

**KLASSISCHE SCHWEINEPEST BEI WILDSCHWEINEN
IN RHEINLAND-PFALZ:
ERFOLG OFFIZIELLER KONTROLLMAßNAHMEN**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines

Dr. med. vet.

beim Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Maria Römelt

Aus dem Fachbereich Veterinärmedizin
Klinik für Schweine (Innere Medizin und Chirurgie)
der Justus-Liebig-Universität Gießen
Betreuer: Prof. Dr. Dr. habil. G. Reiner

**KLASSISCHE SCHWEINEPEST BEI WILDSCHWEINEN
IN RHEINLAND-PFALZ:
ERFOLG OFFIZIELLER KONTROLLMAßNAHMEN**

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

Eingereicht von
Maria Römelt
Tierärztin aus Bonn

Gießen 2013

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. H.J. Thiel

Prüfer: PD Dr. R. Hospes

Tag der Disputation: 16.10.2013

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 durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen wurden die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis eingehalten.

Bonn, den 17.06.2013

(Maria Römelt)

Teile dieser Arbeit sind bereits veröffentlicht:

M. Roemelt, I. Klingelhoef, A. Koenig, B. Braun, K. Zimmer, G. Reiner

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. Apr. 2012, Bruges, Belgium

Inhaltverzeichnis

GLOSSAR JAGDLICHE BEGRIFFE.....	I
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	III
1. EINLEITUNG.....	1
2. LITERATURRECHERCHE.....	3
2.1 Klassische Schweinepest.....	3
2.1.1 Geschichte der Klassischen Schweinepest (Hog Cholera).....	3
2.1.2 Taxonomie des Klassischen Schweinepestvirus.....	4
2.1.3 Genomorganisation, Translation und Funktionen der viralen Proteine.....	5
2.1.4 Biotypen.....	7
2.1.5 Übertragung.....	8
2.1.6 Pathogenese.....	8
2.1.7 Klinische Symptomatik.....	9
2.1.8 Pathologisch-anatomisches Erscheinungsbild.....	11
2.1.9 Immunantwort.....	11
2.1.10 Labordiagnostik.....	12
2.2 Biologie des Schwarzwildes.....	15
2.2.1 Lebensraum.....	15
2.2.2 Nahrung.....	15
2.2.3 Einteilung in Altersklassen.....	15
2.2.4 Lebenserwartung.....	16
2.2.5 Reproduktion.....	16
2.2.6 Sozialstruktur.....	17
2.2.7 Territorialverhalten / Aktionsradius.....	18

2.3 Bekämpfungsstrategie der Klassischen Schweinepest.....	19
2.3.1 Gesetzliche Grundlage	19
2.3.2 Restriktionsgebiet.....	20
2.3.2 Orale Immunisierung.....	21
2.3.3 Jagdliche Maßnahmen.....	25
3. MATERIAL UND METHODEN	26
3.1 Untersuchungsgebiet und Untersuchungszeitraum.....	26
3.1.1 Untersuchungsgebiet	26
3.1.2 Untersuchungszeitraum	29
3.2 Restriktionsgebiete in Rheinland-Pfalz.....	30
3.2.1 Gefährdeter Bezirk / Impfgebiet	30
3.2.2 Monitoringgebiet.....	30
3.2.3 Intensivmonitoringgebiet.....	31
3.3 Orale Immunisierung	31
3.3.1 Impfköder	31
3.3.2 Impfköderaumlage.....	32
3.3.3 Jagdliche Maßnahmen.....	36
3.4 Untersuchungsmaterial, Probenversand und -erfassung	38
3.4.1 Untersuchungsmaterial.....	38
3.4.2 Probenversand.....	38
3.4.3 Probenerfassung.....	39
3.5 Untersuchungsschema.....	39

3.6 Diagnostische Untersuchungsmethoden	42
3.6.1 Serologische Methoden	42
3.6.2 Molekularbiologische Methoden	49
3.6.3 Virologische Methoden	60
3.7 Verwendete Datenbanken	62
3.7.1 Tierseuchennachrichtensystem (TSN)	62
3.7.2 Classical swine fever on wild boar surveillance database (CSF-DB).....	62
3.7.3 Ladia [®]	63
3.8 Auswertung	63
4. ERGEBNISSE.....	64
4.1 Seuchengeschehen in Rheinland-Pfalz im Zeitraum 2005-2011.....	64
4.1.1 Seuchengeschehen in der Region Eifel	64
4.1.2 Seuchengeschehen in der Region Westerwald	64
4.1.3 Seuchengeschehen in der Region Pfalz.....	65
4.2 Auswertung für Rheinland-Pfalz	71
4.2.1 Auswertung der Jagdstrecke	71
4.2.2 Auswertung der Altersverteilung und Geschlechtsverteilung	72
4.2.3 Virologische Auswertung.....	73
4.2.4 Serologische Auswertung.....	74
4.3 Auswertung der einzelnen Regionen	77
4.3.1 Region Eifel.....	77
4.3.2 Region Westerwald	85

4.3.3 Region Pfalz.....	92
4.4 Ergebnisse der Genotypisierung.....	101
5. DISKUSSION	104
5.1 Bewertung der durchgeführten jagdlichen Maßnahmen.....	104
5.2 Bewertung der oralen Immunisierung	108
5.3 Bewertung des Überwachungskonzeptes.....	112
5.4 Analyse der Genotypisierung	117
6. ZUSAMMENFASSUNG.....	120
7. SUMMARY	122
10. LITERATURVERZEICHNIS.....	124
11. ANHANG.....	163
12. DANKSAGUNG	166

GLOSSAR JAGDLICHER BEGRIFFE

Aufbrechen	Aufschneiden des erlegten Tieres zur Entnahme der Eingeweide
Bache	weibliches, adultes Wildschwein
Baummast	Früchte von Bäumen wie Buche, Eiche, Kastanie
Beschlagen	Begattung eines brünstigen Tieres
Einstand	Rückzugsregion für Wildtiere
Erlegen	ein Stück Wild töten
Fallwild	Wild, das ohne jagdliche Einwirkung zu Tode gekommen ist
Frischling	junges Wildschwein im ersten Lebensjahr
Frischlingsrechen	Holz- oder Metallgestelle, die nur kleinen Tieren den Durchschlupf ermöglichen
Hegering	Untergliederung der Jägerschaften auf lokaler Ebene
Jagdausübungs- berechtigter	Jäger
Jagdjahr	Zeitraum vom 01. April bis 31. März des Folgejahres
Jagdstrecke	Jagdbeute innerhalb eines bestimmten Zeitraumes
Keiler	männliches, adultes Wildschwein
Kessel	Lager der Wildschweinrotte
Kirrung	Futterausbringung zwecks Anlockung von Schwarzwild
Leitbache	ranghöchstes, weibliches Wildschwein, das die Rotte anführt
Rausche	Paarungszeit des Schwarzwildes (Brunft oder Brunst)
Revier	Jagdbezirk
Rotte	Sozialverband von Wildschwein
Schalenwild	Wildarten mit Schalen (Klauen)
Schwarzwild	jagdlicher Oberbegriff für Wildschweine
Stück	erlegtes Wildschwein

Suhlen	morastige Bodenvertiefung
Überläufer	ein- bis zweijähriges Wildschwein
Wechsel	Wege, die Tiere regelmäßig benutzen
Wildbret	Fleisch erlegter Wildtiere

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Abb.	Abbildung
AEC	3-Amino-9-Ethylcarbazol
AG	Antigen
AK	Antikörper
Aqua dest.	destilliertes Wasser
AVID	Arbeitskreis für veterinärmedizinische Infektionsdiagnostik
BDV	Border Disease Virus
BGBI	Bundesgesetzblatt
bp	Basenpaar
BVDV	Bovines Virusdiarrhoe Virus
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
cDNA	komplementäre DNA
Cp	Crossing Point
CSF	Classical swine fever
CSF-DB	Classical swine fever data base
CSFV	Classical swine fever virus
Ct	Cycle Treshold
DJV	Deutscher Jagdverband
DNA	Deoxyribonucleic acid (Desoxyribonukleinsäure)
EG	Europäische Gemeinschaft
EGFP	Enhanced Green Fluorescence Protein (ein Fluoreszenzfarbstoff)
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
et al.	et alii (und andere)
ESP	Europäische Schweinepest

EU	Europäische Union
EWG	Europäische Wirtschaftsgemeinschaft
Fa.	Firma
FAM	Phosphoramidit-Derivat des 6-Carboxyfluorescein (ein Fluoreszenzfarbstoff)
FLI	Friedrich-Loeffler-Institut
gp	Glykoprotein
ha	Hektar
H ₂ O	Wasser
IC	Internal Control
ICTV	International Committee on Taxonomy of Viruses
IF	Immunfluoreszenz
IFN	Interferon
h	Stunde
kb	Kilobase
KCl	Kaliumchlorid
kg	Kilogramm
KH ₂ PO ₄	Kaliumdihydrogenphosphat
KID ₅₀	Kulturinfektiöse Dosis 50%
km ²	Quadratkilometer
KSP	Klassische Schweinepest
KSPV	Klassisches Schweinepest Virus
LIMS	Laborinformations- und Managementsystem
Ln	Lymphknoten
log	Logarithmus
LTierSG	Landestierseuchengesetz
LUA	Landesuntersuchungsamt

LVermGeo	Landesamt für Vermessung und Geobasisinformation
MAK	monoklonaler Antikörper
mg	milligramm
min.	Minute
ml	milliliter
mol	Molar
MUFV	Ministerium für Umwelt, Forsten und Verbraucherschutz
MULEWF	Ministerium für Umwelt, Landwirtschaft, Ernährung, Weinbau und Forsten
m/w	männlich/weiblich
NaCl	Natriumchlorid
Na ₂ HPO ₄	Dinatriumhydrogenphosphat
NEAS	nicht essentielle Aminosäuren
nm	Nanometer
NPLA	Neutralizing Peroxydase Linked Assay
NRW	Nordrhein-Westfalen
NS	Nichtstrukturprotein
NT	Neutralisationstest
NTC	No Template Control
NTR	nicht translatierte Region
nzp	nicht-zytopathogen
OIE	Office International des Epizooties
ORF	Open Reading Frame
PBS	Phosphate Buffered Saline
PCR	Polymerase Chain Reaction (Polymerase Kettenreaktion)
PI	persistently infiziert
PK	Porcine Kidney

pmol	Pikomolar
POD	Peroxidase
RL	Richtlinie
RLP	Rheinland-Pfalz
RNA	Ribonucleic acid (Ribonukleinsäure)
RP	Rhineland-Palatinat
rpm	revolutions per minute (Umdrehungen pro Minute)
RT	Reverse Transkriptase
SchwPestV	Schweinepest-Verordnung
TierSG	Tierseuchengesetz
TSN	Tierseuchennachrichtensystem
VO	Verordnung
WDH	Wiederholung
µl	Mikroliter
z.B.	zum Beispiel
ZNS	Zentralnervensystem
zp	zytopathogen
zpE	zytopathogener Effekt

1. EINLEITUNG

Die Klassische Schweinepest ist eine weltweit verbreitete und wirtschaftlich sehr bedeutsame Tierseuche bei Haus- und Wildschweinen (TERPSTRA, 1987; KADEN, 1998a, 1998b; KADEN et al. 2000a; EDWARDS, 2000).

Innerhalb der Europäischen Union regelt die Richtlinie 2001/89/EG die Maßnahmen zur Bekämpfung der Klassischen Schweinepest (ANONYM, 2001). Laut Tierseuchengesetz und Verordnung über anzeigepflichtige Tierseuchen zählt die Klassische Schweinepest in Deutschland zu den anzeigepflichtigen Tierseuchen und ist nach der Verordnung zum Schutz gegen die Schweinepest zu bekämpfen (ANONYM, 2004, 2011a, 2011b). Neben Kontroll-, Quarantäne- und Hygienemaßnahmen soll die Merzung aller infizierten und seuchenverdächtigen Tiere („stamping out“) die Einschleppung und Verbreitung des Erregers verhindern.

Epidemiologische Analysen in Bezug auf die Klassische Schweinepest in Deutschland in den 1990er Jahren zeigten, dass die meisten Primärausbrüche bei Hausschweinen auf den direkten oder indirekten Kontakt mit infizierten Wildschweinen zurückzuführen sind (FRITZEMEIER et al., 2000). Deshalb ist die Bedeutung der Bekämpfung der Schweinepest in der Schwarzwildpopulation nicht zu unterschätzen.

Da die Seuchenbekämpfung in Wildtierpopulationen nicht einfach ist, kommt neben seuchenhygienischen und veterinärpolizeilichen Maßnahmen der Verminderung des Infektionsdruckes in der Population durch eine effektive Bestandsreduzierung, insbesondere der Frischlinge und Überläufer, eine große Bedeutung zu (KADEN, 1998a).

Da die wildhygienischen und jagdlichen Maßnahmen aber allein nicht zur Tilgung der Seuche ausreichen, wurde als Ergänzung dazu die orale Immunisierung gegen die Klassische Schweinepest im Rahmen von Feldversuchen eingeführt (KADEN et al., 2000b, 2002, 2003; KERN et al., 1999; SCHURIG, 1999; STEYER, 2001). Im Februar 2003 wurde gemäß der Entscheidung der Kommission 2003/135/EG die Notimpfung gegen die Klassische Schweinepest in der Schwarzwildpopulation in den deutschen Bundesländern Niedersachsen, Nordrhein-Westfalen, Rheinland-Pfalz und Saarland offiziell genehmigt (ANONYM, 2003).

Die vorliegende Arbeit beinhaltet eine deskriptive retrospektive Analyse des Seuchengeschehens bei Wildschweinen in Rheinland-Pfalz im Zeitraum von Januar 2005 bis März 2011. Dafür wurden alle diesbezüglichen Daten von Rheinland-Pfalz gesammelt, ausgewertet

1. EINLEITUNG

und beschrieben. Anhand epidemiologischer Analysen soll das Seuchengeschehen räumlich und zeitlich nachvollzogen werden. Ziel ist es, eine Beurteilung der Bekämpfungsmaßnahmen in Bezug auf deren Durchführung und Erfolg treffen zu können.

2. LITERATURRECHERCHE

2.1 Klassische Schweinepest

Zur Zeit der Erstbeschreibungen der Klassischen Schweinepest (KSP) wurde sie noch Hog Cholera genannt, da man davon ausgegangen ist, es handle sich bei dieser Erkrankung um ein bakterielles Geschehen (MAHNEL und MAYR, 1974). Erst DE SCHWEINITZ und DORSET (1904) konnten nachweisen, dass die fieberhafte Erkrankung Hog Cholera von einem filtrierbaren Virus verursacht wird.

Heute ist die KSP eine wirtschaftlich bedeutsame und weltweit verbreitete Tierseuche bei Haus- und Wildschweinen (TERPSTRA, 1987; KADEN, 1998a, 1998b; KADEN et al., 2000a; EDWARDS, 2000). Laut Tierseuchengesetz und Verordnung über anzeigepflichtige Tierseuchen zählt die KSP in Deutschland zu den anzeigepflichtigen Tierseuchen (ANONYM, 2004, 2011a). In der Europäischen Union (EU) wird sie auf der Grundlage der Richtlinie 2001/89/EG einheitlich bekämpft (ANONYM, 2001).

2.1.1 Geschichte der Klassischen Schweinepest (Hog Cholera)

Das erste Auftreten der Klassischen Schweinepest bzw. der Hog Cholera ist noch nicht eindeutig geklärt. Laut HANSON (1957) trat 1810 eine cholera-ähnliche Krankheit beim Schwein in Tennessee/USA auf. Nach VAN OIRSCHOT (1992) wurde der erste Fall der Hog Cholera Anfang 1830 im Staat Ohio in den USA beschrieben. Weitere Fälle traten 1833 in Deutschland, 1899 in Südamerika und 1900 in Südafrika auf. SPIECKER (1969) hingegen berichtet, dass die Schweinepest erst 1862 von Amerika nach Europa gekommen ist. Von England ausgehend über Skandinavien breitete sich die Krankheit über das restliche Europa aus.

Zu den natürlichen Wirten des KSPV zählen nicht nur Hausschweine, sondern auch Wildschweine (MOENNIG, 2000). In einer Aufzählung von MÜLLER (1942) werden in chronologischer Reihenfolge Schweinepestfälle beim Schwarzwild im Gatter und in freier Wildbahn beschrieben. Daraus geht hervor, dass bereits 1895 die KSP in einem ungarischen Gatter beim Schwarzwild auftrat und erst 1922 ein Ausbruch der Schweinepest auch in freier Wildbahn im Spessart gemeldet wurde. Experimentell herbeigeführte Infektionen von Rindern, Ziegen, Schafen, Hirschen und Pekarissen verliefen ohne klinische Symptome (LOAN und STORM, 1968; DUNNE, 1970; DAHLE et al., 1987).

2.1.2 Taxonomie des Klassischen Schweinepestvirus

Gemäß der Nomenklatur des International Committee for Taxonomy of Viruses (ICTV) wird das Virus der Klassischen Schweinepest (KSPV) mit den Erregern der Bovinen Virus Diarrhoe (BVDV-1 und BVDV-2) und der Border Disease (BDV) in das Genus Pestivirus der Familie Flaviviridae eingruppiert. In jüngster Zeit wurden weitere potentielle Spezies, die genetisch, strukturell und serologisch mit diesen Vertretern des Genus Pestivirus verwandt sind, nachgewiesen. LIU et al. (2009) beschreiben die Gruppe der noch nicht klassifizierten „atypischen“ Pestiviren (BVDV-3) mit bovinem Ursprung. Dazu zählen das D32/00_“HoBi“-Isolat, welches aus fetalem Kälberserum aus Brasilien isoliert wurde (SCHIRRMIEIER et al., 2004), das CH-KaHo/cont-Isolat, welches aus einer kontaminierten Zellkultur isoliert wurde, die möglicherweise von fetalem Kälberserum aus Südafrika stammte (STALDER et al., 2005) und das Th/04_Khon-Kaen-Isolat, welches aus Serum von einem natürlich infizierten Kalb aus Thailand isoliert wurde (STAHL et al., 2007). Alle diese atypischen Pestiviren sind nah miteinander verwandt (LIU et al., 2009). Weiterhin sind drei von den anderen Pestiviren abweichende Isolate beschrieben. AVALOS-RAMIREZ et al. (2001) konnten in einer Giraffe ein Isolat nachweisen, das phylogenetisch zwischen BVDV-1 und BVDV-2 sowie KSPV und BDV liegt. Ein weiteres Isolat wurde in einer Gabelantilope (Pronghorn antelope) in den USA nachgewiesen (VILCEK et al., 2005) und das dritte Isolat (Bungowannah) wurde aus australischen Schweinen, die eine multifokale nicht eitrig Myokarditis aufwiesen, isoliert (KIRKLAND et al., 2007). Die ovinen Pestiviren werden laut BECHER et al. 2003 nach ihrem Wirt in 4 Gruppen (BDV-1 bis BDV-4) unterteilt. Dabei stellt das klassische BD-Virus bei Schafen den TYP BDV-1 dar. Der Nachweis eines BD-Virus beim Rentier ist BDV-2 und das BDV-Isolat (isolate Gifhorn) ist BDV-3 (BECHER et al., 1999, 2003; AVALOS-RAMIREZ et al., 2001). Das BDV-Isolat, das in Gemsen in den Pyrenäen nachgewiesen wurde, wird BDV-4 genannt (ARNAL et al., 2004). Aber VALDAZO-GONZALEZ et al. (2006, 2007) haben diesen Typ auch bei Schafen in Spanien gefunden, was die Einteilung nach dem Wirtstier schwierig gestaltet. THABATI et al. (2005) haben in Tunesien bei Schafen Isolate nachgewiesen, die phylogenetisch eher mit dem KSPV verwandt sind als mit dem BDV. Auch DUBOIS et al. (2008) hatten Schwierigkeiten die in Frankreich bei Schafen gefundenen Isolate zu benennen. Demnach würde es weitere BDV-Typen geben (BDV-5 und BDV-6). So verhält es sich auch für das BDV-Isolat, das OGUZOGLU et al. (2009) bei Kleinen Wiederkäuern in der Türkei nachgewiesen haben.

2.1.3 Genomorganisation, Translation und Funktionen der viralen Proteine

Bei dem KSPV handelt es sich um ein 40-60 nm großes, behülltes, einzelsträngiges RNA-Virus (MOENNIG und PLAGEMANN, 1992; MEYERS und THIEL, 1996). Das Genom mit positiver Polarität hat eine Länge von ca. 12,3 kb und kodiert in einem offenen Leserahmen (open reading frame, ORF) ein einziges Polyprotein von ca. 4000 Aminosäuren. Der offene Leserahmen wird von zwei nicht-translatierten Regionen (NTR) flankiert. Das Polyprotein besteht aus vier Struktur- und acht Nichtstrukturproteinen (COLLETT et al., 1988; MEYERS et al., 1989; MOORMANN et al., 1990). Zu den Strukturproteinen zählen zum einen das Nukleokapsidprotein, auch Core Protein genannt, und zum anderen drei Glykoproteine E^{ms}, E1 und E2 (THIEL et al., 1991; RÜMENAPF et al., 1993). Zu den Nichtstrukturproteinen zählen N^{pro}, p7, NS2, NS3, NS2-3, NS4A, NS4B, NS5A und NS5B.

Im Gegensatz zu den Flaviviren besitzen die Pestiviren und die Hepaciviren eine Signalsequenz (IRES = internal ribosomal entry site) in der 5'NT-Region, die als interne Ribosomenbindungsstelle die Translation initiiert (RIJNBRAND et al., 1997). Das Polyprotein wird sowohl während als auch nach der Translation durch zelluläre und virale Proteasen in vier Struktur- und acht Nichtstrukturproteine gespalten. Beginnend mit der N-terminalen Protease N^{pro} wird durch dessen autokatalytische Wirkung die Abspaltung vom Polyprotein erzeugt (STARK et al., 1993). Zusätzlich besitzt N^{pro} die Eigenschaft, sich an den Interferon Regulatory Faktor 3 (IRF3) und 7 (IRF7) zu binden und dessen Proteolyse einzuleiten. Das verhindert die IFN-Produktion, die für eine angeborene Immunantwort des Wirtes verantwortlich ist (RUGGLI et al., 2003, 2009; BAUHOFER et al., 2007; FIEBACH et al., 2011). Durch zelluläre Signalpeptidase wird das Nukleokapsidprotein vom darauf folgenden E^{ms} Glykoprotein abgespalten und durch weitere Prozessierung am C-Terminus entsteht durch das zelluläre Signalpeptidase das freie, reife Kapsidprotein (HEIMANN et al., 2006). Laut MURRAY et al. (2008) ermöglicht der hohe Anteil an basischen Aminosäuren des Kapsidproteins eine Bindung an RNA, die eine wichtige Rolle in der Viruskapsidbildung und der Verpackung der viralen RNA spielt. RIEDEL et al. (2010, 2012) und GLADUE et al. (2010, 2011) sagen, dass das Kapsidprotein bei der Viruspersistenz und bei der Virusvirulenz eine wichtige Rolle spielt. Die Glykoproteine E^{ms}, E1 und E2 sind Bestandteile der viralen Hülle und am Attachment des Virus an die Zielzellen beteiligt (HULST und MOORMANN, 1997). Sie werden ebenfalls durch zelluläre Signalpeptidasen freigesetzt, wobei für die Spaltung zwischen E^{ms} und E1 eine noch unbekanntes zelluläre

2. LITERATURRECHERCHE

Protease postuliert wird (RÜMENAPF et al., 1993; ELBERS et al., 1996; HARADA et al., 2000). Das E^{ms}-Protein bildet Homodimere und mit dem E2-Protein Heterodimere und besitzt intrinsische RNase-Aktivität (HAUSMANN et al., 2004; TEWS et al., 2009). Das E2-Protein bildet auch Homodimere und Heterodimere mit dem E1-Protein (WEILAND et al., 1990; THIEL et al., 1991; RÜMENAPF et al., 1993). Strukturelle Änderungen im E1-E2-Heterodimer sind wahrscheinlich die auslösenden Faktoren für die Fusion von Virus- und Zielzellenmembran während des „virus entry“ (MAURER et al., 2004). Sowohl das Glykoprotein E2 als auch das Glykoprotein E^{ms} induzieren die Bildung neutralisierender Antikörper. Deshalb spielen beide Strukturproteine bei der Herstellung von Vakzinen eine bedeutende Rolle (WEILAND et al., 1990; RÜMENAPF et al., 1991, 1993; WEILAND et al., 1992; KOENIG et al., 1995; UTTENTHAL et al., 2001).

Das erste Nichtstrukturprotein nach dem letzten Strukturprotein E2 ist das hydrophobe p7-Protein, das durch zelluläre Signalpeptidasen freigesetzt wird (RÜMENAPF et al., 1993; ELBERS et al., 1996). Es ist essentiell für die Bildung infektiöser pestiviraler Partikel (HARADA et al., 2000). Die darauffolgenden Nichtstrukturproteine (NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A und NS5B) werden für die Replikation benötigt (LAMP, 2011). Bei deren Prozessierung hat das NS3-Protein eine besondere Rolle. Es wurden drei unterschiedliche enzymatische Funktionen des NS3-Proteins nachgewiesen, die alle für die Replikationsfähigkeit von Pestiviren wichtig sind (GRASSMANN et al., 1999). Die Serin-Protease im N-terminalen Drittel (BAZAN und FLETTERICK, 1989), die NTPase und Helikase im C-terminalen Drittel (TAMURA et al., 1993; WARRENER und COLLETT, 1995). Die proteolytische Aktivität des NS3-Proteins katalysiert vier Reifungs-Spaltungen der Nichtstrukturproteine: NS3-NS4A, NS4A-NS4B, NS4B-NS5A, NS5A-NS5B (TAUTZ et al., 1997). Dabei wird jeweils das NS4A-Protein als Kofaktor benötigt (TAUTZ et al., 2000). Die Spaltung NS2-NS3 erfolgt durch die autokatalytische Aktivität der NS2-Protease und des zellulären Kofaktors JIV („J-domain protein interacting with viral protein“; LACKNER et al., 2006). Laut LACKNER et al. (2004) spielt diese Prozessierung des NS2-NS3-Proteins eine besondere Rolle bei der Pathogenität zytopathogener und nicht-zytopathogener Biotypen.

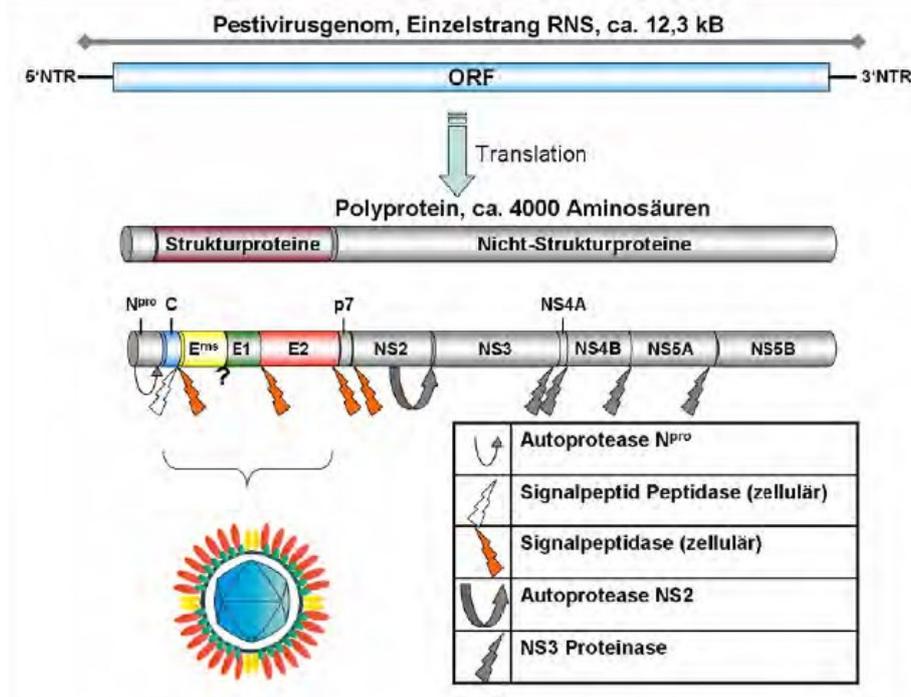


Abbildung 1: Genomaufbau und Lokalisation der Pestivirenproteine im Virusmodell -

Quelle: SCHMEISER (2010)

2.1.4 Biotypen

Bei den Pestiviren treten zwei unterschiedliche Biotypen auf, ein zytopathogener (zp) und ein nicht-zytopathogener (nzp) Biotyp. Während der nzp-Biotyp keine sichtbaren morphologischen Veränderungen in der Gewebezellkultur hervorruft, ist der zp-Biotyp durch Apoptose der Zellen gekennzeichnet (GILLESPIE et al., 1960, THIEL et al., 1996). Frühe Studien zeigten, dass große Mengen an freiem NS3-Protein nur bei zp-Biotypen und nicht bei nzp-Biotypen nachgewiesen werden konnten und somit als Marker für zp-Biotypen gelten (POCOCK et al., 1987; DONIS und DUBOVI, 1987). Weitere molekularbiologische Analysen haben ergeben, dass zp-Biotypen durch zufällige RNA-Rekombination (z.B. Deletion, Insertion, Duplikation und Punktmutation verschiedener Bereiche des Polyproteins) aus nzp-Biotypen entstehen (MEYERS et al., 1992; TAUTZ et al., 1993, 1996, 1999; BEHRENS et al., 1998; KÜMMERER et al., 2000; TAUTZ und THIEL, 2003; GALLEI et al., 2005). Zytopathogene KSPV-Feldisolat wurden häufig beschrieben (GILLESPIE et al., 1960; DE CASTRO, 1973; LAUDE, 1978; VAN BEKKUM und BARTELING, 1970). Diese

Isolate bestehen aus einem Helfervirus-abhängigem Subgenom („defective interfering particles“), das eine Deletion der für N^{pro}, die Strukturproteine, p7 und NS2 kodierenden Regionen aufweist (AOKI et al., 2001; MEYERS und THIEL, 1995; KOSMIDOU et al., 1998).

2.1.5 Übertragung

Unter natürlichen Bedingungen ist der häufigste und wichtigste Übertragungsweg des KSPV der direkte Weg oral oder nasal über erregerrhaltige Se- und Exkrete (DUNNE et al., 1957; DEWULF et al., 2002; MOENNIG et al., 2003). Aber auch die indirekte Übertragung durch kontaminierte Geräte oder Gegenstände z.B. beim Transport, durch Personal oder Stallgerätschaften sind als entscheidende Infektionsquellen aufgeführt (WACHENDÖRFER et al., 1978; TERPSTRA, 1987; FRITZEMEIER et al., 2000; MOENNIG et al., 2003; RIBBENS et al., 2004). Die Übertragung durch kontaminierte Speise-, Küchen- und Schlachtabfälle spielt eine besondere Rolle (WACHENDÖRFER et al., 1978; KADEN, 1999; FRITZEMEIER et al., 2000; MOENNIG et al., 2003). Laut FLOEGEL et al. (2000) und WEHREND et al. (2006) ist die künstliche Besamung mit infiziertem Samen ein seltener, aber möglicher Übertragungsweg. Neben der horizontalen Übertragung kann das KSPV bei trächtigen Sauen auch vertikal an die nächste Generation weitergegeben werden (LIESS, 1987; DEWULF et al., 2001; VAN OIRSCHOT, 1999; KADEN, 1999). Die Übertragungswege des KSPV innerhalb einer Schwarzwildpopulation sind die gleichen wie beim Hausschwein (KADEN, 1998a).

2.1.6 Pathogenese

Die KSP ist eine zyklische Allgemeinerkrankung, deren Pathogenese drei Phasen umfasst: die lymphatische Phase, die virämische Phase und die Organphase (ROLLE und MAYR, 2006).

Nachdem das Virus der KSP oronasal vom Wirt aufgenommen wurde, findet in den Tonsillen und in den regionalen Lymphknoten die erste Virusvermehrung statt (DUNNE, 1970; RESSANG, 1973a). Innerhalb von fünf bis sechs Tagen erfolgt die Verteilung ins Gewebe und in die Organe über den hämatogenen Weg (RESSANG, 1973a, 1973b). Dabei sind die Virustiter in Lymphorganen generell höher als in parenchymatösen Organen (RESSANG,

1973b). Hauptzielzellen des Virus sind Makrophagen, dendritische Zellen, lymphoretikuläre Zellen sowie Endothelzellen (LANGE et al., 2011). Bei der Manifestation in den Organen liegt der Fokus auf den Epithelzellen (RESSANG, 1973a; MOENNIG, 2000; MOENNIG et al., 2003).

Die Virusausscheidung erfolgt über Speichel, Nasensekret, Kot und Urin für ca. zehn Tage (DEWULF et al., 2002).

Obwohl das Virus eine hohe Tenazität außerhalb des Wirtes hat, ist eine Inaktivierung durch organische Lösungsmittel, Detergentien, Hitze und Bestrahlung möglich (KUBIN, 1967; EDWARDS et al., 2000).

2.1.7 Klinische Symptomatik

Die Ausprägung des Krankheitsbildes ist von wirtsspezifischen Faktoren wie z.B. Konstitution, Rasse, Kondition, Alter und von virusspezifischen Faktoren wie z.B. Virulenz, Virusdosis und Eintrittspforte abhängig, was eine genaue Beschreibung der Symptome schwierig macht (LIESS, 1987; DAHLE und LIESS, 1992; MOENNIG und PLAGEMANN, 1992; DEPNER et al., 1996; VAN OIRSCHOT, 1999; KADEN et al., 2000a; MOENNIG et al., 2003).

Laut MOENNIG et al. (2003) können drei Formen der Infektion unterschieden werden: akut, chronisch und pränatal. Diese Einteilung ist aber nur bei Einzeltierbetrachtung sinnvoll, da unter Feldbedingungen durchgeführte Studien zeigten, dass alle drei Krankheitsformen auch nebeneinander auftreten können (DEPNER et al., 1996). Deshalb unterscheiden DEPNER et al. (1996) zwischen der typischen Form: akut-letal, den atypischen Formen: akut-transient und chronisch sowie der Spätform. Ebenfalls findet man in der Literatur die Unterscheidung nach HANSON (1957) zwischen der perakuten, akuten, subakuten und chronischen Verlaufsform sowie nach KADEN et al. (2000a) zwischen der subakuten, akuten, chronischen, inapparenten und der late-onset Form.

2. LITERATURRECHERCHE

2.1.7.1 Akut-letale / Akut-transiente Verlaufsform

Die akut-letale Verlaufsform tritt am deutlichsten bei Jungtieren auf. In den ersten zwei Wochen nach der Infektion zeigen sich hohes Fieber, Durchfall, Anorexie und Schwäche. In der dritten und vierten Woche kommen ZNS-Symptome, Hyperämien, Petechien und Zyanosen dazu (DEPNER et al., 1996). Bei der akut-transienten Form ist die Fieberphase nur sehr kurz und es tritt rasch eine Besserung des Allgemeinbefindens ein. Charakteristische Blutungen und ZNS-Symptome treten nicht auf. Nach DUNNE (1970) sterben die akut erkrankten Tiere nach 10-20 Tagen post infectionem und die subakut erkrankten Tiere nach 20-30 Tagen post infektionem.

2.1.7.2 Chronische Verlaufsform

Die chronische Verlaufsform ist durch einen protrahierten Verlauf gekennzeichnet. Es kommt abwechselnd zu Phasen klinischer Besserung, gefolgt von erneuten Krankheitsschüben mit Symptomen wie rekurrendes Fieber, Appetitlosigkeit, Durchfall, Alopezie und Dermatitis (DEPNER et al., 1996). Auch hier fehlen meist die für die KSP als „klassisch“ bezeichneten Symptome (MOENNIG et al., 2003). Die Tiere können 30 Tage und länger überleben. Bei den Versuchen von DEPNER et al. (1995) ist ein chronisch infiziertes Absatzferkel erst 90 Tage nach der Infektion gestorben.

2.1.7.3 Spätform

Bei der Spätform, auch pränatale Infektion oder late-onset-Form genannt (MOENNIG et al., 2003; VAN OIRSCHOT, 1999), überwindet das KSP-Virus in tragenden Tieren die Plazentarschranke und infiziert die Feten. Die Folgen sind abhängig vom Infektionszeitpunkt während der Trächtigkeit (DEPNER et al., 1996; KADEN, 1999). Erfolgt die intrauterine Infektion eines Fetus vor dem 41. Trächtigkeitstag, kann es zu Aborten, Mumifikationen oder teratogenen Veränderungen kommen. Wird der Fetus um den 50.-70. Trächtigkeitstag infiziert, kann es zur Geburt persistent infizierter Ferkel kommen (MOENNIG et al., 2003). Diese persistent infizierten Ferkel (PI-Tiere) sind häufig klinisch gesund, können aber über Wochen und Monate Viren ausscheiden (DEPNER et al., 1996, 1997). Diese Tatsache spielt beim Seuchengeschehen eine häufig unterschätzte Rolle (LIESS, 1987; DEPNER et al., 1997; DEPNER et al., 2000).

2.1.7.4 KSP-Symptome beim Wildschwein

Es wird angenommen, dass die Pathogenese, der Krankheitsverlauf und die klinischen Symptome der KSP beim Wildschwein mit denen beim Hausschwein vergleichbar sind (DEPNER et al., 1997; ARTOIS et al., 2002). Beim Schwarzwild werden die Symptome wie folgt beschrieben:

- ⇒ herabgesetzte Aktivität und Aufmerksamkeit, Bewegungsstörungen und Verlust der Scheu (BLOME und HOPP, 1987; BRAUNSCHWEIG, 1996, HENNIG, 2000)
- ⇒ Abmagerung, struppiges und glanzloses Haarkleid (HUTTER, 1953)
- ⇒ Blut aus der Nase oder im Kot; nach dem Aufbrechen petechiale Blutungen in den inneren Organen (DEPNER et al., 1997; GOLZE, 2007)

In der freien Wildbahn sind diese klinischen Symptome nur von geschulten Jägern zu erkennen (DEPNER et al., 1997).

2.1.8 Pathologisch-anatomisches Erscheinungsbild

Äußerlich ist das pathologisch-anatomische Bild der KSP durch Petechien und Ekchymosen in der Haut gekennzeichnet. Diese setzen sich in den inneren Organen fort, besonders in Lymphknoten, Kehldeckel, Magenschleimhaut, Darmserosa, Harnblase und Nieren (ARTOIS et al., 2002, MOENNIG et al., 2003). Diese hämorrhagische Diathese kann durch Endothelläsionen, Makrophagenaktivierung, Verbrauchskoagulopathie und/oder peripheren Thrombozytenverschleiß verursacht werden. Zusätzlich sind ödematös geschwollene und hämorrhagische Lymphknoten, nekrotisierte Tonsillen, degenerative Veränderungen der Endothelien und der Lymphknoten und eine nicht-eitrige Meningoenzephalitis zu erkennen (TRAUTWEIN, 1987).

2.1.9 Immunantwort

Akut infizierte Schweine bilden frühestens zwei Wochen nach einer KSPV-Infektion neutralisierende Antikörper (AK) aus (ARTOIS, 2002). Bei einer akut-transienten Infektion sind Antikörper erst nach 8 Wochen nachweisbar (DEPNER et al., 1997). Bei chronisch infizierten Tieren kann eine Immunantwort vollständig fehlen, verzögert oder nur zeitweise auftreten (VAN OIRSCHOT, 1994). Persistent infizierte Ferkel sind immuntolerant, bilden

keine Antikörper und scheiden permanent KSP-Viren aus (LIESS, 1987; DEPNER et al., 1995, 1996; KADEN et al., 2005).

Maternale Antikörper verhindern das Auftreten klinischer Symptome bei Neugeborenen, aber nicht die Virusreplikation und die Virusausscheidung (VAN OIRSCHOT, 1994). Die neutralisierenden Antikörper bei Jungtieren hängen vom AK-Titer der Mutter ab und von der aufgenommenen Menge an Kolostrum. Dies kann in einem Wurf sehr unterschiedlich sein (DEPNER et al., 1997; KADEN et al., 2006). Sechs Tage nach der Aufnahme maternalen Antikörper ist der AK-Titer bei Jungtieren sehr hoch. Dieser sinkt kontinuierlich mit einer Halbwertszeit von ca. elf Tagen ab (DEPNER et al., 2000). Nachgewiesen werden können die maternalen Antikörper in der Regel noch bis zu drei Monate (DEPNER et al., 2000; MÜLLER, 2005).

2.1.10 Labordiagnostik

Bei der Labordiagnostik unterscheidet man zwei Bereiche: den direkten Erregernachweis und den indirekten Erregernachweis.

2.1.10.1 Direkter Erregernachweis

Beim direkten Erregernachweis kann das KSP-Virus mittels Zellkultur, die KSPV-RNA mittels Reverser Transkriptase – Polymerase Kettenreaktion (RT-PCR) und das KSPV-Antigen mittels Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) oder Immunfluoreszenz (IF) nachgewiesen werden.

Eine klassische Methode der KSPV-Diagnostik für den direkten Erregernachweis ist die Virusisolierung in der Zellkultur (DAHLE et al., 1991; KADEN et al., 1999b; ARTOIS et al., 2002, DEWULF et al., 2004). Sie besitzt eine hohe Sensitivität, was Untersuchungen mit verschiedenen virulenten KSPV-Stämmen bewiesen haben (KADEN et al., 1999b). Sie gilt als „Goldstandard“ (MOENNIG, 2000; GRUMMER et al., 2006; GREISER-WILKE et al., 2007), ist allerdings sehr arbeitsintensiv und benötigt mindestens drei Tage Untersuchungszeit, bevor ein Ergebnis verfügbar wird (KADEN et al., 1999b).

Ein schneller, aber weniger sensitiver Test für den KSPV-Antigennachweis ist die Immunfluoreszenz an Organschnitten (MOENNIG, 2000). Durch Verwendung monoklonaler

2. LITERATURRECHERCHE

Antikörper kann eine Differenzierung von anderen Pestiviren erreicht werden (BÜTTNER und AHL, 1998).

Für Massenuntersuchungen zum KSPV-Antigennachweis ist der Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) geeignet (MOENNIG, 2000; DEWULF et al., 2004). Obwohl dieser Test eine niedrigere Spezifität im Vergleich zur Virusisolierung hat, ist der Vorteil in der einfachen Handhabung und hohen Durchsatzleistung zu sehen (ARTOIS, 2002). Laut MOENNIG (2000) sowie BÜTTNER und AHL (1998) hat der ELISA auch eine niedrigere Sensitivität als die Methode der Virusisolierung.

Eine weitere Möglichkeit ist der Nachweis der viralen RNA mit Hilfe der RT-PCR. Die PCR ist eine sehr sensitive Nachweismöglichkeit, die in den letzten Jahren an Bedeutung gewonnen hat (PATON et al., 2000a). Mit ihrer hohen Sensitivität und Spezifität entspricht sie den diagnostischen Leistungen der Virusisolierung (GREISER-WILKE et al., 2007). Außerdem kann eine große Anzahl an Proben in sehr kurzer Zeit untersucht werden (GREISER-WILKE et al., 2007). Während es vorstellbar ist, dass die RT-PCR den weniger sensitiven ELISA ersetzen kann, bleibt die Virusisolierung unersetzbar für die Sammlung von Virusisolaten und deren Virulenz-Erforschung (GREISER-WILKE et al., 2007).

Eine anschließende Nukleotid-Sequenzierung bestimmter Genomregionen ermöglicht die Unterscheidung verschiedener KSPV-Isolate (MOENNIG, 2000). Zur Klassifizierung von KSPV-Isolaten werden zwei kurze Genomanschnitte des KSPV sequenziert. 150 Nukleotide aus der 5'-nicht translatierten Region (5'-NTR) (FRITZEMEIER et al., 2000, WONNEMANN et al., 2001) und 190 Nukleotide aus dem E2-Gen (LOWINGS et al., 1996). Zur Bestätigung kann ein weiterer Genomabschnitt sequenziert werden: 402 Nukleotide aus dem NS5B-Nichtstrukturproteingen (BJÖRKLUND et al., 1999). Auf dieser Basis lassen sich die KSP-Viren in drei Genotypen mit jeweils drei bis vier Subtypen einteilen (PATON et al., 2000b). Die Namensgebung der KSPV-Isolate am EU-Referenzlabor (CRL) für KSP in Hannover erfolgt traditionell nach den primären Fundorten der Isolate (FRITZEMEIER et al., 2000). Zum Beispiel stammt der Genotyp 2.3 Uelzen aus Niedersachsen (seit 1992). Später tauchte dieses Isolat auch in Baden-Württemberg, Sachsen-Anhalt und Nordrhein-Westfalen auf (FRITZEMEIER et al., 2000). Er ist zu 100 % identisch mit dem KSPV-Isolat Genotyp 2.3 Bas Rhin aus Frankreich (BLOME et al., 2009). Der Genotyp 2.3 Rostock stammt aus Mecklenburg-Vorpommern (seit 1993) und trat auch im Saarland und im linksrheinischen Teil von Nordrhein-Westfalen auf (LOWINGS et al., 1996; BLOME et al., 2009). Die

2. LITERATURRECHERCHE

Sequenzdaten werden in der Datenbank des EU-Referenzlabors (CRL) für KSP in Hannover für epidemiologische Analysen gesammelt (GREISER-WILKE et al., 1998, 2000, 2006). Mit Hilfe der molekularen Epidemiologie können räumliche und zeitliche Zusammenhänge eines Seuchenausbruchs erklärt werden (STAUBACH et al., 2010).

2.1.10.2 Indirekter Erregernachweis

Beim indirekten Erregernachweis können die KSPV-Antikörper mittels ELISA oder einem Neutralisationstest (NT) nachgewiesen werden. Dabei wird der Neutralisationstest als Goldstandard zur Untersuchung auf KSPV-Antikörper angesehen (GREISER-WILKE et al., 2007; ANONYM, 2002). Für die Routinediagnostik ist er jedoch zu zeitaufwendig und arbeitsintensiv. Nach MOENNIG (2000) weist diese Methode die höchste Sensitivität und Spezifität zur Detektion von KSPV-Antikörpern auf. Da serologische Kreuzreaktionen mit anderen Pestiviren wie z.B. BVDV und BDV nicht immer ausgeschlossen werden können, kann durch weitere Neutralisationstests eine Differenzierung ermöglicht werden (DAHLE et al., 1991).

Bei Massenuntersuchungen wird in der Regel ein weniger aufwendiger Antikörper-ELISA verwendet. Bei positiven oder nicht aussagekräftigen Ergebnissen sollten dieselben Proben erneut im Neutralisationstest getestet werden (MOENNIG, 2000).

HERGARTEN et al. (2001) haben die Eignung zweier kommerzieller ELISAs für die Routinediagnostik der KSP bei Wildschweinen untersucht. Sie stellten fest, dass sich der CHECKIT-ELISA der Firma Dr. Bommeli[®] AG für die Routinediagnostik bei dieser Wildart eignet, da hiermit in kurzer Zeit hohe Probenzahlen abgearbeitet werden können und die Sensitivität bei 97 % und die Spezifität bei 99-100 % liegen.

2.2 Biologie des Schwarzwildes

Das Wildschwein, mit wissenschaftlichem Namen *Sus scrofa*, wird in der Jägersprache auch als „Schwarzwild“ bezeichnet (HENNIG, 2000). Es ist nicht nur in Europa (z.B. Deutschland, Italien, Frankreich, Belgien), sondern auch in Teilen Asiens, Nordafrikas, Amerikas und in Australien in freier Wildbahn anzutreffen (GOLZE, 2007).

2.2.1 Lebensraum

Abhängig von Nahrungsangebot, Deckung, Wasser und Ruhezeiten halten sich Wildschweine meist in Wald-, Sumpf- oder Feldlandschaften auf (GOLZE, 2007).

2.2.2 Nahrung

Wildschweine sind Allesfresser. Sie ernähren sich sowohl von pflanzlicher Nahrung wie z.B. Eicheln, Bucheckern, Mais, Hafer, Weizen, Kartoffeln, Roggen, Erbsen, Gräsern, Früchten, Beeren als auch von tierischer Nahrung wie z.B. Insektenlarven, Würmern, Käfern, Eigelegen, Jungwild und Aas (GENOV, 1981; MEYNHARDT, 1989; HENNIG, 2000).

2.2.3 Einteilung in Altersklassen

In ihrem ersten Lebensjahr nennt man alle Wildschweine unabhängig vom Geschlecht „Frischlinge“ (HAPP, 2007). Sie kommen mit ca. 700 g zur Welt und können als Frischling ein Gewicht von bis 40 kg erreichen (GOLZE, 2007). Anfänglich haben sie die typische Jugendzeichnung: braune Grundfärbung mit gelben Längsstreifen. Aber schon nach zwei Monaten verwischen die Längsstreifen bis eine einheitlich dunkelbraune Farbe übrig bleibt, die sich mit zunehmendem Alter schwarz färbt (HENNIG, 2000).

Ab dem 13. Lebensmonat bis zum 24. Lebensmonat werden die Wildschweine als „Überläufer“ bezeichnet (HAPP, 2007). In diesem Lebensjahr können sie ihr Gewicht verdoppeln. Dies ist immer von mehreren Faktoren wie z.B. vom Futterangebot, dem Klima, der Rottengröße und der Genetik abhängig (GOLZE, 2007).

