



Bundesministerium
für Bildung
und Forschung



Zoonosen-Forschung: Gemeinsame Herausforderung für Veterinär- und Humanmedizin

Tagungsband zum BMBF-Workshop am 24./25. September 2007 in Berlin

Impressum

Herausgeber

Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF)
Referat Öffentlichkeitsarbeit
11055 Berlin

Bestellungen

schriftlich an den Herausgeber

Postfach 30 02 35

53182 Bonn

oder per

Tel.: 01805 262302

Fax: 01805 262303

(0,14 Euro/Min. aus dem deutschen Festnetz)

E-Mail: books@bmbf.bund.de

Internet: <http://www.bmbf.de>

Redaktion

Projektträger im DLR, Gesundheitsforschung

Gestaltung

MasterMedia GmbH, Hamburg

Druckerei

Dürmeyer GmbH, Hamburg

Bonn, Berlin 2007



Bundesministerium
für Bildung
und Forschung



Zoonosen-Forschung: Gemeinsame Herausforderung für Veterinär- und Humanmedizin

Tagungsband zum BMBF-Workshop am 24./25. September 2007 in Berlin





Vorwort

Zoonosen, also vom Tier auf den Menschen übertragbare Infektionskrankheiten, haben in den vergangenen Jahrzehnten stark zugenommen. Nahezu zwei Drittel aller bekannten humanpathogenen Erreger werden vom Tier zum Menschen weitergegeben. Das schnelle Wachstum der Weltbevölkerung und die gestiegene Mobilität der Menschen, aber auch die Veränderungen in der Nutztierzucht und -haltung haben bedrohliche Folgen: Einerseits hat sich das Expositionsrisiko des Menschen gegenüber zoonotischen Erregern deutlich erhöht. Andererseits begünstigen schnelle Reisemöglichkeiten die rasche Ausbreitung von Epidemien.

Bei fast allen gefährlichen neuen Erregern von Infektionskrankheiten – wie etwa SARS, Vogelgrippe oder Ebola – handelt es sich um Zoonosen. Um diese Infektionskrankheiten besser bekämpfen zu können, brauchen wir dringend ein besseres Verständnis des Übergangs der Erreger auf einen neuen Wirt und der für sein Überleben notwendigen Anpassungsvorgänge.

Dabei müssen Human- und Veterinärmedizin eng zusammenarbeiten. Bislang verläuft die veterinär- und die humanmedizinische Forschung zu diesem Thema zu oft nebeneinander her. Der Aufbau geeigneter Strukturen für die Zusammenarbeit kann erhebliche Synergien mobilisieren und Prävention, Diagnose und Therapie von zoonotischen Infektionskrankheiten langfristig verbessern.

Vor diesem Hintergrund hat die Bundesregierung im Jahre 2006 ressortübergreifend Förderinitiativen zum Thema Zoonosen gestartet. Auf dem vom Bundesministerium für Bildung und Forschung initiierten Workshop am 24. und 25. September 2007 in Berlin werden die Projekte vorgestellt. Gleichzeitig sollen mögliche verbundübergreifende Aktivitäten und eine Plattform zur Koordination der Zoonosen-Forschung in Deutschland entwickelt werden. Unser Ziel ist eine breite Abstimmung und Zusammenarbeit der verschiedenen Aktivitäten, um die Kooperation von Human- und Veterinärmedizinern nachhaltig zu stärken.

A handwritten signature in black ink, which reads "Annette Schavan". The signature is written in a cursive, flowing style.

Dr. Annette Schavan, MdB
Bundesministerin für Bildung und Forschung

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|----------|---|-----------|
| 1 | Tagungsprogramm | 6 |
| 2 | BMBF-Verbünde zu zoonotischen Infektionskrankheiten im Rahmen des Gesundheitsforschungsprogramms der Bundesregierung | 8 |
| | Einleitung | 8 |
| 2.1 | FBI-Zoo – Lebensmittelbedingte zoonotische Infektionen beim Menschen | 8 |
| 2.2 | BOTULINOM – Die Zoonose Botulismus: Der Weg des Botulinum-Toxins von der Bakterie in die Zielzelle | 15 |
| 2.3 | ZooMAP – Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis: Von der Johne’schen Krankheit zum Morbus Crohn | 19 |
| 2.4 | Zoonotische Chlamydien – Modelle für chronische und persistente Infektionen bei Mensch und Tier | 22 |
| 2.5 | Erforschung der molekularen Pathogenese des Q-Fiebers und ihre Anwendung in der Diagnostik und Epidemiologie in Deutschland | 25 |
| 2.6 | TOXONET01 – Ein Netzwerk zur Toxoplasmose bei Mensch und Tier in Deutschland: Pathogenese, Risikofaktoren und Kontrolle | 27 |
| 2.7 | Arbovirusinfektionen in Deutschland: Pathogenese, Diagnostik und Überwachung | 30 |
| 2.8 | SARS – Ökologie und Pathogenese einer archetypischen Zoonose | 34 |
| 2.9 | FLURESEARCHNET – Molekulare Signaturen als Determinanten der Pathogenität und der Speziestransmission von Influenza A-Viren | 37 |
| 3 | BMELV-Vorhaben zur Bekämpfung von Zoonosen bei Tieren im Rahmen des Programms zur Innovationsförderung | 42 |
| | Einleitung | 42 |
| 3.1 | Frühdiagnostik von Infektionen mit Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis (MAP) bei Rindern | 42 |
| 3.2 | Entwicklung eines diagnostischen Systems zur Entdeckung von West-Nil-Virus-Infektionen und Entwicklung eines gentechnischen Impfstoffs gegen diese Infektion | 42 |
| 3.3 | Neuartiger Ansatz zur Entwicklung eines heterosubtypischen Marker-Impfstoffs gegen die aviäre Influenza beim Geflügel | 43 |
| 3.4 | Entwicklung innovativer Therapieformen für die Behandlung von Infektionen mit Influzaviren | 43 |
| 4 | Forschungs-Sofortprogramm Influenza des Bundes (FSI) | 44 |
| | Einleitung | 44 |
| 4.1 | Projekte am Robert Koch-Institut (RKI) | 44 |
| 4.2 | Projekte am Paul-Ehrlich-Institut (PEI) | 47 |
| 4.3 | Projekte am Friedrich-Loeffler-Institut (FLI) | 48 |
| | Kontaktadressen – Teilnehmer des Workshops | 56 |
| | Anhang | 64 |
| | Pressemitteilung des BMBF, BMELV und BMG zur Forschungsvereinbarung Zoonosen vom 22. März 2006 | 64 |
| | Bundesministerium für Bildung und Forschung – Richtlinien zur Förderung von Forschungsverbänden zu zoonotischen Infektionskrankheiten vom 1. April 2006 | 64 |
| | Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz – Richtlinie über die Förderung innovativer Vorhaben zur Bekämpfung von Zoonosen bei Tieren im Rahmen des Programms zur Innovationsförderung vom 8. Juni 2006 | 68 |

1 Tagungsprogramm

ZOONOSEN-FORSCHUNG

Workshop am 24. und 25.09.2007 in Berlin

Montag, 24.09.2007

| | |
|-----------------|---|
| 12.00–13.00 Uhr | Anreise und Mittagsimbiss |
| 13.00–13.15 Uhr | Begrüßung und Ziel des Workshops: Dr. Hausdorf, BMBF |
| 13.15–16.50 Uhr | Vorstellung der geförderten Projekte (BMBF, BMELV) zu zoonotischen Infektionskrankheiten (BMBF-Verbünde: 10 Min. Vortrag, 10 Min. Diskussion, BMELV-Einzelprojekte: 5 Min. Vortrag, 5 Min. Diskussion) |
| | Bakterien und Parasiten – Moderation: Prof. Wagner und Prof. Gareis |
| 13.15–13.35 Uhr | BMBF-Verbund: FBI-Zoo (Prof. Wieler) |
| 13.35–13.55 Uhr | BMBF-Verbund: BOTULINUM (Prof. Böhnelt) |
| 13.55–14.15 Uhr | BMBF-Verbund: ZooMAP (PD Dr. Goethe) |
| 14.15–14.25 Uhr | BMELV-Vorhaben: MAP bei Rindern (Prof. Bültel) |
| 14.25–14.45 Uhr | BMBF-Verbund: Zoonotische Chlamydien (Dr. Sachse) |
| 14.45–15.05 Uhr | BMBF-Verbund: Coxiella – Q-Fieber (Prof. Neubauer) |
| 15.05–15.25 Uhr | BMBF-Verbund: TOXONET01 (Prof. Liesenfeld) |
| 15.25–16.00 Uhr | Kaffeepause |
| | Viren – Moderation: Prof. Erfle |
| 16.00–16.20 Uhr | BMBF-Verbund: Arbovirusinfektionen (Prof. Hufert) |
| 16.20–16.30 Uhr | BMELV-Projekt: West-Nil-Virus (Dr. Ulbert) |
| 16.30–16.50 Uhr | BMBF-Verbund: SARS (Prof. Drosten) |
| | Moderation: Prof. Tanner |
| 16.50–20.00 Uhr | Vorstellung und Diskussion der Ideen für verbundübergreifende Projekte |
| 16.50–17.10 Uhr | Vorstellung der Telematikplattform für Medizinische Forschungsnetze e. V. (TMF) (Schütt) |
| 17.10–18.00 Uhr | Vorstellung von Ideen für verbundübergreifende Projekte <ul style="list-style-type: none"> • Hochdurchsatz-DNA-(Re)Sequenzanalyse zur Typisierung von Zoonose-Erregern für vergleichende standardisierte epidemiologische Studien (Prof. Harmsen) • Prospektive Studie zur Gefährdung von Menschen durch Zoonosen in der Landwirtschaft (Prof. Drosten) • Neuartige Bioinformatik-Tools zur Analyse von Genomen von Zoonose-Erregern (Dr. Blöcker) • Hochdurchsatz-Genotypisierung von Zoonose-Erregern (Dr. Pawlita) • Mikrosystemforschung und deren Anwendung in der Zoonose-Forschung (Prof. Hufert) |
| 18.00–20.00 Uhr | Diskussion und Priorisierung der Projekte |
| 20.00–22.00 Uhr | Gemeinsames Abendessen, Zeit für Diskussionen |

Dienstag, 25.09.2007**Moderation: Prof. Ackermann**

9.00–10.50 Uhr

Influenza-Forschung in Deutschland

9.00–9.20 Uhr

BMBF-Verbund: FLURESEARCHNET (Prof. Ludwig)

9.20–10.00 Uhr

Forschungs-Sofortprogramm Influenza des Bundes (RKI, PEI, FLI)

9.20–9.35 Uhr Projekte am RKI (PD Dr. Wolff)

9.35–9.50 Uhr Projekte am FLI (Prof. Mettenleiter)

9.50–10.00 Uhr Projekte am PEI (Prof. Sutter)

10.00–10.20 Uhr

Vorstellung der BMELV-Projekte zur aviären Influenza

- Entwicklung eines Markerimpfstoffs für Geflügel (Dr. Apfel)
- Entwicklung innovativer Therapieverfahren (Prof. Schubert)

10.20–10.50 Uhr

Diskussion einer möglichen Koordination und Zusammenarbeit der Influenza-Forschung in Deutschland

10.50–11.20 Uhr

Kaffeepause

Moderation: Dr. Ammon

11.20–12.30 Uhr

Ist-Zustand: Ressortaufgaben (BMG, BMELV)

11.20–11.35 Uhr

Humanmedizin (PD Dr. Krause, RKI):

Überwachung der Zoonosen (z. B. Datenbanken, Meldepflicht)

Zoonosen-Forschung im RKI

11.35–11.50 Uhr

Veterinärmedizin (Dr. Schneider, BMELV):

Überwachung der Zoonosen (z. B. Datenbanken, Meldepflicht)

Zoonosen-Forschung im FLI und im BfR

11.50–12.30 Uhr

Plenumsdiskussion mit RKI, FLI, BfR: Möglichkeiten der Koordination und Zusammenarbeit zwischen Human- und Veterinärmedizin auf institutioneller Ebene

12.30–13.15 Uhr

Mittagsimbiss

Moderation: Prof. Tanner

13.15–14.30 Uhr

Verbundübergreifende Aktivitäten (BMBF-Verbünde)**(Plenumsdiskussion mit Koordinatoren der BMBF-Verbünde)**

Zusammenfassung der Diskussion vom Abend, Ansätze und weiteres Vorgehen

14.30–16.30 Uhr

Forschungsplattform für Zoonosen**(Plenumsdiskussion mit Koordinatoren, FLI, RKI, PEI, BfR)**

14.30–14.50 Uhr

Nationale TSE-Forschungsplattform – ein Modell: Erfahrungen, Ansatzpunkte und Entwicklungsmöglichkeiten (Prof. Groschup)

14.50–16.30 Uhr

Diskussion und Konsensfindung für die Anforderungen an eine Forschungsplattform für Zoonosen

16.30 Uhr

Weiteres Vorgehen (BMBF, BMG und BMELV)

Ende spätestens um 17.00 Uhr

2 BMBF-Verbünde zu zoonotischen Infektionskrankheiten im Rahmen des Gesundheitsforschungsprogramms der Bundesregierung

Einleitung

Bei praktisch allen neuen Erregern der letzten Jahre (wie SARS) wie auch bei vielen aktuellen Infektionskrankheiten handelt es sich um Zoonosen. Dies sind Infektionskrankheiten, die von Tieren auf Menschen und Menschen auf Tiere übertragen werden. Daher ist ein besseres Verständnis des Übergangs eines Erregers auf einen neuen Wirt von zentraler Bedeutung für die Bekämpfung von Infektionskrankheiten. Um das Themenfeld der zoonotischen Infektionserkrankungen erfolgreich bearbeiten zu können, ist die Zusammenarbeit von Human- und Veterinärmedizin eine grundlegende Voraussetzung. Bislang verlaufen veterinär- und humanmedizinische Forschungen zu diesem Thema in Deutschland – wie auch international – jedoch meist unabhängig voneinander; es gibt zu wenige Schnittstellen. Der Aufbau geeigneter Kooperationsstrukturen könnte erhebliche Synergien mobilisieren. Mit der Fördermaßnahmen soll daher neben dem inhaltlichen Fokus, der Stärkung der bisher defizitären Zusammenarbeit zwischen Human- und Veterinärmedizinern, auch ein wesentlicher struktureller Impuls gesetzt werden.

Es werden neun interdisziplinäre, nationale Forschungsverbünde zu zoonotischen Infektionskrankheiten mit mindestens fünf Arbeitsgruppen unter obligater Beteiligung von Veterinär- und Humanmedizin gefördert. In jedem Verbund sollen die in Deutschland vorhandenen Kompetenzen aus Human- und Veterinärmedizin zu einem relevanten zoonotischen Erreger oder zu Erregergruppen zusammengeführt werden.

Inhaltlich werden sich die Verbünde darauf konzentrieren, die Transmission relevanter zoonotischer Erreger vom Tier auf den Menschen zu erforschen. Dabei sollen Projekte von der Grundlagenforschung bis zur klinischen Forschung auf folgenden Gebieten bearbeitet werden:

- + Ätiologie und Pathogenese
- + Diagnostik/Typisierung
- + Epidemiologie/Surveillance

Eine wichtige Komponente dieser Fördermaßnahme sind verbundübergreifende Aktivitäten, für die ebenfalls Mittel beantragt werden können. Eine Diskussion darüber soll im Rahmen des Workshops geführt werden. Mögliche übergreifende Forschungsaktivitäten betreffen:

- + die Harmonisierung und Standardisierung der Methoden zur Diagnostik/Typisierung der Erreger,
- + die Koordination der Datenerfassung und Entwicklung

zielgerichteter biometrischer Auswertungsstrategien der Daten, ggf. Zusammenführung der Daten aus Human- und Veterinärmedizin in einer zentralen Datenbank (Für den Aufbau einer Datenbank ist ein nachhaltiges Finanzierungs- und Nutzungskonzept auch nach Ablauf der Förderung darzustellen.),

- + eine Übersicht und Koordinierung der bestehenden Depositorien (z. B. DNA, Stämme) für zoonotische Erreger in Human- und Veterinärmedizin,
- + Methoden der Surveillance von Infektionskrankheiten bei Tier und Mensch.

Die Fördermaßnahme wird zunächst mit etwa 20 Mio. Euro für drei Jahre gefördert. Der Bekanntmachungstext des BMBF vom 1.4.2006 ist im Anhang (S. 64–67) abgedruckt.

2.1 FBI-Zoo – Lebensmittelbedingte zoonotische Infektionen beim Menschen

Verbundkoordination

Prof. Dr. Lothar H. Wieler
 Institut für Mikrobiologie und Tierseuchen
 Fachbereich Veterinärmedizin, Freie Universität Berlin
 Phillipstraße 13, 10115 Berlin
 Tel.: 030 2093-6300, Fax: 030 2093-6067
 E-Mail: wieler.lothar@vetmed.fu-berlin.de

Laufzeit: 1.10.2007–30.9.2010

In diesem Verbund sollen die für Europa humanmedizinisch bedeutsamen bakteriellen Zoonoseerreger, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Yersinia enterocolitica* und *Y. pseudotuberculosis* sowie *Campylobacter*-Spezies hinsichtlich ihrer ökologischen, epidemiologischen und infektiologischen Leistungen und Eigenschaften untersucht werden. Diese Erreger können entweder auf direktem Weg vom Tier auf den Menschen bzw. von Mensch zu Mensch übertragen werden oder indirekt über Tierprodukte (vor allem Lebensmittel) oder kontaminierte Pflanzen. Trotz zahlreicher antiepidemischer und hygienischer Maßnahmen, die unbestritten in der Vergangenheit erfolgreich waren, gehören diese Erreger besonders in ihrer lebensmittelbedingten epidemischen Verbreitung zu den häufigsten bakteriellen Ursachen von Infektionskrankheiten weltweit, auch in Deutschland. Darüber hinaus verursachen sie beim Menschen extraintestinale Komplikationen wie reaktive Arthritiden, das hämolytisch-urämische Syndrom

(HUS) oder das Guillain-Barré Syndrom (GBS). Nicht nur die ökonomischen Verluste durch Sperrung von Lebensmittelchargen (viele Mrd. Euro pro Jahr) sondern auch die Gesundheitskosten (z. B. allein für Salmonellosen werden in Deutschland mehr als eine Mrd. Euro direkte Kosten pro Jahr geschätzt, dabei sind die durch Hospitalisierung aufgetretenen Mehrkosten nicht eingerechnet) sind unvertretbar hoch.

Um den wachsenden Herausforderungen durch die zunehmende Globalisierung und Industrialisierung der landwirtschaftlichen Produktion und des Handels mit entsprechenden Produkten sowie der damit verbundenen Risiken einer Verbreitung und Übertragung alter und neuer Zoonoseerreger auf den Menschen wirksam begegnen zu können, haben sich in diesem Netzwerk Wissenschaftler aus der Human- und Veterinärmedizin mit dem Ziel zusammengeschlossen, wissenschaftlich begründete Maßnahmen zu ihrer Bekämpfung und Zurückdrängung zu entwickeln und dem öffentlichen Gesundheitswesen zur Einführung vorzuschlagen. Aber auch Auswirkungen ökologischer Tierhaltung auf das Vorkommen und die Verbreitung humanpathogener Pathotypen sollen untersucht werden. Dazu sollen die Erreger hinsichtlich ihrer Genomvariabilität (Pathotyp, Klonalität), der Transkriptomvariabilität (virulenter Phänotyp), ihrer Umweltadaptation, ihrer natürlichen Reservoirs und Adaptationsmechanismen sowie ihrer Interaktion mit dem Wirt untersucht werden. Gleichzeitig sollen durch Fall-Kontroll-Studien die Risikofaktoren für ihre Übertragung ermittelt werden. Die Grundlagen für die Beantwortung der Frage, ob es Transmissionen von Zoonose- Erregern als aktiven (intrinsische biol. Eigenschaften der Erreger, z. B. Biofilmbildung, VBNC etc.) oder nur passiven Prozess (Kontaminationen) gibt, bestimmen die Ergebnisse aus analytischen Vergleichen der Isolate aus der Umwelt (natürliches Reservoir), von landwirtschaftlichen Nutztieren (mögliches transientes Reservoir), aus Lebensmitteln (transientes Reservoir) und vom Menschen. Dabei muss davon ausgegangen werden, dass sich die einzelnen Erreger diesbezüglich unterschiedlich verhalten.

Für die Diagnostik und Typisierung der Enteritiserreger sollen insbesondere DNA-Sequenz-basierte Verfahren aufgrund der quantifizierbaren Datenqualität, der hohen Portabilität und Reproduzierbarkeit der Daten sowie deren einfacher Organisation in Datenbanken ausgewählt und für die Belange der Human- und Veterinärmedizin evaluiert, standardisiert sowie routine-tauglich gestaltet werden. Sobald die genetische Information – unabhängig von der Sequenzanalyse-Technik – in Form ihrer DNA-Sequenz vorliegt, verliert sie nicht mehr ihre Gültigkeit und Vergleichbarkeit, wie es sonst häufig bei einem Methodenwechsel geschieht („data for eternity“). Zudem ist eine einheitliche Nomenklatur aufgrund der Datenstruktur („ACGT“) leicht möglich und vereinfacht den Informationsaustausch zwischen verschiedenen Laboratorien. Weitere genetische Zielregionen können jederzeit problemlos zu alten Datensätzen anderer Gene hinzugefügt und gemeinsam ausgewertet werden („additiver“ Charakter). Durch den im Rahmen des Projekts durchgeführten Vergleich der Ergebnisse aus den sequenzbasierten Verfahren mit klassischen Methoden (Serotypie, Lysotypie) und bandenbasierten Methoden (PFGE, MLVA) sollen die verschiedenen Typisie-

rungsverfahren hinsichtlich ihrer Durchführbarkeit (Validität, Schnelligkeit, Ökonomie etc.) und in ihrer Diskriminierungspotenz evaluiert werden.

Für vergleichende Genomanalysen wird überwiegend die Mikroarray-Technologie (syn. Chip-Technologie) angewendet, mit der es möglich ist, innerhalb eines Reaktionsansatzes viele Tausende Gene parallel zu analysieren. Noch fehlende partielle Genomsequenzdaten, wie bei den dominierenden europäischen *Yersinia enterocolitica* O3 Serotyp-Isolaten, sollen ergänzt werden. Die Erstellung einer „Pathogenitäts-Matrix“ der Zoonoseerreger und die Entwicklung eines DNA-Chips (Pathochips), auf dem die pathogenitätsrelevanten Gene der o. g. Erreger vereint sind, soll zu einer deutlich verbesserten Risikoabschätzung führen. Durch das Monitoring von relevanten Umweltisolaten auf potenzielle Virulenzgene können zukünftig sowohl das Auftreten als auch die Verbreitung von charakteristischen Determinanten frühzeitig erkannt werden.

Des Weiteren sollen die molekularen Leistungen und Eigenschaften der großen Persistenzfähigkeit dieser Erregergruppen im landwirtschaftlichen Nutztier und in bestimmten biotischen und abiotischen Habitaten erfasst werden. Neuere Untersuchungen weisen darauf hin, dass ganz andere Reservoirs oder das eigentliche (natürliche) Reservoir dieser Erregergruppen außerhalb des Bereichs der Landwirtschaft zu suchen sein müssen und dass laufend Transmissionen zwischen belebten (z. B. Insekten, Nager, Pflanzen, Vögel) und unbelebten (z. B. Boden, Oberflächenwasser) Umwelthabitaten auf der einen Seite und der landwirtschaftlichen Produktion (verschiedene Formen der Stall- und Produktionsbedingungen sowie der unterschiedlichen Tierarten) auf der anderen Seite erfolgen. Die Verbreitung der Erreger auf den Menschen via Lebensmittel oder direktem Kontakt und der damit verbundenen Möglichkeit des Auftretens von Infektionskrankheiten sowie öffentlicher und gesundheitspolitischer Aufmerksamkeit stellt letztendlich ökologisch nur die Spitze des Eisbergs dar. Da diese Erreger in der Regel unauffällig (quasi attenuiert) in den Bereichen der landwirtschaftlichen Produktion vorkommen, ggf. auch attenuiert im originalen Reservoir (Pflanzen, Insekten, Nagern, Vögel, Boden etc.), bleiben sie im Reservoir und auf ihren Transmissionswegen weitgehend unerkannt („Black Box“). Im Ökosystem Lebensmittel können die Zoonoseerreger während der Herstellung, Verarbeitung und Lagerung erneut verschiedenen Stressbedingungen ausgesetzt sein, wie z. B. Nährstoffmangel, Temperaturunterschieden, unterschiedlichen pH-Werten, oxidativem oder osmotischem Stress, Druck, Antibiotika, Konservierungsmitteln sowie dem Wettbewerb mit anderen Mikroorganismen. Die Bedingungen in der Matrix Lebensmittel und deren Auswirkung auf die Infektionsdosis und Virulenz, die Modulation durch horizontalen Gentransfer, die Umweltresistenz der Erreger sowie genetische Veränderungen und die Vorbereitung auf die Infektion sind bisher nicht für alle Erreger hinreichend bekannt und sollen in diesem Projekt untersucht werden. Erst wenn die Zoonoseerreger Krankheiten beim Menschen erzeugen und in Surveillance-Programmen auffällig werden, erlangen sie infektiologisches, epidemiologisches und öffentliches Interesse.

Teilprojekt 1 Wirtsspezifische Kolonisation von enteropathogenen *Yersinia* spp. und Persistenz in Lebensmitteln

Projektleitung

Prof. Dr. Petra Dersch
Institut für Mikrobiologie, Technische Universität Braunschweig
Spielmannstraße 7, 38106 Braunschweig
Tel.: 0531 391-5803, Fax: 0531 391-5854
E-Mail: p.dersch@tu-bs.de

Zusammenfassung

In diesem Projekt sollen wirtsspezifische Kolonisationsmechanismen von enteropathogenen *Yersinia*-Isolaten von Mensch und Tier charakterisiert werden, um bakterielle Strategien zu definieren, die bei klinisch inapparenten (Schwein) bzw. bei symptomatischen Infektionen (Mensch) eine tragende Rolle spielen und/oder zur Persistenz in Lebensmitteln beitragen. Dafür sollen i) die Fähigkeit verschiedener *Yersinia*-Subtypen, bestimmte tierische und menschliche Zellen/Gewebe zu kolonisieren, mit *in vitro*-, *in vivo*- und *ex vivo*-Modellen untersucht, ii) ihre Fähigkeit in Lebensmitteln zu persistieren getestet, iii) bedeutende wirtsspezifische *Yersinia*-Kolonisationsfaktoren identifiziert und evaluiert, iv) die Expression dieser Faktoren unter entsprechenden Bedingungen bestimmt und v) die wirtsspezifische Immunantwort auf verschiedene *Yersinia*-Isolate untersucht werden. Erkenntnisse über wirtsspezifische Kolonisationsfaktoren können zur Identifikation und Typisierung von *Yersinia* und zur Herstellung von Diagnostika genutzt werden. Zudem stellen sie die Grundlage dar, um neue Strategien und antimikrobielle Agenzien zu entwickeln, die eine Besiedelung mit zoonotischen Erregern verhindern.

Teilprojekt 2 Molekulare Charakterisierung der Pathogenität von *Yersinia enterocolitica* Serotyp O3: ein genombasierter Ansatz

Projektleitung

Prof. Dr. Dr. Jürgen Heesemann/Dr. Alexander Rakin
Max von Pettenkofer-Institut, Lehrstuhl Bakteriologie
Ludwig-Maximilians-Universität München
Tel.: 089 5160-5200, Fax: 089 5160-5202
E-Mail: heesemann@m3401.mpk.med.uni-muenchen.de
rakin@m3401.mpk.med.uni-muenchen.de

Zusammenfassung

Das Vorhaben befasst sich mit der genombasierten Analyse der Pathogenität von *Yersinia enterocolitica* Serotyp O3. Die *Yersinia*-Infektionen (Infektionen mit *Y. enterocolitica* oder *Y. pseudotuberculosis*) sind neben Salmonellosen und Campylobacteriosen die dritthäufigsten bakteriellen Enteritiden in Deutschland und in Europa. Über 80 Prozent der gemeldeten Fälle werden durch *Y. enterocolitica* Serotyp O3 verursacht. Dieser Serotyp spielt als latenter Erreger von Zoonosen bei Schlacht- und Wildschweinen eine wichtige

Rolle. Bisher haben sich die infektionsbiologischen Forschungen auf *Y. pestis* (Pesterreger), *Y. pseudotuberculosis* und *Y. enterocolitica* Serotyp O8 und Serotyp O9 konzentriert – alles Erreger, die in Deutschland eine untergeordnete Rolle spielen. Um die Pathogenität, Wirtsspezifität (inkl. Adaptation) und Epidemiologie von *Y. enterocolitica* O3 besser zu verstehen, haben wir den genomischen Ansatz gewählt. Die Genomsequenz von *Y. enterocolitica* O3 liegt in 145 Contigs vor und soll jetzt durch gezielte Sequenzanalyse der fehlenden Lücken vervollständigt werden. Sequenzhomologievergleiche werden Hinweise auf potenzielle Pathogenitätsgene geben, die dann durch gezielte Gen-Inaktivierung („reverse genetics“) auf ihre vermutete Funktion in Zellkulturen sowie im Maus- und Schweine-Infektionsmodell überprüft werden (zusammen mit TP 1 und TP 12). Die Genomsequenz wird die Grundlage für die Herstellung eines Patho-Mikroarray sein (Kooperation mit TP 4, TP 5 und TP 16).

Teilprojekt 3 Gefahrenidentifizierung von *Salmonella* in der Lebensmittelkette

Projektleitung

Dr. Reiner Helmuth/Dr. Burkhard Malorny
Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR)
Diedersdorfer Weg 1, 12277 Berlin
Tel.: 030 8412-2233 (Helmuth), -2237 (Malorny),
Fax: 030 8412-2953
E-Mail: reiner.helmuth@bfr.bund.de
burkhard.malorny@bfr.bund.de

Zusammenfassung

Ziel des Projekts ist es, eine Gefahrenidentifizierung für *Salmonella*-Stämme durchzuführen, die aus lebensmittelliefernden Tieren, der Lebensmittelkette und den daraus resultierenden Produkten isoliert wurden. Der genetische Inhalt wird mit Isolaten, die vom Menschen stammen, verglichen. Die Daten werden für eine potenzielle Risikoabschätzung von Salmonellen verwendet. Es wird ein DNA-Mikroarray verwendet werden, der circa 300 Oligonukleotidproben von ausgewählten Zielgenen enthält (Housekeeping-Gene, Virulenz- und Resistenzmarker, mobile Elemente). Die Daten über die An- bzw. Abwesenheit von bestimmten Eigenschaften werden mit einer spezifischen Software analysiert und die Ergebnisse mit anderen molekularbiologischen Typisierungsmethoden (PFGE, MLVA) verglichen. Der DNA-Mikroarray wird als diagnostische Methode zur Identifizierung des Risikopotenzials individueller *Salmonella*-Stämme am NRL-Salm etabliert. Die im Projekt gewonnenen Daten werden zur Interpretation der Eigenschaften eines Stammes benutzt, um ein besseres Verständnis des Risikopotenzials von Salmonellen in der Lebensmittelkette zu erhalten.

Teilprojekt 4 Shiga Toxin-produzierende *Escherichia coli*: Umwelt-Vektor-Mensch-Schnittstelle

Projektleitung

Prof. Dr. rer. nat. Helge Karch
Institut für Hygiene, Universitätsklinikum Münster
Robert-Koch-Straße 41, 48149 Münster
Tel.: 0251 83-55361, Fax: 0251 83-55341
E-Mail: helge.karch@uni-muenster.de

Zusammenfassung

Viele *Escherichia coli* kodieren Toxine, die ähnlich dem Shiga Toxin von *Shigella dysenteriae* Typ 1 sind. Enterohämorrhagische *E. coli* (EHEC) sind eine pathogene Untergruppe der Shiga-Toxin-produzierenden *E. coli* (STEC) mit der Fähigkeit, schwerwiegende Darmkrankheiten sowie das Hämolytisch-urämische Syndrom (HUS) auszulösen. Im Gegensatz dazu sind viele andere STEC wenig oder nicht pathogen für Menschen. Es gibt jedoch keinen Konsens über die Kriterien, mit denen EHEC von den weniger virulenten STEC unterschieden werden. Wir möchten jene Faktoren untersuchen, die einem STEC-Stamm die volle Virulenz verleihen sowie jene Mechanismen, die dem Auftreten neuer pathogener EHEC-Klone zugrunde liegen. Im Projekt IP 4 isolieren wir Krankheitserreger animaler Herkunft (*Yersinia spp.*, *Salmonella spp.*, *Campylobacter jejuni*, EHEC) aus humanen Stuhlproben und führen neue empfindliche Anreicherungs- und Isolierungsmethoden ein. Weiterhin entwickeln wir einen Pathochip, der die derzeit bekannten mit Virulenz und Fitness verbundenen STEC-Gene enthält, und vergleichen die Genprofile von 300 STEC-Stämmen, die von Patienten, Tieren sowie aus Lebensmitteln isoliert wurden. Relevante Gene werden in den Zoonosechips eingeschlossen. Wir analysieren die Interaktionen von STEC mit dem Darm, indem wir Darmepithel-Zelllinien von verschiedenen Wirtstieren verwenden. Zudem werden verschiedene Methoden angewandt, um die Interaktion von Krankheitserregern mit Epithelzellen aufzuzeigen. Dieser Ansatz wird zur Identifizierung der ausschlaggebenden Virulenz-Faktoren und -Mechanismen führen, auf denen die hohe Virulenz von EHEC basiert.

Teilprojekt 5 Single-Locus-Sequenz-Typisierung (SLST), Single Nucleotid Polymorphismus (SNP)-Nachweis und Mikroarray-basierte Typisierung von lebensmittelbedingten Pathogenen

Projektleitung

Dr. Alexander Mellmann
Institut für Hygiene, Universitätsklinikum Münster
Robert-Koch-Straße 41, 48149 Münster
Tel.: 0251 83-52316, Fax: 0251 83-55688
E-Mail: mellmann@uni-muenster.de

Zusammenfassung

Dieses Projekt konzentriert sich auf zwei wichtige Zoonose-Erreger: enterohämorrhagische *Escherichia coli* (EHEC) und *Campylobacter jejuni*. Während hoch pathogene Klone von EHEC in letzter Zeit in Deutschland und anderen Ländern als Ursache für das lebensbedrohliche Hämolytisch-urämische-Syndrom (HUS) vorkommen, ist *C. jejuni* die häufigste bakterielle Ursache für Durchfall in Deutschland und wird mit dem Guillain-Barré Syndrom (GBS) und anderen schwerwiegenden neurologischen Komplikationen assoziiert. Wir werten die in hohem Grade empfindlichen und spezifischen Diagnostik-Werkzeuge für den Nachweis von EHEC und von *C. jejuni* aus. Anschließend charakterisieren wir die genetischen Polymorphismen innerhalb der Shiga-Toxin-Gene (stx) von EHEC durch Single-Locus-Sequenz-Typisierung (SLST) und Single Nucleotid Polymorphismus (SNP)-Analysen. Weiterhin werden die stx-Transkription, -Expression und die biologische Aktivität von stx analysiert. Des Weiteren korrelieren wir die SNP-Genotypen mit dem klinischen Verlauf der EHEC-Infektion. Da die Epidemiologie von *C. jejuni* weitestgehend unklar ist, haben wir in hohem Grade reproduzierbare sequenzbasierte Methoden entwickelt und evaluiert, mit denen *C. jejuni* subtypisiert werden kann. Mithilfe dieser Methoden kann die Epidemiologie der *C. jejuni*-Infektion in Deutschland aufgeklärt werden. Außerdem entwickeln wir, mit dem Ziel das Pathogenitätsprofil zu identifizieren, einen Zoonosechip, der die Hauptvirulenz-Faktoren von *C. jejuni* enthält. Schließlich vergleichen wir die Resultate der Sequenzanalysen mit den klinischen Verläufen der Infektion.

Um das Wissen von erfahrenen Wissenschaftlern jungen Wissenschaftlern näher zu bringen, organisieren wir jährliche Sommerakademien und Labor-Workshops, in denen u. a. die Datenanalyse mit bioinformatischen und anderen Techniken (z. B. DNA-Sequenzanalysen, Fermenter-Kultur) unterrichtet und praktisch durchgeführt wird.

Teilprojekt 6 Der Einfluss von Hochrisiko-Lebensmitteln auf die Verbreitung und das Überleben von Shiga-Toxin-produzierenden *Escherichia coli* (STEC)

Projektleitung

Prof. Dr. rer. nat. Herbert Schmidt
Institut für Lebensmittelwissenschaft und Biotechnologie
Universität Hohenheim
Garbenstraße 28, 70599 Stuttgart
Tel.: 0711 459-22305, Fax: 0711 459-24199
E-Mail: hschmidt@uni-hohenheim.de

Zusammenfassung

Nachweis und Typisierung von Shiga-Toxin-produzierenden *Escherichia coli* (STEC) werden in Hochrisiko-Lebensmitteln wie Rinderhackfleisch, Rohwürsten und Rohmilch durch eine Kombination von Kultivierungsmethoden und Nukleinsäure-Amplifikations-Techniken geführt. Zusätzlich werden die Effekte der Nahrungsmittel-Matrix, der Aufbewahrung und der Lebensmittel-Herstellungsbedingungen, wie pH-Wert, Temperatur und

Wasseraktivität, auf das Überleben, die Übertragung und die Durchsetzungsfähigkeit von STEC durch Analyse von stress- und virulenzassoziierten Genen in Nahrungsmittelmodellen untersucht. Anzucht-Experimente mit STEC unterschiedlicher Serotypen in gefährdeten Nahrungsmitteln werden durchgeführt, um die Bedingungen zum Überleben und zur Übertragung der konkurrierenden und virulenten STEC-Stämme festzustellen. Zur Unterstützung der Netzwerkpartner werden die Nahrungsmittelproben auch auf das Vorkommen von *Campylobacter spp.* analysiert.

Teilprojekt 7 Multilocus-Sequenz-Analyse von *Campylobacter* spp. isoliert von Menschen, Tieren, der Umwelt und aus Lebensmitteln

Projektleitung

Prof. Dr. med. Sebastian Suerbaum
Medizinische Mikrobiologie und Krankenhaushygiene
Medizinische Hochschule Hannover
Carl-Neuberg-Straße 7, 30625 Hannover
Tel.: 0511 532-6770, Fax: 0511 532-4355
E-Mail: suerbaum.sebastian@mh-hannover.de

Zusammenfassung

Die enteropathogenen *Campylobacter* (*C. jejuni* und *C. coli*) sind wichtige intestinale Krankheitserreger bei Menschen, die Mehrheit der Fälle wird höchstwahrscheinlich zoonotisch übertragen. Trotz der großen Bedeutung von *Campylobacter spp.* in Deutschland als eine der zwei am häufigsten auftretenden bakteriellen Durchfallursachen, ist das Wissen über die Epidemiologie und Populationsgenetik dieser Erreger sehr limitiert. Wir führen Multilocus-Sequenz-Typing (MLST) von allen *Campylobacter*-Stämmen aus humanen Patienten sowie von vielen nicht humanen Isolaten durch, die innerhalb des FBI-Zoo-Projekts isoliert werden. In Verbindung mit „cutting-edge“-Methoden der Populationsgenetik sowie ergänzenden Typisierungssystemen, die in anderen FBI-Zoo-Gruppen durchgeführt werden, sollte die MLST das Verständnis der Epidemiologie und der Populations-Genetik der *Campylobacter spp.* signifikant erhöhen.

Teilprojekt 8 Faktoren der Wirtsspezifität und des Gewebetropismus von animalen und humanen *Campylobacter*-Isolaten

Projektleitung

PD Dr. Christine Josenhans
Medizinische Mikrobiologie und Krankenhaushygiene
Medizinische Hochschule Hannover
Carl-Neuberg-Straße 7, 30625 Hannover
Tel.: 0511 532-4348, Fax: 0511 532-4355
E-Mail: josenhans.christine@mh-hannover.de

Zusammenfassung

Campylobacter (*C. jejuni*, *C. coli*) sind sehr wichtige intestinale Krankheitserreger des Menschen weltweit, deren Übertragung sehr wahrscheinlich überwiegend zoonotisch erfolgt. Jedoch ist relativ wenig über die generellen als auch wirtsspezifischen Kolonisationsfaktoren oder das Virulenz-/Pathogenitätspotenzial bekannt. Wir wissen, dass *Campylobacter* in bestimmten Wirtsorganismen persistent kolonisiert ohne eine Krankheit hervorzurufen (ähnlich Kommensalen), während sie in anderen Wirten nicht chronisch persistieren (z. B. im Menschen). Andererseits verursachen sie in den letztgenannten Wirten gravierende Krankheiten. Die Gründe für diese wirtsspezifischen Eigenschaften der *Campylobacter*-Spezies sind unbekannt. Aber es ist nahe liegend, dass sie durch Adhäsions- und Kolonisations-Faktoren, wirtsspezifische Virulenzfaktoren oder immunmodulatorische Eigenschaften vermittelt werden. Das wichtigste Ziel dieses Projekts ist es, diese unterschiedlichen wirtsspezifischen Mechanismen der Kolonisierung und Pathogenität zu entschlüsseln. Dadurch werden neue Ansätze für spezifische Diagnostika, Impfstoffentwicklung sowie Krankheitsinterventionen ermöglicht.

Teilprojekt 9 Konventionelle Typisierung von Zoonose-Erregern – epidemiologische und Virulenz-Marker-Typisierung von *Salmonella enterica*

Projektleitung

Dr. Erhard Tietze/Dr. Angelika Fruth
Nationales Referenzzentrum für Salmonellen
und andere bakterielle Enteritis-Erreger (NRZ)
Robert Koch-Institut
Burgstraße 37, 38855 Wernigerode
Tel.: 03943 679-238, Fax: 03943 679-207
E-Mail: tietzee@rki.de, frutha@rki.de

Zusammenfassung

Das Projekt verbindet herkömmliche, traditionelle Typisierungsmethoden für Zoonose-Erreger mit neuen sequenzbasierten Typisierungsmethoden, wie Multilocus-Sequenz-Typisierung (MLST) und Singlelocus-Sequenz-Typisierung (SLST). Hauptaufgabe des NRZ ist die Durchführung einer Vielzahl anerkannter „klassischer“ Methoden für die Typisierung von *Salmonella*, *E. coli*, *Campylobacter* und *Yersinia*. Hierdurch wird allen weiteren Partnern des Netzwerkes FBI-Zoo ermöglicht, aus der Vielzahl der isolierten Stämme jene geeigneten auszuwählen, die in den TP 1, 2, 3 und 6 erforscht werden. Außerdem liefern unsere Analysen die Basis für den wichtigen gegenseitigen Vergleich der sequenzbasierten Daten mit den traditionellen Typisierungsmethoden, sodass neue methodische Ansätze in Bezug auf ihre Signifikanz für die Anwendung für kurz- und langfristige epidemiologische Fragestellungen validiert werden können. Epidemiologische Analysen und Virulenz-Fingerprinting von *S. enterica* aus ökologischen Reservoiren und von humanen klinischen Fällen enthalten neben klassischen auch neue molekulare Methoden, einschließlich MLVA und SLST des *sopA*.

