

**Aus dem  
Institut für Zoo- und Wildtierforschung (IZW)  
im Forschungsverbund Berlin e.V.**

**eingereicht über die Professur für Interdisziplinäre Zoo- und Wildtierkunde  
des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin**

**Seroepizootiologische Untersuchungen von Infektionskrankheiten bei  
freilebenden Breit- und Spitzmaulnashörnern in verschiedenen Ländern**

**Afrikas**

**INAUGURAL-DISSERTATION  
zur Erlangung des Grades eines  
DOKTORS DER VETERINÄRMEDIZIN  
an der Freien Universität Berlin**

**vorgelegt von**

**CAROLA FISCHER**

**Tierärztin aus Hagen/Westf.**

**Berlin 1998**

**Journal-Nr. 2158**

GEDRUCKT MIT GENEHMIGUNG  
DES FACHBEREICHS VETERINÄRMEDIZIN  
DER FREIEN UNIVERSITÄT BERLIN

Meiner Familie

für die immer uneingeschränkte  
liebevolle Unterstützung  
gewidmet.

Dekan: Univ. Prof. Dr. K. Hartung  
Erster Gutachter: Univ. Prof. Dr. R.R. Hofmann  
Zweiter Gutachter: Univ. Prof. Dr. H. Ludwig  
Tag der Promotion: 08.05.1998

*Das Nashorn und seine Kinder*

Das Nashorn hat den Gebrauch,  
die Jungen vor sich herzutreiben.  
Es stößt sie, wenn sie stehenbleiben,  
es stößt sie, wenn sie gehen, auch:  
So, daß sie endlich selbst nicht wissen,  
ob sie jetzt stehn, ob laufen müssen.  
Drum, weil's doch immer Stöße gibt,  
tut jedes das, was ihm beliebt.

*Karl Wilhelm Ramler*



## Inhaltsverzeichnis

### Inhaltsverzeichnis

<b>1 EINLEITUNG.....</b>	<b>1</b>
<b>2 LITERATURÜBERSICHT.....</b>	<b>3</b>
<b>2.1 Nashörner.....</b>	<b>3</b>
2.1.1 Systematik und physiologische Daten .....	3
2.1.2 Verbreitung .....	4
2.1.3 Rückgangsursachen .....	5
<b>2.2 Infektionskrankheiten .....</b>	<b>5</b>
2.2.1 Virale Erkrankungen der Nashörner .....	5
2.2.1.1 Virale Erkrankungen von Wildtieren in Afrika mit potentieller Bedeutung für das Nashorn.....	7
2.2.2 Bakterielle Erkrankungen der Nashörner.....	8
2.2.3 Protozoen- Erkrankungen der Nashörner.....	10
<b>2.3 Beschreibung der untersuchten Krankheiten.....</b>	<b>11</b>
<b>2.3.1 Viruserkrankungen.....</b>	<b>11</b>
2.3.1.1 Afrikanische Pferdepest (AHS) .....	11
2.3.1.2 Blauzungenkrankheit (BT).....	12
2.3.1.3 Infektiöse bovine Rhinotracheitis/ Infektiöse Pustulöse Vulvovaginitis (IBR/IPV) .....	12
2.3.1.4 Virusabort der Stuten (EHV-1) .....	13
2.3.1.5 Bovine Virus Diarrhoe/Mucosal Disease (BVD/MD).....	14
2.3.1.6 Enzephalomyokarditis (EMC).....	15
2.3.1.7 Parainfluenza 3 (PI 3)-Infektion .....	16
2.3.1.8 Rifttafieber (RVF) .....	16
2.3.2 Bakterielle Erkrankungen.....	17
2.3.2.1 Leptospirose.....	17
2.3.2.2 Brucellose .....	18
2.3.3 Parasiten.....	19
2.3.1 Beschälseuche der Pferde (Trypanosomen).....	19
<b>3 ZIELE .....</b>	<b>20</b>
<b>4 MATERIAL UND METHODEN.....</b>	<b>21</b>
<b>4.1 Untersuchungsgegenstand:.....</b>	<b>21</b>
<b>4.2 Untersuchungsgebiete.....</b>	<b>22</b>
<b>4.3 Probenmaterial .....</b>	<b>23</b>
<b>4.4 Labordiagnostik .....</b>	<b>25</b>