Adulte Wildschweine, d.h. älter als zwei Jahre, werden nach ihrem Geschlecht benannt. Weibliche Tiere heißen Bache und männliche Tiere Keiler (HAPP, 2007). Die anfänglich

stark exponentiell zu verzeichnende Gewichtszunahme flacht im Alter ab. Während die Bachen ein Gewicht von 50-90 kg haben können, kann ein ausgewachsener Keiler sogar bis zu 150 kg wiegen (GOLZE, 2007).

2.2.4 Lebenserwartung

Die anscheinende Robustheit des Schwarzwildes sollte nicht über die vielen Gefahren hinwegtäuschen, denen es ausgesetzt ist. Dazu zählen Kälte, Nässe, Nahrungsmangel, Raubwild und verschiedene Krankheitserreger (BRIEDERMANN, 1990).

In Gefangenschaft können Wildschweine 15-20 Jahre alt werden. Unter natürlichen Bedingungen liegt die Altersgrenze bei 8-10 Jahren (MEYNHARDT, 1989; GOLZE, 2007).

2.2.5 Reproduktion

Weibliche Jungtiere können unter guten Lebensbedingungen schon ab dem achten Lebensmonat geschlechtsreif werden, während männliche Jungtiere sich erst ab dem elften Lebensmonat fortpflanzen können (GOLZE, 2007). In einer aktuellen Studie von NEEF (2009) konnte nachgewiesen werden, dass 20 % der männlichen Frischlinge schon in einem Alter von 9 Monaten zeugungsfähig waren.

Die Fortpflanzungs- bzw. Paarungszeit wird bei den Wildschweinen auch „Rauschezeit“ genannt. Diese findet normalerweise nur einmal im Jahr statt (= monoöstrisch) und begrenzt sich in den meisten Fällen auf die Monate November bis Januar (STUBBE und STUBBE, 1977). Sollte eine Bache nicht beschlagen bzw. bedeckt worden sein, kann es nach 21 Tagen zur erneuten Rausche kommen (GOLZE, 2007). Laut HENRY (1968) dauert die Tragezeit ca. vier Monate (3 Monate, 3 Wochen, 3 Tage), woraus sich die entsprechende Wurfzeit von März bis Mai ergibt. NEEF (2009) hingegen hat nachgewiesen, dass diese strenge Saisonalität der Reproduktion des europäischen Wildschweins heute nicht mehr existiert. In seiner Studie konnte in jedem Monat des Jahres die Geburt von Frischlingen festgestellt werden. Außerdem zeigt seine Studie, dass immer mehr Frischlinge an der Reproduktion beteiligt sind. Das deckt sich mit den Untersuchungen von GETHÖFER (2005).

Die Wurfgröße variiert von 1-10 Frischlingen in Abhängigkeit von der Kondition und dem Alter des Muttertieres (STUBBE und STUBBE, 1977). BRIEDERMANN (1971) hat

berechnet, dass die Wurfgröße bei Frischlingsbachen im Durchschnitt 1-1,7 beträgt, während adulte Bachen im Durchschnitt 5,1-5,5 Junge zur Welt bringen. Das Geschlechterverhältnis (m/w) variiert von 1:0,84 (BRIEDERMANN, 1990) über 1:0,89 (MEYNHARDT, 1989; STUBBE et al., 1989) bis 1:0,95 (UECKERMANN, 1978). Nach ca. einer Woche verlassen die Jungtiere mit der Mutter ihren geschützten Wurfkessel.

Bei der Reproduktion spielt die Leitbache eine ganz besondere Rolle. Durch Veränderung ihres Hormonspiegels ist sie in der Lage, die Rausche in der gesamten Rotte zu synchronisieren (MEYNHARDT, 1989; HENNIG, 2000; HAPP, 2007). Das bedeutet, dass alle weiblichen Tiere etwa zur gleichen Zeit paarungsbereit, trächtig und werfen werden. So kann sich die gesamte Rotte gemeinsam um den Schutz und das Überleben der Frischlinge kümmern. Dieses Reproduktionsverhalten kann jedoch verloren gehen, wenn die Leitbache getötet wird (HAPP, 2007). Es kommt zur unkontrollierten, ganzjährigen Vermehrung aller Rottenmitglieder (DEPNER et al., 1998b). Aus seuchenhygienischer Sicht ist es wichtig, dass der Reproduktionsrhythmus der Wildschweine eingehalten wird, da ansonsten die Anzahl der Wildschweine unkontrolliert ansteigt und somit ein Seuchengeschehen begünstigt.

2.2.6 Sozialstruktur

Die weiblichen Wildschweine führen ein sehr soziales Zusammenleben. Sie leben in sogenannten „Rotten“ (MEYNHARDT, 1989; HAPP, 2007). Dieser komplexe Familienverband besteht nur aus weiblichen Tieren mehrerer Generationen mit festgelegter Rangordnung. Diese orientiert sich hauptsächlich am Alter. Die Leitbache ist immer die älteste Bache, die alle Lebensläufe der Rotte kontrolliert. Zum einen synchronisiert sie durch Änderung ihres Hormonspiegels die Rausche in der Rotte und zum anderen organisiert sie die Nahrungssuche und die Raumnutzung (MEYNHARDT, 1989; HENNIG, 2000; HAPP, 2007).

Die männlichen Wildschweine findet man nur selten in Gruppen. Mit Erlangen der Geschlechtsreife müssen die männlichen Wildschweine ihre Geburtstrotte verlassen (HAPP, 2007). Dabei kann es kurzfristig zur Bildung von „Überläuferkeilerrotten“ kommen (HENNIG, 2000). Den Rest ihres Lebens sind Keiler Einzelgänger, die sich nur zur Vermehrung den weiblichen Rotten nähern (MEYNHARDT, 1989).

2.2.7 Territorialverhalten / Aktionsradius

Das Schwarzwild verfügt im Gegensatz z.B. zu Rehböcken über ein nicht genau begrenztes Territorialverhalten. Die Größe des Territoriums bzw. des Aktionsraumes (auch home-range genannt) ist sehr variabel und von mehreren Faktoren wie z.B. vom Futterangebot, Wasserstellen, Ruhezeiten, Deckungsmöglichkeiten und Populationsdichte abhängig (STUBBE et al., 1989; BRIEDERMANN, 1990). In guten Habitaten kann der Aktionsradius von 500 bis 1.000 ha reichen (BRIEDERMANN, 1990).

Führende Bachen mit ihren Frischlingen sind im Allgemeinen sehr standorttreu (STUBBE et al., 1989). Eine Vergrößerung des Aktionsradius erfolgt erst mit dem Heranwachsen der Frischlinge. Dabei wird das Rottenterritorium strikt eingehalten und gegen andere Rotten verteidigt (HAPP, 2007). Gezielte Wanderungen kommen nur aus konkreten Anlässen vor wie z.B. wenn in extremen Dürreperioden im eigenen Territorium kein Wasser mehr zur Verfügung steht (HAPP, 2007). Zielloses und planloses Herumvagabundieren tritt nur bei Überläuferkeilern auf (STUBBE et al., 1989; BRIEDERMANN, 1971; 1990; HAPP, 2007). Markierungsversuche von MEYNHARDT 1989 schildern sogar den Fall, dass ein Überläuferkeiler sich 250 km von seinem Markierungsort entfernt hat.

Das territoriale Verhalten geht jedoch verloren, wenn die Leitbachen getötet werden (HAPP, 2007). Die Führung der Rotte wird dann von anderen adulten oder subadulten Bachen mit weniger Erfahrung übernommen. Dies führt zu einer verstärkten Wanderungsaktivität und in extremen Fällen sogar bis hin zu unkontrollierten Wanderungen oder sogar zum Verlust des Territoriums. Aus seuchenhygienischer Sicht ist es wichtig, die Ortstreue der Wildschweine durch verantwortungsvolle Jagd und Hege zu bewahren (SODEIKAT und POHLMAYER, 2003).

2.3 Bekämpfungsstrategie der Klassischen Schweinepest

Tritt ein KSP-Seuchengeschehen bei Wildschweinen auf, so ist es oberstes Ziel der Bekämpfungsstrategie, die Infektionskette innerhalb der Schwarzwildpopulation zu unterbrechen und die Ausbreitung des KSPV zwischen Wildschweinen oder von Wildschwein zu Hausschwein zu verhindern (KADEN 1999; LADDOMADA, 2000; MOENNIG, 2000; MOENNIG et al., 2003). In der Vergangenheit wurden unterschiedliche Bekämpfungsversuche innerhalb der EU unternommen, um die KSP bei Wildschweinen einzudämmen. KADEN et al. (1998a) unterscheiden drei grundlegende Strategien dafür:

=> verstärkte jagdliche Maßnahmen zur Bestandsreduktion (z.B. Spanien, Frankreich)

=> natürliche Durchseuchung (ggf. mit Jagdverbot) (z.B. Italien, Frankreich, Schweiz)

=> intensivierte Jagd in Kombination mit Vakzination (z.B. Deutschland)

2.3.1 Gesetzliche Grundlage

Innerhalb der Europäischen Union regelt die Richtlinie 2001/89/EG die Maßnahmen zur Bekämpfung der Klassischen Schweinepest (ANONYM, 2001). Laut der Verordnung für anzeigepflichtige Tierseuchen (TierSeuchAnzV) zählt die KSP in Deutschland zu den anzeigepflichtigen Tierseuchen und ist nach der Verordnung zum Schutz gegen die Schweinepest (SchwPestV) zu bekämpfen (ANONYM, 2011a und 2011b). In den allgemeinen Schutzmaßnahmen steht, dass bei der KSP alle Therapie- und Heilversuche untersagt sind. Zusätzlich werden den zuständigen Behörden Rechte eingeräumt, Restriktionsgebiete festlegen und Untersuchungen anordnen zu können. Darüber hinaus sind besondere Schutzmaßnahmen beschrieben, die getrennt für Haus- und Wildschweine festgelegt sind. In Abschnitt 2 Artikel 7 der Schweinepestverordnung stehen alle wichtigen Vorschriften für die Bekämpfung der KSP bei Wildschweinen: §14a Schutzmaßnahmen für den gefährdeten Bezirk, §14b Bedingungen für eine Notimpfung, §14c Schutzmaßnahmen für die Jagd ausübungsberechtigten, §14d die Forderung nach einem Tilgungsplan und §14e Schutzmaßnahmen im Falle eines Seuchenausbruchs bei Wildschweinen in benachbarten Mitgliedsstaaten.

2.3.2 Restriktionsgebiet

Gemäß Abschnitt 2 Artikel 7 §14a der Verordnung zum Schutz gegen die Schweinepest ist die zuständige Behörde dazu befugt, serologische und virologische Untersuchungen anzuordnen, epidemiologische Untersuchungen durchzuführen und nach einer amtlichen Feststellung des Klassischen Schweinepestvirus bei Wildschweinen ein Gebiet um die Abschuss- bzw. Fundstelle als besonderen Bezirk festzulegen (ANONYM, 2011b). Hierbei werden die mögliche Weiterverbreitung des Erregers, die Wildschweinpopulation, die Tierbewegung innerhalb der Wildschweinpopulation, die natürlichen Grenzen sowie die Überwachungsmöglichkeiten berücksichtigt. Die Festlegung, Änderungen oder Aufhebungen von solchen Bezirken werden öffentlich bekannt gemacht und nachrichtlich im Bundesanzeiger veröffentlicht. In Rheinland-Pfalz erfolgt dies in Form von tierseuchenrechtlichen Anordnungen, die vom Landesuntersuchungsamt in Koblenz veröffentlicht werden (ANONYM, 2005b). Alle gefährdeten Bezirke sind als solche zu kennzeichnen und es gelten unter anderen folgende Schutzmaßnahmen:

Für Hausschweinehalter:

- ⇒ Verbot der Freilandhaltung
- ⇒ Verbot des Treibens von Schweinen auf öffentlichen und privaten Wegen
- ⇒ Anordnung verstärkter hygienischer Maßnahmen
- ⇒ Innergemeinschaftliches Verbringungsverbot für lebende Schweine
- ⇒ Verbringung innerhalb Deutschlands nur unter Auflagen
- ⇒ Einschränkungen des Personenverkehrs im Betrieb

Für Jagdausübungsberechtigte:

- ⇒ Beprobungs- und Untersuchungspflicht für jedes verendete und erlegte Wildschwein
- ⇒ Zentraler Aufbruch bei Gemeinschaftsjagden
- ⇒ Sofortige unschädliche Beseitigung aller virologisch positiv getesteten Wildschweine in einem dafür vorgesehenem Verarbeitungsbetrieb

In dem in Abschnitt 2 Artikel 7 §14d geforderten Tilgungsplan sind für Rheinland-Pfalz noch weitere Schutzmaßnahmen für die Jagdausübungsberechtigten aufgelistet:

- ⇒ Inngemeinschaftliches Verbringungsverbot erlegter Wildschweine (§11 Abs. 2 Binnenmarkt-Tierseuchenschutzverordnung)
- ⇒ Amtliche Beschlagnahme der Wildkörper bis zum Vorliegen des Untersuchungsergebnisses in Wildannahmestellen

2.3.2 Orale Immunisierung

2.3.2.1 Gesetzliche Grundlage

Gemäß Abschnitt 2 Artikel 7 §14d muss jeder Mitgliedsstaat, der eine Impfung durchführen möchte, der EU-Kommission einen detaillierten schriftlichen Notimpfplan vorlegen. Im Februar 2003 wurden mit der Entscheidung der Kommission 2003/135/EG die Pläne zur Tilgung der Klassischen Schweinepest und Notimpfung gegen die Klassische Schweinepest in der Schwarzwildpopulation in den deutschen Bundesländern Niedersachsen, Nordrhein-Westfalen, Rheinland-Pfalz und Saarland genehmigt (ANONYM, 2003).

Sobald ein Ausbruch der Klassischen Schweinepest bei einem Wildschwein in Rheinland-Pfalz amtlich festgestellt wird, erfolgt die Einleitung einer oralen Immunisierung. Das Ministerium für Umwelt, Verbraucherschutz und Forsten leitet alle notwendigen Informationen über Impfstoff, Durchführung der Impfung und Impfgebiet in ausgearbeiteter Form als sogenannten „KSP-Impferlass“ an das Ministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz, das Friedrich-Loeffler-Institut, den Landesjagdverband, den Ökologischen Jagdverband, den Bauern- und Winzerverband, die Landwirtschaftskammer, die Tierseuchenkasse und das Landesuntersuchungsamt weiter (ANONYM, 2006). Das Landesuntersuchungsamt informiert die Jäger und die Öffentlichkeit in Form der tierseuchenrechtlichen Anordnungen (ANONYM, 2005b).

2.3.2.2 KSPV-Impfstoff

Die Anforderungen an einen guten Markerimpfstoff sind (LEIFER, 2010; WITTMANN et al., 2010):

- ⇒ Einfache Applikation
- ⇒ Nach einmaliger Applikation schnelle und effektive Immunität bei Tieren aller Altersklassen

2. LITERATURRECHERCHE

- ⇒ Breite Immunität gegen alle bekannten Varianten des Virus
- ⇒ Effektiver klinischer Schutz
- ⇒ Verhinderung der vertikalen und horizontalen Übertragung des Virus
- ⇒ Keine schädlichen Nebenwirkungen
- ⇒ Keine potentielle Gefahr für andere Spezies
- ⇒ Einfache und kostengünstige Herstellung
- ⇒ Verfügbarkeit eines einfachen und hoch sensitiven diagnostischen Tests zur Differenzierung von einer Infektion mit einem KSPV-Wildtypstamm

Es gibt viele verschiedene Ansätze zur Entwicklung von Impfstoffen mit Markereigenschaften (BEER et al., 2007; LEIFER, 2010):

- ⇒ Verwendung von verschiedenen immunogenen Peptiden, die Domänen des E^{tns}- und des E2-Protein enthalten (DONG et al., 2002, 2005, 2006; DONG und CHEN, 2006; LIU et al., 2006)

Nachteil: kein vollständiger Schutz vor klinischen Symptomen, Virämie und Virusausscheidung (DONG et al., 2006; DONG und CHEN, 2006)

- ⇒ Verwendung von Subunit-Impfstoffen, die aus einem Baculovirus-System exprimierten und gereinigten antigenen E2-Protein des KSPV bestehen (BOUMA et al., 1999, 2000; MOORMANN et al., 2000; DE SMIT et al., 2000)

Nachteil: mehrmalige Applikation notwendig, späte Entwicklung der Immunantwort und kein Schutz vor horizontaler Virusübertragung (DE SMIT et al., 2001)

- ⇒ Verwendung von DNA-Impfstoffen mit E2-Protein kodierenden Plasmiden (HARPIN et al., 1997; ANDREW et al., 2000, 2006; YU et al., 2001; NOBIRON et al., 2003; GANGES et al., 2005; WIENHOLD et al., 2005; LIANG et al., 2005)

Nachteil: zahlreiche Applikationen mit großen DNA-Mengen notwendig (WIENHOLD et al., 2005)

- ⇒ Verwendung von viralen Vektoren, die das E^{tns}- und das E2-Protein exprimieren (KÖNIG et al., 1995)

Nachteil: nach oraler Applikation kein vollständiger Schutz vorhanden und keine Bildung neutralisierender Antikörper (HAMMOND et al., 2001)

2. LITERATURRECHERCHE

⇒ Verwendung von transkomplementierten Deletionsmutanten, denen das E^{ms}- oder das E2-Protein fehlt (WIDJOJOATMODJO et al., 2000; VAN GENNIP et al., 2002; MAURER et al., 2005; FREY et al., 2006)

Nachteil: Immunisierung stark vom Applikationsweg des Impfstoffes abhängig (WIDJOJOATMODJO et al., 2000; VAN GENNIP et al., 2002; MAURER et al., 2005)

⇒ Verwendung von verschiedenen chimären Pestiviren aus BVDV und KSPV, bei denen das E^{ms}-, E1- oder das E2-Protein ausgetauscht wurde (REIMANN et al., 2004, 2010; KOENIG et al., 2007)

Erster effizienter und sicherer Impfstoffkandidat (REIMANN et al., 2004; KOENIG et al., 2007; LEIFER et al., 2010b)

Der derzeit verfügbare KSP-Lebendvirus-Impfstoff basiert auf dem KSP-Virus vom Stamm „C“ (Chinese). Ursprünglich handelt es sich dabei um den Rovac-Stamm aus Taiwan, der nach mehreren intravenösen Passagen in infizierten Kaninchen aus Blut, Milz oder Lymphknoten gewonnen wurde (LIN und LEE, 1981). Dieser Impfstoff ist aufgrund der hohen Sicherheit, umfassender und langanhaltender Wirksamkeit nach einmaliger Applikation, einfacher Applikation und kostengünstiger Herstellung vorerst für eventuelle Notimpfungen bei Haus- und Wildschweinen das Mittel der Wahl (WITTMANN et al., 2010). DAHLE und LIESS (1995), CHENUT et al. (1999) und KADEN et al. (2009) konnten experimentell nachweisen, dass der KSPV-Lebendimpfstoff vom Stamm C keine klinischen oder pathologischen Symptome hervorruft, dass kein Impfvirus ausgeschieden wird, dass die Bildung hoher protektiver Antikörpertiter induziert wird und dass fast keine anderen Tierarten negativ beeinflusst werden. Nur das Kaninchen zeigt nach der oralen Immunisierung klinische Symptome in Form von Fieber, wie in den Versuchen von CHENUT et al. (1999) und KADEN et al. (2009) beobachtet wurde. Ein Nachteil dieses Impfstoffes ist, dass es sich nicht um eine DIVA-Vakzine (Differentiating Infected from Vaccinated Animals) handelt, die eine Differenzierung zwischen der Antikörperantwort von infizierten und geimpften Tieren ermöglicht. In den letzten Jahren wurden zwar verschiedene Entwicklungen im Bereich der KSPV-Marker-Vakzine unternommen, aber sie sind weniger effizient und die Sensitivität der dazugehörigen diskriminatorischen ELISAs ist geringer als bei herkömmlichen ELISAs und VNTs (MOENNIG et al., 2003). Um in Zukunft das DIVA-Prinzip in der KSP-Bekämpfung beim Schwarzwild etablieren zu können, wird aktuell im Rahmen eines EU-geförderten Forschungsprojektes („CSF Vaccine & Wild Boar“, SSP1-501599) die Entwicklung einer

2. LITERATURRECHERCHE

neuen attenuierten Lebend-Markervakzine zur oralen Applikation an Schwarzwild betrieben (WITTMANN et al., 2010).

2.3.2.3 Durchführung der oralen Immunisierung

Die Durchführung der oralen Immunisierung wurde in verschiedenen Feldversuchen in Niedersachsen, Mecklenburg-Vorpommern, Baden-Württemberg, Rheinland-Pfalz, Sachsen, Sachsen-Anhalt und Brandenburg getestet (SCHURIG, 1999; KERN und LAHRMANN, 2000; STEYER, 2001; KADEN et al., 2000b, 2002, 2003, VON RÜDEN, 2006). In den ersten Feldversuchen wurden die Impfungen nur im Herbst und im Frühjahr durchgeführt, was zu einer nur relativ geringen Seroprävalenz von 30-35 % führte (SCHURIG, 1999, KERN et al., 1999). Erst durch eine verbesserte Impfstrategie in Form einer dreimaligen Doppelimmunisierung im Jahr (jeweils eine Doppelauslage im Abstand von 14-28 Tagen im Frühjahr, Sommer und Herbst) konnten Seroprävalenzen von > 45 % erreicht werden (KADEN et al., 2002, 2003; VON RÜDEN, 2006). Aus allen Feldversuchen geht hervor, dass die virologische Prävalenz nach der oralen Immunisierung deutlich gesunken ist. LOPELMANN und DEDEK (1991) zeigten in experimentellen Versuchen, dass eine Kirmung mehrere Tage vor der oralen Immunisierung die Aufnahme der Impfköder steigert.

Aus den verschiedenen Analysen ziehen KADEN et al. (2002) folgende Schlussfolgerungen für einen optimalen Immunisierungserfolg bei Wildschweinen mit einer hohen Populationsdichte mit hohem Infektionsdruck:

- ⇒ Verwendung der KSPV-Lebend-Vakzine vom Stamm C
- ⇒ Impfköderverteilung per Handauslage
- ⇒ 1 Köderplatz pro km² und 30-40 Köder
- ⇒ Kirmung 10 Tage vor der Köderauslage
- ⇒ 3 x jährlich eine Doppelauslage im Abstand von 14-28 Tagen
- ⇒ Einsammeln der nicht aufgenommenen Köder
- ⇒ Die Restriktionsgebiete sollten nicht kleiner sein als 20 km²
- ⇒ Intensive serologische und virologische Untersuchungen
- ⇒ Impfdurchführung bis 2 Jahre nach dem letzten KSPV-Nachweis

2.3.3 Jagdliche Maßnahmen

Wildlebende Tiere neigen dazu, ihren Lebensraum bis zur Belastungsgrenze aufzufüllen (BRIEDERMANN, 1990). In den letzten Jahrzehnten ist aus verschiedenen Gründen die Schwarzwildpopulation immens gestiegen (GENOV, 1981; ARNOLD, 2005). Deshalb ist sowohl im Rahmen einer guten Bejagungsstrategie als auch im Rahmen der Seuchenbekämpfung eine Reduktion der Wildschweine anzustreben. Laut PETRAK (1999), GETHÖFER (2005) und SODEIKAT (2008) sollte die Zusammensetzung der Jagdstrecke zu 70-80 % aus Frischlingen, zu 10-20 % aus Überläufern und unter 10 % aus adulten Wildschweinen bestehen. Auch DEPNER et al. (1998a) sehen eine drastische Reduzierung empfänglicher Jungtiere bei gleichzeitiger Schonung ausgewachsener Wildschweine für die KSP-Bekämpfung als erfolgsversprechend an. DEPNER et al. (1998a) schlagen sogar vor, dass um die KSP über Jagdmaßnahmen bekämpfen zu können, keine Tiere älter als 18 Monate bzw. schwerer als 50 kg erlegt werden dürfen.

In Abschnitt 2 Artikel 7 §14a Absatz 9 steht, dass, wenn gesicherte Anhaltspunkte dafür vorliegen, dass die Schweinepest durch Wildschweine verbreitet wird und eine Einschleppung der Schweinepest in ein bisher seuchenfreies Gebiet zu befürchten ist, die zuständige Behörde geeignete jagdliche Maßnahmen zur verstärkten Bejagung anordnen kann (ANONYM, 2011b). Dies erfolgte in Rheinland-Pfalz durch das Landesuntersuchungsamt in Koblenz in Form der tierseuchenrechtlichen Anordnungen (ANONYM, 2005b).

3. MATERIAL UND METHODEN

3.1 Untersuchungsgebiet und Untersuchungszeitraum

3.1.1 Untersuchungsgebiet

Das Untersuchungsgebiet erstreckt sich über das Bundesland Rheinland-Pfalz (RLP). Die Gesamtfläche von ca. 20.000 km² ist in 24 Landkreise und 12 kreisfreie Städte eingeteilt (Abb. 2).

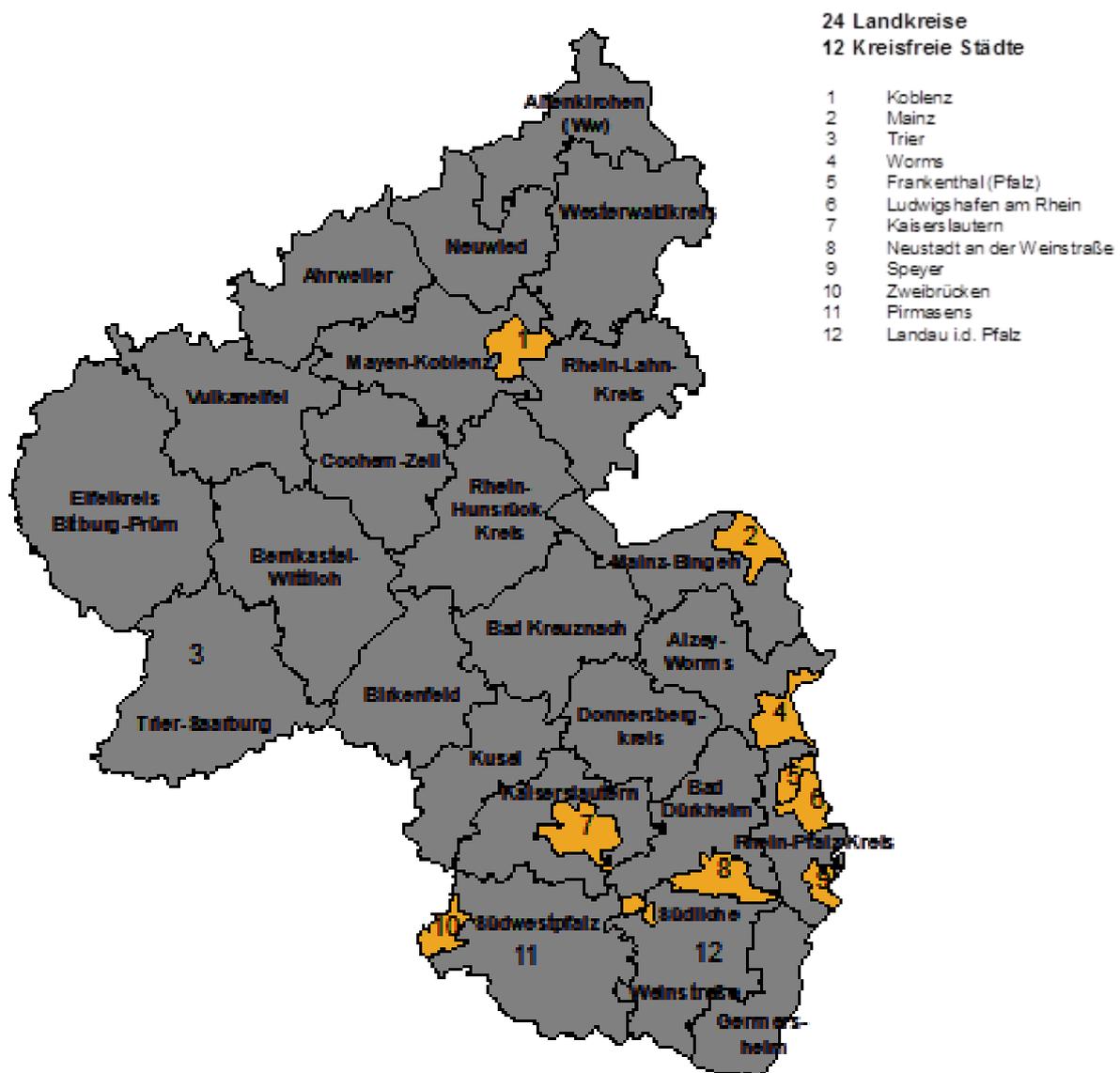


Abbildung 2: Übersichtskarte RLP - Quelle: Landesamt für Vermessung und Geobasisinformation

3. MATERIAL UND METHODEN

An der nördlichen Grenze von RLP befindet sich das Bundesland Nordrhein-Westfalen. Im Osten von RLP liegen die Bundesländer Hessen und Baden-Württemberg. Westlich grenzen die EU-Mitgliedsstaaten Luxemburg und Belgien an RLP. An der südlichen Grenze von RLP liegt Frankreich.

Rheinland-Pfalz hat eine bewaldete Fläche von ca. 8.285 km². Hier hat das Schwarzwild seinen hauptsächlichen Lebensraum. Dieses Waldgebiet ist in ca. 3.500 Jagdbezirke unterteilt, die von ca. 20.000 Jägerinnen und Jägern betreut werden (<http://www.wald-rlp.de>).

Geografisch ist RLP in sechs Regionen unterteilt (Abb. 3 und 4, links):

- Das nördliche Gebiet rechtsrheinisch wird als die Region „Westerwald“ bezeichnet und schließt die Landkreise Westerwaldkreis, Altenkirchen, Neuwied und einen kleinen Teil der kreisfreien Stadt Koblenz ein.
- Südlich hiervon, abgegrenzt durch die Lahn, befindet sich die Region „Taunus“ mit dem Rhein-Lahn-Kreis.
- Das nördliche Gebiet linksrheinisch wird als die Region „Eifel“ bezeichnet. Zu dieser Region zählen die Landkreise Ahrweiler, Vulkaneifel und Eifelkreis Bitburg-Prüm. Ebenfalls gehören Teile der kreisfreien Stadt Koblenz und nördlich gelegene Teile der Landkreise Trier-Saarburg, Cochem-Zell, Bernkastel-Wittlich und Mayen-Koblenz dazu.
- Mittig in RLP ist die Region „Hunsrück“ gelegen - nördlich von der Mosel, östlich vom Rhein und südlich von der Nahe eingerahmt. Zugehörig sind die südlichen Teile von den Landkreisen Trier-Saarburg, Cochem-Zell, Bernkastel-Wittlich und Mayen-Koblenz, die nördlichen Teile von den Landkreisen Birkenfeld, Bad Kreuznach sowie der Rhein-Hunsrück-Kreis und die kreisfreie Stadt Trier.
- Das südliche Gebiet wird als die Region „Pfalz“ bezeichnet; neben den kreisfreien Städten Frankenthal, Speyer, Neustadt an der Weinstraße, Ludwigshafen am Rhein, Landau, Zweibrücken, Kaiserslautern und Pirmasens gehören die Landkreise Donnersbergkreis, Südliche Weinstraße, Bad Dürkheim, Südwestpfalz, Kaiserslautern, Germersheim, Kusel, Rhein-Pfalz-Kreis und die südlichen Teile der Landkreise Bad Kreuznach und Birkenfeld dazu.
- Östlich in RLP liegt die Region „Rhein-Hessen“ mit den kreisfreien Städten Mainz und Worms und den Landkreisen Alzey-Worms und Mainz-Bingen.



Abbildung 3: Übersichtskarte RLP - Quelle: Landesvermessungsamt und Geobasisinformation

In der vorliegenden Arbeit wird unter Berücksichtigung der verschiedenen Restriktionsgebiete RLP in vier Regionen zusammengefasst, die wie folgt unterteilt sind (Abb. 4, rechts):

- *Region Westerwald:* Landkreise Westerwaldkreis, Altenkirchen, Neuwied und Rhein-Lahn-Kreis
- *Region Eifel:* Landkreise Ahrweiler, Vulkaneifel, Eifelkreis Bitburg-Prüm, Mayen-Koblenz, Cochem-Zell und die kreisfreie Stadt Koblenz

3. MATERIAL UND METHODEN

- *Region Hunsrück*: Landkreise Trier-Saarburg, Bernkastel-Wittlich, Rhein-Hunsrück-Kreis, Birkenfeld, Bad Kreuznach, Mainz-Bingen und die kreisfreien Städte Mainz und Trier
- *Region Pfalz*: Landkreise Kaiserslautern, Südwestpfalz, Südliche Weinstraße, Germersheim, Bad Dürkheim, Kusel, Donnersbergkreis, Alzey-Worms, Rhein-Pfalz-Kreis und die kreisfreien Städte Kaiserslautern, Pirmasens, Ludwigshafen am Rhein, Frankenthal, Speyer, Landau, Zweibrücken, Neustadt an der Weinstraße, Worms

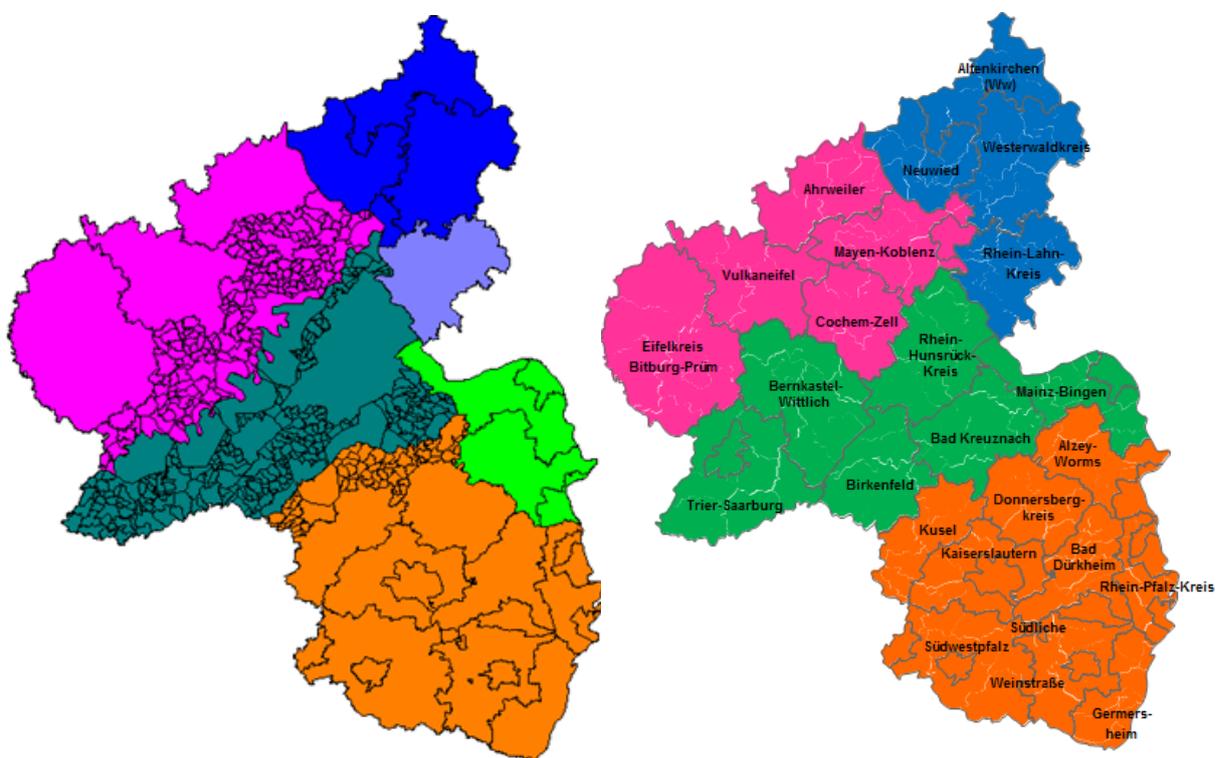


Abbildung 4: Einteilung von RLP in Regionen

Quelle: Tierseuchennachrichtensystem-Kartenexplorer Version 2.04

3.1.2 Untersuchungszeitraum

In der vorliegenden Arbeit werden alle Daten von Januar 2005 bis März 2011 erfasst, bearbeitet, ausgewertet und dargestellt.

3.2 Restriktionsgebiete in Rheinland-Pfalz

In der Zeit von 2005 bis 2009 gibt es in RLP Monitoringgebiete und Impfgebiete. Ab dem Jahre 2009 kommen Intensivmonitoringgebiete dazu. Im Folgenden werden die Auflagen und Funktionen der verschiedenen Gebiete in RLP erläutert.

3.2.1 Gefährdeter Bezirk / Impfgebiet

Nach einem amtlichen KSPV-Nachweis wird ein Gebiet von 20-30 km² um die Abschuss- bzw. Fundstelle als gefährdeter Bezirk deklariert. Dabei werden die mögliche Weiterverbreitung des Erregers, die Wildschweinpopulation, die Tierbewegung innerhalb der Wildschweinpopulation, die natürlichen Grenzen sowie die Überwachungsmöglichkeiten berücksichtigt. Sofort wird in diesem Gebiet die orale Immunisierung eingeleitet (ANONYM, 2011b).

In diesen gefährdeten Bezirken bzw. Impfgebieten haben die Jagdausübungsberechtigten von allen verendeten, verunfallten und krank erlegten Wildschweinen (Indikatortiere) sowie von allen gesund erlegten Wildschweinen Proben zur Untersuchung auf Schweinepest zu entnehmen (ANONYM, 2005b).

Das Aufbrechen der Tiere und die Sammlung des Aufbruchs müssen in einer durch die zuständige Veterinärbehörde festgelegten Wildannahmestelle erfolgen. Alle Aufbrüche werden über eine Tierkörperbeseitigungsanstalt unschädlich beseitigt. Auch der Tierkörper ist in der genannten Wildannahmestelle aufzubewahren. Erst durch ein negatives virologisches Untersuchungsergebnis ist eine Vermarktungsfreigabe des Tierkörpers innerhalb Deutschlands möglich. Wildschweine mit einem positiven virologischen Ergebnis dürfen nicht mehr vermarktet werden und müssen direkt einer Tierkörperbeseitigungsanstalt zugeführt werden, um dort unschädlich beseitigt zu werden (ANONYM, 2005b).

3.2.2 Monitoringgebiet

In einem Monitoringgebiet findet keine orale Immunisierung statt und es gelten auch keine Schutzmaßnahmen. In RLP werden zwei Arten von Monitoringgebieten unterschieden: das linksrheinische und das rechtsrheinische Monitoringgebiet. Im linksrheinischen Monitoringgebiet haben die Jagdausübungsberechtigten nur die Indikatortiere (alle verendeten, verunfallten und krank erlegten Wildschweine) und die gesund erlegten Wildschweine bis zu einem Gewicht von 30 kg zu beproben (ANONYM, 2005b). Im

rechtsrheinischen Monitoringgebiet haben die Jagdausübungsberechtigten nur die Indikatortiere (alle verendeten, verunfallten und krank erlegten Wildschweine) und die gesund erlegten Wildschweine mit einem Gewicht über 30 kg zu beproben. Dies ist darauf zurückzuführen, dass rechtsrheinisch noch nie ein KSPV nachgewiesen wurde. Im Gegensatz zu den linksrheinischen Gebieten findet rechtsrheinisch auch nur ein serologisches Monitoring statt (ANONYM, 2005b). Für beide Arten des Monitoringgebiets gilt, dass alle Tiere direkt vermarktet werden dürfen und nicht in einer Wildannahmestelle aufbewahrt werden müssen. Ein Monitoringgebiet ermöglicht die ständige Überwachung der Seuchenlage und eine frühzeitige Detektion eines neuen Seuchengeschehens.

3.2.3 Intensivmonitoringgebiet

Das Intensivmonitoringgebiet stellt einen Übergang vom Impfgebiet zum Monitoringgebiet oder umgekehrt dar. Die Situation ist wie im Monitoringgebiet: es wird nicht geimpft und es gelten keine Schutzmaßnahmen. Aber die Jagdausübungsberechtigten haben wie im Impfgebiet allen verendeten, verunfallten und krank erlegten Wildschweinen sowie alle gesund erlegten Wildschweine zu beproben (ANONYM, 2005b). Auch diese Tiere dürfen direkt vermarktet werden und müssen nicht in einer Wildannahmestelle aufbewahrt werden.

3.3 Orale Immunisierung

Nach einem amtlich festgestellten KSPV-Ausbruch erfolgt die orale Immunisierung der Wildschweine gegen die Klassische Schweinepest. Den vom Ministerium für Umwelt, Forsten und Verbraucherschutz erstellten Impferlass und den tierseuchenrechtlichen Anordnungen können alle Informationen zum Impfstoff, Impfgebiet und zur Durchführung der Impfung in RLP entnommen werden (ANONYM, 2005b, 2005c).

3.3.1 Impfköder

Zur Anwendung kommt die Schweinepest-Lebendvirusvakzine der Riemser[®] Arzneimittel AG. Die Impfstoffkapseln enthalten eine Impfdosis von mindestens $10^{4,0}$ KID₅₀ des lebenden, attenuierten Schweinepestvirus vom Stamm „C“ (Chinese). Diese sind in eine Ködermasse aus pflanzlichen Bestandteilen (überwiegend Maisschrot) und Zusätzen von Aromastoffen eingearbeitet (ANONYM, 2005c).

Die Bestellung der Impfköder erfolgt zentral durch das Ministerium für Umwelt, Forsten und Verbraucherschutz. Die Kreise und kreisfreien Städte händigen den Jagdausübungsberechtigten zusammen mit den Ködern ein vom Landesuntersuchungsamt zur Verfügung gestelltes Merkblatt auf der Basis der Anwendungshinweise des Friedrich-Loeffler-Instituts aus.

3.3.2 Impfköderaushage

Die reguläre Immunisierung erfolgt oral als dreimalige Doppelaushage (Frühjahr, Sommer, Herbst) per Hand, im Abstand von 28 Tagen, an Köderaushageplätzen oder anderen geeigneten Stellen, an denen die Wildschweine vorbeikommen oder sich aufhalten, wie z.B. an den Einständen der Wildschweine, Wechsell, Suhlen oder Kurrungen. Bei Neuanlage eines Köderaushageplatzes soll dieser aus Sicherheitsgründen mindestens einen Abstand von 1000 Metern zum nächstgelegenen Schweinehaltungsbetrieb haben.

Rechtzeitig vor der Köderaushage erfolgt ein Anlocken. Die Handaushage wird durch die Jagdausübungsberechtigten und Verantwortlichen von Gehegen durchgeführt. Zur Vermeidung von Verlusten durch Köderkonkurrenten und zur Vermeidung einer schnellen Inaktivierung des Impfvirus durch Temperatureinflüsse werden die Köder grundsätzlich (erd-) bedeckt ca. einen Spatenstich tief vergraben. Um den Immunisierungserfolg bei Frischlingen zu erhöhen, sollte vor allem in Revieren mit großer Populationsdichte der Großteil der Köder in Frischlingsrechen (Impfrechen) ausgebracht werden und der Köderaushageplatz sollte ausreichend groß ($> 200 \text{ m}^2$) angelegt werden, um ein Abdrängen der Frischlinge durch stärkere Wildschweine zu vermeiden.

Ziel der Impfung ist es, jedes Wildschwein mit mindestens einem Köder zu versorgen. In Abhängigkeit vom Schwarzwildaufkommen werden pro Köderaushageplatz bei jeder der beiden Auslagen durchschnittlich 20 bis 40 Köder ausgelegt. Während des Impfzeitraumes wird in bisherigem Umfang weiter gekirrt, um das Schwarzwild an den Köderaushageplatz zu binden.

Nach jeder Köderaushage ist eine mindestens viertägige Jagdruhe zumindest an den Orten der Köderaushage (Köderaushageplatz, Kurrung, Suhle usw.) einzuhalten. Die Jagdausübungsberechtigten und Verantwortlichen für die Gehege sollen die nicht aufgenommenen Köder bzw. freiliegenden Impfstoffkapseln nach der zweiten Auslage einer Doppelimmunisierung absammeln und in einem Plastikbeutel verpackt beim zuständigen

3. MATERIAL UND METHODEN

Kreis oder kreisfreien Stadt abgeben. Diese schicken die abgesammelten Köder an das Landesuntersuchungsamt, wo sie unschädlich beseitigt werden.

Tabelle 1: Impftermine, Impffläche und Köderanzahl im Impfgebiet Eifel

Impfgebiet Eifel		Auslagen	Impftermin	Impffläche	Köderanzahl
2005	Herbst	1. Auslage	2.-7. Dezember	440 km ²	18.400
		2. Auslage	16.-21. Dezember		18.400
2006	Frühjahr	1. Auslage	3.-5. Februar	2.810 km ²	88.000
		2. Auslage	3.-5. März		71.200
	Sommer	3. Auslage	26.-28. Mai		81.600
		4. Auslage	23.-25. Juni		64.800
	Herbst	5. Auslage	22.-24. September		80.800
		6. Auslage	20.-22. Oktober		66.400
2007	Frühjahr	1. Auslage	16.-18. Februar	1.015 km ²	34.400
		2. Auslage	16.-18. März		32.000
	Sommer	3. Auslage	15.-17. Juni		34.400
		4. Auslage	13.-15. Juli		32.000
	Herbst	5. Auslage	7.-9. September		35.200
		6. Auslage	5.-7. Oktober		32.000
2008	Frühjahr	1. Auslage	8.-10. Februar	1.015 km ²	32.800
		2. Auslage	7.-9. März		32.800
	Sommer	3. Auslage	6.-8. Juni		33.600
		4. Auslage	4.-6. Juli		32.800
	Herbst	5. Auslage	29.-31. August		32.000
		6. Auslage	16.-28. September		32.000

3. MATERIAL UND METHODEN

2009	Frühjahr	1. Auslage	27. Feb. – 1. März	650 km ²	24.800
		2. Auslage	27.-29. März		24.000
	Sommer	3. Auslage	19. -21 Juni		24.800
		4. Auslage	17.-19. Juli		24.000
	Herbst	5. Auslage	18.-20. September		24.000
		6. Auslage	16.-18. Oktober		24.000
2010	Frühjahr	1. Auslage	5.-7. Februar	650 km ²	24.000
		2. Auslage	5.-7. März		24.800

Tabelle 2: Impftermine, Impffläche und Köderanzahl im Impfgebiet Westerwald

Impfgebiet Westerwald		Auslagen	Impftermin	Impffläche	Köderanzahl
2009	Frühjahr	1. Auslage	27. Feb. – 1. März	1.810 km ²	66.400
		2. Auslage	27.-29. März		60.000
	Sommer	3. Auslage	19. -21 Juni	2.100 km ²	66.400
		4. Auslage	17.-19. Juli		68.000
	Herbst	5. Auslage	18.-20. September	2.100 km ²	68.000
		6. Auslage	16.-18. Oktober		68.800
2010	Frühjahr	1. Auslage	5.-7. Februar	2.100 km ²	64.800
		2. Auslage	5.-7. März		65.600
	Sommer	3. Auslage	14.-16. Mai		65.600
		4. Auslage	11.-13. Juni		65.600
	Herbst	5. Auslage	3.-5. September		64.800
		6. Auslage	1.-3. Oktober		68.800

3. MATERIAL UND METHODEN

Tabelle 3: Impftermine, Impffläche und Köderanzahl im Impfgebiet Pfalz

Impfgebiet Pfalz		Auslagen	Impftermin	Impffläche	Köderanzahl
2005	Frühjahr	1. Auslage	4.-6. Februar	4.800 km ²	94.400
		2. Auslage	4.-6. März		89.600
	Sommer	3. Auslage	3.-5. Juni		89.600
		4. Auslage	1.-3. Juli		87.200
	Herbst	5. Auslage	9.-11. September		91.200
		6. Auslage	7.-9. Oktober		82.400
2006	Frühjahr	1. Auslage	3.-5. Februar	1.730 km ²	38.400
		2. Auslage	3.-5. März		32.800
	Sommer	3. Auslage	26.-28. Mai		35.200
		4. Auslage	23.-25. Juni		37.600
	Herbst	5. Auslage	22.-24. September		36.800
		6. Auslage	20.-22. Oktober		35.200
2007	Frühjahr	1. Auslage	16.-18. Februar	976 km ²	31.200
		2. Auslage	16.-18. März		20.000
	Sommer	3. Auslage	15.-17. Juni		31.200
		4. Auslage	13.-15. Juli		19.200
	Herbst	5. Auslage	10.-12. August		32.000
		6. Auslage	7.-9. September		20.000
2008	Frühjahr	1. Auslage	8.-10. Februar	210 km ²	7.200
		2. Auslage	7.-9. März		7.200
	Sommer	3. Auslage	6.-8. Juni		7.200
		4. Auslage	4.-6. Juli		7.200

3. MATERIAL UND METHODEN

2008	Herbst	5. Auslage	29.-31. August	210 km ²	7.200
		6. Auslage	16.-28. September		7.200
2009	Frühjahr	1. Auslage	27.-29. März	870 km ²	18.400
		2. Auslage	24.-26. April		21.600
	Sommer	3. Auslage	19.-21. Juni		21.600
		4. Auslage	17.-19. Juli		21.600
	Herbst	5. Auslage	18.-20. September		20.800
		6. Auslage	16.-18. Oktober		20.000
2010	Frühjahr	1. Auslage	5.-7. Februar	870 km ²	20.000
		2. Auslage	5.-7. März		20.000
	Sommer	3. Auslage	14.-16. Mai	660 km ²	12.800
		4. Auslage	11.-13. Juni		12.000
	Herbst	5. Auslage	3.-5. September	660 km ²	12.800
		6. Auslage	1.-3. Oktober		12.000

Alle Jagdausübungsberechtigten und Verantwortlichen für die Gehege, die an der Immunisierung des Schwarzwildes teilnehmen, werden von ihrem zuständigen Kreis oder ihrer kreisfreien Stadt über die Immunisierung und das Verfahren mit erlegtem bzw. verendetem Schwarzwild informiert. Die Bevölkerung wird durch eine Pressemitteilung des Ministeriums für Umwelt, Forsten und Verbraucherschutz über die orale Immunisierung des Schwarzwildes informiert.