Teilprojekt 10

DNA-Sequenz-basierte Typisierung von Shiga-Toxin-produzierenden *Escherichia coli* und Untersuchungen zur Wirtsspezifität von Zoonose-Erregern in einem Hühner-Infektionsmodell

Projektleitung

Prof. Dr. Lothar H. Wieler
 Institut für Mikrobiologie und Tierseuchen
 Fachbereich Veterinärmedizin, Freie Universität Berlin
 Philippstraße 13, 10115 Berlin
 Tel.: 030 2093-6300, Fax: 030 2093-6067
 E-Mail: wieler.lothar@vetmed.fu-berlin.de

Zusammenfassung

In diesem Projekt werden die folgenden drei Schwerpunkte bearbeitet: i) Etablierung moderner molekularer Methoden zur Typisierung von zoonotischen Shiga-Toxin-produzierenden *E. coli*-Isolaten (STEC) zu Identifizierung von Pathovaren und deren Assoziation mit klinischen Erkrankungen; ii) Monitoring, Isolierung und Charakterisierung von *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp., *Yersinia* spp. und STEC-Isolaten bei Trägertieren, zur Erfassung des aktuellen epidemiologischen Status dieser Zoonose-Erreger sowie zur Gewinnung aktueller Isolate für weitergehende molekulare Analysen; iii) Durchführung von Infektionsversuchen mit *Salmonella* und *Campylobacter* im Hühner-Infektionsmodell im Hinblick auf die Validierung der in den TP 8 (*Campylobacter*-Phylotypen) und TP 11 (*Salmonella*-Phylotypen) *in vitro* identifizierten wirtsspezifischen Faktoren *in vivo*.

Mittels Multilokus-Sequenz-Typisierung (MLST) werden die wichtigsten mit dem Hämolytisch-urämisches Syndrom (HUS) assoziierten Non-O157 STEC-Serotypen analysiert, um deren Phylotypen zu ermitteln sowie in Kombination mit der Identifizierung von Single-Nukleotid-Polymorphismen (SNPs) und der Singlelocus-Sequenz-Typisierung (SLST) von *eae*-Allelen eine schnelle molekulare Identifizierungsmethode zu etablieren.

In Ergänzung der Arbeiten der weiteren FBI-Zoo-Kooperationspartner werden wir neben der Isolierung von bovinen, humanrelevanten Isolaten auch andere potenzielle Trägertiere wie Ratten bakteriologisch auf das Vorhandensein von Zoonose-Erregern untersuchen (Quota-Sampling), die eine mögliche Übertragungsquelle über die Futtermittelkette bei lebensmittelliefernden Tieren darstellen.

Teilprojekt 11

Wirtsabhängige Faktoren in der Pathogenese und Persistenz von *Salmonella*-Serovaren in Tier und Mensch

Projektleitung

Dr. Karsten Tedin, PhD
 Institut für Mikrobiologie und Tierseuchen
 Fachbereich Veterinärmedizin, Freie Universität Berlin
 Philippstraße 13, 10115 Berlin
 Tel.: 030 2093-6300, Fax: 030 2093-6067
 E-Mail: tedin.karsten@vetmed.fu-berlin.de

Zusammenfassung

Ziel dieses Projekts ist die Analyse der Bedeutung des angeborenen Immunsystems für die speziesspezifische Erreger-Wirt-Auseinandersetzung (Persistenz und/oder Empfänglichkeit gegenüber Infektionen mit verschiedenen Phylotypen). Diese Analysen beinhalten *in vitro*-Untersuchungen mit verschiedenen humanen und animalen Zellkultursystemen sowie *in vivo*-Experimente im Hühner-Infektionsmodell. Unter Verwendung verschiedener animaler und humaner Epithel- und Makrophagenzelllinien wird die Rolle der angeborenen Immunität bei der Ausprägung von Empfänglichkeiten gegenüber spezifischen Sero- und Phylotypen untersucht, und zwar mittels Analyse der Genexpression des Wirtes selbst als auch durch den Einsatz von Hochdurchsatzverfahren mittels entsprechender Reportersysteme *in vitro*. Abschließend wird ein *in vivo*-Hühner-Infektionsmodell genutzt, um die zuvor erhobenen Ergebnisse aus den *in vitro*-Studien zu validieren und um zusätzlich Informationen über die Immunantwort des Huhnes zu erhalten. Ziel ist es, zu verstehen, warum ein Tier entweder erkrankt oder den Status eines transienten Reservoirs übernimmt und somit ein entsprechend gefährliches Zoonose-Potenzial darstellt.

Teilprojekt 12

Isolierung von Zoonose-Erregern von potenziellen Wirten und deren Umgebung sowie Infektionsversuche in einem Schweine-Infektionsmodell

Projektleitung

Prof. Dr. Gerald-F. Gerlach/Dr. Jutta Verspohl
 Institut für Mikrobiologie und Tierseuchen
 Zentrum für Infektionsbiologie
 Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
 Bischofsholer Damm 15, 30173 Hannover
 Tel.: 0511 856-7598, Fax: 0511 856-7697
 E-Mail: gfgerlach@gmx.de, jutta.verspohl@tiho-hannover.de

Zusammenfassung

Das Projekt stellt lebensmittelbedingte Krankheitserreger von lebensmittelliefernden Tieren, aus der Umgebung der lebensmittelliefernden Tiere sowie von lebenden Vektoren zur Verfügung. Weiterhin werden Infektionsexperimente in Schweinen durchgeführt. Zwei epidemiologische Studien sind geplant, in denen das

Vorkommen von enterohämorrhagischen *E. coli* (EHEC) und *Salmonella typhimurium* in Streichelzoos sowie die möglichen Umwelt-Habitats für die ununterbrochene Infektion von Mast Schweinen mit *S. typhimurium* untersucht werden. Weiterhin unterstützt dieses Teilprojekt die epidemiologische Fall-Kontroll-Studie zu sporadischen Salmonelleninfektionen bei Menschen in Niedersachsen, indem sie gleichzeitig aktuelle Isolate aus demselben geographischen Bereich zur Verfügung stellt. Zudem werden zwei weiterführende Studien innerhalb Niedersachsens durchgeführt, die zur Isolierung von i) aktuellen *Campylobacter*- und *Yersinia*-Isolaten aus Mast Schweinen und ii) aktuellen *Salmonella*-, *Campylobacter*- und EHEC-Isolaten aus Rindern und Geflügel führen. Diese Studien geben einen initialen Eindruck über das Vorkommen und die Heterogenität lebensmittelbedingter Krankheitserreger in den jeweiligen Tierpopulationen und ermöglichen eine vergleichende phylogenetische Analyse humaner und porciner Isolate. Schließlich werden Tierinfektions-Experimente in Schweinen durchgeführt, um neue Aspekte der Wirt-Krankheitserreger-Interaktion für *Campylobacter*- und *Yersinia*-Isolate zu erforschen.

Teilprojekt 13 **Epidemiologische und biometrische Untersuchungen über Zoonosen bei Mensch und Tier**

Projektleitung

Prof. Dr. Lothar Kreienbrock
Institut für Biochemie, Epidemiologie und
Informationsverarbeitung
WHO-Collaborating Centre for Research and Training in
Veterinary Public Health
Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
Bünteweg 2, 30559 Hannover
Tel: 0511 953-7950, Fax: 0511 953-7974
E-Mail: lothar.kreienbrock@tiho-hannover.de

Zusammenfassung

Das TP 13 liefert epidemiologische Informationen über humane gastrointestinale und animale zoonotische Infektionen. Daten bezüglich der menschlichen Infektionen als auch Daten zur Schweinefleisch-Produktion sind bereits teilweise vorhanden, werden aber hier durch eine zusätzliche Probengewinnung in Tierherden, in Verbindung mit der Umwelt der Tiere, sowie einer Fall-Kontroll-Studie über sporadische Salmonelleninfektionen bei Menschen in Niedersachsen sinnvoll ergänzt werden. Außerdem werden die epidemiologischen Daten, die im Rahmen des Netzwerks FBI-Zoo von anderen Partnern ermittelt werden, im Hinblick auf eine kompatible statistische und epidemiologische Auswertung hin analysiert, sodass die Daten in eine zentrale Netzwerk-Datenbank eingepflegt werden können. In ihrer Gesamtheit werden die Auswertungen zur Etablierung verbesserter Interventionsstrategien führen, wodurch die Belastung der Menschen in Deutschland durch lebensmittelbedingte Zoonosen reduziert wird.

Teilprojekt 14 **Analyse der unspezifischen Immunantwort von Hühnern auf eine Salmonelleninfektion, hervorgerufen durch Serovare mit unterschiedlichen Virulenzprofilen**

Projektleitung

Prof. Dr. Bernd Kaspers
Institut für Tierphysiologie, LMU München
Veterinärstraße 13, 80539 München
Tel.: 089 2180-1669, Fax: 089 2180-2554
E-Mail: kaspers@tiph.vetmed.uni-muenchen.de

Zusammenfassung

In diesem Teilprojekt wird die unspezifische Immunreaktion von Hühnern auf eine Infektion mit Salmonellen analysiert. Über diese Reaktion ist beim Huhn bisher wenig bekannt, obwohl allgemein akzeptiert ist, dass sie entscheidenden Anteil an der Kontrolle der Invasion und Ausbreitung der Bakterien im Tier und an der Induktion der adaptiven Immunantwort hat. Die Fortschritte auf dem Gebiet der aviären Immunologie und die Verfügbarkeit der Genomsequenz des Haushuhns haben zur Etablierung zahlreicher neuer Techniken für die Analyse von Wirt-Pathogen-Interaktionen geführt. Im Rahmen des Verbunds stehen verschiedene *Salmonella*-Serovare und genetisch modifizierte Bakterien zur Verfügung. Damit wird es möglich, die Rolle bestimmter Virulenzfaktoren in der Induktion und der Modulation der unspezifischen Immunantwort zu untersuchen. Die Arbeiten werden sowohl an Hühnern als auch an neu zu etablierenden Epithelzellkulturen durchgeführt. Die Untersuchung der unspezifischen Immunreaktion erfolgt durch Genexpressions-Analyse mithilfe von Hühner-spezifischen Mikroarrays und der quantitativen RT-PCR für ausgewählte Gene. Wir erwarten mit diesem Ansatz solche Gene und Signalwege identifizieren zu können, denen eine wesentliche Rolle bei der Kontrolle von Salmonelleninfektionen zukommt. Zudem wollen wir mithilfe der genetisch modifizierten Salmonellen immunmodulatorische Strategien der Bakterien identifizieren.

Teilprojekt 15 **Populationsbasierte Studien zu Risikofaktoren von *Yersinia enterocolitica* und EHEC O157-assoziiertem HUS**

Projektleitung

Prof. Dr. Klaus Stark/Dr. Christina Frank
Abteilung 3 Infektionsepidemiologie, Robert Koch-Institut,
Seestraße 10, 13353 Berlin
Tel.: 030 4547-3432, Fax: 030 4547-3533
E-Mail: starkk@rki.de

Zusammenfassung

Dieses Projekt i) untersucht Risikofaktoren, die im Zusammenhang mit sporadischen *Yersinia enterocolitica*-Infektionen stehen; ii) analysiert das Auftreten von HUS und die Risikofaktoren, die im

Zusammenhang mit HUS stehen, hervorgerufen durch die hoch virulenten STEC der Serogruppe O157 (einschließlich der Untergruppe der sorbitfermentierenden *E. coli* O157:NM, die für größere HUS-Ausbrüche in Deutschland verantwortlich sind); iii) entwickelt epidemiologische Werkzeuge (Erstellung standardisierter Fragebögen) zur Untersuchung von lebensmittelbedingten Ausbrüchen für zukünftige Fall-Kontroll-Studien über sporadische gastrointestinale Infektionen sowie klinische und mikrobiologische Studien in Hospitälern. Die Arbeiten werden hauptsächlich im Rahmen des TP 6 durchgeführt, jedoch trägt das TP 15 auch zu anderen TP bei. So wird z. B. eng mit den FBI-Zoo-Teilprojekten 4, 9 und 13 kooperiert.

Teilprojekt 16 Von den Daten zum Wissen: Data-Warehouse für lebensmittelbedingte zoonotische Infektionen

Projektleitung

Prof. Dr. med. Dag Harmsen
Poliklinik für Parodontologie, Universitätsklinikum Münster
Waldeyerstraße 30, 48149 Münster
Tel.: 0251 83-47059, Fax: 0251 83-47134
E-Mail: dharmsen@uni-muenster.de

Zusammenfassung

Das Projekt interagiert mit fast allen anderen Teilnehmern des Verbunds. Es ist vorgesehen als das zentrale Datenarchiv vom Gesamtprojekt. In diesem Archiv sollen mit modernen Techniken (z. B. sequenzbasiert und MLVA) sowohl generierte Typisierungsdaten als auch detaillierte epidemiologische Daten aus der Human- und Veterinärmedizin gespeichert werden. Die so erhobenen und gesammelten Daten formen wiederum die Basis für zukünftige, fortgeschrittene „data mining“-Techniken, wie z. B. Frühwarn- und geographische Informationssysteme (GIS). TP 16 steht daher beispielhaft für einen Übergang von den Daten zum Wissen in der epidemiologischen Surveillance.

Zu Beginn des Projekts wird für alle FBI-Zoo Teilnehmer ein Groupware- und Projektmanagement-System aufgesetzt, um die Kommunikation und Managementfähigkeit in der Gruppe zu stärken. Danach wird ein Client-Server-System mit Nutzer-Authentifizierung und verschiedenen Rollen zur Speicherung und Analyse von Sequenzdaten (SLST, MLST) implementiert. Als nächstes soll das Client-Server-System erweitert werden, um auch epidemiologische Daten adäquat sammeln und berichten zu können. Darauf folgt die Implementierung zum Speichern und Analysieren von binären/kategorischen Daten (z. B. MLVA, SNPs oder Pathochip-Daten).

Weiterhin soll eine international akzeptierte und vereinbarte Programmierungs-Schnittstelle (API) zum Befragen und zur Dateneingabe bei solchen Systemen entworfen und realisiert werden. Schließlich ist vorgesehen, „Web 2.0“-Elemente (z. B. „instant messaging“ und/oder VoIP) in das System zu integrieren. Alle Aktivitäten werden flankierend von entsprechenden Schulungsangeboten begleitet. Dadurch soll die schnelle Verbreitung und Aufnahme des notwendigen Anwendungswissens, insbeson-

dere bei Nachwuchsforschern, gewährleistet werden.

2.2 BOTULINOM – Die Zoonose Botulismus: Der Weg des Botulinum-Toxins von der Bakterie in die Zielzelle

Verbundkoordination

Prof. Dr. med. vet. Dr. sc. agr. habil. Helge Böhnelt
Institut für Pflanzenbau und Tierproduktion in den Tropen und Subtropen, Abteilung Tropentierhaltung und -zucht
Fakultät für Agrarwissenschaften
Georg-August-Universität Göttingen
Kellnerweg 6, 37077 Göttingen
Tel.: 0551 39-3396, Fax: 0551 39-3408
E-Mail: hboehne@gwdg.de

Laufzeit: 1.8.2007–31.7.2010

Wissenschaftliches Konzept

In der europäischen Zoonose-Richtlinie 2003/99/EC vom 17. November 2003 ist unter anderem Botulismus und dessen Erreger aufgeführt (Off. J. Eur. Union L325/31 vom 12.12.2003). Botulismus ist die klinische Beschreibung der Erkrankungen, die durch bakterielle Neurotoxine von *Clostridium botulinum* verursacht werden. Pharmakologisch ist sie eine Toxikose, epidemiologisch entweder eine Intoxikation oder Infektion. Botulinumtoxin ist in der Liste A der bacterial/bioterrorist warfare agents aufgeführt.

Seit den ersten Veröffentlichungen über Botulismus beim Menschen wurde zwischenzeitlich die Wirkungsweise der Toxine erkannt. Jedoch ist wenig darüber bekannt, wie die Toxine verbreitet sind und wie sie adsorbiert und im Zielorganismus verarbeitet werden. Der generelle Aspekt der Erkrankung als Zoonose fehlt aber in den oft sehr detaillierten Veröffentlichungen. Die Ätiologie der Erkrankung reicht von der Bakterienzelle über die Toxinproduktion, die Übertragung und Aufnahme bis zur Aktion innerhalb der bestimmten Zielzelle.

Das Hauptziel dieses einzigartigen interdisziplinären Projekts ist, das Verständnis über die Infektions-/Intoxikationskette von *Clostridium botulinum* im Einzelnen zu gewinnen, um Möglichkeiten darzustellen, der an Bedeutung gewinnenden Erkrankung Botulismus entgegenzuwirken.

Strukturelles Konzept

Die Netzwerkpartner sind international bekannte Experten auf ihrem Arbeitsgebiet. Das Projekt vereinigt sie zum ersten Mal, um bedeutende Aspekte der Infektions-/Intoxikationskette zu bearbeiten. Die Interaktionen und der Austausch des Wissens dieser Gruppen ist das Basiskonzept des Projekts. Es werden spezifische und individuelle Forschungsinteressen zusammengebracht.

Partnerschaftliche Vernetzung

Es gibt aufgrund der meist unbekanntesten Aktionen von und Interaktionen mit Botulinumtoxin keine internationalen Referenzmethoden, um die Zoonose Botulismus zu beschreiben. Die Ergebnisse werden es ermöglichen, weiteren Aufschluss über die

zoonotische Bedeutung und eine mögliche Gefährdung der menschlichen Gesundheit zu bekommen. Dies ist wichtig und unbedingt notwendig für die an Bedeutung gewinnende Erkrankung, die neutral als Botulinumtoxikose zu beschreiben ist. Obwohl die Forschungsziele im Projekt nicht alle Aspekte abdecken können, werden die Ergebnisse einen starken Einfluss auf das wachsende Bewusstsein zu Botulismus haben.

Teilprojekt 1 **Pathogenetische Rolle und Eigenschaften der ADP-ribosylierenden Toxine von Clostridium botulinum**

Projektleitung

Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Klaus Aktories
Institut für Experimentelle und Klinische Pharmakologie und Toxikologie, Albert-Ludwigs-Universität Freiburg
Albertstraße 25, 79104 Freiburg
Tel.: 0761 203-5301, Fax: 0761 203-5311
E-Mail: klaus.aktories@pharmakol.uni-freiburg.de

Vorhabenziel

Clostridium botulinum Typ C und D produzieren drei unterschiedliche Toxine: Die Neurotoxine (BoNT) C1 und D, die Botulismus auslösen, sowie die ADP-ribosylierenden C2- und C3-Toxine. Ziel ist die Untersuchung der Aufnahme, des Transports und der Wirkung der Toxine. Insbesondere soll eine Interaktion der C2- und C3-Toxine bei der Aufnahme von Botulinum-Neurotoxinen geklärt werden.

Arbeitsplanung

Die Wirkungen von C2- und C3-Toxinen auf das Zytoskelett und die Schrankenfunktion von Darmepithelzellen werden untersucht. Es sollen die zellulären Aufnahmewege (Clathrin-, Caveolin-Abhängigkeit) und die porenbildenden Eigenschaften (86Rb-Freisetzung) der Toxine untersucht werden. Es wird geprüft, ob das C2-Holotoxin oder die einzelnen Komponenten von C2-Toxin die C3-Aufnahme fördern. Von besonderer Bedeutung ist die Untersuchung des Einflusses von C2- und C3-Toxin auf die Aufnahme von BoNTs durch Transzytose. Dazu soll die Transzytose der Neurotoxine eingehend analysiert werden.

Ergebnisverwertung

Es werden Assays für die Toxinwirkung entwickelt und Bindungsanalysen durchgeführt. Aufnahme und Translokation von Neurotoxinen bzw. von C2- und C3-Toxin sind potenzielle Zielstrukturen für die Entwicklung von Antidot.

Teilprojekt 2 **Charakterisierung der Rezeptoren für BoNT/C1 und D**

Projektleitung

Prof. Dr. med. Hans Bigalke
Institut für Toxikologie, Medizinische Hochschule Hannover
Carl-Neuberg-Straße 1, 30623 Hannover
Tel.: 0511 532-2815, Fax: 0511 532-8021
E-Mail: bigalke.hans@mh-hannover.de

Vorhabenziel

Ziel des Projekts ist es, ein Modell zu entwickeln, welches die Interaktion von Botulinumtoxinen mit möglichen Zielzellen darstellt. Die toxinbindenden Rezeptoren sollen charakterisiert werden. Die Bindungstasche im Toxin soll dargestellt und gezielt verändert werden.

Arbeitsplanung

Es wird untersucht, inwieweit gangliosidhaltige „lipid rafts“ an der Aufnahme der Toxine aus dem Darm und in das Neuron beteiligt sind. Dazu werden die „rafts“ zerstört und die Wirkung der Toxine wird studiert. Diese Untersuchungen werden am Nerv-Muskelpreparat durchgeführt. Die Abhängigkeit der Toxin-aufnahme von Gangliosiden wird weiterhin an Zwerchfellpräparaten untersucht, die aus Mäusen stammen, denen die zur Gangliosidsynthese notwendigen Enzyme fehlen (knock-out). Im Toxin wird die Rezeptorbindungstasche dargestellt und gezielt verändert.

Ergebnisverwertung

Es ist geplant, die Bindungstaschen im Toxin so zu verändern, dass eine Rezeptorbindung unterbleibt. Dieses nicht wirksame Toxin soll als Impfstoff zur aktiven Immunisierung geschützt werden. Die Kenntnis der Rezeptoren erlaubt die Entwicklung von Antagonisten, die an den Bindungsstellen mit dem Toxin konkurrieren. Diese Antagonisten sollen ebenfalls zum Patent gebracht werden.

Teilprojekt 3 **Stabilisierung der Stammsammlung pathogener Clostridien**

Projektleitung

Prof. Dr. med. vet. Dr. sc. agr. habil. Helge Böhnelt
Institut für Pflanzenbau und Tierproduktion in den Tropen und Subtropen, Abteilung Tropentierhaltung und -zucht
Fakultät für Agrarwissenschaften
Georg-August-Universität Göttingen
Kellnerweg 6, 37077 Göttingen
Tel.: 0551 39-3396, Fax: 0551 39-3408
E-Mail: hboehne@gwdg.de

Vorhabenziel

Die Stammsammlung pathogener Clostridien an der Uni Göttingen existiert seit 1970. Es sind etwa 3.000 Kulturen vorhanden, die von unterschiedlicher Qualität sind. Die einzelnen Stämme sollen

für Langzeitlagerung stabilisiert und allgemein zugänglich gemacht werden.

Arbeitsplanung

Die Stämme werden bakteriologisch bearbeitet. Alle Informationen werden digitalisiert zusammengeführt. Ein Katalog wird erstellt. Es werden abgearbeitet: *C. botulinum* und verwandte Stämme, *C. perfringens* und nahestehende Stämme, Gasbrand-erreger, sonstige. Es soll versucht werden, aus anderen Instituts-sammlungen, die gegebenenfalls in Deutschland existieren, Stämme zu bekommen. Es wird der Versuch gemacht, mit anderen europäischen Sammlungen Stämme auszutauschen, damit zumindest die Referenzstämme (mit Subtypen) vorhanden sind.

Ergebnisverwertung

Pathogene Clostridien nehmen an Bedeutung zu, auch im Hinblick auf Bioterrorismus. Die vorhandene Stammsammlung muss katalogisiert werden, damit berechtigten Nutzern dieser Bakterien die entsprechenden Proben auf Anfrage zur Verfügung gestellt werden können. Eine Zusammenarbeit mit der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) in Braunschweig wird angestrebt.

Teilprojekt 4 Wirkung des Botulinumtoxins auf den menschlichen Körper

Projektleitung

PD Dr. med. Dirk Dressler
Klinik für Neurologie und Poliklinik, Universität Rostock
Gehlsheimer Straße 20, 18147 Rostock
Tel.: 0381 494-9554, Fax: 0381 494-9632
E-Mail: dirk.dressler@med.uni-rostock.de

Vorhabenziel

Ziel des Projekts ist es, milde, subklinische und chronische Einwirkungen von Botulinumtoxin auf den menschlichen Organismus zu untersuchen.

Arbeitsplanung

Um die entsprechenden Einwirkungen von Botulinumtoxin untersuchen zu können, müssen zunächst entsprechende Risikopersonen identifiziert werden. Diese Risikopersonen sollen in der Umgebung eines Tierbotulismus-Ausbruchs, über Gesundheits-amtsmeldungen und zusätzlich dazu möglicherweise über Öffentlichkeitsmaßnahmen identifiziert und anschließend in der Klinik für Neurologie der Universität Rostock mit dem kompletten Spektrum neurologischer und neurophysiologischer Diagnostik untersucht werden.

Ergebnisverwertung

Die im Rahmen des Projekts erarbeiteten Erkenntnisse über die speziellen Botulismusformen dienen zur Abklärung chronischer, bislang nicht diagnostizierter Krankheitsbilder.

Teilprojekt 5 Impfung von Pferden gegen *Clostridium botulinum* Typ C: Immunogene Antwort und klinische Nebenwirkungen der aktiven Immunisierung durch eine klassische Vakzine und rekombinante Peptide der C-terminalen Hälfte der Hc-Einheit der Botulinumtoxine C und D

Projektleitung

Prof. Dr. ès sci. Joachim Frey
Institut für Veterinär bakteriologie
Vetsuisse Fakultät, Universität Bern
Länggassstrasse 122, 3012 Bern, Schweiz
Tel.: +41 31 631-2430, Fax: +41 31 631-2634
E-Mail : joachim.frey@vbi.unibe.ch

Auszug aus dem ursprünglich vorgelegten Konzept*

In Europa sind Pferde normalerweise von Typ C und D-Intoxikationen betroffen. Die rekombinanten, nicht toxischen Peptide HcBoNT/C und HcBoNT/D werden auf ihre Fähigkeit untersucht, einen neuen, sicheren und wirksamen Impfstoff für Pferde zu entwickeln. HcBoNT/C und HcBoNT/D haben den Vorteil, dass sie nur die Bindungsstelle des Botulinumtoxins und nicht die enzymatisch aktive Toxindomäne enthalten. Deshalb sind HcBoNT/C und HcBoNT/D nicht toxisch und bedürfen keiner speziellen Biosicherheitsmaßnahmen. HcBoNT/C und HcBoNT/D werden als Antigene benutzt, um Pferde zu immunisieren und ebenfalls als Antigene in Immunoblots, um die Serokonversion von Pferden zu verfolgen, die entweder mit einem klassischen Botulismusimpfstoff aus detoxifizierten Botulinumtoxinen oder mit rekombinanten HcBoNT/C und HcBoNT/D-Peptiden geimpft worden sind.

**Dieser Projektteil wird aus Mitteln des Schweizer Projektleiters finanziert.*

Teilprojekt 6 Untersuchungen zum Vorkommen von *Clostridium botulinum* bei Rindern

Projektleitung

Dr. med. vet. Frank Gessler
Institut für angewandte Biotechnologie der Tropen
Georg-August-Universität Göttingen
Kellnerweg 6, 37077 Göttingen
Tel.: 0551 39-3393, Fax: 0551 39-3408
E-Mail fgessle@gwdg.de

Vorhabenziel

Clostridium botulinum ist ein Bodenbakterium mit weltweiter Verbreitung. Es bildet hoch potente Neurotoxine. Die Toxintypen werden in die Gruppen A-F eingeordnet. Die Subtypen eingeschlossen, sind derzeit mehr als 20 unterschiedliche Toxine bekannt. Die Prävalenz der verschiedenen Typen soll beispielhaft bei Rindern/in Rinderbeständen ermittelt werden.

Arbeitsplanung

Es werden zunächst geeignete Methoden optimiert, um die Seroprävalenz mittels ELISA bei Rindern zu bestimmen. Zur Untersuchung des Vorkommens in Kotproben wird eine Real Time-PCR eingesetzt. Parallel dazu wird ein Biochip zur Toxindetektion entwickelt. Nach einem definierten Probenahmeplan werden Tiere beprobt. Die Proben werden in den genannten Verfahren gescreent. Auf Grundlage der erhobenen Daten soll die Prävalenz bei Rindern geschätzt werden.

Ergebnisverwertung

Die bei Rindern bestimmte Prävalenz wird grundlegende Aussagen über das Vorkommen der toxischen Bakterien bei dieser Spezies erlauben. Die Daten sind gleichzeitig eine wichtige Ausgangsvoraussetzung für eine epidemiologische Bewertung im Hinblick auf die Zoonose Botulismus. In wissenschaftlicher Hinsicht können sich gleichartige Untersuchungen bei anderen Spezies und beim Menschen anschließen.

Teilprojekt 7 Pathogenese des chronischen Botulismus – Bedeutung der gastrointestinalen Homöostase bei Kühen

Projektleitung

Prof. Dr. med. vet. Monika Krüger
Institut für Bakteriologie und Mykologie
Universität Leipzig
An den Tierkliniken 29, 04103 Leipzig
Tel.: 0341 97-38180, Fax: 0341 97-38199
E-Mail: mkrueger@vmf.uni-leipzig.de

Vorhabenzieiel

Der Zusammenhang zwischen der quantitativen und qualitativen Zusammensetzung der Pansen- und Kotmikrobiota und dem klinischen Bild des chronischen Botulismus bei Hochleistungskühen unter Berücksichtigung des lokalen und systemischen Immunsystems sowie des Pansen- und Kotmilieus soll aufgezeigt werden. Die Rolle der Pansenprotozoen soll herausgearbeitet werden.

Arbeitsplanung

Epidemiologische Untersuchungen zur Pansen- und Kotflora sowie immunologische Untersuchungen werden mittels qualitativer und quantitativer molekularbiologischer (*in situ*-Hybridisierung, RT-PCR) und konventioneller mikrobiologischer sowie immunologischer Methoden durchgeführt. Drei gesunde Herden und drei chronisch erkrankte Herden werden untersucht. Kot und Pansensaft werden mittels EIA auf Laktoferrin und spezifische Botulinum-Antikörper untersucht. Pansenprotozoen werden in physiologischen und azidotischen Pansensäften qualitativ und quantitativ untersucht (RT-PCR). Die Rolle der Protozoen bei der Degradierung von Clostridiensporen wird *in vitro* untersucht.

Ergebnisverwertung

Mit den Ergebnissen wird der pathogenetische Zusammenhang zwischen Mikrobiota, Fütterung und chronischem Botulismus erarbeitet.

Teilprojekt 8 DNA-Mikroarray zur Detektion und Toxin- genotypisierung von Clostridium botulinum

Projektleitung

Dr. med. vet. Christian Seyboldt
Institut für bakterielle Infektionen und Zoonosen
(Direktor: Prof. u. Dir. PD Dr. Heinrich Neubauer)
Friedrich-Loeffler-Institut, Standort Jena
Naumburger Straße 96a, 07743 Jena
Tel.: 03641 804-295, Fax: 03641 804-228
E-Mail: christian.seyboldt@fli.bund.de

Vorhabenzieiel

Projektziel ist die Entwicklung einer diagnostischen Methode zur gleichzeitigen Bestimmung des Toxingenotyps und Subtyps von *Clostridium botulinum* sowie eine Einordnung auf der Basis von 16S rRNA Sequenzeigenschaften mittels eines DNA-Mikroarrays.

Arbeitsplanung

Die Arbeitsplanung umfasst die Entwicklung der PCRs zur Erfassung von variablen genetischen Regionen für den Mikroarray, die Sondenauswahl sowie die Etablierung und Entwicklung der diagnostischen PCR-Systeme. Es folgt die Entwicklung von einzelnen Mikroarrays, die jeweils eine große Zahl an Sequenzvariationen für ihre Zielregion abdecken, und so die gewünschte Differenzierung ermöglichen sollen. Ziel ist schließlich die Kombination und Vereinfachung der einzelnen Primersysteme und Zielregionen zur Anwendung eines kombinierten Mikroarrays.

Ergebnisverwertung

Die Kenntnis über die Verbreitung der unterschiedlichen Subtypen der BoNT-Gene in verschiedenen Habitaten wie Boden, Tierfutter und Kot in Verbindung mit der Eingruppierung der Organismen auf der Basis ihrer 16S rRNA Gene würde einen tiefen Einblick in die Ökologie und das potenzielle Toxinbildungsvermögen von *Clostridium botulinum* erlauben.

Teilprojekt 9 Komparative Genomanalyse von neurotoxischen Clostridium botulinum-Isolaten

Projektleitung

Prof. Dr. rer. nat. Alfred Pühler
Institut für Genomforschung
Centrum für Biotechnologie (CeBiTec), Universität Bielefeld
Universitätsstraße 25, 33615 Bielefeld
Tel.: 0521 106-5607, Fax: 0521 106-5626
E-Mail: puehler@genetik.uni-bielefeld.de

Vorhabenziel

Komparative Genomanalyse von neurotoxischen *Clostridium botulinum*-Isolaten.

Arbeitsplanung

Im Projekt ist die Sequenzierung von sechs *Clostridium botulinum*-Genomen vorgesehen. Bei den ausgewählten Isolaten handelt es sich um Vertreter des Toxintyps C und D sowie um zwei Umweltisolate mit bislang unbekanntem Toxintyp. Die zeitnahe Sequenzierung kompletter Genome wird durch die Kombination ultraschneller Sequenzierverfahren mit klassischer Sanger-Technologie angestrebt. Der Arbeitsplan beinhaltet demgemäß die DNA-Isolierung und die Erstellung von Fosmid-Bibliotheken, die Genomsequenzierung, das Assemblieren der Sequenzdaten und die Sequenzannotation.

Ergebnisverwertung

Die Genomsequenzen der *Clostridium botulinum*-Isolate werden den Projektpartnern durch das Datenbanksystem GenDB d zugänglich gemacht. Hierzu wird eine neue Projektdatenbank gestaltet, die neben den erstellten Genomsequenzen auch Daten aus publizierten Clostridien-Genomen integriert. Die Datenbank bildet die Grundlage für eine detaillierte individuelle und komparative Genomanalyse der *Clostridium botulinum*-Isolate.

2.3 ZooMAP – *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis: Von der Johne'schen Krankheit zum Morbus Crohn

Verbundkoordination

PD Dr. med. vet. Ralph Goethe
 Institut für Mikrobiologie und Tierseuchen
 Zentrum für Infektionsbiologie
 Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
 Bischofsholer Damm 15, 30173 Hannover
 Tel.: 0511 856-7625, Fax: 0511 856-7697
 E-Mail: ralph.goethe@tiho-hannover.de

Laufzeit: 1.7.2007–30.6.2010

Zusammenfassung

Seit langem wird *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) als mögliches ätiologisches Agens für den Morbus Crohn (MC) des Menschen kontrovers diskutiert. Zur endgültigen Klärung gibt es noch großen Forschungsbedarf. Der ZooMAP-Verbund besteht aus sechs Teilprojekten von Arbeitsgruppen aus der Immunologie, Tier- und Humanmedizin mit unterschiedlichen Forschungsausrichtungen. Konzipiert sind Arbeiten zum Vorkommen von MAP in der Milch, zu unterschiedlichen Phänotypen von MAP und ihrer pathogenetischen Bedeutung, zur Relevanz von MAP beim Kolorektal-Krebs des Menschen, zur Verbesserung der MAP-Diagnostik, zur molekularen Typisierung von MAP-Isolaten und die Entwicklung eines Mausmodells. Die Erkenntnisse aus ZooMAP sollen zur besseren Risikoabschätzung der noch ungeklärten Bedeutung von MAP beim MC des Menschen beitragen.

Stand der Wissenschaft, Ziele und allgemeines Konzept

Die Ähnlichkeit der klinischen und pathologischen Veränderungen von zwei chronisch inflammatorischen Darmerkrankungen, der Paratuberkulose des Rindes (Johne'sche Krankheit [JD]) und des MC beim Menschen sowie das vergleichbare Auftreten klinischer Symptome im mittleren Lebensalter sind Ursache für eine seit fast 100 Jahren andauernde Diskussion um die Rolle von MAP beim MC. Insbesondere der Nachweis von MAP in pasteurisierter Milch im Jahre 1998 führte zu einer Verstärkung der Diskussion, die bis heute anhält.

Bei der Paratuberkulose erfolgt die Infektion weitgehend fäkal-oral bei neonatalen Kälbern. Während der langen Inkubationszeit (3–5 Jahre) vermehrt sich der Erreger in subepithelialen Makrophagen und wird intermittierend ausgeschieden. Nach dem Übergang in die klinische Phase kommt es bei anhaltendem Durchfall zu einer massiven Erregerausscheidung (ca. 10⁸/g Kot). MAP zeichnet sich durch eine außerordentliche Tenazität in der Umwelt aus und wird auch in Lebensmitteln, insbesondere in Milch und Milchprodukten, nachgewiesen. Der Erreger kann sich allerdings nicht in der Umwelt vermehren. Deshalb ist das infizierte Rind als die Haupteintragsquelle von MAP anzusehen.

Der MC ist eine chronisch inflammatorische Darmerkrankung des Menschen von unbekannter Ätiologie und steigender Inzidenz in Westeuropa, Nordamerika und anderen hoch entwickelten Industrienationen. Vermutlich ist die Erkrankung bei einigen Betroffenen mit einer Mutation innerhalb des Nod2/Card15-Gens, einer wichtigen Signalkomponente des angeborenen Immunsystems, assoziiert. Seit langem wird MAP als mögliches ätiologisches Agens im Zusammenhang mit MC diskutiert. Der Nachweis von MAP in Biopsien von MC-Patienten ist erschwert, da MAP als zellwandlose, „schlafende“ Form vorzuliegen scheint. Durch Nutzung moderner Techniken konnte aber in neueren Studien wiederholt MAP häufiger in MC-Patienten als bei Kontrollen nachgewiesen werden. Als MAP-Quelle kommt nur die Umwelt infrage; hier wird MAP-kontaminierte Milch besonders diskutiert, da MAP i) nach einer Passage in Milch eine höhere Invasivität für Epithelzellen besitzt und ii) in geringen Keimzahlen den Pasteurisierungs- und Fermentationsprozess der Milch überlebt. Ob die gegenwärtig erhobenen Lebendkeimzahlen in der Milch repräsentativ sind, ist nach neueren Erkenntnissen fraglich, da nachgewiesen wurde, dass der Pasteurisierungsprozess zur Induktion sogenannter VBNC („viable but nonculturable“) Bakterienformen führen kann.

MAP besitzt einen starken Darmtropismus. Im infizierten Rind hat der Erreger über lange Zeit keine Tendenz zu generalisieren. Derzeit gibt es kein Modell in kleinen Versuchstieren, in dem diese einzigartige Eigenschaft von MAP untersucht werden kann, da immunkompetente Tiere nach oraler Infektion nicht oder nur systemisch erkranken.

Der ZooMAP-Verbund wird durch neue experimentelle Ansätze Lücken zur zoonotischen Risikoabschätzung von MAP schließen. Die erzielten wissenschaftlichen Erkenntnisse zu MAP und seinen Pathogenitätsmechanismen sollen eine bessere Risikoabschätzung der derzeit noch ungeklärten Relevanz von MAP beim Morbus Crohn des Menschen erlauben.

Wissenschaftliches und strukturelles Konzept

Im ZooMAP-Verbund sollen über differenzielle, zweidimensionale Gelelektrophorese und Massenspektroskopie MAP-Proteine identifiziert werden, die nur im Wirt exprimiert werden. Antikörper gegen diese Proteine sollen dann als diagnostisches Mittel zum Nachweis von MAP in Geweben genutzt werden. Ein besseres Verständnis der Pathogenese der Paratuberkulose soll über einen *in vitro*- und *in vivo*-Vergleich unterschiedlicher MAP-Phänotypen gewonnen werden. Hierzu soll versucht werden, ein Mausinfektionsmodell für MAP zu etablieren. Dabei werden zum einen über Kaiserschnitt entbundene Jungmäuse sowie sogenannte „Knock-out“-Mäuse mit definierten Defekten in immunrelevanten Genen mit MAP infiziert, um Paratuberkulose-artige Darmmanifestationen zu erzeugen. Zudem soll die Relevanz von MAP beim Kolorektal-Krebs untersucht werden. In weiteren Projekten wird das Vorkommen von lebenden, aber nicht kultivierbaren Formen von MAP in der Milch untersucht, und MAP-Isolate unterschiedlicher Herkunft werden typisiert. Begleitet werden diese Untersuchungen durch Arbeiten zur Verbesserung der MAP-Diagnostik und epidemiologische Typisierungen von MAP-Isolaten.

Am ZooMAP-Verbund sind sechs Teilprojekte von Arbeitsgruppen mit unterschiedlichen Forschungsausrichtungen beteiligt. Im Verbund sollen, eng verflochten, Gruppen der veterinärmedizinischen Bakteriologie, der Immunologie mit Erfahrungen in der Mausgenetik und angeborenen Immunität des Darms sowie der medizinischen Gastroenterologie mit der veterinärmedizinischen Lebensmittelkunde und dem Deutschen Referenzlabor für Paratuberkulose zusammenarbeiten. Alle Partner des Verbunds stehen in engem wissenschaftlichen Kontakt. Alle Materialien, Methoden und eine MAP-Stammsammlung sowie alle Ergebnisse sollen wechselseitig für die individuellen Projekte nutzbar sein und der Optimierung des Erkenntnisgewinns dienen. Auf diese Art und Weise partizipiert jedes Projekt zu einem gewissen prozentualen Anteil an den anderen Projekten. Die Nutzung der Nano-HPLC sowie das hierdurch erweiterte, vorhandene Q-ToF MS wird verbundübergreifend anderen Zoonose-Arbeitsgruppen angeboten. Die Bionumerics-Software, derzeit „state of the art“ für epidemiologische Studien, ermöglicht dem ZooMAP-Verbund den Anschluss an epidemiologisch arbeitende Gruppen anderer Verbünde.

Teilprojekt 1 Antigenexpression und Metabolismus von *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) *in vivo* und die Bedeutung von MAP-infizierten Makrophagen für die intestinale Wirtsantwort

Projektleitung

Prof. Dr. med. vet. Gerald-F. Gerlach/PD Dr. Ralph Goethe
Institut für Mikrobiologie und Tierseuchen
Zentrum für Infektionsbiologie
Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
Bischofsholer Damm 15, 30173 Hannover
Tel.: 0511 856-7598 (Gerlach), -7625 (Goethe), Fax: 0511 856-7697
E-Mail: gfglerlach@gmx.de, ralph.goethe@tiho-hannover.de

Vorhabenziel

Bearbeitet werden die Ziele: i) Identifizierung von *in vivo* und nach der Pasteurisierung exprimierten MAP-Proteinen, ii) Generierung von monoklonalen Antikörpern für die Nutzung durch andere Teilprojekte, iii) Untersuchung einer möglichen Beeinflussung von Enterozyten durch MAP infizierte Makrophagen.

Arbeitsplan

Über differenzielle, zweidimensionale Gelelektrophorese und Massenspektroskopie sollen MAP-Proteine identifiziert werden, die nur im Wirt oder nach Pasteurisierung exprimiert werden. Monoklonale Antikörper gegen diese Proteine sollen erstellt und dann als diagnostisches Mittel zum Nachweis von MAP in Geweben genutzt werden. Im Kokulturmodell sollen die Bedeutung und die Beeinflussung einer Infektion von Makrophagen auf Enterozyten untersucht werden, um die Pathophysiologie der Paratuberkulose besser zu verstehen.

Ergebnisverwertung

Durch die erarbeiteten Werkzeuge und deren Verwertung in den anderen Teilprojekten des Verbunds soll mithilfe der gewonnenen wissenschaftlichen Erkenntnisse zu den Pathogenitätsmechanismen von MAP eine bessere Risikoabschätzung der derzeit noch ungeklärten Relevanz von MAP (insbesondere mit Bezug auf Konsummilch) für den Morbus Crohn des Menschen ermöglicht werden.