## Inhaltsverzeichnis

---

4.4.1 Seren .....	25
4.4.2 Zellkulturen: .....	26
4.4.3 Infektionserreger .....	27
4.4.4 Virusvermehrung .....	27
4.4.5 Leptospirananzucht .....	28
4.4.6 Virustitration .....	29
4.4.6.1 Virustitration für den Virusneutralisationstest (VNT) .....	29
4.4.6.2 Virustitration für den Hämaggulinationshemmttest (HAH) .....	29
4.4.7 Testverfahren .....	30
4.4.7.1 Virusneutralisationstest (VNT) .....	30
4.4.7.2 Hämaggulinationshemmttest (HAH) .....	31
4.4.7.3 Kompetitiver Enzyme Linked Immunosorbant Assay (ELISA) .....	32
4.4.7.4 Mikroagglutinationsreaktion (MAR) für den Nachweis von Antikörpern gegen Leptospiren .....	34
4.4.7.5 Indirekter Immunfluoreszenztest (IIF) zum Nachweis von EHV-1 Antikörpern .....	35
4.4.7.6 Komplementbindungsreaktion (KBR) zum Nachweis von Antikörpern gegen <i>Brucella abortus</i> und <i>Trypanosoma equiperdum</i> .....	35
4.5 Statistik .....	37
<b>5 ERGEBNISSE .....</b>	<b>38</b>
5.1 Anzahl positiver Reagenzien für die untersuchten Infektionskrankheiten bei freilebenden Nashörnern .....	38
5.2 Artspezifische Unterschiede in der Exposition zu verschiedenen Erregern..	42
5.3 Geographisch-epizootiologische Unterschiede .....	44
5.3.1 Afrikanische Pferdepest (AHS) .....	44
5.3.2 Blauzungenerkrankung (BT) .....	44
5.3.3 Bovines Herpes Virus -1 (BHV-1) .....	46
5.3.4 Equines Herpes Virus-1 (EHV-1) .....	46
5.3.5 Bovine Virus Diarrhoe Virus (BVDV) .....	48
5.3.6 Parainfluenza 3- Virus (PI 3) .....	48
5.3.7 <i>Leptospira grippotyphosa</i> .....	50
5.3.8 <i>Leptospira tarassovi</i> .....	50
5.3.8 <i>Leptospira bratislava</i> .....	52
5.3.9 <i>Leptospira copenhageni</i> .....	52
5.4 Mehrfachinfektionen .....	55
<b>6 DISKUSSION .....</b>	<b>57</b>
6.1 Die Bedeutung von seroepizootiologischen Untersuchungen bei bedrohten Wildtierarten .....	57

## Inhaltsverzeichnis

---

<b>6.2 Methodenkritik .....</b>	<b>58</b>
6.2.1 Probenmaterial .....	58
6.2.2 Statistik .....	58
6.2.3 Laboruntersuchungen .....	59
6.2.3.1 Kompetitiver ELISA für den Nachweis von Antikörpern gegen Afrikanische Pferdepest (AHS) und Blauzungenerkrankung (BT) .....	59
6.2.3.2 Virusneutralisationstest für den Nachweis von Bovinen Herpesvirus-1 (BHV-1)-, Bovinen Virusdiarrhoevirus (BVDV)- und Enzephalomyokarditisvirus (EMCV)-Antikörpern .....	60
6.2.3.3 Indirekter Immunfluoreszenztest (IIF) für den Nachweis von Equinen Herpesvirus-1 (EHV-1)- Antikörpern .....	60
6.2.3.4 Hämaggulinationshemmttest (HAH) für den Nachweis von Parainfluenza 3-Antikörpern .....	61
6.2.3.5 Nachweis von Antikörpern gegen Riftalfeber (RVF) .....	61
6.2.3.6 Mikroagglutinationsreaktion (MAR) für den Nachweis von Leptospirenantikörpern .....	61
6.2.3.7 Komplementbindungsreaktion (KBR) für den Nachweis von Brucellenantikörpern .....	62
6.2.3.8 Komplementbindungsreaktion für den Trypanosomenantikörpernachweis .....	62
<b>6.3 Anzahl positiver Reagenzien für die untersuchten Infektionskrankheiten bei freilebenden Nashörnern in den verschiedenen Gebieten .....</b>	<b>63</b>
6.3.1 Afrikanische Pferdepest (AHS) .....	63
6.3.2 Blauzungenerkrankung (BT) .....	64
6.3.3 Bovines Herpes Virus- 1 (BHV-1) Infektion .....	65
6.3.4 Equines Herpes Virus- 1 (EHV-1) Infektion .....	65
6.3.5 Bovine Virus Diarrhoe/ Mucosal Disease (BVD/MD) .....	67
6.3.6 Parainfluenza 3-Infektion (PI 3) .....	67
6.3.7 Enzephalomyokarditis (EMC) .....	68
6.3.8 Riftalfeber (RVF) .....	68
6.2.9 Beschälseuche der Pferde ( <i>Trypanosoma equiperdum</i> ) .....	69
6.3.10 Brucellose .....	69
6.3.11 Leptospirose .....	70
<b>6.4 Mehrfachinfektionen von einzelnen Tieren .....</b>	<b>71</b>
<b>6.5 Artspezifische Unterschiede in der Exposition zu verschiedenen Erregern..</b>	<b>72</b>
<b>6.6 Schlußfolgerungen .....</b>	<b>73</b>
<b>7 ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>74</b>
<b>8 SUMMARY .....</b>	<b>76</b>
<b>9. LITERATUR .....</b>	<b>78</b>

## **1 Einleitung**

Nashörner gehören in Afrika zu den am meisten bedrohten Säugetierarten. Sowohl das Spitzmaulnashorn (*Diceros bicornis*) als auch das Breitmaulnashorn (*Ceratotherium simum*) sind durch fortschreitende Zerstörung ihrer Lebensräume gefährdet. Aufgrund der Bedeutung von Nashornpulver in der traditionellen chinesischen Medizin ist die Wilderei eine große Bedrohung für die Population (Foose, 1993). Die Erhaltung von freilebenden Nashörnern in Afrika ist eines der wichtigen Ziele des Artenschutzes in Afrika (Cumming et al., 1990).

