206	10,6	10,9	82,8
	101	120	6,2	6,3	89,2
	110	39	2	2,1	91,2
	111	28	1,4	1,5	92,7
	1000	44	2,3	2,3	95
	1001	12	0,6	0,6	95,7
	1010	7	0,4	0,4	96
	1011	4	0,2	0,2	96,2
	1100	13	0,7	0,7	96,9
	1101	11	0,6	0,6	97,5
	1110	2	0,1	0,1	97,6
	1111	1	0,1	0,1	97,7
	10000	16	0,8	0,8	98,5
	10001	5	0,3	0,3	98,8
	10010	3	0,2	0,2	98,9
	10011	2	0,1	0,1	99
	10100	3	0,2	0,2	99,2
	10101	4	0,2	0,2	99,4
	10110	4	0,2	0,2	99,6
	10111	5	0,3	0,3	99,9
	11101	2	0,1	0,1	100
	Gesamt	1891	97,7	100	
Fehlend	System	45	2,3		
Gesamt		1936	100		

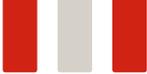
## 10. DANKSAGUNG

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Dr. habil. Gerald Reiner, Leiter der Klinik für Schweine (Innere Medizin und Chirurgie) der Justus-Liebig-Universität Gießen, für die Überlassung des interessanten Themas und die wissenschaftliche Betreuung.

Besonders bedanken möchte ich mich auch bei Herrn Dr. Karl Zimmer, Leiter des Institutes für Tierseuchendiagnostik des Landesuntersuchungsamtes in Koblenz für die Kontaktaufnahme zur Universität Gießen und die Möglichkeit, die Daten des Landesuntersuchungsamtes nutzen zu dürfen sowie seine persönliche Unterstützung.

Mein Dank gilt auch allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern aus den Arbeitsbereichen Serologie und Virologie des Institutes für Tierseuchendiagnostik des Landesuntersuchungsamtes Koblenz.

Ich bedanke mich auch bei meiner Familie, meinem Ehemann und meinen Freunden für ihr Verständnis und ihre moralische Unterstützung während der Anfertigung dieser Arbeit und bei allen, die an mich geglaubt haben.



*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: 978-3-8359-6537-9



9 17 8 3 8 3 5 19 6 5 3 7 9