3.3.3 Jagdliche Maßnahmen

Das Ziel jagdlicher Maßnahmen ist ein landesweit seuchenhygienisch unbedenkliches, landwirtschaftlich und landeskulturell vertretbares und gesundes Schwarzwildvorkommen. Dazu wurde vom Ministerium für Umwelt, Forsten und Verbraucherschutz (MUFV), dem

3. MATERIAL UND METHODEN

Landesjagdverband, den Bauern und Winzerverbänden und dem Gemeinde- und Städtebund in Rheinland-Pfalz ein Handlungsplan ausgearbeitet mit folgenden Schwerpunkten:

- Bestandsreduzierung durch ganzjährige, intensive Bejagung
- Aufhebung der Schonzeit
- Bevorzugte Bejagung von Frischlingen unabhängig von der Verwertbarkeit
- Bevorzugte Bejagung von Zuwachsträgern (weibliche Stücke)
- Keine Gewichts- oder Altersbeschränkungen bei der Jagdausübung
- Organisation von großräumigen, revierübergreifenden Gemeinschaftsjagden
- Ordnungsgemäße und konsequente Durchführung der oralen Immunisierung
- Tierschutzrechtlicher Einsatz von Frischlingsfallen
- Verstärkte Beteiligung revierloser Jäger
- Jagdliche Unterstützung von landwirtschaftlicher Seite

3.4 Untersuchungsmaterial, Probenversand und -erfassung

Die Auswahl des Untersuchungsmaterials, die Art und Weise der Probenahme und der Probenversand sind im Diagnosehandbuch mit Diagnosemethoden, Probenahmeverfahren und Kriterien für die Auswertung von Laboruntersuchungen zur Bestätigung der Klassischen Schweinepest aus der Entscheidung der Kommission 2002/106/EG festgelegt (ANONYM, 2002). Diese Angaben sind in der vom Friedrich-Loeffler-Institut erstellten amtlichen Sammlung von Verfahren zur Probenahme und Untersuchung von Untersuchungsmaterial tierischen Ursprungs für anzeigepflichtige Tierseuchen („amtliche Methodensammlung“) übernommen und verfeinert worden (ANONYM, 2005a). Auf Bundesländerebene wird die Probenahme und der Probenversand in RLP detailliert in den tierseuchenrechtlichen Anordnungen geregelt, die vom Landesuntersuchungsamt (LUA) in Koblenz veröffentlicht werden (ANONYM, 2005b).

3.4.1 Untersuchungsmaterial

Für die diagnostischen Untersuchungen zum Nachweis von KSP-Virus, KSPV-Antigen, KSPV-Genom eignen sich Tonsillen, Milz, Niere, Lymphgewebe (z.B. Ln. retropharyngeum, Ln. parotideum, Ln. mandibulare oder Ln. mesentericum), Ileumproben und Blut (ANONYM, 2005a).

Für die diagnostischen Untersuchungen zum Nachweis von KSPV-Antikörper werden Blutproben ohne Gerinnungshemmer empfohlen (ANONYM, 2005a).

Für die Untersuchungen am LUA müssen die Jagdausübungsberechtigten Blutproben (ohne Gerinnungshemmer) aus dem Herzen oder der Brusthöhle und die Milz entnehmen. Alle Untersuchungen werden primär mit den eingesendeten Blutproben durchgeführt. Nur, wenn das Blut zu hämolytisch sein sollte und zu nicht auswertbaren Ergebnissen führt, wird die Milz verwendet.

3.4.2 Probenversand

Jeder Probe muss einem Probenbegleitschein mit folgenden Informationen zugeordnet werden können: Einsender der Probe, zuständige Kreisverwaltung, Jagdrevier, Erlegedatum, Erlegeort, Erlegezustand (gesund erlegt, krank erlegt, Unfallwild, Fallwild), Alter (< 12 Monate: Frischling, 1-2 Jahre: Überläufer, > 2 Jahre: Adult), Gewicht (in dieser Arbeit

festgelegte Einteilung: ≤ 30 kg = Frischling, 31-60 kg = Überläufer, ≥ 61 kg = Adulte), Geschlecht.

Sämtliches Probenmaterial soll in auslaufsicheren und gekennzeichneten Behältnissen transportiert werden (ANONYM, 2005a). Die Proben sollen schnellstmöglich zusammen mit dem Probenbegleitschein in einem gekennzeichneten Briefumschlag („UN 3373 Diagnostisches Untersuchungsmaterial“) zum Labor verbracht werden.

3.4.3 Probenerfassung

Sobald die Probensendung im Landesuntersuchungsamt eingetroffen ist, erhält sie eine Registriernummer. Unter dieser Nummer werden die Stammdaten vom Probenbegleitschein ins Laborinformations- und Managementsystem der Firma BALVI[®] GmbH (Ladia[®]), Lübeck, Deutschland, eingetragen.

3.5 Untersuchungsschema

Im Zeitraum 01.01.2005 bis 30.04.2007 werden sowohl die serologischen Untersuchungen zum KSPV-AK-Nachweis als auch die virologischen Untersuchungen zum KSPV-AG-Nachweis aus dem Blut mittels ELISA durchgeführt. Wenn das Blut stark hämolytisch ist, gilt es für den ELISA als ungeeignet. In diesem Fall werden die serologische Untersuchungen aus dem Blut im Neutralisationstest und die virologischen Untersuchungen aus der Milz in der Zellkultur durchgeführt. Ab dem 01.05.2007 wird die Polymerase Kettenreaktion (PCR) zum Nachweis für das KSPV-Genom etabliert. Diese Methode ersetzt aufgrund der höheren Sensitivität und Spezifität den KSPV-AG-ELISA.

Wenn KSPV-Genom bzw. KSPV-AG nachgewiesen wird, erfolgt eine Weiterleitung des Probenmaterials an das Friedrich-Loeffler-Institut (FLI) auf der Insel Riems zur weiteren Differenzierung mittels Genomsequenzierung (Abb. 5).

Wenn KSPV-AK innerhalb eines Impfgebietes nachgewiesen wird, bleibt das Ergebnis mit der Aussage: „KSPV-Antikörper in diesem Impfgebiet nachgewiesen“ bestehen (Abb. 6).

Wenn KSPV-AK außerhalb eines Impfgebietes nachgewiesen wird, erfolgt zur Bestätigung des Ergebnisses die Durchführung eines Neutralisationstestes (Abb. 7).

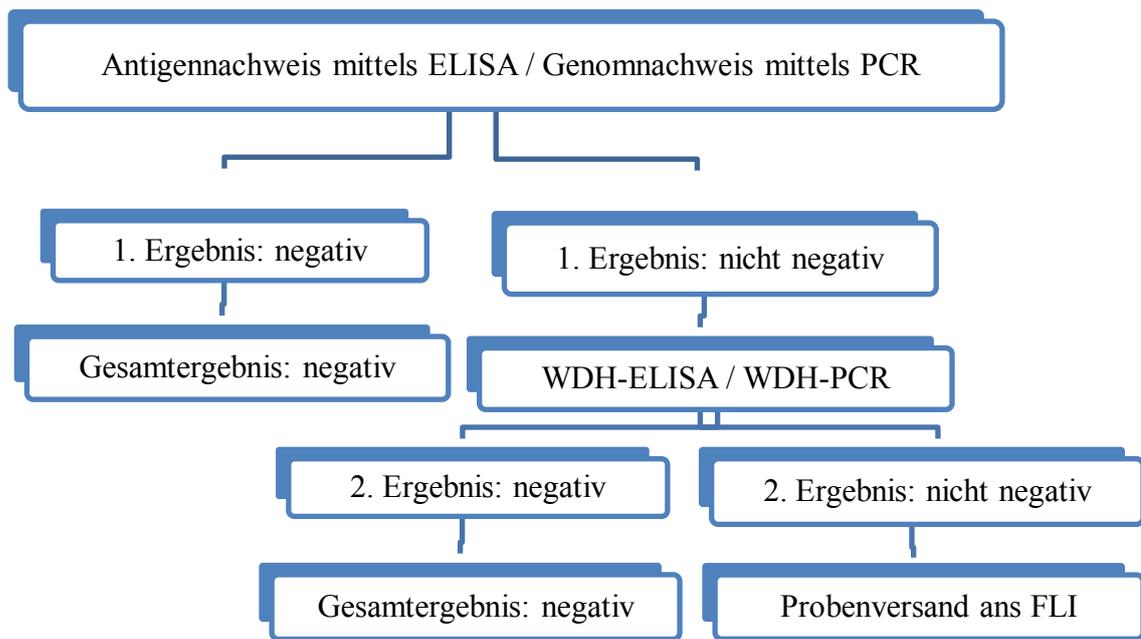


Abbildung 5: Antigennachweis mittels ELISA/ Genomnachweis mittels PCR

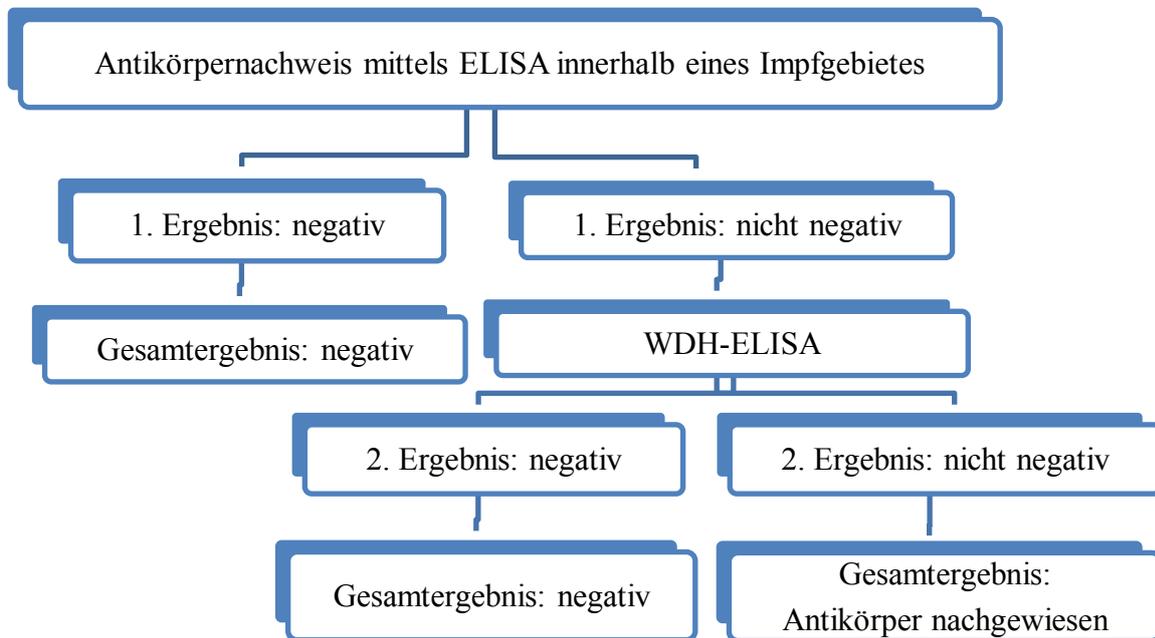


Abbildung 6: Antikörpernachweis mittels ELISA innerhalb eines Impfgebietes

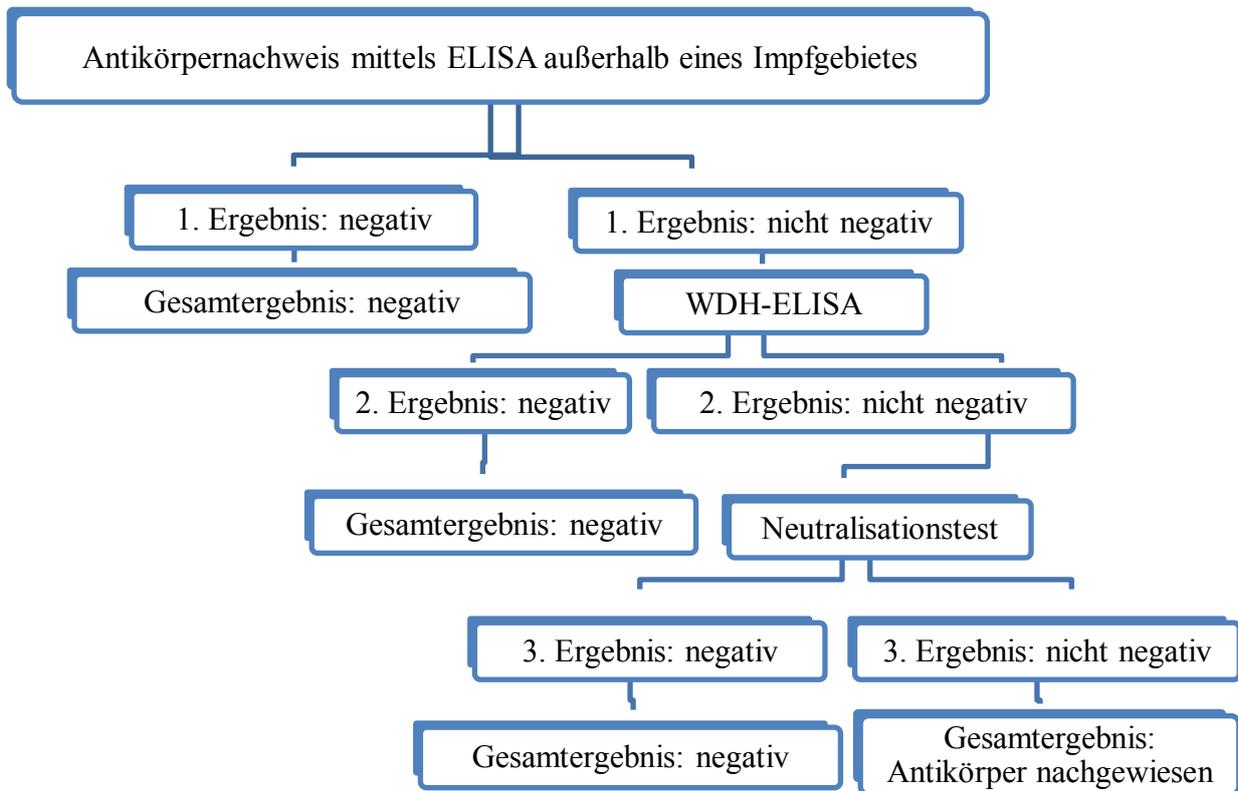


Abbildung 7: Antikörpernachweis mittels ELISA außerhalb eines Impfgebietes

3.6 Diagnostische Untersuchungsmethoden

Die diagnostischen Untersuchungsmethoden werden gemäß den Vorgaben des Diagnosehandbuchs und auf der Basis der Angaben des OIE „Manual for Diagnostic Test and Vaccines for Terrestrial Animals“ in der jeweils aktuellen Fassung und in Anlehnung an die nach §4 Absatz 3 Tierseuchengesetz (TierSG) vom Friedrich-Loeffler-Institut erstellte amtliche Methodensammlung durchgeführt (ANONYM, 2002, 2004, 2005a, 2011).

3.6.1 Serologische Methoden

3.6.1.1 KSPV-Antigen-ELISA

Die Methode zum Nachweis des Antigens des Klassischen Schweinepest Virus bei Wildschweinen erfolgt mittels Antigen-ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay). Dabei handelt es sich um ein kommerzielles Testkit, den CHECKIT-CSF-Virus-III-ELISA der Firma Bommeli Diagnostics[®], Bern, Schweiz. Dieser Test ist zugelassen für Untersuchungen an Blutserum, Plasma oder Organgewebe vom Schwein.

Prinzip:

Der CHECKIT-CSF-Virus-III ist ein einfacher Enzymimmuntest. Dabei sind die Reaktionsvertiefungen einer Testplatte mit monoklonalen Antikörpern gegen das Glykoprotein E^{rns} des KSPV beschichtet. Enthält das zugegebene Probandenserum E^{rns}-AG, bildet sich ein Antigen-Antikörper-Komplex am Boden der Testplatte. Ungebundene Antigene werden abgewaschen. Das anschließend zugegebene Konjugat enthält einen enzymmarkierten zweiten Antikörper, der sich an den vorhandenen AG-AK-Komplex bindet. Durch Zugabe des Substrates entsteht eine Färbung, die photometrisch erfasst werden kann. Die diagnostische Auswertung erfolgt durch den Vergleich der Extinktionen von Proben und Kontrollen.

Durchführung und Auswertung des CHECKIT-CSF-Virus-III können der Gebrauchsinformation entnommen werden (ANONYM, 1996).

3.6.1.2 KSPV-Antikörper-ELISA

Die serologische Methode zum Nachweis der Antikörper gegen das Virus der Klassischen Schweinepest bei Wildschweinen erfolgt mittels ELISA. Dazu wird ein kommerzielles Testkit, der CHECKIT*CSF-Sero der Firma IDEXX[®] verwendet. Dieser Test ist zugelassen für Untersuchungen an Blutserum und Plasma von Schweinen. Aufgrund der hohen Spezifität des

Konjugats werden Kreuzreaktionen mit anderen Pestiviren, wie z.B. BVDV oder BDV, auf ein Minimum reduziert. Trotzdem sollen positive oder fragliche Testergebnisse mittels Neutralisationstest überprüft werden.

Prinzip:

Der CHECKIT*CSF-Sero ist ein kompetitiver Enzymimmuntest. Dabei sind die Reaktionsvertiefungen einer Testplatte mit dem rekombinaten Hüllprotein gp55/E2 beschichtet. Das Konjugat enthält einen enzymmarkierten monoklonaler Antikörper, der gegen das gp55/E2-AG gerichtet ist. Befinden sich im Probandenserum Antikörper gegen das Hüllprotein, so verhindern diese die Bindung des enzymmarkierten Antikörpers. Nach Zugabe des Substrates bleibt eine Farbentwicklung aus. Sind hingegen keine spezifischen Antikörper in der Probe, so bindet sich der enzymmarkierte monoklonale Antikörper aus dem Konjugat an das AG und nach Zugabe des Substrat entsteht eine Färbung, die photometrisch gemessen werden kann.

Durchführung und Auswertung für das Testkit CHECKIT*CSF-Sero können der Gebrauchsinformation entnommen werden (ANONYM, 1995).

3.6.1.3 Neutralisationstest

Zur Überprüfung positiver oder fraglicher Testergebnisse des KSPV-AK-ELISA wird ein KSPV-Neutralisationstest durchgeführt.

Prinzip:

Das Probandenserum wird mit KSPV versetzt und auf porcine Nierenzellen gegeben. Enthält das Probandenserum KSPV-neutralisierende Antikörper, bilden diese mit dem Virus einen AG-AK-Komplex, so dass das Virus sich nicht in den Zellen vermehren kann. Sind keine KSPV-neutralisierenden Antikörper in der Probe, kann sich das Virus ungehindert in den porcinen Zellen vermehren. Dies wird im anschließenden Neutralization Peroxidase Link Assay (NPLA-Färbung) sichtbar gemacht.

3. MATERIAL UND METHODEN

Material und Reagenzien:

- PBS (Phosphat-gepufferte Salzlösung):
40 g NaCl, 1 g KCL, 1 g KH₂PO₄, 5,75 g Na₂HPO₄x2H₂O, ad 5.000 ml H₂O dest.
- Zellkulturmedium:
MEM Hank´s mit 0,85 mg NaHCO₃/l und L-Glutamine von der Firma Gibco®
2 % fetales Pferdeserum
1 % nicht essentielle Aminosäuren (NEAS)
120 mg/l Na-Pyruvat
1 % Penicillinstammlösung
1 % Dihydrostreptomycinsulfatstammlösung (Streptomycin)
- Antibiotikastammlösungen:
Penicillin (0,6 g entspricht 10⁶IE/100 ml Earle`s Lsg.)
Dihydrostreptomycinsulfat (1,25 g/50 ml Earle`s Lsg. - entspricht 20 mg/ml)
Neomycin (1 g/100 ml Earle`s Lsg.)
- Antibiotikagebrauchslösung:
5 Teile Penicillinstammlösung
5 Teile Dihydrostreptomycinsulfatstammlösung
1 Teil Neomycinstammlösung
- Amphotericin B – Gebrauchslösung:
50 mg Amphotericin B 45 %ig in 25 ml Aqua dest.
- Zell-Linienbezeichnung: PK 15-Zellen (Schwein, Niere)
Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten der Tiere, Insel Riems
- Positivkontrolle/Virusstamm: PrV VA65 (entspricht PrV Referenzstamm Kaplan)
Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten der Tiere, Wusterhausen
- Positives Kontrollserum „C“; Fa. Behring®
- Waschlösung: 1 Teil PBS + 2 Teile H₂O
- PBS-Tween: 0,1 ml Tween-20 pro 1.000 ml PBS (0,01% ig)

3. MATERIAL UND METHODEN

- Konjugat: Anti-CSFV-mAk z.B. Fa. BIO-X[®]
Anti-Maus-Peroxidase (POD)-Konjugat von Ziege oder Kaninchen (z.B. Fa. Dako[®])
- Chromogen/Substratlösung (Angabe für 2 Platten a'96-well):
9,00 ml 0,05 mol/l Natriumacetatpuffer, 0,10 ml H₂O₂ 3%ig, 1,00 ml AEC-Lösung
-

Durchführung des Neutralisationstest:

- ⇒ Inaktivierung des Testserums bei 56 °C im Wasserbad für 30 min.
- ⇒ Vorlage von 50 µl Zellkulturmedium in alle Reaktionsvertiefungen
- ⇒ Zugabe von 50 µl des Test- oder Kontrollserums in die Vertiefungen der ersten Reihe (entspricht einer 1:2 Vorverdünnung)
 - für die Validierung muss ein negatives und ein positives Kontrollserum mitgeführt werden
- ⇒ aus der ersten Reihe wieder je 50 µl entnehmen und in die nächsten Reihe pipettieren bis zu einer Verdünnung von mindestens 1:64
- ⇒ verwerfen der restlichen 50 µl aus der letzten Vertiefung
- ⇒ Zugabe von 50 µl Testvirus mit einer Arbeitsdosis von 200 Kid₅₀/100 µl in alle Vertiefungen
 - bei den Testseren sollte eine Serumkontrolle (nur Serum und Medium) mitlaufen, um eine Zytotoxizität des Serums zu erkennen
 - alle Testseren sollten im Doppelansatz laufen

Titrierung des Testvirus („Rücktitration“):

In jeder Serie wird eine Virustitration des Testvirus zur Kontrolle der tatsächlich eingesetzten Virusmenge durchgeführt.

Für eine vollständige Rücktitration wird das Testvirus in der Mikrotiterplatte in mindestens vier Reihen in log₂-Abstufungen in folgender Weise titriert:

- ⇒ Vorlage von 100 µl Medium pro Vertiefung
- ⇒ Zugabe von 100 µl Testvirus in die Vertiefungen der ersten Reihe (entspricht einer 1:2 Vorverdünnung)
- ⇒ aus der ersten Reihe wieder 100 µl entnehmen und in die nächste Reihe pipettieren

3. MATERIAL UND METHODEN

⇒ verwerfen der restlichen 100 µl aus der letzten Vertiefung

Alle Platten für 1-2 h bei 37 °C und 5 % CO₂ inkubieren!

Die Zellen (PK 15-Zellen mit Pferdeserum) werden einige Stunden vorher ausgesät und so eingestellt, dass nach einem Tag ein fast gleichmäßiger Zellrasen ausgebildet wird. Auch einen Tag alte Zellen können noch verwendet werden.

Nach der Inkubationszeit werden jeweils 100 µl aus den oben hergestellten Serum-/Virusgemischen auf 100 µl Zellen gegeben. Die Platten für 2-3 Tage bei 37 °C inkubieren.

Um den Neutralisationstest auswerten zu können, muss eine NPLA-Färbung erfolgen, da das KSPV keinen sichtbaren zytopathogenen Effekt (zpE) verursacht.

NPLA (Neutralization Peroxidase Linked Assay):

⇒ absaugen des Mediums von der Platte und 1x mit Waschlösung waschen

⇒ ausklopfen der Platte auf Zellstoffpapier und an der Luft trocknen lassen

⇒ Zugabe von 100 µl Aceton/Methanol im Verhältnis 1:2 in alle Vertiefungen und 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren (Fixierung der Zellen)

⇒ ausklopfen der Platte auf Zellstoffpapier und an der Luft trocknen lassen

⇒ 1 x mit Waschlösung waschen und erneut ausklopfen

⇒ Zugabe von 50 µl schweinepestspezifischen monoklonalen Antikörper (mAk) in der angegebenen Gebrauchsverdünnung und 1 h bei 37 °C inkubieren

⇒ 4x waschen mit PBS-Tween

⇒ Zugabe von 50 µl eines Anti-Maus-POD-Konjugates von Ziege oder Kaninchen und 1 h bei 37 °C inkubieren

⇒ 4x waschen mit PBS-Tween und danach 1x waschen mit Waschlösung

⇒ Zugabe von 50 µl Chromogen/Substratlösung und für ca. 15-20 Minuten inkubieren

⇒ das Substrat auf Zellstoffpapier wieder ausklopfen

⇒ 2x waschen mit Waschlösung

3. MATERIAL UND METHODEN

Die eingesetzte Virusdosis wird wie folgt nach KÄRBER (1931) berechnet:

$$x = y - d/2 + [d \times (\sum r/n)]$$

x = Virustiter

y = \log_{10} des reziproken Wertes der niedrigsten Verdünnung, bei der alle Reagenten positiv sind

d = Verdünnungsfaktor (= \log_{10} des reziproken Wertes der Verdünnungsstufe)

\sum = Summe

r = positive Reagenten pro Gruppe

n = Anzahl der Reagenten pro Gruppe

eingesetzte Virusdosis = \log_{10} Virustiter – \log_{10} Virusvorverdünnung + \log_{10} Verdünnungsstufe

Der KSPV-Serumtiter wird wie folgt nach KÄRBER (1931) berechnet:

$$x = y - [d \times (\sum r/n - 0,5)]$$

x = Exponent zur Basis 10 des KSPV-Serumtiters

y = \log_{10} des reziproken Wertes der niedrigsten Verdünnung, bei der alle Reagenten positiv sind

d = Verdünnungsfaktor (= \log_{10} des reziproken Wertes der Verdünnungsstufe)

\sum = Summe

r = positive Reagenten pro Gruppe

n = Anzahl der Reagenten pro Gruppe

KSPV-Serumtiter = 10^x

3. MATERIAL UND METHODEN

Auswertung, Validierung und Bewertung:

Die Auswertung der Platten erfolgt unter einem Lichtmikroskop bei 100facher Vergrößerung. Das Zytoplasma antigenhaltiger Zellen färbt sich braunrot (Abb. 8).



Abbildung 8: KSP-NPLA-Färbung – Quelle: LUA

Die Validierung und Bewertung erfolgt nach KÄRBER (1931):

Wenn bei der Rücktitration die eingesetzte Virusdosis zwischen 30-330 KID/50 liegt, gilt der Test als validiert.

Bewertung für die Ergebnisse bei Wildschweinproben:

- ⇒ wenn der KSPV-Serumtiter $\leq 1:10$, dann gilt die Probe als KSPV-AK negativ
- ⇒ wenn der KSPV-Serumtiter $> 1:10$, dann gilt die Probe als KSPV-AK positiv

3.6.2 Molekularbiologische Methoden

Der molekularbiologische Nachweis des Genoms des Klassischen Schweinepest Virus erfolgt mittels real-time-RT-PCR.

Prinzip:

Die Polymerase-Kettenreaktion ist eine Methode, um bestimmte DNA-Sequenzen zu vervielfältigen und nachzuweisen. Dies erfolgt in drei Schritten, die mehrmals wiederholt werden:

1. Denaturierung = Aufbrechen der doppelsträngigen DNA mittels Hitze
2. Annealing = Anlagerung der spezifischen Primer an die DNA-Einzelstränge
3. Elongation = Bildung des komplementären DNA-Stranges aus freien Nukleotiden durch die Polymerase

Bei der RT-PCR muss erst die Transkription eines RNA-Abschnitts in DNA erfolgen. Dafür wird das Enzym Reverse Transkriptase (RT) eingesetzt, eine RNA-abhängige DNA-Polymerase, mit deren Hilfe RNA in cDNA umgeschrieben werden kann. Die cDNA kann im Anschluss als Ausgangsmaterial in einer PCR verwendet werden.

Eine real-time-RT-PCR ermöglicht die Vervielfältigung der gesuchten DNA-Sequenzen quantitativ darzustellen. Dafür wird eine Gensonde verwendet, die eine komplementäre Basensequenz zum gesuchten Genabschnitt aufweist und sich an die passende DNA-Sequenz anlagern kann (z.B. TaqMan-Sonde[®]). Sie ist an ihrem einen Ende mit einem Quencher (Farblöcher) und an ihrem anderen Ende mit einem Reporter-Fluoreszenzfarbstoff (FAM) markiert. Dabei unterdrückt der Quencher die Fluoreszenz vom Reporter. Wenn die Taq-Polymerase, die zusätzlich zur Polymeraseaktivität eine 5'-3'-Exonuklease-Aktivität besitzt, die Sonde während der Synthese des Gegenstranges am 5'-Ende abbaut, entfernen sich dadurch Quencher und Fluorophor voneinander, und eine steigende Reporter-Fluoreszenz kann gemessen werden.

Probenaufbereitung (RNA-Extraktion):

Damit die RNA-Extraktion erfolgen kann, werden die Organproben oder die Blutproben zunächst mechanisch aufgeschlossen (z.B. Aufarbeitung mittels Tissue Lyser, Firma Qiagen[®]). Dies erfolgt z.B. durch Zugabe einer Stahlkugel zur Probe und Bearbeitung im Tissue Lyser für zwei Minuten. Anschließend wird jede Probe einzeln für fünf min. bei maximaler Drehzahl, z.B. 14.000 rpm, abzentrifugiert. Die gewonnenen Überstände können für die nachfolgende RNA-Extraktion gepoolt werden. Dabei werden bis zu zehn Proben zu einem Pool zusammengefasst.

Es werden mindestens eine positive und eine negative Kontrolle aus entsprechendem Ausgangsmaterial, eine positive Kontroll-DNA oder -RNA als Standard und Aqua dest. (no template control, NTC) mit jedem PCR-Ansatz mitgeführt.

Bei dem Prinzip der internen Kontrolle (IC) wird ebenfalls eine mit einem Fluoreszenzfarbstoff markierte Gensonde verwendet, um eine definierte Zielsequenz anzuzeigen. Bei der internen Kontrolle basierend auf dem Enhanced Green Fluorescence Protein (EGFP-Gen), wird bei jedem Probenansatz dem Proben-Lysispuffer-Mix des RNA-Extraktionsverfahrens die Ziel-RNA zugesetzt (HOFFMANN et al., 2006). Das Volumen der einzusetzenden IC-RNA richtet sich hier nach dem finalen Elutionsvolumen und sollte von diesem 1/10 betragen (z.B. 6 µl IC-RNA pro aufzureinigender Probe bei einem Endvolumen von 60 µl).

Alternativ kann die PCR auch mit einem internen Kontroll-Assay basierend auf dem beta-Actin Gen kombiniert werden. Bei dieser internen Kontrolle handelt es sich um die Co-Amplifizierung eines „Housekeeping gene“ (beta-Actin), das in allen Säugerzellen bereits vorhanden ist. Der angewandte IC-Assay basiert auf der Publikation von TOUSSAINT et al. (2007) und amplifiziert ein 131 Basenpaar (bp)-Fragment des beta-Actin-Gens.

Durchführung

Die Durchführung der PCR erfolgt mittels real-time RT-PCR im One-Step Verfahren, d.h. die Reverse Transkription und die PCR erfolgen in einem Ansatz. Die PCR wird nach einer Methode des Friedrich-Loeffler-Institutes durchgeführt (HOFFMANN et al., 2005). Alternativ dazu kann die PCR in Anlehnung an eine Methode vom Arbeitskreis für veterinärmedizinische Infektionsdiagnostik (AVID) von GAEDE et al. (2005) angewendet werden.

3. MATERIAL UND METHODEN

1. Durchführung der PCR nach HOFFMANN et al. (2005)

Materialien und Reagenzien:

QuantiTect™ Probe RT-PCR Kit von der Firma QIAgen®

Primer und Sonde zum Nachweis des Zieltargets:

CSF100-F 5'-ATG CCC AYA GTA GGA CTA GCA-3'

CSF192-R 5'-CTA CTG ACG ACT GTC CTG TAC-3'

CSF-Probe1 5'-FAM-TGG CGA GCT CCC TGG GTG GTC TAA GT-TAMRA-3'

Amplifikat: 92 bp

Primer Sonden Mix CSF-Mix1:

20,0 µl CSF100-F (100 pmol/µl)

20,0 µl CSF192-R (100 pmol/µl)

2,5 µl CSF Probe1 (100 pmol/µl)

157,5 µl Aqua dest.

200,0 µl CSF-Mix1 (10 pmol Primer/µl + 1,25 pmol Sonde/µl)

Primer und Sonden der internen Kontrolle zum Nachweis des EGFP Gens:

EGFP1-F 5'-GAC CAC TAC CAG CAG AAC AC-3'

EGFP2-R 5'-GAA CTC CAG CAG GAC CAT G-3'

EGFP-Probe1 5'-HEX-AGC ACC CAG TCC GCC CTG AGC A –BHQ1-3'

Amplifikat: 132 bp

3. MATERIAL UND METHODEN

EGFP-Mix 1:

5,00 μ l	EGFP1-F (100 pmol/ μ l)
5,00 μ l	EGFP2-R (100 pmol/ μ l)
4,23 μ l	EGFP-Probe1 (100 pmol/ μ l)
<u>185,77 μl</u>	Aqua dest.
200,00 μ l	EGFP-Mix1 (2,5 pmol Primer/ μ l + 2,1 pmol Sonde/ μ l)

Primer und Sonden der internen Kontrolle zum Nachweis des Housekeeping Gens beta Actin:

ACT-1005-F	5`-CAG CAC AAT GAA GAT CAA GAT CAT C-3`
ACT-1135-R	5`-CGG ACT CAT CGT ACT CCT GCT T-3`
ACT-1081-HEX	5`-HEX- TCG CTG TCC ACC TTC CAG CAG ATG T –BHQ1- 3`

Amplifikat: 131 bp

Beta-Actin-Mix2-HEX:

5,0 μ l	ACT-1005-F	(100 pmol/ μ l)
5,0 μ l	ACT-1135-R	(100 pmol/ μ l)
2,5 μ l	ACT-1081-HEX	(100 pmol/ μ l)
<u>187,5 μl</u>	Aqua dest.	
200,0 μ l	beta-Actin-Mix2-HEX	(2,5 pmol Primer/ μ l + 1,25 pmol Sonde/ μ l)

3. MATERIAL UND METHODEN

Mastermix für den Blockcycler (gilt für einen Ansatz pro Probe):

3,25 µl Aqua dest.

12,50 µl QuantiTect MasterMix

2,00 µl CSF Mix 1 (10 pmol/µl Primer/1,25 pmol/µl Sonde)

2,00 µl EGFP Mix 1 oder β-Actin Mix (2,5 pmol/µl Primer/ 2,1 pmol/µl Sonde)

0,25 µl QuantiTect RT Mix

20,00 µl

Es werden auf Eis je 20 µl Mastermix und 5 µl RNA in ein PCR-Tube pipettiert. Entfällt die interne Kontrolle wird die Menge des EGFP-Mix/β-Actin Mix durch Aqua bidest. ersetzt.

Thermoprofile:

Reverse Transkription	30`	50 °C
Denaturierung	15`	95 °C
PCR-Zyklen	42 x	(15``/95 °C// 30``/ 57 °C//30``/68 °C)
Abkühlphase	30``	40 °C

Messung des Signals in der Annealingphase

Die Amplifikate können kurzfristig im Kühlschrank und zur längeren Lagerung bei mindestens -18 °C aufbewahrt werden.

3. MATERIAL UND METHODEN

2. Durchführung der PCR nach GAEDE et al. (2005)

Materialien und Reagenzien:

QuantiTect™ Probe RT-PCR Kit Fa. Qiagen®

Primer und Sonden zum Nachweis des Zieltargets :

CSFA 11 5` - AGT ACA GGG TAG TCG TCA GTG GTT CG-3`

CSFA 14 5` - CAA CTC CAT GTG CCA TGT ACA GCA G-3`

CSFV (ESP-Sonde) 5` - FAM-TGA TGG GGG TAC GAC CTG ATA GGG T-Tamra-3`

Amplifikat: 220 bp

Primer und Sonden der internen Kontrolle zum Nachweis des EGFP Gens:

EGFP-11-F 5`-CAG CCA CAA CGT CTA TAT CAT G-3`

EGFP-2-R 5`-GAA CTC CAG CAG GAC CAT G-3`

EGFP-PROBE 1 5`-HEX-AGC ACC CAG TCC GCC CTG AGC A –BHQ1-3`

Amplifikat: 232 bp

EGFP-Mix 3:

5,00 µl EGFP-11-F (100 pmol/µl)

5,00 µl EGFP-2-R (100 pmol/µl)

4,23 µl EGFP-Probe1 (100 pmol/µl)

185,77 µl Aqua dest.

200,00 µl EGFP-Mix 3 (=> 2,5 pmol Primer/µl + 2,1 pmol Sonde/µl)

3. MATERIAL UND METHODEN

Interne Kontrolle zum Nachweis des Housekeeping Gens beta Actin:

ACT-1005-F 5`-CAG CAC AAT GAA GAT CAA GAT CAT C-3`

ACT-1135-R 5`-CGG ACT CAT CGT ACT CCT GCT T-3`

ACT-1081-HEX 5`-HEX- TCG CTG TCC ACC TTC CAG CAG ATG T –BHQ1- 3`

Amplifikat: 131 bp

beta-Actin-Mix2-HEX:

5,0 µl	ACT-1005-F	(100 pmol/µl)
5,0 µl	ACT-1135-R	(100 pmol/µl)
2,5 µl	ACT-1081-HEX	(100 pmol/µl)
<u>187,5 µL</u>	Aqua dest.	
200,0 µl	beta-Actin-Mix2-HEX	(=> 2,5 pmol Primer/µl + 1,25 pmol Sonde/µl)

Mastermix für den Blockcycler (gilt für einen Ansatz pro Probe):

2,85 µl	Aqua bidest. RNase frei
12,50 µl	QuantiTect MasterMix
0,40 µl	CSFV Sonde (10 pmol/µl)
1,00 µl	CSFA 11 (10 pmol/µl)
1,00 µl	CSFA 14 (10 pmol/µl)
2,00 µl	EGFP Mix 3 (2,5 pmol/µl Primer/ 2,1 pmol/µl Sonde)
<u>0,25 µl</u>	QuantiTect RT Mix
20,00 µl	

Es werden auf Eis je 20 µl Mastermix und 5 µl RNA in ein PCR-Tube pipettiert. Entfällt die interne Kontrolle wird die Menge des EGFP-Mix/β-Actin Mix durch Aqua bidest. ersetzt.

3. MATERIAL UND METHODEN

Thermoprofil:

Reverse Transkription 30' 50 °C

Denaturierung 15' 95 °C

PCR-Zyklen 45 x (94 °C/30''// 60 °C/60'')

Abkühlung 30'' 25 °C

Messung des Signals in der Annealingphase

Die Amplifikate können kurzfristig im Kühlschrank und zur längeren Lagerung bei mindestens -18 °C aufbewahrt werden.

Validierung:

Ein Test ist validiert, wenn bei 530 nm (FAM-Kanal) die positive Kontrolle und mindestens ein Standard positive und die negativen Kontrollen keine Signale aufweisen (Abb. 9).

Bei Verwendung einer internen Kontrolle sollten alle negativen Feldproben und negativen Gewebekontrollen bei 560 nm (HEX-Kanal) einen Crossing Point (Cp) bzw. Cycle Threshold (Ct) aufweisen (Abb. 10). Sind diese Cp- bzw. Ct-Werte vorhanden, ist davon auszugehen, dass die RT-PCR funktioniert hat. Bei fehlendem Cp (oder Ct) bei negativen Feldproben kann eine Inhibition vorliegen. In solchen Fällen sollte die Untersuchung wiederholt werden. Dabei können die Proben vor der Extraktion 1:2 oder 1:5 verdünnt werden.

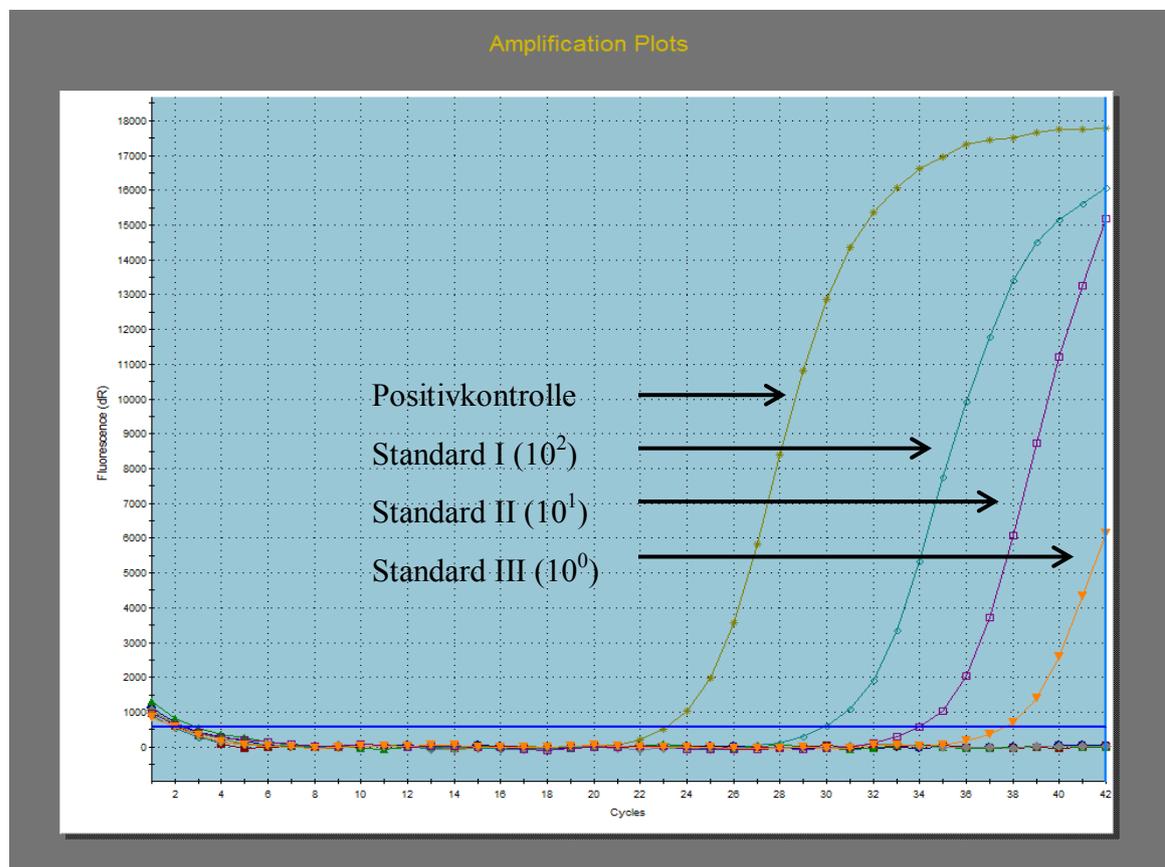


Abbildung 9: Amplification Plot FAM (530 nm) – Quelle: LUA

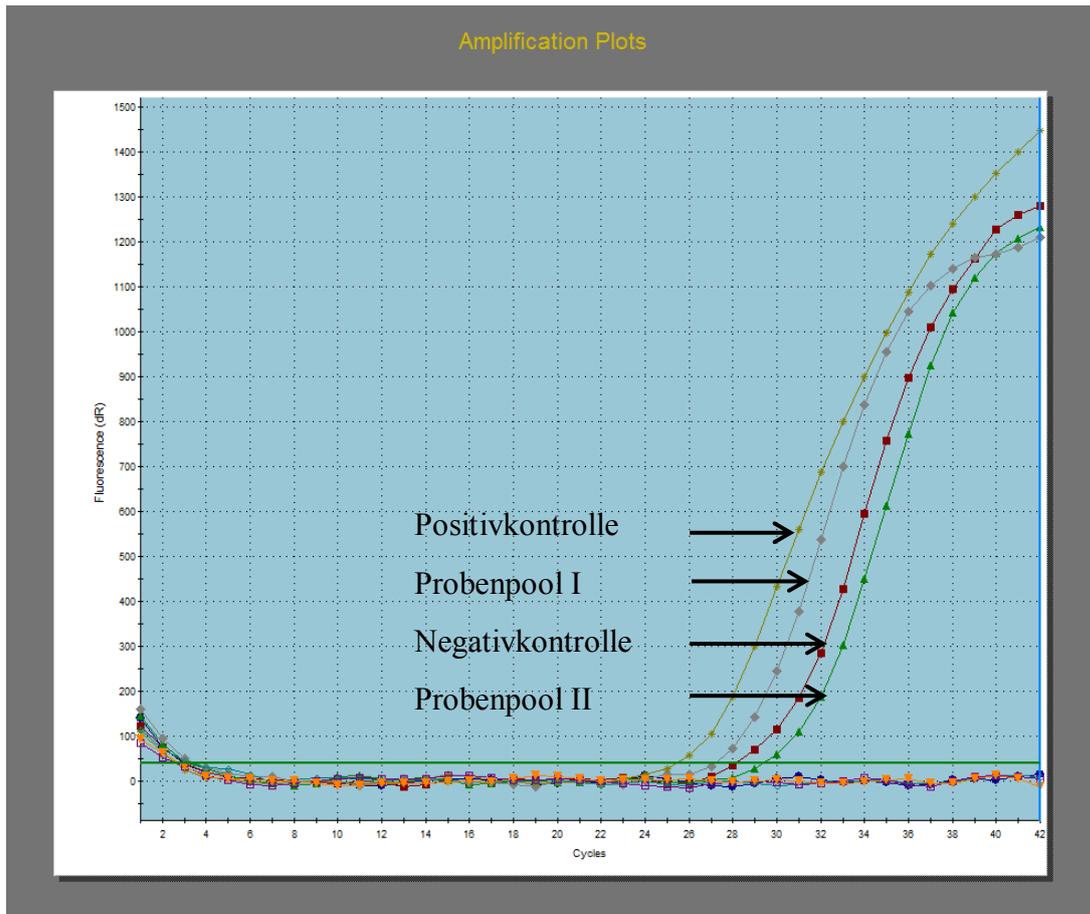


Abbildung 10: Amplification Plot HEX (560 nm) – Quelle: LUA

Auswertung:

Die Identifizierung der Ziel-DNA erfolgt mit Hilfe einer fluoreszierenden Sonde, die in die zu amplifizierende DNA eingebaut wird. Die Aufnahme der Fluoreszenzdaten erfolgt für das Zielamplifikat bei 530 nm (FAM-Kanal) und für das Amplifikat der internen Kontrolle bei 560 nm (HEX-Kanal). Die Fluoreszenz wird mittels eines in den Thermocycler eingebauten Photometers gemessen und EDV-technisch ausgewertet.

Am Friedrich-Loeffler-Institut durchgeführte Untersuchungen:

Die Differenzierung von Impfvirusstämmen und Feldvirusstämmen erfolgt nach einer modifizierten PCR-Methode nach HOFFMANN et. al (2005). Die Modifizierung besteht darin, dass zusätzlich zu den vorgeschriebenen Primern und Sonden (CSFV und IC) noch ein weiteres Primerpaar mit Sonde (C-Stamm) hinzugefügt wird, die spezifisch den C-Stamm nachweist.

C-Stamm-Primer:

C-Strain 1625-F 5'- ATA GAG AGC CCA TGT AAT TTC AAT A -3'

C-Strain 1702-R 5'- CTG GAG CAA ACT GCC GCT -3'

Amplifikat: 77 bp

Für die Nukleotid-Sequenzierung werden zwei kurze Genomanschnitte des KSPV sequenziert: 150 Nukleotide aus der 5'-nicht translatierten Region (5'-NTR) und 190 Nukleotide aus dem E2-Gen (PATON et. al., 2000).

