

Forschungsbericht 2002
des
Institutes für Tierhygiene und Öffentliches Veterinärwesen

1. Bearbeitete Forschungsprojekte

- 0 Institut für Tierhygiene und Öffentliches Veterinärwesen
Institute of Animal Hygiene and Veterinary Public Health
- 1 Serologische, biochemische und molekularbiologische Charakterisierung des Algen-Genus *Prototheca*.
Serological, biochemical and genetic Characterization of the algae-genus Prototheca
- 2 Dr. Uwe Roesler, Dr. Holger C. Scholz, Prof. Dr. Dr. Andreas Hensel
- 3 Im Rahmen dieses Themas werden die folgenden Fragestellungen bearbeitet:
 - Biochemische, serologische und genetische Charakterisierung von natürlich vorkommenden pathogenen und apathogenen Varianten bei *Prototheca zopfii* und anderen Protothekenspezies (*P. wickerhamii*, *P. stagnora*, *P. moriformis*)
 - Charakterisierung der humoralen und zellulären Immunantwort sowie der Erregerausscheidung bei der natürlichen und experimentellen Protothekenmastitis des Rindes.“
- 4 ja
- 5 nein

0 Institut für Tierhygiene und Öffentliches Veterinärwesen
Institute of Animal Hygiene and Veterinary Public Health

1 Evaluierung und Implementierung wirksamer Hygiene- und Behandlungs-Maßnahmen auf Bestandsebene zur Bekämpfung der Salmonelleninfektion des Schweins.

Evaluation and implementation of effective hygiene and treatment measures on stable level for prevention of Salmonellosis in pigs.

2 Dr. Uwe Rösler, Prof. Dr. Dr. Andreas Hensel

3 Ziel dieses Forschungsvorhabens ist die Entwicklung, Überprüfung und Etablierung von Bekämpfungsstrategien zur Bekämpfung der Salmonelleninfektion des Schweins auf Bestandsebene. In Kooperation mit dem führenden deutschen Ferkel- und Sauenerzeuger werden hierzu verschiedene Hygiene- und Behandlungsregime entwickelt, in Problembeständen angewandt und hinsichtlich der Verminderung der Salmonellenbelastung der Tiere und hinsichtlich ihrer Praktikabilität überprüft. Dies erfolgt mittels zum Teil neu entwickelter bakteriologischer, serologischer und molekularbiologischer Methoden.

4 nein

5 nein

0 Institut für Tierhygiene und Öffentliches Veterinärwesen
Institute of Animal Hygiene and Veterinary Public Health

1 Entwicklung und Validierung eines zur Einzeltierdiagnostik geeigneten ELISA-Systems zur Diagnostik und Bekämpfung der Salmonelleninfektion des Schweines.

Development and validation of an ELISA system suitable for single animal diagnostics for the fight against the Salmonella infection of pigs.

2 Dr. Uwe Rösler, Prof. Dr. Dr. Andreas Hensel

2 Dieses Forschungsvorhaben dient der Entwicklung und Validierung eines sensitiven und spezifischen ELISA-Systems zur Diagnostik der Salmonelleninfektion des Schweines. Im Gegensatz zu den bisher angewandten Tests, die nur zur Risikoabschätzung des Gesamtbestandes geeignet sind, ist es das Ziel, einen Test für die Einzeltierdiagnostik sowohl im Herkunfts-Bestand wie auch auf dem Schlachthof zu entwickeln.

In einem kontrollierten, experimentellen *Salmonella* Typhimurium DT104-Infektionsversuch beim Schwein werden der Verlauf der einzelnen Infektionsstadien (akut, persistent, chronisch) mittels eines neu entwickelten ELISA-Systems serologisch charakterisiert und anschließend die Isotyp-spezifischen Antikörperantworten hinsichtlich ihrer Sensitivität und Spezifität evaluiert. Im Anschluss erfolgt die Validierung des Testsystems durch bakteriologische und serologische Untersuchung sowohl von Schlachttieren wie auch von Tieren der einzelnen Produktionsstufen aus verschiedenen Betrieben und Regionen Deutschlands.

