

Ergebnisse

Die Resultate dieser Arbeit umfassen die im Abschnitt Problemstellung aufgeführten drei verschiedenen Themenkomplexe und basieren auf “23” mit römischen Zahlen gekennzeichneten Veröffentlichungen, die thematisch zusammengehören und im Vorspann aufgelistet sind:

- 1. Untersuchungen über wechselseitige Übertragungsmöglichkeiten von Virusinfektionen zwischen (A) Wild- und Haustieren sowie (B) zwischen verschiedenen Wildtierarten (I-XI)**

- 2. Epidemiologische Arbeiten im Rahmen der Rückgangsursachen von Wildtierpopulationen (XII-XX)**

- 3. Identifizierung neuer Erreger sowie regionale und lokale Erstnachweise von Infektionen bei Wildtieren (XXI-XXIII)**

1. (A) Untersuchungen über wechselseitige Übertragungsmöglichkeiten von Virusinfektionen zwischen Wild- und Haustieren (I-IX)

Die Ansteckungswege, auf denen Wildtiere mit verschiedenen Viren in Kontakt kommen, sind zum überwiegenden Teil bisher noch unklar. Die vorliegenden Untersuchungen sollen hinsichtlich verschiedener ausgewählter Virusinfektionen zur Klärung der Frage beitragen, ob Nutztiere ein Gefahrenpotential für Wildtiere, bzw. ob Wildtiere ein für die Nutztiere gefährdendes Virusreservoir darstellen. Ferner sollte aufgezeigt werden, ob bei Wildtieren für einzelne Viruserkrankungen ein Infektionszyklus unabhängig von Nutztieren existiert, oder ob Wildtiere jeweils ihre eigenen spezifischen Virusstämme aufweisen. Da natürlich nur eine begrenzte Anzahl von Krankheiten untersucht werden konnte, wurden bestimmte Virusinfektionen aufgrund ihrer aktuellen Bedeutung für Wildtiere ausgewählt.

Bovine Virusdiarrhoe/ Mucosal Disease (BVD/MD) bei Cerviden und Wildkaninchen (I-V)

BVD/MD ist eine virusbedingte Allgemeininfektion mit breitem Wirtsspektrum, die bei den Cerviden mit den Hauptsymptomen hämorrhagische Entzündung aller Körperschleimhäute und Störungen des Allgemeinzustandes auftritt (Holweg, 1987; Wiesner, 1987, Van Campen, 2001). Das BVD-Virus (BVDV) ist ein RNA-Virus und gehört zum Genus Pestivirus in der Familie der Flaviviridae (Horzinek, 1990).

Seroepidemiologische Untersuchungen bei freilebenden Wildwiederkäuern aus verschiedenen Kontinenten zeigten, daß eine große Anzahl von Arten Antikörper gegen BVDV besitzen. Vereinzelt gelang auch die Virusisolierung (Van Campen et al., 2001). Von besonderem Interesse bei BVD ist, daß es sich einerseits um eine weit verbreitete Krankheit sowohl bei Wild- als auch bei Hauswiederkäuern handelt, und andererseits eine große ökonomische Bedeutung in der Rinderhaltung aufweist. Die finanziellen Verluste allein für Deutschland werden in mehrstelliger Millionenhöhe jährlich veranschlagt. Welche Rolle Wildwiederkäuer im Infektionsgeschehen spielen, ist bisher noch nicht geklärt. Zu Beginn dieses Projekts wurden folgende Fragestellungen bearbeitet:

- Gibt es Unterschiede im Anteil seropositiver Reagenten für BVDV bei Cerviden in Habitaten mit einer hohen, intermediären oder niedrigen Rinderdichte?
- Wie hoch ist der Anteil der Individuen, bei denen der direkte Virusnachweis möglich ist?
- Welche Schlußfolgerungen kann man aus den gewonnenen Ergebnissen ziehen im Hinblick auf die wechselseitigen Übertragungen von BVDV zwischen Rindern und Cerviden?

Ein Hauptuntersuchungsergebnis war, daß kein signifikanter Unterschied in der Seroprävalenz zwischen Gebieten mit einer hohen, intermediären und niedrigen Rinderdichte existiert. Ein Kontakt zu Rindern scheint also vermutlich epidemiologisch nicht erforderlich zu sein, was auf ein eigenes Infektionsgeschehen innerhalb der Cervidenpopulationen hindeutet.

Aus zwei Rehwildproben (SH9, SH11) konnten ferner zytopathogene Pestiviren isoliert werden. Der Pestivirusnachweis erfolgte an Hand von folgenden Kriterien:

- Beide Proben waren positiv mit Hilfe der direkten Immunfluoreszenz.
- Von beiden Isolaten konnten elektronenmikroskopische Aufnahmen angefertigt werden, die Viruspartikel darstellen, welche charakteristisch für Pestiviren sind.
- Ein BVDV-positives Serum vom Rind neutralisierte die Isolate.
- Die Morphologie des pathogenen Effektes der Isolate ist charakteristisch für Pestiviren.
- Beide Isolate konnten mit Hilfe der PCR eindeutig als Pestivirus identifiziert werden.
- Die Isolate sind mit verschiedenen monoklonalen Antikörpern typisiert worden. Dabei unterscheiden sich die Isolate klar von allen bisher getesteten Pestivirusstämmen, d.h. mit BVDV-spezifischen, monoklonalen Antikörpern war keine Reaktion nachweisbar. Allerdings reagieren die Isolate mit einem Pestivirus-spezifischen Antikörper (C16).
- Die Isolate (SH9 und SH11) wurden partiell sequenziert und mit 28 anderen Pestivirusstämmen mit Hilfe eines Stammbaumes verglichen. Sie wiesen im Vergleich zu den anderen Virusstämmen charakteristische Unterschiede in der 5' UT-Region auf. Da sich beide Isolate in der untersuchten Nukleinsäuresequenz gleichen, werden sie im folgenden als das Rehwildisolat (SH9/11) bezeichnet.

Diese Ergebnisse unterstützen die Arbeitshypothese, daß freilebende Rehe ihre eigenen BVDV-Stämme haben können und daß zumindest in bestimmten Habitaten ein vom Rind unabhängiger Infektionszyklus existiert.

Ferner sollte die Frage geklärt werden, ob es Unterschiede im Anteil seropositiver Reagenten bei Cerviden in Gehegehaltung im Vergleich zu den untersuchten Freilandpopulationen gibt.

Dabei konnte festgestellt werden, daß die Seroprävalenz in Freilandpopulationen von Cerviden signifikant höher ist als in Gehegepopulationen, auch wenn man nur die Cervidenarten berücksichtigt, die sowohl im Freiland als auch im Gehege vorkommen. Möglicherweise gibt es bei den Freilandpopulationen einen Naturherd, bei dem sich die Cerviden infizieren können. Rinder spielen hierbei aufgrund der oben dargestellten Untersuchungen wohl eine untergeordnete Rolle; denkbar wäre allerdings eine

Ansteckungsmöglichkeit über Wildschweine oder Wildkaninchen (*Oryctolagus cuniculus*), die ebenfalls potentielle BVDV-Träger sein können, da beide zu den empfänglichen Tierarten gehören (Van Campen et al., 2001). Daher sollte im weiteren geklärt werden, ob Wildkaninchen als potentielles Reservoir in Frage kommen. Es ist ein Untersuchungsgebiet ausgewählt worden, in dem Wildkaninchen und Cerviden, aber keine Wildschweine vorkommen.