Die aus der Standard one-step-rRT-PCR unter Verwendung des SuperScriptTMIII One-Step RT-PCR-System mit Platinum[®] Taq (Invitrogen) gewonnen DNA-Fragmente werden mit dem QIAquick[®] Gel Extraction Kit (Qiagen) aus den Agarosegelen isoliert. Die Sequenzierung wird unter Verwendung des BigDye[®] Terminator v1.1. Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) durchgeführt. Die Auswertung der Nukleotidsequenzen erfolgt mit dem 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems). Diese Nukleotidsequenzen werden anschließend unter Verwendung der BioEdit 7.0.9 (HALL, 1999) und der Genetik Computer Group (GCG) Software-Version 11,1 (Accelrys Inc., San Diego, USA) bearbeitet und analysiert. Anschließend werden Stammbäume berechnet mit der Neighbor-joining Methode in MEGA 4.0 (TAMURA et al., 2007).

3.6.3 Virologische Methoden

3.6.3.1 Virusanzüchtung

Die Methode zum Nachweis des vermehrungsfähigen Virus der Klassischen Schweinepest erfolgt mittels Virusanzüchtung in der Zellkultur.

Material und Reagenzien

Siehe Kapitel 3.6.1.3 Neutralisationstest

Aufbereitung der Proben:

- ⇒ Homogenisierung des Probenmaterials (hier: Milz) entweder in einem Mörser mit Seesand oder mit dem Ultra-Turrax
- ⇒ Zugabe von Zellkulturmedium oder PBS, sodass eine ca. 10 %ige Suspension entsteht
- ⇒ 10 min. bei ca. 4 °C zentrifugieren
- ⇒ Überstand in jeweils zwei gekennzeichnete Röhrchen abfüllen

Bei hochgradiger Verunreinigung kann das Material vor dem Abfüllen auch noch durch einen entsprechenden Filter filtriert werden.

- ⇒ in das erste Röhrchen ca. 5 ml Überstand aus dem Zentrifugenglas füllen
 - Zusätzlich werden zur Vermeidung bakterieller oder fungizider Verunreinigungen noch ca. 0,5 ml Antibiotikagebrauchslösung und 0,05 ml Amphotericin B-Gebrauchslösung dazu gegeben
- ⇒ in das zweite Röhrchen ca. 10 ml Überstand aus dem Zentrifugenglas füllen
 - Dieses Röhrchen dient als Reserve und erhält keinen Antibiotikazusatz

Inokulation der aufbereiteten Probe auf die entsprechende Zellkultur:

- ⇒ 100 µl Zellen (PK 15-Zellen mit Pferdeserum) werden einige Stunden vorher ausgesät und so eingestellt, dass nach einem Tag ein fast gleichmäßiger Zellrasen ausgebildet wird - auch einen Tag alte Zellen können noch verwendet werden
 - zum Weiterimpfen wird eine 24-Well Platte im Doppelansatz beimpft

3. MATERIAL UND METHODEN

- zur Färbung der Zellkultur mittels NPLA wird eine 96-well Platte im Vierfachansatz beimpft
 - es werden eine Positivkontrolle und eine Negativkontrolle je Ansatz mitgeführt.
- ⇒ Zugabe von 100-200 µl Testmaterial/Kontrollvirus in die Vertiefungen der 24-Well-Platte
- ⇒ Zugabe von 50-100 µl Testmaterial/Kontrollvirus in die Vertiefungen der 96-Well-Platte

Die 24-Well-Platten werden nach 5-7 Tagen Bebrütung bei 37 °C und 5 % CO₂ von der ersten Passage in die zweite Passage weiter geimpft. Dazu werden die Platten kurz eingefroren, um die Zellen zu zerstören und das Virus frei zu setzen. Anschließend kann der Zellkulturüberstand nach dem gleichen Prozedere weitergeimpft werden.

Die 96-Well-Platten werden nach 2-3 Tagen Bebrütung bei 37 °C und 5 % CO₂ sowohl nach der ersten als auch nach der zweiten Passage bereits mittels NPLA-Färbung gefärbt.

Durchführung der NPLA-Färbung:

Siehe Kapitel 3.6.1.3 Neutralisationstest

Validierung:

Wenn die Positivkontrolle positiv und die Negativkontrolle negativ ist, gilt der Test als validiert.

Auswertung:

Die Auswertung der Platten erfolgt unter einem Lichtmikroskop bei 100facher Vergrößerung. Das Zytoplasma antigenhaltiger Zellen färbt sich braunrot an.

Anmerkung:

Die diagnostischen Untersuchungen habe ich unter Mithilfe von technischen Assistenten des LUA im jeweiligen Arbeitsbereich durchgeführt. Die Auswertungen der Ergebnisse, die Befundung und die Berichterstellung sind ausschließlich von mir vorgenommen worden. Die Differenzierung von Impfvirusstämmen und Feldvirusstämmen und die Genotypisierung erfolgten am Friedrich-Loeffler-Institut. Die daraus resultierenden Untersuchungsergebnisse wurden mir freundlicherweise für meine Dissertation zur Verfügung gestellt.

3.7 Verwendete Datenbanken

3.7.1 Tierseuchennachrichtensystem (TSN)

Beim TSN handelt sich um ein EDV-gestütztes System zur Erfassung von Tierseuchen in Deutschland, zu dem alle Veterinärämter sowie zuständige Stellen auf Bezirks-, Landes- und Bundesebene Zugang haben. Eingaberecht haben nur die Veterinärbehörden auf Kreisebene. Das System wurde von Mitarbeitern des FLI entwickelt. Der Zentralrechner steht in Wusterhausen und wird vom FLI betreut. Informationen zu einem Verdacht oder einer Feststellung von anzeigepflichtigen Tierseuchen oder meldepflichtigen Tierkrankheiten in allen Bundesländern können dort abgefragt werden. Das Programm bietet weiterhin aktuelle Informationen zu den verschiedenen Tierkrankheiten. Eine Geodifferenzierungsfunktion ermöglicht die kartographische Darstellung von Tierseuchenausbrüchen, in denen Sperr-, Beobachtungsgebiete und Schutzzonen festgelegt werden können. Das Programm erfasst dann automatisch alle in diesem Gebiet gelegenen Betriebe, die per Sammelfaxe oder Sammelanschreiben in kürzester Zeit informiert werden können. Exportieren der Daten im MS-Excel-Format ist ebenfalls für eine weitere individuelle Auswertung möglich.

3.7.2 Classical swine fever on wild boar surveillance database (CSF-DB)

Bei CSF-DB handelt es sich um eine Datenbank im world wide web (<https://csf-wildboar.eu>), in der speziell für die Klassische Schweinepest bei Wildschweinen alle vorhandenen Daten gesammelt, dargestellt und ausgewertet werden. Nur das FLI hat Eingaberechte und jede veterinärmedizinische Behörde kann den Zugriff auf diese Datenbank beim FLI beantragen. Bisher liefern folgende Länder die Daten: Deutschland, Belgien, Frankreich, Niederlande und Luxemburg. Zukünftig soll die CSF-DB auch für andere EU-Mitgliedstaaten und benachbarte europäische Länder erweitert werden. Ziel dieser Datenbank ist die Transparenz der internationalen epidemiologischen Situation der Klassischen Schweinepest bei Wildschweinen. Es soll schnell eine aktuelle Übersicht schaffen, um auf der Basis dieser Informationen geeignete Maßnahmen zur Bekämpfung der Klassischen Schweinepest ergreifen zu können. Entwickelt wurde die CSF-DB vom EU-Referenzlabor für Klassische Schweinepest in Kooperation mit dem Friedrich-Loeffler-Institut in Wusterhausen. Das FLI ist für den Schutz und die Verwaltung der Daten, aber nicht für die Vollständigkeit oder Korrektheit der Daten, verantwortlich.

3.7.3 Ladia®

Ladia® ist ein Laborinformations- und Managementsystem der Firma BALVI® GmbH zur Verwaltung aller Daten, die in einem Laborbetrieb anfallen. Beginnend von der Registrierung aller Proben, die im Landesuntersuchungsamt eingehen, über die Untersuchungsmethode bis hin zur Auswertung der Untersuchung wird in dem System eine lückenlose Prozesskette verwaltet.

3.8 Auswertung

Die erhobenen Daten wurden im MS-Excel-Format gesammelt, sortiert und in eine numerische Form umgewandelt. Diese Exceldatei wird in das Statistikprogramm Programm IBM SPSS Statistics® Version 19.0 für Windows übertragen. Mit Hilfe der Filterfunktion wurden, orientiert an den einzelnen Fragestellungen, die entsprechenden Daten selektiert. Über die statistischen Analysefunktionen (Kreuztabellen, Mittelwerte vergleichen, deskriptive Statistik) wurden die Daten ausgewertet.

Zusätzlich werden anhand der vorliegenden Daten in MS-Excel verschiedene Diagramme (Säulen-, Linien- und Flächendiagramme) zur effektiven Darstellung erzeugt. Bei einigen Säulendiagrammen wurden auch zusätzliche Funktionen wie z.B. lineare oder exponentielle Trendlinien hinzugefügt. Die kartographischen Darstellungen der Gebietsverteilungen wurden mit Hilfe des Kartenexplorers Version 2.04 – einer Komponente des Tierseuchennachrichtensystems (TSN) - angefertigt. Die Übersichtskarten von RLP wurden vom Landesamt für Vermessung und Geobasisinformation RLP zur Verfügung gestellt.

4. ERGEBNISSE

4.1 Seuchengeschehen in Rheinland-Pfalz im Zeitraum 2005-2011

4.1.1 Seuchengeschehen in der Region Eifel

Anfang des Jahres 2005 ist die gesamte Region Eifel nur Monitoringgebiet. Erst nach dem KSPV-Nachweis am 23.12.2005 in Aremberg im Kreis Ahrweiler werden die Verbandsgemeinden Adenau und Altenahr zum gefährdeten Bezirk erklärt. Daraufhin findet im Dezember 2005 in diesen zwei Verbandsgemeinden eine Notimpfung statt (Abb. 12, oben).

Dieses neu entstandene Impfgebiet wird 2006 durch die zwei KSPV-Nachweise am 02.01.2006 in Dorsel und am 28.03.2006 in Schuld auf die Landkreise Ahrweiler und Vulkaneifel und angrenzende Teile der Kreise Mayen-Koblenz, Cochem-Zell und Eifelkreis Bitburg-Prüm erweitert (Abb. 13, oben).

Am 11.07.2007 kommt es erneut zu einem KSPV-Nachweis in Antweiler in der Verbandsgemeinde Adenau. Da es sich aber bei den vereinzelt auftretenden Nachweisen offensichtlich um ein isoliertes Geschehen in der Verbandsgemeinde Adenau und Umgebung handelte, wird das Impfgebiet von 2.810 km² auf 1.015 km² verkleinert. Von diesem Zeitpunkt an gehören nur noch die Verbandsgemeinde Adenau aus dem Kreis Ahrweiler und kleine Bereiche der Kreise Vulkaneifel und Eifelkreis Bitburg-Prüm zum Impfgebiet (Abb. 14, oben).

Im Jahre 2008 wird kein weiterer KSPV-Nachweis mehr in der Region Eifel geführt. 2009 wird das Impfgebiet nochmals verkleinert. Es wird nur noch in Adenau aus dem Kreis Ahrweiler und in kleinen Teilen des Vulkaneifelkreises geimpft (Abb. 16, oben links).

Bis zum Sommer 2010 wird kein Virus der Klassischen Schweinepest mehr bei Wildschweinen in der Region Eifel nachgewiesen. Die Impfung wird eingestellt und das Impfgebiet wird zum Intensivmonitoringgebiet erklärt (Abb. 17, oben links).

4.1.2 Seuchengeschehen in der Region Westerwald

Die gesamte Region Westerwald ist von Beginn der Auswertungen 2005 bis Anfang des Jahres 2009 Monitoringgebiet. Im Februar/März 2009 kommt es zu mehreren KSPV-

Nachweisen im rechtsrheinischen Gebiet: zehn KSPV-Nachweise im Kreis Neuwied (Erpel, Hanroth, Harschbach, Marienhausen, Puderbach), vier KSPV-Nachweise im Kreis Altenkirchen (Wissen, Bachenberg, Friesenhagen, Kescheid) und zwei KSPV-Nachweise im Kreis Westerwald (Kroppach, Stein-Wingert). Sofort werden die Kreise Altenkirchen und Neuwied und Teile vom Kreis Westerwald zum Impfgebiet erklärt. Zusätzlich werden aus Sicherheitsgründen die übrigen rechtsrheinischen Gebiete von Rheinland-Pfalz: der Kreis Rhein-Lahnkreis und Teile vom Kreis Westerwald und Mayen-Koblenz sowie Teile der kreisfreien Stadt Koblenz zum Intensivmonitoringgebiet erklärt (Abb. 16, oben rechts).

Bis zum Ende der Auswertungen bleibt das Impfgebiet mit 2.100 km² rechtsrheinisch unverändert, während das Intensivmonitoringgebiet verkleinert wird. Es zählen nur noch Teile vom Kreis Westerwald dazu (Abb. 17, oben rechts).

4.1.3 Seuchengeschehen in der Region Pfalz

Zu Beginn der Auswertungen ist in der Region Pfalz ein Impfgebiet mit einer Größe von 4.800 km². Davon betroffen sind die Kreise Südwestpfalz, Kaiserslautern, Bad Dürkheim, Donnersbergkreis und Teile der Kreise Bad Kreuznach, Alzey-Worms, Ludwigshafen am Rhein, Germersheim und Südwestpfalz. Von den kreisfreien Städte zählen Kaiserslautern, Landau in der Pfalz, Pirmasens, Neustadt an der Weinstraße und Speyer dazu. Die restlichen Gebiete von Rheinland-Pfalz waren Monitoringgebiete (Abb. 11).

Im Jahre 2006 verkleinert sich das Impfgebiet auf 1.730 km². Es sind nur noch Teile der Kreise Südliche Weinstraße, Germersheim und Südwestpfalz und die kreisfreien Städte Kaiserslautern und Landau in der Pfalz betroffen (Abb. 13, unten).

Die Verkleinerung des Impfgebietes erfolgt auch im Jahr 2007 auf 976 km². Von da an wird nur noch in Teilen der Kreise Südwestpfalz und Südliche Weinstraße und in der kreisfreien Stadt Pirmasens geimpft (Abb. 14, unten).

Da kein KSPV mehr in der Region nachgewiesen worden ist, besteht im Jahre 2008 das Impfgebiet dann nur noch aus einem kleinen Streifen im Kreis Südwestpfalz (Abb. 15, unten).

Im Jahre 2009 treten acht KSPV-Nachweise isoliert in der Verbandsgemeinde Waldfishbach im Kreis Südwestpfalz (Geiselberg, Heltersberg, Steinalben, Waldfishbach) auf. Dies führt zu einer Vergrößerung des Impfgebietes von 210 km² auf 870 km²: die Kreise Kaiserslautern

4. ERGEBNISSE

und Südwestpfalz und die kreisfreie Stadt Kaiserslautern. Die in naher Umgebung gelegenen Gebiete erhalten den Status Intensivmonitoring. Dazu zählen die kreisfreien Städte Landau in der Pfalz, Speyer, Neustadt an der Weinstraße, Pirmasens, Zweibrücken und die Kreise Bad Dürkheim, Ludwigshafen am Rhein, Südliche Weinstraße und Germersheim (Abb. 16, unten).

Da die KSPV-Nachweise aus dem Jahre 2009 offensichtlich ein isoliertes Geschehen darstellen, wird 2009 das Impfgebiet auf 660 km² verkleinert. Der kleine Streifen Impfgebiet im Kreis Südwestpfalz wird zum Intensivmonitoringgebiet erklärt (Abb. 17, unten).

Legende zu den folgenden kartographischen Darstellungen (Abb. 11-17):

Monitoringgebiet = weiß

Intensivmonitoringgebiet = magenta

Impfgebiet = blau

KSPV-Nachweis = rot

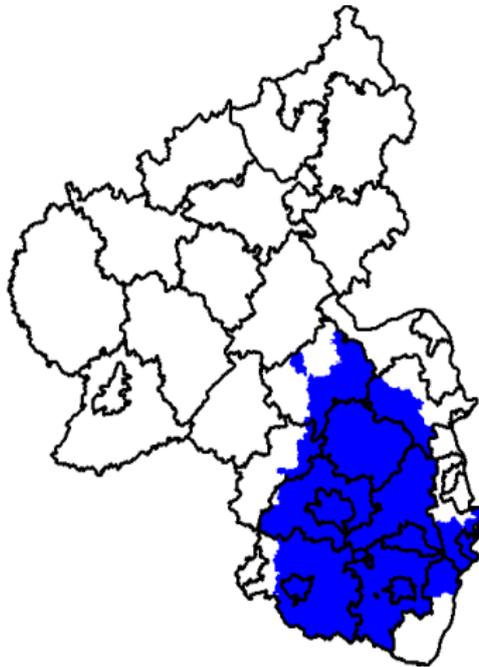


Abbildung 11: Restriktionsgebiet 2005 (Frühjahr, Sommer, Herbst)

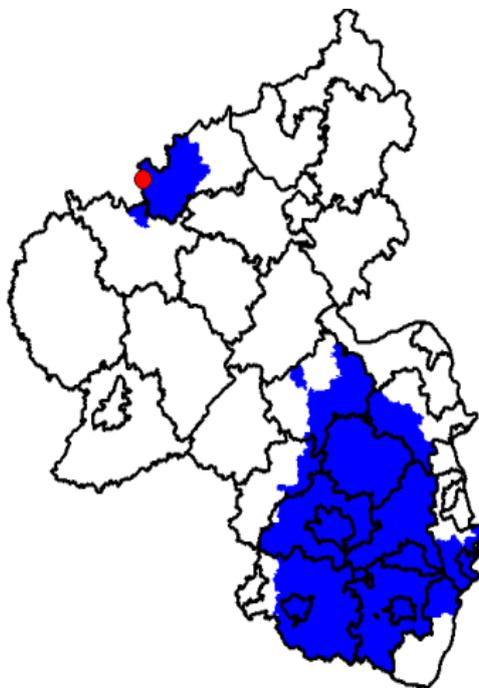


Abbildung 12: Restriktionsgebiete 2005 (Winter)

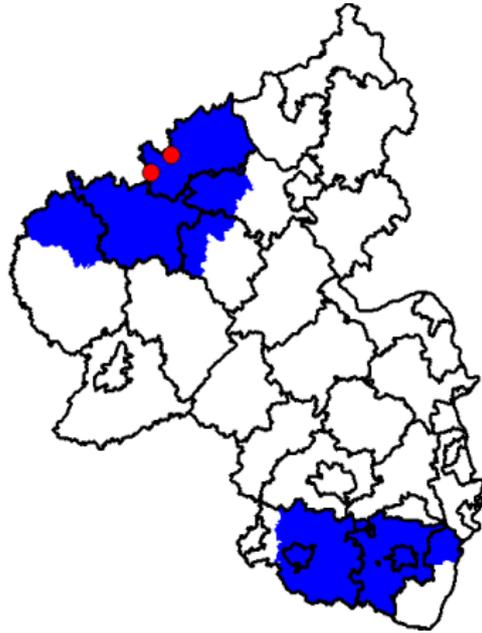


Abbildung 13: Restriktionsgebiete 2006

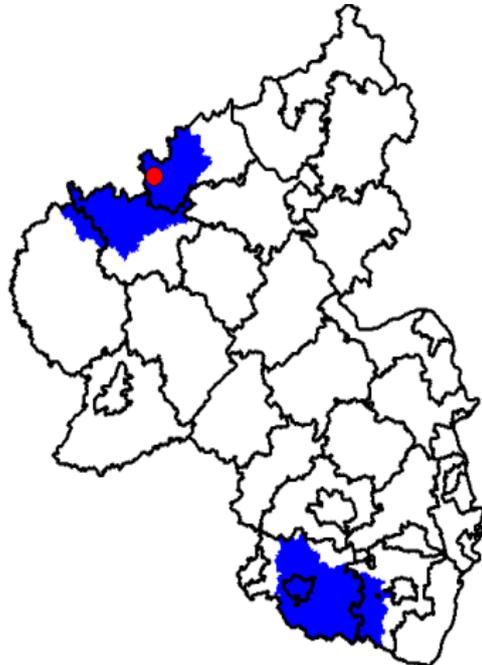


Abbildung 14: Restriktionsgebiete 2007

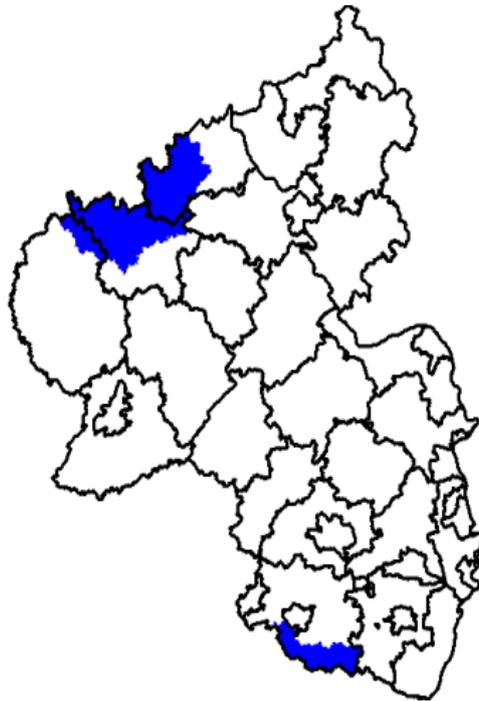


Abbildung 15: Restriktionsgebiete 2008

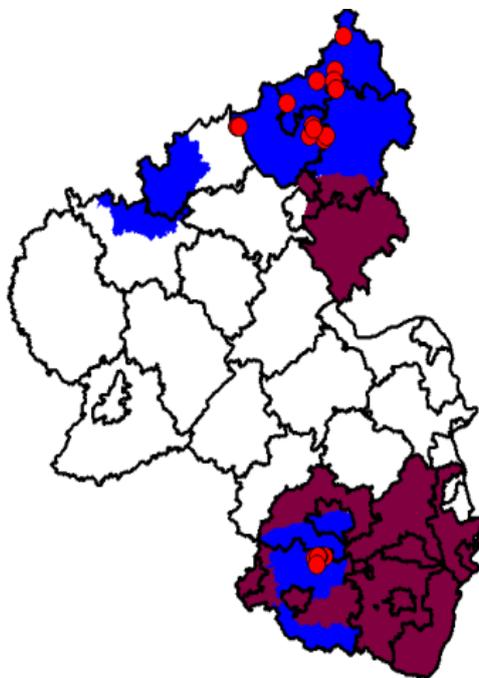


Abbildung 16: Restriktionsgebiete 2009

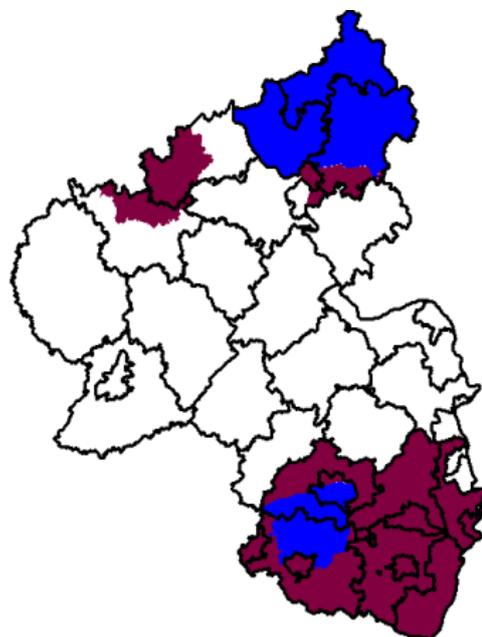


Abbildung 17: Restriktionsgebiete 2010

4.2 Auswertung für Rheinland-Pfalz

4.2.1 Auswertung der Jagdstrecke

In den Jahren 1957/1958 bis 1983/1984 werden im Durchschnitt 6.500 Wildschweine pro Jagdjahr (Streuungsintervall 3.176-10.701 Wildschweine/Jagdjahr) erlegt. Ab 1984/1985 steigt die Trendlinie der Jagdstrecke kontinuierlich an. Bereits in den Jahren 1989/1990 bis 1999/2000 werden im Durchschnitt 33.100 Wildschweine pro Jagdjahr (Streuungsintervall 18.109-45.056 Wildschweine/Jagdjahr) erlegt. In den Jahren 2001/2002 bis 2005/2006 steigt die Trendlinie der Jagdstrecke nochmal an. In dieser Zeit werden im Durchschnitt 58.300 Wildschweine pro Jagdjahr (Streuungsintervall 51.686-66.865 Wildschweine/Jagdjahr) erlegt. Nach einem starken Abfall der Jagdstrecke 2006/2007 erreicht sie im Jahre 2008/2009 mit 80.175 Wildschweinen den Höhepunkt (Diagramm1).

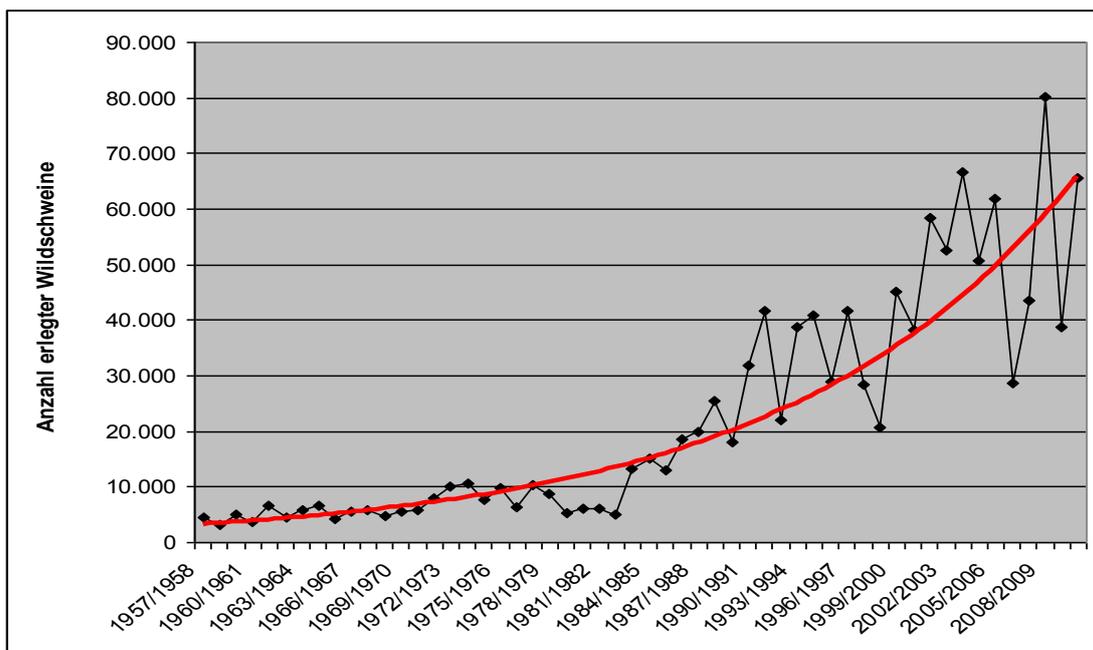


Diagramm 1: Jagdstrecke RLP

Quelle: Ministerium für Umwelt, Landwirtschaft, Ernährung, Weinbau und Forsten

4.2.2 Auswertung der Altersverteilung und Geschlechtsverteilung

Von den insgesamt 108.772 in RLP untersuchten Wildschweinproben in den Jahren von Januar 2005 bis März 2011 stammen 74.431 Proben aus den Impf- und Intensivmonitoringgebieten. Davon können 69.015 Daten zur Ermittlung der Altersverteilung und 69.106 Daten zur Ermittlung der Geschlechtsverteilung verwendet werden. Daraus folgt, dass der Datenverlust aufgrund mangelnder Angaben zum Alter oder Geschlecht unter 8 % liegt.

Bei der Altersverteilung der untersuchten Wildschweine in den Impf- und Intensivmonitoringgebieten von RLP liegt der Hauptanteil mit durchschnittlich 47 % (Streuungsintervall 18-66 %) bei den Frischlingen. Mit durchschnittlich 40 % (Streuungsintervall 22-68 %) sind die Überläufer und mit durchschnittlich 13 % (Streuungsintervall 7-22 %) die adulten Wildschweine vertreten (Diagramm 2). Zwischen den zwei Altersgruppen der Frischlinge und Überläufer sind saisonale Schwankungen zu erkennen. In den Monaten April, Mai und Juni werden verstärkt Überläufer erlegt, während in den Monaten Juli bis März verstärkt Frischlinge erlegt werden.

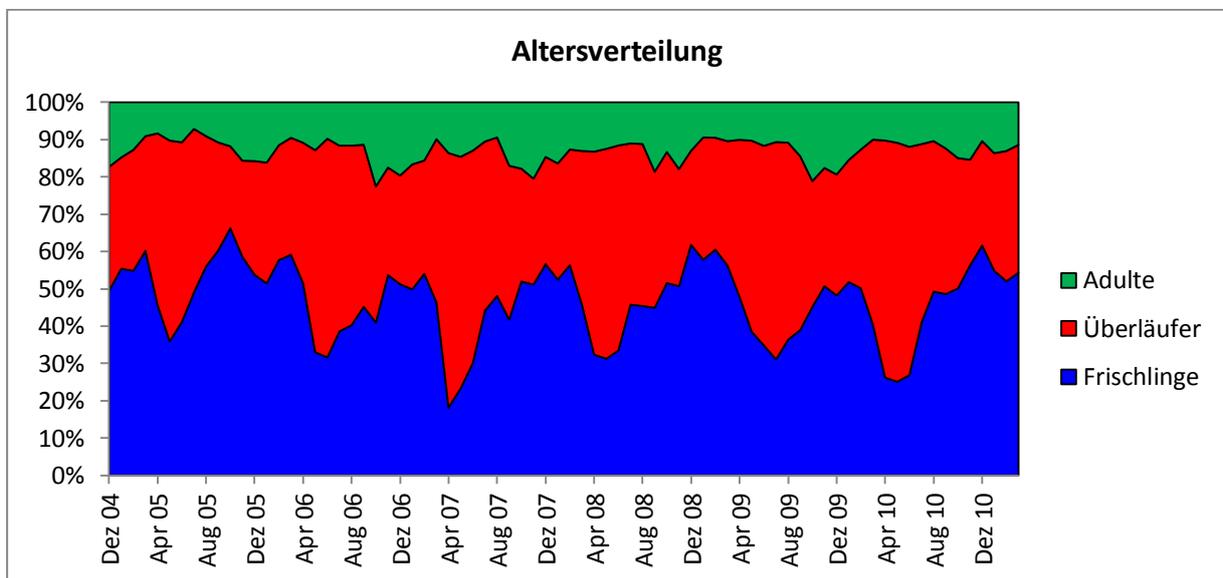


Diagramm 2: Altersverteilung der untersuchten Wildschweine in den Impf- und Intensivmonitoringgebieten von RLP

4. ERGEBNISSE

Bei der Geschlechtsverteilung der untersuchten Wildschweine in den Impf- und Intensivmonitoringgebieten von RLP ist zu erkennen, dass weibliche Tiere mit durchschnittlich 54 % (Streuungsintervall 45-72 %) erlegt werden und männliche Tiere mit durchschnittlich 46 % (Streuungsintervall 28-55 %) (Diagramm 3). In den Monaten April, Mai und Juni gibt es Schwankungen von 10-20 %.

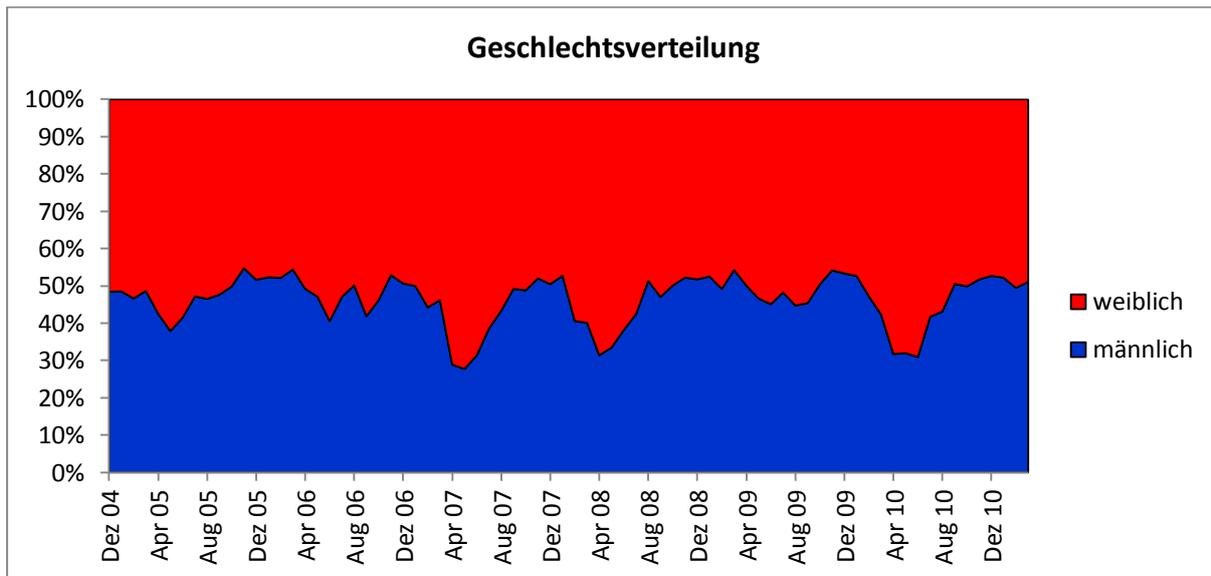


Diagramm 3: Geschlechtsverteilung der untersuchten Wildschweine in den Impf- und Intensivmonitoringgebieten von RLP

4.2.3 Virologische Auswertung

Im Zeitraum von Januar 2005 bis März 2011 sind von den insgesamt 107.464 auf KSPV virologisch getesteten Tieren 28 positiv. Davon sind 80 % (n=23) Frischlinge und 20 % (n=5) Überläufer. Bei keinem adulten Tier kann das KSPV nachgewiesen werden. 25 der KSPV-positiven Tiere sind leichter als 30 kg und nur ein Tier wiegt 35 kg. Zu zwei Tieren werden keine Gewichtsangaben verzeichnet.

Klinische Symptome sind nur bei einem Tier vermerkt. Um welche Auffälligkeiten es sich dabei gehandelt hat, wird nicht angegeben. 24 der Wildschweine sind gesund bzw. ohne erkennbare Auffälligkeiten erlegt worden. Zwei der Tiere sind tot aufgefunden worden. Die Todesursache wird im Probenbegleitschein nicht weiter erläutert. Es gibt keine Virusnachweise bei verunfallten Tieren. Für zwei weitere Tiere fehlt die Angabe zur Todesursache.

4.2.4 Serologische Auswertung

Serologisch werden von Januar 2005 bis März 2011 insgesamt 103.944 Wildschweine auf Antikörper gegen das KSPV untersucht. Davon können bei 33.210 Proben AK gegen das KSPV nachgewiesen werden und bei 61.259 Proben können keine Antikörper nachgewiesen werden (Diagramm 4).

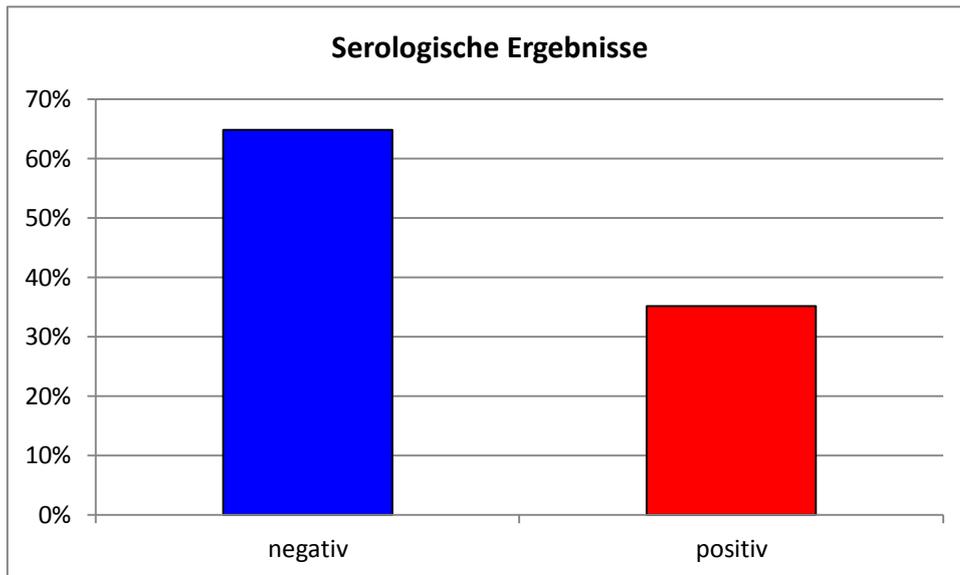


Diagramm 4: Serologische Auswertung der untersuchten Wildschweinproben in RLP

Die serologischen Prävalenzen in Bezug auf die verschiedenen Restriktionsgebiete (Impfgebiet, Monitoringgebiet und Intensivmonitoringgebiet) sind in den Diagrammen 5-7 dargestellt.

In den Impfgebieten liegt die serologische Prävalenz im Durchschnitt mit 57 % (Streuungsintervall 43-75 %) am höchsten. Es treten deutliche saisonale Peaks in den Monaten von April bis August auf (Diagramm 5).

In den Monitoringgebieten liegt die serologische Prävalenz in den Jahren 2005-2008 im Durchschnitt bei 16 % (Streuungsintervall 4-31 %). Ab dem Jahr 2009 sinkt die serologische Prävalenz auf durchschnittliche 3 % (Streuungsintervall 1-9 %). Auch hier sind die saisonalen Peaks in den Monaten April bis August zu erkennen (Diagramm 6).

In den Intensivmonitoringgebieten liegt die serologische Prävalenz von März 2009 bis April 2010 im Durchschnitt bei 7 % (Streuungsintervall 7-11 %). In der darauf folgenden Zeit von

4. ERGEBNISSE

Mai 2010 bis Februar 2011 steigt die serologische Prävalenz kurz auf durchschnittliche 17 % (Streuungsintervall 12-22 %) an. Im März 2011 fällt sie wieder auf 7 % ab. Saisonale Schwankungen sind hier nicht eindeutig zu erkennen (Diagramm 7).

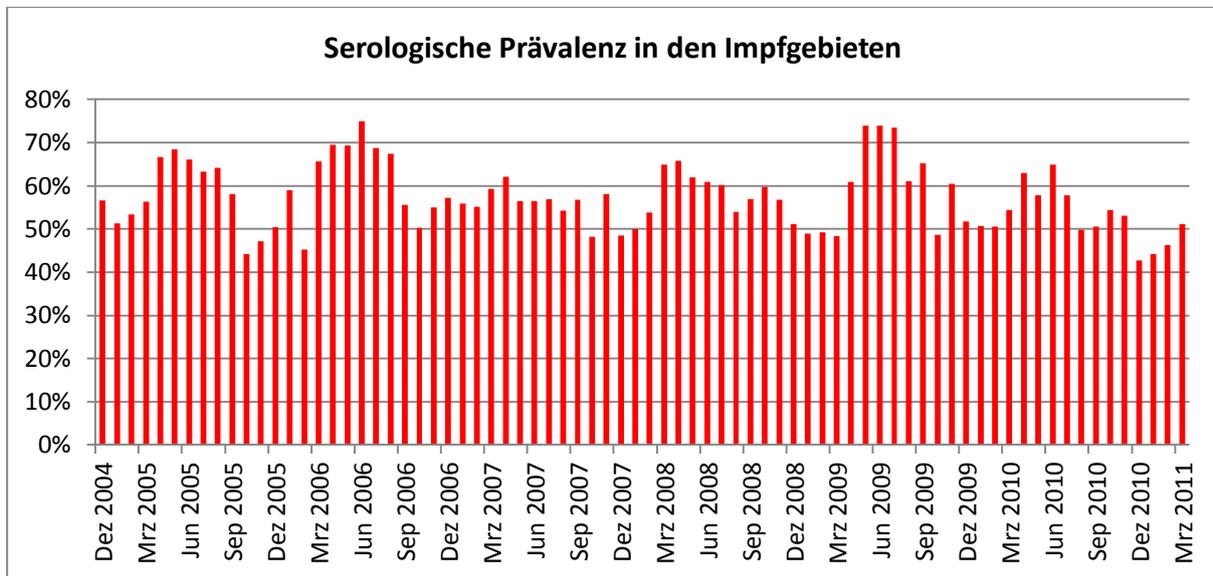


Diagramm 5: Serologische Prävalenz in den Impfgebieten von RLP

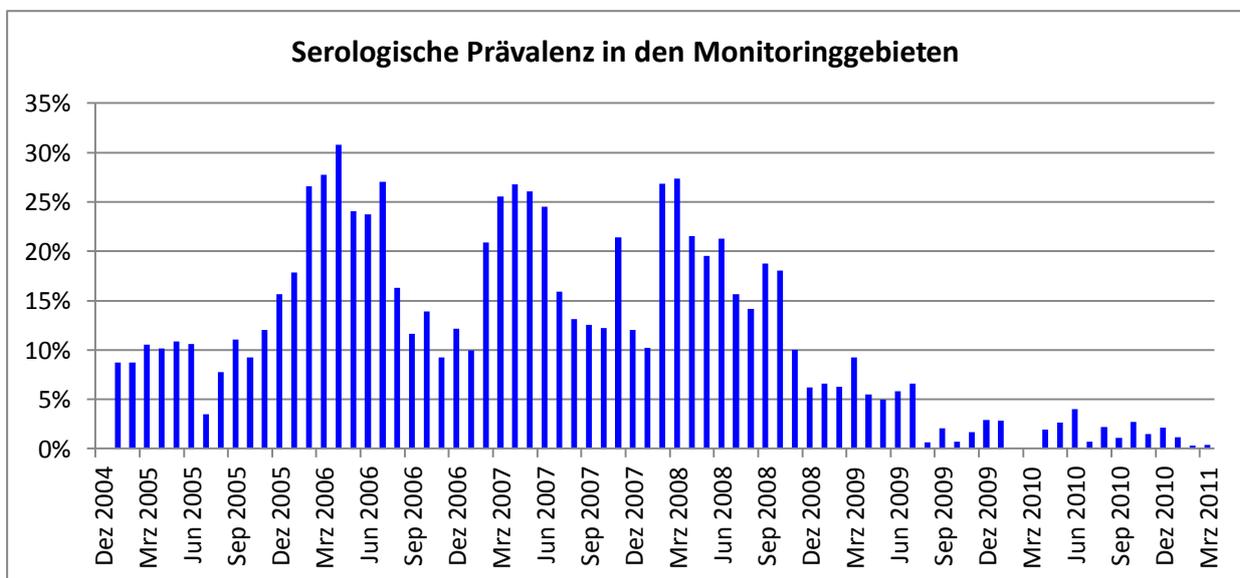


Diagramm 6: Serologische Prävalenz in den Monitoringgebieten von RLP

4. ERGEBNISSE

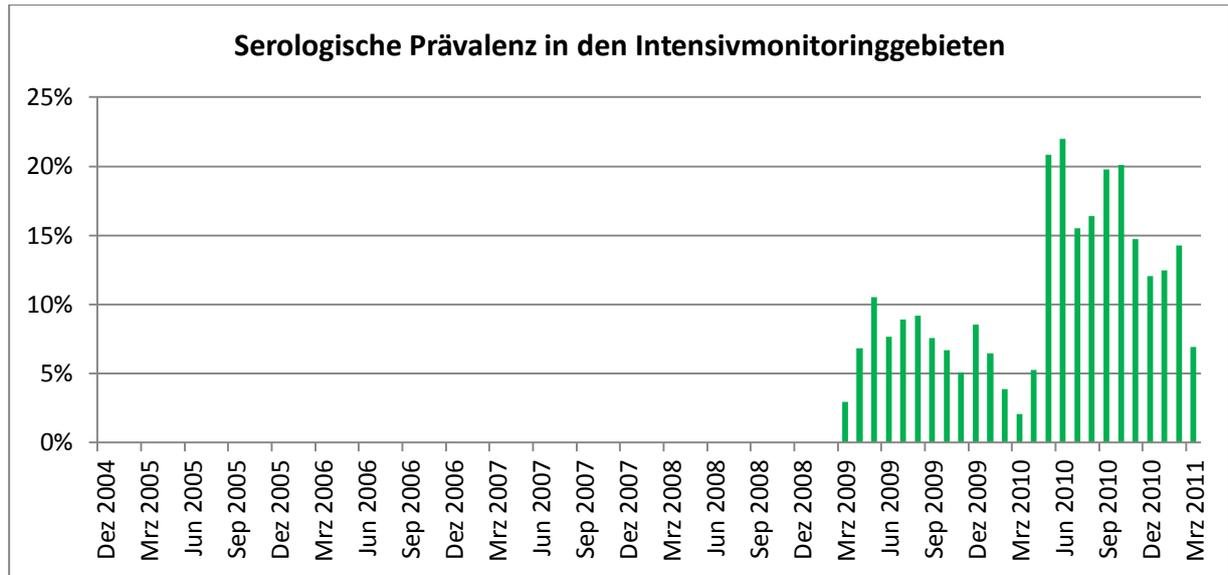


Diagramm 7: Serologische Prävalenz in den Intensivmonitoringgebieten von RLP

In Diagramm 8 sind die serologischen Ergebnisse in Abhängigkeit zur Altersverteilung in den Impfgebieten von RLP dargestellt. Von den insgesamt 24.590 eingesandten Proben von Frischlingen sind 41 % (n=10.151) serologisch positiv. Von den insgesamt 19.195 eingesandten Proben von Überläufern sind 66 % (n=12.588) serologisch positiv. Von den insgesamt 7.214 eingesandten Proben von Adulten sind 77 % (n=5.586) serologisch positiv.

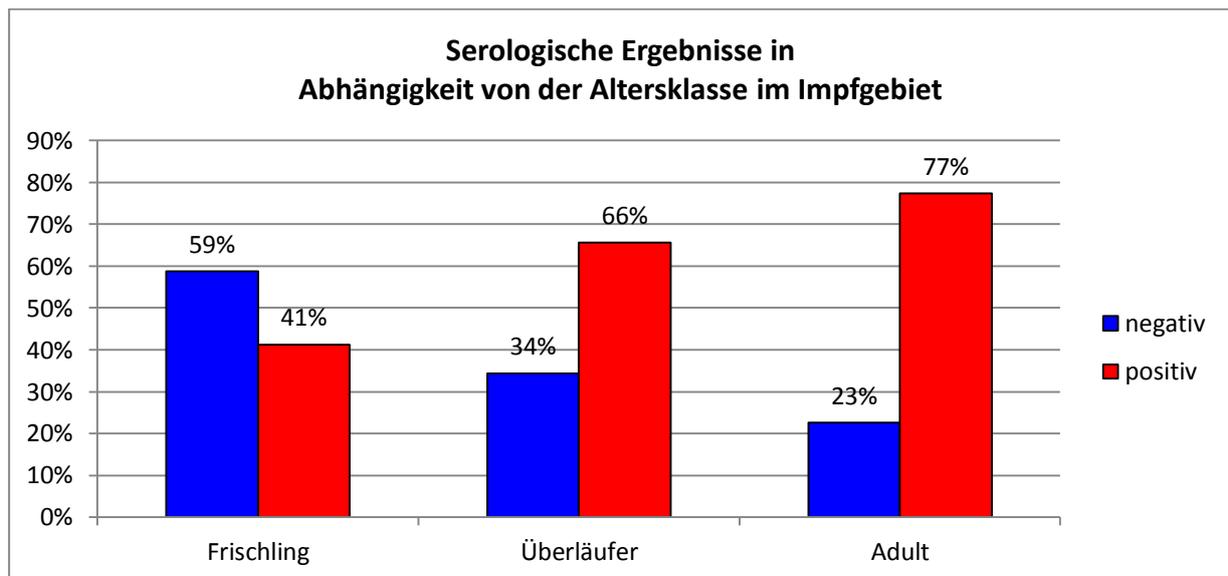


Diagramm 8: Serologische Ergebnisse in Abhängigkeit von der Altersklasse in den Impfgebieten in RLP

4.3 Auswertung der einzelnen Regionen

4.3.1 Region Eifel

Im Zeitraum Dezember 2005 bis März 2011 werrden in den Impf- und Intensivmonitoringgebieten der Region Eifel 31.984 Wildschweine beprobt. Davon werrden 31.967 virologisch und 28.211 serologisch untersucht. Von den mit den Proben mitgelieferten Angaben von dem Probenbegleitschein können 31.831 in Bezug auf den Erleagegrund bzw. die Todesursache ausgewertet werden. Geschlechtsangaben liegen für 29.719 Tiere vor. Das Alter wird bei 29.575 und das Gewicht bei 30.430 geschätzt. Daraus resultiert ein Datenverlust von maximal 12 %.