Die Verbreitung von Nashörnern beschränkt sich mehr und mehr auf intensive Schutzgebiete. Für kleine Populationen in begrenztem Räumen können „natürliche“ Katastrophen, wie z.B. Dürre oder Epidemien, eine schwerwiegende Gefahr werden (Thorne, 1990). Weiterhin kommt es in diesen künstlich begrenzten Lebensräumen durch hohe Wilddichte zu einem vermehrten Kontakt zwischen Nashörnern und anderen Wildtieren (z.B. an den Wasserlöchern). Dabei besteht die erhöhte Gefahr des Auftretens von Infektionskrankheiten und Parasiten (Fink, 1982). Des Weiteren werden Nashörner im Rahmen von Schutzmaßnahmen häufig akuten Streßsituationen ausgesetzt, wie z.B. durch Fang, Immobilisation, Translokation oder Registrierung und Markierung. Es ist bekannt, daß Streß ein entscheidender immunsuppressiver Faktor ist, der einerseits zu einer erhöhten Anfälligkeit für Infektionskrankheiten und andererseits zum Ausbruch inapparenter Infektionen führen kann.

Daneben können Wildtiere für die Erhaltung eines Infektionskreislaufes innerhalb eines Naturherdes von großer Bedeutung sein. Aufgrund der Möglichkeit, als latente Infektionsquelle zu fungieren, ist es wichtig, die Bedeutung von Wildtieren als potentielle Reservoirwirte zu überprüfen. Die Rolle von Nashörnern im epizootischen Prozeß der verschiedenen Infektionskrankheiten ist weitgehend ungeklärt. Für Translokationen in neue Gebiete oder Export in ausländische Zoos und Parks können serologische Arbeiten wichtige Hinweise zur Notwendigkeit von seuchenhygienischen Tests geben.

Bisher sind Untersuchungen von Infektionskrankheiten bei wildlebenden Nashörnern nur in Einzelfällen und nur auf wenige Krankheiten hin durchgeführt worden (Bigalke et al., 1970; Erasmus, 1967; Jessup et al., 1992; Sheppard et al., 1987). In dieser

Arbeit wird erstmals ein großes Spektrum verschiedener Infektionskrankheiten bei Nashörnern serologisch untersucht.

Die Ergebnisse sollen die Exposition und die Empfänglichkeit von afrikanischen Nashörnern für die verschiedenen Erreger transparent machen. Sie bilden die Grundlage für weiterführende bakteriologische und virologische Untersuchungen.

## 2 Literaturübersicht

### 2.1 Nashörner

#### 2.1.1 Systematik und physiologische Daten

Die Ordnung der Unpaarhufer (*Perissodactyla*) umfaßt zwei Unterordnungen: die Pferdeverwandten (*Hippomorpha*) mit der Familie der Einhufer (*Equidae*) und die Nashornverwandten (*Ceratomorpha*) mit der Familie der Tapire (*Tapiridae*) sowie der Familie der Nashörner (*Rhinocerotidae*) (Lang, 1976).

Diese Arbeit konzentriert sich ausschließlich auf afrikanische Nashornarten: die Spitzmaulnashörner (*Diceros*) mit einer Art, dem Spitzmaulnashorn (*Diceros bicornis Linneaus, 1758*), und die Breitmaulnashörner (*Ceratotherium*) mit einer Art, dem Breitmaulnashorn (*Ceratotherium simum, Burchell 1817*).

Das Spitzmaulnashorn („schwarzes Nashorn“) ist die kleinere Art und hat seinen Namen von der verlängerten Oberlippe, die als Greifzunge dient. Spitzmaulnashörner haben zwei Hörner, wobei das vordere meist größer ist. Sie leben in der Buschsavanne und ernähren sich von Zweigen, von Sträuchern und kriechenden Pflanzen („Browser“). Das Spitzmaulnashorn ist Einzelgänger (Grzimek, 1987).

Das Breitmaulnashorn oder „weiße Nashorn“ erreicht ein Stockmaß von bis zu zwei Metern und wird bis zu 3 Tonnen schwer. Wie das Spitzmaulnashorn hat es zwei Hörner. Im Gegensatz zum Spitzmaulnashorn ist es ein Grasfresser „Grazer“ und lebt in Savannengebieten mit großen Grasflächen, bzw. licht stehenden Baum- und Buschgruppen. Weibliche Tiere und Mutter-Kind-Einheiten leben in größeren Ansammlungen (Klöß, 1987).