Bei 100 erlegten Wildkaninchen wurden Antikörper- und Antigenprävalenzen untersucht. Dabei konnten erstmals bei freilebenden Wildkaninchen Antikörper (40 %) gegen einen oder mehr der drei verwendeten BVDV-Stämme festgestellt werden. Interessanterweise wurden signifikant die meisten positiven Seren sowie die höchsten Titer mit Hilfe des Rehwildisolates (SH9/11) detektiert. Darüber hinaus waren 13 von 35 NT-positiven Seren auch in einem eigens hierfür etablierten ELISA positiv. Die Virusanzucht blieb jedoch erfolglos. Es kann daher angenommen werden, daß die Wildkaninchen entweder nur dem Erreger gegenüber exponiert waren oder eine natürliche Infektion mit BVDV durchlaufen haben. Darüber hinaus konnte mit Hilfe der Immunfluoreszenz nachgewiesen werden, daß sich SH9/11 in Kaninchenzellkulturen vermehren läßt, aber hierbei interessanterweise ohne zytopathogenen Effekt, obwohl es auf Reh- und Rinderzelllinien zytopathogen ist (Frölich, K., unveröffentl.). Klassische BVDV-Stämme vom Rind (NADL, Grub) sind auf Kaninchen- sowie auf Rinderzelllinien zytopathogen. An dieser Stelle wird der Aspekt des Wirtstropismus deutlich.

Die Rolle von BVD wird bei mehreren Krankheitsausbrüchen bei Wildwiederkäuern in Europa diskutiert (Artois et al., 2000), so auch im Rahmen der sog. "wasting disease" bei Elchen ("Älvsborg Disease") und Rehen in Schweden.

"Älvsborg Disease" ist eine 1985 erstmals diagnostizierte Krankheit, die bis jetzt vorwiegend bei schwedischen Elchen aufgetreten ist. Neuerdings sind auch einige Elche in Norwegen befallen. Insgesamt sind bis jetzt mehr als 1000 Tiere tot aufgefunden worden. Darüber hinaus konnte man ähnliche Symptome auch bei Rehen feststellen (T. Mörner et al., unveröffentl.). Erste Ergebnisse deuten darauf hin, daß in diesem Krankheitskomplex vermutlich auch BVDV eine Rolle spielt. Bei einigen Elchen konnten typische bovine BVD-Symptome festgestellt werden: d.h. haemorrhagische Enteritis, erosive, ulzerative und nekrotisierende Läsionen der Schleimhäute. Überlebende Tiere zeigten Anorexie, Abmagerung, Furchtlosigkeit gegenüber dem Menschen und zentralnervöse Störungen. In serologischen Untersuchungen mit verschiedenen BVD-Stämmen wurden signifikant die meisten positiven Seren sowie die höchsten Titer mit Hilfe des Rehwildisolates SH9/11 detektiert. Bis heute

konnte BVDV jedoch nicht aus den tot aufgefundenen Elchen isoliert werden (M. Cedersmyg et al., unveröffentl.).

“Älvsborg Disease” ist ein gutes Beispiel für ein komplexes, multifaktorielles Geschehen, wobei auch BVD vermutlich eine Rolle im Krankheitsgeschehen spielt. Unabhängig davon konnte ein Retrovirus (*Alcine leucotropic oncovirus*) isoliert werden, das jedoch in Übertragungsversuchen nicht die klassischen Krankheitssymptome auslöste. Bei vielen erkrankten Elchen wurden zudem Kupferdefizienzen sowie Mangelernährung festgestellt. Damit wäre also eine multifaktorielle Ätiologie plausibel, in der ein niedriger Kupfer-Spiegel, Mangelernährung, das Retrovirus sowie BVDV ineinandergreifen (M. Cedersmyg et al., unveröffentl.). Prinzipiell wäre auch eine Beteiligung einer Erkrankung aus dem Formenkreis der transmissiblen spongiformen Enzephalopathien (TSE) denkbar. Die entsprechende Krankheit bei Cerviden wird als “Chronic Wasting Disease“ (CWD) bezeichnet und wurde erstmals 1967 bei einem Maultierhirsch beschrieben. Gegenwärtig ist CWD beim Rotwild, Weißwedelhirsch und Maultierhirsch aus den USA bekannt (Williams et al., 2001).

Seroepidemiologische Untersuchungen über Herpesviren bei freilebenden und in Gehege gehaltenen Cerviden in Deutschland (VI)

Analog zu den Untersuchungen über BVD bei Cerviden ist eine Studie über die Exposition bei Cerviden in Deutschland gegenüber verschiedenen α -Herpesvirusstämmen durchgeführt worden. Der Infektionsmodus für Cerviden in Hinblick auf Herpesviren wie auch die Frage, ob Cerviden als Erregerreservoir dienen können, war derzeit völlig unklar.

Von 1990 bis 1992 wurden 344 Blutproben von Rehen (n=116), Rothirschen (n=59), Damhirschen (n=87) und anderen Cervidenarten (n=82) aus drei verschiedenen Habitaten (n=172) und 11 Wildparks oder Zoos (n=172) in Deutschland auf die Präsenz von α -Herpesvirenantikörpern getestet. Die serologische Untersuchung erbrachte den Beweis einer Herpesvirusdurchseuchung bei Cerviden in Teilen Deutschlands. So konnten insgesamt 43 Seren (13.3%) mit Titern von 1:4 bis 1:256 detektiert werden, die neutralisierende Antikörper gegen das cervide Herpesvirus 1 (HVC-1), das bovine Herpesvirus 1 (BHV-1) oder das caprine Herpesvirus 1 (CapHV-1) aufwiesen. Serologisch positive Tiere konnten sowohl bei freilebenden als auch bei in Gehege gehaltenen Cerviden festgestellt werden. Interessanterweise konnten, wie bereits auch bei den Untersuchungen über das BVDV, keine signifikanten Unterschiede in der Häufigkeit serologisch positiver Cerviden zwischen Biotopen mit hoher, intermediärer oder niedriger Rinderdichte festgestellt werden. Ein

Kontakt zu Rindern scheint also vermutlich epidemiologisch nicht erforderlich zu sein, was auch hier auf ein eigenes Infektionsgeschehen innerhalb der Cervidenpopulationen hindeutet. Die Rinderdichte wird hierbei postuliert als Korrelat der Möglichkeit, daß Rinder gemeinsame Weideplätze von Cerviden und Rindern kontaminieren.

Bemerkenswert ist, daß sowohl die Anzahl der seropositiven Reagenten als auch die Höhe der Titer bei Verwendung des caprinen Stammes (CapHV-1) am größten ist. Dies läßt darauf schließen, daß bei diesen untersuchten Wildwiederkäuern ein Infektionsgeschehen mit einem α -Herpesvirus abläuft, welches in der Antigenstruktur CapHV-1 näher steht als dem cerviden (HVC-1) bzw. dem bovinen (BHV-1) Stamm.

Antikörper gegen Bösaartiges Katarrhalfieber (BKF) assoziierte Viren (BKFFV) bei freilebenden und in Gehegen gehaltenen Cerviden in Deutschland (VII)

Erstmals wurden an Hand der vorliegenden Studie in Deutschland Untersuchungen über BKF bei freilebenden Cerviden durchgeführt. Innerhalb Europas existiert nur eine Einzelbeschreibung aus Schweden. Die epidemiologische Situation über BKF bei freilebenden Cerviden in verschiedenen europäischen Ländern ist derzeit völlig unklar, was die Wichtigkeit der vorliegenden Untersuchungen unterstreicht.