Teilprojekt 2 Bedeutung von *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infizierten Makrophagen für die Wirtsantwort

Projektleitung

Dr. Siegfried Weiss
Molekulare Immunologie
Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung
Inhoffenstraße 7, 38124 Braunschweig
Tel.: 0531 6181-5100, Fax: 0531 6181-5002
E-Mail: siegfried.weiss@helmholtz-hzi.de

Vorhabenziel

Mycobacterium paratuberculosis (MAP) steht im Verdacht an der Entstehung von Morbus Crohn beteiligt zu sein. Für detaillierte Untersuchungen steht kein geeignetes Mausmodell zur Verfügung. Ziel des Teilprojekts ist es:

- + ein orales Infektionsmodell mithilfe von immunkomprimierten Mäusen zu entwickeln,
- + den Eintritt des Erregers durch die intestinale Barriere durch Imaging direkt zu verfolgen.

Arbeitsplan

MAP soll immundefizienten Rag1^{-/-}-Mäusen oral verabreicht werden. Anschließend sollen die Mäuse mit Immunzellen rekonstituiert werden, um die ausgelöste Entzündung den normalen Verhältnissen möglichst genau anzupassen. Analysen sollen histologisch, bakteriologisch und immunologisch erfolgen. Darüber hinaus sollen die Bakterien mit fluoreszierenden Farbstoffen konjugiert werden, um das Eindringen der Bakterien über die intestinale Barriere direkt am konfokalen Mikroskop zu verfolgen. Dies kann am isolierten Darm, besser aber mit der betäubten Maus durchgeführt werden.

Ergebnisverwertung

Die Ergebnisse sollen veröffentlicht werden. Ein robustes Tiermodell, das orale Infektionen von MAP zulässt, wird patentiert und der Industrie zur Lizenznahme angeboten.

Teilprojekt 3 Die Rolle von Darmepithelzellen bei der Erregerabwehr und Wirtsempfindlichkeit gegenüber Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis

Projektleitung

Dr. med. Mathias Hornef
Institut für Medizinische Mikrobiologie und Krankenhaushygiene
Medizinische Hochschule Hannover
Carl-Neuberg-Straße 1, 30625 Hannover
Tel.: 0511 532-6770, Fax: 0511 532-4355
E-Mail: hornef.mathias@tiho-hannover.de

Vorhabenziel

Ziele des Projekts sind i) die Analyse der epithelialen Antwort und Zellschädigung auf MAP-Exposition, ii) die Analyse bakterieller Virulenzfaktoren und Testung neuer Nachweismethoden, iii) die Untersuchung bereits identifizierter oder vermuteter Wirtsfaktoren bei der Pathogenese des Morbus Crohn.

Arbeitsplan

Untersuchungen im Zellkulturmodell sowie *in vivo* nach oraler Infektion neugeborener Mäuse, Messung der Sekretion proinflammatorischer Mediatoren, Genexpressionsanalyse, immunhistologische Verfahren.

Ergebnisverwertung

Die Ergebnisse sollen zur Entwicklung diagnostischer Verfahren sowie therapeutischer und prophylaktischer Strategien der Behandlung und Eradikation in der Veterinärmedizin sowie der Analyse eines möglichen Zusammenhangs zwischen MAP-Infektion und Morbus Crohn dienen.

Teilprojekt 4

Korrelation zwischen Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis, Morbus Crohn und Dysplasie und der Nachweis von Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis in Kuhmilch, humanen und murinen Gewebeproben mittels kultureller Anzucht und Real Time-PCR

Projektleitung

Prof. Dr. med. Elke Roeb
Medizinische Klinik II, Gastroenterologie
Justus-Liebig-Universität Giessen
Paul-Meimberg-Straße 5, 35385 Gießen
Tel.: 0641 99-42338, Fax: 0641 99-42339
E-Mail: elke.roeb@innere.med.uni-giessen.de

Prof. Dr. med. vet. Michael Bülte
Institut für Tierärztliche Nahrungsmittelkunde (IFTN)
Justus-Liebig-Universität Gießen
Frankfurter Straße 92, 35392 Gießen
Tel.: 0641 99-38251, Fax: 0641 99-38259
E-Mail: buelte@vetmed.uni-giessen.de

Vorhabenziel

Mit einem Real Time-PCR-Verfahren soll der Nachweis von MAP-Zellen in Rohmilch, hitzebehandelter Milch und Milchprodukten erfolgen. Weiterhin sollen Zusammenhänge zwischen MAP und der Expression von Matrix-Metalloproteasen (MMP) und deren spezifischen Inhibitoren (TIMP) auf Dysplasien bei MC-Patienten untersucht werden.

Arbeitsplan

AP1: Quantifizierung von MAP mittels Phagen-vermittelter Aufkonzentration; AP2: Detektion von MAP aus Kuhmilch, humanen und murinen Gewebeproben; AP3: Evaluierung von Methoden für die Unterscheidung lebender und toter MAP-Zellen; AP4: Biopsien MAP-Infizierter für MMP-, TIMP- und RT-PCR-Analyse; AP5: Quantifizierung von MMP und TIMP-1; AP6: MMP- und TIMP-Genexpression durch cDNA-Array-Analyse.

Ergebnisverwertung

Grundsätzlich werden alle neuen methodischen Ansätze auf ihre Patentwürdigkeit geprüft, mit dem Ziel der späteren Kommerzialisierung.

Teilprojekt 5 Differenzierung von Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis Isolaten unterschiedlicher Herkunft mit einem neuen, standardisierten Typisierungsprotokoll

Projektleitung

Dr. med. vet. Heike Köhler/Dr. rer. nat. Petra Möbius
Institut für molekulare Pathogenese
Nationales Referenzlabor für Paratuberkulose (NRLP)

Friedrich-Loeffler-Institut
 Naumburger Strasse 96a, 07743 Jena
 Tel.: 03641 804-240 (Köhler), -280 (Möbius), Fax: 03641 804-228
 E-Mail: heike.koehler@fli.bund.de, petra.moebius@fli.bund.de

Vorhabenziel

Auf der Basis traditioneller (RFLP und PFGE) und neuartiger molekularer Typisierungsmethoden (VNTR-MIRU, MLSSR) soll ein standardisiertes Typisierungsprotokoll für MAP vorgeschlagen werden, das die Methoden mit der größten Diskriminierungskraft kombiniert. Darauf aufbauend werden MAP-Isolate unterschiedlicher Herkunft (humanes und bovines Gewebe, Milch) typisiert. Diese Untersuchungen werden dringend benötigte Informationen zum möglichen zoonotischen Charakter boviner MAP erbringen.

Arbeitsplan

i) Methodische Optimierung der MIRU-VNTR-Methode und Etablierung der MLSSR, ii) Untersuchung der Reproduzierbarkeit und der Differenzierungskraft von RFLP, PFGE, MIRU-VNTR und MLSSR unter Verwendung von 50 Isolaten, iii) Datenanalyse mithilfe der BioNumerics-Software, statistische Analyse und Ermittlung der Methodenkombination mit der höchsten Diskriminierungskraft, iv) molekulare Typisierung von MAP-Isolaten von Rind, Mensch und aus der Milch, die von den anderen Projektpartnern gewonnen wurden, mit dem neuen Typisierungsprotokoll.

Ergebnisverwertung

Ermittlung der genetischen Verwandtschaft und epidemiologischen Beziehungen von bovinen und humanen MAP-Stämmen.

2.4 Zoonotische Chlamydien – Modelle für chronische und persistente Infektionen bei Mensch und Tier

Verbundkoordination

Dr. Konrad Sachse
 Institut für molekulare Pathogenese
 Nationales Referenzlabor für Psittakose
 Friedrich-Loeffler-Institut, Standort Jena
 Naumburger Straße 96a, 07743 Jena
 Tel.: 03641 804-334, Fax: 03641 804-228
 E-Mail: konrad.sachse@fli.bund.de

Laufzeit: 1.9.2007 – 31.8.2010

Zusammenfassung

Die unzureichende diagnostische Erfassung Chlamydien-bedingter zoonotischer Erkrankungen in den vergangenen Jahrzehnten, ebenso wie eine ungenügende Zusammenarbeit zwischen Human- und Veterinärmedizin haben dazu beigetragen, dass ein Nachholbedarf an systematischer und multidisziplinärer Forschung auf diesem Gebiet besteht. So gelten die von *Chlamydoxiphila* (*Cp.*) *psittaci* hervorgerufene Psittakose, die von *Cp. abortus* hervorgerufenen Aborte und andere Chlamydien-bedingte Zoo-

nosen als unterbewertete und letztlich auch unterschätzte Infektionskrankheiten. Der Verbund umfasst acht Einzelprojekte mit systematischen wissenschaftlichen Ansätzen zur Abschätzung der Inzidenz, Aufklärung der molekularen Pathogenese, Verbesserung der Labordiagnostik und Weiterentwicklung der medikamentösen Behandlung humaner zoonotischer Chlamydieninfektionen. Neben einer Studie zur Bedeutung chlamydialer Zoonosen bei Beschäftigten in der Landwirtschaft und anderen Kontaktpersonen wird ein Tiermodell der aerogenen Infektion im Kalb etabliert und eingehend untersucht. Des Weiteren werden molekulare Pathogenesemechanismen in drei Einzelprojekten aus unterschiedlicher Perspektive erforscht. Die daraus erwachsenden Ergebnisse fließen in ein weiteres Projekt ein, welches auf neue Ansätze für die antibiotische Therapie zielt. Außerdem werden neue Mikroarray-basierte diagnostische Tests für Chlamydien entwickelt und evaluiert.

Das Netzwerk erfahrener Chlamydienforscher besteht zu gleichen Teilen aus Vertretern der Human- und Veterinärmedizin. Diese paritätische Zusammensetzung und das interdisziplinäre, multilaterale Zusammenwirken der Partner bilden die Ausgangsbasis für einen produktiven und innovativen Forschungsverbund, der die erklärten Ziele erreichen wird.

Teilprojekt 1 Modelle zoonotischer Exposition gegenüber Chlamydien und ihr Einfluss auf die akute und/oder persistierende pulmonale Morbidität

Projektleitung

Dr. med. Gernot Rohde
 Medizinische Klinik III
 Pneumologie, Allergologie, Schlaf- und Beatmungsmedizin
 Berufsgenossenschaftliche Kliniken Bergmannsheil
 Klinikum der Ruhr-Universität-Bochum
 Bürkle-de-la-Camp-Platz 1, 44789 Bochum
 Tel.: 0234 302-3532, Fax: 0234 302-6420
 E-Mail: gernot.rohde@rub.de

Chlamydieninfektionen stellen ein häufiges Problem sowohl in der Veterinär- als auch in der Humanmedizin dar. Es bestehen einerseits berufsbezogene Risiken für Personen mit direktem Kontakt mit infizierten Tieren und stark ausgeprägter Exposition (high-level). Andererseits gibt es die ökologische Exposition vor allem durch Stadttauben, die zu Atemwegsinfektionen führen kann. Das Ziel dieses Teilprojekts ist daher, die zoonotischen Effekte der berufsbezogenen und/oder der ökologischen Exposition gegenüber Chlamydien auf die akute und/oder chronische pulmonale Morbidität in zwei unterschiedlichen Modellen zu untersuchen. Ein Teil des Projekts wird die berufsbedingten Risiken von Personen mit Kontakt mit Chlamydien-infizierten Milchrindern in landwirtschaftlichen Betrieben als Modell der ausgeprägten beruflichen Exposition (high-level) untersuchen. Ein weiterer Teil des Projekts wird die Rolle der ökologischen Exposition gegenüber Chlamydien bei der Entwicklung der chronisch obstruktiven Lungenerkrankung als Modell der gering ausgeprägten Exposition bestimmen.

Teilprojekt 2 Pathogenese der *Chlamydomphila psittaci* Infektion und Transmissionsmechanismen vom Tier zum Menschen – Großtiermodell

Projektleitung

PD Dr. med. vet. Petra Reinhold
Institut für molekulare Pathogenese (IMP)
Friedrich-Loeffler-Institut, Standort Jena
Naumburger Straße 96a, 07743 Jena
Tel.: 03641 804-269, Fax: 03641 804-224
E-Mail: petra.reinhold@fli.bund.de

Unter Verwendung eines *Chlamydomphila-psittaci*-Stamms nicht-aviären Ursprungs (Isolat aus einem abortierten Rinderfötus mit unbekanntem zoonotischen Potenzial) soll ein respiratorisches Infektionsmodell an Kälbern etabliert werden. Die Charakterisierung des Modells *in vivo* umfasst neben klinischen Symptomen eine Vielzahl pathophysiologischer und lungenfunktionsdiagnostischer Parameter sowie das Monitoring der humoralen wie auch der lokalen zellulären Immunantwort. *Post mortem* werden makroskopische und histologische Veränderungen erfasst. An *ex vivo* kultivierten Makrophagen soll die aus *in vitro*-Untersuchungen abgeleitete Hypothese verifiziert werden, dass eine chlamydiale Infektion eine Hemmung der Apoptose der Wirtszelle triggeren kann. Mittels DNA-Mikroarray und Real Time-PCR wird parallel dazu in Gewebeproben der infizierten Tiere auf mRNA-Expressionsniveau untersucht, welche Persistenzeigenschaften der Infektionsstamm unter *in vivo*-Bedingungen ausprägt.

Teilprojekt 3 Differenziell exprimierte Antigene bei der *Chlamydomphila abortus*-Infektion des Menschen und des Schafes

Projektleitung

Prof. Dr. med. Andreas Essig
Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene
Universitätsklinik Ulm
Robert-Koch-Straße 8, 89081 Ulm
Tel.: 0731 500-65331, Fax: 0731 500-65302
E-Mail: andreas.essig@uniklinik-ulm.de

Obwohl *Chlamydomphila* (*Cp.*) *abortus* als ein weitverbreiteter Erreger bei Wiederkäuern gilt, finden sich nur wenig belastbare Daten hinsichtlich Prävalenz, klinischer Relevanz und Pathogenese dieser Anthroozoonose. Die Analyse der bakteriellen Antigenexpression in Abhängigkeit der wirtsspezifischen Umgebungsbedingungen bei Mensch und Tier kann entscheidend dazu beitragen, Virulenz-assoziierte Proteine von *Cp. abortus* zu identifizieren. Das Projekt hat daher das Ziel, *in vivo* und *in vitro* exprimierte Antigene von *Cp. abortus* mithilfe innovativer molekularer Strategien wie IVIAT (engl. *in vivo* induced antigen technology) und der serologischen Proteomanalyse zu charakterisieren. Von *Cp. abortus*-Genen, die ausschließlich *in vivo* expri-

miert werden, erwarten wir neue Impulse für die Prävention, Diagnostik und Therapie dieser Anthroozoonose.

Teilprojekt 4 Molekulare Pathogenese (Teil 1): Charakterisierung der Virulenz zoonotischer Chlamydien und der Wirtszellreaktion nach Infektion – vergleichende Transkriptom-, Proteom- und Interaktom- Untersuchungen

Projektleitung

Prof. Dr. Hans Peter Saluz
Hans-Knöll-Institut, Abteilung Zell- und Molekularbiologie
Leibniz-Institut für Naturstoff-Forschung
und Infektionsbiologie e. V.
Beutenbergstraße 11a, 07745 Jena
Tel.: 03641 6566-80, Fax: 03641 6566-89
E-Mail: hanspeter.saluz@hki-jena.de

Von den zoonotisch relevanten Chlamydien *Cp. psittaci* und *Cp. abortus* sollen innerhalb dieses Projekts vergleichende Transkriptom-Studien der Chlamydien und der infizierten Wirtszellen sowie vergleichende Proteom- und Protein-Protein-Interaktionsstudien erstellt werden. Eine relevante Auswahl intrazellulär sekretierter chlamydialer Proteine wird kloniert und in *E. coli* heterolog exprimiert. Die aufgereinigten Antigene werden in Partnergruppen zur Herstellung spezifischer Antisera und monoklonaler Antikörper genutzt. Die Antisera ermöglichen den Projektpartnern Untersuchungen zur Proteinexpression in Persistenz-Modellen. Im Labor werden zudem *in vivo*- und *in vitro*-Protein-Protein-Interaktionsexperimente sowie Transkriptom-Untersuchungen (Differential Display) mit dem Ziel durchgeführt, Chlamydien-induzierte Wirtszellreaktionen, wie Induktion und Hemmung von Apoptose, zu untersuchen.

Teilprojekt 5 Molekulare Pathogenese (Teil 2): Ko-Infektion von Chlamydien und Viren – Konsequenzen für Erregereintritt, Persistenz und Apoptose

Projektleitung

Prof. Dr. Ulrich Schubert
ViroLogik GmbH
Henkelstraße 91, 91052 Erlangen
Tel.: 09131 5301-488, Fax: 09131 5301-644
E-Mail: u.schubert@virologik.com

Das Projekt befasst sich mit der Ko-Infektion von Zellen durch Chlamydien und Viren. Es soll ein Modell zur gleichzeitigen Infektion mit Chlamydien und Influenza A-Virus (AIV) bzw. humanem Immundefizienzvirus Typ 1 (HIV-1) entwickelt werden, welches Aussagen zur Wirtszell-Apoptose erlaubt. Darüber hinaus werden mögliche Veränderungen im Infektionsverhalten der Chlamydien (Persistenz) nach Virusinfektion untersucht. Zusätzlich zu Arbeiten mit kompletten Viren wird die pro-apoptotische Wir-

kung von viralen akzessorischen Proteinen (PB1-F2 von IAV und Vpr von HIV-1) im Zusammenhang mit Chlamydieninfektionen untersucht. Die Rolle der Wirtszell-PI3K bei der Kontrolle der pathogeninduzierten Apoptose wird detailliert erforscht. Weiterhin soll geklärt werden, welche Funktionen PI3K beim Eindringen von Chlamydien in die Zelle haben und welche Bedeutung PI3K für die Phosphorylierung von PB1-F2 und Vpr haben.

Teilprojekt 6 Zelluläre Wege der MHC I-Antigenprozessierung und die Rolle zellautonomer Resistenz in Chlamy- dien-infizierten professionellen APCs

Projektleitung

PD Dr. rer. nat. Michael R. Knittler
Institut für Immunologie
Friedrich-Loeffler-Institut, Standort Tübingen
Paul-Ehrlich-Straße 28, 72076 Tübingen
Tel.: 07071 967-210, Fax: 07071 967-305
E-Mail: michael.knittler@fli.bund.de

Die durch zytotoxische T-Lymphozyten (CTLs) vermittelte Abwehrreaktion ist entscheidender Bestandteil der Immunität gegenüber intrazellulären Pathogenen. Über MHC I präsentierte und durch CTLs detektierte Antigene haben in der Regel zytosolischen Ursprung. Chlamydien vermehren sich in parasitophoren Vakuolen, die scheinbar keine intrazelluläre Verbindung zum MHC I-Weg der Antigenpräsentation haben. Jedoch besitzen professionelle Antigen-präsentierende Zellen (APCs) eine wichtige Aufgabe bei der MHC I-vermittelten Eliminierung Chlamydien-infizierter Zellen. Dendritische Zellen (DCs) sind vermutlich die ersten APCs, die einer Infektion entgegenreten. Das Projekt wird Einblicke in die intrazellulären Abläufe der MHC I-Präsentation Chlamydien-infizierter DCs sowie deren mögliche Kooperation mit zellautonomer Resistenz geben. Erwartet wird, dass die Erkenntnisse einen wichtigen Beitrag zur Entwicklung zukünftiger Impf- und Behandlungsstrategien leisten.

Teilprojekt 7 Neue molekulardiagnostische Tests für Chlamydien

Projektleitung

Dr. rer. nat. Konrad Sachse
Institut für molekulare Pathogenese
Nationales Referenzlabor für Psittakose
Friedrich-Loeffler-Institut, Standort Jena
Naumburger Straße 96a, 07743 Jena
Tel.: 03641 804-334, Fax: 03641 804-228
E-Mail: konrad.sachse@fli.bund.de

Mit dem Ziel der weiteren Beschleunigung und Vereinfachung des Chlamydien-Nachweises wird in diesem Projekt mit der neuen AP-Plattform ein Test entwickelt, welcher auf dem AT-Test basiert, aber sämtliche Prozesse (PCR-Amplifikation, Biotinmar-

kierung, Mikroarray-Hybridisierung) in einem Gefäß innerhalb einer Stunde abwickelt. Da das Potenzial der AT-Mikroarrayplattform weit über die bloße Spezies-Identifizierung hinausgeht, werden als weitere Zielstellung in diesem Projekt schnelle Genotypisierungstests für zwei Chlamydienarten entwickelt und evaluiert. Obwohl die Genotypisierung ein wichtiges epidemiologisches Werkzeug darstellt, gibt es gegenwärtig keinen Test, mit dessen Hilfe die Genotypen von *Cp. psittaci* und *C. trachomatis* in einem Arbeitsgang bestimmt werden können. Die beschriebenen Mikroarray-Tests werden eingesetzt, um Feldproben aus Schweinebeständen mit Reproduktionsproblemen zu untersuchen und damit das breite Spektrum der in Schweinen natürlicherweise vorhandenen Chlamydien-Spezies zu charakterisieren. In diesem Zusammenhang ist es besonders wichtig, frühere Beobachtungen zum Vorkommen des humanpathogenen Keims *C. trachomatis* im Schwein hinsichtlich eines möglichen zoonotischen Potenzials abzuklären. Des Weiteren werden alle hier erwähnten DNA-Mikroarrays zur Untersuchung von Proben aus anderen Projekten des Verbunds eingesetzt.

Teilprojekt 8 Persistente Chlamydieninfektionen: neue Ansätze einer antibiotischen Therapie

Projektleitung

Prof. Dr. med. Eberhard Straube
Institut für Medizinische Mikrobiologie
Friedrich-Schiller-Universität Jena
Semmelweisstraße 4, 07743 Jena
Tel.: 03641 9-33106, Fax: 03641 9-33474
E-Mail: eberhard.straube@med.uni-jena.de

Die unzureichende Effizienz einer Antibiotikatherapie bei chronischen Erkrankungen durch Chlamydieninfektionen sowie Rückfälle nach einer antibiotischen Standardtherapie bei akuten Infektionen stehen im Zusammenhang mit der Ausbildung intrazellulär persistenter Chlamydien. Das Projekt hat das Ziel, potenzielle Therapiestrategien zur besseren Eliminierung solcher persistenter Erreger zu entwickeln.

In Kulturen von Epithelzellen, Fibroblasten und Monozyten werden persistente Infektionen mit *Chlamydomphila (Cp.) psittaci* und *Cp. abortus* etabliert und die antichlamydiale Wirksamkeit verschiedener Kombinationen von Tetracyclin- und Makrolidantibiotika mit Rifampicin, Clindamycin und dem Proteasehemmer Galardin untersucht. Darüber hinaus sollen geeignete Chlamydien-mRNAs als spezifische Marker für ein Therapie-Monitoring persistenter Infektionen definiert werden.

2.5 Erforschung der molekularen Pathogenese des Q-Fiebers und ihre Anwendung in der Diagnostik und Epidemiologie in Deutschland

Verbundkoordination

Prof. Dr. med. vet. Heinrich Neubauer
 Leiter des Instituts für bakterielle Infektionen und Zoonosen
 Friedrich-Loeffler-Institut, Standort Jena
 Naumburger Straße 96a, 07743 Jena
 Tel.: 03641 804-200, Fax: 03641 804-228
 E-Mail: heinrich.neubauer@fli.bund.de

Laufzeit: 1.8.2007–31.7.2010

Strukturelles und wissenschaftliches Konzept

Q-Fieber (Query-Fieber) ist eine der wenigen gemeingefährlichen und hoch virulenten Zoonosen, die in Deutschland noch endemisch verbreitet sind. Sie wird durch *Coxiella burnetii*, ein gramnegatives Bakterium, verursacht. Infizierte Nutztiere (z. B. Schafe) scheiden Coxiellen mit Geburtsprodukten, dem Urin, dem Kot und der Milch aus oder tragen infizierten Zeckenkot in ihrem Fell. Die Infektion bleibt häufig unerkannt. Die Übertragung auf den Menschen erfolgt meist auf aerogenem Weg durch die Inhalation infektiösen Staubes. Nur schätzungsweise 30 bis 40 Prozent der Infizierten entwickeln eine grippeartige Erkrankung, die durch Hepatitis, Pneumonie oder Myoperikarditis einen komplizierten Verlauf nehmen kann. Ein Prozent der Fälle wird chronisch. Die Anzucht und Genotypisierung von *C. burnetii* bei menschlichen Erkrankungen wird bisher kaum durchgeführt. Für den Umgang mit infizierten Herden gibt es nur sehr allgemeine Verhaltensregeln. *C. burnetii* lebt obligat intrazellulär. Neben den large-cell und small-cell Varianten existieren sehr resistente, sporenähnliche Formen. Diese gelten als extrem infektiös. Für den Menschen wird sogar eine Infektionsdosis von nur zehn Erregern angenommen.

Der Verbund befasst sich mit den Themenkomplexen Epidemiologie und molekulare Pathogenese. Im Mittelpunkt der epidemiologischen Forschung stehen Prävalenzstudien bei Mensch und Tier. Dazu werden randomisierte Bevölkerungskollektive (hohes, geringes Expositionsrisiko und Berufsgruppen mit einem vermutlich erhöhten Expositionsrisiko, z. B. Schäfer, Scherer und Tierärzte) untersucht. Besonders hervorzuheben ist die Möglichkeit, Serumproben von 9- bis 11-Jährigen untersuchen zu können, also von einem Kollektiv, das normalerweise für prospektive Untersuchungen nicht zur Verfügung steht. Zusätzlich werden klinische, mikrobiologisch-diagnostische, umweltepidemiologische und nicht zuletzt ökonomische Fragen eines Q-Fieber-Ausbruchs in einer Stadt in einem Endemiegebiet untersucht. Dies beinhaltet eine deskriptive Analyse der Daten von Patienten mit akutem Q-Fieber und Untersuchungen zur Identifizierung und Analyse des chronischen Q-Fiebers. So können Seroprävalenzen bei Personengruppen vor dem Ausbruch, nach dem Ausbruch und aus nicht involvierten Stadtteilen verglichen werden. Weiterhin werden aus zeitnahen umweltepidemiologischen Daten Ein-

flüsse von spatialen Faktoren, Wohncharakteristika und Verhaltensmerkmalen auf das Infektionsgeschehen ermittelt. Außerdem besteht die Möglichkeit, anhand einer Seroprävalenzstudie, die Rolle von Q-Fieber bei atypischen Pneumonien zu erfassen. Durch veterinärmedizinische Partner werden – zur Komplettierung des Bildes der epidemiologischen Situation – Proben von einer Vielzahl von möglichen Reservoir- bzw. Wirtstierpopulationen untersucht. Die Erregerbiologie in einer infizierten Schafherde von ca. 1.200 Tieren wird gesondert untersucht. Anfallende Isolate bzw. positive Proben aus allen drei Teilprojekten werden näher charakterisiert. Insgesamt sind einzigartige und umfassende epidemiologische Datensätze zu erwarten.

Der zweite Themenkomplex befasst sich mit Erkenntnissen zur molekularen Pathogenese und Epidemiologie von *C. burnetii* und deren Umsetzung in neue Diagnostika und möglicherweise auch Prophylaktika. Dazu wird die experimentelle Infektion mit *C. burnetii* auf oralem und inhalativem Wege bei Schafen durchgeführt. Im Verlauf der Infektion werden die klinischen Symptome, hämatologischen Veränderungen, Serokonversionen, Ausscheidungswege und Übertragung auf die eigenen Lämmer und auf andere erwachsene Schafe sowie die Ausbreitung mit Stäuben untersucht. Dabei werden Proben in quantitativen molekularen Pathogenesestudien mittels reverser Real Time-PCR und Genchip untersucht. Zusätzlich werden die Genome von zwei *C. burnetii*-Isolaten zur Analyse von Virulenzfaktoren und geeigneter Strukturen zur molekularen Typisierung sequenziert. *In silico* werden potenzielle Virulenzfaktoren identifiziert und durch Transkriptionsanalysen mithilfe der DNA-Mikroarray-Technologie untersucht. Aus diesen Untersuchungen hervorgehende Kandidaten-Proteine werden für die Verbesserung der serologischen Diagnostik rekombinant hergestellt und systematisch in Testsystemen evaluiert. Der Verbund setzt sich aus Arbeitsgruppen der Humanmedizin, Veterinärmedizin, Epidemiologie, Produktentwicklung molekularer und serologischer Diagnostika, Grundlagenforschung aus Biologie, Biochemie und Bioinformatik zusammen und umfasst verschiedene Dienstleistungsplattformen (Anzucht – Molekulare Typisierung – Molekulare Pathogenese – Epidemiologie – Molekulare *in-silico*-Analyse – Immun-diagnostikentwicklung).

Teilprojekt 1 Epidemiologie des Q-Fiebers beim Menschen

Projektleitung

Prof. Dr. rer. nat. Dr. med. P. Kimmig
 National Consulting Laboratory for *Coxiella burnetii*
 Landesgesundheitsamt Baden-Württemberg
 Regierungspräsidium Stuttgart
 Nordbahnhofstraße 135, 70191 Stuttgart
 Tel.: 0711 904-39310, Fax: 0711 904-35010
 E-Mail: peter.kimmig@rps.bwl.de

Vorhabenziel

Ziel des Vorhabens ist es, anhand von Seroprävalenzstudien in Bevölkerungskollektiven und der Untersuchung akuter Q-Fieber-Fälle im Rahmen von Ausbrüchen und Einzelerkrankungen die Relevanz des humanen Q-Fiebers in der Bevölkerung Baden-Württembergs zu bewerten.

Arbeitsplan

In Zusammenarbeit mit Gesundheitsämtern werden Bevölkerungskollektive aus Regionen mit vermutetem hohem Expositionsrisiko (vorangegangene Q-Fieber-Meldungen, Schaf-Vorkommen, bisher bekannte Seroprävalenzen) und Regionen mit vermutetem geringen Expositionsrisiko auf *Coxiella burnetii*-Antikörper (PH2 IgG) untersucht. Darüber hinaus werden im Rahmen anderer bereits etablierter Monitoring-Programme Serumproben von 9- bis 11-jährigen Kindern erhoben und auf Q-Fieber-Antikörper untersucht. Q-Fieber-Fälle im Rahmen von Ausbrüchen und Einzelerkrankungen werden serologisch abgeklärt und molekularbiologisch bzw. mittels Zellkultur charakterisiert.

Ergebnisverwertung

Die Ergebnisse stellen die Grundlage für die Bewertung des humanen Q-Fiebers in Baden-Württemberg dar. Die Charakterisierung von Q-Fieber-Isolaten zeigt Zusammenhänge zwischen dem Auftreten humaner und tierischer Q-Fieber-Fälle auf und gibt wichtige Hinweise zur Antibiotika-Resistenzentwicklung.

Teilprojekt 2**Q-Fiebersausbruch Jena: Deskriptive Analyse, Evaluierung neuer diagnostischer Verfahren und Verlaufsbeobachtung chronischer Erkrankungen****Projektleitung**

Prof. Dr. med. Eberhard Straube
Institut für Medizinische Mikrobiologie
Friedrich-Schiller-Universität Jena
Sammelweisstraße 4, 07743 Jena
Tel.: 03641 9-33106, Fax: 03641 9-33474
E-Mail: eberhard.straube@med.uni-jena.de

Vorhabenziel

Q-Fieber ist eine wenig untersuchte Erkrankung mit weltweiter Verbreitung. Im Sommer 2005 ereignete sich in Jena einer der größten Q-Fiebersausbrüche mit mehr als 320 gemeldeten Fällen (häufig Pneumonien). Dieses Geschehen soll untersucht werden, um mehr über Klinik, Epidemiologie und den diagnostischen Wert neuer Nachweismethoden zu erfahren.

Arbeitsplan

Deskriptive Analyse klinischer Daten; Validierung der PCR bei akuten Infektionen; Abschätzung der individuellen Inokulationsdosis mittels multivariater Analyse; Seroprävalenzbestimmung im betroffenen Gebiet vor und nach dem Ereignis sowie in einer Kontrollpopulation; Untersuchung des Einflusses der Inokulationsdosis auf Schwere und Inzidenz der Erkrankung; Verlaufs-

studie chronischer Infektionen mit Erhebung klinischer Befunde und Validierung mikrobiologischer Diagnoseverfahren bei chronischen Erkrankungen; Berechnung der Kosten des Ausbruchs

Ergebnisverwertung

i) Einbeziehung moderner Untersuchungsverfahren in die Beschreibung des Krankheitsbildes, ii) Erarbeitung eines diagnostischen Stufenschemas, iii) gesundheitspolitische Einschätzung der Erkrankung, iv) Bereitstellung epidemiologischer und ökonomischer Daten zur Etablierung von Präventivmaßnahmen

Teilprojekt 3**Übertragungswege und Pathogenese des Q-Fieber-Erregers *Coxiella burnetii* bei Schafen****Projektleitung**

Prof. Dr. med. vet. Martin Ganter
Klinik für kleine Klauentiere
Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
Bischofsholer Damm 15, 30173 Hannover
Tel.: 0511 856-7260, Fax: 0511 856-7684
E-Mail: martin.ganter@tiho-hannover.de

PD Dr. Martin Runge

Veterinärinstitut Hannover, Niedersächsisches Landesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (LAVES)
Eintrachtweg 17, 30173 Hannover
Tel.: 0511 28897-240, Fax: 0511 28897-298
E-Mail: martin.runge@laves.niedersachsen.de

Vorhabenziel

Untersuchung der Pathogenese des Q-Fiebers beim Schaf nach oraler und aerogener Infektion mittels *Coxiella burnetii*. Im Verlauf der Infektionen sollen die klinischen Symptome, hämatologischen Veränderungen, Serokonversion, Ausscheidungswege und Dauer sowie Übertragung auf die eigenen Lämmer und auf andere erwachsene Schafe untersucht werden.

Arbeitsplan

Es sind vier Teilversuche geplant: i) orale Infektion von *Coxiella*-negativen Lämmern, ii) aerogene Infektion tragender Muttertiere iii) aerogene Infektion von Lämmern, iv) gemeinsame Haltung von *Coxiella* positiven und negativen tragenden Schafen im gleichen Stallraum ohne direkten Kontakt. Muttertiere und ihre Lämmer sollen regelmäßig klinisch untersucht und beprobt werden. Blut, Kot, Urin, Vaginaltupfer, Lungenspülproben und Staubproben aus der Raumluft werden auf Coxiellen untersucht und näher charakterisiert (Phase I/II, VNTR Analyse, DNA-Sequenzierung). Parallel sollen hämatologische und zytologische sowie serologische Untersuchungen erfolgen. Abschließend folgt eine pathologisch-anatomische Untersuchung.

Ergebnisverwertung

Die Ergebnisse sollen zusammen mit den anderen Partnern im Forschungsverbund in internationalen Zeitschriften publiziert werden.

Teilprojekt 4 Epizootiologie von Q-Fieber bei Wiederkäuern und wild lebenden Säugetieren und differen- zierende molekulare Pathogenese von *Coxiella* *burnetii* bei Mensch und Tier

Projektleitung

Prof. Dr. med. vet. Heinrich Neubauer
Institut für bakterielle Infektionen und Zoonosen
Friedrich-Loeffler-Institut, Standort Jena
Nauenburger Straße 96a, 07743 Jena
Tel.: 03641 804-200, Fax: 03641 804-228
E-Mail: heinrich.neubauer@fli.bund.de

Prof. Dr. med. vet. Klaus Henning
Institut für Epidemiologie
Friedrich-Loeffler-Institut
Seestraße 55, 16868 Wusterhausen
Tel.: 033979 80-156, Fax: 033979 80-200
E-Mail: klaus.henning@fli.bund.de

Die Zielstellung dieses Projekts ist die Isolierung von *Coxiella burnetii*-Stämmen für die Erhebung epidemiologischer Daten von Q-Fieber in Deutschland. Hierfür werden alle *Coxiella*-PCR-positiven Proben am FLI, Wusterhausen, einem Anzuchtversuch mittels Zellkultur unterzogen. Bei diesen Proben handelt es sich sowohl um Proben von Hauswiederkäuern (Schaf, Rind, Ziege) als auch um Proben von Tierspezies, die als Reservoir (Wild) oder Überträger (Nager) in Frage kommen. Die hierbei gewonnenen Isolate werden anschließend einer Phänotypisierung sowie einer molekularen Typisierung unterzogen. Die Ergebnisse der Typisierungen dienen als Grundlage für eine epidemiologische Zuordnung hinsichtlich der Verteilung von *Coxiella burnetii*-Stämmen in den Regionen. Es wird angenommen, dass *C. burnetii* Virulenzfaktoren produziert, welche ihm das Überleben und die Vermehrung in seinem Wirt erlauben und ihn resistent gegenüber der Immunantwort machen. Für ein besseres Verständnis der Pathogenese der Krankheit sollen neue Virulenzfaktoren *in silico* identifiziert und durch Transkriptionsanalysen mithilfe der DNA-Mikroarray-Technologie untersucht werden.

Teilprojekt 5 Identifizierung und Charakterisierung immun- dominanter Proteine und Antigene von *Coxiella* *burnetii* mittels comparative genomics und Aufbau der molekularen Epidemiologie des Q-Fiebers in Deutschland

Projektleitung

Dr. med. Dimitrios Frangoulidis/Dr. Wolf Splettstößer
Institut für Mikrobiologie der Bundeswehr
Neuherbergstraße 11, 80937 München
Tel.: 089 3168-3869 (Frangoulidis), -2918 (Splettstößer)
Fax: 089 3168-3292
E-Mail: dimitriosfrangoulidis@bundeswehr.org
wolfsplettstoesser@bundeswehr.org

In diesem Vorhaben sollen mithilfe des Vergleichs von Genomsequenzierungsdaten von *Coxiella burnetii* und von weiteren 250 pathogenen Bakterien verschiedener Spezies und Genera neue standardisierte, nach Qualitätsnormen hergestellte Diagnostika entwickelt und eine genomische Datenbank der Epidemiologie des Q-Fiebers in Deutschland erstellt werden.

Vorhandene publizierte Genome von *Coxiella burnetii* und bis zu drei neusequenzierte Stämme werden miteinander verglichen. Identifizierte Proteine/Peptide werden rekombinant hergestellt und anschließend für die Herstellung von Hyperimmunsen verwendet. Dann erfolgt in einem immunologischen Testsystem (z. B. ELISA) die Überprüfung ihrer diagnostischen Fähigkeiten. Zusätzlich werden aus den Sequenzierungsdaten bekannte und neue Typisierungsmethoden entwickelt, die eine genomische Epidemiologie des Q-Fiebers in Deutschland ermöglichen. Immunogene Bestandteile von *Coxiella burnetii*, die in einer entsprechenden Testplattform eingebettet sind (z. B. ELISA, Lateral-Flow-Assay), können dann die Grundlage neuer Nachweisverfahren bilden, die auch kommerziell verwertbar sind.

2.6 TOXONET01 – Ein Netzwerk zur Toxoplasmose bei Mensch und Tier in Deutschland: Pathogenese, Risikofaktoren und Kontrolle

Verbundkoordination

Prof. Dr. med. Oliver Liesenfeld
Institut für Mikrobiologie und Hygiene
Charité – Universitätsmedizin Berlin, Campus Benjamin Franklin
Hindenburgdamm 30, 12200 Berlin,
Tel.: 030 8445-3630, Fax: 030 8445-3830
E-Mail: oliver.liesenfeld@charite.de

Laufzeit: 1.7.2007–31.6.2010

In Deutschland liegen nur wenige Daten zur Prävalenz des Erregers und den lokalen Risikofaktoren vor. Neben Veränderungen in der Tierhaltung und Fleischproduktion hat auch ein verändertes Verhalten des Konsumenten Einfluss auf die Prävalenz. So lässt sich ein Trend weg vom Konsum von Schweine- und Rindfleisch hin zum Konsum von Geflügel beobachten. Zusätzlich besteht ein gesteigertes Verlangen nach „organischer“ Haltung von Nutztieren mit erhöhter Gefahr der Infektion. Parallel dazu verlangen Verbraucher vermehrt pathogenfreies Fleisch und Fleischprodukte. Während in der Humanmedizin standardisierte Testverfahren mit hoher Sensitivität und Spezifität zum Nachweis der Infektion mit *Toxoplasma gondii* vorliegen, stehen entsprechende Tests für die Veterinärmedizin nicht zur Verfügung.

TOXONET01 hat sich deshalb zum Ziel gesetzt, relevante Aspekte der Pathogenese, Diagnose und Epidemiologie der Toxoplasmose bei Mensch und Tier zu untersuchen. Im Arbeitspaket A werden Mechanismen der Persistenz des Parasiten in Muskel- und Nervenzellen untersucht, Untersuchungen zur Tenazität von *T.g.*-Gewebezysten durchgeführt und standardisierte diagnostische Tests zum Erregernachweis etabliert und validiert. Im Arbeitspaket 2 werden Tests zum Nachweis oozysten- bzw. gewebssystem-

spezifischer Antigene entwickelt und zentral *T. gondii*-Stämme aus Gewebeproben und Seren genotypisiert. Im Arbeitspaket C werden epidemiologische Studien zur Prävalenz von *T. gondii* in Schwein und Geflügel sowie in Patienten durchgeführt, relevante Risikofaktoren aufgedeckt und Prädiktoren für symptomatische Verläufe der Infektion beim Menschen identifiziert. Zusammengefasst werden diese Ergebnisse die Entwicklung und Implementierung von effektiven Strategien zur Reduzierung des Risikos einer Erkrankung mit *T. gondii* in Deutschland ermöglichen.

Teilprojekt 1 **Persistenz von Toxoplasma gondii in der Skelettmuskulatur: Voraussetzung für die nahrungsmittelabhängige Übertragung auf den Menschen**

Projektleitung

PD Dr. Carsten Lüder
Institut für Medizinische Mikrobiologie
Georg-August-Universität Göttingen
Kreuzberggring 57, 37075 Göttingen
Tel.: 0551 39-5869, Fax: 0551 39-5861
E-Mail: clueder@gwdg.de

Der Verzehr von kontaminiertem Fleisch dürfte für die Inzidenz der Toxoplasmose des Menschen besondere Bedeutung besitzen. Daher werden in dem Projekt Versuche durchgeführt, die die molekularen Mechanismen der Persistenz von *T. gondii* in der Skelettmuskulatur in Zwischenwirten charakterisieren. Im Einzelnen soll geklärt werden, (i) in welchem Ausmaß Skelett- und Herzmuskulatur die Entwicklung persistierender Parasitenstadien begünstigen, (ii) inwieweit Muskelzellen die intrazelluläre Vermehrung und Differenzierung in das Bradyzoitenstadium ermöglichen, (iii) ob genotypische Unterschiede des Parasiten die Fähigkeit zur Persistenz in Muskelzellen beeinflussen, und (iv) durch welche Mechanismen *Toxoplasma* die Apoptose von infizierten Muskelzellen hemmt. Wir werden dazu *in vitro*-Untersuchungen und tierexperimentelle Arbeiten an Mäusen und – in Zusammenarbeit mit den Veterinären des Forschungsverbunds – Haustieren durchführen. Das Projekt wird zu einem verbesserten Verständnis der Mechanismen der Parasitenpersistenz in Muskelzellen beitragen und könnte auch neue Möglichkeiten zur Vermeidung der Übertragung auf den Menschen eröffnen.

Teilprojekt 2 **Persistenz von Toxoplasma gondii in Neuronen des Gehirns**

Projektleitung

Prof. Dr. Dirk Schlüter
Institut für Medizinische Mikrobiologie
Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg
Leipziger Straße 44, 39120 Magdeburg
Tel.: 0391 67-13317, Fax: 0391 67-290717
E-Mail: dirk.schlueter@medizin.uni-magdeburg.de

Toxoplasma gondii persistiert im Gehirn von Vertebraten. Im Projekt sollen die molekularen Mechanismen der Persistenz des Parasiten im Gehirn in kombinierten *in vivo*- und *in vitro*-Versuchen charakterisiert werden. Dabei wird auf die Persistenzmechanismen in Neuronen, insbesondere die Modulation der NF- κ B- und Apoptose-Signalwege fokussiert. Auf diese Experimente aufbauend soll im nächsten Schritt überprüft werden, ob eine therapeutische Beeinflussung von Signaltransduktionsmolekülen oder des Apoptosewegs von Neuronen zu einer verminderten Persistenz des Erregers im Gehirn führt. Ein vertieftes Verständnis der intraneuronalen Persistenz von *T. gondii* erweitert wesentlich die Erkenntnisse über die Interaktion von Parasit und Wirt und ermöglicht weitere gezielte Arbeiten mit der Perspektive persistierende Toxoplasmen in Menschen und Nutztieren zu eliminieren.