4.3.1.1 Auswertung der untersuchten Wildschweinproben

In Diagramm 9 ist die Anzahl der zu untersuchenden Wildschweinproben in den Impf- und Intensivmonitoringgebieten der Region Eifel über den Zeitraum Dezember 2004 bis März 2011 dargestellt. Die roten Pfeile verweisen auf die KSPV-Nachweise, die grünen und violetten Pfeile verweisen auf den aktuellen Gebietsstatus und der schwarze Kreis markiert den Bereich des Monitoringgebietes.

Im Jagdjahr 2006/2007 kurz nach den ersten KSPV-Ausbrüchen liegt die Anzahl der beprobten Wildschweine bei durchschnittlich 352 Stück/Monat (Streuungsintervall 143-836 Stück/Monat). Im darauffolgendem Jagdjahr 2007/2008, in dem ein weiterer KSPV-Nachweis geführt wird, liegt die Probenanzahl bei durchschnittlich 230 Stück/Monat (Streuungsintervall 93-673). Dies steigert sich im Jagdjahr 2008/2009 auf durchschnittlich 433 Stück/Monat (Streuungsintervall 126-1377). Mit der Verkleinerung des Impfgebietes im Jagdjahr 2009/2010 sinkt die Probenanzahl auf durchschnittlich 170 Stück/Monat (Streuungsintervall 37-572). Im Jagdjahr 2010/2011 werrden durchschnittlich 255 Stück/Monat (Streuungsintervall 46-719) eingesandt, die sowohl aus dem Impf- als auch aus dem Intensivmonitoringgebiet stammen. Über den gesamten Zeitraum sind deutliche saisonale Schwankungen zu erkennen.

4. ERGEBNISSE

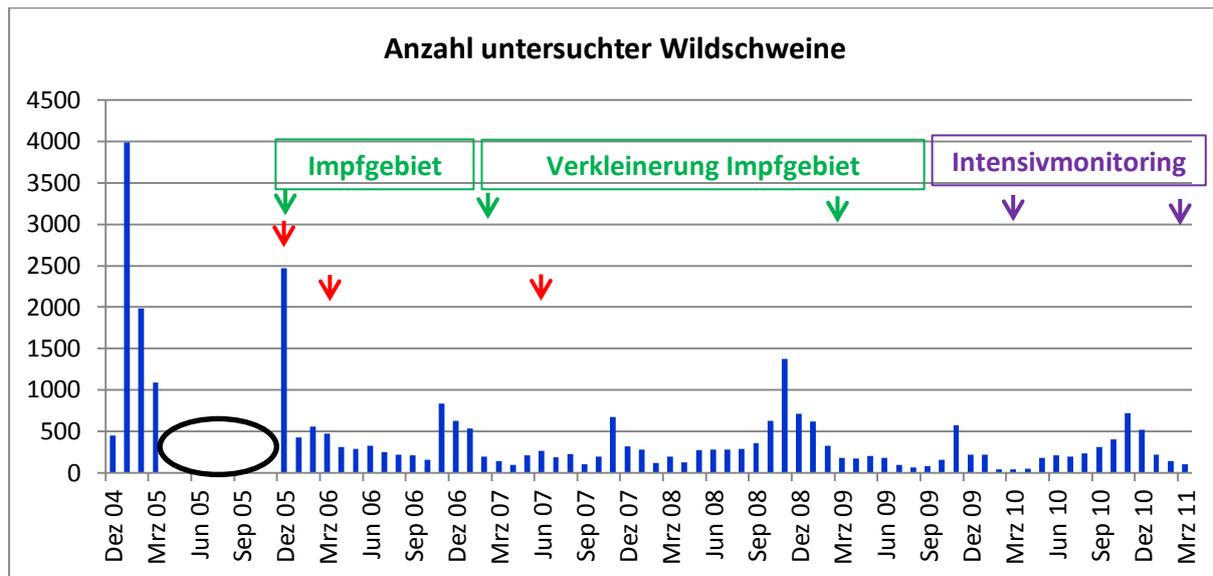


Diagramm 9: Anzahl untersuchter Wildschweinproben in den Impf-/Intensivmonitoringgebieten der Region Eifel (rote Pfeile = KSPV-Nachweise; grüne Pfeile = Impfgebietsveränderungen; violette Pfeile = Intensivmonitoringgebietsstatus)

In Tabelle 4 ist eine Übersicht der Untersuchungszahlen in den Impfgebieten pro Jagdjahr der Region Eifel dargestellt. Das Minimum der Beprobungsrate liegt im Jagdjahr 2006/2007 mit einem Wildschwein pro km², als das Impfgebiet mit einer Fläche von 2.810 km² am größten ist. Das Maximum der Beprobungsrate liegt im Jagdjahr 2008/2009 bei sechs Wildschweinen pro km².

Tabelle 4: Untersuchungszahlen in den Impfgebieten der Region Eifel

Eifel				
	2006/2007	2007/2008	2008/2009	2009/2010
Untersuchungszahlen	4.192	2.969	5.601	2.068
Impfgebietsfläche (km²)	2.810	1.015	1.015	650
Wildschweine/km²	1	3	6	3

4. ERGEBNISSE

In Diagramm 10 ist die Altersverteilung der beprobten Wildschweine in den Impf- und Intensivmonitoringgebieten der Region Eifel im Zeitraum Dezember 2005 bis März 2011 dargestellt. Der schwarze Strich markiert den Übergang vom Impfgebiet zum Monitoringgebiet. Von den eingesendeten 29.575 Proben mit Altersangabe stammen 17.111 Proben von Frischlingen, 9.012 Proben von Überläufern und 3.452 Proben von adulten Wildschweinen. Die Altersstufe der Frischlinge ist mit durchschnittlich 51 % (Streuungsintervall 27-67 %) am häufigsten beprobt worden. Von den Überläufer sind durchschnittlich 38 % (Streuungsintervall 23-67 %) und von den adulten Wildschweinen sind durchschnittlich 11 % (Streuungsintervall 3-23 %) beprobt worden. In den Monaten April, Mai und Juni sind saisonale Schwankungen bei den Frischlingen und Überläufern zu erkennen. Nach dem Gebietswechsel sind keine signifikanten Veränderungen zu erkennen.

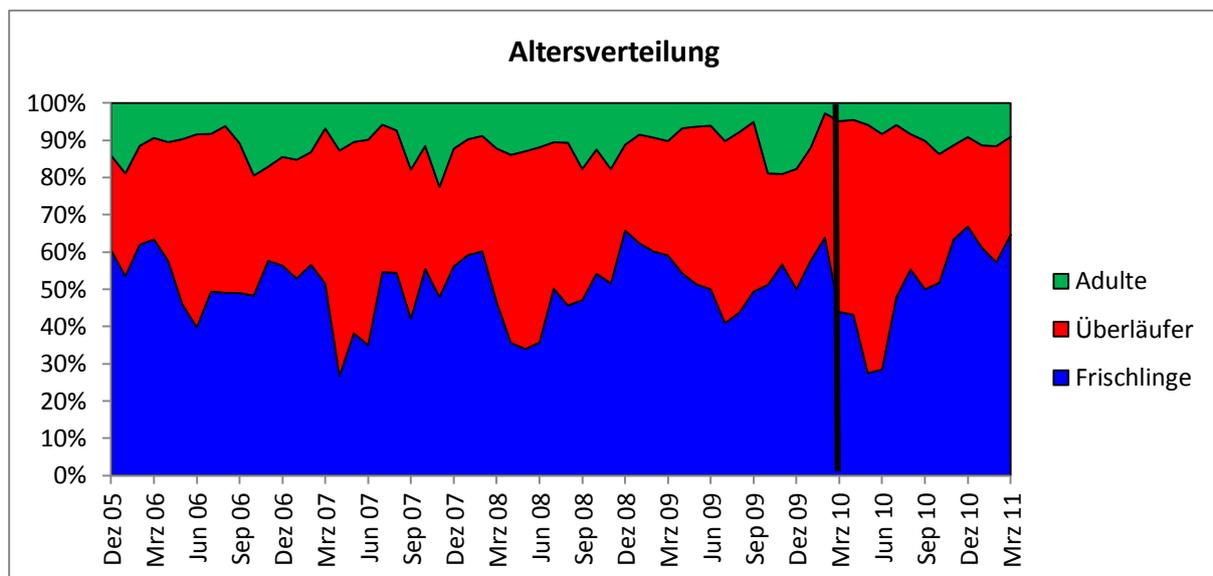


Diagramm 10: Altersverteilung der beprobten Wildschweine in den Impf-/Intensivmonitoringgebieten der Region Eifel

Die Gewichtsverteilung der beprobten Wildschweine in den Impf- und Intensivmonitoringgebieten der Region Eifel im Zeitraum Dezember 2005 bis März 2011 ist in Diagramm 11 dargestellt. Der schwarze Strich markiert den Übergang vom Impfgebiet zum Intensivmonitoringgebiet. Von den eingesendeten 30.430 Proben mit Gewichtsangabe stammen 17.433 Proben von unter 31 kg leichten Tieren, 10.778 Proben von Tieren der mittleren Gewichtsklasse und 2.219 Proben von Tieren, die schwerer als 60 kg sind. Mit

4. ERGEBNISSE

durchschnittlich 56 % (Streuungsintervall 32-97 %) ist die Altersstufe ≤ 30 kg am häufigsten beprobt worden. Von der Gewichtsklasse 31-60 kg sind 37 % (Streuungsintervall 3-60 %) und von der Gewichtsklasse der schweren Wildschweine ≥ 61 kg sind 7 % (Streuungsintervall 0-14 %) beprobt worden. In der ersten Hälfte des Jahres 2006 gibt es einen großen Peak bei den Frischlingen. Die restlichen Schwankungen unterliegen keiner Regelmäßigkeit. Auch nach dem Gebietswechsel ist keine Veränderung zu erkennen.

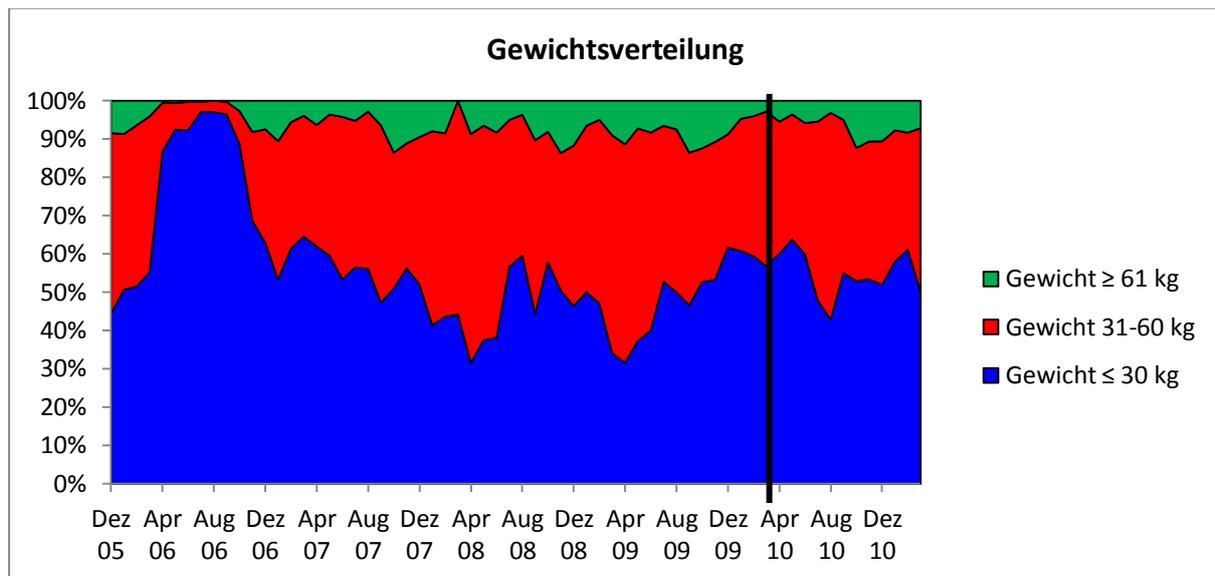


Diagramm 11: Gewichtsverteilung der beprobten Wildschweine in den Impf-/Intensivmonitoringgebieten der Region Eifel

In dem folgenden Diagramm 12 ist die Geschlechtsverteilung der beprobten Wildschweine in den Impf- und Intensivmonitoringgebieten der Region Eifel im Zeitraum Dezember 2005 bis März 2011 dargestellt. Es ist zu erkennen, dass weibliche Tiere mit durchschnittlich 53 % (Streuungsintervall 45-71 %) erlegt worden sind und männliche Tiere mit durchschnittlich 47 % (Streuungsintervall 29-55 %).

4. ERGEBNISSE

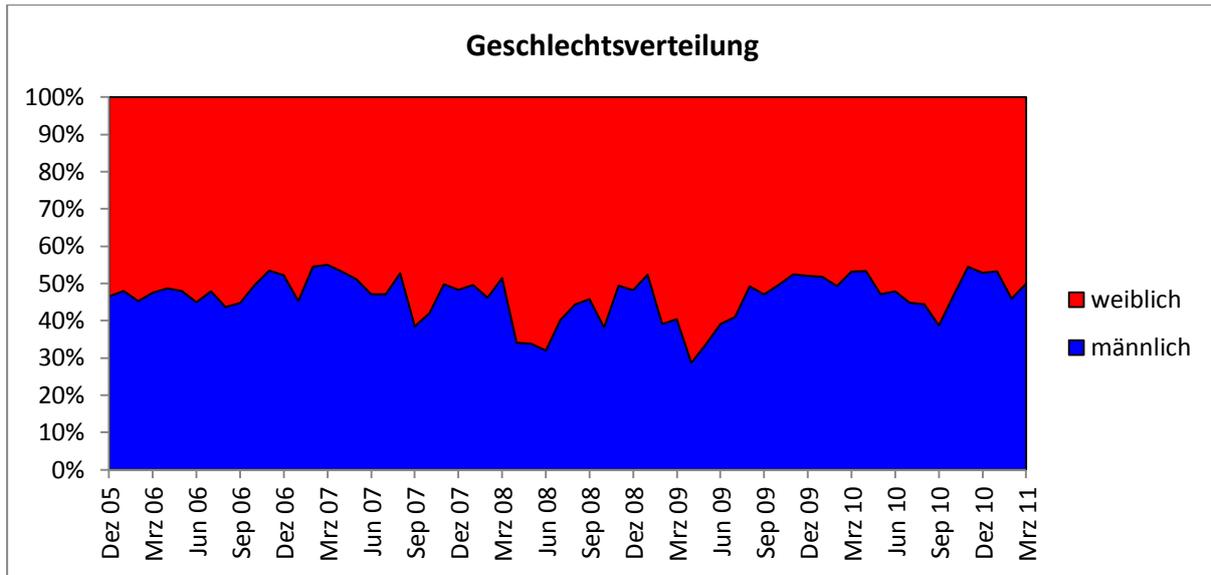


Diagramm 12: Geschlechtsverteilung der beprobten Wildschweine in den Impf-/Intensivmonitoringgebieten der Region Eifel

Von den 31.831 beprobten Wildschweinen mit Angaben zur Todesursache sind 99,3 % (n=31.725) ohne besondere Auffälligkeiten erlegt worden. Nur 0,7 % (n=212) zeigen Auffälligkeiten oder sind Fall- oder Unfallwild. Davon werden 19 % (n=40) mit auffälligem Verhalten erlegt, 8 % (n=16) werden tot aufgefunden und 74 % (n=156) sind durch einen Unfall zu Tode gekommen (Diagramm 13).

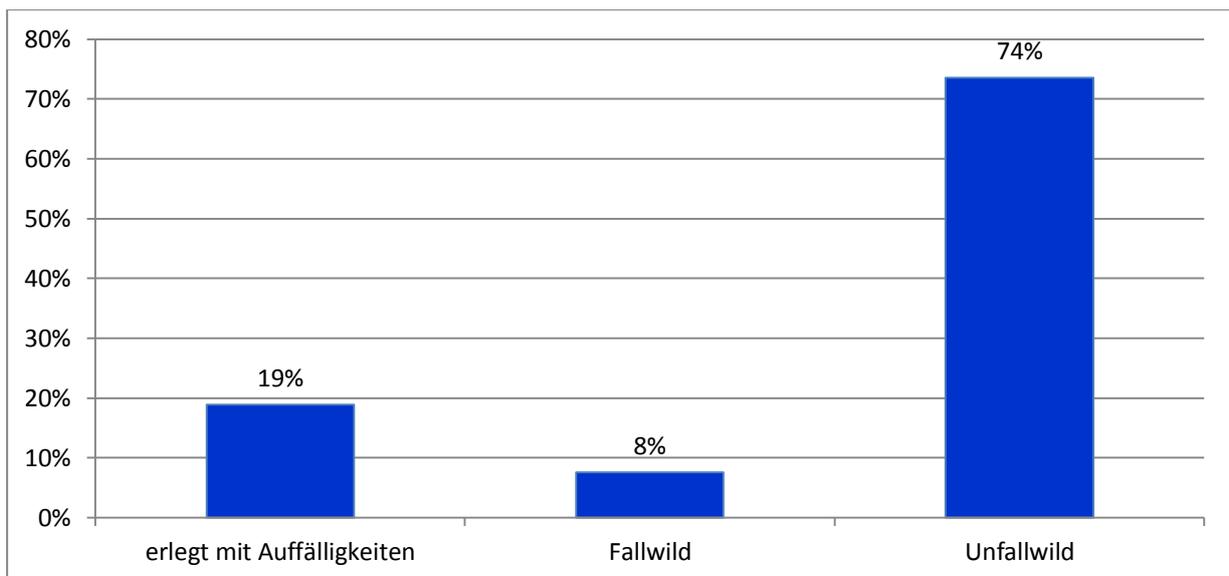


Diagramm 13: Auswertung der Angaben zum Erleagegrund bzw. zur Todesursache der beprobten Wildschweine in den Impf-/Intensivmonitoringgebieten der Region Eifel

4. ERGEBNISSE

4.3.1.2 Virologische Auswertung

Das Diagramm 14 zeigt, dass die virologische Prävalenz in der Region Eifel immer unter 0,5 % liegt.

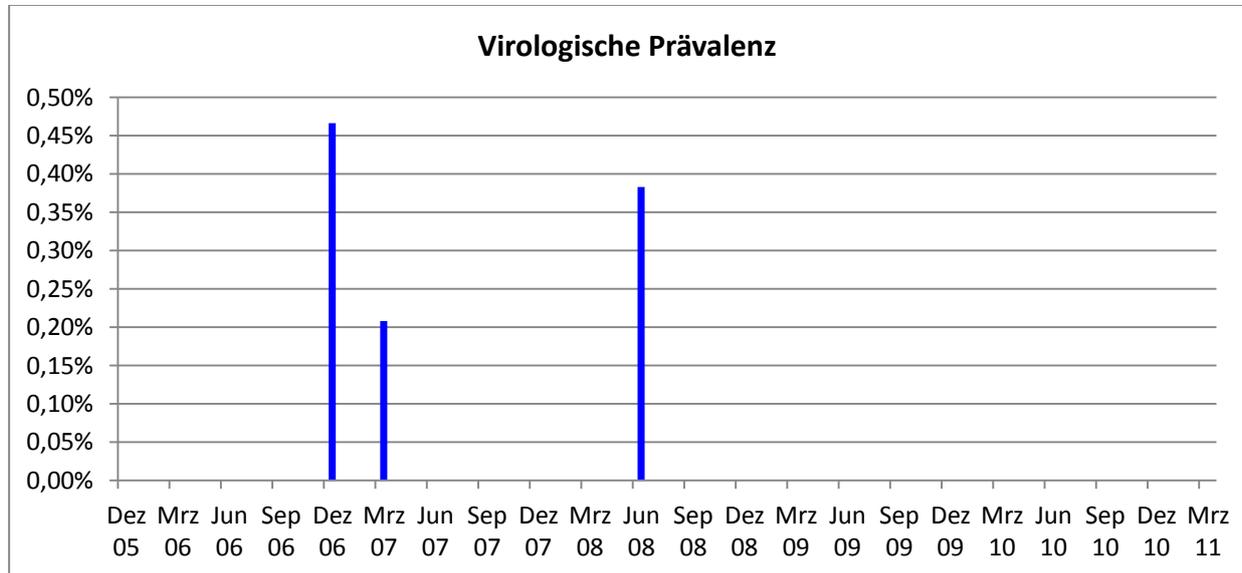


Diagramm 14: Virologische Prävalenz in der Region Eifel

4.3.1.3 Serologische Auswertung

In Diagramm 15 ist die serologische Prävalenz in den Impf- und Intensivmonitoringgebieten der Region Eifel über den Zeitraum von August 2005 bis März 2011 dargestellt. Ebenfalls sind dem Diagramm Verweise auf die KSPV-Nachweise (rote Pfeile) und auf den aktuellen Gebietsstatus (grüne und violette Pfeile) zu entnehmen.

Ca. drei Monate vor dem KSPV-Nachweis im Dezember 2005 ist bereits ein Anstieg der serologischen Prävalenz von 11 % zu erkennen (schwarzer Kreis). Mit dem Einsetzen der Notimpfung Ende Dezember 2005 steigt die serologische Prävalenz kontinuierlich an. Im Jahre 2006 liegt die serologische Prävalenz bei durchschnittlich 64 % (Streuungsintervall 54-80 %). Kurz nach den KSPV-Nachweisen im Juni ist ein Maximum von 80 % zu erkennen. Auch als das Impfgebiet in der Region Eifel im März 2007 von 2.810 km² auf 1.015 km² verkleinert wird, liegt die serologische Prävalenz im Jahre 2007 bei durchschnittlich 61 % (Streuungsintervall 48-78 %). Erst ab dem Jahre 2008 ist ein kleiner Abfall der serologischen Prävalenz auf durchschnittlich 56 % (Streuungsintervall 49-64 %) zu erkennen. Trotz der erneuten Impfgebietsverkleinerung Anfang 2009 von 1.015 km² auf 650 km² bleibt die

4. ERGEBNISSE

serologische Prävalenz bei durchschnittlich 55 % (Streuungsintervall 38-73 %). Im März 2010 findet die letzte Impfung in der Region Eifel statt und im Sommer 2010 wird das Impfgebiet aufgehoben und ein Intensivmonitoringgebiet von 650 km² bleibt bestehen. Von diesem Zeitpunkt an sinkt die serologische Prävalenz auf durchschnittlich 33 % (Streuungsintervall 18-60 %) ab.

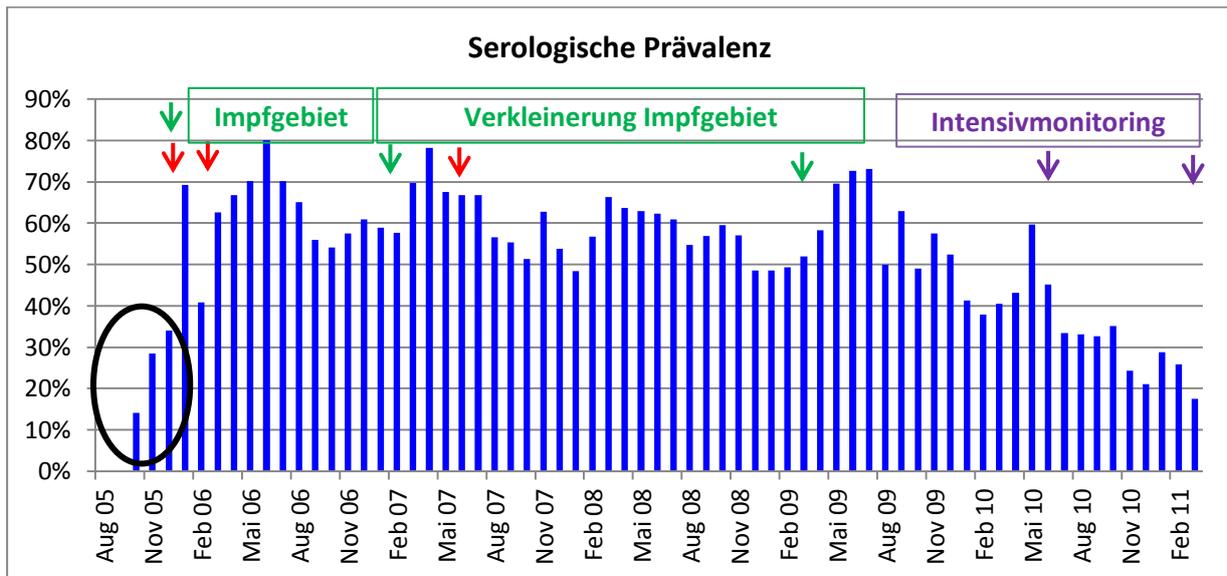


Diagramm 15: Serologische Prävalenz in den Impf-/Intensivmonitoringgebieten der Region Eifel

(rote Pfeile = KSPV-Nachweise; grüne Pfeile = Impfgebietsveränderungen; violette Pfeile = Intensivmonitoringgebietsstatus)

In Diagramm 16 sind die serologischen Ergebnisse in Abhängigkeit von der Altersklasse in den Impf- und Intensivmonitoringgebieten der Region Eifel prozentual dargestellt. Von den insgesamt 17.111 eingesandten Proben von Frischlingen sind 30 % (n=5.069) serologisch positiv. Von den insgesamt 9.012 eingesandten Proben von Überläufern sind 61 % (n=5.534) serologisch positiv. Von den insgesamt 3.452 eingesandten Proben von Adulten sind 76 % (n=3.452) serologisch positiv.

4. ERGEBNISSE

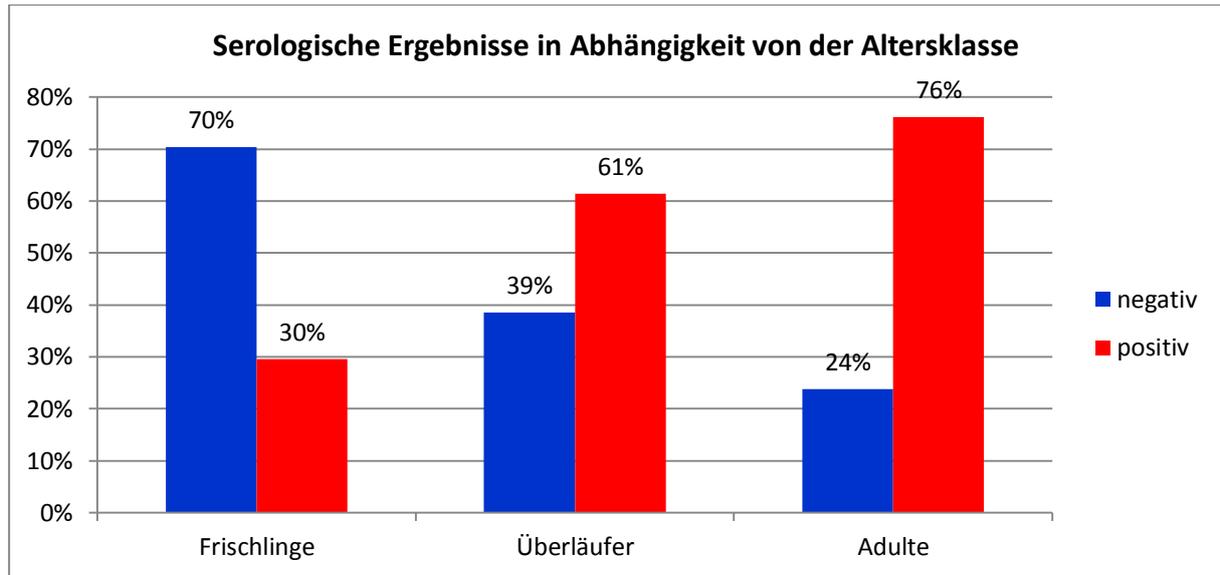


Diagramm 16: Serologische Ergebnisse in Abhängigkeit von der Altersklasse in den Impf-/Intensivmonitoringgebieten der Region Eifel

4.3.2 Region Westerwald

In der Region Westerwald sind in dem Zeitraum von Januar 2005 bis März 2011 insgesamt 14.807 Wildschweine untersucht worden. Nur 2.825 stammen aus den Monitoringgebieten und 11.982 stammen aus den Impf- und Intensivmonitoringgebieten. In den zuletzt genannten Gebieten sind 11.659 serologisch und 11.982 virologisch getestet worden. Zu 11.286 Tieren werden Angaben zum Geschlecht gemacht. Bei 11.273 Wildschweinen wird das Alter geschätzt und bei 11.951 werden Angaben zur Todesursache vermerkt. Das Gewicht kann bei 11.384 Wildschweinen geschätzt werden. Daraus resultiert ein Datenverlust von weniger als 6 %.

4.3.2.1 Auswertung der untersuchten Wildschweinproben

In Diagramm 17 ist die Anzahl der zu untersuchten Wildschweinproben in der Region Westerwald über den Zeitraum Dezember 2004 bis März 2011 dargestellt. Ebenfalls sind dem Diagramm Verweise auf die KSPV-Nachweise (roter Pfeil) und auf den aktuellen Gebietsstatus (grüner, oranger und violetter Pfeil) zu entnehmen.

Zur Zeit des Monitoringstatus der Region Westerwald (Dezember 2004 bis Februar 2009) liegt die Anzahl der beprobten Wildschweine bei durchschnittlich 28 Stück/Monat (Streuungsintervall 4-95 Stück/Monat). Mit den KSPV-Nachweisen und dem gleichzeitigen Übergang zum Impf- und Intensivmonitoringgebiet nimmt die Probenanzahl mit durchschnittlich 400 Stück/Monat (Streuungsintervall 127-707 Stück/Monat) deutlich zu. In dem darauf folgenden Jagdjahr steigt die Anzahl beprobter Wildschweine auf durchschnittlich 588 Stück/Monat (Streuungsintervall 213-588 Stück/Monat).

4. ERGEBNISSE

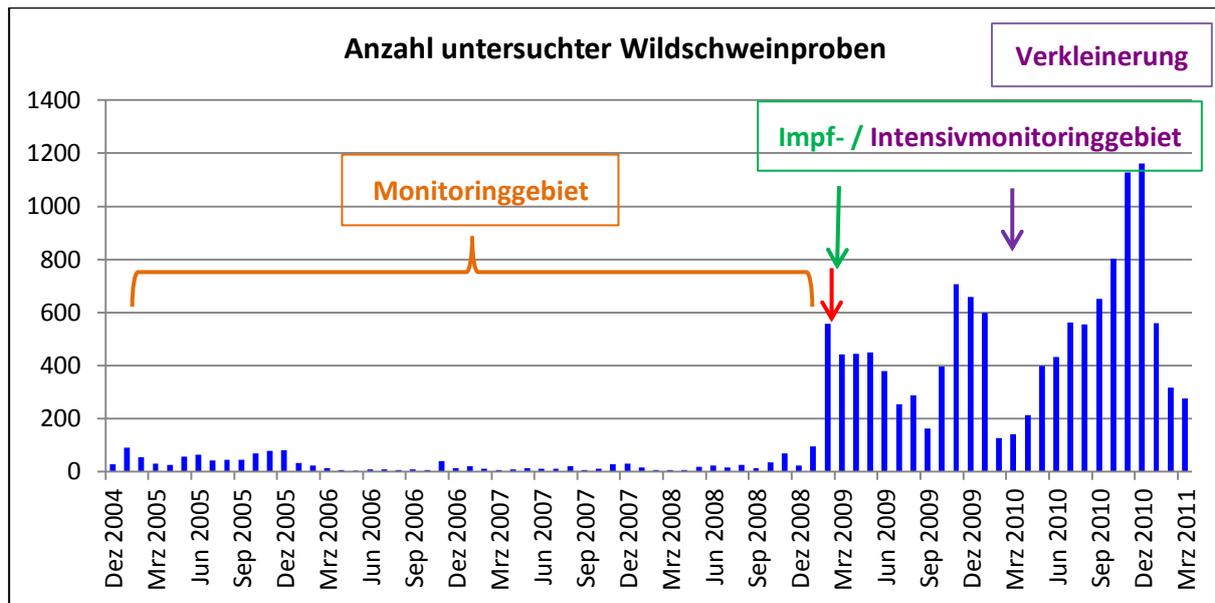


Diagramm 17: Anzahl untersuchter Wildschweinproben in der Region Westerwald

(roter Pfeil = KSPV-Nachweis; grüner Pfeil = Impfgebietsstatus; violetter Pfeil = Intensivmonitoringgebietsstatus; oranger Pfeil = Monitoringgebiet)

In Tabelle 5 ist eine Übersicht der Untersuchungszahlen in den Impfgebieten pro Jagdjahr der Region Westerwald dargestellt. Nach den KSPV-Ausbrüchen 2009 liegt die Beprobungsrate bei zwei Wildschweinen pro km² und steigt im darauf folgenden Jagdjahr 2010/2011 auf drei Wildschweine pro km² an.

Tabelle 5: Untersuchungszahlen in den Impfgebieten der Region Westerwald

Westerwald		
	2009/2010	2010/2011
Untersuchungszahlen	4.605	7.055
Impfgebietsfläche (km²)	2.100	2.100
Wildschweine/km²	2	3

4. ERGEBNISSE

In den Diagrammen 18 und 19 sind die Altersverteilungen der beprobten Wildschweine in Bezug auf die verschiedenen Restriktionsgebiete prozentual dargestellt. Von den eingesendeten 13.951 Proben mit Altersangabe stammen 6.779 Proben von Frischlingen, 5.313 Proben von Überläufern und 1.859 Proben von adulten Wildschweinen.

Im Monitoringgebiet der Region Westerwald werden durchschnittlich 55 % (Streuungsintervall 20-92 %) Überläufer, 33 % (Streuungsintervall 8-69 %) Adulte und 13 % (Streuungsintervall 0-45 %) Frischlinge beprobt (Diagramm 18).

In den Impf- und Intensivmonitoringgebieten der Region Westerwald werden durchschnittlich 49 % (Streuungsintervall 30-68 %) der Frischlinge, 40 % (Streuungsintervall 25-60 %) der Überläufer und 11 % (Streuungsintervall 7-24 %) der Adulten beprobt (Diagramm 19).

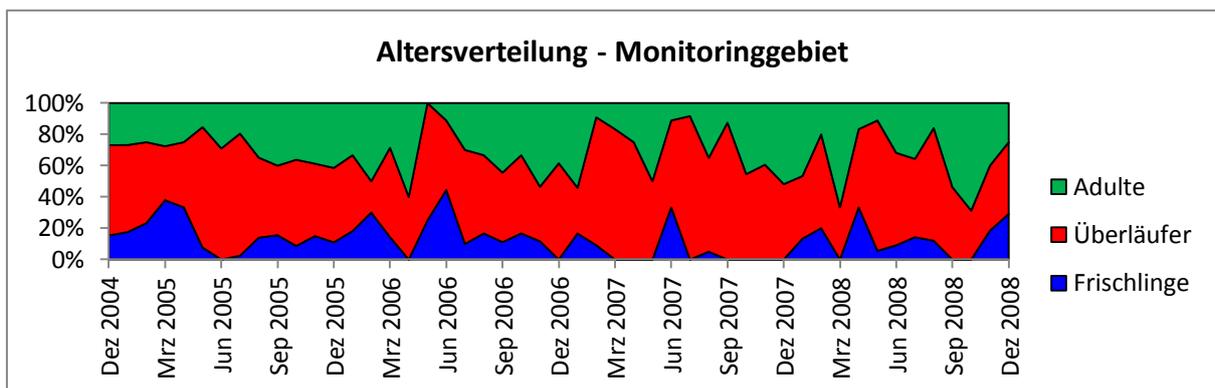


Diagramm 18: Altersverteilung der beprobten Wildschweine im Monitoringgebiet in der Region Westerwald

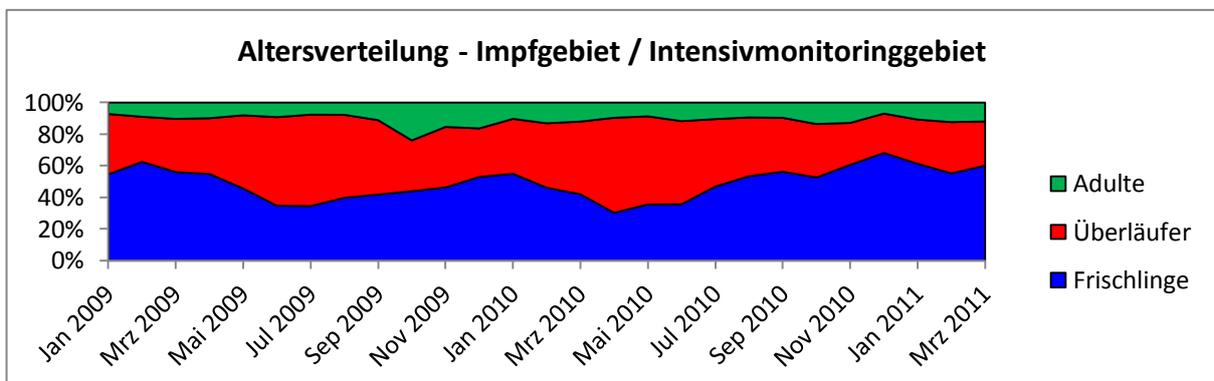


Diagramm 19: Altersverteilung der beprobten Wildschweine im Impf-/Intensivmonitoringgebiet in der Region Westerwald

4. ERGEBNISSE

In den Diagrammen 20 und 21 sind die Gewichtsverteilungen der beprobten Wildschweine in Bezug auf die verschiedenen Restriktionsgebiete dargestellt. Von den eingesendeten 14.062 Proben mit Gewichtsangabe stammen 7.057 Proben von unter 31 kg leichten Tieren, 5.785 Proben von Tieren der mittleren Gewichtsklasse und 1.220 Proben von Tieren, die schwerer als 60 kg sind.

Im Monitoringgebiet der Region Westerwald haben durchschnittlich 66 % (Streuungsintervall 20-90 %) der beprobten Wildschweine ein Gewicht von 31-60 kg, 24 % (Streuungsintervall 5-75 %) der beprobten Wildschweine ein Gewicht von über 61 kg und 9 % (Streuungsintervall 0-55 %) der beprobten Wildschweine ein Gewicht von unter 30 kg (Diagramm 20).

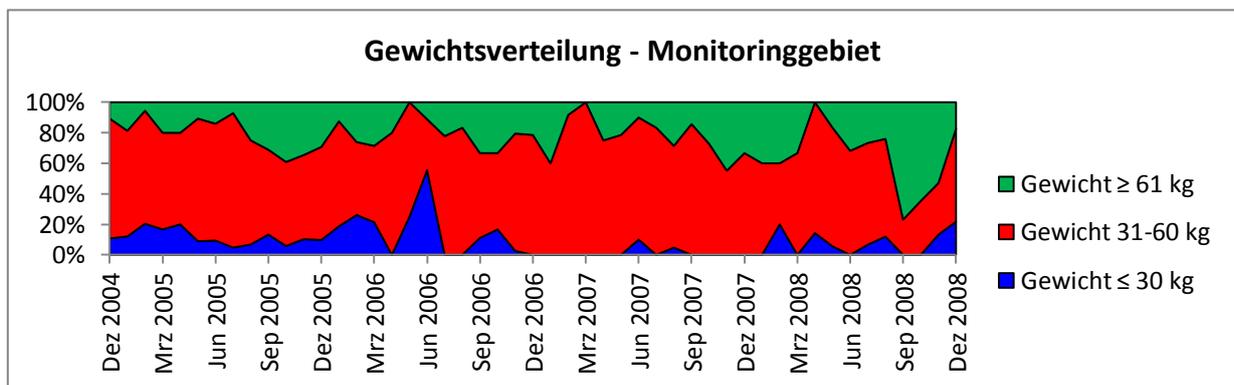


Diagramm 20: Gewichtsverteilung der beprobten Wildschweine im Monitoringgebiet in der Region Westerwald

4. ERGEBNISSE

In den Impf- und Intensivmonitoringgebieten der Region Westerwald werden durchschnittlich 51 % (Streuungsintervall 28-67 %) der beprobten Wildschweine der leichtesten Gewichtsklasse, 42 % (Streuungsintervall 28-65 %) der mittleren und 6 % (Streuungsintervall 4-13 %) der schwersten Gewichtsklasse beprobt (Diagramm 21).

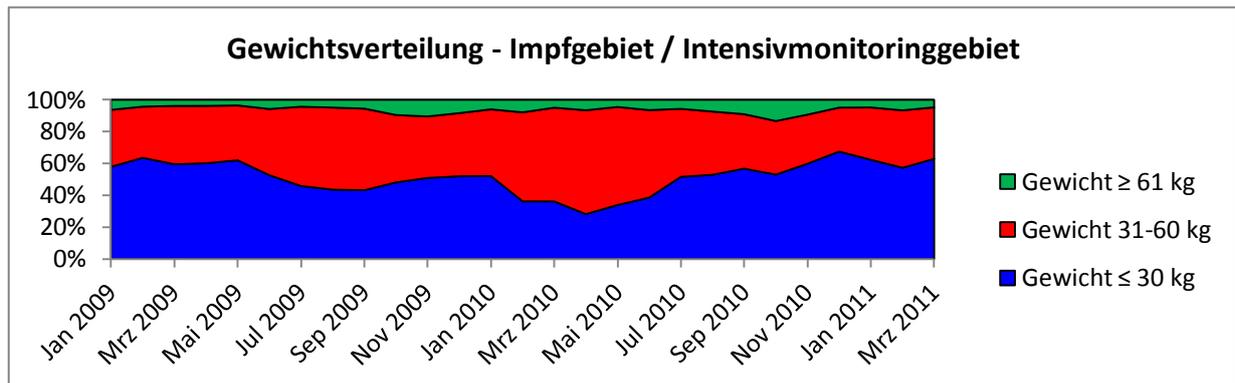


Diagramm 21: Gewichtsverteilung der beprobten Wildschweine im Impf-/Intensivmonitoringgebiet in der Region Westerwald

In Diagramm 22 ist die Geschlechtsverteilung der beprobten Wildschweine in der Region Westerwald dargestellt. In den Jahren 2004 bis Ende 2008 sind mehr weibliche Wildschweine beprobt worden. Mit Anstieg der Anzahl der beprobten Wildschweine ab dem Jahr 2009 sind männliche und weibliche Wildschweine gleichermaßen beprobt worden.

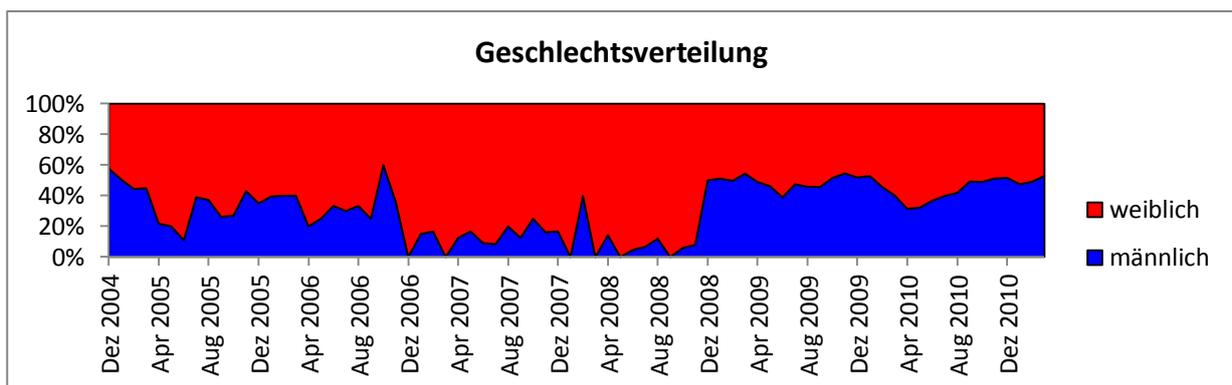


Diagramm 22: Geschlechtsverteilung der beprobten Wildschweine in der Region Westerwald

Das folgende Diagramm 23 wertet von 14.754 eingesandten Proben die Angaben zum Erlegerund bzw. zur Todesursache der beprobten Wildschweine in der Region Westerwald

4. ERGEBNISSE

aus. Weniger als 1 % (n=114) der eingesandten Proben stammt von auffälligen Tieren. Davon sind 68 % (n=78) durch einen Unfall verendet, 23 % (n=26) werden tot aufgefunden und 9 % (n=10) zeigen auffälliges Verhalten, das in den Probenbegleitscheinen nicht näher erläutert wird.

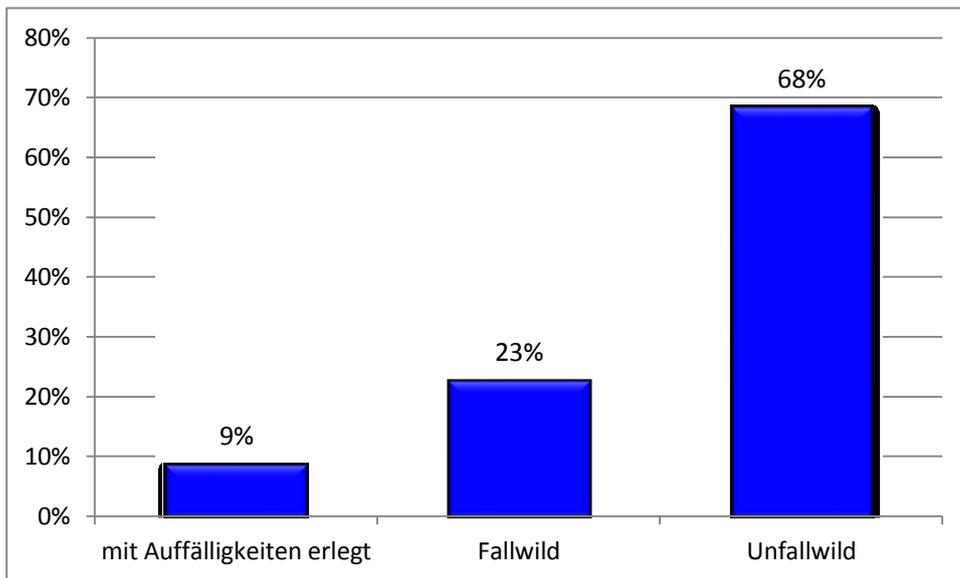


Diagramm 23: Auswertung der Angaben zum Erlegetgrund bzw. zur Todesursache der beprobten Wildschweine in der Region Westerwald

4.3.2.2 Virologische Auswertung

Die virologische Prävalenz in Diagramm 24 zeigt den Zeitpunkt und die Dauer der akuten KSPV-Phase in der Region Westerwald an. Bis auf Februar 2009 liegt die virologische Prävalenz unter 1 %.

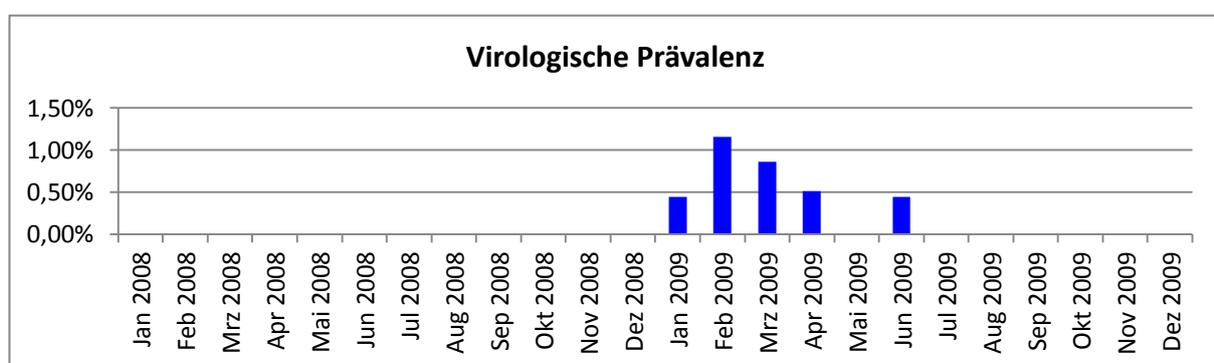


Diagramm 24: Virologische Prävalenz in der Region Westerwald

4. ERGEBNISSE

4.3.2.3 Serologische Auswertung

In Diagramm 25 ist die serologische Prävalenz in der Region Westerwald über den Zeitraum von Januar 2008 bis März 2011 dargestellt. Ebenfalls sind dem Diagramm Verweise auf die KSPV-Nachweise (rote Pfeile) und den Impfbeginn (grüner Pfeil) zu entnehmen.

In der Zeit von Dezember 2004 bis Dezember 2007 sind nur vereinzelte KSPV-Antikörper-Nachweise in der Region Westerwald verzeichnet, die aber nicht mit einem KSPV-Nachweis in Verbindungen gebracht werden können.

Bereits im Ende 2008 und Anfang 2009 sind vereinzelte KSPV-Antikörper-Nachweise in der Region Westerwald zu beobachten (schwarzer Kreis), die mit den KSPV-Nachweisen Anfang 2009 in Verbindung gebracht werden können (rote Pfeile). Im Februar 2009 startet daraufhin die Impfkampagne. Die serologische Prävalenz steigt auf durchschnittlich 45 % (Streuungsintervall 38-54 %) an. Im darauf folgenden Jahr steigt die serologischen Prävalenz auf durchschnittlich 50 % (Streuungsintervall 38-65 %).