Insgesamt 486 Blutproben von verschiedenen, sowohl freilebenden als auch in menschlicher Obhut gehaltenen, verschiedenen Cervidenarten aus Deutschland, wurden auf Antikörper gegen mit Bösaartigem Katarrhalfieber (BKF) assoziierte Viren (BKFFV) mittels eines kompetitiven CI-ELISA untersucht. Elf (2%) der Proben wiesen Antikörper gegen BKFFV auf. Unter 157 Blutproben, die von 16 verschiedenen in menschlicher Obhut gehaltenen Cervidenarten gesammelt wurden, waren vier (7%) von insgesamt 54 Proben vom Damwild (*Cervus dama*) sowie eine (7%) von 14 Proben vom Sikawild (*Cervus nippon*) seropositiv. Von den 329 Proben freilebender Cerviden, darunter 253 vom Rehwild und 54 vom Damwild, konnte nur beim Damwild Antikörper gegen BKFFV festgestellt werden. Von den 25 Damwildproben, die zwischen 1990 und 1993 gesammelt wurden, waren vier (16 %) seropositiv. Unter den 29 Proben, die während der Jagdsaison 1996-1997 gesammelt wurden, wurden bei zwei (7%) Seren Antikörper gegen BKFFV nachgewiesen. All diese Damwildproben stammten aus einem definierten Gebiet in Norddeutschland, in welchem gleichzeitig eine hohe Seroprävalenz (72 %) für BKFFV bei Schafen (n=50) festgestellt wurde. Von 20 Schafproben (buffy coat) und 15 Damwildproben (Milz und Lymphknoten), die auf das ovine Herpesvirus 2 (OvHV-2) mittels PCR untersucht wurden, waren alle 20

Schafproben OvHV-2 positiv, jedoch waren alle Damwildproben, darunter auch die sieben seropositiven Tiere, OvHV-2 negativ.

Erstmals konnten in dieser Studie somit Antikörper gegen BKFV und damit eine natürliche Exposition für BKFV bei freilebendem und in menschlicher Obhut gehaltenem Damwild nachgewiesen werden. Die hohe Seroprävalenz und die positiven PCR-Ergebnisse bei den Schafen deuten darauf hin, daß in diesem Fall möglicherweise Schafe das Erregerreservoir darstellen.

Epidemiologische Untersuchungen über Staupevirusinfektionen bei freilebenden Wildkarnivoren in Deutschland (VIII)

Die Hundestaupe (CD) ist eine virusbedingte zyklische Allgemeininfektion, verursacht durch das Canine Distemper Virus (CDV), ein Morbillivirus aus der Familie der Paramyxoviridae. CDV-Infektionen bei Wildtieren haben weltweit an Bedeutung zugenommen, und sieben der 11 Familien der Karnivoren, insbesondere die Musteliden, Procyoniden und Caniden, sind empfänglich für Infektionen mit CDV. In Deutschland wurde wiederholt ein Zusammenhang zwischen CDV in Haushundpopulationen und Populationen wildlebender Karnivoren vermutet.

Die vorliegende Studie befaßt sich mit dem Durchseuchungsgrad einheimischer Wildkarnivoren (n= 650) mit CDV in Gebieten unterschiedlicher Siedlungsdichte des Menschen (urban/ Berlin und Ruhrgebiet; suburban/ Brandenburg und silvatisch/ Mecklenburg-Vorpommern), wobei davon ausgegangen wird, daß die Siedlungsdichte positiv mit der Hundedichte korreliert. Es sollte die Frage geklärt werden, ob Antikörper-Prävalenzunterschiede bei Wildkarnivoren in dicht von Menschen und Haushunden besiedelten Gebieten im Vergleich zu dünn besiedelten Gebieten vorliegen. Zusätzlich sollte das Artenspektrum mit berücksichtigt werden. Durch Sequenzanalysen der isolierten Virusnukleinsäure und Vergleiche mit bekannten, von Haushunden isolierten CDV-Sequenzen sollte ferner geklärt werden, ob Wildkarnivoren ein eigenes Erreger-Reservoir besitzen oder sich möglicherweise über Haustiere (Hunde) infizieren.

Die Ergebnisse der serologischen Untersuchung bei Rotfüchsen zeigten, daß signifikante Unterschiede im Anteil seropositiver Reagenten zwischen urbanen (10,7%; 22 von 204), suburbanen (3,5%; 8 von 225) und silvatischen Gebieten (0%; 0 von 162) existieren. Staupevirusnukleinsäure konnte mittels PCR bei 15 von 275 untersuchten Tieren amplifiziert werden. Von den 15 PCR-positiven Reagenten entfielen 13 auf Rotfüchse, und je zwei auf

Steinmarder und Dachse. Bei Rotfüchsen und Dachsen konnte erstmals mit Hilfe der PCR CDV nachgewiesen werden. Die Amplifikate wurden sequenziert und in Alignments ihrer Nukleotidsequenz sowie ihrer entsprechenden Aminosäuresequenz nach untereinander, sowie mit bekannten Sequenzen aus der Genbank, verglichen. Dabei wurde festgestellt, daß die ermittelten Sequenzen bis zu über 99% homologe Basen zu bekannten CDV-Haushundesequenzen aufweisen.

Aus den Ergebnissen der molekularbiologischen Untersuchungen sowie der Tatsache, daß in dicht besiedelten Gebieten die Seroprävalenz gegenüber CDV bei Wildkarnivoren signifikant höher ist als in dünn besiedelten Gebieten, kann vermutet werden, daß sich die Wildkarnivoren mit hoher Wahrscheinlichkeit an von Hunden ausgeschiedenen CDV infizieren.

Abwesenheit von Antikörpern gegen CDV bei freilebenden Dachsen in England (IX)

In Europa ist CD bei verschiedenen Fleischfresserarten, einschließlich des Dachses, festgestellt worden. Es sollte untersucht werden, ob Dachse in England gegenüber CDV exponiert sind und ob es eventuell Hinweise auf Übertragungswege zu Haushunden gibt. Die ökologisch intensiv untersuchte Dachspopulation im Süden von England ist besonders interessant, weil der Dachs hier die höchste Abundanz innerhalb Europas hat. Daher sind potentielle Übertragungen von Infektionserregern hier besonders wahrscheinlich. In dieser Studie wurden Blutproben von 468 Dachsen getestet. Interessanterweise waren alle untersuchten Proben negativ für neutralisierende Antikörper gegen CDV. Dieses Resultat deutet darauf hin, daß im Gegensatz zum europäischen Festland Staupe bei britischen Dachsen nur vereinzelt oder überhaupt nicht vorkommt, was vermutlich auf eine intensivere Impfstrategie bei Hunden in England im Vergleich zu Deutschland zurückzuführen ist.

Zusammenfassend ist somit festzustellen, daß bezüglich einer potentiellen Übertragung von BVDV- und α -Herpesvirusinfektionen zwischen Rindern und Cerviden vieles darauf schließen läßt, daß sich Cerviden in verschiedenen Regionen Deutschlands auch ohne Kontakt mit Rindern infizieren können. Dies läßt vermuten, daß ein unabhängiger Infektionszyklus für diese beiden Infektionskrankheiten in den Untersuchungsgebieten bei Cerviden besteht.

Demgegenüber deutet bezüglich BKF bei freilebenden Cerviden in Deutschland vieles darauf hin, daß sich Cerviden über Haustiere (Schafe) infizieren. Auch für Staupe kann vermutet werden, daß sich Füchse in Deutschland mit hoher Wahrscheinlichkeit an von

Hunden ausgeschiedenen CDV infizieren. Dies trifft für Dachse aus Süd-England aus den erwähnten Gründen (intensive Impfstrategie in GB) wohl nicht zu.

Insgesamt verdeutlichen diese Untersuchungen, daß grundsätzlich für jede Infektionskrankheit in einem speziellen Habitat gesondert abzuklären ist, ob wechselseitige Übertragungen zwischen Wild- und Haustieren bestehen oder nicht, und daß somit generelle Aussagen über Übertragungswege von verschiedenen Erregern bei Wildtieren wohl nicht möglich sind.

1. (B) Untersuchungen über die Aufklärung der Übertragungsrisiken von Virusinfektionen zwischen verschiedenen Wildtierarten (X-XI)

Übertragungsmöglichkeiten von Virusinfektionen bestehen natürlich auch potentiell zwischen verschiedenen freilebenden Wildtierspezies. In dieser Arbeit wurde spezielles Augenmerk einerseits auf Untersuchungen über Transmissionsmöglichkeiten unter Zoobedingungen gelegt, andererseits wurde ein Gipfelkarnivor (freilebende Rotfüchse) untersucht und geprüft, ob dieser auch gegenüber viralen Erregern seiner Beutetiere exponiert ist und somit auch als potentieller Zwischenträger von Infektionskrankheiten seiner Beute angesehen werden kann.