4 ja

5 nein

0 Institut für Tierhygiene und Öffentliches Veterinärwesen
Institute of Animal Hygiene and Veterinary Public Health

1 Ermittlung möglicher Risiken einer unbewussten Freisetzung von gentechnisch veränderten Mikroorganismen aus einem gentechnischen Labor (Sicherheitsstufe 2)

Determination of possible risk factors for the unconsciously release of genetically manipulated microorganisms from an S2 certified laboratory

2 Torsten Herold, Dr. Holger C. Scholz, Prof. Dr. Dr. Andreas Hensel

3 In den letzten Jahren kam es zu einer enormen Intensivierung der biotechnologischen Forschung und Entwicklung, die auch einen verstärkten Umgang mit gentechnisch veränderten Mikroorganismen (MO) zur Folge hatte. In einer Vielzahl von mikrobiologischen und gentechnischen Laboratorien wird mit Mikroorganismen und Viren gearbeitet, die für den Bearbeiter, für Nichtbeteiligte und für die Umwelt eine besondere Gefahrenquelle darstellen.

Der vorliegende Projektentwurf hat das Ziel, die Risiken im Umgang mit gentechnisch veränderten MO aufzuzeigen. Potentielle Schwachstellen im Laborbetrieb werden bestimmt und generelle Handlungsempfehlungen für die betriebliche Laborpraxis in mikrobiologischen/gentechnischen Laboratorien abgeleitet. Die selektive Überprüfung verschiedener Habitate (Aerosole, Ablagerungen auf Oberflächen und in Flüssigkeiten) bietet auch bezüglich der Erfassung und Identifizierung von routinemäßig bearbeiteten potentiell human- und/oder tierpathogenen Mikroorganismen größtmögliche Sicherheit. Schwerpunkt der Untersuchungen bleiben aber gentechnisch veränderte Mikroorganismen. Desweiteren sollen allgemein gültige kritische Kontrollpunkte (sinngemäß wie in der Qualitätssicherung in der HACCP) charakterisiert werden. Die Erstellung eines Methodenkataloges zur praktischen Risikoabschätzung für die Arbeit in einem gentechnischen Labor der Sicherheitsstufe 2 mit einer generellen Anwendbarkeit (wie beispielsweise in VDI-Richtlinien niedergelegt) soll das geplante Forschungsprojekt abschließen.

4 ja

5 Sächsisches Staatsministerium für Umwelt und Landwirtschaft

0 Institut für Tierhygiene und Öffentliches Veterinärwesen
Institute of Animal Hygiene and Veterinary Public Health

1 Ermittlung der Wirksamkeit einer Ionisationsanlage bei der Verringerung luftgetragener Mikroorganismen in einer Schweinezuchtanlage

Determination of the reduction potential of microbial emissions in a pig facility by an air ionisation plant

2 Torsten Herold, Reinhard Willig, Prof. Dr. Dr. Andreas Hensel

3 An einer Sauenzuchtanlage wird der umfassende Einbau einer Anlage zur Luftionisation mit dem Ziel der Reduzierung des Anteils luftgetragener Mikroorganismen, Gerüche sowie Ammoniak erwogen. Im Rahmen der Genehmigung des Vorhabens erfolgte durch das Institut für Tierhygiene und Öffentliches Veterinärwesen umfassende lufthygienische Untersuchungen zur Ermittlung des Wirkungsgrades sowie möglicher Einflussfaktoren. Die Untersuchungen wurden unter Einsatz von direkten (Filtration-Gelatinefilter) und indirekten Methoden (Impingment; Filtration-Gelatinefilter) durchgeführt. Die Untersuchungen werden im Jahr 2002 fortgeführt.

4 ja

5 Sächsisches Landesamt für Umwelt und Geologie

0 Institut für Tierhygiene und Öffentliches Veterinärwesen
Institute of Animal Hygiene and Veterinary Public Health

1 Identifizierung, *In-vitro*- und *In-vivo*-Charakterisierung potentieller Virulenzfaktoren bei *Burkholderia cepacia*

Identification, in-vitro- and in vivo-characterization of potential virulence factors of Burkholderia cepacia