Tab. 1: Biologische und physiologische Daten der Nashörner (nach Lang, 1976; Jones, 1982; Puschmann, 1983; Rüdi, 1983; Göltzenboth und Franke, 1990)

Tierart	Geburts- gewicht in kg	Körper- gewicht, in adult, in kg	Lebenser- wartung in Jahren (max.)	Körper- temperatur in °C	Atem- frequenz	Pulsfrequenz
Spitzmaul- nashorn	30-45	1000-1400	ca. 45	36,8-38,5	11-15	25-35
Breitmaul- nashorn	35-50	1700-2100	ca. 38	36,5-38,0	12-14	25-30

### 2.1.2 Verbreitung

1929 war mit weniger als 100 in ganz Afrika verbliebenen Breitmaulnashörnern der Tiefststand der Population erreicht. Im Hluhluwe/Umflozi National Park gibt es durch intensive Schutzmaßnahmen heute wieder ca. 6000 Tiere. Davon konnten einige in verschiedene Länder Afrikas umgesiedelt werden (Walker, 1994).

Im Gegensatz dazu hat sich die Anzahl der Spitzmaulnashörner in den letzten Jahrzehnten drastisch verringert. Konnten Anfang der Siebziger Jahre noch 65.000 Exemplare gezählt werden, so ist die Zahl der Tiere bis 1993 auf etwa 2.000 zurückgegangen (Potter, 1994).

Tab. 2: Derzeitige Bestände der afrikanischen Nashörner in menschlicher Obhut und in der Wildbahn (mod. nach Götzenboth, 1995)

Tierart	in menschlicher Obhut	in der Wildbahn
Spitzmaulnashorn	;	
<i>Diceros bicornis michaelis</i>	165	1100
<i>Diceros bicornis minor</i>	45	1250
Breitmaulnashorn		
<i>Ceratotherium s. simum</i>	630	6740
<i>Ceratotherium s. cottoni</i>	9	30

Tab. 3: Stand der Nashornpopulationen in Afrika (Potter, 1994)

Land	Spitzmaulnashörner	Breitmaulnashörner
Botswana	5	27
Kamerun	35	
Schad	2	
Äthiopien	6	
Kenia	414	
Malawi	5	74
Namibia	489	
Ruanda	15	91
Südafrika	819	
Swaziland	6	5297
Tansania	127	46
Sambia	40	
Simbabwe	425	6
Zaire		249
		31

### 2.1.3 Rückgangsursachen

Die Wilderei stellt die größte Bedrohung freilebender Nashörner dar. Das Horn der beiden Nashornarten hat in einigen asiatischen Ländern große kulturelle Bedeutung. Feingeschnitzte Dolchgriffe aus Nashornhörnern sind wertvolle Statussymbole. In der traditionellen asiatischen Medizin kennt man ca. 100 verschiedene Arzneimittelrezepte, die Nashornpulver oder andere Nashornprodukte enthalten (But et al., 1990). Es wird z.B. als "Kälte-Medikament" angewendet, d.h. es wird verwendet, um überschüssige Hitze abfließen zu lassen. Übersetzt in westliche Medizin entspricht das einem Antipyretikum, einem fiebersenkenden Mittel. Es wird darüber hinaus zur Entgiftungstherapie bei über 100 toxischen Substanzen angewendet, wie zum Beispiel bei Schlangenbissen (Nowell et al., 1992). Als Aphrodisiakum, d.h. als potenzsteigerndes Mittel, hat es nur untergeordnete Bedeutung (Martin und Martin, 1985).

### 2.2 Infektionskrankheiten

#### 2.2.1 Virale Erkrankungen der Nashörner

Über virale Krankheiten bei Nashörnern liegen bisher nur wenige Mitteilungen vor, in denen hauptsächlich über Erkrankungen von in Zoologischen Gärten oder anderweitig in menschlicher Obhut gehaltenen Nashörnern berichtet wird.

Grünberg und Burtscher (1966) sowie Mayr und Mahnel (1970) berichten über eine pockenähnliche Erkrankung, bei der aus den Hautläsionen das Hühnerpoxvirus *Avipox gallinae* isoliert werden konnte. Schaller und Pilaski (1979) und Pilaski et al. (1986) berichten von einer Pockenvirusinfektion im Frankfurter Zoo. Durch direkten Virusnachweis aus Pockenpusteln oder -krusten konnten mit Hilfe der Elektronenmikroskopie Viruspartikel aus der Gruppe der "Kuhpockenähnlichen Viren" (Genus *Orthopoxviren*) dargestellt werden. Es gibt keine Berichte von Pockenerkrankungen bei freilebenden Nashörnern.

Götzenboth (1988) äußert den Verdacht einer Herpesvirusinfektion bei Spitzmaulnashörnern im Zoo Berlin aufgrund des klinischen Bildes bei einer infektiösen Dermatitis mit Haut- und Schleimhautveränderungen. Der Verdacht wurde

## Literaturübersicht

begründet mit der Darstellung herpesvirusähnlicher Partikel in elektronenmikroskopischen Präparaten, die zum einen aus den Hautläsionen der betroffenen Tiere und zum anderen aus Veränderungen der mit Borkenmaterial beimpften Chorionallantoismembran bebrüteter Hühnereier stammten. Eine Virusisolierung gelang nicht. Inwieweit Alphaherpesviren anderer Tierarten (z.B. BHV-1 oder EHV-1) von Bedeutung sind, ist derzeit ungeklärt.