Serologische Untersuchungen bei semi-freilebenden und in menschlicher Obhut gehaltenen Ungulaten im Whipsnade Wild Animal Park (X)

Für insgesamt zehn verschiedene Virusstämme sollte unter Zoobedingungen geprüft werden, ob Übertragungsrisiken zwischen semi-freilebenden Chinesischen Wasserrehen (*Hydropotes inermis*) und verschiedenen sympatrischen Ungulatenarten existieren. In die Untersuchungen wurden folgende virale Erreger einbezogen: BVDV- und α -Herpesviren (jeweils 3 Stämme), das Virus der Enzootischen Hämorrhagischen Krankheit der Hirsche (EHDV), das bovine respiratorische Syncytialvirus (BRSV), das bovine Adenovirus-3 (BAV-3) und das enzootische bovine Leukosevirus (EBLV). Die Untersuchungen wurden im Whipsnade Wild Animal Park (England) durchgeführt, wo zwischen 1973 und 1994 Blutproben von drei in Freigehegen gehaltenen Huftierspezies entnommen wurden, darunter von 28 Europäischen Wisenten, von 37 Säbelantilopen (*Oryx dammah*) und von 49 Davidshirschen (*Elaphurus davidianus*). Außerdem wurden Blutproben von 144 Chinesischen

Wasserrehen, die sich frei im Park bewegen, getestet. Die Untersuchungen ergaben, daß 33 Individuen (13%) Antikörper gegenüber einem oder mehreren der drei BVDV-Stämme mit Titern zwischen 1:5 und 1:16 aufwiesen. Die meisten seropositiven Reagenten mit den höchsten Titern richteten sich gegen ein BVDV-Reh-Isolat (SH9/11). Siebzehn Individuen (6,6%) zeigten positive Antikörpertiter zwischen 1:4 und 1:80 gegenüber einem oder mehreren der drei α -Herpesvirusstämme. Es fanden sich keine positiven Reagenten gegen BRSV und EHDV. Nur ein Tier (eine Säbelantilope) reagierte seropositiv gegen BAV-3, und ein weiteres Tier (ein Wisent) war seropositiv für EBLV. Diese Studie zeigt, daß die semi-freilebenden Chinesischen Wasserrehe gegenüber denselben BVDV- und α -Herpesvirusstämmen exponiert waren wie die Huftierarten, die in Gehegen gehalten wurden. Allerdings wiesen die Chinesischen Wasserrehe das niedrigste Verhältnis seropositiver Reagenten für BVDV und das zweitniedrigste für α -Herpesviren auf. Dies Ergebnis spricht dafür, daß die halbfrei im Park lebenden Chinesischen Wasserrehe als bedeutende Reservoirre oder Überträger für die untersuchten Virusinfektionen wohl nicht in Betracht kommen.

Seroepidemiologische Untersuchungen auf Calicivirus-Antikörper beim Rotfuchs (*Vulpes vulpes*) in Mecklenburg-Vorpommern (XI)

Ziel der vorliegenden Untersuchungen war, zu prüfen, ob es serologische Hinweise dafür gibt, daß freilebende Rotfüchse im Rahmen der Epidemiologie der Rabbit Haemorrhagic Disease (RHD) eine Rolle spielen können. Auf Grund seiner Stellung am Ende der Nahrungskette (Gipfelkarnivor) und seines ausgeprägten Biotop- und Nahrungsopportunismus kommt der Rotfuchs wohl mit einer Vielzahl von Infektionserregern in Kontakt. Daher muß der Fuchs auch als potentieller Zwischenträger von Infektionskrankheiten seiner Beute angesehen werden. Da die Kinetik der Antikörperentwicklung gegen RHDV beim Rotfuchs durch experimentelle Versuche bekannt ist, können im Rahmen serologischer Untersuchungen bei freilebenden Rotfüchsen Schlußfolgerungen gezogen werden über die Anzahl der mit RHDV infizierten Individuen in der Beutepopulation.

352 Seren von Rotfüchsen wurden mittels ELISA auf Antikörper gegen RHDV untersucht. 18 Seren (5%) reagierten im Blocking-ELISA positiv, davon nur 8 gleichzeitig im Hämagglutinationshemmtest (HAHT).

5% der Füchse haben somit vermutlich einen Kontakt zu infizierten Wildkaninchen gehabt.

Dabei wären folgende Infektionsmöglichkeiten denkbar:

- Wildkaninchen, die an RHD verendet sind (Fallwild),
- virämische und damit vermutlich auch geschwächte Wildkaninchen,
- Kontakt mit bereits infizierten Füchsen.

Die 18 positiven Seren wurden mittels Blocking-ELISA auch auf Antikörper gegen EBHSV, und darüber hinaus mittels Sandwich-ELISA auf Antikörper gegen RDHV- und EBHSV-Antigen untersucht. Im Blocking-ELISA wurden keine Antikörper gegen EBHSV nachgewiesen. Dagegen reagierten im Sandwich-ELISA sechs Fuchsproben sowohl gegenüber EBHSV als auch RDHV positiv, was auf eine Kreuzreaktivität zwischen Determinanten beider Virusarten hinweist. Jedoch waren in fünf Proben die Antikörpertiter gegen RHDV höher als gegen EBHSV, und nur ein Fuchs hatte gleichhohe Titer gegen beide Virusarten. Zwei der positiv getesteten Fuchsseren reagierten im Westernblot-Immunoassay eindeutig positiv mit den zwei Hauptpeptidbanden von EBHSV und RHDV. Ein Vergleich der Polypeptid-Banden im Immunoblot zeigte jedoch, daß das höhermolekulare Hauptprotein von RHDV deutlich stärker reagierte als das von EBHSV. Die Spezifität der verwendeten RHD-ELISA und vor allen Dingen die Ergebnisse des Westernblot-Immunoassay machen es somit wahrscheinlich, daß es sich bei den beim Rotfuchs nachgewiesenen Calicivirus-Antikörpern um spezifische Antikörper gegen RHDV handelt.

Insgesamt ergeben sich erstmalig Hinweise für Calicivirus-Infektionen bei freilebenden Rotfüchsen. Ferner lassen die Ergebnisse den Schluß zu, daß potentielle Übertragungswege zwischen Füchsen und Wildkaninchen bezüglich RHDV existieren.

Zusammenfassend kann in Hinblick auf das Übertragungsrisiko von ausgewählten Virusinfektionen zwischen verschiedenen Wildtierarten festgestellt werden:

- Halbfrei im Whipsnade Wild Animal Park gehaltene Wasserrehe stellen offensichtlich keine besondere Gefährdung für in Gehegen gehaltene Ungulaten dar, soweit es Infektionen durch BVDV, α -Herpesviren, EHDV, BRSV, BAV-3 und EBLV betrifft.
- Seroepidemiologische Untersuchungen bei freilebenden Rotfüchsen aus Deutschland ergaben erstmalig Hinweise dafür, daß Füchse sich mit Caliciviren (RHDV) infizieren können.

2. Epidemiologische Arbeiten im Rahmen der Rückgangsursachen von Wildtierpopulationen (XII-XX)

Anhand von Einzelbeispielen aus der Literatur wurde bereits in der Einleitung dargelegt, daß Infektionskrankheiten zu einem Rückgang von Wildpopulationen beitragen können (siehe u.a. Rossi et al., 1995; Roelke-Parker et al., 1996; Fenner und Fantini, 1999). Der Einfluß des Ökofaktors Krankheit auf die Populationsdynamik gewinnt immer dann besonders an Bedeutung, wenn es sich um vom Aussterben bedrohte Tierarten bzw. um kleine und isolierte Restbestände bedrohter Tierarten handelt. Umfassende Kenntnisse über Infektionskrankheiten speziell bei diesen Wildtierarten sind daher unerlässlich, um einen wirkungsvollen Schutz zu gewährleisten.