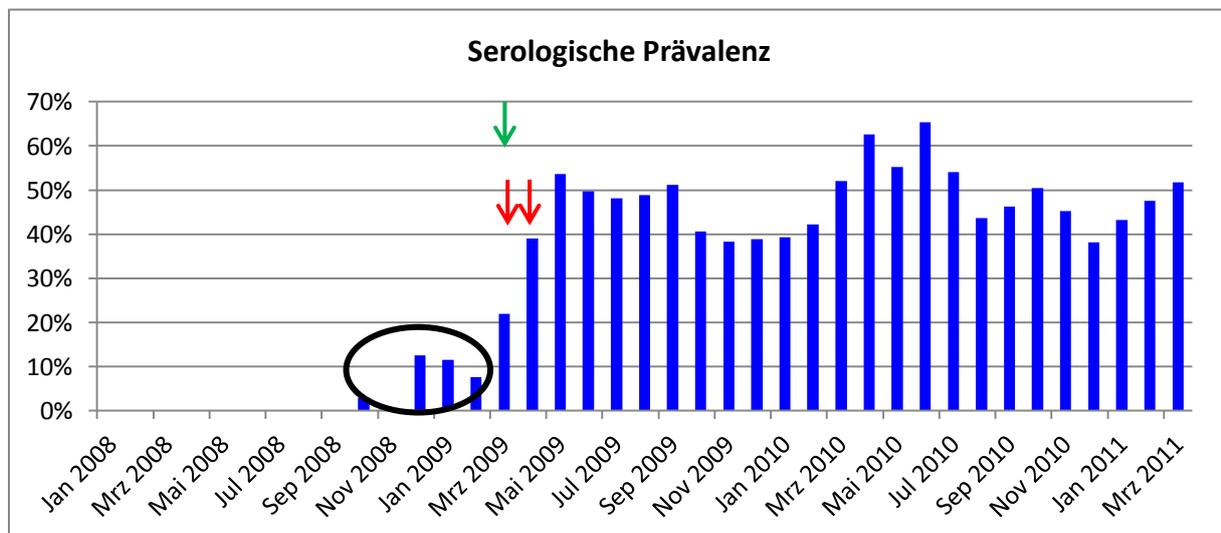


Diagramm 25: Serologische Prävalenz in der Region Westerwald

(rote Pfeile = KSPV-Nachweise; grüner Pfeil = Impfbeginn)

4. ERGEBNISSE

In Diagramm 26 sind die serologischen Ergebnisse in Abhängigkeit von der Altersklasse in den Impf- und Intensivmonitoringgebieten der Region Westerwald dargestellt. Von den insgesamt 5.649 eingesandten Proben von Frischlingen sind 34 % (n=1.928), von den insgesamt 4.299 eingesandten Proben von Überläufern sind 58 % (n=2.478) und von den insgesamt 1.325 eingesandten Proben von Adulten sind 64 % (n=853) serologisch positiv.

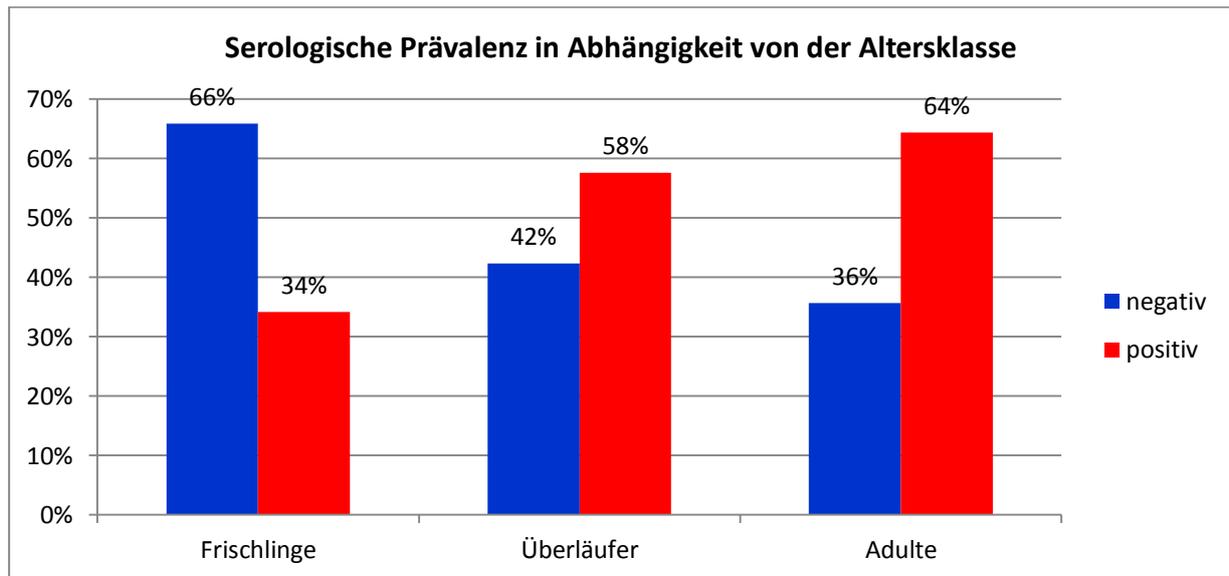


Diagramm 26: Serologische Ergebnisse in Abhängigkeit von der Altersklasse in den Impf-/Intensivmonitoringgebieten der Region Westerwald

4.3.3 Region Pfalz

In der Region Pfalz werden in dem Zeitraum von Dezember 2004 bis März 2011 aus den Impf- und Intensivmonitoringgebieten 30.464 Proben eingesandt. Davon können 30.461 Proben virologisch und 29.673 Proben serologisch untersucht werden. Das bedeutet, es sind mehr als 97 % der Proben verwertbar. Auch bei den mitgelieferten zusätzlichen Angaben sind weniger als 9 % fehlend oder nicht auswertbar gewesen. Die Geschlechtsbestimmung findet bei 28.101 Tieren statt. Die Altersschätzung wird bei 28.167 und die Gewichtsschätzung bei 28.020 Tieren durchgeführt. Angaben zum Erlegegrund bzw. zur Todesursache liegen bei 30.296 Tieren vor.

4.3.3.1 Auswertung der untersuchten Wildschweinproben

In Diagramm 27 ist die Anzahl der beprobten Wildschweine in den Impf- und Intensivmonitoringgebieten der Region Pfalz über den Zeitraum von Dezember 2004 bis März 2011 dargestellt. Ebenfalls sind dem Diagramm Verweise auf die KSPV-Nachweise (roter Pfeil), die Veränderungen des Impfgebietes (grüne Pfeile) und die Entstehung von Intensivmonitoringgebieten (violetter Pfeil) zu entnehmen.

Wie in Diagramm 27 dargestellt, liegt im Jahr 2005 die Anzahl der beprobten Wildschweine durchschnittlich bei 814 Stück/Monat (Streuungsintervall 180-1.699 Stück/Monat). Im darauf folgenden Jahr 2006 wird das Impfgebiet von 4.800 km² auf 1.730 km² verkleinert. Damit sinkt die Anzahl beprobter Wildschweine auf durchschnittlich 193 Stück/Monat (Streuungsintervall 43-354 Stück/Monat). Im Jahr 2007 wird das Impfgebiet nochmals von 1.730 km² auf 976 km² verkleinert. Diese Veränderung hat keinen Einfluss auf die Anzahl der eingesandten Proben gehabt. Sie liegt im Jahr 2007 bei durchschnittlich 223 Stück/Monat (Streuungsintervall 19-513 Stück/Monat). Aber nach der Impfgebietsverkleinerung im Jahre 2008 auf 210 km², sinkt die Anzahl erlegter Wildschweine in dem Impfgebiet auf durchschnittlich 65 Stück/Monat (Streuungsintervall 22-133 Stück/Monat) (schwarze Ellipse). Das sind zwar auffallend wenig Proben, aber die Größe des Impfgebietes ist mit 210 km² auch sehr klein. Dann kommt es im Jahre 2009 zu neuen KSPV-Nachweisen. Sofort wird das Impfgebiet wieder auf 870 km² vergrößert und Intensivmonitoringgebiete werden eingeführt. Dies führt zu einer Steigerung der Anzahl der beprobten Wildschweine mit durchschnittlich 432 Stück/Monat (Streuungsintervall 165-685 Stück/Monat). Da aber die acht KSPV-Nachweise konzentriert in vier Gemeinden der Verbandsgemeinde Wald Fischbach-Burgalben aus dem Landkreis Südwestpfalz aufgetreten sind, wird im Sommer 2010 das Impfgebiet wieder auf 660 km² verkleinert. Im Jahr 2010 werden durchschnittlich 574 Stück/Monat (Streuungsintervall 228-1.087 Stück/Monat) beprobt. In Bezug auf die monatlichen Schwankungen ist keine Regelmäßigkeit zu erkennen.

4. ERGEBNISSE

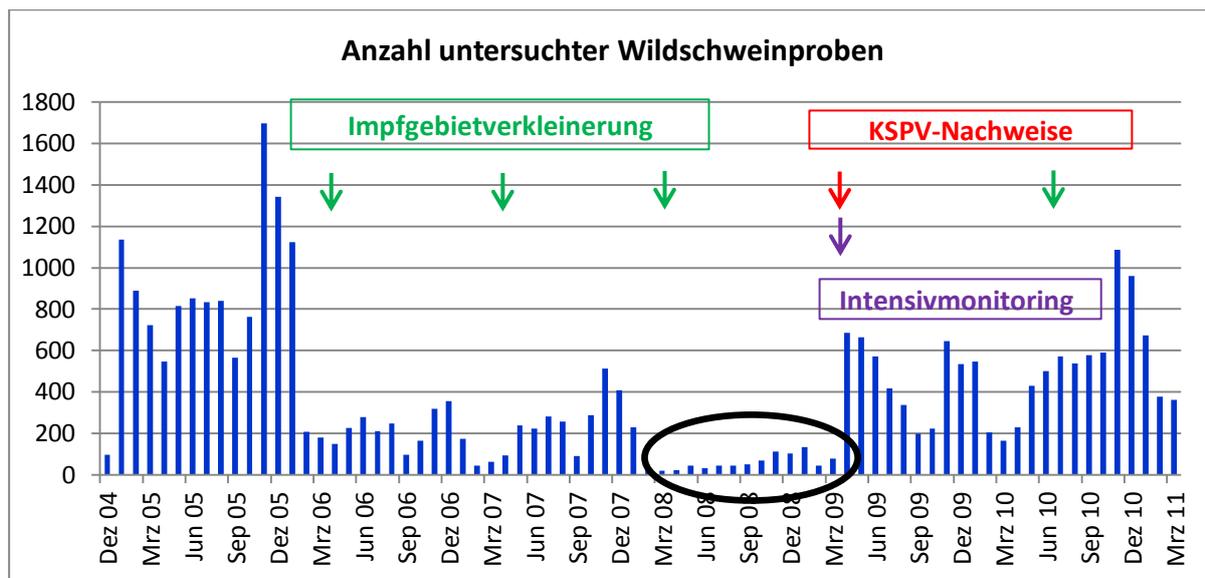


Diagramm 27: Anzahl untersuchter Wildschweinproben in den Impf-/Intensivmonitoringgebieten der Region Pfalz (roter Pfeil = KSPV-Nachweis; grüne Pfeile = Impfgebietsveränderungen; violette Pfeile = Intensivmonitoringgebietsstatus)

In Tabelle 4 ist eine Übersicht der Untersuchungszahlen in den Impfgebieten pro Jagdjahr der Region Pfalz dargestellt. Das Minimum der Beprobungsrate mit einem Wildschwein pro km² liegt in den Jagdjahren 2006/2007 und 2009/2010, während das Maximum der Beprobungsrate in den Jagdjahren 2007/2008 und 2008/2009 bei drei Wildschweinen pro km² liegt.

Tabelle 6: Untersuchungszahlen in den Impfgebieten der Region Pfalz

Pfalz						
	2005/2006	2006/2007	2007/2008	2008/2009	2009/2010	2010/2011
Untersuchungszahlen	9.326	2.203	2.566	678	1.116	1.281
Impfgebietsfläche (km²)	4.800	1.730	976	210	870	660
Wildschweine/km²	2	1	3	3	1	2

In Diagramm 28 ist die Altersverteilung der beprobten Wildschweine in den Impf- und Intensivmonitoringgebieten in der Region Pfalz dargestellt. Von den eingesendeten 28.167 Proben mit Altersangabe stammen 11.584 Proben von Frischlingen, 12.147 Proben von

4. ERGEBNISSE

Überläufern und 4.436 Proben von adulten Wildschweinen. Die Frischlinge sind mit durchschnittlich 38 % (Streuungsintervall 10-61 %), die Überläufer mit durchschnittlich 46 % (Streuungsintervall 26-76 %) und die Adulten mit durchschnittlich 16 % (Streuungsintervall 9-31 %) beprobt worden. In den Monaten April bis August sind Schwankungen zwischen den Überläufern und den Frischlingen zu erkennen.

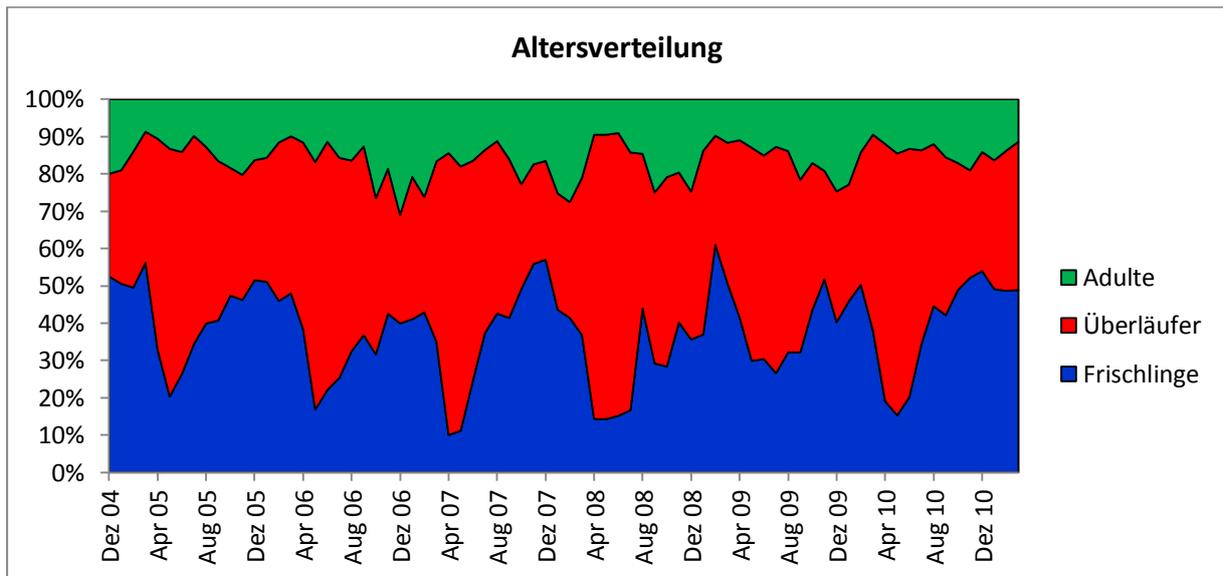


Diagramm 28: Altersverteilung der beprobten Wildschweine in den Impf-/Intensivmonitoringgebieten der Region Pfalz

Das Diagramm 29 stellt die Gewichtsverteilung der beprobten Wildschweine in den Impf- und Intensivmonitoringgebieten der Region Pfalz dar. Von den eingesendeten 28.020 Proben mit Gewichtsangabe stammen 14.238 Proben von unter 31 kg leichten Tieren, 12.029 Proben von Tieren der mittleren Gewichtsklasse und 1.753 Proben von Tieren, die schwerer als 60 kg sind. Die niedrigste Gewichtsklasse (≤ 30 kg) wird mit durchschnittlich 48 % (Streuungsintervall 17-67 %), die mittlere Gewichtsklasse (31-60 kg) mit 46 % (Streuungsintervall 32-74 %) und die höchste Gewichtsklasse (≥ 61 kg) mit 6 % (Streuungsintervall 0-15 %) beprobt. Die erkennbaren Schwankungen unterliegen keiner Regelmäßigkeit.

4. ERGEBNISSE

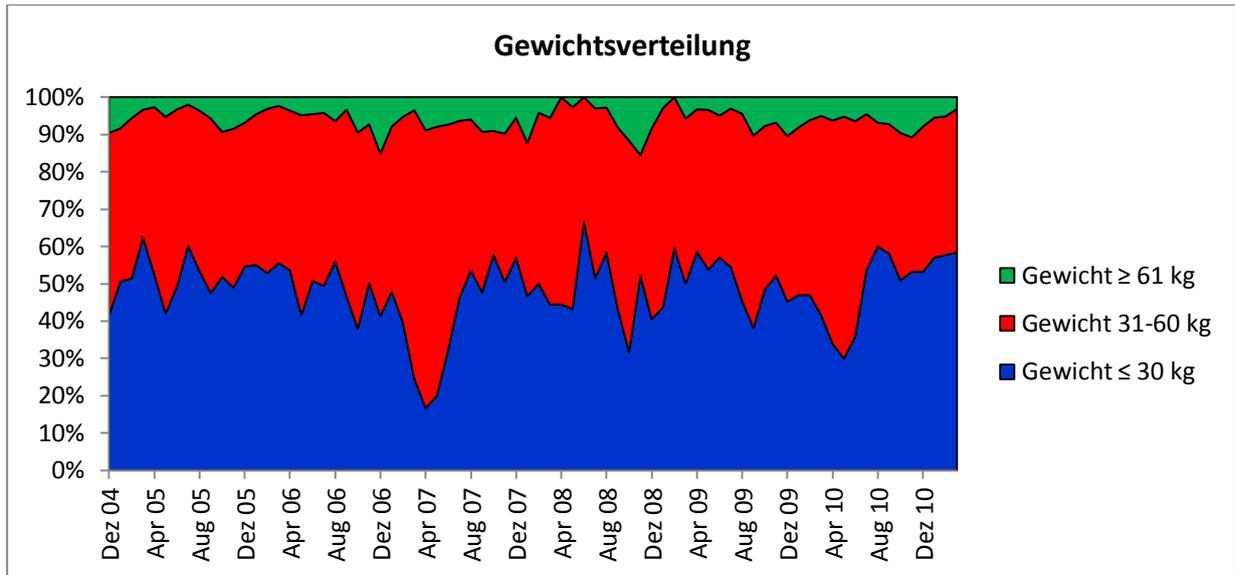


Diagramm 29: Gewichtsverteilung der beprobten Wildschweine in den Impf-/Intensivmonitoringgebieten der Region Pfalz

In Diagramm 30 ist die Geschlechtsverteilung der beprobten Wildschweine in den Impf- und Intensivmonitoringgebieten der Region Pfalz dargestellt. Es ist zu erkennen, dass weibliche Tiere mit durchschnittlich 53 % (Streuungsintervall 34-77 %) erlegt worden sind und männliche Tiere mit durchschnittlich 47 % (Streuungsintervall 23-66 %).

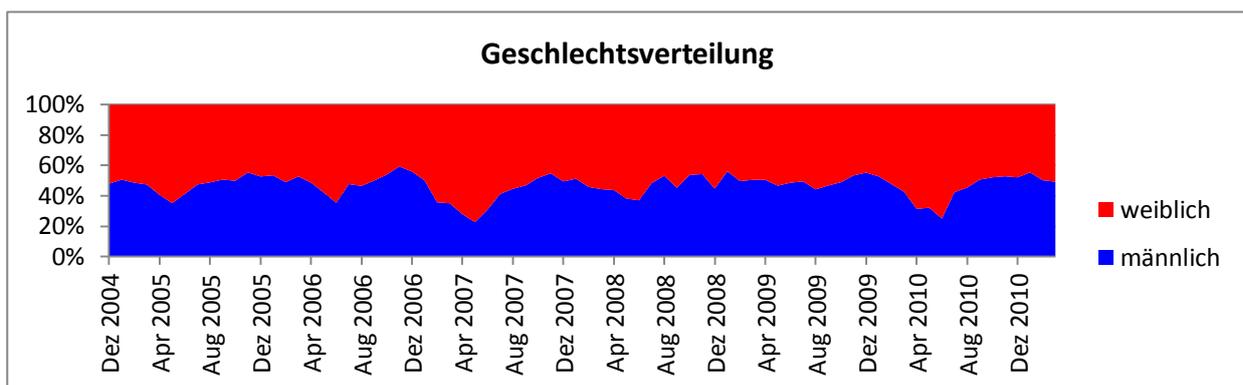


Diagramm 30: Geschlechtsverteilung der beprobten Wildschweine in den Impf-/Intensivmonitoringgebieten der Region Pfalz

4. ERGEBNISSE

Von den 30.296 beprobten Wildschweinen mit Angaben zum Erlegegrund bzw. zur Todesursache zeigen über 99,2 % (n=30.180) keine Auffälligkeiten. Die restlichen 0,8 % (n=232) verteilen sich zu 79 % (n=184) auf Unfallwild, zu 9 % (n=22) auf Fallwild und zu 11 % (n=26) auf Wildschweine mit Auffälligkeiten (Diagramm 31).

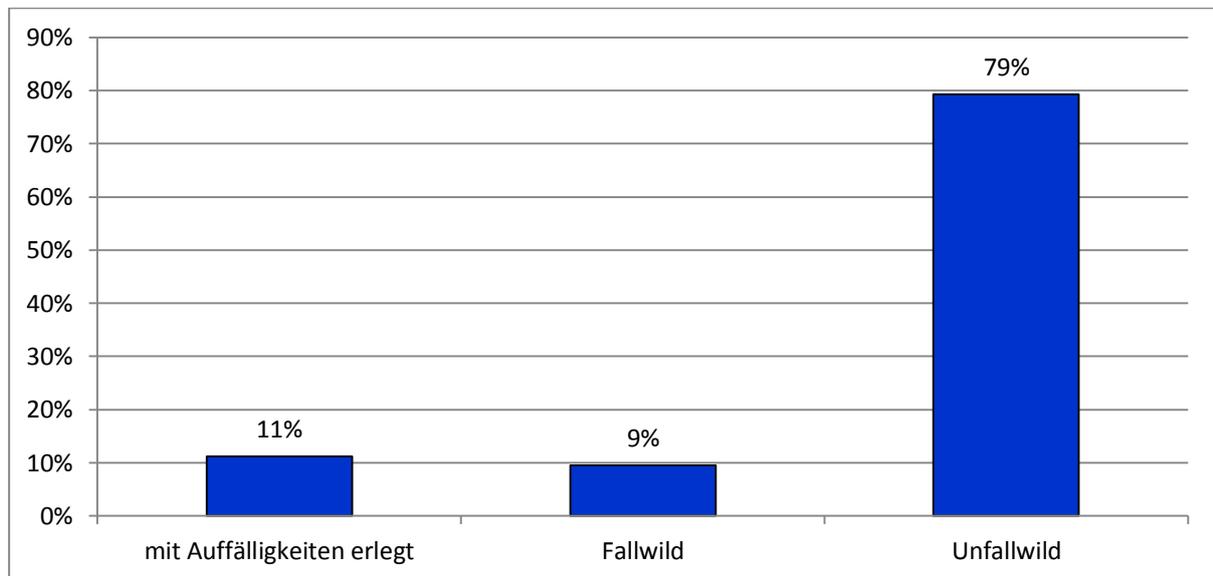


Diagramm 31: Auswertung der Angaben zum Erlegegrund bzw. zur Todesursache der beprobten Wildschweine in den Impf-/Intensivmonitoringgebieten der Region Pfalz

4. ERGEBNISSE

4.3.3.2 Virologische Auswertung

Die virologische Prävalenz in der Region Pfalz liegt im Februar 2009 bei 1,2 %. In den Monaten März und April 2009 liegt die virologische Prävalenz unter 1 % (Diagramm 32).

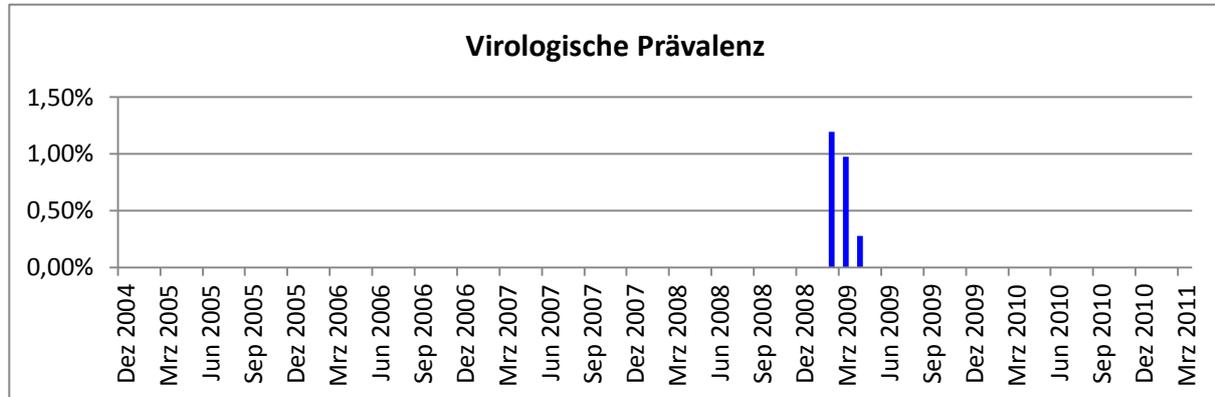


Diagramm 32: Virologische Prävalenz in der Region Pfalz

4.3.3.3 Serologische Auswertung

In Diagramm 33 ist die serologische Prävalenz in den Impfgebieten der Region Pfalz über den Zeitraum von Dezember 2004 bis März 2011 dargestellt. Ebenfalls sind dem Diagramm Verweise auf die KSPV-Nachweise (roter Pfeil) und die Impfgebietsverkleinerungen (grüne Pfeile) zu entnehmen.

Die serologische Prävalenz in den Impfgebieten (blaue Balken) der Region Pfalz liegt im Jahre 2005 durchschnittlich bei 63 % (Streuungsintervall 55-74 %). Wie die lineare, schwarze Trendlinie verdeutlicht, sinkt die serologische Prävalenz in den folgenden Jahren kontinuierlich. Im Jahre 2006, nachdem das Impfgebiet um fast zwei Drittel der Fläche verkleinert worden ist, liegt die serologische Prävalenz bei 58 % (Streuungsintervall 35-75 %). Die nächste Impfgebietsverkleinerung um fast die Hälfte der Fläche führt im Jahre 2007 zu einer serologischen Prävalenz von 48 % (Streuungsintervall 35-58 %). 2008 ist das Impfgebiet nur noch ein Fünftel mal so groß wie im Jahr zuvor und die serologische Prävalenz liegt bei 54 % (Streuungsintervall 25-77 %). Die isoliert in einer Verbandsgemeinde auftretenden KSPV-Nachweise Anfang 2009 führen zwar zu einer Impfgebietsvergrößerung, aber nicht zu einer Veränderung der serologischen Prävalenz. Diese liegt im Jahre 2009 bei 48 % (Streuungsintervall 25-79 %). Bis zum März 2011 kann eine serologische Prävalenz von 37 % (Streuungsintervall 29-45 %) ermittelt werden.

4. ERGEBNISSE

Im Jahre 2009 wird ein Intensivmonitoringgebiet (schwarze Balken) eingeführt, in dem eine serologische Prävalenz von durchschnittliche 9 % (Streuungsintervall 3-13 %) ermittelt werden konnte.

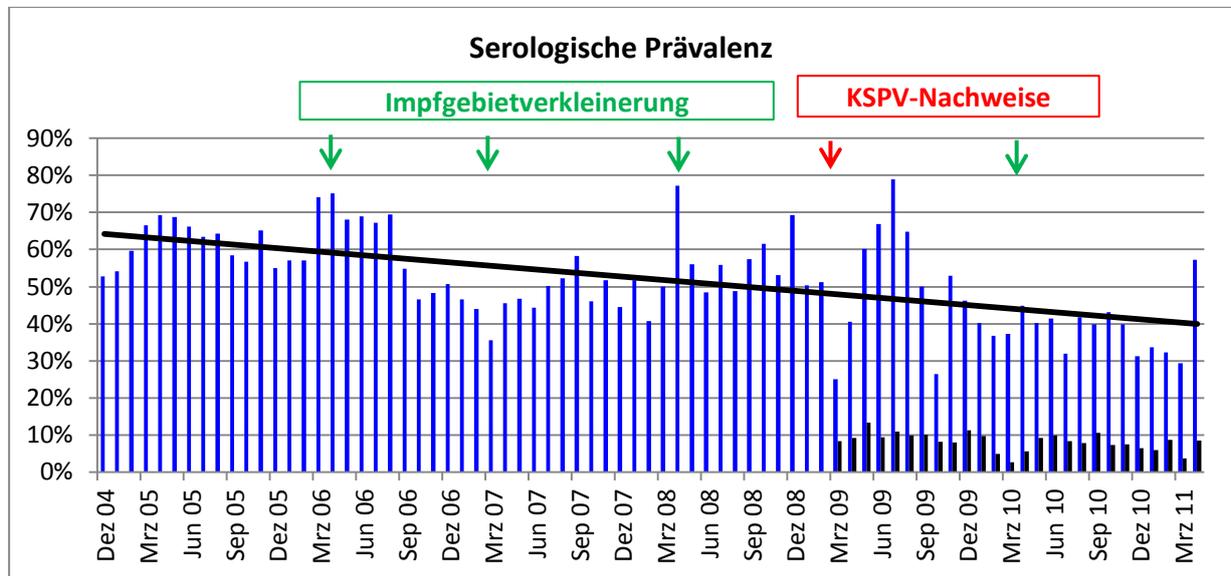


Diagramm 33: Serologische Prävalenz in den Impf-/Intensivmonitoringgebieten der Region Pfalz
(roter Pfeil = KSPV-Nachweis; grüne Pfeile = Impfgebietsveränderungen; blaue Balken = serologische Prävalenz im Impfgebiet; schwarze Balken = serologische Prävalenz im Intensivmonitoringgebiet)

In Diagramm 34 sind die serologischen Ergebnisse in Abhängigkeit von der Altersklasse in den Impfgebieten der Region Pfalz prozentual dargestellt. Von den insgesamt 11.584 eingesandten Proben von Frischlingen sind 30 % (n=3.445) serologisch positiv. Von den insgesamt 12.147 eingesandten Proben von Überläufern sind 45 % (n=5.440) serologisch positiv. Von den insgesamt 4.436 eingesandten Proben von Adulten sind 58 % (n=2.593) serologisch positiv.

4. ERGEBNISSE

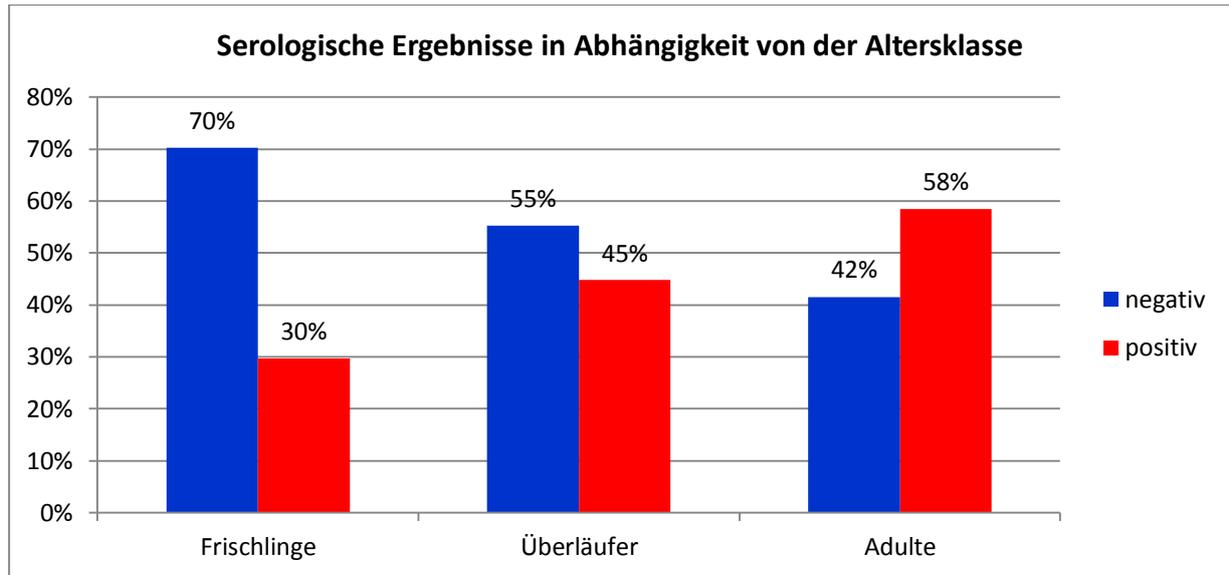


Diagramm 34: Serologische Ergebnisse in Abhängigkeit von der Altersklasse in den Impfgebieten der Region Pfalz

4.4 Ergebnisse der Genotypisierung

Mittels Genotypisierung können die virologisch positiv getesteten Proben phylogenetisch klassifiziert werden. Alle in Rheinland-Pfalz detektierten Feldviren zählen zum Genotyp 2 Subtyp 3. Die Feldvirusnachweise aus dem Landkreis Ahrweiler gehören zum Genotyp 2.3 Rostock, während die Feldvirusnachweise aus dem Landkreis Südwestpfalz zum Genotyp 2.3 Uelzen gehören. In der Region Westerwald werden 3 verschiedene Genotypen nachgewiesen: der Genotyp 2.3 Rösrath, der Genotyp 2.3 Euskirchen und der Genotyp 2.3 Hennef/Euskirchen (Tabelle 7).

Tabelle 7: Feldvirusnachweise

Erlegedatum	Herkunft	Kreis	Ergebnis Virologie	Ergebnis FLI	Typisierung
14.12.2005	Aremberg	AW	positiv	Feldvirus	Genotyp 2.3 Rostock
28.12.2005	Dorsel	AW	positiv	Feldvirus	Genotyp 2.3 Rostock
15.03.2006	Schuld	AW	positiv	Feldvirus	Genotyp 2.3 Rostock
24.06.2007	Antweiler	AW	positiv	Feldvirus	Genotyp 2.3 Rostock
31.01.2009	Wissen	AK	positiv	Feldvirus	Genotyp 2.3 Rösrath
10.02.2009	Stein-Wingert	WW	positiv	Feldvirus	Genotyp 2.3 Rösrath
11.02.2009	Marienhäusen	NR	positiv	Feldvirus	Genotyp 2.3 Hennef/ Euskirchen
13.02.2009	Marienhäusen	NR	positiv	Feldvirus	Genotyp 2.3 Hennef/ Euskirchen
13.02.2009	Marienhäusen	NR	positiv	Feldvirus	Genotyp 2.3 Hennef/ Euskirchen
17.02.2009	Bachenberg	AK	positiv	Feldvirus	Genotyp 2.3 Hennef/ Euskirchen
23.02.2009	Geiselberg	PS	positiv	Feldvirus	Genotyp 2.3 Uelzen/ Bas Rhin
28.02.2009	Heltersberg	PS	positiv	Feldvirus	Genotyp 2.3 Uelzen/ Bas Rhin
07.03.2009	Kroppach	WW	positiv	Feldvirus	Genotyp 2.3 Rösrath
12.03.2009	Kescheid	AK	positiv	Feldvirus	Keine Typisierung, da zu geringe Genomlast
11.03.2009	Steinalben	PS	positiv	Feldvirus	Genotyp 2.3 Uelzen/ Bas Rhin
14.03.2009	Harschbach	NR	positiv	Feldvirus	Genotyp 2.3 Euskirchen

4. ERGEBNISSE

14.03.2009	Steinalben	PS	positiv	Feldvirus	Genotyp 2.3 Uelzen/ Bas Rhin
15.03.2009	Geiselberg	PS	positiv	Feldvirus	Genotyp 2.3 Uelzen/ Bas Rhin
18.03.2009	Geiselberg	PS	positiv	Feldvirus	Genotyp 2.3 Uelzen/ Bas Rhin
23.03.2009	Friesenhagen	AK	positiv	Impfvirus Feldvirus	Genotyp 1.1, C-Stamm Genotyp 2.3 Euskirchen
10.04.2009	Geiselberg	PS	positiv	Feldvirus	Genotyp 2.3 Uelzen/ Bas Rhin
18.04.2009	Puderbach	NR	positiv	Feldvirus	Genotyp 2.3, Euskirchen
22.04.2009	Puderbach	NR	positiv	Feldvirus	Genotyp 2.3 Euskirchen
22.04.2009	Puderbach	NR	positiv	Feldvirus	Genotyp 2.3 Euskirchen
23.04.2009	Waldfischbach	PS	positiv	Feldvirus	Genotyp 2.3 Uelzen/ Bas Rhin
29.04.2009	Erpel	NR	positiv	Feldvirus	Genotyp 2.3 Rösraath
11.06.2009	Hanroth	NR	positiv	Feldvirus	Keine Typisierung erfolgt
14.06.2009	Erpel	NR	positiv	Feldvirus	Keine Typisierung erfolgt

Mittels Sequenzierung können nicht nur Feldviren festgestellt werden, sondern auch Impfviren. Diese können in allen Impfreionen nachgewiesen werden. Impfvirusnachweise werden sowohl kurz nach einer Impfung als auch mehrere Wochen (> 4 Wochen) nach der Impfung geführt (Tabelle 8).

Tabelle 8: Impfvirusnachweise

Erlegedatum	letzter Impftermin	Zeitab- stand (Tage)	Herkunft	Kreis	Ergebnis Virologie	Ergebnis FLI	Typisierung
06.03.2009	19.07.2009	12	Friesenhagen	AK	positiv	Impfvirus	Genotyp 1.1, C-Stamm
07.03.2009	19.07.2009	13	Hardert	NR	positiv	Impfvirus	Genotyp 1.1, C-Stamm
07.03.2009	01.03.2009	5	Leimbach	AW	positiv	Impfvirus	Genotyp 1.1, C-Stamm
10.03.2009	01.03.2009	6	Kolverath	DAU	positiv	Impfvirus	Genotyp 1.1,

4. ERGEBNISSE

							C-Stamm
13.03.2009	01.03.2009	6	Barweiler	AW	positiv	Impfvirus	Genotyp 1.1, C-Stamm
23.03.2009	01.03.2009	9	Borler	DAU	positiv	Impfvirus	zu geringe Genomlast
23.03.2009	01.03.2009	12	Harbach	AK	positiv	Impfvirus	Genotyp 1.1, C-Stamm
29.03.2009	01.03.2009	22	Siershahn	WW	positiv	Impfvirus	Genotyp 1.1, C-Stamm
06.04.2009	01.03.2009	22	Friesenhagen	AK	positiv	Impfvirus u. Feldvirus	Genotyp 1.1, C-Stamm Genotyp 2.3 Euskirchen
06.07.2009	29.03.2009	0	Rengsdorf	NR	positiv	Impfvirus	zu geringe Genomlast
31.07.2009	29.03.2009	8	Merzalben	PS	positiv	Impfvirus	zu geringe Genomlast
01.08.2009	21.06.2009	15	Rhinntal	SÜW	positiv	Impfvirus	Genotyp 1.1, C-Stamm
15.05.2010	05.09.2010	5	Wölferlingen	WW	positiv	Impfvirus	Genotyp 1.1. C-Stamm
22.05.2010	05.09.2010	10	Urbach	NR	positiv	Impfvirus	Genotyp 1.1. C-Stamm
04.07.2010	03.10.2010	30	Merzalben	PS	positiv	Impfvirus	Genotyp 1.1. C-Stamm
10.09.2010	15.05.2010	0	Marienhäusen	NR	positiv	Impfvirus	zu geringe Genomlast
15.09.2010	16.05.2010	6	Meudt	WW	positiv	Impfvirus	zu geringe Genomlast
02.11.2010	13.06.2010	21	Neustadt	NR	positiv	Impfvirus	zu geringe Genomlast
19.03.2011	27.02.2011	20	Maxsain	WW	positiv	Impfvirus	zu geringe Genomlast

5. DISKUSSION

5.1 Bewertung der durchgeführten jagdlichen Maßnahmen

Das oberste Ziel der jagdlichen Maßnahmen zur KSP-Bekämpfung ist die drastische Reduzierung des Schwarzwildbestandes (DEPNER et al., 1998a). Das soll in RLP gemäß Handlungsplan durch die ganzjährige, intensive Bejagung mit Aufhebung der Schonzeit erreicht werden. In der Gesamtbetrachtung von RLP (Diagramm 1) ist ein deutlicher Anstieg der Jagdstrecke in den letzten Jahrzehnten zu erkennen (ROEMELT et. al., 2012). Während in den 1950er Jahren die Jagdstrecke bei ca. 5.000 Wildschweinen/Jagdjahr liegt, werden in den 1970ern bereits ca. 10.000 Wildschweine/Jagdjahr erlegt. Dies steigert sich in den 1990ern auf ca. 20.000-40.000 Wildschweine/Jagdjahr. Nach dem Jahr 2000 werden ca. 40.000-65.000 Wildschweine pro Jagdjahr erlegt und das Maximum wird im Jagdjahr 2008/2009 mit ca. 80.000 Wildschweinen erreicht. Wenn man jedoch davon ausgeht, dass auch die Zuwachsrate der Wildschweine exponentiell angestiegen ist, ist der steile Anstieg unter Vorbehalt zu beurteilen. SODEIKAT (2008) berichtet von Zuwachsraten von mehr als 300 %. Mehrere Faktoren können die Größe der Schwarzwildpopulation beeinflussen. Dazu zählen die Umstrukturierung der Landwirtschaft (große landwirtschaftliche Flächen), der Klimawandel (milde Winter und häufigere Baummasten), die Unterschätzung des tatsächlichen Bestandes (Anpassungs- und Reproduktionsfähigkeit) und die Abnahme der natürlichen Feinde (GENOV, 1981; ARNOLD, 2005). Laut einer Studie von NEEF (2009) existiert die strenge Saisonalität der Reproduktionsdynamik beim europäischen Wildschwein nicht mehr, was ebenfalls als ein wichtiger Faktor für das exponentielle Anwachsen der Wildschweinpopulationen anzusehen ist.

In der vorliegenden Arbeit sind zwar keine Jagdstrecken der einzelnen Regionen aufgeführt, aber anhand der Einsendungen der beprobten Wildschweine können Rückschlüsse auf das Jagdverhalten gezogen werden. In allen Regionen liegen die Beprobungsraten bei durchschnittlich zwei bis drei Wildschweinen pro km² pro Jagdjahr (Tabellen 4-6). Wenn man aber davon ausgeht, dass Zuwachsraten von über 300 % zu erwarten sind (SODEIKAT, 2008), müssen wesentlich mehr Tiere erlegt werden, um eine Bestandsreduktion des Schwarzwildes zu erreichen. Auffallend ist, dass die ständigen Größenveränderungen des Gebietsstatus Einfluss auf die Untersuchungszahlen haben. So ist in der Eifel mit der Einführung des Impfgebietes die Beprobungsrate mit einem Wildschwein/km² erst mal sehr gering. Doch dann steigert sich die Beprobungsrate auf drei Wildschweine/km² bis hin zu

5. DISKUSSION

sechs Wildschweinen/km² im Jagdjahr 2008/2009. Ähnliches ist auch in der Region Westerwald zu beobachten. Mit Einführung des Impfgebietes 2009 liegt die Beprobungsrate bei zwei Wildschweinen/km² und steigt im darauf folgenden Jagdjahr auf drei Wildschweine/km². In der Region Pfalz fällt im Jahre 2006 nach der drastischen Impfgebietsverkleinerung von 4.800 km² auf 1.730 km² die Beprobungsrate von zwei Wildschweinen/km² auf ein Wildschwein/km². Auch die Vergrößerung des Impfgebietes im Jahre 2009 führt zu einem Abfall der Beprobungsrate von drei Wildschweinen/km² auf ein Wildschwein/km². Das zeigt deutlich, dass die Kommunikation von Veränderungen und deren Umsetzung immer etwas Zeit brauchen. Daraus kann geschlussfolgert werden, dass Gebietsveränderungen nicht in zu kurzen Zeitabständen erfolgen sollten.

Eine weitere Auffälligkeit ist im saisonalen Verlauf der Untersuchungszahlen zu beobachten (Diagramme 9, 17 und 27). Die Ergebnisse zeigen, dass die Hauptjagdzeit für Schwarzwild in den Wintermonaten liegt und in den Sommermonaten die Beprobungszahlen deutlich absinken. Somit ist das angestrebte Ziel einer ganzjährigen Bejagung nicht erreicht worden. MÜLLER (2001) erklärt dies mit den jahreszeitlich unterschiedlichen Jagdbedingungen. Im Winter haben die Wildschweine schlechtere Versteckmöglichkeiten und sind schneller zu sehen. BRIEDERMANN (1990) weist zusätzlich noch auf die Futterumstellung des Schwarzwildes hin. In den Sommermonaten sind genügend alternative Nahrungsquellen in der Natur vorhanden, während in den Wintermonaten die Wildschweine verstärkt auf Nahrungssuche gehen müssen und somit auch besser auf die Kurrungen ansprechen. Außerdem spielen bei der Jagdstreckenentwicklung noch die Motivation der Jäger und die Organisation von Drückjagden eine entscheidende Rolle. Gerade in der Zeit vor Weihnachten steigt die Nachfrage in Bezug auf Wildschweinfleisch, was eine weitere mögliche Erklärung für die verstärkte Bejagung in den Wintermonaten darstellen könnte.

Ein zweites wichtiges Kriterium für die Bewertung der durchgeführten jagdlichen Maßnahmen ist die gezielte Bejagung von Frischlingen. Die Hauptrolle im Seuchengeschehen spielen aufgrund der Infektionsbiologie des KSP-Virus die Frischlinge (DEPNER et al., 1998a). Eine jährliche Jagdstrecke von mindestens 70-80 % Frischlingen, höchstens 10-20 % Überläufern und etwa 10 % Adulten wird seit Jahrzehnten in geringen Abwandlungen von unterschiedlichen Autoren empfohlen (BRIEDERMANN, 1990; PETRAK, 1999; HENNIG, 2000; GETHÖFER, 2005; HAPP, 2007; SODEIKAT, 2008). DEPNER et al. (1998a)

schreiben sogar, dass, um die KSP über Jagdmaßnahmen bekämpfen zu können, keine Tiere älter als 18 Monate bzw. schwerer als 50 kg erlegt werden dürfen. Dies ist aus Sicht der Jäger aber nicht möglich, da Wildschweine nicht nur zur Seuchenbekämpfung gejagt werden, sondern auch zum Verzehr des Fleisches. Die Untersuchungsergebnisse (Diagramme 2, 10, 19 und 28) zeigen, dass in allen Regionen von RLP im Hinblick auf die Altersverteilung der beprobten Wildschweine das angestrebte Ziel nicht erreicht wird. Der Frischlingsanteil liegt mit 38-51 % unter den Empfehlungen, während der Anteil der anderen Altersklassen zu hoch ist. Das führt letztendlich dazu, dass die Schwarzwildpopulation jung gehalten wird und somit ein ideales Substrat für das KSPV darstellt (DEPNER et al., 1998a). Das entspricht den Beobachtungen in anderen Bundesländern mit KSP-Seuchengeschehen bei Wildschweinen (SCHURIG, 1999; KERN und LAHRMANN, 2000; STEYER, 2001; KADEN et al., 2000b, 2002, 2003; VON RÜDEN, 2006). Als Ursache hierfür kommt folgendes in Frage: Frischlinge sind kein beliebtes Jagdziel, da sie weder gut verwertbar sind noch vorzeigbare Trophäen besitzen. Es besteht daher kein hoher Ansporn für die Jäger. Eine finanzielle Entlohnung für die Erlegung von Frischlingen ist eine Kostenfrage für das jeweilige Bundesland. Für manche Jäger sprechen auch ethisch-moralische Gründe dagegen, Frischlinge zu erlegen.

Kritisch anzumerken ist, dass die Zahnaltersbestimmung einer gewissen Unsicherheit unterliegt und vom Wissensstand der einzelnen Jäger abhängt (VON RÜDEN, 2006). Vergleicht man die Auswertungen der Altersverteilung mit den Auswertungen der Gewichtsangaben, die auch vom Schätzungsvermögen der einzelnen Jäger abhängen, ist eine tendenzielle Übereinstimmung zu erkennen. Gemäß der Gewichtsverteilung liegt der Frischlingsanteil (Wildschweine mit einem Gewicht von ≤ 30 kg) bei durchschnittlich 48-56 % (Diagramme 11, 20 und 29). Die minimalen Abweichungen besonders bei den Frischlingen (Gewichtsklassen ≤ 30 kg) und den Überläufern (Gewichtsklasse 31-60 kg) könnten darauf zurückzuführen sein, dass die Übergänge fließend sind und in der Natur nicht immer eindeutig festgelegt werden können. Aber der Faktor solcher Schätzfehler liegt nicht so hoch, dass die empfohlenen Jagdstreckenverteilungen in Bezug auf die Altersklassen erreicht werden.