Mehrere Artikel berichten über Todesfälle von in menschlicher Obhut gehaltenen Nashörnern durch eine Enzephalomyokarditisinfektion (EMC) (Gaskin et al., 1980; Olsen, 1989). Wells et al. (1989) fanden im Zuge einer epizootiologischen Studie in Zoologischen Gärten in Florida Antikörper gegen das EMC-Virus bei 20 verschiedenen Wildtierarten, unter anderem bei einem südamerikanischen Tapir (*Tapirus terrestris*) und bei einem Spitzmaulnashorn. Bengis (1996) berichtet über einen EMC-Ausbruch bei Afrikanischen Elefanten (*Loxodonta africana*) im Krüger National Park. Antikörperprävalenzen von bis zu 53% sind beim Elefanten nachgewiesen worden. Berichte über eine Seroprävalenz von EMCV-Antikörpern beim Nashorn liegen gegenwärtig nicht vor.

Im Rahmen serologischer Untersuchungen bei Wildtieren wurden Antikörper gegen verschiedene Viren u.a. auch bei Nashörnern nachgewiesen.

Sheppherd et al. (1987) untersuchten Seren von 87 Spezies und wiesen Antikörper gegen das Virus des Krim-Kongo-Hämorrhagischen Fiebers beim Nashorn nach. Vier von acht Seren von freilebenden Breitmaulnashörnern waren im reversen passiven Hämagglutinationshemmtest positiv. Von den fünf untersuchten Seren von Spitzmaulnashörnern waren drei positiv.

Erasmus und Boshoff (1967) führten eine serologische Studie über das Vorkommen von Antikörpern gegen Parainfluenza 3 (PI 3) bei Haus- und Wildtieren in Südafrika durch. In 627 Serumproben von 29 verschiedenen Tierarten fanden die Wissenschaftler bei vier Breitmaulnashörnern Antikörper gegen PI 3.

Mukherjee et al. (1984) berichtete über ein Spitzmaulnashorn, das an Tollwut verendet war.

## Literaturübersicht

### 2.2.1.1 Virale Erkrankungen von Wildtieren in Afrika mit potentieller Bedeutung für das Nashorn

Bengis und Erasmus (1988) und Bengis (1996) berichten über die aktuellen Infektionskrankheiten bei Wildtieren im Krüger-Nationalpark in Südafrika. Als ökonomisch wichtigste Krankheit nennen sie die Maul- und Klauenseuche (MKS). Es scheint aber gesichert, daß Perissodactyla nicht empfänglich sind für die verschiedenen Typen des MKS-Virus (Bengis, 1996).

Antikörper gegen das Bluetongue (BT)-Virus sind bei den verschiedenen Wildtierarten in Afrika nachgewiesen worden. Wildlebende Wiederkäuer können auch erkranken und werden als Virusreservoir diskutiert (Mayr et al., 1984). Es wird vermutet, daß BT in Afrika eine Virusinfektion der Wildtiere war und auf die eingeführten europäischen Haustierrassen übergegangen ist (Verwoerd und Erasmus, 1994).

Nah verwandt mit dem BT-Virus ist das Afrikanische Pferdepest (AHS)-Virus. Bei Zebras (*Equus burchelli*) konnten Antikörper gegen dieses Virus nachgewiesen werden (Hamblin et al., 1990; Barnard und Paweska, 1993). Da die Wildtiere nicht erkranken, vermutet man in ihnen einen primären Wirt oder ein Virusreservoir. Inwieweit Nashörner als Reservoir in Frage kommen, muß noch geklärt werden.

Rifttafieber (RVF) ist vor allem für den Kaffernbüffel (*Syncerus caffer*) von Bedeutung. Auch bei Flusspferden (*Hippopotamus amphibius*) und Elefanten wurden serologisch Antikörper gegen das RVF-Virus gefunden (Bengis und Erasmus, 1988). Hamblin et al. (1990) untersuchten in Tansania Wildtierseren von 8 Spezies auf Antikörper gegen Bovines Herpesvirus-1 (BHV-1). Sie konnten in 32% (n=143) der Seren Antikörper gegen BHV-1 im Virusneutralisationstest nachweisen.

Hamblin und Hedger (1979) wiesen in Seren von 17 verschiedenen Wildtierarten aus neun afrikanischen Staaten neutralisierende Antikörper gegen das Virus der Bovinen Virusdiarrhoe (BVDV) nach. Der Gesamtanteil seropositiver Tiere betrug 24,5%. Bei anderen Untersuchungen konnten bei fast allen Haus- und Wildwiederkäuern Expositionen zu BVDV nachgewiesen werden (Baker et al., 1957; Nettleton, 1990)

## 2.2.2 Bakterielle Erkrankungen der Nashörner

Freilebende und vom Menschen gehaltene Nashörner sind sehr empfänglich für bakterielle Infektionen. Clausen und Ashford (1980) untersuchten 30 Nashörner in menschlicher Obhut in Kenia, um die physiologische und pathologische Bakterienflora von Nashörnern zu bestimmen.