Zu den in Europa am meisten gefährdeten freilebenden Ungulaten gehört zweifellos der Europäische Wisent, der nur durch ein Zuchtprogramm der europäischen Zoos überlebte. Seit 1980 ist im Urwald von Bialowieza (Polen) eine schwerwiegende Erkrankung der Wisentbullen bekannt. Umfassende interdisziplinär angelegte Untersuchungen zur Ätiologie und Pathogenese dieser ulzerativen Balanoposthitis sowie deren möglicher Einfluß auf die Population werden im folgenden dargestellt.

Beim Europäischen Feldhasen ist seit mehreren Jahrzehnten ein stetiger Populationsrückgang zu verzeichnen (Petrov, 1976; Salzmann-Wandeler, 1976; Stubbe et al., 1994; Seck-Lanzendorf, 1997). Diese Tierart ist von besonderem Interesse, weil sie als Bioindikator besonders gut anthropogene Veränderungen in unserer mitteleuropäischen Kulturlandschaft widerspiegelt. Seit mehreren Jahren werden viele mögliche Rückgangsursachen kontrovers diskutiert. Bis heute besteht aber keine Einigkeit darüber, warum der Feldhase europaweit abnimmt. Bei den vorliegenden Untersuchungen stand die Frage im Vordergrund, inwieweit das European Brown Hare Syndrome (EBHS) eine Rolle im Rahmen der Rückgangsursachen spielt.

Unter den afrikanischen Wildtierarten zählen Nashörner zu den vom Aussterben besonders bedrohten Tierarten. Die vorliegende Untersuchung an freilebenden Breit- (*Ceratotherium simum*) und Spitzmaulnashörnern (*Diceros bicornis*) ist die erste Studie weltweit, die umfassende Ergebnisse liefert über die Exposition gegenüber 16 unterschiedlichen Infektionskrankheiten, die in verschiedenen Ländern des südlichen Afrika vorkommen.

Mehrere Greifvogelarten gehören ebenfalls zu den bedrohten Tierarten in Mitteleuropa. Starke Populationsrückgänge vieler Greifvogelarten waren weltweit vor allem

zwischen 1950-1980 zu verzeichnen, die mit dem massiven Einsatz von Pestiziden im Zusammenhang standen. Informationen über Infektionskrankheiten bei freilebenden Greifvögeln in Europa existieren bisher aber nur lückenhaft. Deshalb ist es für diese Gruppe besonders wichtig, einen Überblick über den Durchseuchungsgrad gegenüber verschiedenen Infektionskrankheiten zu gewinnen, um ein mögliches Gefährdungspotential für die Greifvögel einschätzen zu können. Detaillierte Daten über die Expositionslage gegenüber gefährlichen Infektionskrankheiten sind eine unerläßliche Voraussetzung für die Erarbeitung von Schutzmaßnahmen, insbesondere für die vom Aussterben bedrohten Greifvogelarten.

Balanoposthitis bei freilebenden Wisenten im Urwald von Bialowieza (Polen) (XII-XIV)

Seit 1980 ist im Urwald von Bialowieza eine Erkrankung der Wisentbullen bekannt, die durch einen chronisch nekrotisierenden Entzündungsprozeß an Präputium und Penis gekennzeichnet ist. Im Jahre 1996 trat die Krankheit bei ca. 15% aller männlichen Wisente dieser Population auf. Die Balanoposthitis der Wisente ist hinsichtlich ihrer Ätiologie und Pathogenese noch nicht geklärt. Sie kann möglicherweise zu einer weiteren Reduktion der genetischen Variabilität führen und stellt somit vermutlich einen indirekt wirkenden Rückgangsfaktor dar.

Seit 1997 werden eigene umfangreiche Untersuchungen über die Balanoposthitis bei männlichen Wisenten in Bialowieza durchgeführt. Nach den gegenwärtigen Erkenntnissen handelt es sich um eine bakterielle Mischinfektion, bei der *Fusobacterium necrophorum* (als ursächlicher Erreger) mit weiteren, noch zu bestimmenden Erregern die entstehenden Nekrosen verursacht. Vermutlich spielen hierbei auch Corynebakterien und Spirochäten eine Rolle. Als primär auslösender Faktor kommt möglicherweise u.a. eine genetische Disposition aufgrund von Inzuchteffekten in Betracht, was gegenwärtig noch völlig unklar ist. Für den Fortbestand der größten freilebenden Wisent-Population ist jedoch die Aufklärung dieser Erkrankung unerläßlich.

Bisher wurden von 295 Wisenten, von denen 65 erkrankt waren, Blut-, Gewebe-, Tupfer- und Präputialspülproben entnommen und virologisch, histopathologisch, bakteriologisch sowie elektronenmikroskopisch untersucht. Dabei können folgende Befunde zur Zeit festgehalten werden:

Aus dem betroffenen Gewebe erkrankter Wisentbullen konnte *Fusobacterium necrophorum* histopathologisch, kulturell und elektronenmikroskopisch eindeutig als stets am nekrotischen Prozess beteiligtes Agens nachgewiesen werden. Darüber hinaus fanden sich bei

Untersuchungen von Wisentseren auf verschiedene Mykoplasmaspezies bei Wisentbullen mit pathologischen Veränderungen am Präputium signifikant mehr seropositive Reagenten als bei gesunden Wisenten. Ferner wurden umfangreiche virologische und serologische Untersuchungen bei 261 Wisenten durchgeführt. Bei keinem der Tiere konnten Antikörper gegen BHV-1, BHV-4, CapHV-1 und HCV-1 festgestellt werden. Ausschließlich aus der Milz eines gesunden Wisentkalbes konnte BHV-1 angezüchtet und zusätzlich mittels PCR nachgewiesen werden. Bei diesem Isolat handelte es sich jedoch um einen infektiösen bovinen Rhinotracheitis (IBR) Virusstamm, der generell nur respiratorische Symptome hervorruft. Allerdings war der serologische Nachweis von α -Herpesviren bei Hausrindern in der Umgebung von Bialowieza möglich, die wahrscheinlich Kontakt zu Wisenten hatten. Ein Zusammenhang zwischen BHV-1 und der Erkrankung ist gegenwärtig nicht wahrscheinlich. Im Rahmen eines Übertragungsversuches zeigte sich, daß der bloße Kontakt mit (aus Wisenten mit frühen Veränderungen gewonnener) Präputialspülflüssigkeit bei Hausrindern keine entsprechende Erkrankung verursacht.

Das European Brown Hare Syndrome (EBHS) beim Feldhasen (XV-XVIII)

Die Populationsdichte des Feldhasen ist in mehreren europäischen Ländern seit Jahren rückläufig bzw. stagnierend. In einigen Gebieten ist sogar ein drastischer Populationsrückgang zu verzeichnen. Das im Jahr 1980 zum ersten Mal in Schweden aufgetretene EBHS führte in Zentraleuropa seit Mitte der 80er Jahre vermehrt zu akuten Todesfällen beim Feldhasen (Morisse, 1988; Eskens und Vollmer, 1989; Marcato et al., 1989; Henriksen et al., 1989; Okerman et al., 1989; Chasey und Duff, 1990; Sostaric et al., 1991; Gavier-Widen und Mörner, 1993; Salmela et al., 1993; Steineck und Nowotny, 1993). Die aus verschiedenen europäischen Ländern berichteten EBHS-Todesfälle reichen von 4% bis 90% der Stichproben (Lölinger und Eskens, 1991). Erkrankungsfälle von EBHS beim Feldhasen treten gegenwärtig in fast allen europäischen Ländern auf (K. Frölich, unveröffentlicht).