Aber nicht nur in den Impfgebieten sind die geforderten Anweisungen nicht korrekt durchgeführt worden. Im Monitoringgebiet der Region Westerwald sollen gemäß den tierseuchenrechtlichen Anordnungen nur Wildschweine mit einem Gewicht > 30 kg beprobt

5. DISKUSSION

werden. Aber die Diagramme 18 und 21 zeigen deutlich, dass durchschnittlich 9-13 % der eingesandten Proben von Frischlingen bzw. von Wildschweinen mit einem Gewicht von unter 30 kg stammen. Daraus kann geschlussfolgert werden, dass einerseits die Kommunikation mit den Jägern nicht ausreichend ist, andererseits das Ansprechen der Wildschweine offensichtlich nicht genau genug umgesetzt werden kann, um die jagdlichen Maßnahmen erfolgreich durchzuführen.

Das dritte Kriterium für die Bewertung der durchgeführten jagdlichen Maßnahmen ist die gezielte Bejagung von weiblichen Wildschweinen. Dieses Ziel wird kontrovers diskutiert. Zum einen ist es für die Bestandsreduktion wichtig, die Zuwachsträger der Schwarzwildpopulation zu minimieren, aber zum anderen kann das Töten weiblicher Tiere verheerende Folgen haben. Leitbachen dürfen nicht geschossen werden, da sie für die Sozialstruktur der Wildschweinrotte verantwortlich sind (HAPP, 2007). Wenn diese Leittiere in der Rotte fehlen, kommt es zu unkontrollierten Verhaltensweisen (DEPNER et al., 1998b). In den Diagrammen 3, 12, 22 und 30 ist deutlich zu erkennen, dass von den Wildschweinproben durchschnittlich nur 53-54 % von weiblichen Tieren stammen. Aus den Untersuchungsergebnissen von VON RÜDEN (2006) geht hervor, dass das Verhältnis von männlichen und weiblichen Tieren in den Jagdstrecken in den Jahren vor 2005 genau umgekehrt ist. Es werden ca. 52-57 % männliche Wildschweine und ca. 43-48 % weibliche Wildschweine erlegt. Das bedeutet, dass man zwar dem angestrebten Ziel, vermehrt weibliche Tiere zu bejagen, im Vergleich zu den Jahren vor 2005 näher gekommen ist, aber das angestrebte Ziel noch nicht zufriedenstellend erreicht hat.

5.2 Bewertung der oralen Immunisierung

KADEN et al. (2002) schlagen folgende Strategie für einen optimalen Immunisierungserfolg bei Wildschweinen vor:

- ⇒ 3 x jährlich eine Doppelauslage im Abstand von 14-28 Tagen
- ⇒ Verwendung der KSPV-Lebend-Vakzine vom Stamm C
- ⇒ Impfköderverteilung per Handauslage
- ⇒ 1 Köderplatz pro km² und 30-40 Köder
- ⇒ KIRRUNG 10 Tage vor der Köderauslage
- ⇒ Einsammeln der nicht aufgenommenen Köder

Die Bekämpfungsstrategie in RLP erfolgt durch eine dreimalige Doppelimmunisierung mit der KSPV-Lebendvakzine vom Stamm C gemäß den Empfehlungen von KADEN et al. (2002).

In RLP erfolgt die Köderauslage, wie von KADEN et al. (2002) empfohlen, per Handauslage. In Mecklenburg-Vorpommern wird eine Köderauslage per Flugzeug beschrieben, die aber sehr aufwendig und kostenintensiv ist (SCHURIG, 1999).

In der Region Eifel werden durchschnittlich 35 Köder/km² (Variation 27-42) und in der Region Westerwald durchschnittlich 32 Köder/km² (Variation 31-32) vom Ministerium (MUFV) an die zuständigen Veterinärämter ausgegeben; dies entspricht den Empfehlungen von KADEN et al. (2002). In der Region Pfalz werden durchschnittlich nur 24 Köder/km² (Variation 19-34) vom Ministerium (MUVF) an die zuständigen Veterinärämter ausgegeben. Das entspricht zwar nicht den Empfehlungen von KADEN et al. (2002), aber laut den tierseuchenrechtlichen Anordnungen werden 20-40 Köder pro KIRRplatz (ein KIRRplatz/km²) vorgeschrieben (ANONYM, 2005b). Somit sind diese Anforderungen auch in der Region Pfalz erfüllt worden.

Ob KIRRungen stattgefunden haben, kann nicht nachvollzogen werden. Die korrekte Auslage der Impfköder kann ebenfalls aufgrund fehlender Informationen nicht beurteilt werden. Bei einer Analyse des KSP-Seuchengeschehens in Nordrhein-Westfalen werden Fragebögen mit Angaben über die Art der Köderauslage ausgewertet (ANCZIKOWSKI, 2009). Die Ergebnisse haben gezeigt, dass die meisten Jäger die Köder erdbedeckt oder spatentief ausgelegt haben. Deshalb ist davon auszugehen, dass auch in RLP die Jäger ordnungsgemäß

die Köder erdbedeckt oder spatentief ausgelegt haben. Ob es sinnvoll ist, dass auf dem Probenbegleitschein noch die Angaben zur Kurrung und zur Köderauslage hinzugefügt werden soll, bleibt fraglich. ANCZIKOWSKI (2010) hat bei der Auswertung von Fragebögen zur Durchführung der oralen Immunisierung festgestellt, dass das Ausfüllen von Probenbegleitscheinen zum Teil sehr inhomogen erfolgt.

Eine Auswertung der Anzahl der aufgenommen Impfköder kann nicht erfolgen, da das Einsammeln und Zurückgeben der übriggeblieben Impfköder von den Jägern nicht konsequent durchgeführt wird. Dieses Problem könnte gelöst werden, wenn die Veterinärämter mit mehr Nachdruck das Einsammeln und Abgeben der übriggebliebenen Köder fordern würden. Dabei ist zu berücksichtigen, dass das Einsammeln und Abgeben der Köder mit erneutem Arbeits- und Zeitaufwand verbunden ist. Um den Jägern diese Aufgabe etwas zu erleichtern, wäre eine zentrale Abgabe der eingesammelten übriggebliebenen Impfköder bei den Veterinärämtern zu empfehlen.

Anhand serologischer Untersuchungsergebnisse können Rückschlüsse auf die Durchführung der oralen Immunisierung gezogen werden. Auch wenn es zur Zeit keine Markervakzine für Wildschweine auf dem Markt gibt, die eine Differenzierung von Impfvirus- und Feldvirusantikörpern ermöglicht (WITTMANN et al., 2010), ist trotzdem eine Beurteilung des Impferfolges anhand der serologischen Prävalenz eingeschränkt möglich. Bei den nachgewiesenen Antikörpern handelt es sich vermutlich hauptsächlich um Impfvirusantikörper, da virologisch kein Anstieg des Feldvirus in der Schwarzwildpopulation nachweisbar ist.

In der Gesamtbetrachtung von Rheinland-Pfalz sind in den Impfgebieten serologische Prävalenzen im Durchschnitt von 57 % erreicht worden (ROEMELT et al., 2012). Im Vergleich zu den Feldversuchen in Brandenburg und Mecklenburg-Vorpommern, wo nur zweimal im Jahr eine Doppelimpfung im Abstand von 14-28 Tagen durchgeführt wird und die serologischen Prävalenzen bei nur ca. 30 % liegt, wird die verbesserte Impfstrategie mit einer dreimaligen Impfung im Jahr deutlich (SCHURIG, 1999; KERN und LAHRMANN, 2000).

In der Einzelbetrachtung der Regionen liegen die serologischen Prävalenzen teilweise etwas niedriger: In der Region Eifel bei durchschnittlich 54 %, in der Region Westerwald bei

5. DISKUSSION

durchschnittlich 48 % und in der Region Pfalz bei durchschnittlich 51 % (ROEMELT et al., 2012).

An der Region Westerwald ist gut zu erkennen, dass sehr schnell nach Beginn der oralen Immunisierung eine hohe serologische Prävalenz erreicht wird (Diagramm 25).

Im saisonalen Verlauf wird deutlich, dass die serologischen Prävalenzen in den Sommermonaten höher liegen als in den Wintermonaten. So liegen die serologischen Prävalenzen in der Eifel in den Sommermonaten bei über 60 % und in den Wintermonaten unter 60 %. Das könnte zum einem mit der Anzahl beprobter Wildschweine zusammenhängen, die in den Sommermonaten niedriger ist als in den Wintermonaten. Zum anderen könnte es auch an der fehlenden Immunisierung im Winter liegen. Aber auch Gebietsveränderungen beeinflussen die serologische Prävalenz. In Diagramm 33 lässt die schwarze Trendlinie erkennen, dass in der Region Pfalz die serologischen Prävalenzen proportional zur Verkleinerung der Impfgebiete kontinuierlich absinken.

In der Region Eifel ist zu erkennen, dass relativ schnell nach Beenden der Impfung die serologische Prävalenz absinkt (Diagramm 15). Das spricht dafür, dass die Impfung noch weitere 2 Jahre nach dem letzten KSPV-Nachweis durchgeführt werden sollte (KADEN et al., 2002). Diese Empfehlung wird im Fall der Region Eifel auch eingehalten. In der Region Pfalz erfolgt die Impfung sogar über einen längeren Zeitraum.

Die Analyse der serologischen Untersuchungsergebnisse in Bezug auf die verschiedenen Altersklassen zeigt deutlich, dass die orale Immunisierung in allen Regionen hauptsächlich ältere Tiere erreicht. Nur ca. 30-34 % der beprobten Frischlinge sind serologisch positiv, während bei den Überläufern ca. 45-61 % und bei den Adulten ca. 58-76 % serologisch positiv sind (Diagramme 16, 26, 34). Dies deckt sich mit diversen Feldversuchen in Deutschland (KERN et al., 1999, KADEN et al., 2000b, 2002). Das kann verschiedene Ursachen haben. KADEN et al. (1999a) vermuten, dass das biologische Verhalten innerhalb der Rotte bei der Köderaufnahme (Rangordnung) eine mögliche Ursache sein könnte. Auch MEYNHARDT (1989) schreibt, dass die ranghöchsten Wildschweine einer Rotte immer den Vorrang bei der Nahrungsaufnahme haben. Informationen dazu, ob die empfohlenen Frischlingsrechen verwendet worden sind und zu einer verbesserten Impfköderaufnahme bei Frischlingen führen, liegen nicht vor. Außerdem schließen KADEN et al. (1999a) nicht aus,

dass die relativ großen Köder mit den scharfen Blistern ein Grund für die mangelnde Impfköderaufnahme bei Frischlingen sein könnte. Ein weiterer Punkt für die niedrige Seroprävalenz bei Frischlingen könnte das noch nicht voll entwickelte Immunsystem sein. Impfversuche zeigen, dass eine mehrmalige Impfung bei Frischlingen notwendig ist, um das Immunsystem ausreichend zu stimulieren (KADEN et al., 1999a; KADEN et al., 2004a). KADEN et al. (1999a) beschreiben weiterhin, dass maternale Antikörper die Immunantwort nach einer Impfung unterdrücken können. Aus diesen Ergebnissen wird deutlich, dass der Abschuss der adulten Wildschweine eine Senkung der immunen Tiere in der Schwarzwildpopulation bedeutet, was für die KSP-Seuchenbekämpfung kontraproduktiv ist (DEPNER et al., 1998b).

Die bisherige Impfstrategie ruft für die Überläufer und die adulten Wildschweine eine zufriedenstellende Immunität hervor. In Bezug auf die Frischlinge muss die Impfstrategie noch verbessert werden.

5.3 Bewertung des Überwachungskonzeptes

Das Ziel eines Überwachungskonzeptes ist zum einen eine kontinuierliche Beobachtung seuchenfreier Gebiete, um neue Seuchenausbrüche möglichst früh zu erkennen und um geeignete Bekämpfungsmaßnahmen möglichst schnell ergreifen zu können. Zum anderen ist eine kontinuierliche Beobachtung von Seuchengebieten wichtig, um eine Verbreitung des Virus nachvollziehen zu können, um den Erfolg der durchgeführten Bekämpfungsmaßnahmen im Blick zu haben und um die Tilgung der Seuche zu kontrollieren. Für solch ein Überwachungskonzept müssen folgende Punkte beachtet werden:

- ⇒ Welche Gebiete müssen überwacht werden?
- ⇒ Welche Tiere müssen überwacht werden?
- ⇒ Mit welchen Untersuchungen muss die Überwachung durchgeführt werden?
- ⇒ Wie lange muss die Überwachung durchgeführt werden?

In RLP existieren zur Überwachung von seuchenfreien Gebieten die sogenannte Monitoringgebiete. Dabei wurde zwischen den linksrheinischen und den rechtsrheinischen Monitoringgebieten unterschieden.

In den rechtsrheinischen Monitoringgebieten ist vor dem Jahre 2009 noch nie ein KSPV-Nachweis geführt worden. Deshalb ist in diesen Gebieten die virologische Untersuchung erstmal nicht zwingend notwendig. Aus virologischen Untersuchungen aus Seuchengebieten geht hervor, dass die meisten KSPV-Infektionen symptomlos ablaufen, was eine Überwachung nicht nur von Indikatortieren (verendete, verunfallte und krank erlegte Wildschweine), sondern auch von gesund erlegten Tieren erforderlich macht. Um hier einen KSPV-Ausbruch möglichst früh zu erkennen, sollen hauptsächlich adulte Tiere serologisch untersucht werden, da ihr Immunsystem schneller Antikörper ausbildet. Daraus resultiert für die rechtsrheinischen Monitoringgebiete die Auflage, dass die Jagdausübungsberechtigten sowohl die Indikatortiere (alle verendeten, verunfallten und krank erlegten Wildschweine) als auch die gesund erlegten Wildschweine mit einem Gewicht über 30 kg für die serologische Untersuchung auf Schweinepest zu beproben haben. Dass dieses Überwachungskonzept funktioniert hat, zeigt das Diagramm 25. Dort ist in der Region Westerwald deutlich zu erkennen, dass bereits vier Monate vor den KSPV-Nachweisen im Jahre 2009 KSPV-Antikörper nachgewiesen werden konnten (schwarzer Kreis in Diagramm 25). Mit einer

5. DISKUSSION

serologischen Prävalenz von ca. 7 %, können mit sehr großer Wahrscheinlichkeit die darauffolgenden KSPV-Nachweise in kurzer Zeit erwartet werden. Deshalb wird sofort auch die virologische Untersuchung der Proben eingeführt. Wie erwartet erfolgen im Februar 2009 die KSPV-Nachweise und es wird sofort mit einer oralen Immunisierung und jagdlichen Maßnahmen die Bekämpfung der Seuche begonnen.

In den linksrheinischen Monitoringgebieten sind schon in früheren Jahren KSPV-Nachweise geführt worden. Da hier über eine längere Zeit geimpft worden ist, ist in diesen Gebieten sowohl eine serologische als auch eine virologische Überwachung sinnvoll. Aus den vorliegenden virologischen Untersuchungsergebnissen geht hervor, dass die Altersklasse der Frischlinge mit 80 % den Hauptanteil des KSPV-infizierten Schwarzwildes ausmacht. In der Betrachtung der Gewichtsklassen sind sogar 90 % der virologisch KSPV-positiv getesteten Wildschweine unter 30 kg. Das deckt sich mit den bisherigen Kenntnissen der Infektionsbiologie der KSP. Wie schon DEPNER et al. (1998a) haben noch viele andere Autoren darauf hingewiesen, dass die Frischlinge durch ihre hohe KSPV-Empfänglichkeit eine bedeutende Rolle im KSP-Seuchengeschehen spielen. Auch die Untersuchungsergebnisse aus Mecklenburg-Vorpommern, Baden-Württemberg und Sachsen-Anhalt bestätigten dies (KADEN et al., 2002, 2003). Daraus resultiert für die linksrheinischen Monitoringgebiete die Auflage, dass die Jagdausübungsberechtigten sowohl die Indikatortiere (alle verendeten, verunfallten und krank erlegten Wildschweine) als auch die gesund erlegten Wildschweine mit einem Gewicht bis zu 30 kg für die serologische und virologische Untersuchung auf Schweinepest zu beproben haben. Dass dieses Überwachungskonzept erfolgreich ist, zeigt das Diagramm 15. Dort ist in der Region Eifel deutlich zu erkennen, dass ca. zwei Monate vor den KSPV-Nachweisen im Dezember 2005 KSPV-Antikörper nachgewiesen werden konnten (schwarzer Kreis in Diagramm 15). Mit einer serologischen Prävalenz von ca. 11 % kündigt sich der darauffolgende KSP-Ausbruch an und es werden sofort entsprechende Bekämpfungsmaßnahmen in Form einer Notimpfung eingeleitet.

Zur Überwachung von Seuchengebieten existieren in RLP die Impfgebiete. Sofort nach der Feststellung eines KSPV-Nachweises wird in einem angemessenen Umkreis ein Impfgebiet deklariert, in dem eine dreimalige Doppelimmunisierung (Frühjahr, Sommer und Herbst) durchgeführt wird. Zusätzlich werden in diesen Gebieten jagdliche Maßnahmen gemäß dem ausgearbeiteten Handlungsplan durchgeführt, die ebenfalls der Eindämmung der Seuche

dienen. Laut den Empfehlungen von KADEN et al. (2002) soll dieses Impfgebiet im Umkreis von mindestens 20 km² um die Fundstelle des KSPV-Nachweises sein. Eine allgemeine Vorgabe für die Festlegung der Restriktionsgebiete kann nicht gegeben werden, da diese sich auch an der regionalen Wilddichte, den Habitatsbesonderheiten des jeweiligen Gebietes und den Erfahrungswerten aus anderen Impfkampagnen orientieren muss (VON RÜDEN, 2006). In RLP haben alle Impfgebiete einem Umkreis von mindestens 20 km² um die Fundstelle des KSPV-Nachweises. Auch die regionalen Habitatsbesonderheiten werden bei der Festlegung der Impfgebiete berücksichtigt. So stellt in der Region Westerwald der Rhein eine natürliche Grenze dar, die auch als Impfgebietsgrenze dient (Abbildungen 16 und 17). Ebenso orientiert sich das große Impfgebiet in der Pfalz an den geographischen Grenzen des Pfälzer Waldes (Abbildung 12). Die anschließenden Verkleinerungen erfolgen so, dass der Bereich an der Grenze zu Frankreich, wo das KSPV auch vorkommt und der somit eine potentielle Gefahr des KSPV-Eintrages darstellt, möglichst lange aufrechterhalten wird (Diagramme 12-15).

In den Impfgebieten haben die Jagd ausübungs berechtigten von allen verendeten, verunfallten und krank erlegten Wildschweinen (Indikatortiere) sowie von allen gesund erlegten Wildschweinen Proben zur Untersuchung auf Schweinepest zu entnehmen. Alle diese Proben werden sowohl serologisch als auch virologisch untersucht. Zusätzlich wird bei den virologisch positiv getesteten Tieren noch eine Genotypisierung durchgeführt. Anhand dieser Untersuchungsergebnisse können epidemiologische Analysen durchgeführt werden, um den Verlauf eines Seuchengeschehens besser beurteilen zu können. So kann bei den KSPV-Nachweisen in der Region Pfalz festgestellt werden, dass es sich um denselben Genotyp (Genotyp 2.3 Uelzen / Bas Rhin) wie in den Jahren zuvor handelt. Dieser Genotyp tritt bisher nur in der südlichen Region von RLP und in der nördlichen Region von Frankreich auf. Basierend auf diesen Information und der Tatsache, dass die KSPV-Nachweise nur in einem stark begrenzten Gebiet auftreten, findet eine Impfgebietsverkleinerung in der Region Pfalz im März 2010 statt, obwohl 2009 mehrere KSPV-Nachweise geführt werden (Abbildungen 16 und 17). Der Grund für das Auftreten der KSPV-Nachweise in der Region Pfalz bleibt ungeklärt. Das Virus könnte aus Frankreich eingetragen worden sein. Es könnte aber auch von transient infizierten Frischlingen stammen, die noch partiell durch maternale Antikörper geschützt sind oder von persistent infizierten Frischlingen, die ohne klinische Symptome Virusträger sind (DEPNER et al., 1995, 1996, 2000). Laut DEPNER et al. (1996, 1997) sind persistent infizierte Tiere ein Grund dafür, dass sich eine KSPV-Epidemie in einer Wildschweinpopulation „von selbst“ tragen kann, ohne dass ein neues Virus von außen

eingeschleppt werden muss. Dies könnte auch eine mögliche Erklärung für das vereinzelt und isoliert auftretende KSP-Virus in der Region Eifel sein (Abbildungen 12-14). Epidemiologische Analysen lassen vermuten, dass der Viruseintrag hier aus dem benachbarten Nordrhein-Westfalen erfolgt ist.

Laut Empfehlung von KADEN et al. (2002) sollen die Impfungen noch zwei Jahre nach dem letzten KSPV-Nachweis weiter geführt werden. Auch diese Empfehlung wird in der Impfstrategie von RLP umgesetzt. In der Region Pfalz findet die orale Immunisierung sogar noch länger statt. Durch eine schrittweise Verkleinerung des Impfgebietes sollte die orale Immunisierung in der Pfalz ausschleichen.

Die Tatsache, dass in RLP nur noch wenige KSPV-Nachweise geführt werden und sich die KSPV-Nachweise nicht über die gesamte Fläche von RLP ausgebreitet haben, zeigt, dass das Überwachungskonzept sinnvoll ist. In der Eifel ist seit Juli 2007 kein KSPV-Nachweis mehr geführt worden und in den Regionen Westerwald und Pfalz sind die KSPV-Nachweise auch nur auf die Monate Februar und März 2009 beschränkt gewesen. Danach ist kein KSPV-Nachweis mehr geführt worden. Ebenfalls zeigen die Untersuchungsergebnisse, dass die Ausbreitung des KSPV verhindert werden kann. Sowohl in der Region Eifel als auch in der Region Pfalz sind die KSPV-Nachweise regional begrenzt geblieben. In der Region Westerwald konnte eine Ausbreitung in den Rhein-Lahnkreis auch nicht festgestellt werden. Eine Aussage über die Tilgung der Seuche ist zum momentanen Zeitpunkt noch nicht möglich. Erst, wenn mehrere Jahre kein KSPV-Nachweis mehr geführt wird, kann von einer Tilgung der Seuche gesprochen werden.

Neben den Monitoring- und Impfgebieten gibt es in RLP seit dem Jahre 2009 noch die Intensivmonitoringgebiete. Die Intensivmonitoringgebiete stellen einen Übergang vom Impfgebiet zum Monitoringgebiet oder umgekehrt dar. Die Situation ist wie im Monitoringgebiet: es wird nicht geimpft und es gelten keine Schutzmaßnahmen. Aber die Jagdausübungsberechtigten haben wie im Impfgebiet alle verendeten, verunfallten und krank erlegten Wildschweine sowie alle gesund erlegten Wildschweine zu beproben. Alle Proben werden serologisch und virologisch untersucht. Dass solch ein Übergangsbereich sinnvoll ist, wird in den Diagrammen 6 und 7 deutlich. In der Zeit vor 2009 ist die serologische Prävalenz in den Monitoringgebieten mit durchschnittlich 16 % sehr hoch. Nach einer Analyse der räumlichen Verteilung konnte festgestellt werden, dass die meisten AK-Nachweise aus einem

5. DISKUSSION

Grenzbereich zu einem Impfgebiet oder aus aufgehobenen Impfgebieten stammen (ROEMELT et. al., 2012). Nach der Etablierung der Intensivmonitoringgebiete sinkt die serologische Prävalenz in den Monitoringgebieten auf 3 %. Nach Angaben von BRIEDERMANN (1990) und STUBBE et al. (1989) könnte es sich bei den serologisch positiv getesteten Tieren im Monitoringgebiet um herumvagabundierende Keiler handeln. Da aber unter den 3 % serologisch positiv getesteten Tieren gleichermaßen auch weibliche Tiere sind, könnte dies mit der Vermutung von HAPP (2007) übereinstimmen, dass bei zu hoher Populationsdichte auch die Bachen mit ihren Frischlingen vergrößerte Aktionsradien aufweisen.

5.4 Analyse der Genotypisierung

Die auf molekularbiologischen Untersuchungen basierenden epidemiologischen Auswertungen des FLI ergeben, dass es sich bei den KSPV-Isolaten aus den Jahren 2005-2007 aus der Region Eifel um den Genotyp 2.3 Rostock handelt. Der Genotyp 2.3 Rostock stammt ursprünglich aus Mecklenburg-Vorpommern und tritt im Laufe der Zeit auch im Saarland und im linksrheinischen Teil von Nordrhein-Westfalen auf (LOWINGS et al., 1996; BLOME et al., 2009). Räumlich und zeitlich gesehen passen die KSPV-Ausbrüche in der Region Eifel in RLP mit denen aus NRW zusammen. Die Bekämpfungsstrategie in NRW in Form von jagdlichen Maßnahmen und oraler Immunisierung ist der in RLP sehr ähnlich (ANCZIKOWSKI, 2010). Diese gemeinsame und Bundesland übergreifende Bekämpfung der KSP im Grenzbereich nördlich von RLP ist wichtig für den Erfolg der Bekämpfungsmaßnahmen zur Tilgung der Seuche.

Das Ausbruchgeschehen in der Region Pfalz weist den Genotyp 2.3 Uelzen auf, der zu 100 % mit früheren Isolaten aus der Region identisch ist (BLOME et al., 2009, 2011). Bisher ist noch unklar, ob das Virus in der Region persistiert hat oder ob es aus den umliegenden Gegenden wie z.B. Frankreich eingeschleppt wurde. Die Bekämpfungsstrategie in Frankreich ist mit der in RLP identisch. Obwohl der letzte KSPV-Nachweis in Frankreich im Mai 2007 erfolgt, wird aufgrund des Seuchengeschehens im Süden von RLP weiter im Grenzbereich geimpft (HOFFMANN, 2011). Ebenso wird in der Region Pfalz das an Frankreich angrenzende Impfgebiet möglichst lange aufrechterhalten. Das bedeutet, dass auch im südlichen Grenzbereich eine gemeinsame Bekämpfung der KSP gegeben ist.

In der Region Westerwald sind drei verschiedene Genotypen nachgewiesen worden. Der Genotyp 2.3 Euskirchen, der Genotyp 2.3 Hennef und der Genotyp 2.3 Rösrath. Der Genotyp 2.3 Euskirchen stammt ursprünglich aus Nordrhein-Westfalen (linksrheinisch). Der Genotyp 2.3 Hennef stammt ursprünglich aus Nordrhein-Westfalen (rechtsrheinisch) und stimmt zu 100 % mit früheren Isolaten aus der Region Euskirchen überein. Phylogenetisch sind die Genotypen 2.3 „Hennef“, „Euskirchen“ und „Rostock“ eng miteinander verwandt (LEIFER et al., unveröffentlicht).

Der Genotyp 2.3 Rösrath stammt aus Nordrhein-Westfalen (linksrheinisch). Dieser zeigt geringfügige, aber eindeutige Unterschiede zu Virusstämmen, die bis 2007 in der Region Euskirchen (NRW, linksrheinisch) gefunden wurden. Aus diesem Grund wird anfangs ein Neueintrag des KSPV nicht ausgeschlossen (STAUBACH et al., 2010). Es sind keine völlig

identischen Isolate gefunden worden, aber es bestehen charakteristische Merkmale sowohl vom Genotyp 2.3 Uelzen als auch vom Genotyp 2.3 Rostock (STAUBACH et al., 2010; LEIFER et al., unveröffentlicht). Weitere phylogenetische Vergleiche zeigen, dass die Genotypen „Hennef“, „Euskirchen“ und „Rösrath“ viele charakteristische Gemeinsamkeiten mit den Genotypen „Rostock“ und „Uelzen“ haben. Dies kann als Hinweis auf einen gemeinsamen Vorfahren der Stämme gewertet werden (LEIFER et al., unveröffentlicht).

Durch die Weiterentwicklung molekularbiologischer Methoden – und Optimierung der Durchführung beispielsweise in Bezug auf die Nukleinsäure-Extraktion - ist das PCR-Testsystem für die KSPV-Diagnostik sehr sensitiv geworden. Einerseits ist dies eine wünschenswerte Entwicklung, andererseits führt dies auch zum Nachweis von Impfvirus in Gebieten mit oraler Immunisierung beim Schwarzwild (STAUBACH et al., 2010). Um diesem Problem zu begegnen, ist am Nationalen Referenzlabor des FLI für KSP eine multiplex real-time RT-PCR entwickelt worden, welche den KSPV-Nachweis und die Unterscheidung zwischen Feldviren und Impfvirus „C-Stamm Riems“ in einem Ansatz zulässt (LEIFER et al., 2009; LEIFER et al., 2010a). So ist eine schnelle Differenzierung von natürlich infizierten und geimpften Tieren gemäß dem genetischen DIVA-Prinzip („differentiating infected from vaccinated animals) möglich (BEER et al., 2007). Von den 19 Impfvirusnachweisen vom C-Stamm Riems können 12 mittels Sequenzierung als Genotyp 1.1 bestätigt werden. Bei den übrigen sieben Proben kann keine Bestimmung des Genotyps erfolgen.

Fazit:

Die Bekämpfung der KSP beim Schwarzwild in Rheinland-Pfalz basiert auf drei Säulen: Jagdliche Maßnahmen, orale Immunisierung sowie serologische und virologische Überwachung. Nach der Auswertung aller Ergebnisse basierend auf den drei Säulen, kann geschlussfolgert werden, dass die offiziellen Kontrollmaßnahmen zwar erfolgsversprechend, aber an einigen Stellen auch noch verbesserungswürdig sind. Eine nicht konsequente Durchführung der Bekämpfungsmaßnahmen und Fehler in der Bejagung können zu Schwierigkeiten bei der Eradikation der KSP in der Schwarzwildpopulation führen (KADEN, 1998a). So müssen z.B. die jagdlichen Maßnahmen von den Jägern in der Praxis strikter umgesetzt werden. Außerdem muss die orale Immunisierung verbessert werden, so dass auch

5. DISKUSSION

die Frischlinge vermehrt Impfköder aufnehmen. Die Einführung einer weiteren Impfung im Winter sollte in Betracht gezogen werden. Für ein optimales Monitoring ist die Entwicklung einer Markervakzine, die eine Differenzierung von Feldvirusantikörpern und Impfvirusantikörper ermöglicht, sinnvoll.

6. ZUSAMMENFASSUNG

In den letzten Jahrzehnten haben sich die Maßnahmen zur Tilgung der Klassischen Schweinepest bei Wildschweinen weiterentwickelt. In der vorliegenden Arbeit wird der aktuelle Status der Bekämpfungsstrategie der Klassischen Schweinepest in Rheinland-Pfalz in dem Zeitraum von 2005 bis 2011 beschrieben und ausgewertet. Die dabei durchgeführten offiziellen Kontrollmaßnahmen basierten auf folgenden drei Schwerpunkten:

Jagdliche Maßnahmen

Das erste Ziel bei der Bekämpfung der Klassischen Schweinepest mittels jagdlicher Maßnahmen ist die ganzjährige, intensive Bejagung zur Bestandsreduktion. Eine geringe Schwarzwilddichte verhindert eine rasche Verbreitung des Virus der Klassischen Schweinepest. Das zweite Ziel der jagdlichen Maßnahmen ist die verstärkte Bejagung von Frischlingen, die für das Virus der Klassischen Schweinepest am empfänglichsten sind. Das dritte Ziel ist die verstärkte Bejagung von weiblichen Tieren, um die Zuwachsträger der Wildschweinpopulation zu reduzieren. Die vorliegenden Ergebnisse zeigen allerdings, dass das angestrebte Ziel nicht erreicht wird. Es wird zwar eine geringe Erhöhung der Jagdstrecke verzeichnet, aber weder ein verstärkter Frischlingsanteil noch ein erhöhter Anteil weiblicher Tiere wird in der Jagdstrecke verzeichnet. Trotz ausgearbeiteter Leitlinien für Jäger werden die jagdlichen Maßnahmen nicht ausreichend praktiziert.

Orale Immunisierung

Ziel der oralen Immunisierung ist die Erhöhung immuner Tiere in der Schwarzwildpopulation, um die Verbreitung des KSPV zu verhindern. Es wird dreimal im Jahr (Frühjahr, Sommer, Herbst) eine Doppelauslage der attenuierten Lebendvakzine vom C-Stamm im Abstand von 14 Tagen vorgenommen. Diese Impfstrategie führt zu einer serologischen Prävalenz von durchschnittlich 57 %. Obwohl dies ein zufriedenstellendes Ergebnis darstellt, gibt es bei der oralen Immunisierung auch eine Schwachstelle. Es werden überwiegend bei Überläufern und bei adulten Wildschweinen Antikörper nachgewiesen. Das bedeutet, dass die Impfstrategie in Bezug auf die Immunisierung von Frischlingen noch verbessert werden muss.

Serologische und virologische Überwachung

Die serologischen und virologischen Untersuchungen ermöglichen eine Überwachung des Impferfolges und bilden die Basis für epidemiologische Untersuchungen. Zur Zeit ist keine Markervakzine für Wildschweine auf dem Markt, die eine Differenzierung von Impfvirusantikörpern und Feldvirusantikörper ermöglicht. Nicht nur in Impfgebieten erwiesen sich die Untersuchungen als nützlich, sondern auch in den Monitoringgebieten. In den Regionen Eifel und Westerwald sind kurz vor den Nachweisen des Virus der Klassischen Schweinepest bereits Antikörper festgestellt worden. Daraus folgt, dass ein Monitoring in „KSPV-freien“ Gebieten wichtig für die Früherkennung eines Ausbruchs ist. Dadurch können schneller Maßnahmen zur KSP-Bekämpfung eingeleitet werden. Auch die Untersuchungen in den Intensivmonitoringgebieten sind sinnvoll. Dadurch kann der Aktionsradius der Wildschweine beobachtet werden und eine Kontrolle für aufgehobene Impfgebiete ist gegeben.

Zusammenfassend kann die aktuelle KSP-Bekämpfungsstrategie in Rheinland-Pfalz basierend auf den drei oben genannten Schwerpunkten als erfolgsversprechend gewertet werden. Dabei sei anzumerken, dass nur eine konsequente Einhaltung aller drei Maßnahmen zum Erfolg führen kann. Verbesserungen in der Durchführung der jagdlichen Maßnahmen, eine Optimierung der Immunisierung der Frischlinge und die Entwicklung einer Markervakzine, die eine Differenzierung von Impfvirusantikörpern und Feldvirusantikörpern ermöglicht, wäre zukünftig noch wünschenswert.

7. SUMMARY

In the past decades the measures to eliminate Classical Swine Fever among wild boars have been further developed. This study describes the control strategy for fighting the Classical Swine Fever Virus in Rhineland-Palatinate in the years 2005-2011 and evaluates their effectiveness. The official control measures were based on the following three main pillars:

Hunting Measures

The main aim in the fight against Classical Swine Fever focused on the reduction of wild boar population through intensive year-round hunting. A low and reduced wild boar population avoids a fast expansion of the Classical Swine Fever Virus. Especially hunting of young boars was recommended as they are very prone to get the Classical Swine Fever Virus. Additionally hunting female wild boars is required because they play an important role in the reproduction. However, the present results demonstrate that the expected aims have not been met. Hunting rates have only increased at a low extent. Neither an increased number of killed young boars nor the preference of female wild boars was implemented. Despite of the regulatory guidelines for hunters the mentioned hunting measures were not sufficiently exercised.

Oral Immunization

A further aim of the control strategies is the oral immunization. The distribution of Classical Swine Fever Virus should be stopped by increasing the number of immune wild boars. Three times a year (spring, summer, autumn) live vaccine (origin C) was placed twice within a fortnight. This has led to a serological prevalence of 57 % on average. Even though this is a satisfactory result, there also exists a weakness regarding the oral immunization. Mainly adult boars and renegades were screened positive for the Classical Swine Fever Virus antibodies. Consequently the immunization strategy still needs to be improved in regard to young boars.

Serological and Virological Monitoring

Serological and virological examinations allow a monitoring of the vaccination success. They create the basis for the epidemiological analysis. Currently there is no marker vaccine commercial available that allows a differentiation between vaccination – and field antibodies.

7. SUMMARY

Not only in the immunization areas but also in the monitoring areas these examinations have been useful. In the region Westerwald antibodies were detected shortly before a positive Classical Swine Fever Virus test result. Hence it follows that monitoring in Classical Swine Fever Virus-free areas is important as an early warning system for Classical Swine Fever Virus outbreaks. Measures to fight the Classical Swine Fever Virus can be faster initiated. Also monitoring in the intensive monitoring areas seems reasonable in order to observe the movements of the wild boars and to keep control in previous vaccination areas.

Summarized it is demonstrated that the current CSF control strategy in Rhineland-Palatinate based on the three mentioned pillars is promising. The consequent adherence and execution of all three measures is crucial for the overall success. Further improvements in the execution of the hunting measures, an improvement of the immunization of young boars as well as the development of a marker vaccine could even enhance the success in the future.

10. LITERATURVERZEICHNIS

Anczikowski I. (2010)

Zur Bekämpfung der Klassischen Schweinepest (KSP) bei Schwarzwild in Nordrhein-Westfalen: Analyse des Seuchengeschehens 2002-2007 unter besonderer Berücksichtigung der oralen Immunisierung
Dissertation, Freie Universität Berlin

Andrew M.E., C.J. Morrissy, C. Lenghaus, P.G. Oke, K.W. Sproat, A.L.M. Hodgson, M.A. Johnson and B.E.H. Coupar (2000)

Protection of pigs against classical swine fever with DNA-delivered gp55
Vaccine 18, 1932-1938

Andrew M., K. Morris, B. Coupar, K. Sproat, P. Oke, M. Bruce, M. Broadway, C. Morrissy and D. Strom (2006)

Porcine interleukin-3 enhances DNA vaccination against classical swine fever
Vaccine 24, 3241-3247

Anonym (1995)

Gebrauchsanweisung CHECKIT*SERO, Zulassungsnummer: BFAB/ESP/D6/95
IDEXX® Switzerland AG, Liebfeld-Bern, Switzerland

Anonym (1996)

Gebrauchsinformation CHECKIT-CSF-VIRUS-III, Zulassungsnummer:
BFAB/ESP/D7III/96
IDEXX® Switzerland AG, Liebfeld-Bern, Switzerland

Anonym (2001)

Richtlinie 2001/89/EG des Rates vom 23. Oktober 2001 über Maßnahmen der Gemeinschaft zur Bekämpfung der klassischen Schweinepest
Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaft Nr. L 316, 5-35

Anonym (2002)

Entscheidung der Kommission 2002/106/EG vom 01. Februar 2002 zur Genehmigung eines Diagnosehandbuchs mit Diagnosemethoden, Probenahmeverfahren und Kriterien für die Auswertung von Laboruntersuchungen zur Bestätigung der Klassischen Schweinepest
Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaft Nr. L 039, 71-88

Anonym (2003)

Entscheidung der Kommission 2003/135/EG vom 27. Februar 2003 zur Genehmigung der Pläne zur Tilgung der klassischen Schweinepest und Notimpfung gegen die klassische Schweinepest in der Schwarzwildpopulation in den deutschen Bundesländern Niedersachsen, Nordrhein-Westfalen, Rheinland-Pfalz und Saarland
Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaft Nr. L 053, 47-51

Anonym (2004)

Tierseuchengesetz (TierSG) in der Fassung der Bekanntmachung vom 22. Juni 2004
BGBl. I, 3044

Anonym (2005a)

Amtliche Methodensammlung
Kapitel 23. Klassische Schweinepest
Friedrich-Loeffler-Institut, Greifswald, Insel Riems, 176-186

Anonym (2005b)

Tierseuchenrechtliche Anordnung des Landesuntersuchungsamtes zum Schutz gegen die Schweinepest
Landesuntersuchungsamt, Koblenz

Anonym (2005c)

Gebrauchsanweisung RIEMSER® Schweinepestvakzine
Riemser Arzneimittel AG, Greifswald, Insel Riems

Anonym (2006)

Impferlass – Frühlingsimpfung 2006
Bekämpfung der Klassischen Schweinepest bei Wildschweinen
Ministerium für Umwelt, Forsten und Verbraucherschutz, Mainz

Anonym (2011a)

Verordnung über anzeigepflichtige Tierseuchen in der Fassung der Bekanntmachung vom 19. Juli 2011
BGBI. I, 1404

Anonym (2011b)

Verordnung zum Schutz gegen die Schweinepest und die Afrikanische Schweinepest in der Fassung der Bekanntmachung vom 29. September 2011
BGBI. I, 1959

Anonym (2012)

Manual of Diagnostics Test and Vaccine for Terrestrial Animals:
Classical Swine Fever (Hog cholera)
Office International des Epizooties (OIE), Paris, 7. Edition

Aoki H., K. Ishikawa, Y. Sakoda, H. Sekiguchi, M. Kodama, S. Suzuki and A. Fukusho (2001)

Charakterization of Classical Swine Fever Virus Associated with Defective Interfering Particles Containing a Cytopathogenic Subgenomic RNA Isolated from Wild Boar
J. Vet. Med. Scie. 63 (7), 751-758

Arnal M.C., D. Fernández-de-Luco, L. Riba, M. Maley, J. Gilray, K. Willhoughby, S. Vilcel and P.F. Nettleton (2004)

A novel pestivirus associated with deaths in Pyrenean chamois (*Rupicapra pyrenaica pyrenaica*)

J. Gen. Virol. 85, 3653-3657

Arnold W. (2005)

Schwarzwild: Hintergründe einer Massenvermehrung

Deutsche Jagdzeitung 10, 20-26

Artois M., K.R. Depner, V. Guberti, J. Hars, S. Rossi and D. Rutili (2002)

Classical swine fever (hog cholera) in wild boar in Europe

Rev. sci. tech. Off. Int. Epi. 21 (2), 287-303

Avalos-Ramirez R., M. Orlich, H.-J. Thiel and P. Becher (2001)

Evidence for the Presence of Two Novel Pestivirus Species

Virology 286, 456-465

Bauhofer O., A. Summerfield, Y. Sakoda, J.-D. Tratschin, M.A. Hofman and N. Ruggli (2007)

Classical Swine Fever Virus N^{pro} Interacts with Interferon Regulatory Factor 3 and Induces Its Proteosomal Degradation

J. Virol. Vol. 81 No. 7, 3087-3096

Bazan J.F. and Fletterick R. (1989)

Detection of a Trypsin-like Serine Protease Domain in Flaviviruses and Pestiviruses

Virology 171, 637-639

Becher P., M. Orlich, A. Kosmidou, M. König, M. Baroth and H.-J. Thiel (1999)

Genetic Diversity of Pestivirus: Identification of Novel Groups and Implication for Classification

Virology 262, 64-71

Becher P., R. Avalos-Ramirez, M. Orlich, S. Cedillo Rosales, M. König, M. Schweizer, H.P. Stalder, H. Schirrmeyer and H.-J. Thiel (2003)

Genetic and antigenetic characterisation of novel pestivirus genotypes: implication for classification

Virology 311, 96-104

Beer M., I. Reimann, B. Hoffmann and K. Depner (2007)

Novel marker vaccines against classical swine fever

Vaccine 25, 5665-5670

Behrens S.-E., C.W. Grassmann, H.-J. Thiel, G. Meyers and N. Tautz (1998)

Characterization of an Autonomous Subgenomic Pestivirus RNA Replicon

J. Virol. Vol. 72 No. 3, 2361-2372

Björklund H., P. Lowings, T. Stadejek, S. Vilcek, I. Greiser-Wilke, D. Paton and S. Belák (1999)

Phylogenetic Comparison and Molecular Epidemiology of Classical Swine Fever Virus

Virus Genes 19 (3), 189-195

Blome K. und Hopp P.J. (1987)

Saujagd im Zeichen der Schweinepest

Wild u. Hund 90 (8), 26-30

Blome S., G. Strebelow, C. Staubach, I. Leifer, I. Greiser-Wilke and M. Beer (2009)

Molecular epidemiology of German CSFV isolates from 2009

ESF Workshop, Madrid, 16.-18. Juni 2009

Blome S., C. Gabriel, C. Staubach, I. Leifer, G. Strebelow and M. Beer (2011)

Genetic differentiation of infected from vaccinated animals after implementation of an emergency vaccination strategy against classical swine fever in wild boar

Vet. Microbiol. 153, 373-376

Bouma A., A.J. De Smit, E.P. De Kluijver, C. Terpstra and R.J.M. Moormann (1999)

Efficacy and stability of a subunit vaccine based on glycoprotein E2 of classical swine fever virus

Vet. Microbiol. 66 (2), 101-114

Bouma A., A.J. De Smit, M.C.M. De Jong, E.P. De Kluijver and R.J.M. Moormann (2000)

Determination of the onset of the herd-immunity induced by the E2 sub-unit vaccine against classical swine fever virus

Vaccine 18, 1374-1381

Braunschweig A. (1996)

Wildkrankheiten

Verlag Landbuch, Hannover, 5. Auflage

Briedermann L. (1971)

Zur Reproduktion des Schwarzwildes in der Deutschen Republik

Tag. Ber. dt. Akad. Landwirtsch.-Wiss., Berlin Nr. 113, 169-186

Briedermann L. (1990)

Schwarzwild

VEB Deutscher Landwirtschaftsverlag, 2. bearbeitete Auflage

Büttner M. und Ahl R. (1998)

Klassische Schweinepest

Tierärztl. Prax. 26, 278-285

Chenut G., A.-F. Saintilan, C. Burger, F. Rosenthal, C. Crucière, M. Picard, V. Bruyère and E. Albina (1999)

Oral immunisation of swine with a classical swine fever vaccine (Chinese strain) and transmission studies in rabbits and sheep

Vet. Microbiol. 64, 265-276

Collett M.S., R. Larson, S.K. Belzer and E. Retzel (1988)

Proteins Encoded by Bovine Viral Diarrhea Virus: The Genomic Organisation of a Pestivirus

Virology 165, 200-208

Dahle J., B. Liess und H.-R. Frey (1987)

Übertragung von Pestiviren zwischen Tierarten: Experimentelle Infektion von Schweinen mit dem Virus der Bovinen Virusdiarrhoe (BVD) und von Rindern mit dem Virus der Europäischen Schweinepest (ESP)

Dtsch. Tierärztl. Wschr. 94, 541-612

Dahle J., B. Liess, V. Moennig und C.O.Z. Coulibaly (1991)

Anwendung monoklonaler Antikörper zur Differentialdiagnose von Pestivirusinfektionen beim Schwein

Tierärztl. Prax. 19, 151-155

Dahle J. and Liess B. (1992)

Review on Classical Swine Fever Infections in Pigs: Epizootiology, Clinical Disease and Pathology

Comp. Immun. Microbiol. Infec. Dis. Vol. 15, No. 3, 203-211

Dahle J. and Liess B. (1995)

Assessment of safety and protective value of a cell culture modified strain „C“ vaccine of hog cholera/classical swine fever virus

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 108, 20-25

De Castro M.P. (1973)

An infectious agent causing “spontaneous” degeneration of swine cells in vitro

In Vitro. 9 (1), 8-16

Depner K.R., A. Müller, A. Gruber, A. Rodriguez, K. Bickhardt and B. Liess (1995)

Classical swine fever in wild boar (*Sus scrofa*) – experimental infections and viral persistence

Dtsch. Tierärztl. Wschr. 102, 381-384

Depner K.R., V. Moennig und B. Liess (1996)

Epidemiologische Betrachtung zur „typischen“ und „atypischen“ Schweinepest

Amtstierärztl. Dienst Lebensmittelkontr. 3 (IV), 335-342

Depner K.R., V. Moennig und B. Liess (1997)

Aktuelle Fragen zur klassischen Schweinepest beim Wildschwein

Amtstierärztl. Dienst Lebensmittelkontr. 4 (I), 44-47

Depner K.R., B. Kern und B. Liess (1998a)

Epidemiologische Relevanz der Persistenz von KSP-Virus beim Schwarzwild (*Sus scrofa* sp.)