*Staphylococcus aureus* konnte bei 3 Nashörnern isoliert werden, wobei ein Nashorn an einer Staphylokokkenseptikämie verendete. Ein weiteres Nashorn verendete 10 Tage nach dem Fang an einer akuten Pneumonie. Aus der Lunge wurden Gruppe L-Streptokokken isoliert, aus anderen Organen *Salmonella* *weltevreden*.

*Salmonellen* gehören zu den am häufigsten vorkommenden bakteriellen Pathogenen bei Nashörnern. Meist führten Infektionen zu Enteritiden oder Septikämien. Lakshmana et al. (1984) sowie Page und Schmidt (1987) berichten über tödliche Salmonellosen bei Nashörnern. Die Diagnose von Salmonellose wurde über die klinische Symptomatik und den kulturellen Nachweis bestätigt. In anderen Fällen von Enteritiden beim Nashorn wurden *Klebsiellen* (Jones, 1979) und *Pseudomonaden* (Thompson et al., 1949; Jones, 1979; Griner, 1983) isoliert.

Mbise et al. (1984) berichten über einen Milzbrandausbruch im Lake Manyara National Park in Tansania, bei dem vier Spitzmaulnashörner ums Leben gekommen sind. Turnbull et al. (1989) berichten über vier Milzbrand-seropositive Nashörner im Etosha Nationalpark. Die Tiere waren zuvor gegen Milzbrand geimpft worden.

Im Zusammenhang mit Krankheits- und Todesfällen von Nashörnern in Zoos ist häufig eine hämolytische Anämie (H.A.) beschrieben worden. Hämolytisch-anämische Krisen wurden 47mal bei 39 Nashörnern beobachtet (Miller, 1994). Man unterscheidet dabei die primären von den sekundären Erkrankungen. Bei letzteren tritt die H.A. als Begleiterscheinung einer anderen Krankheit auf. Viele Berichte weisen darauf hin, daß die Leptospirose bei akuten Fällen die häufigste Ursache der H.A. ist (Jessup et al., 1992). Tatsächlich wurden in den meisten Fällen Titer gegen Leptospiren mit dem Fluoreszenz-Antikörpertest nachgewiesen. Hämolsiderose kann als Folge von wiederkehrender H.A. interpretiert werden (Kock et al., 1992). Es müssen allerdings noch weitere Ursachen für die H.A. in Betracht gezogen werden, wie zum Beispiel ein zu niedriger Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase (G-6-PD)-gehalt in den Erythrozyten der Nashörner (Miller, 1994). Hingegen können Vitamin E-Mangel (Dierenfeld et al., 1988), Autoimmunkrankheiten (Chaplin et al.,

1986) oder unstabiles Hämoglobin (Fairbanks und Miller, 1990) ausgeschlossen werden. Ein Zusammenhang mit der Hypophosphatämie wird noch untersucht. Jessup et al. (1992) untersuchten Seren von 72 freilebenden und in menschlicher Obhut gehaltenen Spitzmaulnashörnern aus Simbabwe und Namibia auf Antikörper gegen 8 verschiedene Leptospiren-Serovare mit dem Mikroagglutinationstest. Sie fanden bei 38 Tieren Titer von  $\geq 1:100$  gegen mindestens ein Serovar.

Brucellose ist in Afrika weit verbreitet und bei vielen Wildtierarten nachgewiesen worden. Im Rahmen von Untersuchungen bei Wildtieren auf Brucellose wurden Seren von Breitmaulnashörnern getestet, die allerdings negativ waren (Roth, 1965; Moore et al., 1981).

Nashörner sind auch empfänglich für Infektionen mit Clostridien. Chaffe (1968) und Wallach und Boever (1983) berichten von dem Tod eines Spitzmaulnashornes durch eine Infektion mit *Clostridium sordellii*. Schröder (1978) berichtet über drei Nashörner, die an einer Clostridien-Enterotoxämie verendet sind. Der Tod zweier Spitzmaulnashörner im Krüger-Nationalpark (Südafrika) wird anhand der Anamnese und der typischen klinischen Symptome auf eine Botulismusvergiftung zurückgeführt.

Tuberkulose ist bei Nashörnern häufig beschrieben worden. Powers und Price (1967), Keep und Basson (1973), Mann et al. (1981), Dalovisio et al. (1992) und Barbiers (1994) berichten von Infektionen mit *Mycobacterium bovis* oder *M. tuberculosis* bei freilebenden und in Zoo gehaltenen Nashörnern.