EBHS wird vielfach als eine der Ursachen für den Rückgang der Feldhasenpopulationen diskutiert. Das Virus gehört wie RHDV zu den Caliciviren und ist mit RHDV eng verwandt, jedoch nicht identisch. In den meisten Fällen findet sich eine akute nekrotisierende Hepatitis. Der Einfluß des EBHS auf die Hasenpopulation ist schwer abzuschätzen. Sicher ist, daß für den seit einigen Jahren zu beobachteten Rückgang der Hasenpopulation in vielen Regionen mehrere ökologische Faktoren gleichzeitig verantwortlich sind und dabei auch EBHS eine Rolle spielt. Im Rahmen der EBHS-Untersuchungen wurde ein neuer ELISA etabliert, der zwischen RHDV- und EBHSV-Infektionen unterscheiden kann.

Es wurden zwei Arbeiten angefertigt, die jeweils Erstbeschreibungen in den jeweiligen Ländern (Polen, Schweiz) darstellen und somit Auskunft geben über die Verbreitung von EBHS in Europa. Damit sind die beiden folgenden Studien zugleich Bestandteil der 3. Fragestellung (regionale Erstnachweise), werden aber in diesem Kapitel erläutert.

EBHS bei Feldhasen aus Polen: Das Untersuchungsgebiet Czempin liegt im Westteil Polens und hat eine Fläche von rund 15.000 Hektar. In der Untersuchung wurden von April 1993 bis Februar 1994 100 Blutproben und 78 Milzproben von Europäischen Feldhasen auf Antikörper gegen EBHSV sowie auf EBHSV-Antigen getestet. Antikörper gegen EBHSV konnten in 38 Seren (38%) der Hasen festgestellt werden. Eine Seroprävalenz in ähnlicher Größenordnung wurde in mehren Gebieten Deutschlands gefunden. Es wurden signifikant häufiger seropositive Hasen im Sommer als im Winter detektiert. Möglicherweise ist die Überlebensrate für Hasen, die mit EBHSV in Kontakt gekommen sind, im Sommer höher. EBHSV-Antigen wurde in 6 Hasen (7.6%) diagnostiziert. Pathohistologische Befunde, die

dem Bild der EBHS entsprechen könnten, wurden in 22% der Fälle diagnostiziert. Von den sechs Antigen-positiven Hasen waren drei auch pathohistologisch positiv. Von den 38 seropositiven Hasen waren 11 (29%) ebenfalls pathohistologisch positiv. Von den seronegativen Hasen waren signifikant weniger pathohistologisch positiv. Daher kann man von einer gewissen Korrelation zwischen den pathologischen und serologischen Befunden sprechen. Es wurde kein akuter pathologischer Fall von EBHS diagnostiziert, sondern es handelte sich vermutlich stets um chronische EBHS. Das Ausbleiben akuter Fälle liegt vermutlich daran, daß nur geschossene Tiere und keine tot aufgefundenen Hasen untersucht wurden. Die Calicivirusdiagnose wurde unterstützt durch den elektronenmikroskopischen Nachweis. Es ist zu vermuten, daß EBHS mit verantwortlich ist für die hohe Mortalität dieser insgesamt ökologisch gut untersuchten polnischen Hasenpopulation in den letzten 10 Jahren.

EBHS bei Hasen aus der Schweiz: Zwischen den Jahren 1997 und 2000 wurden Sektionen und histopathologische Untersuchungen an 157 in verschiedenen Landesteilen der Schweiz tot aufgefundenen Feldhasen durchgeführt. Organproben von allen Individuen (157 Lebern und 107 Milzen) wurden mittels ELISA auf EBHSV-Antigen untersucht. Außerdem wurden 60 Blutproben mittels ELISA auf Antikörper gegen EBHSV getestet. Weiterhin wurden Leberproben von 87 freilebenden, im Jahre 1996 erlegten Alpenschneehasen (*Lepus timidus*) auf EBHSV-Antigen untersucht. In zwei Feldhasen aus der Südschweiz, bei denen histopathologisch EBHS-verdächtige Veränderungen festgestellt worden waren, wurden hohe Titer von EBHSV-Antigen sowohl in der Leber als auch in der Milz nachgewiesen. Bei elektronenmikroskopischen Untersuchungen von Leber- und Milzhomogenaten wurde Calicivirus bei einem antigenpositiven Hasen gefunden. Niedrige Titer von EBHSV-Antigen wurden ebenfalls bei drei weiteren Feldhasen aus der Zentral- und West-Schweiz festgestellt, allerdings ohne feststellbare EBHS-Veränderungen. Antikörper gegen EBHSV waren in keinen der untersuchten Feldhasenseren nachweisbar. Auch wurde kein EBHSV-Antigen in den Alpenschneehasen gefunden. Dies ist der erste Bericht über das Auftreten von EBHS bei Feldhasen in der Schweiz.

EBHSV-Antigennachweis bei serologisch negativen Feldhasen aus Nordrhein-Westfalen: In dieser Untersuchung zeigten zwei tot aufgefundenen juvenile Feldhasen bei der Sektion die für EBHS charakteristischen Organveränderungen. Im Antigen-ELISA wurde EBHSV in hohen Titern zwischen 1:1.000 und 1:100 nachgewiesen (Grenztiter 1:10). Der serologische Nachweis auf EBHSV-Antikörper verlief negativ. Die vorliegenden Befunde belegen, daß EBHS in Gebieten Nordrhein-Westfalens endemisch ist und somit mitverantwortlich sein kann für den Rückgang des Feldhasen in dieser Region.

EBHS bei Feldhasen aus Hessen: Bei dieser Untersuchung an 100 Seren von frisch erlegten hessischen Feldhasen aus dem Jahr 1994 und von 402 Feldhasenseren aus dem Jahr 1997 auf Antikörper gegen EBHSV konnten 20% resp. 10% Reagenten ermittelt werden. Neben der Abnahme der seropositiven Reagenten waren ebenfalls die Titerhöhen im Zeitraum 1997 signifikant niedriger als 1994. Eine Beziehung zwischen der Zahl der Reagenten und der meist durch Scheinwerttaxation geschätzten Besatzdichte ergab sich nicht. Die vorliegenden Daten weisen auf eine zurückgehende Bedeutung des EBHS für die Hasenpopulationen in den untersuchten Gebiete hin und deuten darauf hin, daß EBHS in Hessen gegenwärtig wohl nicht mehr für den Populationsrückgang verantwortlich ist.

Serologische Untersuchungen über ausgewählte Infektionskrankheiten bei freilebenden Spitz- und Breitmaulnashörnern in Afrika (XIX)

Im Rahmen einer seroepidemiologischen Studie über Infektionskrankheiten bei Breit- und Spitzmaulnashörnern im südlichen Afrika sollte erstmals untersucht werden, für welche Infektionserreger freilebende Nashörner exponiert sind und ob es epidemiologisch-geographische Unterschiede in der Verbreitung der seropositiven Reagenten gibt. Dabei wurde das Erregerspektrum nach geographisch-epidemiologischen Gesichtspunkten und zoologischen Kriterien ausgewählt. Einerseits wurde auf Antikörper gegen alle diejenigen Erreger untersucht, die bereits aus der Literatur bei freilebenden oder in menschlicher Obhut gehaltenen Nashörnern oder bei zoologisch nahe verwandten Arten beschrieben worden waren. Andererseits wurden die Infektionen berücksichtigt, die eine potentielle lokale Bedeutung für die verschiedenen Untersuchungsgebiete im südlichen Afrika aufwiesen.