2 Dr. Holger C. Scholz, Prof. Dr. Dr. Andreas Hensel

3 Klinisch relevante Isolate der Gattung *Burkholderia* sezernieren eine Reihe von Proteinen. Die Funktion der ausgeschleusten Proteine, der molekulare Mechanismus der Sekretion und die Komponenten des Sekretionsapparates sind noch weitgehend unbekannt. In Kulturüberständen von verschiedenen Genomovaren des *Burkholderia cepacia*-Komplexes konnten von uns in Vorversuchen sieben bisher nicht identifizierte Proteine nachgewiesen werden, die mit Seren erkrankter Personen oder Hyperimmunsereen von Tieren im Immunoblot positiv reagierten. Bei *B. cepacia* (Genomovar III) konnte eine massive Ausschleusung von Proteinen induziert werden, die in Flüssigkultur an der Oberfläche zu einem Proteinkomplex mit stark adhäsiven Eigenschaften aggregieren. In dem Forschungsvorhaben sollen die immunogenen Proteine sowie die Proteine des Komplexes charakterisiert und die Nukleinsäuresequenzen der korrespondierenden Gene ermittelt werden. Die Klonierung und heterologe Expression der Gene in *Escherichia coli* und die Reinigung der Proteine schließt sich an. Durch die Konstruktion von Deletionsmutanten und die Analyse dieser Mutanten in Zellkultur (Makrophagen- und Epithelzellen-Assays) sowie in einem Mausinfektionsmodell soll die Funktion der Proteine in der Pathogenese einer *Burkholderia*-Infektion untersucht werden. Dabei sollen vor allem die Adhäsions- und Invasionsfähigkeit, die Induktion von Apoptose, die Aktivierung von Makrophagen, NO- und O₂-Radikalbildung sowie Zytokinbildung im Vergleich mit dem Wildtyp untersucht werden. Der Infektionsverlauf, die Persistenz und die Lokalisation der Wildtypstämme sowie der Deletionsmutanten in verschiedenen Organen und einzelnen Zellen sollen bakteriologisch, immunologisch und morphologisch (u.a. immunohistochemisch und mittels Elektronenmikroskopie) bestimmt werden.

4 ja

5 Drittmittel (Industrie)

- 0 Institut für Tierhygiene und Öffentliches Veterinärwesen
Institute of Animal Hygiene and Veterinary Public Health

- 1 Molekularbiologische und Immunologische Charakterisierung und Differenzierung von
Burkholderia mallei- und *Burkholderia pseudomallei*-Isolaten

Molecular- and immunological Characterization and Differentiation of B. mallei and B. pseudomallei

2. Katharina Monig, Prof. Dr. Dr. Andreas Hensel, Dr. Holger C. Scholz

3. Mittels molekularbiologischer und immunologischer Methoden sollen plasmid- und chromosomal lokalisierte Virulenzfaktoren von *B. mallei* und *B. pseudomallei* identifiziert werden. Mit den gewonnenen Kenntnissen sollen dann hochdiskriminierende und dabei sensitive und spezifische PCR-Verfahren zur Detektion und Differenzierung verschiedener Burkholderien-spezies entwickelt werden.

4. ja

5. Fraunhofer Gesellschaft (FhG)

0 Institut für Tierhygiene und Öffentliches Veterinärwesen
Institute of Animal Hygiene and Veterinary Public Health

1 Einsatz von Hygienemanagementsystemen in der ökologischen Landwirtschaft (Schwerpunkt Tierhaltung) – Ermittlung von Stand der Entwicklung und Umsetzung in der Praxis sowie Handlungsbedarf
Implementation of hygiene-management in ecological agriculture (main focus animal husbandry) – Investigation of the state of development and realization in practice as well as call of action

2 Prof. Dr. Dr. Andreas Hensel, Dr. Thorsten Arnold

3 Erarbeitung spezieller Materialien zur Durchführung umfangreicher (persönlicher) Befragungen und schriftlicher Recherchen bei Praxisbetrieben der ökologischen Tierhaltung, Behörden und Interessenvertretern (Schwerpunkt Tierhaltung-Schweineproduktion) zur Erfassung und Dokumentation des Ist-Zustandes von Hygienemanagementsystemen in der ökologischen Landwirtschaft (Schwerpunkt Tierhaltung).