Teilprojekt 3 **Etablierung einer Methode zum Nachweis von Toxoplasma gondii bei der Pute und Studien zur Tenazität in Putenfleisch und -fleischerzeugnissen**

Projektleitung

Professor Dr. med. vet. Karsten Fehlhaber
Institut für Lebensmittelhygiene
Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig
An den Tierkliniken 1, 04103 Leipzig
Tel.: 0341 97-38220, Fax: 0341 97-38249
E-Mail: fehlhaber@vetmed.uni-leipzig.de

Ein Ziel des Projekts ist es, Untersuchungen zur Tenazität von *Toxoplasma gondii* (*T.g.*)-Gewebezysten durchzuführen. Ein weiteres Ziel des Projekts ist die Entwicklung eines sensitiven ELISA zum sicheren Nachweis von spezifischen *T.g.*-Antikörpern in der Pute.

Die Untersuchungen zur Tenazität sind im *in vitro*-Modell, im Putenfleisch sowie in nicht thermisch behandelten Putenfleischerzeugnissen geplant. Der Einfluss von pH- und aw-Wert, Nitritpökelsalz sowie Temperatur soll geprüft werden. Weiterhin sollen ein *T.g.*-Zellkulturverfahren und eine RT-PCR etabliert werden, die es ermöglichen, infektiöse *T.g.*-Gewebezysten im *in vitro*-Modell, in Putenfleisch und -fleischerzeugnissen sicher nachzuweisen. Das für die Bearbeitung aller Ziele notwendige „*T.g.*-Infektionsmodell-Pute“ wird aufgebaut.

Die Erkenntnisse aus den Tenazitätsuntersuchungen könnten es ermöglichen, nicht erhitzte Fleischerzeugnisse so herzustellen, dass *T.g.*-Gewebezysten in den Produkten sicher abgetötet sind. Insgesamt zielen die Inhalte des Projekts darauf ab, im Rahmen des gesundheitlichen Verbraucherschutzes eine Bewertung des Risikos zu ermöglichen und *T.g.* aus der Lebensmittelkette effektiv zurückzudrängen.

Teilprojekt 4 Validierung und Standardisierung diagnostischer Methoden für Untersuchungen zur relativen Bedeutung von *Toxoplasma gondii* bei Lebensmittel liefernden Tieren

Projektleitung

Apl. Prof. Astrid M. Tenter
Institut für Parasitologie, Zentrum für Infektionsmedizin
Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
Bünteweg 17, 30539 Hannover
Tel.: 0511 953-8717, Fax: 0511 953-8870
E-Mail: astrid.tenter@tiho-hannover.de

Ein standardisiertes Testsystem zum Nachweis von *Toxoplasma gondii* in diagnostischen Proben von Tieren oder in Produkten tierischen Ursprungs ist eine Voraussetzung für die Entwicklung effektiver Maßnahmen zur Reduktion infektiöser Parasitenstadien in der Lebensmittelkette. In diesem Projekt sollen traditionelle Testmethoden mit neuen Tests auf der Basis rekombinanter Antigene miteinander verglichen und hinsichtlich ihrer Qualität evaluiert werden.

Insgesamt stehen neun rekombinante Antigene zur Verfügung. Zur Validierung der Tests werden Referenzseren von experimentell infizierten Schweinen und Geflügelarten gewonnen. Die sensitivsten und spezifischsten Tests werden in Ringversuchen hinsichtlich ihrer Reproduzierbarkeit validiert und standardisiert. Die Tests mit den besten Ergebnissen aus den Ringversuchen werden dann eingesetzt, um Daten zur Prävalenz von *T. gondii* bei landwirtschaftlichen Nutztieren in Deutschland zu erheben.

Die in diesem Projekt ermittelten Daten werden in Teilprojekt 7 ausgewertet. Sie werden einen wesentlichen Beitrag zum Kenntnisstand über die Epidemiologie von Infektionen mit *T. gondii* liefern.

Teilprojekt 5 Charakterisierung neuer Oozysten-spezifischer *Toxoplasma gondii*-Antigene: Bedeutung in der Transmission des Erregers und Identifikation der mit Oozysten Infizierten

Projektleitung

Prof. Dr. med. Oliver Liesenfeld
Institut für Mikrobiologie und Hygiene
Charité-Universitätsmedizin Berlin, Campus Benjamin Franklin
Hindenburgdamm 30, 12200 Berlin
Tel.: 030 8445-3630, Fax: 030 8445-3830
E-Mail: oliver.liesenfeld@charite.de

Der Mensch kann sich mit *Toxoplasma gondii* einerseits über den Kontakt mit Katzenkot und darin enthaltener Oozysten, andererseits durch den Verzehr von ungenügend gekochtem oder rohem Fleisch mit Gewebezysten infizieren. Derzeit erhältliche Tests zum serologischen Nachweis von Antikörpern sind nicht in der Lage,

zwischen den beiden Infektionswegen zu unterscheiden. Zum Aufbau geeigneter Präventionsprogramme sind aber Kenntnisse über die Relevanz dieser Infektionswege in Deutschland von essenzieller Bedeutung.

Im Projekt werden deshalb oozystenspezifische Antigene mittels 2D-Gelelektrophoresen aufgetrennt, auf ihre Reaktivität mit Antikörpern im Serum infizierter Katzen charakterisiert und per Massenspektroskopie identifiziert. Nachfolgend werden geeignete Antigene in serologischen Tests eingesetzt, um ihre Eignung für epidemiologische Fragestellungen zu überprüfen. In einem weiteren Projektteil soll die funktionelle Relevanz identifizierter Oozysten-Antigene für die Invasion von Wirtszellen und die Transmission geklärt werden.

Teilprojekt 6 Funktionelle Charakterisierung neuer immun-dominanter Antigene von *Toxoplasma gondii*: Wertigkeit als diagnostische und therapeutische Zielstrukturen

Projektleitung

Prof. Dr. med. Walter Däubener
Institut für Medizinische Mikrobiologie und Krankenhaushygiene
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Universitätsstraße 1, Geb. 22.21, 40225 Düsseldorf
Tel.: 0211 81-12464, Fax: 0211 81-15906
E-Mail: daebene@uni-duesseldorf.de

Die Toxoplasmose ist eine bekannte und weltweit verbreitete Zoonose. Beim Menschen sind klinisch insbesondere die Toxoplasmose bei Schwangeren und die Reaktivierungstoxoplasmose bei immunsupprimierten Patienten von Bedeutung. Das Teilprojekt beteiligt sich an den im Verbund geplanten epidemiologischen Analysen, dem Aufbau einer Serumbank und dem Aufbau einer Parasitenstammsammlung. Der Schwerpunkt liegt jedoch in der Analyse der Bedeutung von rekombinanten Antigenen zur Diagnose der Toxoplasmose beim Menschen und bei Nutztieren. Dabei wollen wir insbesondere die von uns neu beschriebenen Toxoplasmen-Antigene GRA9, B4 und D1 analysieren. Ferner planen wir auch, die Antigene GRA3, GRA4, GRA5, ROP7 und MIC5 als rekombinante Proteine herzustellen und in serologischen Tests (ELISA, Westernblot, Agglutinationstests) einzusetzen.

Aus Vorbefunden unserer Arbeitsgruppe ist bekannt, dass GRA9 insbesondere an Membranen des Netzwerks innerhalb der parasitophoren Vakuole gebunden ist und eine Homologie zur Farnesyltransferase aufweist. Ferner konnten wir bereits beschreiben, dass GRA9 ein essenzielles Protein für Toxoplasmen darstellt. Nach unseren Befunden können GRA9 defiziente Toxoplasmen nicht für längere Zeit überleben. Das Antigen B4 ist im Zytoplasma von Tachyzoiten und Bradyzoiten zu finden, ist möglicherweise mit dem Zytoskelett assoziiert und spielt eventuell eine Rolle bei der Parasitenreplikation. Exakte Daten zur Lokalisation des 11kDa großen D1 Protein liegen zurzeit noch nicht vor. Erste Ergebnisse lassen jedoch die Vermutung zu, dass D1 mit den Rhoptries assoziiert ist.

Zusammenfassend planen wir die Antigene GRA9, D1 und B4 weiter zu charakterisieren und deren Immunogenität zur Etablierung von serologischen Testsystemen zur Diagnose der Toxoplasmose bei Mensch und Tier zu nutzen.

Teilprojekte 7 und 8 Toxoplasma gondii: Serologische und molekulare Typisierung sowie Untersuchungen zum Vorkommen bei Schweinen und Geflügel in Deutschland

Projektleitung

Dr. Gereon Schares
Institut für Epidemiologie, Friedrich-Loeffler-Institut
Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit
Seestraße 55, 16868 Wusterhausen
Tel.: 033979 80-193, Fax: 033979 80-222
E-Mail: gereon.schares@fli.bund.de

Die Geno- und Serotypen von *T. gondii*, die bei menschlichen Erkrankungen und in potenziellen Infektionsquellen (Fleisch, Oozysten von Feliden) nachgewiesen werden, sollen bestimmt werden. Um aktuelle Daten über die Prävalenz von *T. gondii*-infizierten Schweinen und Hausgeflügel zu erhalten, werden serologische Querschnittsuntersuchungen durchgeführt.

Die Genotypisierung soll auf vier unabhängigen genetischen Markern basieren. Zur serologischen Bestimmung des Genotyps, mit dem Menschen infiziert sind, werden polymorphe Peptidantigene verwendet. Analoge Tests werden auch für Seren von Katzen, Schweinen und Geflügel entwickelt und eingesetzt. Für die Prävalenzermittlung bei Schweinen und Geflügel kommen Seren zum Einsatz, die für andere Monitoring-Programme im Land Niedersachsen gesammelt wurden.

Die zu erwartenden Ergebnisse werden helfen aufzuklären, ob ein Zusammenhang zwischen bestimmten Geno- oder Serotypen und dem Auftreten gewisser Krankheitsverläufe beim Menschen besteht und werden helfen, die für Deutschland relevanten Infektionsquellen aufzudecken. Die Querschnittsuntersuchungen werden aktuelle Informationen über die Prävalenz von *T. gondii* bei Schweinen und Hausgeflügel liefern.

Teilprojekt 9 Epidemiologische Studien/Etablierung eines Labornetzwerks ToxoLabNet-D und eines Deutschen Registers der okulären Toxoplasmose

Projektleitung

Prof. Dr. med. Uwe Groß
Institut für Medizinische Mikrobiologie
Universitätskliniken Göttingen
Kreuzberggring 57, 37075 Göttingen
Tel.: 0551 39-5801, -5806, Fax: 0551 39-5861
E-Mail: ugross@gwdg.de

Prof. Dr. med. Oliver Liesenfeld
Institut für Mikrobiologie und Hygiene
Charité – Universitätsmedizin Berlin, Campus Benjamin Franklin

Hindenburgdamm 30, 12200 Berlin
Tel.: 030 8445-3630, Fax: 030 8445-3830
E-Mail: oliver.liesenfeld@charite.de

Das Wissen um Risiko- und Prognostikfaktoren der Toxoplasmose ist bisher in Deutschland nur unzureichend untersucht worden. Das Teilprojekt hat zum Ziel, (i) in Deutschland relevante Risikofaktoren für die Übertragung der Toxoplasmose auf den Menschen zu identifizieren, (ii) eine genauere Bestimmung bzw. Einschätzung der klinisch relevanten pränatal erworbenen Infektionen mit *Toxoplasma gondii* zu erreichen und (iii) zu klären, ob prognostische Marker ein geeignetes und innovatives Instrument für unterschiedliche Behandlungsstrategien dieser parasitären Infektionskrankheit des Menschen darstellen können. Die Bestimmung von Risikofaktoren für die Übertragung der Infektion soll mithilfe eines bundesweiten Labornetzwerks (ToxoLabNet-D) durch ein organisiertes Meldewesen und Call-on-Epidemiologie erreicht werden. Um die klinischen Konsequenzen einer pränatal erworbenen Infektion zu klären, soll in Zusammenarbeit mit deutschen Ophthalmologen ein nationales Retinchorioiditis-Register (*ToxEye-D*) etabliert werden. Schließlich wird erwartet, dass durch den Einsatz der Phage-Display-Technologie und durch Untersuchungen definierter Serumproben mit rekombinanten Antigenen durch das ToxoLabNet-D eine Identifikation von prognostischen Markern möglich ist.

2.7 Arbovirusinfektionen in Deutschland: Pathogenese, Diagnostik und Überwachung

Verbundkoordination

Prof. Dr. med. Frank T. Hufert
Institut für Virologie, Bereich Humanmedizin
Georg-August-Universität Göttingen
Kreuzberggring 57, 37075 Göttingen
Tel.: 0551 39-5872, Fax: 0551 39-4471
E-Mail: fhufert@gwdg.de

Laufzeit: 1.7.2007–30.6.2010

Strukturelles und wissenschaftliches Konzept

Dieser Verbund fasst integrativ virologische Forschergruppen aus den Bereichen Tier- und Humanmedizin sowie Wildtierbiologen zusammen. Das Konsortium umfasst Universitätsinstitute und Bundesforschungsinstitutionen. Ziel ist es, eine gemeinsame Netzwerkstruktur in der Bundesrepublik aufzubauen, die sich mit der Erforschung der Pathogenese, der Entwicklung von Diagnostika und dem Aufbau von Überwachungssystemen arboviraler Enzephalitis-Erreger befasst. Da bis zu 70 Prozent der aseptischen Meningoenzephalitiden ätiologisch ungeklärt sind, ist dieses Vorhaben von zentraler medizinischer Bedeutung. Daten zur Prävalenz von Arboviren stehen zurzeit weder für Arthropodenpopulationen (Vektoren) noch für Tierreservoirs (z. B. Kleinsäuger) zur Verfügung. Für den Menschen ist nur die Anzahl der jährlichen FSME-Fälle in den Endemiegebieten bekannt. Der Anteil der aseptischen Meningitiden, die durch andere europäische Arboviren verursacht werden, ist unbekannt. Dies liegt vor allem an dem

Mangel an standardisierten diagnostischen Verfahren zum Virus- und Antikörpernachweis. Ziel der Konsortiumsaktivitäten ist es, Wissenslücken auf den Gebieten Pathogenese, Diagnostik und Überwachung zu schließen und so künftig eine Risikoanalyse für das öffentliche Gesundheitswesen zu ermöglichen. Hierzu ist die Erhebung pathogenetischer und epidemiologischer Daten in Arthropoden, Tierreservoirs und Menschen notwendig. Insbesondere die Entwicklung und Bereitstellung von diagnostischen Verfahren nimmt hierbei eine Schlüsselstellung ein und ermöglicht eine weitere Aufklärung der aseptischen Meningoenzephalitis unklarer Ätiologie.

Teilprojekt 1 Frühsommer-Meningoenzephalitis-Virus und das antivirale Interferon-System

Projektleitung

PD Dr. Friedemann Weber
Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene
Abteilung Virologie, Universität Freiburg
Hermann-Herder-Straße 11, 79104 Freiburg
Tel.: 0761 203-6614, Fax: 0761 203-6634
E-Mail: friedemann.weber@uniklinik-freiburg.de

Zusammenfassung

Das Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME)-Virus ist das medizinisch wichtigste Arbovirus in Europa. Das Spektrum der Krankheitssymptome reicht von asymptomatischer Infektion bis hin zu schwerer Enzephalitis/Meningitis und ist aus ungeklärten Gründen abhängig vom Virusstamm. Zwar gibt es keine etablierte Therapie, aber die Vorbehandlung mit Typ-I-Interferonen (IFN- α , β) kann effektiv das Viruswachstum hemmen. Die Synthese von IFN wird in virusinfizierten Zellen induziert. Die sezernierten Interferone aktivieren in Nachbarzellen eine Signaltransduktionskette, welche die Expression sogenannter IFN-stimulierter Gene (ISGs) einleitet. Viele ISGs haben antivirale Aktivität und hemmen direkt die Virusvermehrung. Hoch pathogene Viren deaktivieren jedoch die IFN-Induktion und/oder die IFN-Signaltransduktion. Für den FSME-Virusstamm Langat wurde kürzlich gezeigt, dass das NS5-Protein die IFN-Signaltransduktion zu hemmen vermag. Wir wollen untersuchen, ob diese Aktivität auf Langat beschränkt ist und ob FSME-Viren auch die IFN-Induktion hemmen. Ziel dieses Projekts ist es, anti-IFN-Profile für die verschiedenen FSME-Stämme des Forschungsverbunds zu erstellen und die effektivsten ISGs zu identifizieren. Durch Abgleich mit den klinischen Daten soll eine mögliche Korrelation zwischen der stammspezifischen Qualität und Quantität der viralen anti-IFN-Aktivitäten und dem klinischen Verlauf ermittelt werden. Die Studien können zu einem besseren Verständnis der FSME-Pathogenese und der Etablierung neuer prognostischen Marker führen.

Teilprojekt 2 Interaktion des Frühsommer- Meningoenzephalitis-Virus mit Antigen-präsentierenden Zellen

Projektleitung

Prof. Dr. med. Frank T. Hufert/Dr. rer. nat. Martin Spiegel
Institut für Virologie, Bereich Humanmedizin
Georg-August-Universität Göttingen
Kreuzberggring 57, 37075 Göttingen
Tel.: 0551 39-5872 (Hufert), 0551 3899-443 (Spiegel)
Fax: 0551 39-4471 (Hufert), 0551 3899-439 (Spiegel)
E-Mail: fhufert@gwdg.de, mspiegel@gwdg.de

Zusammenfassung

Arboviren werden durch Arthropoden-Vektoren übertragen, hierzu zählen unter anderem verschiedene Mosquito- und Zeckenarten. Das Frühsommer-Meningoenzephalitis-Virus (FSMEV) ist sowohl in Deutschland als auch in Europa das am häufigsten vorkommende Arbovirus. Die klinischen Symptome einer FSMEV-Infektion reichen von mildem Fieber bis zu schweren neurologischen Schäden. Die Mechanismen der FSMEV-vermittelten Pathogenese sind nach wie vor nicht richtig verstanden; sowohl die Prinzipien der Virus-Wirt-Interaktion als auch die Grundlage der Neuroinvasivität des Virus sind noch nicht aufgeklärt. Im Teilprojekt werden wir die Interaktion von FSMEV mit Antigen-präsentierenden Zellen (APC) untersuchen, insbesondere die Interaktion mit myeloiden sowie plasmacytoiden dendritischen Zellen und mit von Monozyten abgeleiteten Makrophagen. Der Einfluss von FSMEV auf die Funktion von APC, die Rolle dieser Zellen bei der Ausbreitung des Virus und die Mechanismen der FSMEV-vermittelten Immunmodulation stehen im Zentrum des ersten Teils des Projekts.

Im zweiten Teil soll im Mausmodell mithilfe des adoptiven Zelltransfers geklärt werden, ob FSMEV mittels APC oder T-Zellen in das Zentralnervensystem (ZNS) gelangt und ob hierbei Unterschiede zwischen verschiedenen FSMEV-Stämmen existieren.

Teilprojekt 3 Frühsommer-Meningoenzephalitis in Deutschland: Isolierung und Charakterisierung zirkulierender Virusstämme

Projektleitung

PD Dr. med. vet. Martin Pfeffer/Dr. med. Gerhard Dobler
Institut für Mikrobiologie der Bundeswehr
Neuherbergstraße 11, 80937 München
Tel.: 089 3168-3281 (Pfeffer), -3174 (Dobler), Fax: 089 3168-3292
E-Mail: martin1pfeffer@bundeswehr.org
gerharddobler@bundeswehr.org

Zusammenfassung

In Deutschland wurde in den letzten Jahren ein stetiger Anstieg der FSME-Erkrankungsfälle beobachtet. Möglicherweise ist dies durch eine Virulenzsteigerung neu auftretender virulenter FSME-Virusstämme bedingt. Aus Deutschland stehen seit ca. 30 Jahren

keine FSME-Virusisolate zur Verfügung. FSME-Virusstämme und andere durch Zecken übertragene Arboviren sollen in Deutschland isoliert, molekularbiologisch charakterisiert und zellbiologisch auf ihre Virulenz getestet werden.

Aus hoch endemischen FSME-Regionen Bayerns, Baden-Württembergs und Hessens werden Zecken auf FSME-Virus untersucht und die Virusstämme isoliert. Die Isolate werden molekularbiologisch charakterisiert (Sequenzierung). In verschiedenen Zellsystemen (u. a. Makrophagen, Neuroblastom-, Glioblastom-Zelllinien als primäre Zielzellen im Organismus) werden die Replikationsfähigkeit und Apoptose-Mechanismen mit bekannten FSME-Virusstämmen und russischen Virusstämmen verglichen.

Virusisolate stehen für weitere Teilprojekte des Verbunds zur Verfügung. Die Ergebnisse können zeigen, warum Patienten leicht oder schwer erkranken. Mit den Stämmen können neue Nachweisverfahren entwickelt und bisher unbekannte Ursachen für ZNS-Infektionen nachgewiesen werden.

Teilprojekt 4 **Entwicklung molekularer Diagnostik** **für europäische Arboviren**

Projektleitung

Dr. rer. nat. Manfred Weidmann
Institut für Virologie, Bereich Humanmedizin
Georg-August-Universität Göttingen
Kreuzberggring 57, 37075 Göttingen
Tel.: 0551 39-5872, Fax: 0551 39-4471
E-Mail: mweidma@gwdg.de

Zusammenfassung

Europäische Arboviren kommen als ätiologische Agenzien für Meningoenzephalitiden unklarer Genese in Frage. Um diese Fragestellung bei akuten Fällen effizient und zeitnah klären zu können, stehen – neben wenigen traditionellen virologischen Methoden – kaum molekularbiologische oder serologische Testverfahren zur Verfügung. Wir schlagen hier die Entwicklung molekularer und serologischer Methoden zur Detektion von 14 europäischen Arboviren vor. Zur Detektion der Genome dieser Viren sollen fluoreszenzbasierte Real Time-RT-PCR-Verfahren (F-RT-PCR) und ein Mikroarray-Verfahren entwickelt werden. Neun F-RT-PCR-Verfahren sollen dann verwendet werden, um von Teilprojekt 6 gesammelte Zecken auf Meningoenzephalitis auslösende Arboviren hin zu untersuchen. Die so gewonnenen Daten sollen Aufschluss über die Prävalenz dieser Viren in Zecken geben und gezielte Isolierungen der Viren aus den Zecken ermöglichen.

Zusätzlich ist projektiert, einen „Cytometric Bead Array“ (CBA) zur Detektion von humanen IgM und IgG gegen alle 14 Viren zu entwickeln. Die dazu erforderlichen Schritte umfassen Proteinexpression und -aufreinigung, die Gewinnung von polyklonalen Antisera, die Entwicklung eines Festphasen-EIA, um die Sensitivität und die Spezifität der Antigene zur Antikörperdetektion zu testen und die Übertragung des EIA-Systems auf das CBA. Das entwickelte CBA-Verfahren soll mit positivem Patientematerial, welches in TP 8 gesammelt wird, evaluiert werden.

Teilprojekt 5 **West-Nil-Virus: Studien zur Antikörper- und Virusprävalenz in Deutschland und zu allgemeinen, die Übertragungseffizienz zwischen Mensch und Vogel modulierenden Faktoren**

Projektleitung

Prof. Dr. Martin H. Groschup
Institut für neue und neuartige Tierseuchenerreger
Friedrich-Loeffler-Institut
Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit
Boddenblick 5a, 17493 Greifswald
Tel.: 038351 7-163, -162, Fax: 038351 7-191
E-Mail: martin.groschup@fli.bund.de

Zusammenfassung

Das West-Nil-Virus (WNV) ist ein sog. Arbovirus (von „arthropod-borne“) aus der Familie der Flaviviridae, das besonders seit seiner Einschleppung und epidemischen Ausbreitung in Nordamerika auch in Europa erhebliche Aufmerksamkeit erfährt. Die Virusinfektion kann beim Menschen zu einer Enzephalitis führen und tödlich verlaufen. In einer ersten Studie zur Seroprävalenz von WNV in Deutschland wurden bei Zugvögeln Antikörper gegen WNV nachgewiesen. Dies lässt vermuten, dass das Risiko einer Einschleppung des Erregers nach Deutschland prinzipiell besteht. Die entsprechenden Stechmückenarten (*Culex spec.*), die als Vektoren in der Lage, sind das WNV zu übertragen, kommen in Deutschland vor.

Die Ziele der geplanten Studie sind deshalb insbesondere i) eine serologische Untersuchung und virus- bzw. nukleinsäurebasierter Erregernachweis zur Überwachung der Zugvögel- und einheimischen Vogelpopulation und ii) Studien zur Identifizierung modulierender Faktoren bei der Inter- und Intraspezies-Übertragung des WNV bei Vogel- und Säugetierarten (Kreuzimmunität des WNV und anderer Flaviviren, die Charakterisierung der rezeptorvermittelten, speziesabhängigen Pathomechanismen).

Als Ergebnis der Studie wird die aktuelle Verbreitung des WNV in Deutschland erhoben. Die experimentellen Studien sollen Rückschlüsse auf die Mechanismen und bestimmenden Faktoren beim Wirtswechsel zulassen und nachfolgend als mögliche Grundlage für eine nationale Risikobewertung dienen.

Teilprojekt 6 Zeckenparasitismus bei Wühlmäusen, Mäusen und Rehen in Deutschland: Untersuchung arboviraler Infektionsraten in Beziehung zu Populationsdichten und individuellen Merkmalen der Wirtstiere

Projektleitung

Dr. Ferdinand Rühle
Institut für Forstzoologie und Forstschutz einschließlich
Wildbiologie und Jagdkunde
Georg-August-Universität Göttingen
Büsgenweg 3, 37077 Göttingen
Tel.: 0551 39-3633, Fax: 0551 39-2089
E-Mail: fruehe@gwdg.de

Zusammenfassung

Hauptziel des Projekts ist es zu untersuchen, ob arbovirale Infektionsraten der Wirte Wühlmaus, Maus und Reh mit Populationsdichten und individuellen Merkmalen der Wirtstiere zusammenhängen, einschließlich ihrer Parasitierung durch Zecken und der Arbovirus-Infektionsraten dieser Zecken in FSME-Verbreitungsgebieten Deutschlands. Die Beprobung von Zecken, Wühlmäusen, Mäusen und Rehen sowie das Erfassen individueller Merkmale der Wirtstiere und der Populationsdichten von Nagern und Rehen erfolgt im späten Frühjahr, Hochsommer und frühen Herbst in drei Projektjahren. Zecken und Blut von Rehen und Nagern werden gleichzeitig (an denselben Tagen innerhalb von drei Wochen) auf derselben Untersuchungsfläche beprobt. Die Anzahl der Zecken pro Wirtstier sowie Alter, Geschlecht und körperliche Verfassung der untersuchten Nager und Rehe werden im Gelände festgehalten. Die gesammelten Proben werden an die Verbundpartner zur Untersuchung auf Viren in Überträgern und Wirtszellen (Neuroblasten, Makrophagen usw.) weitergereicht. Die Ergebnisse werden anschließend zur Berechnung der Infektionsrisiken der Nager und Rehe und ihrer Zelltypen in Abhängigkeit von den erfassten Populationsmerkmalen der Wirtstiere genutzt.

Teilprojekt 7 Neue Methoden zur Bestimmung der Risiken des Frühsommer-Meningoenzephalitis-Virus und des West-Nil-Virus

Projektleitung

Prof. Dr. Matthias Niedrig
Robert Koch-Institut
Nordufer 20, 13353 Berlin
Tel.: 01888 754-2370, -2321, Fax: 01888 754-2625, -2390
E-Mail: niedrigm@rki.de

Zusammenfassung

Die Risikoabschätzung für eine Infektion mit dem Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME)-Virus basiert im Wesentlichen auf den erfassten humanen Erkrankungen, die zurzeit den einzigen Parameter darstellen. Einen wesentlichen Aspekt des Projekts

stellen die serologischen Untersuchungen in Nagern im Vergleich zu den Infektionen von Zecken mit dem FSME-Virus dar, wobei Umwelt- und Klimadaten mit berücksichtigt werden sollen.

Teilprojekt 8 Diagnose von Arbovirus-Infektionen bei Patienten mit Meningoenzephalitis ungeklärter Ätiologie

Projektleitung

PD Dr. med. Ursula Meyer-König
Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene
Abteilung Virologie, Universitätsklinikum Freiburg
Hermann-Herder-Straße 11, 79104 Freiburg
Tel.: 0761 203-6611, Fax: 0761 203-6608
E-Mail: ursula.meyer-koenig@uniklinik-freiburg.de

Kooperationspartner

Prof. Dr. Reinhard Kaiser
Neurologische Klinik, Klinikum Pforzheim GmbH
Kanzlerstraße 2-6, 75175 Pforzheim
Tel.: 07231 969-602, Fax: 07231 969-911
E-Mail: rkaiser@klinikum-pforzheim.de

Zusammenfassung

Der wichtigste Vertreter der Arboviren in Deutschland ist der Erreger der Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME), das FSME-Virus (FSMEV). Die klinische Symptomatik der FSME variiert zwischen mildem fieberhaftem Verlauf und ausgeprägter Meningoenzephalitis mit Residualschäden. Neben dem FSMEV gibt es jedoch noch neun weitere europäische Arboviren und das West-Nil-Virus (WNV), welche ein vergleichbares klinisches Bild hervorrufen können, über die aber bisher noch wenig bekannt ist. Diese gehören zur Familie der Reo-, Bunya- und Flaviviridae. Die Ätiologie von bis zu 70 Prozent aller aseptischen Meningoenzephalitis-Fälle ist derzeit noch ungeklärt. Ziel des Projekts ist daher zu klären, wie häufig – neben FSMEV – diese anderen Arboviren in Baden-Württemberg beim Menschen vorkommen. Hierzu sollen sieben Arbovirus-Enzymimmunoassays (EIA) und neun Immunfluoreszenztests (IFT) entwickelt werden. Durch die Erfassung klinisch-epidemiologischer Informationen in einer Datenbank und der Ergänzung bereits durchgeführter diagnostischer Tests soll die Anzahl der Meningoenzephalitiden geklärt und ungeklärter Ätiologie bestimmt werden.

2.8 SARS – Ökologie und Pathogenese einer archetypischen Zoonose

Verbundkoordination

Prof. Dr. med. Christian Drosten
 Institut für Virologie
 Rheinische Friedrich Wilhelms-Universität Bonn
 Sigmund Freud Straße 25, 53105 Bonn
 Tel.: 0228 287-11055, Fax: 0228 287-14433
 E-Mail: drosten@virology-bonn.de

Laufzeit: 1.7.2007–30.6.2010

Wissenschaftliches Konzept

Normalerweise sind Viren hochgradig an ihre Wirtstiere angepasst – ein Wirtswechsel ist ihrer Lebensfähigkeit abträglich. Trotzdem können Wirtswechselprozesse auftreten, was dann zu dramatischen zoonotischen Epidemien führen kann. Detailwissen über den abgelaufenen Wirtswechselprozess bei SARS ist von essenzieller Bedeutung, um die Wahrscheinlichkeit ähnlicher Ereignisse zu erfassen und zu überwachen. Folgende Aspekte sind in diesem Zusammenhang relevant:

Viruspersistenz im natürlichen Reservoir

A. Vergleich eines angepassten mit einem nicht angepassten Virus im Menschen: SARS-CoV vs. hCoV-NL63. Projekt 2 wird die differenzielle Rezeptorbindung und -verwendung als Surrogat der Virusadaptation untersuchen. Retrovirale NL63-Spike-Pseudotypartikel liefern die technische Basis für diese Arbeit.

B. SARS-Coronavirus in seinem natürlichen Wirt: Fledermäuse sind die Wirtstiere von SARS-CoV. Die Vorgänger und Verwandten des SARS-Coronavirus in Fledermäusen sind molekularbiologisch charakterisiert worden, aber ihre Isolierung im Labor ist nie gelungen. Projekt 1 stellt deshalb VSV-Pseudotypen mit S-Proteinen des SARS-Coronavirus her, wie sie in Fledermäusen beobachtet wurden. Ausgewählte Typen werden in Projekt 3 mithilfe eines reversen Genetiksystems in den Genomkontext des SARS-Coronavirus übertragen.

Mechanismen des Wirtsübergangs

Die viralen Oberflächenproteine sind ein Hauptengpass im Wirtsübergang. In Projekt 1 werden diese Proteine bei SARS-Coronavirus-Varianten entsprechend folgender Systematik untersucht: (i) Epidemiestamm, (ii) homologe Stämme aus Zwischenwirtstieren (felidae, mustelidae, canidae), (iii) eng verwandte Stämme von Fledermaus-SARS-CoV und (iv) entfernt verwandte Stämme von Fledermaus-SARS-CoV. Repräsentative Stämme werden im reversen Genetiksystem rekonstruiert (Projekt 3). Für die Testung im Tiermodell stehen mehrere Modelle zur Verfügung. Das Hamstermodell in Projekt 4 wird als Standard-Kleintiermodell verwendet. Ein Balb/C-Maus-Modell mit mausadaptiertem Virus soll aufgebaut werden, um das gut charakterisierte Maussystem nutzen zu können (Projekte 3/4). In Projekt 5 besteht die Möglichkeit, Katzen zu infizieren. Diese sind ein ideales Modell für die SARS-CoV-Zwischenwirte. In Projekt 3 wird ein Fledermaus-

modell erarbeitet, welches das natürliche Reservoir abbildet. Eine kombinierte Analyse der Virus-Genotypen im Reservoir wird zeigen, ob der zoonotische Übergang von SARS-CoV ein großer Zufall war oder ob eine klare Wiederholungswahrscheinlichkeit besteht.

Pathogenitätsdeterminanten beim Menschen

Die Frage, warum ein Virus einerseits friedlich im Wirtstier persistiert und andererseits verheerende Krankheitssymptome beim Menschen auslöst, birgt den Schlüssel zur Eindämmung von Zoonosen. Hier liegt ein dritter großer Arbeitsschwerpunkt des Verbunds.

A. Spike Protein und Rezeptor: ACE2, das SARS-Rezeptormolekül, ist ein negativer Regulator des Renin-Angiotensinsystems und verringert die Effekte von Angiotensin (Vaso- und Bronchokonstriktion, Hypersekretion). Dies sind Schlüsseffekte in der Pathogenese des ARDS, und SARS-Coronavirus könnte diese durch Rezeptor-Herabregulation induzieren bzw. erhalten. Hier bestehende, grundsätzliche Unterschiede zwischen NL63- und SARS-CoV könnten eine Reflektion der attenuierenden Anpassung von NL63 an den Menschen sein. Projekt 2 ist deshalb vor allem auf diese Frage ausgerichtet.

B. Gruppenspezifische Leserahmen: Die sogenannten gruppenspezifischen Proteine dienen dem SARS-Coronavirus möglicherweise dazu, in Fledermäusen apathogen persistieren zu können. Projekt 3 analysiert während der Epidemie beobachtete Veränderungen in gruppenspezifischen ORFs im Kontext des rekombinanten Vollvirus. Ein konstruiertes „Minimalvirus“ mit vollständig inaktivierten ORFs zeigt im Umkehrschluss deren Notwendigkeit für die Replikation. Projekt 5 untersucht Funktionen entsprechender ORFs bei feline Coronaviren in der Katze. Projekt 7 führt ein Zweihybridsystem-Screening für die gruppenspezifischen ORFs gegen vollständige menschliche cDNA-Bibliotheken durch.

C. Angeborene Immunität: Die Aktivität des angeborenen Immunsystems kontrolliert auf entscheidende Weise Virusinfektionen, trägt aber auch zu deren Pathogenese bei. Projekt 7 arbeitet deshalb an diesen Mechanismen, insbesondere am Interferon-System.

Strukturelles Konzept

Keines der sieben Teilprojekte dieses Verbunds könnte für sich allein arbeiten. Die technische und inhaltliche Komplexität erfordert Vernetzung. Entsprechend dem oben beschriebenen wissenschaftlichen Konzept werden jeweils Vorbefunde aus Surrogatssystemen erhoben, interessante Virusvarianten in reverse Genetiksysteme überführt und dann an Tiermodellen evaluiert. Die Arbeitsgruppen, die grundlegende Befunde liefern (Projekte 1, 2, 5, 6) werden parallel und im gegenseitigen Austausch arbeiten. Ein Subkomitee koordiniert diese Arbeit mit der Arbeit der beiden Gruppen, die Virusmutanten für das Konsortium herstellen (Projekte 3 und 5). Für *in vivo*-Arbeit gibt es ein weiteres Subkomitee, welches die Arbeit aller Gruppen koordiniert, die Tierexperimente selbst durchführen (Projekte 3, 4, 5, 6). Hervorzuheben ist eine Technikplattform, die durch die Zusammenlegung der

Arbeiten zur Konstruktion von SARS-CoV-Mutanten sowie Hamster- und Mausmodellen an der Universität Bonn entsteht. Hier ist auch ein BIAcore-System angesiedelt, welches eine zentrale Funktion in allen Studien zu Protein-Protein-Interaktionen einnimmt.

Teilprojekt 1 Interspezies-Übertragung animaler SARS-Coronaviren

Projektleitung

Prof. Dr. Georg Herrler
Institut für Virologie, Zentrum für Infektionsmedizin
Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
Bünteweg 17, 30559 Hannover
Tel.: 0511 953-8857, Fax: 0511 953-8898
E-Mail: georg.herrler@tiho-hannover.de

Mithilfe primärer Epithelzellen von Mensch, Fledermaus (natürliche Wirte) und Hamster (Tiermodell) wird die Fähigkeit des SARS-CoV untersucht, die Speziesbarriere zu überwinden. Das besondere Interesse gilt dabei dem Oberflächenprotein S, das für die Bindung an zelluläre Rezeptoren verantwortlich ist.

Primäre Epithelzellen aus der Lunge der genannten Spezies werden auf Filtern unter Air-liquid-interface-Bedingungen kultiviert. Alternativ werden Lungenpräzisionschnitte hergestellt, bei denen die Zellen im ursprünglichen Zellverband bleiben. Die S-Proteine werden in Pseudoviren eingebaut, die vom Virus der vesikulären Stomatitis abgeleitet sind. Mithilfe dieser Pseudoviren wird vergleichend untersucht, inwieweit die S-Proteine verschiedener SARS-Coronaviren respiratorische Epithelzellen unterschiedlicher Herkunft infizieren können und welche Rezeptoren dabei genutzt werden. Durch Mutationsanalyse wird erforscht, welche genetischen Änderungen für einen Wirtswechsel erforderlich sind.

Die Ergebnisse werden die Grundlagen des Wirtswechsels von SARS-Coronaviren aufklären und so helfen, gegen künftige Epidemien besser gewappnet zu sein.

Teilprojekt 2 NL 63 versus SARS-Coronavirus: Rezeptor-Interferenz als Pathogenesefaktor?

Projektleitung

PD Dr. Stefan Pöhlmann
Zentrum Laboratoriumsmedizin, Abteilung Virologie, OE 5230
Medizinische Hochschule Hannover
Carl-Neuberg-Straße 1, 30625 Hannover
Tel.: 0511 532-6736, Fax: 0511 532-8736
E-Mail: poehlmann.stefan@mh-hannover.de

Das SARS-Virus – jedoch nicht das NL63-Coronavirus – ist hoch pathogen. Beide Viren verwenden die Peptidase ACE2 für den Eintritt in Zielzellen. Die Interaktion des SARS-Coronavirus Spike-Proteins (SCV-S) mit ACE2 verstärkt Lungenpathogenese und fördert möglicherweise die Entwicklung von SARS. SCV-S und NL63-S

interagieren unterschiedlich mit ACE2. Es soll daher untersucht werden, ob Unterschiede in der ACE2-Bindung für die unterschiedliche Pathogenität von SCV und NL63 verantwortlich sind.

Die molekulare Schnittstelle zwischen S-Protein und ACE2 soll kartiert, Bindungsaffinitäten bestimmt und inhibitorische ACE2-abgeleitete Peptide identifiziert werden. Die Analyse der ACE2-Herabregulation soll zeigen, ob SCV-S und NL63-S bzw. die akzessorischen viralen Proteine mit der Rezeptorexpression interferieren. Im Mausmodell wird untersucht, ob SCV-S und NL63-S Lungenpathogenese unterschiedlich verstärken. Schließlich soll bestimmt werden, ob sich die NL63-S Interaktion mit ACE2 unter Selektionsdruck verändert.

Die Ergebnisse sollen in einschlägigen internationalen Fachzeitschriften publiziert, patentiert und als Ausgangsbasis für die Entwicklung von Impfstoffen und Inhibitoren eingesetzt werden.

Teilprojekt 3 Persistenz eines zoonotischen Virus im Reservoir: Das SARS-Coronavirus in Fledermäusen

Projektleitung

Prof. Dr. Christian Drosten
Institut für Virologie
Rheinische Friedrich Wilhelms-Universität Bonn
Sigmund Freud Straße 25, 53105 Bonn
Tel.: 0228 287-11055, Fax: 0228 287-14433
E-Mail: drosten@virology-bonn.de

Dieses Projekt untersucht Mechanismen der Persistenz des SARS-Coronavirus in seinem Reservoir. Gleichzeitig charakterisiert es Mechanismen, die ihm im Fehlwirt eine hohe Pathogenität verleihen. Rekombinante SARS-Coronaviren werden mit einem reversen Genetiksistem hergestellt. Hiermit werden Vorbefunde aus Surrogatsystemen (Pseudotypen, Überexpression) untersucht, die in anderen Teilprojekten des Verbunds generiert wurden. Eine Analyse erfolgt zunächst durch Zellkultur und *in vitro*-Testsysteme. Zur Untersuchung der Persistenz im Reservoir werden Fledermauszellkulturen hergestellt und Infektionsexperimente mit laboradaptierten Fledermäusen durchgeführt. Zur Darstellung der Pathogenese im Fehlwirt werden Infektionsexperimente am Hamster und an der Balb/C Maus durchgeführt. Für Infektionen in letzterem Modell dient ein mausadaptiertes rekombinantes SARS-CoV als Basis. Dieses Teilprojekt dient allen anderen Projekten des Verbunds als Technologieplattform (rekombinante Viren, Fledermauszellkultur, Tiermodelle). Eine Verwertung von Teilergebnissen erfolgt durch Veröffentlichung von Zwischenergebnissen und Patentierung von Testsystemen.

Teilprojekt 4 **Einfluss der Immunoseneszenz auf die Pathogenese von SARS: Untersuchungen an Kleintiermodellen**

Projektleitung

PD Dr. Oliver Schildgen
Institut für Virologie
Rheinische Friedrich Wilhelms-Universität Bonn
Sigmund Freud Straße 25, 53105 Bonn
Tel.: 0228 287-11697, Fax: 0228 287-14433
E-Mail: schildgen@virology-bonn.de

Ziel des Projekts ist zum einen die Bereitstellung einer Technologieplattform für den Forschungsverbund in Form von Tiermodellen, die verschiedenen Partnerprojekten zur Untersuchung des zoonotischen Potenzials des SARS-Coronavirus dienen. Den inhaltlichen Arbeitsschwerpunkt bildet zum anderen die Untersuchung des Einflusses physiologischer Bedingungen der Alterung auf den zoonotischen Übergang und die Pathogenese der Coronaviren SARS-CoV und NL63. Zwei an Laborbedingungen adaptierte Nager-Modelle (syrische Goldhamster, Balb/C Mäuse) sollen mit SARS-Coronavirus infiziert und die Infektionskinetik, Immunantwort und Symptomatik der Tiere altersabhängig verglichen werden.