Im Zeitraum 1987-97 wurden 281 Seren von freilebenden Spitzmaulnashörnern und Breitmaulnashörnern aus der Republik Südafrika, Namibia und Kenia gesammelt. Die Proben wurden auf Antikörper gegen 16 verschiedene Infektionserreger untersucht. Positive Antikörpertiter wurden gegen das Akabane-Virus (59,8%), Bluetongue-Virus (55%), Virus der Afrikanischen Pferdepest (27,9%), Virus der Epizootischen Hämorrhagischen Krankheit der Hirsche (19,4%), Parainfluenza 3-Virus (25,3%), Bovines Herpesvirus-1 (3,1%), Equines Herpesvirus-1 (8,8%) und Virus der Bovinen Virusdiarrhoe (1,2%) sowie gegen 4 Serovare von *Leptospira interrogans* (1,2-8,8%) detektiert. Es konnten keine Antikörper gegen Riffalfieber-Virus, Enzephalomyokarditis-Virus, *Brucella abortus* und *Trypanosoma equiperdum* nachgewiesen werden. Artspezifische Unterschiede wurden für Afrikanische Pferdepest, Epizootische Hämorrhagische Krankheit der Hirsche und Parainfluenza 3

festgestellt. Es scheint weiterhin geographische Unterschiede in der Seroprävalenz für Afrikanische Pferdepest, Bluetongue, Epizootische Hämorrhagische Krankheit der Hirsche, Parainfluenza 3, Infektionen mit dem Equinen Herpesvirus-1 und Infektionen mit *Leptospira interrogans*-Serovar *L. bratislava* zu geben.

Die vorliegende Studie deutet auf die potentielle Bedeutung von Infektionskrankheiten für die weitere Erhaltung dieser hoch bedrohten Tierarten hin.

Epidemiologische Untersuchungen bei freilebenden Greifvögeln und Eulen (XX)

Es sollte geklärt werden, in welchem Umfang freilebende Greifvögel und Eulen gegenüber verschiedenen Infektionskrankheiten exponiert sind. Hierbei wurden 448 Blutplasmaproben von Greifvögeln und Eulen aus den Regionen Berlin und Brandenburg auf Antikörper gegen Newcastle Disease-Virus (NDV), Falken-Herpesvirus (FHV), Eulen-Herpesvirus (OHV), Adenovirus und *Chlamydia psittaci* untersucht. Newcastle Disease (ND) und Herpesvirusinfektionen können für einige Greifvogelarten tödlich sein. Antikörper gegen NDV wurden bei 6 (2 %) von 346 untersuchten Greifvögeln nachgewiesen. Von den 55 untersuchten Eulen erwies sich jedoch keine als positiv. Die positiven Proben stammten von zwei Mäusebussarden (*Buteo buteo*), drei Fischadlern (*Pandion haliaetus*) und einer Rohrweihe (*Circus aeruginosus*). Die Antikörpertiter lagen zwischen 1:8 und 1:32. Von 253 untersuchten Greifvögeln und Eulen konnte nur bei einem Fischadler ein niedriger Antikörpertiter (1:6) gegen FHV nachgewiesen werden. Es handelt sich dabei um den ersten Nachweis von Antikörpern gegen FHV bei einem Fischadler. Antikörper gegen OHV mit einem Titer von 1:6 konnten bei einem Waldkauz (*Strix aluco*) und einem Mäusebussard (2 von 253, 1%) festgestellt werden. Antikörper gegen Adenoviren wurden in 7 (4%) von 167 Blutproben gefunden (Hafez et al., unveröffentl.). Von 422 Greifvögeln und Eulen wiesen 267 (63%) Antikörper gegen *Chlamydia psittaci* auf, wobei die Titer zwischen 1:5 und 1:256 variierten. Weiterhin wurden 342 Organproben auf verschiedene Erreger getestet. In 18 Proben konnten Nukleinsäureabschnitte von NDV und in 39 Proben von *C. psittaci* mit Hilfe der PCR detektiert werden (Schettler et al., unveröffentl.). Ferner konnten aus 3 Proben (Fischadler, Mäusebussard, Waldkauz) Reoviren angezüchtet werden (H.M. Hafez et al., unveröffentl.). Diese Ergebnisse reflektieren das ubiquitäre Vorkommen von *Chlamydia psittaci* und zeigen andererseits, daß ND, Herpes-Virusinfektionen und Adenovirusinfektionen vermutlich eine untergeordnete Rolle bei den untersuchten Vögeln in dieser Region spielen.

Die Ergebnisse der epidemiologischen Arbeiten im Rahmen der Rückgangsursachen von Wildtierpopulationen lassen sich wie folgt **zusammenfassen**:

- Bezüglich der im Urwald von Bialowieza auftretenden nekrotisierenden Balanoposthitis konnte bisher geklärt werden, daß es sich dabei um eine bakterielle Mischinfektion handelt, wobei *Fusobacterium necrophorum* am Nekroseprozeß ursächlich beteiligt ist. Ein Zusammenhang zwischen BHV-1 und der Erkrankung ist gegenwärtig nicht wahrscheinlich. Die Aufklärung der Rolle der an der Infektion beteiligten bakteriellen Synergisten sowie die Auffindung der primär den Krankheitsprozeß auslösenden Faktoren ist Gegenstand laufender Arbeiten.
- Die Ergebnisse zur EBHS der Feldhasen weisen darauf hin, daß diese Infektion zumindest regional zu einer erhöhten Mortalität beigetragen hat und wahrscheinlich auch künftig beitragen wird. Als Hauptursache für den Rückgang der Hasenpopulationen in verschiedenen Regionen Europas dürften jedoch mehrere ökologische Faktoren in Betracht kommen.
- Im Rahmen einer seroepidemiologischen Studie über Infektionskrankheiten bei Breit- und Spitzmaulnashörnern im südlichen Afrika sollte erstmals untersucht werden, für welche Infektionserreger freilebende Nashörner exponiert sind. Die Ergebnisse der seroepidemiologischen Studie zeigen, daß sie mit verschiedenen viralen (Akabane-Virus, Bluetongue-Virus, Virus der Afrikanischen Pferdepest, EHDV, Parainfluenza 3-Virus, BHV-1, EHV-1, BVDV) und bakteriellen Erregern (*Leptospira interrogans*) in Kontakt kommen.
- Die zur Abschätzung des Gefährdungsgrades freilebender Greifvögel und Eulen durch Infektionskrankheiten durchgeführten Untersuchungen führten zu dem Ergebnis, daß Infektionen durch *Chlamydia psittaci* bei diesen Vögeln weit verbreitet sind, während Virusinfektionen, wie ND, Herpes- und Adenovirusinfektionen, vermutlich keine besondere Bedeutung in der untersuchten Region haben.

3. Identifizierung neuer Erreger sowie regionale und lokale Erstnachweise von Infektionen bei Wildtieren (XXI-XXIII)

Bei der Artenvielfalt von Wildtieren ist davon auszugehen, daß unter ihnen noch zahlreiche Erreger vorkommen, deren Charakter und mögliche Pathogenität für die jeweiligen Tierarten im einzelnen noch nicht bekannt sind. Bei Wildtieren treten immer wieder ungeklärte Krankheitsbilder auf, die auf eine infektiöse Ätiologie hindeuten. In diesem Teil soll über Untersuchungen berichtet werden, bei denen neue Erreger identifiziert oder bei denen regionale Erstnachweise von Infektionserregern bei Wildtieren erbracht wurden. Die Untersuchungen befassen sich vorrangig mit den Nachweisen von Herpesvirusinfektionen bei Wildequiden. Außerdem wird über den erstmaligen Nachweis eines Hepadnavirus bei Schneegänsen, sowie über Erstbeschreibungen von EBHS in der Schweiz und Polen berichtet (letztere siehe Fragestellung 2).

Equine Herpesviren bei Zooequiden und freilebenden Bergzebras aus Namibia (XXI-XXII)

Ziel dieser Untersuchungen war es festzustellen, ob verschiedene equine Herpesviren bei freilebenden Bergzebras (*Equus zebra hartmannae*) in Namibia vorkommen. Dies ist u.a. deshalb von Bedeutung, weil Bergzebras zu den bedrohten Zebraarten gehören.