Amtstierärztl. Dienst Lebensmittelkontr. 5 (III), 244-248

Depner K.R., H. Granzow, B. Kern, B. Liess und P. Müller (1998b)

Schweinepest – Uneingeschränkte Jagd ist kontraproduktiv

Wild und Hund 15, 34-39

Depner K.R., T. Müller, E. Lange, C. Staubach and J. Teuffert (2000)

Transient classical swine fever virus infection in wild boar piglets partially protected by maternal antibodies

Dtsch. Tierärztl. Wschr. 107, 66-68

De Schweinitz E.A. and Dorset F.M. (1904)

New Facts concerning the Ethiology of Hog Cholera

Rept. for the Bur. Animal Industry, 235-268

De Smit A.J., A. Bouma, E.P. De Kluijver, C. Terpstra and R.J.M. Moormann (2000)

Prevention of transplacental transmission of moderate- virulent classical swine fever virus after single or double vaccination with an E2 subunit vaccine

Vet. Q. 22 (3), 150-153

De Smit A.J., A. Bouma, E.P. De Kluijver, C. Terpstra and R.J.M. Moormann (2001)

Duration of the protection of an E2 subunit marker vaccine against classical swine fever after a single vaccination

Vet. Microbiol. 78, 307-317

Dewulf J., H. Laevens, F. Koenen, K. Mintiens and A. De Kruif (2001)

An Experimental Infection With Classical Swine Fever Virus in Pregnant Sows:
Transmission of the Virus, Course of the Disease, Antibody Response and Effect on
Gestation

J. Vet. Med. B 48, 583-591

Dewulf J., H. Laevens, F. Koenen, K. Mintiens and A. De Kruif (2002)

An Experimental Infection to Investigate the Indirect Transmission of Classical Swine
Fever Virus by Excretions of Infected Pigs

J. Vet. Med. B 49, 452-456

Dewulf J., F. Koenen, K. Mintiens, P. Denis, S. Ribbens and A. De Kruif (2004)

Analytical performance of several classical swine fever laboratory diagnostic
techniques on live animals for detection of infection

J. Viro. Met. 119, 137-143

Dong X.-N., K. Wei, Z.-Q. Liu and Y.-H. Chen (2002)

Candidate peptide vaccine induced protection against classical swine fever virus

Vaccine 21, 167-173

Dong X.-N., Y. Chen, Y. Wu and Y.-H. Chen (2005)

Candidate multiple-peptide-vaccine against classical swine fever virus induced potent
immunity with serological marker

Vaccine 23, 3630-3633

Dong X.-N., Y.Q. Ying, X. Chen and Y.-H. Chen (2006)

Candidate peptide-vaccine induced potent protection against CSFV and identified a
principal sequential neutralizing determinant on E2

Vaccine 24, 426-434

Dong X.-N. and Y.-H. Chen (2006)

Spying the neutralizing epitopes on E2 N-terminal by candidate epitope-vaccines against classical swine fever virus
Vaccine 24, 4029-4034

Donis R.O. and Dubovi E.J. (1987)

Differences in Virus-Induced Polypeptides in Cells Infected by Cytopathogenic and Noncytopathogenic Biotypes of Bovine Virus Diarrhea-Mucosal Disease Virus
Virology 158, 168-173

Dubois E., P. Russo, M. Prigent and R. Thiéry (2008)

Genetic characterization of ovine pestivirus isolates in France between 1985 and 2006
Vet. Microbiol. 130, 69-79

Dunne H.W., J.F. Hokanson and A.J. Luedke (1957)

The pathogenesis of hog cholera: I. Route of entrance of the virus into the animal body
Am. J. Vet. Res. 20, 615-618

Dunne H.W. (1970)

Chapter 7: Hog Cholera

In: Diseases of Swine, von H.W. Dunne (Hrsg.)

Ames, Iowa, U.S.A: Iowa State University Press, 3. Ed., 177-239

Edwards S. (2000)

Survival and inactivation of classical swine fever virus
Vet. Microbiol. 73, 175-181

Edwards S., A. Fukusho, P.-C. Lefèvre, A. Lipowski, Z. Pejsak, P. Roehle and J. Westergaard (2000)

Classical swine fever: the global situation
Vet. Microbiol. 73, 103-119

Elbers K., N. Tautz, P. Becher, D. Stoll, T. Rümmele and H.-J. Thiel (1996)

Processing in the Pestivirus E2-NS2 Region: Identification of Proteins p7 and E2p7
J. Virol. Vol. 70 No. 6, 4131-4135

Fiebich A.R., L. Guzyrak-Piriou, S. Python, A. Summerfield and N. Ruggli (2011)

Classical Swine Fever Virus N^{pro} Limits Typ I Interferon in Plasmacytoid Dendritic Cells by Interacting with Interferon Regulatory Factor 7
J. Virol. Vol. 85 No. 16, 8002-8011

Floegel G., A. Wehrend, K.R. Depner, J. Fritzsche, D. Waberski and V. Moennig (2000)

Detection of Classical Swine Fever virus in semen of infected boars
Vet. Microbiol. 77, 109-116

Frey C.F., O. Bauhofer, N. Ruggli, A. Summerfield, M.A. Hofmann and J.-D. Tratschin (2006)

Classical swine fever virus replicon particles lacking the E^{ms} gene: a potential marker vaccine for intradermal application
Vet. Res. 37, 655-670

Fritzsche J., J. Teuffert, I. Greiser-Wilke, C. Staubach, H. Schlüter and V. Moennig (2000)

Epidemiology of classical swine fever in Germany in the 1990s
Vet. Microbiol. 77, 29-41

Gaede W., R. Reiting, H. Schirrmeier, K.R. Depner und M. Beer (2005)

Nachweis und Spezies-spezifische Differenzierung von Pestiviren mit der real-time RT-PCR

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 118, 113-120

Gallei A., M. Orlich, H.-J. Thiel and P. Becher (2005)

Noncytopathogenic Pestivirus Strains Generated by Nonhomologous RNA

Recombination: Alterations in the NS4A/NS5B Coding Region

J. Virol. Vol. 79 No. 22, 14261-14270

Ganges L., M. Barrera, J.I. Nufiez, I. Blanco, M.T. Frias, F. Rodriguez and F. Sobrino (2005)

A DNA vaccine expressing the E2 protein of classical swine fever virus elicits T cell responses that can prime for rapid antibody production and confer total protection upon viral challenge

Vaccine 23, 3741-3752

Genov P. (1981)

Die Verbreitung des Schwarzwildes (*Sus scrofa* L.) in Eurasien und seine Anpassung an die Nahrungsverhältnisse

Z. Jagdwiss. 27, 221-231

Gethöfer F. (2005)

Reproduktionsparameter und Saisonalität der Fortpflanzung des Wildschweins (*Sus scrofa*) in drei Untersuchungsgebieten Deutschlands

Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover

Gillespie J.H., J.A. Baker and K. McEntee (1960)

A cytopathogenic strain of virus diarrhea virus

Cornell. Vet. 50, 73-79

Gladue D.P., L.G. Holinka, I.J. Fernandez-Sainz, M.V. Prarat, V. O'Donell, N.G.

Vepkhvadze, Z. Lu, K. Rogers, G.R. Risatti and M.V. Borca (2010)

Effects of the interactions of classical swine fever virus Core protein with proteins of the SUMOylation pathway on virulence in swine

Virology 407, 129-136

Gladue D.P., L.G. Holinka, I.J. Fernandez-Sainz, M.V. Prarat, V. O'Donell, N.G.

Vepkhvadze, Z. Lu, G.R. Risatti and M.V. Borca (2011)

Interactions between Core protein of classical swine fever virus with cellular IQGAP1 protein appears essential for virulence in swine

Virology 412, 68-74

Golze M. (2007)

Landwirtschaftliche Wildhaltung: Damwild, Rotwild, Muffelwild, Schwarzwild und andere Wildarten

Ulmer Verlag, 1. Auflage

Grassmann C.W., O. Isken and S.-E. Behrens (1999)

Assignment of the Multifunctional NS3 Protein of Bovine Viral Diarrhea Virus during RNA Replication: an In Vivo and In Vitro Study

J. Virol. Vol. 73 No. 11, 9196-9205

Greiser-Wilke I., K. Depner, J. Fritzscheier, L. Haas and V. Moennig (1998)

Application of a computer program for genetic typing of classical swine fever virus isolates from Germany

J. Virol. Met. 75, 141-150

Greiser-Wilke I., B. Zimmermann, J. Fritzscheier, G. Floegel and V. Moennig (2000)

Structure and presentation of a World Wide Web database of CSF virus isolates held at the EU Reference Laboratory

Vet. Microbiol. 73, 131-136

Greiser-Wilke I., S. Dreier, L. Haas and B. Zimmermann (2006)

Genetische Typisierung von Klassische Schweinepest-Viren – ein Überblick
Dtsch. Tierärztl. Wschr. 113, 133-138

Greiser-Wilke I., S. Blome and V. Moennig (2007)

Diagnostic methods for detection of Classical swine fever virus - Status quo and new developments
Vaccine 25, 5524-5530

Grummer B., S. Fischer, K. Depner, R. Riebe, S. Blome and I. Greiser-Wilke (2006)

Replication of classical swine fever virus strains and isolates in different porcine cell lines
Dtsch. Tierärztl. Wschr. 113, 121-168

Hall T.A. (1999)

BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT
Nucleic Acids Symp. Ser. 41, 95-98

Hammond J.M., E.S. Jansen, C.J. Mirrissy, M.M. Williamsou, A.L.M. Hodgson and M.A. Johnson (2001)

Oral and sub-cutaneous vaccination of commercial pigs with a recombinant porcine adenovirus expressing the classical swine fever virus gp55 gene
Arch. Virol. 346, 1787-1793

Hanson R.P. (1957)

Origin of hog cholera
J. Am. Vet. Med. Assoc., 131-211

Happ N. (2007)

Hege und Bejagung des Schwarzwildes

Kosmos Verlag, 2. Auflage, nach neuesten Erkenntnissen vollständig aktualisiert

Harada T., N. Tautz and H.-J. Thiel (2000)

E2-p7 Region of the Bovine Viral Diarrhea Virus Polyprotein: Processing and Functional Studies

J. Virol. Vol. 74 No. 20, 9498-9506

Harpin S., B. Talbot, M. Mbikay and Y. Elazhary (1997)

Immune response to vaccination with DNA encoding the bovine viral diarrhea virus major glycoprotein gp53 (E2)

FEMS Microbiology Letters 146, 229-234

Hausmann Y., G. Roman-Sosa, H.-J. Thiel and T. Rümenapf (2004)

Classical Swine Fever Virus Glykoprotein E^{ms} Is an Endoribonuclease with an Unusual Base Specificity

J. Virol. Vol. 78 No. 10, 5507-5512

Heimann M., G. Roman-Sosa, B. Martoglio, H.-J. Thiel and T. Rümenapf (2006)

Core Protein of Pestivirus Is Processed at the C Terminus by Signal Peptide Peptidase

J. Virol. Vol. 80 No. 4, 1915-1921

Hennig R. (2000)

Schwarzwild konkret: Beschreibung und Anleitung für Jäger

Landbuch Verlag, Hannover, 5.Auflage

Henry G.V. (1968)

Length of Oestrus cycle and Gestation in European Wild Hogs.

J. Wildl. Manage. 32 (2), 406-408

Hergarten G., K.P. Hürter und R.G. Hess (2001)

Nachweis der Infektion mit dem Virus der Klassischen Schweinepest bei
Schwarzwild: ein Vergleich verschiedener labordiagnostischer Methoden
Dtsch. Tierärztl. Wschr. 108, 51-54

Hoffmann B., M. Beer, C. Schelp, H. Schirrmeier and K. Depner (2005)

Validation of a real-time RT-PCR assay for sensitive and specific detection of
classical swine fever
J. Viro. Meth. 130, 36-44

Hoffmann B., K. Depner, H. Schirrmeier and M. Beer (2006)

A universal heterologous internal control system for duplex real-time RT-PCR assays
used in a detection system for pestivirus
J. Viro. Meth. 136, 200-209

Hoffmann B. (2011)

Situation der Klassischen Schweinepest in Frankreich; Zeitplan für Ausstiegsszenario
in Deutschland
Sitzung der Schweinepest-Sachverständigengruppe, Mainz, 14. November 2011

Hulst M.M. and Moormann R.J.M. (1997)

Inhibition of pestivirus infection in cell culture by envelope proteins E^{ms} and E2 of
classical swine fever virus: E^{ms} and E2 interact with different receptors
J. Gen. Virol. 78, 2779-2787

Hutter K. (1953)

Erfahrung über die Übertragung der Schweinepest von Wildschweinen auf
Hausschweine
Monatsh. Veterinärmed. 8 (6), 109-112

Kaden V. (1998a)

Situation der Klassischen Schweinepest beim Schwarzwild in der Europäischen Gemeinschaft und zu einigen Aspekten der Seuchenverbreitung
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 111, 201-207

Kaden V. (1998b)

Klassische Schweinepest bei Wildschweinen
Amtstierärztl. Dienst Lebensmittelkontr. 5 (I), 62-67

Kaden V. (1999)

Bekämpfung der klassischen Schweinepest beim Schwarzwild
Z. Jagdwiss. 45, 45-59

Kaden V., E. Lange und H. Steyer (1999a)

Orale Immunisierung gegen Klassische Schweinepest beim Schwarzwild: Bewertung maternalen Antikörper
Amtstierärztl. Dienst Lebensmittelkontr. 6 (IV), 302-305

Kaden V., P. Hübert, G. Strebelow, E. Lange, H. Steyer und P. Steinhagen (1999b)

Vergleich labordiagnostischer Methoden zum Nachweis einer Infektion mit dem Virus der Klassischen Schweinepest (KSPV) in der frühen Infektionsphase: Experimentelle Studie
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 112, 52-57

Kaden V., U. Ziegler, E. Lange and J. Dedek (2000a)

Classical swine fever virus: clinical, virological, serological and haematological findings after infection of domestic pigs and wild boars with field isolate „Spante“ originating from wild boar
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 113, 412-416

Kaden V., E. Lange, U. Fischer and G. Strebelow (2000b)

Oral immunisation of wild boar against classical swine fever: evaluation of the first field study in Germany

Vet. Microbiol. 73, 239-252

Kaden V., H. Heyne, H. Kiupel, W. Letz, B. Kern, U. Lemmer, K. Gossger, A. Rothe, H. Böhme and P. Tyrpe (2002)

Oral immunisation of wild boar against classical swine fever: concluding analysis of the recent field trials in Germany

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 115, 179-185

Kaden V., C. Renner, A. Rothe, E. Lange, A. Hänel and K. Gossger (2003)

Evaluation of the oral immunisation of wild boar against classical swine fever in Baden-Württemberg

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 116, 362-367

Kaden V., E. Lange and H. Steyer (2004a)

Does multiple oral vaccination of wild boar against classical swine fever (CSF) have a positiv influence of immunity?

Dtsch. Tierärztl. Wschr. 111, 63-67

Kaden V., E. Lange, R. Riebe and B. Lange (2004b)

Classical Swine Fever Virus Strain "C". How Long is it Detectable After Oral Vaccination?

J. Vet. Med. B 51, 260-262

Kaden V., H. Steyer, J. Schnabel and W. Bruer (2005)

Classical Swine Fever (CSF) in Wild Boar: the Role of the Transplacental Infection in the Perpetuation of CSF

J. Vet. Med. B 52, 161-164

Kaden V., E. Lange, T. Müller, J. Teuffert, J.P. Teifke and R. Riebe (2006)

Protection of Gruntlings against Classical Swine Fever Virus-Infection after Oral Vaccination of Sows with C-Strain Vaccine
J. Vet. Med. B 53, 455-460

Kaden V., E. Lange, H. Küster, T. Müller and B. Lange (2009)

An update on safety studies on the attenuated “RIEMSER[®] Schweinepestoralvakzine” for vaccination of wild boar against classical swine fever
Vet. Microbiol., 1-6

Kärber G. (1931)

Beitrag zur kollektiven Behandlung pharmakologischer Reihenversuche
Arch. Exp. Path. Pharm. 162, 480-483

Kern B., K.R. Depner, W. Letz, M. Rott, S. Thalheim, B. Nitschke, R. Plagemann and B. Liess (1999)

Incidence of Classical Swine Fever (CSF) in Wild Boar in a Densely Populated Area Indicating CSF Virus Persistence as a Mechanism for Virus Perpetuation
J. Vet. Med. B 46, 63-67

Kern B. und Lahrmann K.-H. (2000)

Orale Immunisierung gegen die klassische Schweinepest (KSP) beim Schwarzwild im Land Brandenburg von 1995 bis 1997
Dtsch. Tierärztl. Wschr. 107, 490-495

Kirkland P.D., M.J. Frost, D.S. Finlaison, K.R. King, J.F. Ridpath and X. Gu (2007)

Identification of a novel virus in pigs – Bungowannah virus: A possible new species of pestivirus
Virus Research 129, 26-34

König M., T. Lengsfeld, T. Pauly, R. Stark and H.-J. Thiel (1995)

Classical swine fever virus: Independent inductions of protective immunity by two structural glycoproteins
Virology, 6479-6486

Koenig, P., E. Lange, I. Reimann and M. Beer (2007)

CP7_E2alf: A safe and efficient marker vaccine strain for oral immunisation of wild boar against Classical swine fever virus (CSFV)
Vaccine 25, 3391-3399

Kosmidou A., M. Büttner and G. Meyers (1998)

Isolation and characterization of cytopathogenic classical swine fever virus (CSFV)
Arch. Virol. 143, 1295-1309

Kubin, G. (1967)

In vitro Merkmale des Schweinepestvirus
Zbl. Vet. Med. B 14, 543-552

Kümmerer B.M., N. Tautz, P. Becher, H.-J. Thiel and G. Meyers (2000)

The genetic basis for cytopathogenicity of pestiviruses
Vet. Microbiol. 77, 117-128

Lackner T., A. Müller, A. Pankraz, P. Becher, H.-J. Thiel, A.E. Gorbalenya and N.

Tautz (2004)

Temporal Modulation of an Autoprotease Is Crucial for Replikation and Pathogenicity of an RNA Virus
J. Virol. Vol. 78 No. 19, 10765-10775

Lackner T., H.-J. Thiel and N. Tautz (2006)

Dissection of a viral autoprotease elucidates a function of a cellular chaperon in proteolysis
PNAS Vol. 103 No. 5, 1510-1515

Laddomada A. (2000)

Incidence and control of CSF in wild boar in Europe
Vet. Microbiol. 73, 121-130

Lamp B. (2011)

Charakterisierung der Nichtstrukturproteine des Virus der Klassischen Schweinepest
Dissertation, Justus-Liebig-Universität Gießen

Lange A., S. Blome, V. Moennig und I. Greiser-Wilke (2011)

Pathogenese der Klassischen Schweinepest – Parallelen zu viralen hämorrhagischen Fiebern: eine Übersicht
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 124, 36-47

Laude H. (1978)

Isolation of a cytolytic strain of hog cholera virus from IB-RS2 cells
Ann. Microbiol. (Paris) 129 (4), 553-561

Leifer I., K. Depner, S. Blome, M.-F. Le Potier, M. Le Dimna, M. Beer and B. Hoffmann (2009)

Differentiation of C-strain „Riems“ or CP7_E2alf vaccinated animals from animals infected by classical swine fever virus field strain using real-time RT-PCR
J. Virol. Meth. 158, 114-122

Leifer I. (2010)

Differenzierung von infizierten und geimpften Tieren bei der Klassischen Schweinepest: Entwicklung und Optimierung von Vakzinen und begleitenden diagnostischen Tests

Dissertation, Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald

Leifer I., H. Everett, B. Hoffmann, O. Sosan, H. Crooke, M. Beer and S. Blome (2010a)

Escape of classical swine fever C-strain vaccine from detection by C-strain specific real-time RT-PCR caused by a point mutation in the primer-binding site

J. Virol. Meth. 166, 98-100

Leifer I., B. Hoffmann, D. Höper, T. Bruun Rasmussen, S. Blome, G. Strebelow, D. Höreth-Böntgen, C. Staubach and M. Beer (2010b)

Molecular epidemiology of current classical swine fever virus isolates of wild boars in Germany

J. Gen. Virol. 91, 2687-2697

Liang R., J. V. Van den Hurk, C. Zheng, H. Yu, R.A. Pontarollo, L.A. Babiuk, A. Van Drunen and L. Van den Hurk (2005)

Immunization with plasmid DNA encoding a truncated, secreted form of the bovine viral diarrhoea virus E2 protein elicits strong humoral and cellular immune response

Vaccine 23, 5252-5262

Liess B. (1987)

Pathogenesis and Epidemiology of Hog Cholera

Ann. Rech. Vét. 18, 139-145

Lin T.T.C. and Lee R.C.T. (1981)

An overall report on the development of a highly safe and potent lapinized hog cholera virus strain for hog cholera control in Taiwan
Nat. Sci. Coun. Sper. Publ. 5, 1-44

Liu S, C. Tu, C. Wang, X. Yu, J. Wu, S. Guo, M. Shao, Q. Gong, Q. Zhu and X. Kong (2006)

The protective immune response induced by B cell epitope of classical swine fever virus glycoprotein E2
J. Virol. Meth. 134, 125-129

Liu L., X. Hongyan, N. Wahlberg, S. Belák and C. Baule (2009)

Phylogeny, classification and evolutionary insights into pestiviruses
Virology 385, 351-357

Loan R.W. and Storm M.M. (1968)

Propagation and transmission of hog cholera in nonporcine hosts
Am. J. Vet. Res., 807-811

Loepelmann H. und Dedeck J. (1991)

Orientierende Untersuchungen freilebenden Schwarzwildes
Tierärztl. Umschau 46, 775-778

Lowings P., G. Ibata, J. Needham and D. Paton (1996)

Classical swine fever virus diversity and evolution
J. Gen. Virol. 77, 1311-1321

Mahnel H. und Mayr A. (1974)

Schweinepest
Enke Ferdinand Verlag, 1. Auflage

Maurer K., T. Krey, V. Moennig, H.-J. Thiel and T. Rümenapf (2004)

CD46 Is a Cellular Receptor for Bovine Viral Diarrhea Virus

J. Virol. Vol. 78 No. 4, 1792-1799

Maurer K., P. Stettler, N. Ruggli, M.A. Hofmann and J.-D. Tratschin (2005)

Oronasal vaccination with classical swine fever virus (CSFV) replicon particles with either partial or complete deletion of the E2 gene induces partial protection against lethal challenge with highly virulent CSFV

Vaccine 23, 3318-3328

Meyers G., N. Tautz, R. Stark, J. Brownlie, E.J. Dubovi, M. Collett and H.-J. Thiel (1992)

Rearrangement of Viral Sequences in Cytopathogenic Pestiviruses

Virology 191, 368-386

Meyers G., T. Rümenapf and H.-J. Thiel (1989)

Molecular Cloning and Nucleotide Sequence of the Genome of Hog Cholera Virus

Virology 171, 555-567

Meyers G. and Thiel H.-J. (1995)

Cytopathogenicity of Classical Swine Fever Virus Caused by Defective Interfering Particles

J. Virol. Vol. 69 No. 6, 3683-3689

Meyers G. and Thiel H.-J. (1996)

Molecular characterization of pestivirus

Advances in Virus Research Vol 47, 53-118

Meynhardt H. (1989)

Schwarzwild-Bibliothek Bd. 1: Biologie und Verhalten

Verlag Neumann-Neudamm, 1. Auflage

Moennig V. (2000)

Introduction to classical swine fever: virus, disease and control policy

Vet. Microbiol. 73, 93-102

Moennig V. and Plagemann P.G.W. (1992)

The pestivirus

Advances in Virus Research Vol. 41, 53-98

Moennig V., G. Floegel-Niesmann and I. Greiser-Wilke (2003)

Clinical signs and epidemiology of classical swine fever: A review of new knowledge

Vet. J. 165, 11-20

Moormann R.J.M., P.A.M. Warmerdam, B. Van der Meer, W.M.M Schaaper, G. Wensvoort and M.M. Hulst (1990)

Molecular cloning and nucleotide sequence of hog cholera virus strain Brescia and mapping of the genomic region encoding envelope protein E1

Virology 177, 184-198

Moormann R.J.M, A. Bouma, J.A. Kramps, C. Terpstra and J. De Smit (2000)

Development of a classical swine fever subunit marker vaccine and companion diagnostic test

Vet. Microbiol. 73, 209-219

Müller E. (1942)

Das Auftreten der Schweinepest beim Schwarzwild in freier Wildbahn

Zeitschr. Jagdk. 4 (2), 86-95

Müller P. (2001)

Zuverlässige Abschuss-Statistik als Voraussetzung für Wildlife-Management,
dargestellt am Beispiel von Schweinepest und der raumzeitlichen Dynamik von
Schwarzwildschäden

Game Conserv. Newsl. 2, 9-19

Müller T. (2005)

Long-Term Studies on Maternal Immunity for Aujeszky's Disease and Classical
Swine Fever in Wild Boar Piglets

J. Vet. Med. B 52, 432-436

Murray C.L., J. Marcotrigiano and C.M. Rice (2008)

Bovine Viral Diarrhea Virus Core Is an Intrinsically Disordered Protein That Binds
RNA

J. Virol. Vol. 82 No. 3, 1294-1304

Neef J. (2009)

Untersuchungen zur Reproduktionsdynamik beim mitteleuropäischen Wildschwein
Dissertation, Justus-Liebig-Universität Gießen

Nobiron I., I. Thompson, J. Brownlie and M.E. Collins (2003)

DNA vaccination against bovine viral diarrhoea virus induces humoral and cellular
responses in cattle with evidence for protection against viral challenge

Vaccine 21 (17-18), 2082-2092

**Oguzoglu T.C., M.T. Tan, N. Toplu, A.B. Demir, S. Bilge-Dagalp, T. Karaoglu, A.
Ozkul, F. Alkan, I. Burgu, L. Haas and I. Greiser-Wilke (2009)**

Border disease virus (BDV) infections of small ruminants in Turkey: A new BDV
subgroup?

Vet. Microbiol. 135, 374-379

Paton D.J., A. McGoldrick, E. Bensaude, S. Belak, C. Mittelholzer, F. Koenen, H. Vanderhallen, I. Greiser-Wilke, H. Scheibner, T. Stadejek, M. Hofmann and B. Thuer (2000a)

Classical swine fever virus: a second ring test to evaluate RT-PCR detection methods
Vet. Microbiol. 77, 71-81

Paton D.J., A. McGoldrick, I. Greiser-Wilke, S. Parchariyanon, J.-Y. Song, P.P. Liou, T. Stadejel, J.P. Lowings, H. Björklund and S. Belák (2000b)

Genetic typing of classical swine fever virus
Vet. Microbiol. 73, 137-157

Petrak M. (1999)

Schwarzwildbejagung als Herausforderung: Biologische Grundlagen, Konsequenzen für die Jagdpraxis auch vor dem Hintergrund der Schweinepest
Z. Jagdwiss. 45 (2), 154-159

Pocock D.H., C.J. Howard, M.C. Clarke and J. Brownlie (1987)

Variation in the intracellular polypeptide profiles from different isolates of bovine virus diarrhoea virus
Arch. Virol. 94 (1-2), 43-53

Reimann I., K. Depner, S. Trapp and M. Beer (2004)

An avirulent chimeric Pestivirus with altered cell tropism protects pigs against lethal infection with classical swine fever virus
Virology 322, 143-157

Reimann I., K. Depner, K. Utke, I. Leifer, E. Lange and M. Beer (2010)

Characterization of a new chimeric marker vaccine candidate with a mutated antigenic E2-epitope
Vet. Microbiol. 142, 45-50

Ressang A.A. (1973a)

Studies on the Pathogenesis of Hog Cholera: I. Demonstration of Hog Cholera Virus
Subsequent to Oral Exposure
Zbl. Vet. Med. B 20, 256-271

Ressang A.A. (1973b)

Studies on the Pathogenesis of Hog Cholera: II. Virus Distribution in Tissue and the
Morphology of the Immune Response
Zbl. Vet. Med. B 20, 272-288

Ribbens S., J. Dewulf, F. Koenen, H. Laevens, K. Mintiens and A. De Kruif (2004)

An Experimental Infection (II) to Investigate the Importance of Indirect Classical
Swine Fever Virus Transmission by Excretions and Secretions of Infected Weaner
Pigs
J. Vet. Med. B 51, 438-442

Riedel C., B. Lamp, M. Heimann and T. Rügenapf (2010)

Characterization of Essential Domains and Plasticity of the Classical Swine Fever
Virus Core Protein
J. Virol. Vol. 84 No. 21, 11523-11531

Riedel C., B. Lamp, M. Heimann, M. König, S. Blome, V. Moennig, C. Schüttler, H.-J.

Thiel and T. Rügenapf (2012)

The Core Protein of Classical Swine Fever Virus Is Dispensable for Virus Propagation
in Vitro
PLOS Pathog. 8 (3) e1002589, 1-14

Rijnbrand R., T. Van der Straaten, P.A. Van Rijn, W.J.M. Spaan and P.J. Bredenbeek (1997)

Internal Entry of Ribosomes Is Directed by the 5' Noncoding Region of Classical Swine Fever and Is Dependent on the Presence of an RNA Pseudoknot Upstream of the Initiation Codon

J. Virol. Vol. 71 No. 1, 451-457

Rolle M. und Mayr A. (2006)

Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre
Enke Verlag, 8. überarbeitete Auflage

M. Roemelt, I. Klingelhofer, A. Koenig, B. Braun, K. Zimmer, G. Reiner (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. Apr. 2012, Bruges, Belgium

Rümenapf T., R. Stark, G. Meyers and H.-J. Thiel (1991)

Structural proteins of hog cholera virus expressed by vaccinia virus: further characterization and induction of protective immunity

Virology Vol. 65 No. 2, 589-597

Rümenapf T., G. Unger, J.H. Strauss and H.-J. Thiel (1993)

Processing of the Envelope Glycoproteins of Pestiviruses

Virology Vol. 65 No. 6, 3288-3294

Ruggli N., J.-D. Tratschin, M. Schweizer, K.C. McCullough, M.A. Hofmann and A. Summerfield (2003)

Classical Swine Fever Virus Interferes with Cellular Antiviral Defense: Evidence for a Novel Function of N^{pro}

J. Virol. Vol. 77 No. 13, 7645-7654

Ruggli N., A. Summerfield, A.R. Fiebach, L. Guzylack-Piriou, O. Bauhofer, C.G. Lamm, S. Waltersperger, K. Matsuno, L. Liu, M. Gerber, K.H. Choi, M.A. Hofmann, Y. Sakoda and J.-D. Tratschin (2009)

Classical Swine Fever Virus Can Remain Virulent after Specific Elimination of the Interferon Regulatory Faktor 3-Degrading Function of N^{pro}

J. Virol. Vol. 83 No. 2, 817-829

Schirrmeier H., G. Strebelow, K. Depner, B. Hoffmann and M. Beer (2004)

Genetic and antigenetic characterization of an atypical pestivirus isolate, a putative member of a novel pestivirus spezie

J. Gen. Virol. 85, 3647-3652

Schmeiser S. (2010)

Morphogenese von Pestiviren

Dissertation, Justus-Liebig-Universität Gießen

Schurig U. (1999)

Orale Immunisierung von Schwarzwild gegen Klassische Schweinepest in Mecklenburg-Vorpommern. Auswertung der ersten vier Immunisierungsperioden in drei Gebieten

Dissertation, Freie Universität Berlin

Sodeikat G. and Pohlmeier K. (2003)

Escape movements of family groups of wild boar *Sus scrofa* influenced by drive hunts in Lower Saxony, Germany

Wildl. Biol. 9, 257-263

Sodeikat G. (2008)

Höher als erwartet

Niedersächsischer Jäger Heft 17, 18-22

Spiecker D. (1969)

Verlauf und Ausbreitung der Schweinepest (Pestis suum) in der Eifel in den Jahren 1963 und 1964

Z. Jagdwiss. Bd. 15 Heft 4, 144-151

Stahl K., J. Kampa, S. Alenius, A. Persson Wadman, C. Baule, S. Aiumlamai and S. Belák (2007)

Natural infection of cattle with an atypical „HoBi“-like pestivirus – Implication for BVD control and for the safety of biological products

Vet. Res. 38, 517-523

Stalder H.P., Ph. Meier, G. Pfaffen, C. Wageck-Canal, J. Rüfenacht, P. Schaller, C. Bachofen, S. Marti, H.R. Vogt and E. Peterhans (2005)

Genetic heterogeneity of pestivirus of ruminants in Switzerland

Prev. Vet. Med. 2005, 37-41

Stark R., G. Meyers, T. Rümenapf and H.-J. Thiel (1993)

Processing of Pestivirus Polyprotein: Cleavage Site between Autoprotease and Nucleocapsid Protein of Classical Swine Fever Virus

J. Virol. Vol. 67 No. 12, 7088-7095

Staubach C., D. Höreth-Böntgen, S. Blome, A. Fröhlich und M. Kramer (2010)

Bericht zur Situation der Schweinepest bei Wildschweinen in Rheinland-Pfalz von Januar 2005 bis Ende Juni 2009

Sitzung der Schweinepest-Sachverständigengruppe, Mainz, 14. November 2011

Steyer H. (2001)

Orale Immunisierung gegen Klassische Schweinepest beim Schwarzwild – Laborexperimentelle und Feldstudien aus der Reihe Forschen und Wissen - Virologie GCA Verlag, 1. Auflage

Stubbe W. und Stubbe M. (1977)

Vergleichende Beiträge zur Reproduktions- und Geburtsbiologie von Wild- und Hausschwein
Beiträge zur Jagd- und Wildforschung Bd. 10, 153-179

Stubbe C., S. Mehlitz, R. Peukert, J. Goretzki, W. Stubbe und H. Meynhardt (1989)

Lebensraumnutzung und Populationsumsatz des Schwarzwildes in der DDR –
Ergebnisse der Wildmarkierung
Beiträge zur Jagd- und Wildforschung Bd. 16, 212-231

Tamura J.K., P. Warrener and M.S. Collett (1993)

RNA-Stimulated NTPase Activity associated with the p80 Protein of the Pestivirus
Bovine Viral Diarrhea Virus
Virology 193, 1-10

Tamura K., J. Dudley, M. Nei, S. Kumar (2007)

MEGA4: molecular evolutionary genetic analysis (MEGA) software version 4.0
Mol. Biol. Evol. 24, 1596-1599

Tautz N., G. Meyers and H.-J. Thiel (1993)

Processing of Poly-ubiquitin in the Polyprotein of an RNA Virus
Virology 198, 74-85

Tautz N., G. Meyers, R. Stark, E. Dubovi and H.-J. Thiel (1996)

Cytopathogenicity of a Pestivirus Correlates with a 27-Nucleotide Insertion
J. Virol. Vol. 70 No. 11, 7851-7858

Tautz N., K. Elbers, D. Stoll, G. Meyers and H.-J. Thiel (1997)

Serine Protease of Pestiviruses: Determination of Cleavage Sites
J. Virol. Vol. 71 No. 7, 5415-5422

- Tautz N., T. Harada, A. Kaiser, G. Rinck, S.-E. Behrens and H.-J. Thiel (1999)**
Establishment and Characterization of Cytopathogenic and Noncytopathogenic Pestivirus Replicons
J. Virol. Vol. 73 No. 11, 9422-9432
- Tautz N., A. Kaiser and H.-J. Thiel (2000)**
NS3 Serine Protease of Bovine Viral Diarrhea Virus: Characterization of Active Site Residues, NS4A Cofactor Domain and Protease-Cofactor Interactions
Virology 273, 351-363
- Tautz N. and Thiel H.-J. (2003)**
Cytopathogenicity of pestivirus: cleavage of bovine viral diarrhoea virus NS2-3 has to occur at a defined position to allow viral replication
Arch. Virol. 148, 1405-1412
- Terpstra C. (1987)**
Epidemiology of hog cholera
In: Classical swine fever and related infections, von B. Liess (Hrsg.)
Springer Verlag, 1. Auflage, 201-216
- Tews B.A., E.-M. Schürmann and G. Meyers (2009)**
Mutation of Cysteine 171 of Pestivirus E^{RNS} RNase Prevents Homodimer Formation and Leads to Attenuation of Classical Swine Fever Virus
J. Virol. Vol. 83 No. 10, 4823-4834
- Thabti F., C. Letellier, S. Hammami, M. Pépin, M. Ribiére, A. Mesplède, P. Kerkhofs and P. Russo (2005)**
Detection of novel border disease virus subgroup in Tunisian sheep
Arch. Virol. 150, 215-229

Thiel H.-J., R. Stark, E. Weiland, T. Rügenapf and G. Meyers (1991)

Hog Cholera Virus: Molecular Composition of Virions from a Pestivirus
J. Virol. Vol. 65 No. 9, 4705-4712

Thiel H.-J., P.G.W. Plagemann and V. Moennig (1996)

Pestiviruses
In: Fields Virology, von B.N. Fields, D.M. Knipe and P.M. Howley (Hrsg.)
Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, New York, 3. Edition Vol. 1, 1059-1073

Toussaint J.F., C. Sailleau, E. Breard, S. Zientara and K. De Clercq (2007)

Bluetongue virus detection by two real-time RT-qPCRs targeting two different
genomic segments
Journal of virological methods 140 (1-2), 115-123

Trautwein G. (1987)

Pathology and pathogenesis of the disease
In: Classical Swine Fever and related viral infections, von B. Liess (Hrsg.)
Springer Verlag, 1. Auflage, 27-54

Ueckermann E. (1978)

Der Schwarzwildabschuss
Paul Parey Verlag, 1. Auflage

Uttenthal U., M.-F. Le Potier, L. Romero, G.M. De Mia and G. Floegel-Niesmann (2001)

Classical Swine Fever (CSF) marker vaccine Trial I. Challenge studies in weaner pigs
Vet. Microbiol. 83, 85-106

Valdazo-González B., M. Alvarez-Martínez and I. Greiser-Wilke (2006)

Genetic typing and prevalence of Border disease virus (BDV) in small ruminant flocks in Spain

Vet. Microbiol. 117, 141-153

Valdazo-González B., M. Alvarez-Martínez and T. Sandvik (2007)

Genetic and antigenetic typing of border disease virus isolates in sheep from the Iberian Peninsula

Vet. J. 174, 316-324

Van Bakkum J.G. and Barteling S.J. (1970)

Plaque Production by Hog Cholera Virus

Arch. Virol. 32, 185-200

Van Gennip H.G., A. Bouma, P.A. Van Rijn, M.N. Widjoatmodjo and R.J.M.

Moormann (2002)

Experimental non-transmissible marker vaccines for classical swine fever (CSF) by trans-complementation of E^{RNS} or E2 of CSFV

Vaccine 20 (11-12), 1544-1556

Van Oirschot J.T. (1992)

Hog Cholera

In: Diseases of swine, von Straw B.E., Mengeling W.L., Dàllaire S. and Taxlor D.J.

Leman A.D. (Hrsg.)

Ames, Iowa: Iowa State University Press, 7. Ed., 274-285

Van Oirschot J.T. (1994)

Vaccination in food animal populations

Vaccine 12, 415-418

Van Oirschot J.T. (1999)

Classical Swine Fever (Hog Cholera)

In: Diseases of swine, von W.L. Mengeling, S. D'Allaire and D.J. Taylor B.E. Straw
(Hrsg.)

Ames, Iowa, U.S.A.: Iowa State University Press, 8. Ed., 159-172

Vilcek S., J.F. Ridpath, H. Van Campen, J.L. Cavender and J. Warg (2005)

Characterisation of a novel pestivirus originating from pronghorn antelope

Virus Research 108, 187-193

Von Rüden S.M. (2006)

Zur Bekämpfung der Klassischen Schweinepest bei Schwarzwild

Retrospektive Analyse eines Seuchengeschehens in Rheinland-Pfalz

Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover

**Wachendörfer G., G.E. Reinhold, W. Dingeldein, J. Berger, J. Lorenz und J.W. Frost
(1978)**

Analyse der Schweinepest-Epizootie in Hessen in den Jahren 1971-1974

Dtsch. Tierärztl. Wschr. 85, 113-120

Warrener P. and Collett M.S. (1995)

Pestivirus NS3 (p80) Protein Possesses RNA Helicase Activity

J. Virol. Vol. 69 No. 3, 1720-1726

**Wehrend A., J. Fritzemeier, G. Floegel-Niesmann, V. Moennig, M. Hollenhorst and B.
Meinecke (2006)**

Einfluss einer experimentellen Infektion mit dem Virus der klassischen Schweinepest
auf Libido und Ejakulatparameter beim Eber

Dtsch. Tierärztl. Wschr. 113, 251-255

Weiland, E., R. Stark, B. Haas, T. Rügenapf, G. Meyers and H.-J. Thiel (1990)

Pestivirus Glycoprotein Which Induces Neutralizing Antibodies Forms Part of a Disulfide-Linked Heterodimer

J. Virol. Vol. 64 No. 8, 3563-3569

Weiland E., R. Ahl, R. Stark, F. Weiland and H.-J. Thiel (1992)

A Second Envelope Glycoprotein Mediates Neutralization of a Pestivirus, Hog Cholera Virus

J. Virol. Vol. 66 No. 6, 3677-3682

Widjoatmodjo M.N., H.G.P. Van Gennip, A. Bouma, P.A. Van Rijn and R.J.M. Moormann (2000)

Classical Swine Fever Virus E^{RNS} Deletion Mutants: trans-Complementation and Potential Use as Nontransmissible, Modified, Live-Attenuated Marker Vaccine

J. Virol. Vol. 74 No. 7, 2973-2980

Wienhold D., E. Armengol, A. Marquardt, C. Marquardt, H. Voigt, M. Büttner, A. Saalmüller and E. Pfaff (2005)

Immunomodulatory effect of plasmids co-expressing cytokines in classical swine fever virus subunit gp55/e2-DNA vaccination

Vet. Res. 36, 571-587

Wittmann W., V. Kaden, H. Küster, S. Tesmer, E. Lange, N. Piontkowski und B. Lange (2010)

Bekämpfung der Klassischen Schweinepest (KSP) – ein Update

Der Praktische Tierarzt 91, Heft 11, 1008-1010

Wonnemann H., G. Floegel-Niesmann, V. Moennig and I. Greiser-Wilke (2001)

Genetische Typisierung von deutschen Isolaten des Virus der Klassischen
Schweinepest
Dtsch. Tierärztl. Wschr. 108, 252-256

Yu X., C. Tu, H. Li, R. Hu, C. Chen, Z. Li, M. Zhang and Z. Yin (2001)

DNA-mediated protection against classical swine fever virus
Vaccine 19 (11-12), 1520-1525

Verwendete Internetadressen:

<http://www.mufv.rlp.de> (MUFV)

<http://www.mulewuf.de> (MULEWUF)

<http://www.wald-rlp.de> (Landesforsten)

<https://csf-wildboar.eu> (CSF-Datenbank)

<https://tsn.fli.bund.de> (Tierseuchennachrichtensystem)

11. ANHANG

Abbildung 1: Genomaufbau und Lokalisation der Pestivirenproteine im Virusmodell.....	7
Abbildung 2: Übersichtskarte RLP	26
Abbildung 3: Übersichtskarte RLP	28
Abbildung 4: Einteilung von RLP in Regionen	29
Abbildung 5: Antigennachweis mittels ELISA/ Genomnachweis mittels PCR	40
Abbildung 6: Antikörperrnachweis mittels ELISA innerhalb eines Impfgebietes.....	40
Abbildung 7: Antikörperrnachweis mittels ELISA außerhalb eines Impfgebietes	41
Abbildung 8: KSP-NPLA-Färbung	48
Abbildung 9: Amplification Plot FAM (530 nm)	57
Abbildung 10: Amplification Plot HEX (560 nm).....	58
Abbildung 11: Restriktionsgebiet 2005 (Frühjahr, Sommer, Herbst)	67
Abbildung 12: Restriktionsgebiete 2005 (Winter)	67
Abbildung 13: Restriktionsgebiete 2006	68
Abbildung 14: Restriktionsgebiete 2007	68
Abbildung 15: Restriktionsgebiete 2008	69
Abbildung 16: Restriktionsgebiete 2009	69
Abbildung 17: Restriktionsgebiete 2010	70
Tabelle 1: Impftermine, Impffläche und Köderanzahl im Impfgebiet Eifel.....	33
Tabelle 2: Impftermine, Impffläche und Köderanzahl im Impfgebiet Westerwald	34
Tabelle 3: Impftermine, Impffläche und Köderanzahl im Impfgebiet Pfalz	35
Tabelle 4: Untersuchungszahlen in den Impfgebieten der Region Eifel	78
Tabelle 5: Untersuchungszahlen in den Impfgebieten der Region Westerwald	86
Tabelle 6: Untersuchungszahlen in den Impfgebieten der Region Pfalz.....	94
Tabelle 7: Feldvirusnachweise.....	101
Tabelle 8: Impfvirusnachweise	102

Diagramm 1: Jagdstrecke RLP.....	71
Diagramm 2: Altersverteilung der untersuchten Wildschweine in den Impf- und Intensivmonitoringgebieten von RLP.....	72
Diagramm 3: Geschlechtsverteilung der untersuchten Wildschweine in den Impf- und Intensivmonitoringgebieten von RLP.....	73
Diagramm 4: Serologische Auswertung der untersuchten Wildschweinproben in RLP	74
Diagramm 5: Serologische Prävalenz in den Impfgebieten von RLP	75
Diagramm 6: Serologische Prävalenz in den Monitoringgebieten von RLP	75
Diagramm 7: Serologische Prävalenz in den Intensivmonitoringgebieten von RLP	76
Diagramm 8: Serologische Ergebnisse in Abhängigkeit von der Altersklasse in den Impfgebieten in RLP	76
Diagramm 9: Anzahl untersuchter Wildschweinproben in den Impf-/Intensivmonitoringgebieten der Region Eifel	78
Diagramm 10: Altersverteilung der beprobten Wildschweine in den Impf-/Intensivmonitoringgebieten der Region Eifel.....	79
Diagramm 11: Gewichtsverteilung der beprobten Wildschweine in den Impf-/Intensivmonitoringgebieten der Region Eifel.....	80
Diagramm 12: Geschlechtsverteilung der beprobten Wildschweine in den Impf-/Intensivmonitoringgebieten der Region Eifel.....	81
Diagramm 13: Auswertung der Angaben zum Erleгеgrund bzw. zur Todesursache der beprobten Wildschweine in den Impf-/Intensivmonitoringgebieten der Region Eifel	81
Diagramm 14: Virologische Prävalenz in der Region Eifel	82
Diagramm 15: Serologische Prävalenz in den Impf-/Intensivmonitoringgebieten der Region Eifel	83
Diagramm 16: Serologische Ergebnisse in Abhängigkeit von der Altersklasse in den Impf-/Intensivmonitoringgebieten der Region Eifel.....	84
Diagramm 17: Anzahl untersuchter Wildschweinproben in der Region Westerwald	86
Diagramm 18: Altersverteilung der beprobten Wildschweine im Monitoringgebiet in der Region Westerwald	87
Diagramm 19: Altersverteilung der beprobten Wildschweine im Impf-/Intensivmonitoringgebiet in der Region Westerwald	87
Diagramm 20: Gewichtsverteilung der beprobten Wildschweine im Monitoringgebiet in der Region Westerwald	88

Diagramm 21: Gewichtsverteilung der beprobten Wildschweine im Impf-/Intensivmonitoringgebiet in der Region Westerwald	89
Diagramm 22: Geschlechtsverteilung der beprobten Wildschweine in der Region Westerwald	89
Diagramm 23: Auswertung der Angaben zum Erlegegrund bzw. zur Todesursache der beprobten Wildschweine in der Region Westerwald	90
Diagramm 24: Virologische Prävalenz in der Region Westerwald	90
Diagramm 25: Serologische Prävalenz in der Region Westerwald	91
Diagramm 26: Serologische Ergebnisse in Abhängigkeit von der Altersklasse in den Impf-/Intensivmonitoringgebieten der Region Westerwald	92
Diagramm 27: Anzahl untersuchter Wildschweinproben in den Impf-/Intensivmonitoringgebieten der Region Pfalz	94
Diagramm 28: Altersverteilung der beprobten Wildschweine in den Impf-/Intensivmonitoringgebieten der Region Pfalz	95
Diagramm 29: Gewichtsverteilung der beprobten Wildschweine in den Impf-/Intensivmonitoringgebieten der Region Pfalz	96
Diagramm 30: Geschlechtsverteilung der beprobten Wildschweine in den Impf-/Intensivmonitoringgebieten der Region Pfalz	96
Diagramm 31: Auswertung der Angaben zum Erlegegrund bzw. zur Todesursache der beprobten Wildschweine in den Impf-/Intensivmonitoringgebieten der Region Pfalz	97
Diagramm 32: Virologische Prävalenz in der Region Pfalz	98
Diagramm 33: Serologische Prävalenz in den Impf-/Intensivmonitoringgebieten der Region Pfalz	99
Diagramm 34: Serologische Ergebnisse in Abhängigkeit von der Altersklasse in den Impfgebieten der Region Pfalz.....	100

12. DANKSAGUNG

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Dr. habil. G. Reiner, Leiter der Klinik für Schweine (Innere Medizin und Chirurgie) der Justus-Liebig-Universität Gießen, für das Überlassen des interessanten Themas und die wissenschaftliche Betreuung.

Frau Dr. Julia Blicke vom Ministerium für Umwelt, Landwirtschaft, Ernährung, Weinbau und Forsten Rheinland-Pfalz danke ich für Einladung zu wichtigen Informationsveranstaltungen und für die Bereitstellung aller Daten, die die orale Immunisierung betreffen.

Besonders bedanken möchte ich mich auch bei Herrn Dr. K. Zimmer, Leiter des Institutes für Tierseuchendiagnostik des Landesuntersuchungsamtes Koblenz, für die Kontaktaufnahme zur Universität Gießen und für die Möglichkeit, alle Daten und Untersuchungsergebnisse des Landesuntersuchungsamtes Koblenz für meine Dissertation nutzen zu dürfen.

Ebenfalls danken möchte ich allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern aus den Arbeitsbereichen Serologie, Virologie und Molekularbiologie des Institutes für Tierseuchendiagnostik im Landesuntersuchungsamtes Koblenz.

Die Kollegen Dr. Uta Paulat und Dr. S. Schwickert aus der Abteilung Fachaufsicht und Risikomanagement des Landesuntersuchungsamtes Koblenz unterstützten mich bei der Verwendung des Kartenexplorers zur gezielten kartographischen Darstellung der Untersuchungsergebnisse.

Meiner Familie danke ich ganz herzlich für ihre Geduld und Unterstützung.