Teilprojekt 5 **Pathogenesemechanismen von Coronaviren – Vergleich von felinem CoV mit SARS-CoV**

Projektleitung

Prof. Dr. Heinz-Jürgen Thiel/Dr. Iris Stallkamp
Institut für Virologie, Fachbereich Veterinärmedizin (FB 10)
Justus-Liebig-Universität Gießen
Frankfurter Straße 107, 35392 Gießen
Tel.: 0641 99-38350 (Thiel), -38392 (Stallkamp)
Fax: 0641 99-38359
E-Mail: juergen.thiel@vetmed.uni-giessen.de
iris.stallkamp@vetmed.uni-giessen.de

Die feline infektiöse Peritonitis (FIP) ist eine tödlich verlaufende Erkrankung von Katzen, die durch das feline Coronavirus (FCoV) verursacht wird und bislang nicht therapierbar ist. Der Ausbruch der FIP ist vermutlich auf die Entstehung eines hoch virulenten Biotyps des Virus durch Mutationen im Genom eines harmlosen Biotyps in der Katze zurückzuführen. Auf der Grundlage eines reversen genetischen Systems sollen in diesem Projekt die der Krankheit zugrunde liegenden Pathogenesemechanismen aufgeklärt werden. Desweiteren werden die an der Pathogenese beteiligten Proteine charakterisiert und ihre Funktionen untersucht.

Die angestrebten Ergebnisse sind grundlegend für das Verständnis der molekularen Mechanismen der feline infektiösen Peritonitis. Dies ist Voraussetzung für die Entwicklung neuer Therapieansätze der bislang nicht behandelbaren Krankheit. Ferner bietet das reverse genetische System die Möglichkeit, Vakzine gegen infektiöse Erkrankungen der Katze herzustellen.

Teilprojekt 6 **SARS – Coronavirus und das antivirale Interferonsystem**

Projektleitung

PD Dr. Friedemann Weber
Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene
Abteilung Virologie, Universität Freiburg
Hermann-Herder-Straße 11, 79104 Freiburg
Tel.: 0761 203-6614, Fax: 0761 203-6634
E-Mail: friedemann.weber@uniklinik-freiburg.de

Interferone (IFN-alpha/beta) sind antiviral aktiv gegen SARS-CoV. In SARS-CoV-infizierten Zellen ist jedoch die Synthese der IFN blockiert. Ziel dieses Projekts ist es, (i) den verantwortlichen viralen Faktor zu identifizieren, (ii) zu untersuchen, ob und wie andere Äste der IFN-Antwort auch betroffen sind, und (iii) das zelluläre Gen zu finden, das die IFN-vermittelte Hemmung des SARS-CoV bewirkt.

Zunächst sollen sämtliche Gene des SARS-CoV kloniert und auf anti-IFN-Aktivität hin getestet werden. Dann wollen wir Virusmutanten mit Defekten in diesen Genen herstellen und ihren Phänotyp und ihr Potenzial als Impfstoff *in vitro* und *in vivo* charakterisieren

Die erzielten Ergebnisse sollen fortlaufend auf wissenschaftlichen Konferenzen vorgestellt und in wissenschaftlichen Zeitschriften publiziert werden. Die neuen Erkenntnisse über die anti-Interferon-Strategien des SARS-CoV werden helfen, die Pathogenese dieses Erregers besser zu verstehen. Die SARS-CoV-Mutanten, die im Rahmen dieses Projekts hergestellt werden sollen, sind vielversprechende Kandidaten für Lebendvakzine. Eine Übertragung der gewonnenen Ergebnisse auf wirtschaftlich wichtige, tierpathogene Coronaviren ist denkbar.

Teilprojekt 7 **Genomweite Analyse von Virus-Wirt-Interaktionen des SARS-Coronavirus**

Projektleitung

Dr. Albrecht von Brunn
Max-von-Pettenkofer Institut
Ludwig-Maximilians-Universität München
Pettenkoferstraße 9a, 80336 München
Tel.: 089 5160-5220, Fax: 089 5160-5292
E-Mail: vonbrunn@lmb.uni-muenchen.de

Wir haben das komplette SARS-CoV-Orfeome kloniert. Aufgabe dieses Projekts ist eine umfassende systembiologische Analyse der Virus-Wirt-Proteininteraktionen zwischen einem kompletten Satz der SARS-CoV-Proteine und zellulären Proteinen aus humanen cDNA-Banken. Ziel ist die Identifizierung von viralen und zellulären Proteinen in Mensch und Zoonosepartner zur Aufklärung von Virus-Wirt-Beziehungen.

Die Proteininteraktionen werden zunächst mittels „Yeast-Two-Hybrid“-System zwischen dem viralen Orfeom und humanen

cDNA-Banken identifiziert und anschließend durch biochemische und *in vitro*-Infektionsexperimente überprüft. Bei letzteren werden zelluläre Interaktionspartner permissiver Zelllinien durch siRNA ausgeschaltet. Des Weiteren werden wichtige virale Interaktionspartner mutagenisiert und die Effekte mittels reverser genetischer Methoden untersucht.

Erwartet wird die Identifizierung von Determinanten der Pathogenese im Menschen, welche die Entwicklung von Hemmstoffen zur Unterbindung der Virusreplikation und -übertragung zwischen den Zoonosepartnern ermöglicht.

2.9 FLURESEARCHNET – Molekulare Signaturen als Determinanten der Pathogenität und der Speziestransmission von Influenza A-Viren

Verbundkoordination

Prof. Dr. rer. nat. Stephan Ludwig
 Institut für Molekulare Virologie (IMV)
 Westfälische-Wilhelms-Universität Münster
 Von-Esmarch-Straße 56, 48149 Münster
 Tel.: 0251 83-57791, Fax: 0251 83-57793
 E-Mail: ludwigs@uni-muenster.de

Laufzeit: 1.10.2007–30.9.2010

Strukturelles und wissenschaftliches Konzept des Verbunds

Die Influenza gehört nach wie vor zu den großen Seuchen der Menschheit. Neben der Fähigkeit von Influenza A-Viren, nicht nur den Menschen, sondern auch eine Vielzahl von Tier-Spezies zu infizieren, findet man für diese Pathogene ein riesiges natürliches Reservoir in wild lebenden Wasservögeln. Dieses Reservoir liefert immer wieder virale Gene oder ganze Genome, die das Entstehen von Virusstämmen fördern, die hochgefährlich für Mensch und Tier sind. Dies macht die Influenza zu einer nicht ausrottbaren Zoonose mit pandemischem Potenzial. Die seit einigen Jahren auftretenden Infektionen von Menschen mit hoch pathogenen aviären Influenzaviren des Subtyps H5N1 mit enorm hoher Mortalitätsrate sind ein eindringliches Zeichen für die immerwährende Gefahr einer neuen Influenza-Pandemie.

Bislang ist noch weitgehend unbekannt, welche Faktoren und Mechanismen auf viraler und zellulärer Ebene die Fähigkeit eines Virusstamms determinieren, den Menschen zu infizieren und sich in der menschlichen Population auszubreiten. Die Klärung dieser Fragen ist dringend notwendig, um geeignete Maßnahmen gegen die drohende Gefahr einer neuerlichen Pandemie treffen zu können und für zukünftige Ausbrüche gewappnet zu sein. Hierfür ist ein übergreifendes Verständnis der Virus-Wirt-Beziehungen sowie der viralen, zellulären und genetischen Determinanten erforderlich. Dies kann nur in einem multidisziplinären Ansatz erreicht werden, der Expertisen aus Medizin, Veterinärmedizin, Virologie, Zellbiologie und Immunologie vereint.

In der Konzeption des FLURESEARCHNET werden erstmals die entsprechenden Expertisen in Deutschland zusammengefasst, um in einem breiten und interdisziplinären Ansatz die moleku-

laren Determinanten der Pathogenität und des Speziesübertritts aufzudecken. Neben der gesammelten Kernkompetenz der Influenza-Virologie in Deutschland vereint FLURESEARCHNET umfassend Expertisen aus Grundlagenforschung, klinischer Virologie und Veterinärmedizin. Assoziiert sind weitere Labors aus der Schweiz und den USA, die die Kompetenz des Verbunds durch besondere Tiermodelle, Techniken und Fragestellungen ergänzen. Darüber hinaus ist das FLURESEARCHNET eng vernetzt mit den Aktivitäten der Bundesinstitute und Referenzzentren am Friedrich-Loeffler-Institut (FLI), Robert Koch-Institut (RKI) und Paul-Ehrlich-Institut im Rahmen des BMBF-Sofortprogramms „Influenza“. Dies wird nicht nur erreicht über intensiven und regelmäßigen Informations- und Materialaustausch, sondern auch über kollaborative bilaterale Projekte mit Ko-Antragstellern aus diesen Institutionen. Mit diesem Konzept werden in ganzer Breite alle für die Fragestellungen wichtigen Aspekte von der virologischen, immunologischen und zellbiologischen Grundlagenforschung über Veterinärmedizin und Klinik bis hin zu Diagnostik und Epidemiologie adressiert.

Die konzipierten Projekte des FLURESEARCHNET bauen auf der Hypothese auf, dass die Suszeptibilität für eine Infektion und die Schwere eines Infektionsverlaufs von einem multifaktoriellen, dynamischen Wechselspiel zwischen den viralen Erregern und den komplexen zellulären Antworten in den verschiedenen Wirtsspezies abhängig sind. Inhaltlich fokussieren die Arbeiten des FLURESEARCHNET daher auf die Erkennung und Charakterisierung der molekularen viralen und zellulären Signaturen, welche die Pathogenität und den Trans-Spezies-Übertritt von Influenzaviren determinieren.

Die übergreifenden Ziele des FLURESEARCHNET sind:

- + Die Bündelung der multidisziplinären Expertisen aus Grundlagenforschung, Medizin und Veterinärmedizin sowie der Nationalen Referenzzentren für ein koordiniertes, breit angelegtes Forschungsprogramm zur Zoonose Influenza.
- + Die Definition und Charakterisierung der molekularen Mechanismen, zellulären Determinanten und viralen Virulenzfaktoren, die den Übertritt eines Virus auf eine andere Spezies beeinflussen.
- + Die Identifizierung der protektiven und pathologischen Aktivitäten von Faktoren der angeborenen Immunantwort gegen Influenzaviren.
- + Ergänzung und Erweiterung der epidemiologischen Untersuchungen und diagnostischen Entwicklungen der Nationalen Referenzzentren für humane und aviäre Influenza.

Die vier überlappenden Projektbereiche des Verbunds befassen sich mit den zelltypspezifischen Antworten (TP 1–3), den viralen Determinanten, zellulären Interaktionen und genetischen Faktoren (TP 4–7), der Rolle der Typ-I-Interferon-Abwehr (TP 8 und 9) sowie der besonderen Rolle der Wirtsspezies Schwein für das Entstehen neuer pandemischer Stämme.

Teilprojekt 1 **Vergleichende Analyse der Infektion von primären humanen Lungenepithelzellen durch human pathogene und aviäre Influenza A-Viren**

Hauptprojektleitung

PD Dr. rer. nat. Thorsten Wolff
Robert Koch-Institut, P15
Nordufer 20, 13353 Berlin
Tel.: 030 18754-2278, Fax: 030 18754-2328
E-Mail: wolfft@rki.de

Koprojektleitung

PD Dr. med Stefan Hippenstiel
Medizinische Klinik m. S. Infektiologie
Charité – Universitätsmedizin Berlin
Augustenburger Platz 1, 13353 Berlin
Tel.: 030 450-553052, Fax: 030 450-553906
E-Mail: stefan.hippenstiel@charite.de

Zusammenfassung

Die Epithelien des menschlichen Respirationstraktes sind die primären Zielgewebe von humanpathogenen Influenzaviren, die für die meisten aviären Virenstämme jedoch nicht permissiv sind. Die Entstehung eines pandemischen Grippevirus mit einem neuartigen Oberflächenantigen setzt daher die Adaptation eines aviären Virenstamms an eine effiziente Replikation im menschlichen Respirationstrakt voraus. Gegenwärtig gibt es nur lückenhafte Kenntnisse über die viralen und wirtskodierten Faktoren, die die Vermehrung von Vogelinfluenzaviren im Menschen normalerweise blockieren. In diesem Teilprojekt wird die Hypothese untersucht, dass aviäre Influenzaviren in der Regel durch Funktionen der angeborenen Erregerabwehr erfolgreich kontrolliert werden. Dazu werden systematisch die Infektionen von authentischem humanen Lungengewebe durch aviäre und humanpathogene Virenstämme hinsichtlich der viralen Vermehrung und Genexpression sowie der spezifischen Parameter der Wirtszell-Aktivierung vergleichend untersucht. Dies beinhaltet Analysen der Genaktivierung, der Zytokinmuster sowie von Signaltransduktionswegen nach Infektion durch natürliche und rekombinante Influenzaviren. Wir erhoffen uns von diesen Studien die Identifizierung von Faktoren der Artenbarriere, die auch von zukünftigen pandemischen Grippeviren überwunden werden müssen.

Teilprojekt 2 **Adaptation von Influenzaviren an das respiratorische Epithel neuer Wirte**

Hauptprojektleitung

Prof. Dr. rer. nat. Georg Herrler
Institut für Virologie, Zentrum für Infektionsmedizin
Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
Bünteweg 17, 30559 Hannover
Tel.: 0511 953-8857, Fax: 0511 953-8898
E-Mail: georg.herrler@tiho-hannover.de

Koprojektleitung

Dr. med. vet. Christel Schwegmann-Wessels
Institut für Virologie, Zentrum für Infektionsmedizin
Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
Bünteweg 17, 30559 Hannover
Tel.: 0511 953-8843, Fax: 0511-953-8898
E-Mail: christel.schwegmann@tiho-hannover.de

Zusammenfassung

Mit primären Epithelzellen aus dem Respirationstrakt wird die Fähigkeit von Influenzaviren untersucht, sich an Zellen eines neuen Wirts zu adaptieren.

Primäre Epithelzellen aus der Lunge von Huhn, Schwein und Mensch werden bis zur Enddifferenzierung unter Air-liquid-interface-Bedingungen kultiviert. Alternativ kommen Lungenpräzisionschnitte zur Anwendung, bei denen die Zellen im ursprünglichen Verband bleiben. Mit diesen Systemen wird untersucht, welche genetischen Veränderungen bei aviären und porzinen Influenzaviren auftreten, wenn sie über mehrere Passagen in Wirtszellen einer anderen Spezies vermehrt werden (Huhn-Schwein, Schwein-Mensch). Durch die Erzeugung rekombinanter Viren wird die Bedeutung einzelner Mutationen experimentell bestätigt werden. Neben der Vermehrungsfähigkeit werden die Viren auch hinsichtlich ihrer Interaktion mit zellulären Rezeptoren untersucht.

Die Informationen aus dieser Adaptationsstudie werden helfen das Risiko abzuschätzen, ob gegenwärtige Influenzaviren die Speziesbarriere überwinden und Epidemien bei Menschen auslösen.

Teilprojekt 3 **Charakterisierung der Influenzavirus-induzierten Stressantwort in Endothelzellen**

Hauptprojektleitung

Univ.-Prof. Dr. med. Johannes Roth
Allgemeine Pädiatrie, Universitätsklinikum Münster
Albert-Schweitzer-Straße 33, 48149 Münster
Tel.: 0251 83-56577, Fax: 0251 83-56549
E-Mail: rothj@uni-muenster.de

Koprojektleitung

Dr. med. Dorothee Viemann
Allgemeine Pädiatrie, Universitätsklinikum Münster
Albert-Schweitzer-Straße 33, 48149 Münster
Tel.: 0251 83-56577, Fax: 0251 83-56549
E-Mail: viemannnd@uni-muenster.de

Zusammenfassung

Infektionen mit humanpathogenen aviären Influenzaviren (HPAIV; Subtypen H5 und H7) können schwere hämorrhagische Septiden auslösen. Besonders gefürchtet werden genetische Rekombinationen aviärer Influenzaviren mit humanen Influenzastämmen, da so neue humanspezifische, hoch pathogene Virusstämme entstehen können. Die Infektion von Vögeln mit

HPAIV führt zu einer hyperinflammatorischen Endothelreaktion, die eine Schlüsselrolle für das Krankheitsbild darstellt. Bei der experimentellen Infektion von Katzen konnte das H5N1-Virus im Endothel nachgewiesen werden, was den Endotheltropismus auch für Säuger beweist und damit auch für Menschen anzunehmen ist. In diesem Projekt werden wir die Stressantwort endothelialer Zellen auf verschiedene Influenzavirusstämme auf genomischer Ebene charakterisieren und den verschiedenen Viren spezifische endotheliale Signalwege zuordnen. Dabei sollen regulatorische Knotenpunkte in dem von Influenzaviren aktivierten Signalnetzwerk identifiziert und potenzielle Unterschiede zwischen niedrig und hoch pathogenen Virusstämmen herausgearbeitet werden. Übergeordnetes Ziel ist die Benennung molekularer Zielstrukturen, die eine spezifische Modulation der durch hoch pathogene Influenzaviren ausgelösten malignen Endothelreaktion erlauben.

Teilprojekt 4 Identifizierung und Charakterisierung zellulärer Faktoren, die für das Überspringen der Wirtsbarriere von hoch pathogenen aviären Influenzaviren verantwortlich sind

Hauptprojektleitung

Prof. Dr. rer. nat. Martin Schwemmler
Abteilung Virologie, Universität Freiburg
Hermann-Herder-Straße 11, 79104 Freiburg
Tel.: 0761 203-6526, Fax: 0761 203-6639
E-Mail: martin.schwemmler@uniklinik-freiburg.de

Kopprojektleitung

Dr. rer. nat. Gülsah Gabriel
Institut für Virologie, Universität Marburg
Hans-Meerwein-Straße, 35033 Marburg
Tel.: 06421 28-66129, Fax: 06421 28-68962
E-Mail: gabriela@staff.uni-marburg.de

Zusammenfassung

Hoch pathogene aviäre Influenzaviren (HPAIV) des H5N1 Subtyps können Wirtsbarrieren überspringen und direkt vom Vogel auf den Menschen übergehen. Neben dem Erwerb einer polybasischen Spaltstelle und der Funktion des viralen NS1-Proteins wird vermutet, dass eine erhöhte Polymeraseaktivität für die Virulenz und Adaptation von H5N1 an den Menschen eine entscheidende Rolle spielt. Es wird dabei angenommen, dass es durch bestimmte Aminosäureaustausche in den aviären Polymeraseuntereinheiten und dem Nukleoprotein zu einer neuen oder verbesserten Bindung des Polymerasekomplexes mit zellulären Faktoren kommt und damit die Adaptation an den Menschen ermöglicht wird.

In diesem Projekt sollen die zellulären Faktoren, die mit dem Polymerasekomplex des HPAIV des H5N1 Subtyps A/Thailand/1 (KAN-1)/2004 in aviären und humanen Zellen interagieren, identifiziert und charakterisiert werden. Die Identifizierung dieser Faktoren soll durch eine Proteomics-basierende Methode erreicht werden. Der Einfluss dieser Interaktionspartner auf die Polyme-

raseaktivität in aviären und humanen Zellen soll in etablierten Replikationssystemen und in geeigneten Tiermodellen untersucht werden.

Teilprojekt 5 Der Einfluss viraler Faktoren und virusinduzierter zellulärer Antworten auf die Vermehrung und das Wirtsspektrum von Reassortanten hoch patho- gener aviärer Influenzaviren

Hauptprojektleitung

Prof. Dr. Stephan Pleschka, PhD
Institut für Med. Virologie, Justus-Liebig-Universität Gießen
Frankfurter Straße 107, 35392 Gießen
Tel.: 0641 99-47750, Fax: 0641 99-41209
E-Mail: stephan.pleschka@mikro.bio.uni-giessen.de

Kopprojektleitung

Prof. Dr. vet. med. Silke Rautenschlein
Klinik für Geflügel
Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
Bünteweg 17, 30559 Hannover
Tel.: 0511 953-8763, Fax: 0511 953-8580
E-Mail: silke.rautenschlein@tiho-hannover.de

Zusammenfassung

Vermehrte Infektionen des Menschen mit hoch pathogenen aviären Influenzaviren (HPAIV) des H5- und H7-Subtyps verstärken die wachsenden Befürchtungen vor einem pandemischen Ausbruch. Dass beide Subtypen im Wassergeflügel co-zirkulieren und dabei ihr Genom vermischen können, kompliziert die Lage zusätzlich. H7-HPAIV rufen meist nur milde Infektionen beim Menschen hervor, aber die Rekombination mit H5-Genomanteilen könnte ihr Gefährdungspotential deutlich verändern. Weiterhin ist von Bedeutung, dass Influenzaviren für ihre effiziente Vermehrung zelluläre Signalmechanismen aktivieren. Die Rolle dieser Virus-Wirt-Interaktion für die HPAIV-Vermehrung in einem neuen Wirt ist bis jetzt nicht verstanden. In diesem Projekt sollen durch reverse Genetik H7-Viren mit unterschiedlichen H5-Genomanteilen erzeugt und ihr Pandemiepotenzial evaluiert werden. Die Virusvarianten werden *in vivo* und *in vitro* im aviären und Säugersystem im Vergleich zu anderen natürlich vorkommenden Virustypen auf ihre Infektiosität und Vermehrungsfähigkeit untersucht. In Hühnern und Schweinen werden ihre Replikationsrate, Gewebespezifität und ihre Fähigkeit, die zelluläre Immunantwort zu unterdrücken, analysiert. Weiterhin soll untersucht werden, wie stark die H7-Varianten die für die Virusvermehrung wichtige Raf/MEK/ERK-Signalkaskade in verschiedenen Geweben und Wirten aktivieren.

Teilprojekt 6 **Die Rolle virusinduzierter Signalwege für die Hyperzytokinämie und die Apoptose-Induktion durch hoch pathogene aviäre Influenzaviren (HPAIV)**

Projektleitung

Prof. Dr. rer. nat. Stephan Ludwig
Institut für Molekulare Virologie (IMV)
Westfälische-Wilhelms-Universität Münster
Von-Esmarch-Straße 56, 48149 Münster
Tel.: 0251 83-57791, Fax: 0251 83-57793
E-Mail: ludwigs@uni-muenster.de

Zusammenfassung

Hoch pathogene aviäre Influenzaviren (HPAIV) vom Subtyp H5N1 lösen im infizierten Wirt eine Hyperinduktion von Zytokinen und Chemokinen aus (Zytokinsturm, Hyperzytokinämie), welche maßgeblich mit der hohen Pathogenität dieser Viren in Verbindung gebracht wird. Die Zytokin-Überexpression ist eine intrinsische Eigenschaft der virusinfizierten Zelle und läuft unter Beteiligung des Transkriptionsfaktors NF- κ B und einer Hyperaktivierung des p38 MAP Kinase Signalwegs ab. Dies impliziert, dass eine veränderte Regulation intrazellulärer Signalwege durch HPAIV die Aggressivität dieser Viren kodeterminiert. In Vorarbeiten haben wir uns intensiv mit der Rolle verschiedener Signalwege (NF- κ B, p38 MAPK, PI3K/Akt) sowie der Apoptose-Induktion in virusinfizierten Zellen befasst und hier sowohl antivirale aber auch virusunterstützende Funktionen aufklären können. Aufbauend hierauf sollen die Aktivierungsprofile und die verschiedenen Funktionen dieser Signalwege nach Infektion mit HPAIV vom H5- und H7-Subtyp vergleichend mit niedrig pathogenen aviären und humanen Isolaten analysiert werden. Ziel des Projekts ist, Einblicke in die detaillierten Mechanismen der Induktion des Zytokinsturms und der zellulären Determinanten von Pathogenität und Wirtstropismus von HPAIV zu erhalten und neue Zielstrukturen für mögliche antivirale Strategien zu identifizieren.

Teilprojekt 7 **Untersuchungen zur genetischen Suszeptibilität des Wirts gegenüber Influenzainfektionen**

Hauptprojektleitung

Prof. Dr. Klaus Schughart
Abteilung Experimentelle Mausgenetik
Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung Braunschweig und Abteilung Virologie
Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
Inhoffenstraße 7, 38124 Braunschweig
Tel.: 0531 6181-1100, Fax: 0531 6181-1099
E-Mail: klaus.schughart@helmholtz-hzi.de

Kopprojektleitung

Dr. Ralf Wagner
FG Virale Impfstoffe, Abteilung Virologie
Paul-Ehrlich-Institut
Paul-Ehrlich-Straße 51-59, 63225 Langen
Tel.: 06103 77-2351, Fax: 06103-77-1234
E-Mail: wagra@pei.de

Zusammenfassung

In diesem Projekt werden die genetischen Faktoren untersucht, die die Empfindlichkeit des Wirts gegenüber einer Infektion mit Influenzaviren beeinflussen. Hierzu werden verschiedene Mausstämme sowie Populationen von Mausfamilien nach Infektion mit einem H1N1-Subtyp des Influenza A-Virus infiziert und auf ihre Abwehrreaktion hin untersucht. Die Sterblichkeit, Pathophysiologie, Virusausbreitung im Organismus und verschiedene Aspekte der Immunantwort des Wirts werden in Abhängigkeit vom Mausstamm bestimmt. Da die Genetik der Mausfamilien genau bekannt ist, lassen sich auf diese Weise Regionen im Genom identifizieren, die einen Einfluss auf die Abwehr des Wirts gegenüber einer Influenzainfektion haben. Diese Studien werden neue Angriffspunkte für die Prävention und Therapie von Influenzainfektionen beim Menschen und in Nutztieren liefern.

Weiterhin werden in Kooperation mit Partnern aus den USA, China und Indien andere Virus-Subtypen, insbesondere des H9N2-Subtyps, auf ihre Infektiosität in Säugerzellen und der Maus untersucht. Diese Untersuchungen werden neue Erkenntnisse zum zoonotischen Potenzial (Übertragung von Grippeviren des Vogels auf Säuger) liefern.

Teilprojekt 8 **Rolle des Typ-I-Interferons und Mx-Proteinen bei der angeborenen Resistenz des Huhns gegen Influenza A-Virus**

Hauptprojektleitung

Prof. Dr. Peter Stäheli
Abteilung Virologie, Universität Freiburg
Hermann-Herder-Straße 11, 79104 Freiburg
Tel.: 0761 203-6579, Fax: 0761 203-5350
E-Mail: peter.staeheli@uniklinik-freiburg.de

Kopprojektleitung

Dr. Sonja Kothlow
Institut für Tierphysiologie, LMU München
Veterinärstraße 13, 80539 München
Tel.: 089 2180-1669, Fax: 089 2180-2554
E-Mail: kothlow@tiph.vetmed.uni-muenchen.de

Zusammenfassung

Im Rahmen dieses Projekts werden wir die Rolle von Typ-I-Interferon (IFN) und IFN-induzierten Mx-Proteinen bei der natürlichen Resistenz naiver Hühner gegen Influenza-A-Viren studieren. Die Arbeitshypothese besagt, dass die schnelle Synthese von IFN – früh nach der Virusinfektion – den Grad der Resistenz entschei-

dend beeinflusst und dass funktionelle Mx-Proteine für die Ausprägung des Resistenzphänotyps wichtig sind. Das Projekt bedient sich eines neuen transgenen Ansatzes, in welchem einerseits die Expression des IFN-Rezeptors mithilfe von RNA-Interferenz herunterreguliert wird und andererseits verschiedene Mx-Protein-Varianten mithilfe eines retroviralen Vektors überexprimiert werden. Für die geplanten Infektionsstudien mit hoch pathogenen aviären Influenza A-Viren werden sowohl genetisch veränderte Hühner-Embryozellen als auch junge transgene Hühner verwendet. Erwartet wird, dass die Resultate der Studie zum Verständnis der angeborenen Resistenz des Huhns gegen Influenza A-Viren beitragen. Das Verständnis dieser Mechanismen ist von großer theoretischer und praktischer Bedeutung. Falls gewisse Mx-Allele die natürliche Resistenz gegen Influenza A-Viren erhöhen, würden zukünftige Zuchtprogramme von dieser Erkenntnis enorm profitieren können.

Teilprojekt 9 Interferone als antivirale Medikamente gegen hoch pathogene Influenzaviren: Wirksamkeitsstudien an neuen Tiermodellen

Hauptprojektleitung

Prof. Dr. med. Otto Haller
Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene
Hermann-Herder-Straße 11, 79008 Freiburg
Tel.: 0761 203-6533, Fax: 0761 203-6562
E-Mail: otto.haller@uniklinik-freiburg.de

Kopprojektleitung

Prof. Dr. rer. nat. Oliver Planz
Institut für Immunologie, Friedrich-Loeffler-Institut
Paul-Ehrlich-Straße 28, 72076 Tübingen
Tel.: 07071 967-254, Fax: 07071 967-105
E-Mail: oliver.planz@uni-tuebingen.de

Zusammenfassung

Die Möglichkeiten zur Bekämpfung einer Influenza-Pandemie sind beschränkt. Verfügbarkeit und Wirksamkeit der vorhandenen antiviralen Neuraminidase-Hemmstoffe sind nicht gesichert, und ein Auftreten resistenter Virusstämme ist wahrscheinlich. Eine alternative Strategie besteht darin, die Wirtsabwehr gegenüber Influenzaviren zu stärken. Es ist bekannt, dass Interferone im Respirationstrakt eine direkte antivirale Aktivität gegen Influenzaviren erzeugen. Interferone wirken über zelleigene Abwehrmoleküle, von denen die interferoninduzierte MxA-GTPase eine Hauptrolle zu spielen scheint. Wir werden die Wirksamkeit einer prophylaktischen Interferongabe in drei Tiermodellen untersuchen. Zum einen werden Mäuse eingesetzt, die ein intaktes Interferonsystem besitzen. Im Gegensatz zu konventionellen Labor-Inzuchtmäusen haben diese Tiere ein funktionstüchtiges Mx-Gen und sind damit ein besseres Modell für die Situation beim Menschen. Zweitens werden wir Schutzversuche an Meerschweinchen durchführen, die sich besonders gut für Virusübertragungsversuche eignen. Drittens wird das Frettchen eingesetzt, das als

klassisches Tiermodell für die menschliche Influenza gilt. Die Ergebnisse werden wichtige Hinweise auf die Nützlichkeit einer Interferon-Prophylaxe/-Therapie bei einer sonst unkontrollierbaren Influenza-Pandemie liefern.

Teilprojekt 10 Überwachung der Schweineinfluenza in Deutschland und Untersuchung von therapierelevanten porzinen Influenzaviren

Hauptprojektleitung

PD Dr. rer. nat. Roland Zell
Institut für Virologie und Antivirale Therapie (IVAT)
Klinikum der Friedrich-Schiller-Universität
Hans-Knöll-Straße 2, 07745 Jena
Tel.: 03641 65-7209, Fax: 03641 65-7202
E-Mail: roland.zell@med.uni-jena.de

Kopprojektleitung

Dr. med. vet. Ralf Dürrwald
Impfstoffwerk Dessau-Tornau GmbH
Streetzer Weg 15a, 06862 Rodleben
Tel.: 034901 885-0, Fax: 084901 885-823

Dr. rer. nat. Michaela Schmidtke
Institut für Virologie und Antivirale Therapie (IVAT)
Klinikum der Friedrich-Schiller-Universität
Hans-Knöll-Straße 2, 07745 Jena
Tel.: 03841 65-7222, Fax: 03841 65-7202

Zusammenfassung

Die Etablierung eines Serosurveys für Influenza A-Virusinfektionen beim Schwein ist vorgesehen. Hierfür sollen in den nächsten drei Jahren eine Serumdatenbank angelegt und die Seroprävalenz von Antikörpern gegen Influenzaviren verschiedener Subtypen erfasst werden. Außerdem sollen Viren aus infizierten Tieren isoliert und serologisch sowie molekularbiologisch charakterisiert werden. Neben der Aktualisierung epidemiologischer Daten erlaubt dieser Ansatz auch den Nachweis von Influenzaviren, die wegen neuer Antigen-Eigenschaften von der serologischen Diagnostik nicht erfasst werden. Schweine sind ein Reservoir für Influenzaviren mit Amantadinresistenz und niedriger Sensitivität gegen Neuraminidaseinhibitoren (NAI). Die Prävalenz solcher Viren und die zugrundeliegenden Mechanismen sollen analysiert werden. Die Arbeiten beinhalten Sequenzanalysen, die Kartierung des NAI-Resistenzphänotyps ausgewählter Isolate durch reverse Genetik und die Untersuchung der AI-Resistenz durch verschiedene Assays. Die Pathogenität ausgewählter NAI-resistenter Viren und der therapeutische Effekt von NAIs sollen auch in BALB/c-Mäusen (nach Adaptation) und im Schwein untersucht werden.

3 BMELV-Vorhaben zur Bekämpfung von Zoonosen bei Tieren im Rahmen des Programms zur Innovationsförderung

Einleitung

Die Tiergesundheit ist in der landwirtschaftlichen Nutztierhaltung der entscheidende Faktor für die Aufrechterhaltung und Steigerung der Sicherheit und Qualität der Produkte sowie der Produktion. Zum einen ist die Tiergesundheit von größter Bedeutung, um die Gefahr der Übertragung von Erregern vom Tier auf den Menschen zu minimieren. Zum anderen sind gesunde Lebensmittel tierischer Herkunft nur mit gesunden Tieren, die bedarfsgerecht gefüttert und artgerecht gehalten werden, effizient zu erzeugen.

Innovationspotenzial wird insbesondere bei der Bekämpfung von Zoonosen bei Tieren gesehen. Hier stehen sichere Diagnostika, Impfstoffe sowie andere Hygienemaßnahmen im Vordergrund. Für prophylaktische Maßnahmen sind mögliche Schutz- und Notimpfungen zum Aufbau und zur Stabilisierung der speziellen Immunabwehr von Bedeutung. Deshalb fördert das Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz im Rahmen und nach Maßgabe seines Programms zur Innovationsförderung (<http://www.ble.de>, „Innovationsförderung“) entsprechende Vorhaben.

Schwerpunkt der ersten Bekanntmachung sind innovative Vorhaben, die hinsichtlich der Influenza oder anderer Zoonosen und als Zoonosen verdächtiger Erreger bei Tieren

- + die Diagnostik zeitlich und in Bezug auf die Sensitivität und Spezifität verbessern,
- + zur Entwicklung von Therapeutika und Impfstoffen für die Schließung von Therapie- und Prophylaxenotständen oder zu einer Reduktion der Prävalenz beitragen,
- + Impfstoffkonzepte neu und effektiv gestalten, die für anzeigepflichtige Tierseuchen der DIVA-Strategie genügen,
- + zu Hygienemaßnahmen führen, die zu einer Reduktion der Prävalenz beitragen.

Zurzeit werden zwei Verbundvorhaben und zwei Vorhaben gefördert. Die BMELV-Bekanntmachung vom 8.6.2006 ist im Anhang (S. 68–69) abgedruckt.

3.1 Frühdiagnostik von Infektionen mit *Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis* (MAP) bei Rindern

Verbundkoordination

Prof. Dr. Michael Bülte
 Institut für Tierärztliche Nahrungsmittelkunde (IFTN)
 Justus-Liebig-Universität Gießen
 Frankfurter Straße 92, 35392 Gießen
 Tel.: 0641 99-38251, Fax: 0641 99-38259
 E-Mail: buelte@vetmed.uni-giessen.de

Laufzeit: 1.4.2007–31.3.2010

Ziel des Projekts ist es, validierte und routinetaugliche Verfahren zur Früherkennung von Infektionen mit *Mycobacterium avium ssp. paratuberculosis* (MAP), dem Erreger der tödlich verlaufenden Paratuberkulose der Rinder, zu entwickeln. Grundlagen dafür stellen der Desoxyribonukleinsäure (DNS)-Nachweis von MAP in Biopsieproben von Darmlymphknoten mittels Polymerase-Kettenreaktion in Echtzeit (Real Time-PCR), der Nachweis von MAP-spezifischen Antikörpern im Blutserum mittels Durchflusszytometrie sowie der Nachweis von MAP-spezifischen, Interferon-Gamma-bildenden T-Zellpopulationen im peripheren Blut dar.

Die hier beabsichtigten Entwicklungsarbeiten zur Etablierung innovativer Testverfahren sollen im Vergleich zu den bisher verfügbaren Diagnostika (Mikroskopie, ELISA, Kultur) geprüft werden. Dazu sind Longitudinalstudien an MAP-freien sowie an experimentell mit MAP infizierten Kälbern (Infektionsmodell) sowie eine vergleichbare Querschnittsstudie an Kälbern in Paratuberkulose-Problembetrieben und in Paratuberkulose-freien Milchviehbetrieben (Feldvalidierung) vorgesehen.

Die dabei entwickelten Verfahren sollen die Erfassung von MAP-Infektionen bereits im Kälberalter ermöglichen.

3.2 Entwicklung eines diagnostischen Systems zur Entdeckung von West-Nil-Virus-Infektionen und Entwicklung eines gentechnischen Impfstoffs gegen diese Infektion

Projektleitung

Dr. Sebastian Ulbert
 Laborleiter Impfstoffentwicklung
 Fraunhofer-Institut für Zelltherapie and Immunologie IZI
 Deutscher Platz 5e, 04103 Leipzig
 Tel.: 0341 35536-245, Fax: 0341 35536-109
 E-Mail: sebastian.ulbert@izi.fraunhofer.de

Laufzeit: 1.1.2007 bis 31.12.2009

WNV ist ein zoonotischer Erreger, der neben Vögeln auch Pferde, Menschen und weitere Säugetiere befällt. Aufgrund rasanter Ausbreitung von WNV in den USA mit hunderten Todesfällen bei Menschen und aktuellen WNV-Nachweisen in Frankreich und England ist eine Erforschung des Virus sowie die Entwicklung eines Impfstoffs geboten. Dies soll erreicht werden über i) epidemiologische Studien an Wildvögeln und Pferden, um die Ausbreitung von WNV in Deutschland zu untersuchen, ii) Etablierung eines murinen Infektionsmodells, iii) Entwicklung eines diagnostischen Biomarkers, iv) Entwicklung eines DNA-Impfstoffs für Pferde, der dann auch auf andere Säugetiere ausdehnbar ist.

Das diagnostische Markersystem für die WNV-Infektion und der Impfstoff für Pferde sollen patentiert und zur kommerziellen Produktentwicklung auslizensiert werden. Daten zur Epidemiologie von WNV in Deutschland sollen mit den verantwortlichen öffentlichen Stellen für WNV-Bekämpfungsmaßnahmen verwendet werden.

3.3 Neuartiger Ansatz zur Entwicklung eines heterosubtypischen Marker-Impfstoffs gegen die aviäre Influenza beim Geflügel

Verbundkoordination

Prof. Dr. Matthias Schramm/Dr. Heiko Apfel
CREATOGEN Laboratories GmbH
Hermannswerder 16, 14473 Potsdam
Tel.: 0331 2300700, Fax: 0331 2300701
E-Mail: h.apfel@creatogen.de

Dr. Ulrich Methner
Institut für bakterielle Infektionen und Zoonosen
Friedrich-Loeffler-Institut, Standort Jena
Naumburger Straße 96a, 07743 Jena
Tel.: 3641 804-267, Fax: 3641 804-228
E-Mail: ulrich.methner@fli.bund.de

Laufzeiten: 1.11.2006–28.2.2009 (1.3.2007–28.2.2009 für FLI)

Im Verbund wird eine neue Immunisierungsstrategie gegen heterosubtypische AI-Virus-Infektionen beim Geflügel untersucht. Grundlage des Impfstoffs sind synthetische Antigene, die Kombinationen konservierter Strukturbereiche aus verschiedenen AI-Virus-Proteinen enthalten und in Salmonella-Lebendimpfstoffen zur Expression gebracht werden. Dadurch soll in vakzinieren Tieren eine Immunantwort gegen mehrere konservierte Teile des AI-Virus erzeugt werden. Durch die Verwendung von Salmonella-Lebendimpfstoffen als Antigen-träger wird eine besonders effiziente Immunantwort erwartet, die das AI-Virus sowohl lokal im Darm, dem natürlichen Eintrittsort des AI-Virus, als auch systemisch angreift. Darüber hinaus ermöglicht die Verwendung solcher Lebendimpfstoffe die einfache Applikation über das Trinkwasser des zu immunisierenden Geflügels.

Die molekularbiologischen Arbeiten einschließlich der Produktion der verschiedenen zu untersuchenden rekombinanten Impfstämme werden in Potsdam bei der Firma CREATOGEN durchgeführt. Die tierexperimentellen Arbeiten werden am Standort Jena des FLI realisiert. Hierzu werden die verschiedenen konventionellen Salmonella-Lebendimpfstoffe und rekombinante Varianten beim Geflügel umfassend bakteriologisch und immunologisch untersucht und die gewonnenen Daten zur Optimierung des Impfansatzes und zum Screening wirksamer Antigene herangezogen.

3.4 Entwicklung innovativer Therapieformen für die Behandlung von Infektionen mit Influenzaviren

Projektleitung

Prof. Dr. Ulrich Schubert
ViroLogik GmbH
Henkelstraße 91, 91052 Erlangen
Tel.: 09131 5301-488, Fax: 09131 5301-644
E-Mail: u.schubert@virologik.com

Laufzeit: 5.3.2007–14.3.2010

Es sollen neue antivirale Strategien für die Behandlung und Vorbeugung von Influenza-A-Virus (IAV)-Infektionen, insbesondere von hoch pathogenen aviären Varianten mit starkem Pandemiepotenzial in Mensch und Tier, erforscht und in industriell anerkannten Infektionsmodellen auf ihre Anwendbarkeit getestet werden. Dazu werden neuartige Wirkstoffe entwickelt, welche für die IAV-Replikation notwendige Funktionen der Wirtszelle stören.

Für den Anwendungsschwerpunkt in der Tiermedizin ist eine strategische Allianz mit einem führenden Anbieter von Wirkstoffen für die Tiergesundheit geplant (LAH). Parallel zu den Untersuchungen in Tiermodellen (Maus, Frettchen) wird LAH diese Technologie in Infektionsexperimenten mit niedrig pathogenen aviären IAV-Isolaten an Geflügel testen. Bei Erfolg sind Infektionsexperimente mit hoch pathogenen aviären IAV-Isolaten (z. B. H5N1) in Hochsicherheitslaboren (FLI, Insel Riems) geplant. Die Ergebnisse des Vorhabens sollen unmittelbar in die vorwettbewerbliche Entwicklung (zulassungsrelevante Studien) eingehen. Möglicherweise lassen sich einzelne Ergebnisse direkt kommerziell verwerten, z. B. durch Lizenzen an Pharmaunternehmen und LAH.

4 Forschungs-Sofortprogramm Influenza des Bundes (FSI)

Einleitung

Influenzaviren sind als Krankheitserreger bei Tier und Mensch seit Langem bekannt. Wildvögel stellen ein natürliches Reservoir für alle Influenzaviren dar, aus dem diese Erreger sporadisch und unvorhersehbar auf andere Wirte, z. B. Nutzgeflügel, oder auf Säugetiere, z. B. Schweine oder den Menschen, übergehen können. Erst in diesen Spezies kann es dann zum Ausbruch von schwerwiegenden Erkrankungen kommen, die als räumlich begrenzte Epidemien und weltumspannende Pandemien katastrophale Ausmaße annehmen können. Die saisonal auftretenden Grippeepidemien, verursacht durch Viren der Subtypen H3N2 und H1N1, und sporadische Influenzapandemien sind daher bisher ungelöste, schwere Belastungen für das Gesundheitswesen.