In Auswertung der Recherchen und der dabei ermittelten Schwachstellen (Hygiene), Probleme (Umsetzung von Managementsystemen) sowie Möglichkeiten (Verbesserung des Marktumfeldes) erfolgt in Zusammenarbeit mit dem Unterauftragnehmer Innotech Ingenieursgesellschaft mbH die Entwicklung eines Hygienemanagementkonzeptes für den praktischen Einsatz. Im Rahmen des Forschungsvorhabens wird dieses Konzept in ausgewählten Betrieben, die Interesse an einer Zusammenarbeit zeigten, unter Mitarbeit von Züchterverbänden eingeführt.

Schlussendlich werden die Auswirkungen der Einführung des Hygienemanagementsystems auf den allgemeinen Hygienestatus des Betriebes, Einfluss auf die Marktsituation und das Verbrauchervertrauen dokumentiert.

Im Anschluss daran wird die allgemeine Übertragbarkeit geprüft und die Probleme und Schwachstellen des Konzeptes beseitigt. Abschließend wird ein Statuspapier zur Einführung von Hygienemanagementsystemen in der ökologischen Landwirtschaft (Schwerpunkt-Tierhaltung) als Entscheidungshilfe für das BMVEL Bundesministerium für Verbraucherschutz Ernährung und Landwirtschaft erarbeitet.

4 ja

5 Gefördert durch das Bundesministerium für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft im Rahmen des Bundesprogramms ökologischer Landbau, www.bundesprogramm-oekolandbau.de

0 Institut für Tierhygiene und Öffentliches Veterinärwesen
Institute of Animal Hygiene and Veterinary Public Health

1 Charakterisierung der *Yersinia*-Infektion des Nutzgeflügels
Characterisation of Yersinia infection in poultry

2 Prof. Dr. Dr. A. Hensel, Dr. Thorsten Arnold

3 Die Qualität und die gesundheitliche Unbedenklichkeit vom Tier stammender Lebensmittel sind mehr den je Forderungen des gesundheitlichen Verbraucherschutzes. Insbesondere die drei wichtigen Vertreter der landwirtschaftlichen Nutztiere (Schwein, Rind und Geflügel) spielen beim Eintrag von humanen Enteritis-Erregern in die menschliche Nahrungskette eine entscheidende Rolle. In besonderem Maße gilt dies für die Spezies der Yersinien. Betroffene Tiere sind überwiegend persistent mit diesen Zoonoserregern infiziert und daher weder bei der Schlachttieruntersuchung noch bei der Fleischhygieneuntersuchung erfasst und können somit auch nicht aus der Lebensmittelkette ferngehalten werden. Insbesondere beim Geflügel ist bisher kein klinisches Bild einer Yersiniose beschrieben. Aus diesem Grund ist eine gut validierte kulturelle, serologische und molekularbiologische Diagnostik der *Yersinia*-Infektionen des Geflügels von hohem Wert für den gesundheitlichen Verbraucherschutz.

Aus diesem Grund ist es Ziel dieser Untersuchungen kulturelle, serologische und molekularbiologische Marker zu identifizieren, welche bei Infektionen mit den unterschiedlichen *Yersinia*-Spezies auftreten sowie die Bestimmung typischer Parameter für die unterschiedlichen Stadien einer Infektion. Sind typische kulturelle, serologische oder molekularbiologische Marker für die unterschiedlichen Stadien anzutreffen, können diese in Zukunft zum Nachweis asymptomatisch infizierter Tiere herangezogen werden. Mit den dadurch erzielten Ergebnissen können diagnostische Systeme für die unterschiedlichen *Yersinia*-Spezies entwickelt und anhand des gewonnenen Probenmaterials validiert werden, so dass auch Empfehlungen für die Routinediagnostik gegeben werden können. Dies soll eine langfristige Qualitätssicherung bei der Gewinnung von Geflügelfleisch, Eiprodukten und Frischei auch im Hinblick auf *Yersinia*-Spezies gewährleisten und eine Erhöhung der Produktsicherheit ermöglichen. Insgesamt kann ein nachhaltiger Beitrag für den Verbraucherschutz geleistet werden.