Kock et al. (1992) führten eine Studie über die Seroprävalenz von Antikörpern gegen *Cowdria ruminantium*, den Erreger der "Heartwater Disease", bei freilebenden Spitz- und Breitmaulnashörnern in Simbabwe durch. Dabei reagierten 19 von 65 Spitzmaulnashörnern und 44 von 58 Breitmaulnashörnern im Enzym-linked-imunosorbant-assay (ELISA) positiv.

### 2.2.3 Protozoen- Erkrankungen der Nashörner

Latente Infektionen mit parasitären Protozoen im Blut, wie Trypanosomen, Babesien und Theilerien, sind bei Nashörnern in Afrika weit verbreitet.

*Trypanosoma brucei*, *Trypanosoma congolense* und *Trypanosoma vivax* sind beim Spitzmaulnashorn beobachtet worden (Mihock et al., 1992). In Tansania sind junge Nashörner 9-25 Tage nach dem Fang an *Trypanosomiasis* eingegangen (McCulloch und Achard, 1969). Im Zambezi-Tal (Simbabwe) werden Verluste von vier bis fünf Breitmaulnashörnern auf Trypanosomen zurückgeführt. Diese Nashörner stammten aus der KwaZulu (Natal)-Provinz, die frei von dem Überträger, der Tse-Tse-Fliege ist (Taylor, 1986). Bei Breitmaulnashörnern traten im Meru-Nationalpark Symptome chronischer Trypanosomiasis auf, nachdem sie von KwaZulu (Natal) nach Kenia gebracht worden waren (Mihock et al., 1992).

Eine noch unbenannte Babesienart wird bei einem Spitzmaulnashorn aus dem Tsavo National Park in Kenia und im Blut von zwei Breitmaulnashörnern in KwaZulu (Natal) beschrieben (Bigalke et al., 1970). Kleine Piroplasmen, entweder Babesien oder Theilerien, sind bei 34 von 106 (32,1%) Breitmaulnashörnern in KwaZulu, Natal und bei Spitzmaulnashörnern in Kenia beschrieben worden (Brocklesby, 1967; Bigalke et al., 1970). McCulloch und Achard (1969) führen den Tod von zwei Spitzmaulnashörnern auf eine Babesieninfektion zurück.

Im Zusammenhang mit Durchfallerkrankungen sind bei im Zoo gehaltenen Nashörnern *Balantidium coli* (Jones, 1983), Trichomonaden und Kokzidien- Oozysten gefunden worden (Beehler und Bush, 1981).

### 2.3 Beschreibung der untersuchten Krankheiten

#### 2.3.1 Viruserkrankungen

##### 2.3.1.1 Afrikanische Pferdepest (AHS)

Die AHS (engl.: African horsesickness) ist eine perakut bis akut verlaufende Erkrankung der Einhufer, die saisonal auftritt. Der Erreger gehört in die Familie der Reoviridae zur Gruppe der viscerotropen Orbiviren. Es sind gegenwärtig neun verschiedene Serotypen differenziert worden, die eine unterschiedliche Virulenz aufweisen (Mayr et al., 1984).

Die Inkubationszeit beträgt 10 Tage. Das Virus vermehrt sich zuerst im lymphatischen Gewebe und kann dort 2 Tage p.i. nachgewiesen werden. Außerdem hat das Virus eine hohe Affinität zu Endothelzellen der Lungenkapillaren, sowie zu Blut- und Lymphgefäßen in der Kopf- und Halsregion. Der Erreger verursacht in diesen Zellen eine Permeabilitätsverhöhung, die zu Ödemen in den Lungenalveolen und im Kopf- und Halsbereich führt. Die Folge ist Tod durch Ersticken oder Herzversagen. Man unterscheidet vier klinische Formen: eine perakute pulmonale Form, eine chronische kardiale Form, eine gemischte Form und eine abortive Form (Coetzer und Erasmus, 1994).

Die Afrikanische Pferdepest wird durch Stechmücken übertragen, vor allem *Culicoides imicola*. Das Virus vermehrt sich in den Speicheldrüsen der Insekten und wird mit dem Saugakt übertragen. Zum Wirtsspektrum gehören hauptsächlich Equiden, aber auch Ziegen und Schafe können erkranken. Hunde und Frettchen können sich durch die Aufnahme von Pferdefleisch infizieren. Auch bei Afrikanischen Elefanten wurde das Virus nachgewiesen (Erasmus et al., 1978).

Die Verbreitung der Krankheit ist an ihren Vektor gebunden. Sie ist endemisch in warmen, feuchten Gebieten, insbesondere Flussniederungen, Sumpfgebieten und Küstensteifen. In der heißen, feuchten Jahreszeit ist das Infektionsrisiko am größten. Die Krankheit ist in ganz Afrika endemisch (Picard, 1989).

Die Einschleppung des Virus kann durch virämische Tiere oder infizierte Vektoren mit dem Wind, sowie mechanisch mit Transportmitteln wie Auto und Flugzeug erfolgen.

### 2.3.1.2 Blauzungenkrankheit (BT)

BT (engl.: Bluetongue) wird von einem Orbivirus aus der Familie der Reoviridae verursacht. Es sind 24 verschiedene Serotypen bekannt. Die natürlichen Wirte sind Wiederkäuer.