Die ständige pandemische Bedrohung durch einen neu auftretenden Influenzavirus-Subtyp wurde in den letzten drei Jahren durch die geographische Ausbreitung von H5N1-Viren von Südostasien bis nach Mitteleuropa und Afrika auch einer breiteren Öffentlichkeit bewusst. Diese Viren befallen vorwiegend aviäre Spezies, zeigen jedoch eine alarmierend hohe Letalität von mehr als 50 Prozent bei den bisher relativ selten aufgetretenen Übertragungen auf den Menschen in Asien und Afrika. In Deutschland kulminierte die bisherige Entwicklung im Februar 2006, als das hoch pathogene Influenzavirus vom Typ H5N1-Asien erstmals bei Wildvögeln auf Rügen nachgewiesen wurde. Gleichzeitig wurde deutlich, dass trotz jahrzehntelanger Forschung große Lücken bestehen hinsichtlich der Biologie und Ökologie der Influenzaviren, ihrem krankmachenden Potenzial, der Zahl möglicher Wirte sowie auch der Entwicklung von empfindlichen Schnelltests zum Vor-Ort-Nachweis der Viren und bei der Bereitstellung adäquater Impfstoffe für Mensch und Tier. Der Eintrag von HPAI H5N1 nach Deutschland und mehr als zehn weitere westeuropäische Länder erhöht primär die Gefährdung der Nutzgeflügelbestände. Jedoch verdeutlichen die auch in Europa beschriebenen natürlichen Übertragungen von H5N1 auf Katzen (in Deutschland und Österreich) und andere Säugetiere (auf Rügen) auch das Risiko einer Infektion des Menschen in Mitteleuropa.

Die drei Bundesinstitute, das Robert Koch-Institut (RKI), das Paul-Ehrlich-Institut (PEI) und das Friedrich-Loeffler-Institut (FLI), wurden am 3. März 2006 beauftragt, schnellstmöglich ein praxisorientiertes Programm angewandter Forschung umzusetzen, das geeignet ist,

- + Defizite in der wissenschaftlichen Erkenntnis abzubauen,
- + Notwendigkeit und Zuverlässigkeit risikominimierender Maßnahmen zu beurteilen sowie
- + die Grundlagen der wissenschaftlichen Politikberatung weiter zu verbessern.

Die Laufzeit der Projekte beträgt im Regelfall zwei bis drei Jahre.

4.1 Projekte am Robert Koch-Institut (RKI)

Koordination

PD Dr. T. Wolff
Robert Koch-Institut, P15
Nordufer 20, 13353 Berlin
Tel.: 030 18754-2278, Fax: 030 18754-2328
E-Mail: wolfft@rki.de

Laufzeit: 1.10.2006–30.9.2008

Die Forschungsvorhaben des RKI beinhalten Projekte auf den Gebieten Monitoring/epidemiologische Surveillance, Weiterbildung, (Schnell-)Diagnostik und Pathogenese. In Kooperation mit dem Paul-Ehrlich-Institut wird auch die Entwicklung von prototypischen Impfstoffen für den Pandemiefall vorangetrieben. In der Laufzeit des Förderprogramms können durch die Projekte geeignete Strukturen, z. B. für Monitoring und Surveillance, etabliert und Grundlagen für längerfristige Forschungsprojekte gelegt werden. Auf dem Gebiet der Diagnostik werden notwendige Werkzeuge entwickelt, die dann in Zusammenarbeit mit Diagnostika- und Geräteherstellern als kommerziell erhältliche, validierte Testsysteme auf den Markt gebracht werden können. Bereits jetzt gibt es praxisrelevante Zwischenergebnisse, die auf dem Workshop vorgestellt werden.

Teilprojekt I.1 Weiterentwicklung des Meldesystems für Infektionskrankheiten SurvNet@RKI

Projektleitung: Dr. H. Claus

Um im Falle einer Influenza-Pandemie geeignete Maßnahmen einleiten zu können, ist eine möglichst aktuelle und genaue Kenntnis der Influenza-Situation in Deutschland unabdingbar. Durch eine Weiterentwicklung und Anpassung des gemäß Infektionsschutzgesetz existierenden Meldesystems für Infektionskrankheiten SurvNet@RKI in Deutschland soll sowohl erreicht werden, dass in der Frühphase einer pandemischen Entwicklung ausführliche Informationen über alle auftretenden Einzelfälle des Influenza-Infektionsgeschehens für Deutschland sehr schnell vorliegen als auch dass das Meldesystem an die wachsende Belastung bei fortschreitender Ausbreitung der Influenza angepasst werden kann.

Durch den Einsatz moderner Programmier-Techniken (Programmiersprache C#.Net, Datenbankserver MS SQL-Server, XML-basierter Datentransport, Webservices) kann erreicht werden, dass das infektionsepidemiologische Meldesystem flexibel

und ohne größeren Aufwand auch weiteren zukünftigen Anforderungen gerecht werden kann.

Teilprojekt I.2 Bestimmung epidemiologischer Dynamikparameter

Projektleitung: Dr. U. Buchholz

Die Kenntnis epidemiologischer Dynamikparameter eines neuen Virus-Subtyps bildet die Basis sowohl für fundierte Empfehlungen für den öffentlichen Gesundheitsdienst als auch für die Anpassung mathematischer Modelle aufgrund der tatsächlichen Eigenschaften des pandemischen Virus. Einige dieser Parameter können durch epidemiologische Feldstudien in der Frühphase einer Pandemie annähernd quantifiziert werden. Durch eine Literaturrecherche und Expertenbefragungen wurden Parameter identifiziert, die diese Voraussetzungen erfüllen: Beginn, Länge und Ort der viralen Ausscheidung im Patienten sowie die Inkubations- bzw. Latenzzeit. Für diese Parameter eignet sich die sequenzielle Probennahme von Influenzapatienten gleichzeitig mit ihren Haushaltskontakten, d. h. schon vor einem eventuellen Symptombeginn. Die Methodik wurde bereits in einem Protokoll beschrieben und durch ein Ethikkomitee sowie die zuständigen Datenschutzbeauftragten begutachtet und genehmigt. In der Influenzasaison 2006/07 konnten Studienärzte gewonnen werden, die die Durchführbarkeit des methodischen Ansatzes anhand weniger Patienten und ihrer Haushalte erproben konnten. Die Ergebnisse werden ausgewertet und evaluiert, für die kommende Influenzasaison ist die Durchführung des Pilotprojekts mit einer höheren Patientenanzahl geplant.

Teilprojekt I.3 Soziodemographische Basisforschung zur Wirk- samkeitsmodellierung von Schutzmaßnahmen

Projektleitung: Dr. H. Claus

Die Modellierung einer Influenza-Pandemie ist in ihrem Vorhersagewert unmittelbar abhängig von der Güte der eingebrachten Parameter der epidemiologischen Dynamik. Für die Ausbreitung der Influenza in der Bevölkerung sind verschiedene Subpopulationen (z. B. Kinder oder das Krankenhauspersonal) sowie die Interaktionen innerhalb der Bevölkerung (z. B. Berufspendler oder das Zusammentreffen von Kindern in Kinderbetreuungseinrichtungen) von besonderer Bedeutung.

Ziel der Studie ist es, sowohl die für eine Influenza-Ausbreitung besonders wichtigen Subpopulationen sowie relevante Interaktionen zu identifizieren und mittels verfügbarer statistischer Daten zu quantifizieren. Diese Daten sollen zur Weiterentwicklung von Modellierungsprogrammen beitragen, sodass die Auswirkungen von Präventionsmaßnahmen bzgl. dieser Bevölkerungsgruppen (z. B. Verkehrseinschränkungen, Schulschließungen) in Modellen berechnet und bewertet werden können.

Teilprojekt I.4 Informationsmanagement am Beispiel Influenza-Pandemie (RKI, BZgA)

Projektleitung: Dr. C. Bartels

Das RKI entwickelt gemeinsam mit der BZgA eine Informationsstrategie für den Fall einer Influenza-Pandemie. Fragestellung dabei ist, wie man der Bevölkerung möglichst schnell und wirkungsvoll eine Pandemie-Kompetenz vermitteln kann. Dabei geht es vor allem um eine realistische Risikoeinschätzung durch die Bevölkerung und die Erarbeitung leicht verständlicher Verhaltensempfehlungen für die Bewältigung der Pandemie.

Im Rahmen des Projekts wird zunächst das aktuelle Erleben von Grippe und Pandemie in der Bevölkerung ermittelt. Daneben erfolgt eine Bestandsaufnahme und Analyse von Informationsmaterialien nationaler und internationaler Institutionen im Bereich der pandemischen Influenza. In Abstimmung mit Experten werden öffentlich relevantes Influenzawissen und Verhaltensempfehlungen zusammengestellt.

Auf dieser Basis werden die wesentlichen Kernbotschaften abgeleitet und deren mediale Umsetzung konkretisiert. In Zusammenarbeit mit externen Dienstleistern werden erste Kommunikationsmittel konzipiert und getestet und bis zur Produktionsreife geführt.

Teilprojekt II.1 Entwicklung eines Schnelltests zum Nachweis von Subtyp-H5-Viren

Projektleitung: Dr. B. Schweiger

Derzeit auf dem Markt befindliche sog. Schnelltests sind als near-patient-Test geeignet. Sie sind unabhängig von jeglicher Laborausstattung und ermöglichen innerhalb von 10–20 Minuten den Nachweis von Influenzavirus-Antigen. Die meisten dieser Tests differenzieren nur zwischen Influenza A- und B-Viren. Was den Nachweis von Influenza A-Viren betrifft, so sind die Tests bisher nur mit humanen Viren der Subtypen H1N1 und H3N2 evaluiert worden, wenn sie auch H5N1 mit unterschiedlicher Sensitivität detektieren können. Da bisher H5-spezifische Tests kaum verfügbar sind und in Bezug auf einen sensitiven Nachweis humaner Infektionen keine Daten vorliegen, ist die Entwicklung H5-spezifischer Schnelltests sehr wichtig. Daher sollen in diesem Projekt monoklonale Antikörper gegen den Subtyp H5 hergestellt werden, um diese zur Entwicklung eines Schnelltests einzusetzen. Diese Antikörper werden mit geeigneten Verfahren analysiert, hinsichtlich der Bindung an Oberflächenproteine selektioniert und bezüglich der Verwendbarkeit in „Capture-Assays“ evaluiert. Von besonderer Bedeutung ist hier ebenfalls die Detektion der verschiedenen Linien und Sublinien dieser H5N1-Viren. Anschließend erfolgt die Auswahl geeigneter Formate für einen Schnelltest.

Teilprojekt II.2a **Entwicklung eines Biochips zum Nachweis** **und zur Differenzierung von Influenzaviren**

Projektleitung: Dr. B. Schweiger

Die moderne Chip-Technologie bietet eine ausgezeichnete Plattform zum generellen Nachweis von Influenza A- und B-Viren sowie zur Differenzierung von viralen Subtypen auf einem Chip. Sowohl für die PCR als auch die nachfolgende Differenzierung sollen mobile Testverfahren entwickelt werden, die einen Einsatz auch bei Ausbrüchen vor Ort oder z. B. bei einer gezielten Überwachung an Flughäfen gestatten würden. Teilschritte bei der Entwicklung dieser Verfahren umfassen die Selektion spezifischer Sonden für den generellen Nachweis von Influenza A-Viren und Influenza B-Viren sowie für relevante HA- und NA-Subtypen von Influenza A-Viren wie H1, H2, H3, N1, N2, H5, H7 und H9. Diese Sonden müssen dann mit verfügbaren oder neu zu entwickelnden PCR-Assays evaluiert werden, um verschiedene Nachweisysteme in Multiplexverfahren zu vereinen. Danach sind die Sensitivität und Spezifität der Assays zu testen. Im nächsten Entwicklungsschritt erfolgt die Umsetzung der Methode in das Chip-Format. Dieser Entwicklungsphase folgt eine sehr umfassende Evaluierungs- und Validierungsphase der Prototypen. Eine Erweiterung der Erregerpalette durch Integration weiterer HA- und NA-Subtypen von Influenza A-Viren könnte später erfolgen.

Teilprojekt II.2b **Entwicklung schneller Sequenzierungsstrategien** **zur Analyse der Verbreitung von neuen Varianten** **oder resistenten Viren**

Projektleitung: Dr. B. Schweiger

Hoch pathogene H5N1-Viren, die seit Ende 2003 in Südostasien und nun auch in vielen anderen Ländern zirkulieren, sind durch eine für aviäre Influenzaviren ungewöhnliche Evolution charakterisiert. Alarmierend sind auch die humanen H5N1-Transmissionen, die seit 2006 außerhalb von Südostasien bekannt wurden. Um rasch umfassende Informationen zur molekularen Epidemiologie zu erhalten, werden Verfahren entwickelt, mit deren Hilfe verschiedene gegenwärtig co-zirkulierende Linien und Sublinien hoch pathogener H5N1-Viren unabhängig von der Virusanzucht schnell identifiziert werden können. Hinsichtlich therapeutischer und prophylaktischer Maßnahmen ist es zudem wichtig, Methoden zur schnellen Identifizierung von Mutationen zu entwickeln, die mit der Resistenz gegenüber antiviralen Substanzen wie Neuraminidaseinhibitoren oder Amantadin assoziiert sind. Schnelle Verfahren zur molekularen Analyse sollen auch auf dem Gebiet der humanen Influenza entwickelt bzw. weiterentwickelt werden, um die Zirkulation und Verbreitung neuer Varianten von humanen Influenza A- und B-Viren sowie das Auftreten von Resistenzen zu verfolgen (z. B. durch Pyrosequencing).

Teilprojekt III.1a **Untersuchung der Virulenz-bestimmenden** **Eigenschaften von hoch pathogenen aviären** **Influenza-A-Viren (HPAIV) im Säugerwirt**

Projektleitung: PD Dr. T. Wolff

Die seit Ende 2003 zirkulierenden HPAIV vom Subtyp H5N1 unterscheiden sich von früher charakterisierten HPAIV und epidemisch auftretenden Influenzaviren u. a. durch (i) eine hohe Virulenz im Menschen, (ii) die Fähigkeit, weitere Säugerarten (Katzen, Frettchen, Mäuse) letal zu infizieren und (iii) eine ungewöhnlich hohe Pathogenität in normalerweise nicht an Influenzavirusinfektionen erkrankenden Wasservögeln (Enten, Gänsen). Ziel des Vorhabens ist, ein detailliertes Verständnis der pathogenetischen Ursachen für die Eigenschaften der zoonotischen H5N1-Viren anhand eines Mausmodells zu erhalten. Insbesondere sollen die Muster der Zytokin-Induktion durch H5N1-HPAIV und die korrespondierenden pathologischen Veränderungen mit denen niedrig pathogener Influenzaviren verglichen werden. Ein weiterer Fokus wird auf der Grundlage des Neurotropismus der H5N1-Viren liegen, da Infektionen des ZNS im Menschen häufig mit hoher Letalität verknüpft sind und die antiviralen Neuraminidase-Hemmer die Blut-Hirn-Schranke nicht passieren können. Hier wollen wir das Tiermodell benutzen, um virale bzw. wirtskodierte Faktoren zu charakterisieren, die an ZNS-Infektionen beteiligt sind.

Teilprojekt III.1b **Untersuchungen zur Funktion von viralen** **Proteinen bei der Erkrankung**

Projektleitung: PD Dr. T. Wolff

Eine wesentliche krankheitserschwerende Eigenschaft von hoch pathogenen H5N1-Influenzaviren der Asia-Linie besteht in einer im Vergleich zu saisonal auftretenden Virusstämmen sehr starken Induktion von pro-inflammatorischen und antiviralen Zytokinen im respiratorischen Epithel. Für manche H5N1-Viren ist weiterhin eine stark herabgesetzte Suszeptibilität gegenüber diesen Zytokinen berichtet worden. In der Literatur werden unbekannte Besonderheiten des NS1-Proteins der H5N1-Viren, das sich in seiner Sequenz von dem NS1-Protein aktueller humanpathogener Stämme deutlich unterscheidet, für beide pathogenetisch wichtigen Eigenschaften verantwortlich gemacht. Ziel des Projekts ist es, die besonderen Eigenschaften des NS1-Proteins von H5N1-Stämmen zu entschlüsseln. Dazu wird die am RKI etablierte reverse-genetische Technologie eingesetzt, um rekombinante Influenzaviren mit veränderten NS1-Genen von H5N1-Stämmen zu generieren. Anschließend werden die spezifischen Aktivitäten des NS1-Proteins durch eine detaillierte Analyse der rekombinanten Viren hinsichtlich der Zytokin-Induktion, der Inhibition der Apoptose, der Blockade von antiviralen Zellproteinen (z. B. PKR) und ihrer Vermehrungseigenschaften beschrieben.

Teilprojekt III.2 Tenazität von Inflenzaviren (tier- und humanpathogene Erreger) (Robert Koch-Institut und Paul-Ehrlich-Institut)

Projektleitung: Dr. B. Schweiger, Dr. Georg Pauli (RKI),
Dr. J. Blümel (PEI)

Laufzeit: 12 Monate

In der Literatur gibt es unterschiedliche Angaben zur Stabilität von Inflenzaviren in der Umwelt und in Tierprodukten. In diesem Projekt werden Modellsysteme zur Untersuchung der Stabilität von hoch pathogenen aviären und humanen sowie von niedrig pathogenen aviären Inflenzavirusisolationen entwickelt. Die erhobenen Befunde zum Nachweis der Infektiosität sollen mit biochemischen und molekularbiologischen Ergebnissen abgeglichen werden.

Um das Infektionsrisiko von Tier und Mensch durch Inflenzaviren besser abschätzen zu können, sind insbesondere Untersuchungen notwendig zur Stabilität der Viren in Wasser, zum Einfluss des Umweltmilieus (z. B. Salzwasser, Teichwasser, destilliertes Wasser und der Umgebungstemperatur) in Kot (getrocknet/feucht/Temperatur) und Federn sowie im Fleisch infizierter Tiere.

4.2 Projekte am Paul-Ehrlich-Institut (PEI)

Koordination

Prof. Dr. G. Sutter
Abteilung Virologie, Paul-Ehrlich-Institut
Paul-Ehrlich-Straße 51–59, 63225 Langen
Tel.: 06103 77-2141, Fax: 06103 77-1273
E-Mail: sutge@pei.de

Laufzeit: 1.9.2006–31.8.2008

Forschung auf dem Gebiet der Pathogenese

Teilprojekt III.2 Tenazität von Inflenzaviren und Sicherheit von Plasmaprodukten

Projektleitung: J. Blümel (PEI)

Mit der Diskussion um mögliche Influenza-Pandemien stellt sich die Frage der Virussicherheit von Plasmaprodukten. Plasmaprodukte werden aus großen Pools von Plasma (mehrere 1.000 Spenden) hergestellt. Bei pandemischen Viren kann nicht auf die Neutralisation dieser Viren durch Antikörper im Plasmapool vertraut werden. Eine Testung von Plasmaspenden auf Inflenzaviren wird auch nicht durchgeführt. Daher beruht die Sicherheit von Plasmaprodukten vor allem auf der Effektivität der Prozessschritt-

te zur Virusinaktivierung, welche bei solchen Produkten üblicherweise angewandt werden.

Zwar liegen umfangreiche Daten vor, die die Inaktivierung von verschiedenen behüllten Viren bei diesen Prozessen zeigen. Jedoch wurde die Inaktivierung von Inflenzaviren bei solchen Herstellungsprozessen bis jetzt nicht untersucht.

Fragestellung

Abklärung der Effektivität von gängigen Inaktivierungsverfahren bei der Herstellung von Plasmaprodukten zur Inaktivierung von Inflenzaviren.

- + Untersuchung der Stabilität von Viruspräparationen unterschiedlicher Herkunft (Ei/Zellkultur)
- + Untersuchung der Stabilität von verschiedenen Influenza-Virusstämmen

Forschung auf dem Gebiet der Impfstoffentwicklung

Teilprojekt IV.1 Entwicklung und Evaluierung von neuartigen Impfstoffen gegen Influenza H5N1

Projektleitung: G. Sutter (PEI)

Obwohl die traditionellen Formen der Grippeimpfung wirksamen Schutz gegen bekannte Stämme bieten, sind sie für die Bekämpfung einer neuen Pandemie nicht geeignet. Die Entwicklung von pandemischen Influenza-Impfstoffen, wie von der Bundesregierung gefördert, werden diese Lücke basierend auf der verfügbaren Impfstofftechnologie schließen. Darüber hinaus ist die Untersuchung moderner, zurzeit im Forschungsstadium befindlicher Impfstofftechnologien erforderlich, welche gleichzeitig die humorale und zelluläre Immunität anregen können, wie z. B. experimentelle Influenza-Impfstoffe auf der Basis von rekombinanter DNA oder rekombinanten Viren, wie Vektoren auf der Basis von Vacciniavirus MVA, Adenovirus oder Adenovirus-assoziiertem Virus (AAV).

Teilprojekt IV.1a Entwicklung von genetischen Impfstoffen basierend auf dem Hämagglutinin-Gen des H5N1-Inflenzavirus

Teilprojektleitung: G. Sutter (PEI), Stephen Norley (RKI)

Es werden DNA-, Adenovirus-, AAV-Konstrukte (RKI) und MVA-Vektorviren (PEI) untersucht, die Inflenzavirus-Hämagglutinin exprimieren. Diese Konstrukte werden zunächst einer eingehenden molekularvirologischen Charakterisierung unterzogen. Anschließend erfolgt die vergleichende Evaluierung dieser grundsätzlich verschiedenen Formen von H5-Subtyp-Impfstoffen (allein oder in Kombination) hinsichtlich der induzierten humo-

ralen und zellulären Immunogenität im Versuchstier. Im Besonderen soll dabei die variantenübergreifende Schutzwirkung in Mäusen oder Frettchen untersucht werden. Ferner sind wir an der Entwicklung und Testung von beschleunigten Prozeduren zur schnellen Erzeugung und großtechnischen Produktion von Vektorimpfstoffen basierend auf H5-Genen interessiert.

Teilprojekt IV.1b **Entwicklung von breit wirksamen genetischen Impfstoffen basierend auf konservierten Influenzavirus-Genen**

Teilprojektleitung: Stephen Norley (RKI), G. Sutter (PEI)

In diesem Teilprojekt werden monovalente und multivalente DNA-, Adenovirus-, AAV-Konstrukte (RKI) und MVA-Vektorimpfstoffe (PEI) untersucht, die HA, NA, M1, M2 und/oder NP exprimieren. Nach eingehender molekularbiologischer Charakterisierung werden diese Konstrukte auf ihre (kreuz-)immunisierenden Eigenschaften getestet. Als Ansatz zur Verstärkung breitwirksamer Impfmunantworten soll die Co-Expression immunmodulierender Zytokine getestet werden. Ebenso werden wir in Belastungsversuchen die Schutzwirkung der Konstrukte, z. B. in Mäusen oder Frettchen, u. a. gegen Infektion mit diversen H5N1-Viren analysieren. Erfolgreiche Impfstrategien sollen für den Influenza-Stamm H7N7 adaptiert und getestet werden.

Teilprojekt IV.1c **Entwicklung standardisierter und moderner alternativer Testmethoden zur Bewertung schützender Immunität durch Nachweis Influenzavirus-spezifischer Antikörper**

Teilprojektleitung: R. Wagner (PEI)

Die Methode der Wahl zur Bestimmung der Schutzwirkung von Influenza-Impfstoffen ist der Nachweis von Hämagglutination-inhibierenden Antikörpern nach Immunisierung. Dieser HI-Test beruht auf der Hemmung der Bindung von Influenzavirus an Erythrozyten durch Hämagglutinin-spezifische Antikörper und gilt als das gegenwärtig am besten etablierte serologische Untersuchungsverfahren. Dennoch weist der Test, insbesondere beim Nachweis von Antikörpern gegen seltener auftretende Hämagglutinine, einige Unzulänglichkeiten auf. Beispielsweise sind HI-Ergebnisse nicht immer vollständig reproduzierbar. Durch Weiterentwicklung und fortschreitende Standardisierung soll versucht werden, die Zuverlässigkeit und Aussagekraft des Assays zu verbessern.

Darüber hinaus soll ein neuer serologischer Test zur Bestimmung der schützenden Antikörperantwort in Zellkultur etabliert und gegen den bestehenden HI-Test validiert werden. Dieser Mikroneutralisationstest basiert auf den funktionellen Infektionsschutz-vermittelnden Eigenschaften der gebildeten Antikörper und bildet daher die Wirksamkeit eines Influenza-Impfstoffs sehr viel besser ab. Die Verfügbarkeit von validierten serologischen

Verfahren ist von besonderer Bedeutung für die erfolgreiche Entwicklung und korrekte Bewertung neuer Influenza-Impfstoffe.

Teilprojekt IV.1d **Etablierung und Validierung immunologischer Parameter und Assays zur Charakterisierung der Schutzwirkung von Influenza-Impfstoffen im Tiermodell**

Teilprojektleitung: E. Holznagel (PEI), G. Sutter (PEI)

Das Frettchen-Influenza-Infektionsmodell soll am Paul-Ehrlich-Institut etabliert werden, um Impfstoffschutzwirkungen gezielt zu untersuchen. Dabei sollen die Komponenten der Immunreaktion nach experimenteller Infektion und nach Vakzination analysiert und die Antikörpertiter sowie möglichst auch die Effektoren der zellulären Immunantwort identifiziert werden. Folgende Fragestellungen sollen untersucht werden:

- + zur Erzielung einer protektiven Immunantwort erforderlicher Antigengehalt
- + Effekt neuartiger Adjuvanzen oder immunmodulatorischer Proteine
- + funktionelle Bedeutung einzelner induzierter Antikörper-Subklassen
- + Beginn und Dauer des Impfschutzes
- + Immunogenität und Schutzwirkung neuartiger Impfstoffsysteme (DNA-Vakzine und Vakzine auf MVA-Basis)
- + Ermittlung der zur Induktion einer variantenübergreifenden Schutzwirkung erforderlichen Vakzinekomponenten

Das Frettchenmodell könnte auch zur prognostischen Charakterisierung potenzieller Impfstoffe gegen weitere Influenza-subtypen mit pandemischen Potential (H7N7, H7N1, H2N2, H9N2) geeignet sein.

4.3 Projekte am Friedrich-Loeffler-Institut (FLI)

Koordination

Prof. Dr. Mettenleiter
Institut für neue und neuartige Tierseuchenerreger
Friedrich-Loeffler-Institut
Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit
Boddenblick 5a, 17498 Greifswald
Tel.: 038351 7-250, Fax: 038351 7-151
E-Mail: thomas.mettenleiter@fli.bund.de

Das auf veterinärmedizinische Fragestellungen fokussierte Programm des FLI konzentriert sich auf die Bereiche Diagnostik, Impfstoffentwicklung und Epidemiologie. Zielrichtung ist, die Verbreitung des Virus in der Wildvogelpopulation zu beobachten und einen Eintrag in das Nutzgeflügel zu verhindern, um so eine Exposition des Menschen in Deutschland weitestgehend zu reduzieren. Die Laufzeit der Projekte beträgt im Regelfall drei Jahre.

Diagnostik

Moderne molekulare Diagnostikmethoden

Für den schnellen Nachweis von Infektionen mit AIV (speziell HPAI H5N1) und zur feindiagnostischen Charakterisierung sind moderne molekular-diagnostische Methoden unerlässlich. Die Real Time-PCR-Technik, die derzeit bereits in großem Umfang am FLI Anwendung findet, hat entscheidende Vorteile in der Routine-diagnostik. Für die weitere schnelle und umfassende Charakterisierung von Virusisolaten sind der Einsatz und die Weiterentwicklung zusätzlicher molekular-diagnostischer Methoden jedoch unerlässlich.

Teilprojekt Entwicklung und Einsatz der DNA-Chip-Technologie für eine umfassende Influenzavirus-Diagnostik

Projektleitung: Dr. Bernd Hoffmann

Für die ad-hoc-Analytik der verschiedenen AIV-Isolate bietet sich besonders die DNA-Chip-Technologie an, da hier parallele Analysen einer Vielzahl von verschiedenen Genomabschnitten möglich sind. In der veterinärmedizinischen Influenzadiagnostik sollen DNA-Chip-Systeme in folgenden Bereichen entwickelt und eingesetzt werden:

- + Charakterisierung von HA- und NA-Subtypen
- + Untersuchung der Antigenveränderungen bei Isolaten eines aktuellen Seuchengeschehens
- + Anwendung der DNA-Chip-Technologie zur Analyse von Virulenzmarkern
- + parallele differenzialdiagnostische Abklärung von weiteren, veterinärmedizinisch bedeutsamen Pathogenen

Teilprojekt Ultraschnelle ad-hoc-Pathotypisierung und Charakterisierung von AIV-Gesamtgenomen

Projektleitung: Dr. Bernd Hoffmann, Dr. Axel Karger

AIV-Isolate werden nicht nur verschiedenen Subtypen, sondern auch zwei Pathotypen (niedrig pathogen = LPAI; hoch pathogen = HPAI) zugeordnet. Diese Unterscheidung ist für weitere Maßnahmen relevant, da nur HPAI-Viren Geflügelpest auslösen können und nur die HPAI H5N1-Viren humanpathogenes Potenzial aufweisen. Für AIV ist dabei insbesondere die Spaltstelle des Hämagglutinins entscheidend. Hierzu ist eine Sequenzanalyse des Spaltstellenbereiches notwendig. Für die Analyse anderer Genomabschnitte (z. B. einzelne Aminosäureaustausche, phylogenetische Untersuchungen im Rahmen einer molekularen Epidemiologie), aber auch interspezies-Transmission sind zudem schnelle Vergleiche von Gesamtgenomsequenzen unerlässlich. Derzeit sind jedoch sowohl die Spaltstellensequenzierung (1 bis 3 Tage) als auch die Gesamtgenomsequenzierung (7 bis 28 Tage)

sehr zeitaufwendig und arbeitsintensiv. Auf Basis der folgenden Techniken soll daher ein vollständiges neues System zur Feincharakterisierung aufgebaut werden, das zudem die DNA-Chip-Technologie sinnvoll ergänzt:

- + DNS-Sequenzierung mit ultrahohem Durchsatz (ultra-high-throughput DNA sequencing) mit Hilfe der neuen Technik des Genome Sequencer 20 (Roche). Pro Woche kann so ein Durchsatz von etwa 20 AIV-Genomen erreicht werden.
- + Für die ultraschnelle Bestimmung der Sequenz der HA-Spaltstelle sollen neue Analysetechniken für die Nukleinsäure- und Proteinbestimmung eingesetzt werden. Hierdurch können Spaltstellensequenzen innerhalb von Stunden exakt analysiert und AIV-Isolate pathotypisiert werden.

Optimierung der konventionellen AIV-Diagnostik

Teilprojekt AIV-Nachweise: Biochip-Detektion, HAH, Antigen-Schnelltest

Projektleitung: PD Dr. Timm Harder

Konventionelle Diagnostikmethoden sind als Referenzmethoden bei der Entwicklung neuer Diagnostikverfahren unerlässlich. Die Subtypisierung von Virusisolaten mittels Hämagglutinations- und Neuraminidase-Hemmungstest erfordert eine möglichst breite Palette monospezifischer Antiseren von jedem H- und N-Subtyp, die laufend aktualisiert werden muss. Das ist auch die Voraussetzung für gezielte Untersuchungen zur Antigenvariation, die in Zukunft beim Einsatz von Impfstoffen an Bedeutung gewinnen werden.

Für die serologische Untersuchung verschiedener Vogel- und Geflügelarten ist die Entwicklung bzw. Prüfung vorhandener ELISA-Tests (speziesunabhängige kompetitive ELISAs, H5- und H7-spezifische Tests) erforderlich. Daher sollen folgende Methoden entwickelt bzw. validiert werden:

- + Biochip mit monoklonalen Antikörpern als speziesunabhängiges Detektionssystem zum gleichzeitigen Nachweis von Antikörpern verschiedener Spezifität (HA, NA).
- + Validierung des Hämagglutinations-Hemmungstests (HAH) für zahlreiche wichtige Vogelarten („Gold-Standardtest“), z. B. auch für Wassergeflügel und Wildvögel.
- + Schnellmethoden zum einfachen Nachweis von Influenza-Antigen auf der Basis von Immunoassays werden von zahlreichen Herstellern angeboten. Da sie in der Praxis auf großes Interesse stoßen, sind eine eingehende Prüfung der Sensitivität und Spezifität sowie die Erarbeitung von Kriterien bzw. Empfehlungen für ihren Einsatz erforderlich.

Teilprojekt AIV-Nachweise: Sensitive rekombinante Zellkultursysteme

Projektleitung: PD Dr. Timm Harder

Die Arbeit mit Influenzaviren wird wesentlich durch den Umstand erschwert, dass niedrig pathogene Subtypen sich nicht kontinuierlich in Zellkulturen vermehren lassen. Virus-Isolierungen und Massenvermehrungen (Impfstoffproduktion) müssen weiterhin in embryonierten Hühnereiern durchgeführt werden, was teuer und zeitaufwendig ist. Um Zellkulturen auch für niedrig pathogene Influenzaviren permissiv zu machen, müssen zumindest drei Kriterien berücksichtigt werden:

- + die Produktion infektiöser Nachkommenvirionen erfordert die endoproteolytische Spaltung des Hämagglutinins
- + Expression von Sialinsäurerezeptoren verschiedener Typen (SIA alpha 2,3- oder SIA alpha 2,6 Galbeta1-3(4) GLCNAcbeta1- bzw. SIA alpha 2,3 Galbeta1-3(4)-Neu5Gc)
- + Typ-I Interferone hemmen die Replikation von Influenzaviren effektiv.

Basierend auf der Zellkultursammlung des FLI soll die prinzipielle Permissivität verschiedener Zellkulturen von Schwein, Ente und Schwan geprüft werden. Zellen mit einer Basispermissivität werden mittels Transfektion mit einer sezernierbaren trypsinergen Protease versehen (z. B. human airway-specific protease, enteropeptidase, mast cell tryptase). Nach einer Analyse der Sialorezeptoren der Zelllinie werden ggf. fehlende Sialotransferase ergänzt (etabliertes Verfahren der Fa. GlycoTope, Berlin). Verfahren zur endogenen Blockade der Interferonexpression werden zusätzlich geprüft (z. B. RNAi-Technologie, Co-Expression von pestiviralem Npro).

Die resultierenden Zelllinien sollen in der Diagnostik (Virusanzucht, Neutralisationstests) den Einsatz embryonierter Hühnereier erübrigen.

Teilprojekt Referenzmaterialien für die Validierung und Qualitätssicherung der Diagnostik der AIV

Projektleitung: Dr. C. Grund

Sowohl für die aktuelle Diagnostik als auch für die Entwicklung und Validierung neuer diagnostischer Methoden wird Referenzmaterial (Virusstämme, Virus-RNA, Antiseren) benötigt. Ebenso erfordern die unter epidemiologischen Gesichtspunkten durchzuführenden Untersuchungen über die Herkunft, Veränderung und Verwandtschaftsbeziehungen von Erregern definiertes Referenzmaterial.

Anzustreben ist eine analog der in der TSE-Forschungsplattform eingerichtete nationale Probenbank. Diese Probenbank für Aviäre Influenza (AI) muss folgende Materialien umfassen:

- + Virusstämme
 - alle H5N1-Virusisolate von verschiedenen Vogel- und anderen Spezies aus Deutschland und möglichst viele Isolate aus anderen Ländern,
 - AIV-Referenzstämme und Isolate aller H- und N-Subtypen, insbesondere der Subtypen H5 und H7 aus Hausgeflügel und Wildvögeln,
- + Seren
 - Hyperimmunseren und Infektionsseren von verschiedenen Tierarten gegen AIV H5N1 sowie gegen AIV aller H- und N-Subtypen,
 - positive und negative Feldseren von möglichst vielen verschiedenen Vogel- und Geflügelarten
- + monoklonale Antikörper, möglichst gegen alle H- und N-Subtypen
- + Genomproben und umfangreiche Genomsequenzen
- + Organ- und Abstrichmaterial von infizierten Tieren

Das Referenzmaterial wird im Rahmen der diagnostischen Tätigkeit des Nationalen Referenzlabors beim Wildvogelmonitoring, durch gezielte Tierexperimente und durch Austausch mit anderen Arbeitsgruppen gewonnen. Voraussetzung für eine breite erfolgreiche Nutzung ist die exakte Charakterisierung, Lagerung und Archivierung des Referenzmaterials mithilfe eines Labor-Informations-Management-Systems (LIMS).

Bei Bedarf kann Material in Form von RNA-Genom, inaktivierten Antigenen, replikationsfähigen Virusstämmen und spezifischen Seren an andere Arbeitsgruppen oder Einrichtungen abgegeben werden (Lagerhaltung, LIMS, Plattform zur Probenverteilung).

Sind in anderen Einrichtungen die veterinärhygienischen und sicherheitstechnischen Voraussetzungen für die Arbeit mit vermehrungsfähigen HP AIV nicht gegeben, können auch bestimmte Fragestellungen in Kooperation im FLI bearbeitet werden, z. B. die Prüfung und Validierung von Nachweismethoden für HPAIV.

Spezifische und sensitive Markerdiagnostik

Teilprojekt Entwicklung einer DIVA-Diagnostik

Projektleitung: PD Dr. Martin Beer

Zur Umsetzung eines DIVA (differentiating infected from vaccinated animals)-Impfkonzepts bedarf es neben dem markierten Impfstoff auch der Möglichkeiten, serologische Reaktionen der Impflinge unter Ausnutzung des Markerprinzips detektieren zu können. Bezüglich einer Impfung gegen die Geflügelpest sind drei Strategien denkbar:

- + Detektion Neuraminidase (NA)-spezifischer Antikörper beim Einsatz von NA-disparaten, inaktivierten Vollvirusimpfstoffen (z. B. Feldvirus H5N1, Impfstoff N5N9)

- + Detektion von NP- oder M2-spezifischen Antikörpern beim Einsatz von Subunit-Vakzinen, die keine NP-Proteine besitzen (z. B. rekombinante HA/NA-Proteine, Vektorvakzine [NDV, FPV], DNA/RNA-Vakzinen)
- + Detektion von NS-1-spezifischen Antikörpern beim Einsatz von gereinigten Vollvirus- oder Subunit-Vakzinen.

Beim Aufbau einer Markerdiagnostik beim Geflügel wirkt sich das große Artenspektrum problematisch aus. Dies wird noch verschärft, wenn auch Impfungen bei Zoovögeln berücksichtigt werden. Daher ist geplant, bevorzugt Testformate zu entwickeln, die auf dem Prinzip des kompetitiven ELISAs beruhen und damit eine artunabhängige Antikörperdetektion möglich machen.

Voraussetzungen zur Etablierung solcher Tests sind die Produktion immunogener rekombinanter Proteine sowie die Herstellung kompetitiver monoklonaler Antikörper gegen diese Zielantigene. In der aufwendigen Validierungsphase sind hoch spezifische und gut dokumentierte Referenzseren sowie eine adäquate statistische Unterstützung ebenso wie die Erprobung unter Feldbedingungen erforderlich.

Teilprojekt Herstellung monoklonaler Antikörper zur serologischen Diagnostik

Projektleitung: Dr. Malte Dauber

Die Influenzaviren werden serologisch in 16 antigene Subtypen des Oberflächenproteins Hämagglutinin (HA 1-16) und 9 antigene Neuraminidase-Subtypen (N1-N9) unterschieden. Diese können neben den anderen sechs Segmenten des Influenzavirus frei reasortieren und damit neue Viren generieren. Beim Geflügel sind es bisher die Subtypen H5 und H7, die zu hoch pathogenen Varianten mutieren können. Eine Unterscheidung der einzelnen HA-spezifischen Antikörper voneinander ist derzeit nur durch den Hämagglutinations-Hemmungstest (HAH) möglich. Der Test erfordert die ständige Bereitstellung von Geflügelythrozyten und entsprechenden spezifischen Antigenen (H1-16) und Antisera (anti-H1-16). Ziel des Projekts ist die Generierung von monoklonalen Antikörpern, die eine serologische Zuordnung zum jeweiligen Subtyp mittels eines speziesunabhängigen ELISA-Verfahrens ermöglicht. Darüber hinaus können Subtypisierungen automatisiert werden und so bei großen Probenzahlen (z. B. Wildtiermonitoring) angewendet werden. Ein weiterer wichtiger Aspekt ist auch die Bestimmung des Neuraminidase-Subtyps. Bisher erfolgt das Prüfen auf Neuraminidase-spezifische Antikörper mit sehr aufwendigen Tests.

Es sollen zusätzlich monoklonale Antikörper etabliert werden, die den jeweiligen Subtyp (N1-N9) spezifisch erkennen. Diese Antikörper sollen dann ebenfalls auf ihre Eignung in speziesunabhängigen Tests untersucht werden. Diese NA-Antikörper sollen auch auf ihre Eignung für den Einsatz in einer Markervakzine unter Nutzung der DIVA-Strategie untersucht werden. Die generierten Antikörper sind ebenfalls Voraussetzung für die Entwicklung eines Biochips.

Teilprojekt Entwicklung viraler Vektorvakzine/ Markervakzine

Projektleitung: Dr. Angela Römer-Oberdörfer/Dr. Jutta Veits

Verfügbare inaktivierte Impfstoffe gegen Geflügelpest beim Nutzgeflügel haben zahlreiche Nachteile, u. a. die Notwendigkeit zur individuellen Applikation und das Fehlen eines praktikablen Systems zur Differenzierung von infizierten und geimpften Tieren. Zur Bekämpfung der Infektiösen Laryngotracheitis (ILT) und der „Newcastle Disease“ (ND) des Geflügels werden seit Langem abgeschwächte ILT- bzw. ND-Lebendvirusimpfstoffe eingesetzt, die für eine Massenapplikation über Aerosol oder Trinkwasser geeignet sind. Zur Nutzung als Geflügelpestimpfstoffe werden die Hämagglutinin- (und Neuraminidase-)Gene verschiedener hoch pathogener aviärer Influenzaviren (HPAIV) an verschiedenen Stellen in die Genome von ILTV und NDV inseriert und Hühner mit den erhaltenen H5- bzw. H7-exprimierenden Virusmutanten immunisiert und belastungsinfiziert. Darüber hinaus erlauben die Vektorvakzine eine serologische Unterscheidung geimpfter und Influenzavirus-infizierter Tiere (DIVA-Prinzip). Im Rahmen des Projekts werden auch in Zusammenarbeit mit anderen wissenschaftlichen Einrichtungen (u. a. PEI) und Industrieunternehmen (u. a. CREATOGEN) neu entwickelte bzw. in der Entwicklung befindliche Markerimpfstoffe gegen HPAIV vergleichend mit den Eigenentwicklungen getestet. Das FLI ist derzeit die einzige Stelle in Deutschland, an der entsprechende Belastungsinfektionen mit HPAIV H5N1 Asia in relevanten Zielspezies (Huhn, Ente, Gans, Pute) durchgeführt werden können.

Teilprojekt Pilotstudie zum Einsatz kommerziell erhältlicher AIV H5-Impfstoffe

Projektleitung: PD Dr. Timm Harder

Laufzeit: 2 Jahre

Derzeit sind inaktivierte H5-Vollvirusvakzine die einzige kurzfristig zur Verfügung stehende Möglichkeit zur Prophylaxe gegen H5N1-Infektionen beim Hausgeflügel. Diese Vakzine zeigen im Experiment mit geringen Tierzahlen und bei Verwendung von SPF-Tieren eine akzeptable Wirksamkeit gegen Belastungsinfektionen. Erfahrungen aus dem Feld (z. B. Italien, Mexiko) lassen jedoch erhebliche Probleme beim Einsatz in großen Tierbeständen vermuten. Hierzu fehlen allerdings wissenschaftlich belegte Daten.