4 ja

5 TG51

0 Tierhygiene/Animal Hygiene

1 Ökologische, epidemiologische und ethologische Untersuchungen an freilebenden Katzen und an Katzen in Tierheimen

Ecological, epidemiological and ethological investigations of free living cats and cats in animal shelters

2 Professor Dr. Dr. A. Hensel, Dr. G. Möbius, W. Schirmer

3 Das Problem der freilebenden Katzen stellt gleichzeitig ein ökologisches, hygienisches und ein Tierschutzproblem dar. Während im Rahmen der populationskontrolle weltweit der Fang freilebender bzw. verwilderter Katzen verbunden mit der Kastration und Wiederaussetzen zunehmend die Methode der Wahl darstellt, bleibt die frage nach dem Erfolg der Maßnahmen und dem Umfang weiterer Regulationsmaßnahmen offen. Im Ergebnis der Untersuchungen sollen Aussagen zu Größe, Struktur und Dynamik der Katzenpopulation in einem typischen urbanen Biotop sowie zu deren Einflussfaktoren getroffen werden.

4 ja

5 TG 51

0 Institut für Tierhygiene und Öffentliches Veterinärwesen
Institute of Animal Hygiene and Veterinary Public Health

2 Serologische Diskriminierung klinischer Stadien der *Yersinia enterocolitica* - Infektion beim Schwein basierend auf dem Nachweis isotypspezifischer Antikörper gegen natürlich und rekombinant exprimierter *Yersinia*-Outer-Proteins (YOPs).

Serological discrimination of different clinical stages of a Yersinia enterocolitica infection in pigs based on the detection of anti- isotypic antibodies against naturally and recombinantly expressed Yersinia-Outer-Proteins (Yops)

2 Dr. Holger C. Scholz, Melanie Hassel, Peter Burger, Prof. Dr. Dr. Andreas Hensel,

3 In diesem Forschungsvorhaben soll in einem kontrollierten, experimentellen *Yersinia enterocolitica*-Infektionsversuch beim Schwein der Verlauf der einzelnen Infektionsstadien (akut, persistent, chronisch) serologisch charakterisiert werden. Der Verlauf der Infektion wird anhand der Induktion spezifischer Antikörper gegen natürliche, von *Y. enterocolitica* sezernierte, und rekombinant in *E. coli* hergestellte *Yersinia*-Outer-Proteins (YOPs) verfolgt.

Bisher liegen keine Erkenntnisse darüber vor, in welchen Stadien der Infektion spezifische Antikörper gegen welche YOPs gebildet werden. Durch einen kontrollierten Infektionsversuch ist es möglich, die einzelnen Stadien einer Infektion reproduzierbar zu induzieren und die Immunantwort zu charakterisieren. Dies ermöglicht letztlich eine Zuordnung isotypspezifischer Antikörper (IgM, IgG, IgA) zum klinischen Stadium der Infektion. Auf Basis der mit natürlich induzierten YOPs erhaltenen Ergebnisse sollen ausgewählte YOP-Proteine mit hoher Spezifität und Sensitivität rekombinant in *Escherichia coli* hergestellt werden. Die aufgereinigten Proteine sollen dann entweder einzeln oder als Gemisch zur Entwicklung hochspezifischer und sensitiver Immunoblotting- und ELISA-Systeme eingesetzt werden.

4 nein

5 Doktoranden-Stipendium der Bayer AG , Leverkusen

Wissenschaftliche Veröffentlichungen 2002:

Bücher:

Beiträge in Sammelwerken /Kongressbeiträge

Roesler, U. and A. Hensel (2002): Protothecosis control in an infected Saxonian dairy herd by serological testing, removal of reactors, and improved hygiene. Proceedings of the XXII World Buiatrics Congress. World association of Buiatrics, Hannover 2002, 446-813.

Lücker, E., Alter, Th., Biedermann, W., Aupperle, H., Hardt, M., Schlottermüller, B., Lange, B., Barrero Moreno, J., Agazzi, M.E., Overhoff, M., Hensel, A., Anklam, E., Schoon, H.-A., Groschup, M.:

Nachweisverfahren von SRM in Fleischerzeugnissen: Möglichkeiten und Grenzen.
43. Arbeitstagung des DVG-Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene, 24. – 27.09.2002, Garmisch-Partenkirchen. Proceedings DVG Gießen, im Druck

Lachhab, S., Biedermann, W., Lücker, E. und Hensel, A.:

Nachweis und Quantifizierung von Geweben des Zentralnervensystems (ZNS) als spezifiziertes Risikomaterial (SRM) in Fleischprodukten mittels Gaschromatographie-Massenspektroskopie (GC-MS).