Einundzwanzig Blutproben von freilebenden Bergzebras aus Namibia wurden mittels Immunfluoreszenztest (IF) und Virusneutralisationstest (VNT) auf spezifische Antikörper gegen verschiedene equine Herpesviren (EHV-1, -2, -3, -4) untersucht. Darüber hinaus wurden die Proben mit Hilfe der PCR auf EHV-1, -2 und -4-spezifische DNA analysiert.

Im IF wiesen alle 21 Blutproben Antikörper gegen EHV-1 auf, aber nur bei drei Proben konnten auch neutralisierende Antikörper gegen EHV-1 detektiert werden. Bei sieben Proben wurden Antikörper gegen EHV-4 gefunden. Außerdem wurden im IF bei zwanzig Bergzebras Antikörper gegen EHV-2 nachgewiesen, während im VNT nur bei einem Bergzebra neutralisierende Antikörper gegen EHV-2 festgestellt werden konnten. Keines der 21 Bergzebraproben wies Antikörper gegen EHV-3 auf.

EHV-1, -2, oder -4-spezifische DNA-Sequenzen konnten aus keiner der Zebraproben isoliert werden. Diese negativen Ergebnisse in der PCR könnte man sich wie folgt erklären:

1. Auf Grund von Sequenzmutationen im EHV-Genom der Zebras ist es möglich, daß die in der PCR verwendeten Primer wegen fehlender Kompatibilität nicht binden konnten. So

wird vermutet, daß sich EHV-1-Zebra-Isolate in ihren antigenen und genomischen Profilen von den bekannten Hauspferd-EHV-1-Isolaten unterscheiden.

2. Es ist möglich, daß sich die Zebras zum Zeitpunkt der Probenentnahme nicht in einem virämischen Stadium befanden, was im vorliegenden Fall wahrscheinlich ist.

Zusammenfassend ist festzustellen, daß dies der erste Nachweis von Antikörpern gegen equine Herpesviren bei freilebenden Bergzebras ist und daß EHV-1, EHV-2 und EHV-4-Infektionen offensichtlich auch bei freilebenden Bergzebras weit verbreitet sind.

Equine Herpesvirus-Infektionen sind vermutlich auch bei Equiden, die in Zoologischen Gärten gehalten werden, weit verbreitet. So gibt es aus der Literatur Hinweise auf EHV-Infektionen bei verschiedenen Zooequiden in je zwei nordamerikanischen und deutschen Zoos (Lincoln Park Zoo, Chicago; National Zoological Park, Washington; Berliner Zoo; Tiergarten Nürnberg). Generell ist aber weltweit der Kenntnisstand über EHV-Infektionen bei Zooequiden noch sehr lückenhaft.

In Blutproben von sieben Spezies aus der Familie der Equidae, die aus vier verschiedenen Zoologischen Gärten stammten, wurden EHV-1-spezifische Antikörper bei 76% und EHV-4-spezifische Antikörper bei 73% der 55 untersuchten Tiere nachgewiesen. Da nur in einem der untersuchten Zoos EHV-1-Impfungen durchgeführt werden und somit die dortigen serologischen Befunde Impftiere repräsentieren können, handelt es sich bei den Titern der Equidenserum aus den anderen drei Zoos wohl um Hinweise auf natürliche Infektionen. Gegenüber EHV-2 und EHV-5 erwiesen sich jeweils 93% der untersuchten Equiden als positiv. In nur einer Blutprobe, die von einem Przewalski-Wildpferd (*Equus przewalskii przewalskii*) stammte, konnte EHV-4-DNA mittels PCR amplifiziert werden. Von sieben Przewalski-Wildpferden konnte EHV-2, und von einem weiteren EHV-5 mittels Kokultivation isoliert werden. Die Identität der Virusisolate wurde mittels PCR und Restriktions-Enzymanalyse bestätigt. Die Ergebnisse zeigen, daß Equine Herpesviren bei Przewalski-Pferden aus deutschen Zoologischen Gärten vorkommen.

Ein neues Aviäres Hepadnavirus bei der arktischen Schneegans (*Anser caerulescens*) (XXIII)

Avihepadnaviren waren bisher nur bei der Pekingente (*Anas platyrhynchos f. dom.*) (Entenhepadnavirus, DHBV), beim Graureiher (*Ardea cinera*) (Graureiherhepadnavirus HHBV), und bei der Zwergschneegans (*Anser rossii*) (Zwergschneeganshepadnavirus RGHV) bekannt. Um das weitere Vorkommen von aviären Hepadnaviren bei Gänsevögeln und deren Sequenzheterogenität zu untersuchen, wurde eine sensitive Gesamtgenom-Amplifikationsmethode entwickelt. Bei Verwendung dieser Methode gelang es, ein neues aviäres Hepadnavirus (SGHBV) bei einer arktischen Schneegans (*Anser caerulescens*) zu isolieren. Die DNA-Sequenz des SGHBV wich von allen anderen *anseriformen* Hepadnaviren um ca. 10% und vom HHBV um ca. 25% ab. Von allen untersuchten Proteinsequenzen variierte die in der „Spacerregion“ des P-Proteins am stärksten von allen anderen aviären Hepadnaviren. Das untersuchte SGHBV „Core-Protein“ unterscheidet sich von allen anderen Hepadnaviren des Vogels in drei Aminosäurepositionen. Die preS-Proteinsequenz hat 11 Aminosäuren, die einzigartig für das SGHBV ist. Daher unterscheidet sich das SGHBV deutlich von allen DHBV- und HHBV-Stämmen, die bis jetzt charakterisiert wurden. Es konnte weiterhin gezeigt werden, daß sich SGHBV in Primärkulturen von Entenleberzellen repliziert, wobei beträchtliche Mengen von Virion-ähnlichen Partikeln, die einsträngige Virus-DNA enthalten, an das Medium abgesondert wurden. Die Freisetzung von Virion-ähnlichen Partikeln wurde auch in LMH-Zellkulturen (chicken hepatoma cells) und in virämischen Seren von verschiedenen Vögeln beobachtet, was darauf hindeutet, daß sich es hierbei um ein stabiles Merkmal des SGHBV handelt. Die dargestellte Methode kann dazu dienen, weitere Vertreter der Familie der aviären Hepadnaviren zu detektieren und die funktionelle und evolutionäre Diversität der Hepadnaviren zu untersuchen.

EBHS in Polen und der Schweiz

Diese beiden Studien stellen jeweils Erstbeschreibungen in den beiden Ländern dar und sind somit ein wichtiger Beitrag zur Verbreitung von EBHS in Europa (siehe Problemstellung 2).

Zusammengefaßt erbrachten die Untersuchungen zur Identifizierung neuer Erreger sowie zu regionalen und lokalen Erstnachweisen von Infektionen bei Wildtieren folgende Ergebnisse:

- Erstmals wurden bei freilebenden Bergzebras in Namibia Infektionen durch equine Herpesviren nachgewiesen und verschiedene EHV-Typen (EHV-1, EHV-2 und EHV-4) identifiziert.
- Bei Untersuchungen an Wildequiden aus vier Zoologischen Gärten in Deutschland wurde festgestellt, daß Bergzebras, Chapman Zebras, Grevy Zebras, Przewalskipferde, Kulane und Kiangs gegenüber verschiedenen equinen Herpesviren (EHV 1, 2, 4, 5) exponiert sind, und erstmals wurden bei Przewalskipferden EHV-2 und EHV-5 isoliert.
- Im Rahmen der Untersuchungen über aviäre Hepadnaviren wurde ein neues Hepadnavirus (SGHBV) bei arktischen Schneegänsen erstmals detektiert und charakterisiert.
- Das Vorkommen von EBHS konnte erstmalig in Polen und in der Schweiz nachgewiesen werden.