Für eine umfassende Einschätzung der Wirksamkeit der vorhandenen inaktivierten Vollvirusvakzine soll daher eine Pilotstudie in ausgewählten Betrieben mit Enten, Gänsen und Hühnern durchgeführt werden. Hierzu werden die Tiere unter Feldbedingungen immunisiert und danach serologisch untersucht. Die

Schutzwirkung wird anhand einer am FLI durchgeführten Belastungsinfektion zufällig ausgewählter Tiere überprüft.

Die Pilotstudie stellt die Basis für eine weitere Bewertung der Impfung mit konventionellen inaktivierten AIV H5- und H7-Vakzinen dar. Diese Ergebnisse werden durch Untersuchungen (Serologie und Virologie) an geimpften Zootieren (verschiedene Spezies, unterschiedliche Zeitpunkte nach der Impfung) ergänzt.

Teilprojekt Entwicklung einer Subunit- und inaktivierten Vollvirus-Vakzine zur Immunisierung von Katzen gegen eine Influenza H5N1-Infektion

Projektleitung: PD Dr. Dr. Thomas W. Vahlenkamp

Laufzeit: 1 Jahr

Katzen lassen sich mit HPAI H5N1 Asia infizieren. Ein Impfstoff soll hier insbesondere der Minimierung des potenziellen Übertragungsrisikos des Virus von Katzen auf den Menschen dienen. In einem Pilotversuch soll die grundsätzliche Möglichkeit einer Immunisierung von Katzen gegen eine H5N1-Infektion geprüft werden. Hierfür werden zwei inaktivierte Impfstoffe auf der Basis des aus einer Rügauer Katze isolierten H5N1-Virus hergestellt und auf ihre Wirksamkeit getestet. Drei Gruppen von je fünf Katzen (zwei Impfstoffpräparationen [Subunit, Vollvirus] plus negative Kontrollgruppe) werden in die Wirksamkeitsprüfung einbezogen. Eine weitere Gruppe nicht immunisierter Katzen wird für die Übertragungsexperimente benötigt. Nach zweimaliger Immunisierung im Abstand von je drei Wochen wird die Wirksamkeit der Impfung durch Belastungsinfektion der Tiere mit dem hoch pathogenen aviären H5N1-Virus getestet. Hierbei wird neben der Immunantwort und klinischen Symptomen insbesondere die Virusausscheidung quantitativ ermittelt. Darüber hinaus wird ebenfalls die Übertragung der Infektion von immunisierten Katzen nach Belastungsinfektion auf nicht infizierte Tiere untersucht.

Teilprojekt Serologische Untersuchungen zur Empfänglichkeit von ausgewählten Vogelspezies und Säugetieren in natürlichen Ausbruchsgeländen der aviären Influenza H5N1-Infektion

Projektleitung: Anja Globig

Laufzeit: 1 Jahr, je nach epidemiologischer Situation fortlaufend

Die Infektion von Wildvögeln mit dem HPAIV H5N1 in Europa bietet momentan eine besondere Möglichkeit, die Empfänglichkeit und Verbreitung des Erregers unter den verschiedenen Vogel- und Säugetierspezies in den natürlichen Ausbruchsgeländen durch gezielte serologische Felduntersuchungen zu analysieren. Neben Untersuchungen verschiedener Wild- und Wasservogelarten auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen das HPAIV

H5N1 werden auch Säugetiere untersucht. Dies soll somit auch Aufschluss über mögliche Übertragungswege geben sowie eine Expositionsabschätzung erlauben. Bei den Säugetieren werden insbesondere Blutproben von Tierarten innerhalb der Felidae und Mustelidae (Katzen- und Marderartige) sowie ausgewählte Spezies (Fuchs, Wildschwein, Maus, Ratte) untersucht. Neben verschiedenen Wasservögeln sollen in den Ausbruchsgeländen in Deutschland insbesondere Proben von Aasfressern (Greif- und Rabenvögel) analysiert werden. Der Nachweis H5N1-spezifischer Antikörper erfolgt durch ein kompetitives ELISA-System, welches die speziesunabhängige Detektion ermöglicht. Die Seren sollen Eingang in eine zu errichtende Datenbank finden.

Teilprojekt Erstellung einer Datenbank zur epidemiologischen Analyse des AIV-Geschehens in Wildvögeln in Deutschland

Projektleitung: PD Dr. Franz J. Conraths

Laufzeit: Aufbau 3 Jahre, danach fortlaufend

Da sich die H5N1-Infektion bei Wildvögeln einer Beeinflussung durch den Menschen weitgehend entzieht, kommt einem Monitoring in den Wildvogelpopulationen eine besondere Bedeutung zu. Die dabei erhaltenen Daten müssen bundesweit gesammelt und epidemiologisch analysiert werden. Zu diesem Zweck ist eine Datenbank zu erstellen, in welche für jedes einzelne beprobte Tier die Tierart, Datum, Ort der Probenahme, Befunde (positive und negative Testergebnisse) und Diagnosemethode eingehen. In die Beprobung sind auch Tierarten einzubeziehen, die im Rahmen des regulären Monitoring nicht erfasst werden (seltene Entenarten; Nutzung des sogenannten „Beifangs“ von Wildvögeln in der Küstenfischerei).

Der Verlauf der Ausbreitung und das betroffene Artenspektrum unter den Wildvögeln und anderen betroffenen Tieren ist epidemiologisch zu untersuchen. Um zuverlässige epidemiologische Kenngrößen (z. B. Schätzung von Prävalenz und Inzidenz) und potenzielle Risikofaktoren analysieren zu können, müssen die Ergebnisse aller beprobten Tiere in einem standardisierten Format in einer Datenbank dokumentiert werden. Die Daten werden dann mathematisch-statistisch untersucht, das Verhalten der Infektion in Raum und Zeit ermittelt und visualisiert (z. B. durch Kartographie). Anhand der jeweiligen Stichprobenumfänge (Anzahl der beprobten Tiere pro Tierart) ist die Genauigkeit der Schätzungen zu bestimmen. Mathematische Modelle, die helfen können, den weiteren Verlauf der Infektion bei Wildtieren zu prognostizieren, werden mit den Daten aus dem Wildvogelmonitoring erstellt.

Teilprojekt Beteiligung an internationalen Vorhaben zur Tierseuchenbekämpfung (darunter Wildtiermonitoring)

Projektleitung: Prof. Dr. Thomas C. Mettenleiter

Laufzeit: Aufbau 3 Jahre, danach fortlaufend

Innerhalb weniger Monate hat sich HPAI H5N1 über Eurasien und bis nach Nord- und Westafrika ausgebreitet. Es sind auch Länder betroffen, in denen Zugvögel, die in Deutschland ihre Brutgebiete haben oder überwintern. Darüber hinaus wurden Infektionen in Ländern nachgewiesen (v. a. auf dem afrikanischen Kontinent), in denen Zugvögel überwintern, deren Brutgebiete in Deutschland liegen. Viele dieser Länder können aus eigener Kraft kein adäquates Wildvogelmonitoring unterhalten. Um hier Abhilfe zu schaffen, soll in enger Kooperation mit internationalen Organisationen (FAO, OIE) eine epidemiologische Task Force etabliert werden, die speziell für Einsätze im internationalen Rahmen geschult und ausgerüstet wird.

Teilprojekt Erstellung von Datenbanken zum serologischen Monitoring bei Wildvögeln

Projektleitung: PD Dr. Franz J. Conraths

Laufzeit: 2 Jahre

Bisher wurde HPAI H5N1 nur bei toten Tieren in Deutschland gefunden. Befunde aus Asien zeigen jedoch, dass lebende Tiere (z. B. bestimmte Entenarten, Feldsperlinge) das Virus beherbergen können. Bei lebenden Schwänen, die in Kroatien untersucht wurden, ergaben sich Hinweise auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen H5N1-Virus. Das Vorkommen von lebenden seropositiven Tieren muss als Hinweis darauf gewertet werden, dass sich das Virus in der Wildvogelpopulation etabliert und die Infektion nicht bei allen betroffenen Tieren letal verläuft.

Es ist daher erforderlich, das Wildvogelmonitoring auf serologische Untersuchungen von toten, kranken und dem Anschein nach gesunden Vögeln auszudehnen, um eine Etablierung der Infektion in Teilen der Wildvogelpopulation (ggf. in bestimmten Arten, z. B. Entenvögeln) frühzeitig erkennen zu können. Voraussetzung für die Durchführung des serologischen Monitorings ist das Vorhandensein validierter serologischer Tests. Die Validierung muss mithilfe von geeignetem Referenzmaterial erfolgen, das durch experimentelle Infektionen hergestellt wird oder im Rahmen des Wildvogelmonitorings gesammelt wird. Geeignete Probenbanken (inklusive einer Datenbank mit exakter Dokumentation) sind zu erstellen.

Teilprojekt Monitoring mit Indikatortieren in Gebieten mit hoher Wasservogeldichte

Projektleitung: Anja Globig

In Gebieten, in denen sich während des Frühjahrs-, aber vor allem während des Herbstzuges, viele wilde Wasservögel sammeln, werden Indikatoranlagen eingerichtet. Diese werden in der West-Rügenschens Boddenlandschaft (Naturschutzgebiet Beuchel bzw. Heuwiese (Kubitzer Bodden), am Bodensee („Drehscheibe“ des Vogelzuges) und am Gülper See (Landkreis Havelland) bzw. Wulkau (Landkreis Stendal) errichtet.

Die Anlagen sind so zu gestalten, dass die Indikatortiere in Kontakt mit Wildvögeln kommen. Als Indikatortiere fungieren handzahme Stockenten oder Höckerschwäne (gestutzte Flügel) aus Aufzuchtstationen, die in regelmäßigen Abständen beprobt werden (Tupfer und Blutentnahme). Die Tiere werden im Freiland unter kontrollierten Bedingungen (großes Gehege mit Einflugsmöglichkeit für Wildvögel) gefüttert und beobachtet. Das Vorkommen von wilden Wasservögeln in ihrer Nähe wird zahlenmäßig und unter exakter Artbestimmung regelmäßig protokolliert. Nach Möglichkeit werden wilde Wasservögel in der Nähe der Anlage eingefangen und beringt bzw. nach Ringen kontrolliert, um eine Aussage über ihre Herkunft zu treffen.

Teilprojekt Untersuchungen zur molekularen Epidemiologie in der Wildvogelpopulation

Projektleitung: Elke Starick

Inflenzaviren sind genetisch nicht stabil. Unter dem Selektionsdruck, der sich in einer Wirtspopulation unter anderem durch deren Zusammensetzung (Spektrum der betroffenen Wirtsarten) und durch Umweltfaktoren (z. B. Klima, Temperatur) ergibt, muss mit einer raschen genetischen Anpassung des Virus gerechnet werden. Daten aus Asien zeigen, dass sich in H5N1-infizierten Wildvogelpopulationen genetische Veränderungen vollziehen. Derartige Vorgänge sind auch in Deutschland zu erwarten. Molekularbiologische Untersuchungen, die Veränderungen des Virus aufdecken, sind dringend erforderlich, um Anpassungsvorgänge des Virus an die spezifischen Verhältnisse in Mitteleuropa zu erkennen und um Hinweise auf den Ablauf von Infektketten in den Wildvogel- und Wildtierpopulationen zu erhalten.

Teilprojekt Untersuchungen zur Empfänglichkeit von ausgewählten Vogelspezies und Säugetieren für das in Deutschland isolierte HPAIV H5N1

Projektleitung: Prof. Dr. Th. C. Mettenleiter, PD Dr. Martin Beer

Das in Deutschland bei Wildvögeln aufgetretene HPAIV H5N1 zeichnet sich durch einen breiten Spezies-Tropismus aus. Sowohl unter experimentellen als auch unter natürlichen Bedingungen werden beispielsweise von infizierten Katzen Virusmengen ausgeschieden, die für die Übertragung der Infektion auf nicht infizierte Kontakttiere ausreichen. Dies wurde bisher bei anderen Influenzaviren nicht beobachtet.

Um mehr Einsicht in die Mechanismen der Virusvermehrung, Zelltropismus, Virusausscheidung, Inkubationsperiode etc. zu gewinnen, sind experimentelle Infektionen notwendig. Da der klinische Verlauf der H5N1-Infektion bei den unterschiedlichen Spezies zwischen asymptomatischer Infektion, milden respiratorischen Erscheinungen und schwerer systemischer Krankheit mit 100 Prozent Mortalität variiert, sind detaillierte Untersuchungen für die einzelnen ausgewählten Spezies notwendig. Innerhalb des Wirtschaftsgeflügels werden Untersuchungen insbesondere bei Huhn, Hausente, Hausgans und Pute durchgeführt. Entsprechend ihrer Verfügbarkeit werden ebenfalls Infektionen bei ausgewählten Singvögeln durchgeführt. Innerhalb der Säugetiere werden experimentelle Infektionen bei ausgewählten, für die Virusverbreitung bzw. Übertragung auf den Menschen möglicherweise besonders relevanten Tierspezies durchgeführt, darunter Katzen und Hunde.

Teilprojekt Untersuchungen zur Pathogenese des hämorrhagischen Syndroms und zum Organ- tropismus von hoch virulenten H5N1-Isolaten in unterschiedlichen Spezies

Projektleitung: Prof. Dr. Jens P. Teifke

Der klinische Verlauf aviärer Influenzavirusinfektionen im Hausgeflügel variiert zwischen asymptomatischer Infektion, milden respiratorischen Erscheinungen und schwerer systemischer Krankheit mit 100 Prozent Mortalität, die sich als hämorrhagische Diathese mit Schock äußert. HPAIV besitzen auch einen ausgeprägten Endotheliotropismus, wobei auch die betroffene Tierart berücksichtigt werden muss.

H5N1 stimuliert die Produktion von TNF-alpha und anderer proinflammatorischer Zytokine und Chemokine in humanen Monozyten und Makrophagen. Untersuchungen dieser Art sind bislang beim Geflügel nicht durchgeführt worden. Bisherige Studien ergaben, dass H7N7 oder H5N1 im Huhn auch zu einer ausgeprägten Infektion von Endothelzellen in allen Organen führten,

die schwerwiegende Krankheitsverläufe zur Folge hatte. Im Unterschied dazu war nach Infektion von Tauben mit H5N1 lediglich ein prominenter Neurotropismus des Virus nachzuweisen. Die Gründe hierfür sind bislang völlig unbekannt.

Ausgehend von den Beobachtungen beim aktuellen Seuchengeschehen kann der fulminante Krankheitsverlauf bei Schwänen sowohl durch den Neuro- als auch Endotheliotropismus erklärt werden, während beim infizierten Säuger (Katze) offenbar der Pneumotropismus im Vordergrund steht. Diese Einzelbeobachtungen müssen in unterschiedlichen Vogelspezies (Huhn, Ente, Gans, Schwan) und Säugetierarten (Hausschwein, Wildschwein, Fuchs, Ratte, Maus, Frettchen) überprüft werden, wobei auch Nichtvertebraten wie Anneliden oder Arthropoden als Vektoren berücksichtigt werden sollen.

Teilprojekt Untersuchungen zur Induktion der unspezifischen und spezifischen Immun- antwort nach H5N1-Influenzavirusinfektion

Projektleitung: Prof. Dr. Lothar Stitz

Virusinfektionen führen zur Induktion einer frühzeitigen unspezifischen zellulären Abwehrreaktion durch NK-Zellen und einer darauf folgenden spezifischen Immunantwort durch T-Zellen. Ziel dieses Projekts ist die Charakterisierung der Immunantwort nach Infektion mit H5N1-Influenzaviren, um durch eine spezifische Stimulation des Immunsystems eine Beschleunigung der antiviralen Immunantwort und damit eine Reduktion des Virus-titers in der Lunge oder gar eine Elimination des Virus erreichen zu können.

Hierzu soll in ausgewählten Tiermodellen die Kinetik und Spezifität der antiviralen zellulären Immunreaktion nach Isolierung der entsprechenden Effektorzellen aus der Lunge oder aus dem Blut untersucht werden. Dabei werden virale Peptide identifiziert, gegen die eine solche Abwehrreaktion induziert wird, sowie das Spektrum der lokal synthetisierten Zytokine und Antikörper analysiert. Durch Einsatz verschiedener Stimulanzien des Immunsystems, wie etwa Interferon, wird untersucht, ob nach einer H5N1-Infektion durch frühzeitige Induktion der Immunantwort die Infektion beeinflusst werden kann.

Teilprojekt Untersuchungen zum Virulenzpotenzial von Influenzaviren

Projektleitung: Dr. Jürgen Stech

Die Virulenz von Influenzaviren wird nicht allein von einem viralen Protein oder einem Genomsegment bestimmt. In Vögeln (hier hauptsächlich Wassergeflügel) vermehren sich Influenzaviren aller Subtypen (HA1-HA16). Die meisten dieser Influenzaviren sind für das Hühnergeflügel niedrig pathogen (IpAIV) und verursachen lediglich leichte Organveränderungen. Ausschließlich Viren der Subtypen H5 und H7 können hoch pathogene Varianten (HPAIV) ausbilden, die die klassische Geflügelpest mit schweren klinischen Symptomen verursachen. Warum ausschließlich Vertreter dieser Subtypen dazu in der Lage sind, ist unbekannt. Durch Serienpassagen kann eine Virulenzsteigerung durch Mutation an der Spaltstelle des Hämagglutinins erfolgen. Diese ermöglicht es dann, dass das Virus sich im gesamten Tierkörper vermehren kann und damit die schweren klinischen Symptome hervorruft.

Ziel der Untersuchungen ist es zu klären, ob auch HA anderer Subtypen in der Lage sind, diese Eigenschaft zu erwerben. Dazu soll das von uns etablierte reverse genetische System für Influenzaviren genutzt werden. Dazu sollen HA anderer Subtypen (HA3, HA4, HA6, HA9) mittels gerichteter Veränderung der Spaltstelle modifiziert werden. Die so gentechnisch mutierten Gene sollen dann zur Generierung von rekombinanten Influenzaviren (auch mit Neuraminidasen unterschiedlich virulenter Influenzaviren) genutzt werden, die ausschließlich im Tierversuch auf ihre Virulenz hin untersucht werden.

Kontaktadressen – Teilnehmer des Workshops

(Stand: 7.9.2007)

A

Dr. Amir Abdulmawjood

Institut für Tierärztliche Nahrungsmittelkunde (IFTN)
Justus-Liebig-Universität Gießen
Frankfurter Straße 92, 35392 Gießen
Tel.: 0641 99-38256, Fax: 0641 99-38259
E-Mail: amir.abdulmawjood@vetmed.uni-giessen.de

Katharina Achatzi

Robert Koch-Institut
Nordufer 20, 13353 Berlin
Tel.: 01888 754-2317, -2321, Fax: 01888 754-2390
E-Mail: achatzi@rki.de

Prof. Dr. Mathias Ackermann

Virologisches Institut, Universität Zürich
Winterthurerstraße 266a, 8057 Zürich, Schweiz
Tel.: +41 44 635-8701, Fax: +41 44 635-8911
E-Mail: email@vetvir.unizh.ch

Prof. Dr. Dr. Klaus Aktories

Institut für Experimentelle und Klinische Pharmakologie
und Toxikologie, Albert-Ludwigs-Universität Freiburg
Albertstraße 25, 79104 Freiburg
Tel.: 0761 203-5301, Fax: 0761 203-5311
E-Mail: klaus.aktories@pharmakol.uni-freiburg.de

Dr. Andrea Ammon

Head of Unit for Surveillance and Communication
European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC)
17183 Stockholm, Schweden
Visiting address: Tomtebodavägen 11a
Tel.: +46 8 586-01410, Mobile: +46 708 597806, Fax: +46 8 3000
E-Mail: andrea.ammon@ecdc.eu.int

Dr. Heiko Apfel

CREATOGEN Laboratories GmbH
Hermannswerder 16, 14473 Potsdam
Tel.: 0331 2300700, Fax: 0331 2300701
E-Mail: h.apfel@creatogen.de

Prof. Dr. Bernd Appel

Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR)
Leiter Abteilung Biologische Sicherheit
Diedersdorfer Weg 1, 12277 Berlin
Tel.: 030 8412-2153, Fax: 030 8412-2951
E-Mail: bernd.appel@bfr.bund.de

Prof. Dr. Herbert Auer

Klinisches Institut für Hygiene und Medizinische Mikrobiologie
Abteilung für Medizinische Parasitologie, Universität Wien
Kindesptalngasse 15, 1095 Wien, Österreich
Tel.: +43 1 40490-79443, Fax: +43 1 40490-79435
E-Mail: herbert.auer@meduniwien.ac.at

B

Prof. Dr. Rolf Bauerfeind

Institut für Hygiene und Infektionskrankheiten der Tiere
Justus-Liebig-Universität Gießen
Frankfurter Straße 58–91, 35392 Gießen
Tel.: 0641 99-38303, Fax: 0641 99-38309
E-Mail: ralf.bauerfeind@vetmed.uni-giessen.de

Dr. Helmut Bloecker

Abteilungsleiter Genomanalyse
HZI – Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung
Inhoffenstraße 7, 38124 Braunschweig
Tel.: 0531 6181-5300, Fax: 0531 6181-5399
E-Mail: bloecker@helmholtz-hzi.de

Dr. Katharina Boden

Institut für Medizinische Mikrobiologie
Friedrich-Schiller-Universität Jena
Sammelweisstraße 4, 07743 Jena
Tel.: 03641 9-33106, Fax: 03641 9-33474
E-Mail: katharina.boden@med.uni-jena.de

Prof. Dr. Dr. Helge Böhnelt

Institut für Pflanzenbau und Tierproduktion in den Tropen und
Subtropen, Abteilung Tropentierhaltung und -zucht
Fakultät für Agrarwissenschaften
Georg-August-Universität Göttingen
Kellnerweg 6, 37077 Göttingen
Tel.: 0551 39-3396, Fax: 0551 39-3408
E-Mail: hboehne@gwdg.de

Dr. Albrecht von Brunn

Max-von-Pettenkofer Institut
Ludwig-Maximilians-Universität München
Pettenkoferstraße 9a, 80336 München
Tel.: 089 5160-5220, Fax: 089 5160-5292
E-Mail: vonbrunn@lmb.uni-muenchen.de

Prof. Dr. Michael Bülte

Institut für Tierärztliche Nahrungsmittelkunde (IFTN)
Justus-Liebig-Universität Gießen
Frankfurter Straße 92, 35392 Gießen
Tel.: 0641 99-38251, Fax: 0641 99-38259
E-Mail: buelte@vetmed.uni-giessen.de

D

Prof. Dr. Walter Däubener

Institut für Medizinische Mikrobiologie und Krankenhaushygiene
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Universitätsstraße 1, Geb. 22.21, 40225 Düsseldorf
Tel.: 0211 81-12464, Fax: 0211 81-15906
E-Mail: daeubene@uni-duesseldorf.de

Prof. Dr. Arwid Dauschies

Institut für Parasitologie, Veterinärmedizinische Fakultät
Universität Leipzig
An den Tierkliniken 33, 04103 Leipzig
Tel.: 0431 97-38080, Fax: 0431 97-38095
E-Mail: parapm@vmf.uni-leipzig.de

Dr. Gerhard Dobler

Institut für Mikrobiologie der Bundeswehr
Neuherbergstraße 11, 80937 München
Tel.: 089 3168-3174, Fax: 089 3168-3292
E-Mail: gerharddobler@bundeswehr.org

Dr. Oliver Donoso-Mantke

Robert Koch-Institut
Nordufer 20, 13353 Berlin
Tel.: 01888 754-2321, -2387, Fax: 01888 754-2390, -2625
E-Mail: donoso-mantkeo@rki.de

PD Dr. Dirk Dressler

Klinik für Neurologie und Poliklinik, Universität Rostock
Gelsheimer Straße 20, 18147 Rostock
Tel.: 0381 494-9554, Fax: 0381 494-9632
E-Mail: dirk.dressler@med.uni-rostock.de

Prof. Dr. Christian Drosten

Institut für Virologie
Rheinische Friedrich Wilhelms-Universität Bonn
Sigmund Freud Straße 25, 53105 Bonn
Tel.: 0228 287-11055, Fax: 0228 287-14433
E-Mail: drosten@virology-bonn.de

E**Prof. Dr. V. Erfle**

Institut für Virologie, Gebäude 548, GSF
Trogerstraße 4b, 81675 München
Tel.: 089 3187-3004, Fax: 089 3178-3329
E-Mail: erfle@gsf.de

Prof. Dr. Andreas Essig

Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene
Universitätsklinik Ulm
Robert-Koch-Straße 8, 89081 Ulm
Tel.: 0731 500-65331, Fax: 0731 500-65302
E-Mail: andreas.essig@uniklinik-ulm.de

F**Dr. Dimitrios Frangoulidis**

Institut für Mikrobiologie der Bundeswehr
Neuherbergstraße 11, 80937 München
Tel.: 089 3168-3869, Fax: 089 3168-3292
E-Mail: dimitriosfrangoulidis@bundeswehr.org

Prof. Dr. Joachim Frey

Institut für Veterinär bakteriologie
Vetsuisse Fakultät, Universität Bern
Länggassstraße 122, 3012 Bern, Schweiz
Tel.: +41 31 631-2430, Fax: +41 31 631-2634
E-Mail: joachim.frey@vbi.unibe.ch

G**Prof. Dr. Martin Ganter**

Klinik für kleine Klautiere
Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
Bischofsholer Damm 15, 30173 Hannover
Tel.: 0511 856-7260, Fax: 0511 856-7684
E-Mail: martin.ganter@tiho-hannover.de

Prof. Dr. Manfred Gareis

Institut für Mikrobiologie und Toxikologie
Bundesanstalt für Ernährung und Lebensmittel (BFEL)
E.-C.-Baumann-Straße 20, 95326 Kulmbach
Tel.: 09221 803-220, Fax: 09221 803-331
E-Mail: manfred.gareis@bfel.de

Prof. Dr. Gerald-F. Gerlach

Institut für Mikrobiologie und Tierseuchen
Zentrum für Infektionsbiologie
Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
Bischofsholer Damm 15, 30173 Hannover
Tel.: 0511 856-7598, Fax: 0511 856-7697
E-Mail: gfgerlach@gmx.de

Dr. Frank Gessler

Institut für angewandte Biotechnologie der Tropen
Georg-August-Universität Göttingen
Kellnerweg 6, 37077 Göttingen
Tel.: 0551 39-3393, Fax: 0511 39-3408
E-Mail: fgessle@gwdg.de

Dr. Mathias Giese

Fraunhofer-Institut für Zelltherapie und Immunologie IZI
Deutscher Platz 5e, 04103 Leipzig
Tel.: 0341 35536-240, Fax: 0341 35536-77240
E-Mail: matthias.giese@izi.fraunhofer.de

PD Dr. Ralph Goethe

Institut für Mikrobiologie und Tierseuchen
Zentrum für Infektionsbiologie
Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
Bischofsholer Damm 15, 30173 Hannover
Tel.: 0511 856-7625, Fax: 0511 856-7697
E-Mail: ralph.goethe@tiho-hannover.de

Prof. Dr. Martin H. Groschup

Institut für neue und neuartige Tierseuchenerreger
Friedrich-Loeffler-Institut
Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit
Boddenblick 5a, 17493 Greifswald
Tel.: 038351 7-163, -162, Fax: 038351 7-191
E-Mail: martin.groschup@fli.bund.de

Prof. Dr. Uwe Groß

Institut für Medizinische Mikrobiologie
 Universitätskliniken Göttingen
 Kreuzberggring 57, 37075 Göttingen
 Tel.: 0551 39-5801, -5806, Fax: 0551 39-5861
 E-Mail: ugross@gwdg.de

Dr. Michael Grün

Interfakultäres Zentrum für Molekulare Biomedizin
 Friedrich-Schiller-Universität Jena
 Semmelweisstraße 4, 07740 Jena
 Tel.: 03641 932-5674, Fax: 03641 932-552
 E-Mail: michael.gruen@uni-jena.de

H**Dr. Frank Hänel**

Hans-Knöll-Institut, Abteilung Zell- und Molekularbiologie
 Leibniz-Institut für Naturstoff-Forschung und
 Infektionsbiologie e. V.
 Beutenbergstraße 11a, 07745 Jena
 Tel.: 03641 6566-92, Fax: 03641 6566-94
 E-Mail: frank.haenel@hki-jena.de

Prof. Dr. Otto Haller

Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene
 Hermann-Herder-Straße 11, 79008 Freiburg
 Tel.: 0761 203-6533, Fax: 0761 203-6562
 E-Mail: otto.haller@uniklinik-freiburg.de

Prof. Dr. Dag Harmsen

Poliklinik für Parodontologie
 Universitätsklinikum Münster
 Waldeyerstraße 30, 48149 Münster
 Tel.: 0251 83-47059, Fax: 0251 83-47134
 E-Mail: dharmsen@uni-muenster.de

Dr. Gabriele Hausdorf

Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF)
 Referat 614 – Gesundheitsforschung
 Hannoversche Straße 28–30, 10115 Berlin
 Tel.: 030 1857-5049, Fax: 030 1857-85049
 E-Mail: gabriele.hausdorf@bmbf.bund.de

Prof. Dr. Klaus Henning

Institut für Epidemiologie, Friedrich-Loeffler-Institut
 Seestraße 55, 16868 Wusterhausen
 Tel.: 033979 80-156, Fax: 033979 80-200
 E-Mail: klaus.henning@fli.bund.de

Dr. Claudia Herok

Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF)
 Referat 614 – Gesundheitsforschung
 Hannoversche Straße 28–30, 10115 Berlin
 Tel.: 030 1857-5296, Fax: 030 1857-85296
 E-Mail: claudia.herok@bmbf.bund.de

Prof. Dr. Georg Herrler

Institut für Virologie, Zentrum für Infektionsmedizin
 Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
 Bünteweg 17, 30559 Hannover
 Tel.: 0511 953-8857, Fax: 0511 953-8898
 E-Mail: georg.herrler@tiho-hannover.de

Dr. Mathias Hornef

Institut für Medizinische Mikrobiologie und Krankenhaushygiene
 Medizinische Hochschule Hannover
 Carl-Neuberg-Straße 1, 30625 Hannover
 Tel.: 0511 532-6770, Fax: 0511 532-4355
 E-Mail: hornef.mathias@tiho-hannover.de

Prof. Dr. Frank T. Hufert

Institut für Virologie, Bereich Humanmedizin
 Georg-August-Universität Göttingen
 Kreuzberggring 57, 37075 Göttingen
 Tel.: 0551 39-5872, Fax: 0551 39-4471
 E-Mail: fhufert@gwdg.de

K**Dr. Annemarie Käsböhrer**

Leiterin der Fachgruppe Infektionsepidemiologie und Zoonosen
 Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR)
 Diederisdorfer Weg 1, 12277 Berlin
 Tel.: 030 8412-2202, Fax: 030 8412-2952
 E-Mail: annemarie.kaesbohrer@bfr.bund.de

Prof. Dr. Reinhard Kaiser

Neurologische Klinik, Klinikum Pforzheim GmbH
 Kanzlerstraße 2–6, 75175 Pforzheim
 Tel.: 07231 969-602, Fax: 07231 969-911
 E-Mail: rkaiser@klinikum-pforzheim.de

Prof. Dr. Helge Karch

Institut für Hygiene, Universitätsklinikum Münster
 Robert-Koch-Straße 41, 48149 Münster
 Tel.: 0251 83-55361, Fax: 0251 83-55341
 E-Mail: helge.karch@uni-muenster.de

Dr. Markus Keller

Institut für neue und neuartige Tierseuchenerreger
 Friedrich-Loeffler-Institut
 Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit
 Boddenblick 5a, 17493 Greifswald
 Tel.: 038351 7-189, Fax: 038351 7-192
 E-Mail: markus.keller@fli.bund.de

Prof. Dr. Dr. Peter Kimmig

National Consulting Laboratory for Coxiella burnetii
 Landesgesundheitsamt Baden-Württemberg
 Regierungspräsidium Stuttgart
 Nordbahnhofstraße 135, 70191 Stuttgart
 Tel.: 0711 904-3910, Fax: 0711 904-35010
 E-Mail: peter.kimmig@rps.bwl.de

PD Dr. Michael R. Knittler

Institut für Immunologie
Friedrich-Loeffler-Institut, Standort Tübingen
Paul-Ehrlich-Straße 28, 72076 Tübingen
Tel.: 07071 967-210, Fax: 07071 967-305
E-Mail: michael.knittler@fli.bund.de

Dr. Heike Köhler

Institut für molekulare Pathogenese
Nationales Referenzlabor für Paratuberkulose (NRLP)
Friedrich-Loeffler-Institut
Naumburger Straße 96a, 07743 Jena
Tel.: 03641 804-240, Fax: 03641 804-228
E-Mail: heike.koehler@fli.bund.de

Dr. Ursula Kopp

Projekträger im DLR, Gesundheitsforschung
Heinrich-Konen-Straße 1, 53227 Bonn
Besucheradresse: Südstraße 125, 53175 Bonn
Tel.: 0228 3821-230, Fax: 0228 3821-257
E-Mail: ursula.kopp@dlr.de

Dr. Christian Kornschober

Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH, Humanmedizin Graz
Beethovenstraße 6, 8010 Graz, Österreich
Tel.: +43 316 321643207, Fax: +43 316 388470
E-Mail: christian.kornschober@ages.at

Dr. Sonja Kothlow

Institut für Tierphysiologie
Ludwig-Maximilians-Universität München
Veterinärstraße 13, 80539 München
Tel.: 089 2180-1669, Fax: 089 2180-2554
E-Mail: kothlow@tiph.vetmed.uni-muenchen.de

PD Dr. Gérard Krause

Robert Koch-Institut, Abteilung 3
Seestraße 10, 13353 Berlin
Tel.: 030 18754-3402, Fax: 030 18754-3533
E-Mail: krauseg@rki.de

Prof. Dr. Lothar Kreienbrock

Institut für Biochemie, Epidemiologie und Informationsverarbeitung
WHO-Collaborating Centre for Research and Training in Veterinary Public Health
Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
Bünteweg 2, 30559 Hannover
Tel.: 0511 953-7950, Fax: 0511 953-7974
E-Mail: lothar.kreienbrock@tiho-hannover.de

Prof. Dr. Monika Krüger

Institut für Bakteriologie und Mykologie
Universität Leipzig
An den Tierkliniken 29, 04103 Leipzig
Tel.: 0341 97-38180, Fax: 0341 97-38199
E-Mail: mkrueger@vmf.uni-leipzig.de

Dr. Matthias Kuhn

CONGEN Biotechnologie GmbH
Robert-Rössle-Straße 10, 13125 Berlin
Tel.: 030 9489-3500, Fax: 030 9489-3510
E-Mail: mk@congen.de

Thomas Kuri

Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene
Abteilung Virologie, Universität Freiburg
Tel.: 0761 203-6578, Fax: 0761 203-6634
E-Mail: thomas.kuri@uniklinik-freiburg.de

L**Prof. Dr. Oliver Liesenfeld**

Institut für Mikrobiologie und Hygiene
Charité – Universitätsmedizin Berlin, Campus Benjamin Franklin
Hindenburgdamm 30, 12200 Berlin
Tel.: 030 8445-3630, Fax: 030 8445-3830
E-Mail: oliver.liesenfeld@charite.de

Dr. Martina Ludewig

Institut für Lebensmittelhygiene
Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig
An den Tierkliniken 1, 04103 Leipzig
Tel.: 0341 9738-145, Fax: 0341 9738-249
E-Mail: mludewig@vetmed.uni-leipzig.de

Prof. Dr. Stephan Ludwig

Institut für Molekulare Virologie (IMV)
Westfälische-Wilhelms-Universität Münster
Von-Esmarch-Straße 56, 48149 Münster
Tel.: 0251 83-57791, Fax: 0251 83-57793
E-Mail: ludwigs@uni-muenster.de

PD Dr. Carsten Lüder

Institut für Medizinische Mikrobiologie
Georg-August-Universität Göttingen
Kreuzberggring 57, 37075 Göttingen
Tel.: 0551 39-5869, Fax: 0551 39-5861
E-Mail: clueder@gwdg.de

M**Dr. Ulrich Methner**

Institut für bakterielle Infektionen und Zoonosen
Friedrich-Loeffler-Institut, Standort Jena
Naumburger Straße 96a, 07743 Jena
Tel.: 03641 804-267, Fax: 03641 804-228
E-Mail: ulrich.methner@fli.bund.de

Prof. Dr. Thomas Mettenleiter

Institut für neue und neuartige Tierseuchenerreger
Friedrich-Loeffler-Institut
Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit
Boddenblick 5a, 17493 Greifswald
Tel.: 038351 7-250, Fax: 038351 7-151
E-Mail: thomas.mettenleiter@fli.bund.de

PD Dr. Ursula Meyer-König

Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene
Abteilung Virologie, Universitätsklinikum Freiburg
Hermann-Herder-Straße 11, 79104 Freiburg
Tel.: 0761 203-6611, Fax: 0761 203-6608
E-Mail: ursula.meyer-koenig@uniklinik-freiburg.de

Dr. Petra Möbius

Institut für molekulare Pathogenese
Nationales Referenzlabor für Paratuberkulose (NRLP)
Friedrich-Loeffler-Institut
Naumburger Straße 96a, 07743 Jena
Tel.: 03641 804-280, Fax: 03641 804-228
E-Mail: petra.moebius@fli.bund.de

Gerit Müller-Hagen

Bundesministerium für Gesundheit
Referat 321 – Übertragbare Krankheiten, AIDS, Seuchenhygiene
Friedrichstraße 108, 10117 Berlin
Tel.: 030 18441-3251, Fax: 030 18441-4862
E-Mail: gerit.mueller-hagen@bmg.bund.de

N**Prof. Dr. Heinrich Neubauer**

Institut für bakterielle Infektionen und Zoonosen
Friedrich-Loeffler-Institut, Standort Jena
Naumburger Straße 96a, 07743 Jena
Tel.: 03641 804-200, Fax: 03641 804-228
E-Mail: heinrich.neubauer@fli.bund.de

Prof. Dr. Matthias Niedrig

Robert Koch-Institut
Nordufer 20, 13353 Berlin
Tel.: 01888 754-2370, -2321, Fax: 01888 754-2625, -2321
E-Mail: niedrigm@rki.de

Dr. Stephen Norley

PI2 – Aids-Immunität und Impfstoffentwicklung
Robert Koch-Institut
Nordufer 20, 13353 Berlin
Tel.: 030 4547-2380, Fax: 030 4547-2914
E-Mail: norleys@rki.de

P**Dr. Michael Pawlita**

Infection and Cancer (F020)
Deutsches Krebsforschungszentrum (DKFZ)
Im Neuenheimer Feld 280, 69120 Heidelberg
Tel.: 06221 42-4645, Fax: 06221 42-4932
E-Mail: m.pawlita@dkfz.de

PD Dr. Martin Pfeffer

Institut für Mikrobiologie der Bundeswehr
Neuherbergstraße 11, 80937 München
Tel.: 089 3168-3281, Fax: 089 3168-3292
E-Mail: martin1pfeffer@bundeswehr.org

PD Dr. Stefan Pöhlmann

Zentrum Laboratoriumsmedizin, Abteilung Virologie, OE 5230
Medizinische Hochschule Hannover
Carl-Neuberg-Straße 1, 30625 Hannover
Tel.: 0511 532-6736, Fax: 0511 532-8736
E-Mail: poehlmann.stefan@mh-hannover.de

PD Dr. Ute Preuss

Projektträger im DLR, Gesundheitsforschung
Heinrich-Konen-Straße 1, 53227 Bonn
Besucheradresse: Südstraße 125, 53175 Bonn
Tel.: 0228 3821-281, Fax: 0228 3821-257
E-Mail: ute.preuss@dlr.de

Prof. Dr. Alfred Pühler

Institut für Genomforschung
Centrum für Biotechnologie (CeBiTec)
Universität Bielefeld
Universitätsstraße 25, 33615 Bielefeld
Tel.: 0521 106-5607, Fax: 0521 106-5626
E-Mail: puehler@genetik.uni-bielefeld.de

R**Prof. Dr. Silke Rautenschlein**

Klinik für Geflügel
Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
Bünteweg 17, 30559 Hannover
Tel.: 0511 953-8763, Fax: 0511 953-8580
E-Mail: silke.rautenschlein@tiho-hannover.de

PD Dr. Petra Reinhold

Institut für molekulare Pathogenese (IMP)
Friedrich-Loeffler-Institut, Standort Jena
Naumburger Straße 96a, 07743 Jena
Tel.: 03641 804-269, Fax: 03641 804-224
E-Mail: petra.reinhold@fli.bund.de

Dr. Jürgen Rödel

Institut für Medizinische Mikrobiologie
Universitätsklinikum Jena
Simmelweisstraße 4, 07740 Jena
Tel.: 03641 933-105, Fax: 03641 933-474
E-Mail: juergen.roedel@uni-jena.de

Dr. Gernot Rohde

Medizinische Klinik III
Pneumologie, Allergologie, Schlaf- und Beatmungsmedizin
Berufsgenossenschaftliche Kliniken Bergmannsheil
Klinikum der Ruhr-Universität-Bochum
Bürkle-de-la-Camp-Platz 1, 44789 Bochum
Tel.: 0234 302-3532, Fax: 0234 302-6420
E-Mail: gernot.rohde@rub.de

Dr. Ferdinand Rühle

Institut für Forstzoologie und Forstschutz einschließlich
Wildbiologie und Jagdkunde
Georg-August-Universität Göttingen
Büsgenweg 3, 37077 Göttingen
Tel.: 0551 39-3633, Fax: 0551 39-2089
E-Mail: fruehe@gwdg.de

Dr. Andreas Rummel

Institut für Toxikologie, Medizinische Hochschule Hannover
30623 Hannover
Tel.: 0511 532-2819, Fax: 0511 532-2879
E-Mail: rummel.andreas@mh-hannover.de

S**Dr. Konrad Sachse**

Institut für molekulare Pathogenese
Nationales Referenzlabor für Psittakose
Friedrich-Loeffler-Institut, Standort Jena
Naumburger Straße 96a, 07743 Jena
Tel.: 03641 804-334, Fax: 3641 804-228
E-Mail: konrad.sachse@fli.bund.de

Prof. Dr. Hans Peter Saluz

Hans-Knöll-Institut, Abteilung Zell- und Molekularbiologie
Leibniz-Institut für Naturstoff-Forschung
und Infektionsbiologie e. V.
Beutenbergstraße 11a, 07745 Jena
Tel.: 03641 6566-80, Fax: 03641 6566-89
E-Mail: hanspeter.saluz@hki-jena.de

Dr. Gereon Schares

Institut für Epidemiologie, Friedrich-Loeffler-Institut
Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit
Seestraße 55, 16868 Wusterhausen
Tel.: 033979 80-193, Fax: 033979 80-222
E-Mail: gereon.schares@fli.bund.de

PD Dr. Oliver Schildgen

Institut für Virologie
Rheinische Friedrich Wilhelms-Universität Bonn
Sigmund Freud Straße 25, 53105 Bonn
Tel.: 0228 287-11697, Fax: 0228 287-14433
E-Mail: schildgen@virology-bonn.de

Prof. Dr. Dirk Schlüter

Institut für Medizinische Mikrobiologie
Otto-von-Guericke Universität Magdeburg
Leipziger Straße 44, 39120 Magdeburg
Tel.: 0391 67-13317, Fax: 0391 67-290717
E-Mail: dirk.schlueter@medizin.uni-magdeburg.de

Dr. Thomas Schneider

Bundesministerium für Verbraucherschutz, Ernährung
und Landwirtschaft
Rochusstraße 1, 53123 Bonn
Tel.: 0228 529-3935, Fax: 0228 529-3931
E-Mail: thomas.schneider@bmelv.bund.de