43. Arbeitstagung des DVG-Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene, 24. – 27.09.2002, Garmisch-Partenkirchen. Proceedings DVG Gießen, im Druck

Barrero Moreno, J., Lücker, E., Barcarolo, R., Biedermann, W., Bau, A., Agazzi, M. E., Hensel, A., Anklam, E.:

Detection of tissues of the central nervous system by means of gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and on line liquid chromatography-gas spectrometry (LC-GC) in meat products.

43. Arbeitstagung des DVG-Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene, 24.-27.09.2002, Garmisch-Partenkirchen. Proceedings DVG Gießen, im Druck

Beiträge in Zeitschriften:

Konstantinos Nikolaou, Andreas Hensel, Uwe Roesler, Martin Ganter, Thorsten Arnold, Heinrich Neubauer (2002): Seroprävalenz von anti-*Yersinia*-Antikörpern in deutschen Ziegenbeständen. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.*, 115:326.

Melanie Hassel, Peter Burger, Thorsten Arnold, Uwe Roesler, Andreas Hensel und Holger C. Scholz (2002): Ermittlung der systemischen und lokalen Immunantwort gegen *Yersinia outer proteins* (YOPs) in experimentell mit *Yersinia enterocolitica* infizierten Schweinen. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.*, 115:334.

Thorsten Arnold, Gerald Reiner, Holger Scholz, Uwe Roesler, Heike Marg und Andreas Hensel (2002): Unterschiedlicher Verlauf einer experimentellen *Salmonella* Typhimurium DT 104-Infektion bei chinesischen Meishan-Schweinen und Zweirassen-Hybridschweinen. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.*, 115:347.

Roesler, U. and A. Hensel (2002): Longitudinal analysis of *Prototheca zopfii*-specific immune responses: Correlation with disease progression, shedding, and carriage in dairy cows. *J. Clin. Microbiol.*, 2003. 41: 1181-1186

Roesler, U., H. Scholz, and A. Hensel (2002): Emended phenotypic characterization of *Prototheca zopfii*: a proposal for three biotypes, and standards for their identification. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, Papers in Press, published online 13 December 2002. DOI 10.1099/ijss.0.02556-0.

Biedermann, W., Lücker, E. und Hensel, A.:

Detection of the central nervous system (CNS) as specifies risk material (SRM) in meat products by means of gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS).

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 115, 3-4, 131-134 (2002)

Herold, T., Biedermann, W., Schlegelmilch, M. und Hensel, A.:

Einfluss verschiedener Filtermaterialien auf den Wirkungsgrad von Biofiltern zur Reinigung von Rotteabluft einer Kompostieranlage.

Gefahrstoffe – Reinhaltung der Luft 62, 4, 147-153 (2002)

Lücker, E., Biedermann, W., Lachhab, S. und Hensel, A.:

Verfahren zum Nachweis von im Hinblick auf die BSE unerwünschten Zutaten in Fleischerzeugnissen. 7. Nachweis von Hirngewebe mit der Gaschromatographie-Massenspektrometrie. *Fleischwirtschaft* 82, 10, 123-128 (2002)

Klein R, Baranyi, U, Rossler, N, Greineder, B, Scholz, H, and Witte A. *Natrialba magadii* virus phiCh1: first complete nucleotide sequence and functional organization of a virus infecting a haloalkaliphilic archaeon. *Mol. Microbiol.* 45:851-63 (2002)

Mitgliedschaft in Redaktionskollegien, Herausgebergremien u. ä.

Prof. Dr. Andreas Hensel:

- Berliner und Münchner Tierärztliche Wochenzeitschrift (BMTW); Funktion als Mitherausgeber
- Journal of Veterinary Medicine B; Editor-in-Chief

Dissertationen 2001 (intern):

Arnold, Thorsten: Nachweis von Salmonella und Yersinia enterocolitica im persistent infizierten Schwein. Diss 2002