Dr. Holger Schönenbrücher

Institut für Tierärztliche Nahrungsmittelkunde (IFTN)
Justus-Liebig-Universität Gießen
Frankfurter Straße 92, 35392 Gießen
Tel.: 0641 99-38253, Fax: 0641 99-38251
E-Mail: schoenenbruecher@vetmed.uni-giessen.de

Prof. Dr. Ulrich Schubert

ViroLogik GmbH
Henkelstraße 91, 91052 Erlangen
Tel.: 09131 5301-488, Fax: 09131 5301-644
E-Mail: u.schubert@virologik.com

Antje Schütt

Geschäftsstelle des TMF e. V.
Neustädtische Kirchstraße 6, 10117 Berlin
Tel.: 030 31011950, Fax: 030 31011999
E-Mail: antje-schuettt@tmf-ev.de

Prof. Dr. Klaus Schughart

Abteilung Experimentelle Mausgenetik
Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung Braunschweig
und Abteilung Virologie
Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
Inhoffenstraße 7, 38124 Braunschweig
Tel.: 0531 6181-1100, Fax: 0531 6181-1099
E-Mail: klaus.schughart@helmholtz-hzi.de

Dr. Christel Schwegmann-Wessels

Institut für Virologie, Zentrum für Infektionsmedizin
Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
Bünteweg 17, 30559 Hannover
Tel.: 0511 953-8843, Fax: 0511 953-8898
E-Mail: christel.schwegmann@tiho-hannover.de

Dr. Brunhilde Schweiger

Robert Koch-Institut, FG 12
Nordufer 20, 13353 Berlin
Tel.: 030 18754-2456, Fax: 030 18754-2605
E-Mail: schweigerb@rki.de

Prof. Dr. Martin Schwemmle

Abteilung Virologie, Universität Freiburg
Hermann-Herder-Straße 11, 79104 Freiburg
Tel.: 0761 203-6526, Fax: 0761 203-6639
E-Mail: martin.schwemmle@uniklinik-freiburg.de

Dr. Christian Seyboldt

Institut für bakterielle Infektionen und Zoonosen
Friedrich-Loeffler-Institut, Standort Jena
Naumburger Straße 96a, 07743 Jena
Tel.: 03641 804-295, Fax: 03641 804-228
E-Mail: christian.seyboldt@fli.bund.de

Dr. Martin Spiegel

Institut für Virologie, Bereich Humanmedizin
Georg-August-Universität Göttingen
Kreuzberggring 57, 37075 Göttingen
Tel.: 0551 3899-443, Fax: 0551 3899-439
E-Mail: mspiege@gwdg.de

Dr. Wolf Splettstößer

Institut für Mikrobiologie der Bundeswehr
Neuherbergstraße 11, 80937 München
Tel.: 089 3168-2918, Fax: 089 3168-3292
E-Mail: wolfsplettstoesser@bundeswehr.org

Prof. Dr. Peter Stäheli

Abteilung Virologie, Universität Freiburg
Hermann-Herder-Straße 11, 79104 Freiburg
Tel.: 0761 203-6579, Fax: 0761 203-5350
E-Mail: peter.staehli@uniklinik-freiburg.de

Dr. Iris Stallkamp

Institut für Virologie, Fachbereich Veterinärmedizin (FB 10)
Justus-Liebig-Universität Gießen
Frankfurter Straße 107, 35392 Gießen
Tel.: 0641 99-38392, Fax: 0641 99-38359
E-Mail: iris.stallkamp@vetmed.uni-giessen.de

Prof. Dr. Klaus Stark

Abteilung 3 Infektionsepidemiologie, Robert Koch-Institut
Seestraße 10, 13353 Berlin
Tel.: 030 4547-3432, Fax: 030 4547-3533
E-Mail: starkk@rki.de

Prof. Dr. Gerd Sutter

Abteilung Virologie, Paul-Ehrlich-Institut
Paul-Ehrlich-Straße 51-59, 63225 Langen
Tel.: 06103 77-2141, Fax: 06103 77-1273
E-Mail: sutge@pei.de

T**Prof. Dr. Marcel Tanner**

Gesundheitswesen und Epidemiologie
Schweizerisches Tropeninstitut
Socinstraße 57, 4002 Basel, Schweiz
Tel.: +41 61 2848283, Fax: +41 61 2717951
E-Mail: marcel.tanner@unibas.ch

Apl. Prof. Dr. Astrid M. Tenter

Institut für Parasitologie, Zentrum für Infektionsmedizin
Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
Bünteweg 17, 30539 Hannover
Tel.: 0511 953-8717, Fax: 0511 953-8870
E-Mail: astrid.tenter@tiho-hannover.de

Prof. Dr. Heinz-Jürgen Thiel

Institut für Virologie, Fachbereich Veterinärmedizin (FB 10)
Justus-Liebig-Universität Gießen
Frankfurter Straße 107, 35392 Gießen
Tel.: 0641 99-38350, Fax: 0641 99-38359
E-Mail: juergen.thiel@vetmed.uni-giessen.de

U**Dr. Sebastian Ulbert**

Laborleiter Impfstoffentwicklung
Fraunhofer-Institut für Zelltherapie und Immunologie IZI
Deutscher Platz 5e, 04103 Leipzig
Tel.: 0341 35536-245, Fax: 0341 35536-109
E-Mail: sebastian.ulbert@izi.fraunhofer.de

W**Marianne Wagner**

Projekträger Innovationsförderung/Abteilung 5
Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung
Deichmanns Aue 29, 53179 Bonn
Tel.: 0228 6845-2900, Fax: 0228 6845-3318
E-Mail: marianne.wagner@ble.de

Prof. Dr. Martin Wagner

Institut für Milchhygiene und Milchtechnologie
und Lebensmittelwissenschaft
Veterinärplatz 1, 1210 Wien, Österreich
Tel.: +43 1 25077-3524, Fax: +43 1 25077-3590
E-Mail: martin.wagner@vu-wien.ac

Dr. Ralf Wagner

FG Virale Impfstoffe, Abteilung Virologie
Paul-Ehrlich-Institut
Paul-Ehrlich-Straße 51-59, 63225 Langen
Tel.: 6103 77-2351, Fax: 06103 77-1234
E-Mail: wagra@pei.de

Dr. Christiane Wagner-Wiening

Landesgesundheitsamt Baden Württemberg, Referat 93
Regierungspräsidium Stuttgart
Nordbahnhofstraße 135, 70191 Stuttgart
Tel.: 0711 904-39304, Fax: 0711 904-35010
E-Mail: chriatiane.wagner-wiening@rsp.bwl.de

PD Dr. Friedemann Weber

Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene
Abteilung Virologie, Universität Freiburg
Hermann-Herder-Straße 11, 79104 Freiburg
Tel.: 0761 203-6614, Fax: 0761 203-6634
E-Mail: friedemann.weber@uniklinik-freiburg.de

Dr. Manfred Weidmann

Institut für Virologie, Bereich Humanmedizin
Georg-August-Universität Göttingen
Kreuzberggring 57, 37075 Göttingen
Tel.: 0551 39-5872, Fax: 0551 39-4471
E-Mail: mweidma@gwdg.de

Dr. Siegfried Weiss

Molekulare Immunologie
Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung
Inhoffenstraße 7, 38124 Braunschweig
Tel.: 0531 6181-5100, Fax: 0531 6781-5002
E-Mail: siegfried.weiss@helmholtz-hzi.de

Prof. Dr. Lothar H. Wieler

Institut für Mikrobiologie und Tierseuchen
Fachbereich Veterinärmedizin, Freie Universität Berlin
Phillipstraße 13, 10115 Berlin
Tel.: 030 2093-6300, Fax: 030 2093-6067
E-Mail: wieler.lothar@vetmed.fu-berlin.de

PD Dr. Thorsten Wolff

Robert Koch-Institut, P15
Nordufer 20, 13353 Berlin
Tel.: 030 18754-2278, Fax: 030 18754-2328
E-Mail: wollft@rki.de


Z**PD Dr. Roland Zell**

Institut für Virologie und Antivirale Therapie (IVAT)
Klinikum der Friedrich-Schiller-Universität
Hans-Knöll-Straße 2, 07745 Jena
Tel.: 03641 65-7209, Fax: 03641 65-7202
E-Mail: roland.zell@med.uni-jena.de

Dr. Ute Ziegler

Institut für neue und neuartige Tierseuchenerreger
Friedrich-Loeffler-Institut
Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit
Boddenblick 5a, 17493 Greifswald
Tel.: 038351 7-185, Fax: 038351 7-192
E-Mail: ute.ziegler@fli.bund.de

Anhang



Pressemitteilung

MAJUSKRIPT: Hansovische Straße 28-30, 10115 Berlin
KUNSTSTOFF: 11225 Berlin

TEL. 01808 87-50 20
FAX 01808 87-55 51
E-MAIL: presse@bmbf.bund.de
WWW: www.bmbf.de

1. die Bundes-Forschungsförderung zu von Tieren auf Menschen übertragbaren Krankheiten mit zwei Teilbereichen:
 - a. „Förderschwerpunkt Zoonosen“, welcher der Förderung unmittelbarer Forschungsaktivitäten dient
 - b. „Forschungsplattform Zoonosen“, über die eine enge Vernetzung der veterinär- und humanmedizinischen Forscher und die Nutzung von Synergien erreicht werden soll
2. das Forschungs-Sofortprogramm Influenza des Bundes.

Zielsetzungen sind:

- langfristig interdisziplinär insbesondere Fragestellungen zur Übertragung von Erregern von Tieren zum Menschen zu klären,
- die Zusammenarbeit zwischen veterinärmedizinischen und humanmedizinischen Wissenschaftlern weiter zu verbessern, und
- die Wissensgebiete enger zu vernetzen.

Bundesforschungsministerin Annette Schavan sieht die Infektions-Forschung in Deutschland bereits gut aufgestellt. „Die Forscherinnen und Forscher verfügen über eine gut ausgebaute Infrastruktur, mit der sie neu auftretende Probleme rasch und kompetent aufgreifen könnten. Damit leistet unsere Wissenschaft die beste Vorsorge für die Gesundheit.“ Aktuell würden neue klinische Forschergruppen an Hochschulkliniken aufgebaut. Diese könnten ihre Erkenntnisse ohne Verzögerung direkt für Diagnose und Therapie einsetzen. Das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) investiere in die Infektionsforschung jährlich bereits 20 Millionen Euro.

Das Forschungs-Sofortprogramm Influenza des Bundes, als spezieller Teil, verfolgt das Ziel, die Wissenslücken zur H5N1-Geflügelpest und zur Pandemiegefahr zu schließen und Grundlagen für die notwendigen weiterführenden Untersuchungen zu erarbeiten. Darüber hinaus soll das Programm neue Bekämpfungsstrategien für die Geflügelpest ermöglichen.

„Diese Forschungsinitiative soll Antworten auf neu aufgetretene Fragen liefern. Denn obwohl das Bundesgesundheitsministerium bereits seit 2002 die Vorbereitungen auf eine möglicherweise in Zukunft auftretende Influenza-Pandemie betreibt, haben sich durch das Auftreten der Vogelgrippe neue Problemstellungen ergeben. Bereits jetzt wird die Entwicklung pandemischer Impfstoffe mit 20 Millionen Euro unterstützt. Ich begrüße es sehr, dass es uns gemeinsam gelungen ist, innerhalb kürzester Zeit eine Forschungsvereinbarung zu treffen,“ betonte Bundesgesundheitsministerin Ulla Schmidt.

Die Bundesregierung setze so ein deutliches Signal dafür, dass sie alles unternehme, um die Bürgerinnen und Bürger vor der Gefährdung durch vom Tier auf den Menschen übertragbaren Krankheiten zu schützen.

22. März 2006
046/2006

Forschungsvereinbarung zu von Tieren auf Menschen übertragbaren Krankheiten (Zoonosen) vom Kabinett beschlossen

Das Bundeskabinett hat in seiner heutigen Sitzung den vom Bundesminister für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz vorgelegten Entwurf einer Forschungsvereinbarung zu Zoonosen zwischen dem Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV), Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) und dem Bundesministerium für Gesundheit (BMG) beschlossen.

„Die Bedeutung von übertragbaren Krankheiten nimmt seit längerem auch in den Industrieländern wieder zu. Dabei gewinnen Krankheiten, die natürlicherweise von Tieren auf Menschen übertragen werden, die so genannten Zoonosen, aufgrund ihres verstärkten Auftretens und der Bedeutung für Mensch und Tier, an Wichtigkeit. Die Geflügelpest („Vogelgrippe“) ist ein aktuelles Beispiel dafür. Deshalb wollen wir gemeinsam unsere Aktivitäten auf diesem Gebiet intensivieren“, sagte Bundesverbraucherschutzminister Horst Seehofer heute in Berlin.

Eine weitere Verbesserung der bestehenden Zusammenarbeit zwischen Human- und Veterinärmedizin im Bereich der von Tieren auf Menschen übertragbaren Krankheiten und die nationale Bündelung der vorhandenen Kompetenzen und Ressourcen sei wichtig, um den wachsenden Herausforderungen durch die zunehmende Resistenzenentwicklung und die Übertragung neuer Erreger auf den Menschen wirksam begegnen zu können.

Das Finanzvolumen der Vereinbarung soll 60 Millionen Euro über einen Zeitraum von 4 Jahren betragen.

Die Forschungsvereinbarung zu Zoonosen besteht aus zwei Elementen:

Bundesministerium für Bildung und Forschung – Richtlinien zur Förderung von Forschungsverbänden zu zoonotischen Infektionskrankheiten vom 1.4.2006 – Abgabetermin: 1.9.2006

Erschienen im Bundesanzeiger Nr. 65 vom 1.4.2006

1 Zuwendungszweck, Rechtsgrundlagen

Die schnell anwachsende Weltbevölkerung, zunehmende Mobilität und Veränderungen von Nutztierzucht und -haltung haben in den letzten Jahrzehnten Bedingungen geschaffen, die zum einen das Expositionsrisiko des Menschen gegenüber zoonotischen Erregern deutlich erhöht haben und die zum anderen die rasche Ausbreitung von Ausbrüchen begünstigen. Nahezu zwei Drittel aller bekannten humanpathogenen Erreger werden vom Tier auf den Menschen übertragen.

Da es sich bei praktisch allen neuen Erregern der letzten Jahre,

z. B. SARS, um Zoonosen handelt und Rekombinationen oft im Tier stattfinden, ist ein besseres Verständnis des Übergangs eines Erregers auf einen neuen Wirt und der für sein Überleben notwendigen Anpassungsvorgänge von zentraler Bedeutung für die Bekämpfung von Infektionskrankheiten.

Um das Themenfeld der zoonotischen Infektionserkrankungen erfolgreich bearbeiten zu können, ist die Zusammenarbeit von Human- und Veterinärmedizin eine grundlegende Voraussetzung. Bislang verläuft die veterinär- und humanmedizinische Forschung zu diesem Thema in Deutschland, wie auch international, jedoch meist unabhängig voneinander, die notwendigen Schnittstellen sind nur unbefriedigend entwickelt. Der Aufbau geeigneter Kooperationsstrukturen könnte erhebliche Synergien mobilisieren.

Das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) beabsichtigt daher, im Rahmen des Programms der Bundesregierung „Gesundheitsforschung: Forschung für den Menschen“ die in

Deutschland vorhandenen Kompetenzen aus Human- und Veterinärmedizin zu zoonotischen Infektionskrankheiten in interdisziplinären Forschungsverbänden zu gesundheitspolitisch relevanten Erregern/Erreger-Gruppen zusammenzuführen.

Vorhaben können nach Maßgabe dieser Richtlinien, der BMBF-Standardrichtlinien für Zuwendungen auf Ausgaben- bzw. Kostenbasis und der Verwaltungsvorschriften zu § 44 Bundeshaushaltsordnung (BHO) durch Zuwendungen gefördert werden. Ein Rechtsanspruch auf Gewährung einer Zuwendung besteht nicht. Der Zuwendungsgeber entscheidet aufgrund seines pflichtgemäßen Ermessens im Rahmen der verfügbaren Haushaltsmittel.

2 Gegenstand der Förderung

Es ist vorgesehen, eine begrenzte Zahl interdisziplinärer, nationaler Forschungsverbände mit ca. 5–10 Arbeitsgruppen mit obligater Beteiligung der Veterinär- und der Humanmedizin zu zoonotischen Infektionskrankheiten zu fördern. In einem Verbund sollen die in Deutschland vorhandenen Kompetenzen aus Human- und Veterinärmedizin zu einem relevanten zoonotischen Erreger oder Erreger-Gruppen thematisch gebündelt und zusammengeführt werden. Als Verbundpartner sollen ggf. auch Arbeitsgruppen aus der industriellen Forschung, vor allem für das Themenfeld Diagnostik/Typisierung der Erreger (s. u.), eingebunden werden. Die inhaltliche Ausrichtung der Verbände soll sich schwerpunktmäßig darauf konzentrieren, die Transmission relevanter zoonotischer Erreger vom Tier auf den Menschen zu erforschen. Dabei sollen in den Verbänden Projekte von der Grundlagenforschung bis zur klinischen Forschung zu folgenden Themen bearbeitet werden:

Ätiologie und Pathogenese

Hier sollen grundlegende Fragen zur Übertragung der Erreger vom Tier auf den Menschen untersucht werden, z. B. der Mechanismus der Entstehung neuer pathogener Stämme, die unterschiedliche Pathogenität in Mensch und Tier, der Austausch von Resistenzgenen, Übertragungswege und Infektketten. Zudem muss die experimentelle Bearbeitung der Transmissionsmechanismen vom Tier auf den Menschen im Tiermodell auf jeden Fall in den zu bildenden Verbänden vertreten sein.

Diagnostik/Typisierung

Der Schwerpunkt soll bei der Entwicklung und Evaluierung moderner molekularer Typisierungsmethoden, z. B. auf DNA-Basis liegen. Die Evaluierung der entwickelten Diagnostik in Ringversuchen kann ebenfalls Gegenstand der Förderung sein.

Epidemiologie/Surveillance

Ein gemeinsamer Austausch der sowohl bereits erfassten als auch der noch zu erhebenden Daten wird erwartet. Unter Berücksichtigung der bestehenden gesetzlich vorgeschriebenen veterinär- und humanmedizinischen Surveillance-Aktivitäten sollen ergänzende Untersuchungen zur Verbesserung der Kenntnisse über das Vorkommen der Erreger in Wildtier- und Haustierpopulationen sowie beim Menschen durchgeführt werden. Hier ist der forschungsbedingte Mehraufwand darzulegen und abzugrenzen von den Untersuchungen, die aufgrund der gesetzlichen Bestimmungen im Rahmen der Ressortaufgaben des BMG und des BMELV durchgeführt werden.

Eine wichtige Komponente dieser Fördermaßnahme sind verbundübergreifende Querschnittsaktivitäten, für die ebenfalls Mittel beantragt werden können. Dazu gehören, z. B.:

- + Harmonisierung und Standardisierung der Methoden zur Diagnostik/Typisierung der Erreger
- + Koordination der Datenerfassung und Entwicklung zielgerichteter biometrischer Auswertungsstrategien der Daten, ggf. Zusammenführung der Daten aus Human- und Veterinärmedizin in einer zentralen Datenbank. Bei Aufbau einer Datenbank ist ein nachhaltiges Finanzierungs- und Nutzungskonzept auch nach Ablauf der Förderung darzustellen.
- + Übersicht und Koordinierung der bestehenden Depositorien (z. B. DNA, Stämme) für zoonotische Erreger in Human- und Veterinärmedizin
- + Methoden der Surveillance von Infektionskrankheiten bei Tier und Mensch.
Zur Förderung der horizontalen Vernetzung der Human- und Veterinärmedizin und der Zusammenarbeit der Verbände in den Querschnittsprojekten sollen regelmäßig Foren und Workshops stattfinden (s. a. 7.3)

3 Zuwendungsempfänger

Antragsberechtigt sind Hochschulen, Hochschulkliniken, außeruniversitäre Forschungs- und Entwicklungseinrichtungen sowie Unternehmen der gewerblichen Wirtschaft. Forschungseinrichtungen, die gemeinsam von Bund und Ländern grundfinanziert werden, kann nur unter bestimmten Voraussetzungen eine Projektförderung für ihren zusätzlichen Aufwand bewilligt werden.

4 Zuwendungsvoraussetzungen

Die Antragsteller müssen durch einschlägige wissenschaftliche Vorarbeiten ausgewiesen sein und eine hohe Bereitschaft zur Zusammenarbeit mitbringen. Vor der Förderentscheidung über ein Verbundprojekt muss eine grundsätzliche Übereinkunft der Kooperationspartner über bestimmte vom BMBF vorgegebene Kriterien nachgewiesen werden, die einem Merkblatt zu entnehmen sind (BMBF-Vordruck 0110). Verbundpartner müssen ihre Förderanträge vor Vorlage mit dem zu bestellenden Projektleitung (Koordinator) abstimmen.

Von den Antragstellern wird die Bereitschaft zur internationalen Kooperation erwartet. Um unnötige Doppelentwicklungen zu vermeiden und alle notwendigen Kompetenzen zu beteiligen, können in Verbundvorhaben auch internationale Kooperationspartner eingebunden werden, wobei der internationale Partner grundsätzlich eine eigene nationale Förderung für seinen Projektanteil nachzuweisen hat.

Antragsteller sollen sich – auch im eigenen Interesse – im Umfeld des national beabsichtigten Vorhabens mit dem EU-Forschungsrahmenprogramm vertraut machen. Sie sollen prüfen, ob das beabsichtigte Vorhaben spezifische europäische Komponenten aufweist und damit eine ausschließliche EU-Förderung möglich ist. Weiterhin ist zu prüfen, inwieweit im Umfeld des national beabsichtigten Vorhabens ergänzend ein Förderantrag bei der EU gestellt werden kann. Das Ergebnis der Prüfungen soll im nationalen Förderantrag kurz dargestellt werden. Informationen zur EU-Förderung können hier abgerufen werden.

5 Art, Umfang und Höhe der Zuwendung

Die Zuwendungen können im Wege der Projektförderung als nicht rückzahlbare Zuschüsse gewährt werden.

Verbundprojekte können zunächst mit einer Laufzeit von bis zu drei Jahren gefördert werden. Rechtzeitig vor dem Ende der ersten Förderphase kann ein Anschlussantrag vorgelegt werden, dessen Begutachtung eine Bewertung der Leistungen in der zurückliegenden Förderphase einschließt. Eine Anschlussförderung von maximal drei Jahren ist in Abhängigkeit vom Ergebnis der Begutachtung des Anschlussantrages vorgesehen. Aufgrund der Dynamik des Forschungsgebiets sind zu diesem Zeitpunkt Umstrukturierungen bei den Verbundpartnern bzw. die konkurrierende Beantragung neuer Verbünde zu neu auftretenden zoonotischen Infektionen möglich.

Zuwendungsfähig für Antragsteller sind der vorhabenbedingte Mehraufwand, wie Personal-, Sach- und Reisemittel. Ausgaben für das Einholen von Ethikvoten an Hochschulen werden der Grundausrüstung zugerechnet und können nicht gefördert werden.

Die zur Anmeldung eines Patents erforderlichen Ausgaben/Kosten während der Laufzeit des Vorhabens sind im Rahmen der BMBF-Standardrichtlinien grundsätzlich zuwendungsfähig.

Zusätzlich zu den Mitteln für Forschungsprojekte können bei Bedarf auch Mittel für weitere unterstützende Maßnahmen beantragt werden, wie z. B.:

- + Mittel für verbundübergreifende Querschnittsaktivitäten zu den unter 2 genannten Themenbereichen,
- + Personal- und Sachausgaben für die Koordinierung eines Verbunds auf struktureller und fachlicher Ebene,
- + Mittel zur wissenschaftlichen Kommunikation, z. B. Durchführung von Workshops und Arbeitstreffen, und Öffentlichkeitsarbeit, Gastaufenthalte von Nachwuchswissenschaftlern aus dem Verbund an externen Forschungsstätten und Kliniken, insbesondere im Labor von internationalen Partnern, Einladung von externen Fachleuten,
- + Rotationsstellen für Wissenschaftler aus der Klinik, die voll oder anteilig für eine befristete Zeit von ihren Routineaufgaben in der Versorgung für die Forschung freigestellt werden sollen, und für die ein Ersatz eingestellt werden muss.

Bemessungsgrundlage für Hochschulen, Forschungs- und Wissenschaftseinrichtungen und vergleichbare Institutionen sind die zuwendungsfähigen projektbezogenen Ausgaben (bei Helmholtz-Zentren und der Fraunhofer-Gesellschaft - FhG - die zuwendungsfähigen projektbezogenen Kosten), die individuell bis zu 100 Prozent gefördert werden können.

Bemessungsgrundlage für Zuwendungen an Unternehmen der gewerblichen Wirtschaft sind die zuwendungsfähigen projektbezogenen Kosten, die in der Regel – je nach Anwendungsnähe des Vorhabens – bis zu 50 Prozent anteilfinanziert werden können. Nach BMBF-Grundsätzen wird eine angemessene Eigenbeteiligung – grundsätzlich mindestens 50 Prozent der entstehenden zuwendungsfähigen Kosten – vorausgesetzt.

Die Bemessung der jeweiligen Förderquote muss den Gemeinschaftsrahmen der EU-Kommission für staatliche FuE-Beihilfen berücksichtigen. Dieser Gemeinschaftsrahmen lässt für Verbund-

projekte von Antragstellern aus den Neuen Bundesländern und für Kleine und Mittlere Unternehmen (KMU) eine differenzierte Bonusregelung zu, die ggf. zu einer höheren Förderquote führen kann.

6 Sonstige Zuwendungsbestimmungen

Bestandteil eines Zuwendungsbescheides auf Kostenbasis werden grundsätzlich die Allgemeinen Nebenbestimmungen für Zuwendungen auf Kostenbasis des BMBF an Unternehmen der gewerblichen Wirtschaft für FuE-Vorhaben (NKBF98).

Bestandteil eines Zuwendungsbescheides auf Ausgabenbasis werden die Allgemeinen Nebenbestimmungen für Zuwendungen zur Projektförderung (ANBest-P) und die Besonderen Nebenbestimmungen für Zuwendungen des BMBF zur Projektförderung auf Ausgabenbasis (BNBest-BMBF98).

7 Verfahren

7.1 Einschaltung eines Projektträgers und Anforderung von Unterlagen

Mit der Abwicklung dieser Fördermaßnahme hat das BMBF beauftragt:

Projektträger im DLR, Gesundheitsforschung
Heinrich-Konen-Straße 1, 53227 Bonn
Telefon: 0228 3821-210 (Sekretariat), Fax: 0228 3821-257
<http://www.pt-dlr.de/>

Es wird empfohlen, zur Antragsberatung mit dem Projektträger Kontakt aufzunehmen. Weitere Informationen und Erläuterungen sind dort erhältlich. Vordrucke für förmliche Förderanträge, Richtlinien, Merkblätter, Hinweise und Nebenbestimmungen können hier abgerufen werden oder unmittelbar beim Projektträger angefordert werden. Zur Erstellung von förmlichen Förderanträgen wird die Nutzung des elektronischen Antragsystems „easy“ dringend empfohlen.

7.2 Einreichung von Vorhabenbeschreibungen

Das Förderverfahren ist zweistufig, es findet aber nur ein fachlicher Begutachtungsschritt unter Beteiligung von externen Gutachtern statt. In der ersten Stufe sind dem Projektträger zunächst formlose Vorhabenbeschreibungen der Forschungsverbände in englischer Sprache bis spätestens zum 1. September 2006 auf dem Postweg durch den vorgesehenen Verbundkoordinator vorzulegen. Die Vorhabenbeschreibungen sollen dem Gutachterkreis eine abschließende fachliche Stellungnahme erlauben. Die Vorlagefrist gilt nicht als Ausschlussfrist. Verspätet eingehende Projektskizzen können aber möglicherweise nicht mehr berücksichtigt werden. Eine Vorlage per „electronic mail“ oder FAX ist nicht möglich.

Vorhabenbeschreibungen müssen sowohl die Organisationsstruktur wie auch das Forschungsprogramm des Verbundvorhabens erläutern. Ferner sind Ansätze und Konzepte zu verbundübergreifenden Querschnittsaktivitäten (s. a. 2.) mit anderen möglichen Verbänden darzustellen. Der Umfang der Vorhabenbeschreibungen (DIN A4-Format, 1,5-zeilig, doppelseitig) darf 7 Seiten für das Gesamtkonzept des Verbundes und 7 Seiten pro geplantes Teilprojekt nicht überschreiten. Sie sind in 20-facher Ausfertigung mit einer ungebundenen Kopiervorlage sowie im pdf-Format auf CD-ROM vorzulegen. Die Vorhabenbeschreibung ist nach dem „Leitfaden für die Antragstellung“ zu strukturieren.

Aus der Vorlage eines Antrages kann kein Rechtsanspruch abgeleitet werden.

7.3 Auswahl und Entscheidungsverfahren

Die eingereichten Vorhabenbeschreibungen werden unter Beteiligung eines externen unabhängigen Gutachterkreis u. a. nach folgenden Kriterien bewertet:

- + wissenschaftliche Qualität und Erfolgsaussichten des Vorhabens,
- + überzeugende thematische Ausrichtung des Verbundes mit Bündelung des dafür wesentlichen Forscherpotenzials (z. B. Referenzlaboratorien, vorhandene Depositorien und Datenbanken),
- + Interdisziplinarität, Zusammenarbeit von Human- und Veterinärmedizin,
- + Mehrwert der Verbundförderung,
- + Qualität der Zusammenarbeit der Verbundpartner,
- + gesundheitspolitische Bedeutung der zoonotischen Infektionserkrankung,
- + vorhandene Vorleistungen/Ressourcen,
- + Konzepte für verbundübergreifende Querschnittsprojekte,
- + Einbeziehung internationaler Partner.

Auf der Grundlage der Bewertung werden dann jeweils die sowohl in struktureller als auch wissenschaftlicher Hinsicht aussichtsreichsten Verbünde mit den entsprechenden Projekten ausgewählt. Das Auswahlergebnis wird den Interessenten schriftlich mitgeteilt. Bei positiver Bewertung werden die Interessenten über den vorgesehenen Verbundkoordinator in einer **zweiten Verfahrensstufe** aufgefordert, einen förmlichen Förderantrag vorzulegen, über den nach abschließender Prüfung entschieden wird.

Im Hinblick auf die Entwicklung und Koordination der verbundübergreifenden Querschnittsaktivitäten ist eine frühzeitige Abstimmung zwischen den ausgewählten Verbänden notwendig. Daher soll zu diesem Zweck ein erstes Treffen der ausgewählten Verbände bereits kurz nach Abschluss des Auswahlverfahrens stattfinden. Im Anschluss ist dem Projektträger ein ausführliches Arbeitsprogramm mit entsprechendem Finanzrahmen für die verbundübergreifenden Querschnittsprojekte vorzulegen. Weitere Treffen der Verbände und Workshops sind in regelmäßigen Abständen geplant und sollen von den Verbänden selbst organisiert werden.

Es ist vorgesehen, die Fördermaßnahme, insbesondere die verbundübergreifenden Aktivitäten, durch einen unabhängigen, wissenschaftlichen Beirat zu begleiten, der regelmäßig, (mindestens) jährlich, zusammentritt.

Für die Bewilligung, Auszahlung und Abrechnung der Zuwendung sowie für den Nachweis und die Prüfung der Verwendung und die ggf. erforderliche Aufhebung des Zuwendungsbescheides und die Rückforderung der gewährten Zuwendung gelten die Verwaltungsvorschriften zu § 44 BHO sowie §§ 48 bis 49a Verwaltungsverfahrensgesetz (VwVfG), soweit nicht in diesen Förderrichtlinien Abweichungen zugelassen sind.

8 Inkrafttreten

Diese Förderrichtlinien treten mit dem Tag der Veröffentlichung im Bundesanzeiger in Kraft.

Berlin, den 22.3.2006

Bundesministerium für Bildung und Forschung

Im Auftrag

Dr. Gabriele Hausdorff

Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz – Richtlinie über die Förderung innovativer Vorhaben zur Bekämpfung von Zoonosen bei Tieren im Rahmen des Programms zur Innovationsförderung vom 8. Juni 2006

1 Zuwendungszweck und Rechtsgrundlagen

Die Tiergesundheit ist in der landwirtschaftlichen Nutztierhaltung der entscheidende Faktor für die Aufrechterhaltung und Steigerung der Sicherheit und Qualität der Produkte sowie der Produktion. Zum einen ist die Tiergesundheit von größter Bedeutung, um die Gefahr der Übertragung von Erregern vom Tier auf den Menschen zu minimieren. Zum anderen sind gesunde Lebensmittel tierischer Herkunft nur mit gesunden Tieren, die bedarfsgerecht gefüttert und artgerecht gehalten werden, effizient zu erzeugen.

Innovationspotenzial wird insbesondere bei der Bekämpfung von Zoonosen bei Tieren gesehen. Hier stehen sichere Diagnostika, Impfstoffe sowie andere Hygienemaßnahmen im Vordergrund. Für prophylaktische Maßnahmen sind mögliche Schutz- und Notimpfungen zum Aufbau und zur Stabilisierung der speziellen Immunabwehr von Bedeutung.

Deshalb beabsichtigt das Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz im Rahmen und nach Maßgabe seines Programms zur Innovationsförderung (<http://www.ble.de>, „Innovationsförderung“) entsprechende Vorhaben zu fördern.

Vorhaben können durch Zuwendungen nach Maßgabe dieser Bekanntmachung, des Programms zur Innovationsförderung, der Standardrichtlinien einschließlich Nebenbestimmungen für Zuwendungen auf Ausgaben- bzw. Kostenbasis (http://www.kp.dlr.de/profi/easy/formular_ble.html) und der Verwaltungsvorschriften zu § 44 der Bundeshaushaltsordnung (BHO) gefördert werden.

Ein Rechtsanspruch auf Gewährung einer Zuwendung besteht nicht. Der Zuwendungsgeber entscheidet aufgrund seines pflichtgemäßen Ermessens im Rahmen der verfügbaren Haushaltsmittel. Eingereichte Projektvorschläge stehen untereinander im Wettbewerb.

2 Gegenstand der Förderung

Schwerpunkt dieser ersten Bekanntmachung sind innovative Vorhaben, die hinsichtlich der Influenza oder anderer Zoonosen und als Zoonosen verdächtiger Erreger bei Tieren

- + die Diagnostik zeitlich und in Bezug auf die Sensitivität und Spezifität verbessern,
- + zur Entwicklung von Therapeutika und Impfstoffen für die Schließung von Therapie- und Prophylaxenotständen oder zu einer Reduktion der Prävalenz beitragen,
- + Impfstoffkonzepte neu und effektiv gestalten, die für anzeigepflichtige Tierseuchen der DIVA-Strategie genügen,
- + zu Hygienemaßnahmen führen, die zu einer Reduktion der Prävalenz beitragen.

3 Zuwendungsempfänger und -voraussetzungen

Antragsberechtigt sind kleine und mittlere Unternehmen (KMU) mit Sitz und überwiegender Ergebnisverwertung in Deutschland sowie Hochschulen und außeruniversitäre Forschungs- und Entwicklungseinrichtungen, soweit eine Kofinanzierung durch die Privatwirtschaft sichergestellt ist. Bei Verbundprojekten ist von den Partnern ein Projektkoordinator zu benennen, der für das Vorhaben eine Projektskizze vorlegt.

4 Art, Umfang und Höhe der Zuwendung

Die Zuwendungen können im Wege der Projektförderung als nicht rückzahlbare Zuschüsse gewährt werden. Die Förderung erfolgt als Anteilsfinanzierung.

Die Bemessung der jeweiligen Förderquote muss den Gemeinschaftsrahmen der EU-Kommission für staatliche FuE-Beihilfen berücksichtigen.

Angaben zum Umfang der Anteilsfinanzierung sowie der förderfähigen Ausgaben und Kosten einschließlich Investitionen sind dem Programm zur Innovationsförderung (<http://www.ble.de>, „Innovationsförderung“) sowie den Standardrichtlinien einschließlich Nebenbestimmungen (http://www.kp.dlr.de/profi/easy/formular_ble.html) zu entnehmen.

5 Sonstige Zuwendungsbestimmungen

Bestandteil eines Zuwendungsbescheides auf Kostenbasis werden grundsätzlich die Allgemeinen Nebenbestimmungen für Zuwendungen auf Kostenbasis des BMBF an Unternehmen der gewerblichen Wirtschaft für FuE-Vorhaben (NKBF98).

Bestandteil eines Zuwendungsbescheides auf Ausgabenbasis werden die Allgemeinen Nebenbestimmungen für Zuwendungen zur Projektförderung (ANBest-P) und die Besonderen Nebenbestimmungen für Zuwendungen des BMBF zur Projektförderung auf Ausgabenbasis (BNBest-BMBF98).

Diese Bestimmungen sowie Vordrucke für Förderanträge, Richtlinien, Merkblätter, Hinweise und Nebenbestimmungen sind dem BLE-Formularschrank zu entnehmen (http://www.kp.dlr.de/profi/easy/formular_ble.html).

6 Verfahren

6.1 Projektträger

Mit der Umsetzung dieser Fördermaßnahme hat das Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV) die Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE) als Projektträger beauftragt.

Postadresse:

Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE)
Projektträger Innovationsförderung
53168 Bonn

Hausanschrift:

Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE)
Projektträger Innovationsförderung
Deichmanns Aue 29, 53179 Bonn
<http://www.ble.de>

Ansprechpartner:

Dr. H. Stöppler-Zimmer

Tel.: 0228 6845-3281

E-Mail: holger.stoeppler-zimmer@ble.de

6.2 Vorlage von Projektskizzen

Um eine hohe Qualität sowie eine effiziente Umsetzung der geförderten Vorhaben zu gewährleisten, wird die Förderwürdigkeit im wettbewerblichen Verfahren auf der Grundlage von Projektskizzen beurteilt.

Vor der Einreichung der Projektskizzen sollte mit dem Projektträger Kontakt aufgenommen werden. Dort sind weitere Informationen und Hinweise erhältlich.

Zur Einreichung der Skizzen wird die Nutzung des elektronischen Antrags- bzw. Angebots-Systems „easy“ dringend empfohlen (<http://www.kp.dlr.de/profi/easy/download.html>; <http://www.kp.dlr.de/profi/easy/skizze/index.html>). Die Skizzen sind in deutscher Sprache abzufassen.

Beizufügen ist als Anlage eine Beschreibung des Vorhabens mit folgender Gliederung (max. 10 DIN A4- Seiten, Arial, Schriftgrad 11, 1,5-zeilig):

- + Deckblatt (Thema, Gesamtkosten, Projektdauer, Kontaktdaten des Skizzeneinreichers).
- + Zielsetzung:
 - Bezug zu den Zielen des Programms für die Innovationsförderung und zu dieser Förderbekanntmachung,
 - Beschreibung des Forschungs- und Technikstandes sowie der eigenen betrieblichen Anwendung,
 - bestehende Schutzrechte (eigene und Dritter) und eine vergleichende Darstellung voraussichtlicher Vorteile gegenüber bisher gängiger Verfahren.
- + Arbeitsplan:
 - Beschreibung der eigenen Vorarbeiten, der Methoden und des geplanten Arbeits- und Lösungsweges (ggf. auch Arbeitsteilung der Projektpartner bzw. Zusammenarbeit mit Dritten).
- + Zeitplan:
 - Zeitliche Abfolge der Arbeitsschritte, Meilensteine mit Entscheidungskriterien.
- + Finanzierungsplan:
 - Abschätzung der geplanten Aufwendungen (Personal, Geräte, Verbrauchsmaterial etc.) ggf. aufgeschlüsselt nach Partnern entsprechend der Arbeitsteilung, Eigenbeteiligung.
- + Verwertungsplan:
 - Wissenschaftlich-technische und wirtschaftliche Erfolgsaussichten und Risiken sowie Ergebnisverwertung,
 - Begründung der Notwendigkeit staatlicher Förderung.
- + Unternehmensdaten:
 - Erklärung der KMU-Eigenschaft lt. Muster (http://europa.eu.int/eurlex/pri/de/oj/dat/2003/c_118/c_11820030520de00050015.pdf),
 - wirtschaftliche Verhältnisse,
 - personelle und materielle Kapazitäten, Organisation, Infrastruktur,
 - Beschreibung vorhandener Vorleistungen und Qualifikationen.

Die Projektskizzen sind beim Projektträger sowohl in elektronischer als auch in schriftlicher Form auf dem Postweg bis zum 17. Juli 2006 einzureichen. Die Vorlagefrist gilt nicht als Ausschlussfrist. Verspätet eingehende Projektskizzen können aber möglicherweise nicht mehr berücksichtigt werden.

Aus der Vorlage einer Projektskizze kann kein Rechtsanspruch abgeleitet werden.

6.3 Auswahl- und Entscheidungsverfahren

Die eingegangenen Projektskizzen werden nach Ablauf der Vorlagefrist nach den Vorgaben des Programms vom Projektträger insbesondere nach folgenden Kriterien geprüft:

- + Fachkunde, Leistungsfähigkeit und Zuverlässigkeit des Zuwendungsempfängers, vorhandene Vorleistungen/ Ressourcen,
- + wissenschaftliche Qualität und Erfolgsaussichten des Vorhabens, Innovationsgrad und Plausibilität des Ansatzes,
- + agrar- und ernährungspolitische Bedeutung, Verbesserung der Wettbewerbsfähigkeit,
- + Schaffung und Erhalt von Arbeitsplätzen, Erhöhung der Innovationskraft,
- + Übernahme neuer Ergebnisse aus der Wissenschaft, Kooperation von Wirtschaft und Wissenschaft,
- + überzeugendes Konzept zur Verwertung, hohe Praxisrelevanz.

Das BMELV und der Projektträger behalten sich vor, bei der Bewertung der vorgelegten Projektskizzen unabhängige Experten hinzuzuziehen.

Der Projektträger informiert die Skizzeneinreicher über das Ergebnis. Bei positiver Bewertung werden die Skizzeneinreicher aufgefordert, einen förmlichen Förderantrag vorzulegen, über den nach abschließender Prüfung entschieden wird.

7 Inkrafttreten

Die Förderrichtlinien treten mit der Veröffentlichung im Bundesanzeiger in Kraft.

Bonn, den 8. Juni 2006

Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz

Im Auftrag

Dr. R e c h

Diese Druckschrift wird im Rahmen der Öffentlichkeitsarbeit vom Bundesministerium für Bildung und Forschung unentgeltlich abgegeben. Sie ist nicht zum gewerblichen Vertrieb bestimmt. Sie darf weder von Parteien noch von Wahlwerberinnen/Wahlwerbern oder Wahlhelferinnen/Wahlhelfern während eines Wahlkampfes zum Zweck der Wahlwerbung verwendet werden. Dies gilt für Bundestags-, Landtags- und Kommunalwahlen sowie für Wahlen zum Europäischen Parlament.

Misbräuchlich ist insbesondere die Verteilung auf Wahlveranstaltungen und an Informationsständen der Parteien sowie das Einlegen, Aufdrucken oder Aufkleben parteipolitischer Informationen oder Werbemittel. Untersagt ist gleichfalls die Weitergabe an Dritte zum Zwecke der Wahlwerbung.

Unabhängig davon, wann, auf welchem Weg und in welcher Anzahl diese Schrift der Empfängerin/dem Empfänger zugegangen ist, darf sie auch ohne zeitlichen Bezug zu einer bevorstehenden Wahl nicht in einer Weise verwendet werden, die als Parteinahme der Bundesregierung zugunsten einzelner politischer Gruppen verstanden werden könnte.



Bundesministerium
für Bildung
und Forschung