BT ist eine zyklische Allgemeininfektion. Primäre Virusvermehrung findet in der Milz, den Tonsillen und Körperlymphknoten statt. Nach einer Inkubationszeit von 3-7 Tagen treten mit Erhöhung der Körpertemperatur auf 40 - 42°C die ersten klinischen Symptome auf. Das Virus besitzt eine hohe Affinität zu Endothelien. Die Zerstörung dieser Endothelien führt zu Gefäßverengungen, Kreislaufstörungen sowie Diapedesisblutungen. Ödeme und Zyanosen der Kopfschleimhaut sind pathognostisch. In der Maulschleimhaut treten Erosionen auf, die sich regelmäßig bakteriell infizieren. An den Klauen kommt es durch Blutstau zu pathologischen Veränderungen. Feten und Embryonen können durch plazentaren Übertritt des Virus intrauterin infiziert werden. Mißbildungen und Aborte sind die Folge. Bei subakutem Verlauf sind die Veränderungen weniger ausgeprägt.

Bei Tieren, die eine Infektion überstanden haben, findet man für mindestens zwei Jahre einen hohen Neutralisationstiter.

Übertragen wird das Virus durch blutsaugende Insekten, insbesondere Culicoides, Moskitos und Zecken. Das Auftreten der Krankheit ist somit mit dem Lebenszyklus der Insekten verbunden, d.h. im feuchtwarmen Sommer treten vermehrt Erkrankungen auf. Über Vektoren kann der Erreger bis zu 200 km verweht werden.

In Südafrika wurde die Seuche 1906 erstmals beobachtet. Mit dem Export von Merinolandschafen wurde sie in weitere afrikanische Länder verbreitet. Freilebende Wildtiere werden als Virusträger angesehen, was für den Fleisch- und Tierexport von großer Bedeutung ist. In mehreren Antilopenarten wurden Antikörper nachgewiesen (Neitz, 1933; Walker und Davies, 1971, Simpson, 1979), ohne daß jedoch Erkrankungen beobachtet werden konnten.

### 2.3.1.3 Infektiöse bovine Rhinotracheitis/ Infektiöse Pustulöse Vulvovaginitis (IBR/IPV)

Das Bovine Herpesvirus-1 ist der Erreger der IBR/IPV. Das Virus ist weltweit verbreitet und ruft als gefährliche Tierseuche erhebliche Schäden durch Erkrankungen, Leistungseinbußen und Todesfälle hervor.

Wie die meisten anderen Vertreter aus der Gruppe der Herpesviren zeichnet sich auch BHV-1 durch latente Infektionen aus (van Oirschot et al., 1993). Man muß damit rechnen, daß alle Tiere mit Antikörpern gegen BHV-1 als mögliche Virusträger und Dauerausscheider fungieren können. Natürliche Infektionen kommen bei Ziegen, Schafen, Schweinen und einer Reihe von Wildwiederkäuern vor (Wyler et al., 1989). Das BHV-1 ist zwar immunologisch einheitlich, die verschiedenen Stämme weisen aber unterschiedliche Organ tropismen auf. Unter den Stämmen, die IBR bzw. IPV hervorrufen, gibt es einige, die zu Konjunktivitiden, Aborten, Mastitiden und Enzephalitiden führen (Straub, 1978).

Die Inkubationszeit liegt zwischen zwei und sechs Tagen. Die klinischen Erscheinungen sind gekennzeichnet durch Fieber bis zu 42°C, serösen Nasenausfluß, Hyperämie der Nasenschleimhaut, Dyspnoe und Speichelfluß. Bei der intranasalen Infektion vermehrt sich das Virus in Schleimhäuten der oberen Atemwege und ruft dort seröse oder fibrinöse Entzündungen, in fortgeschrittenen Fällen mit pseudomembranösen Belägen, hervor. Zusätzlich treten Petechien und Nekrosen auf den Schleimhauten auf (Rolle et al., 1984). Die Virusausscheidung dauert maximal 12 Tage.

Die Einschleppung von IBR in einen Bestand erfolgt hauptsächlich durch Import von latent infizierten Tieren, wogegen die IPV auch durch kontaminierten Samen übertragen werden kann (Dedek et al., 1981). Die Infektion verläuft hauptsächlich als Tröpfcheninfektion.

Der überwiegende Teil der Infektionen verläuft klinisch inapparent, so daß serologische Untersuchungen vor allem über die Verbreitung, weniger aber über die Krankheitshäufigkeit Auskunft geben (Bauer et al., 1980).

### 2.3.1.4 Virusabort der Stuten (EHV-1)

Mit Hilfe typspezifischer Antiseren können 5 verschiedene Serotypen (EHV-1 bis 5) equiner Herpesviren differenziert werden, von denen EHV-1 und EHV-4 die größte Bedeutung haben und am weitesten verbreitet sind (Crabb und Studdert, 1995). Zwischen beiden Virustypen bestehen enge biologische und immunologische Beziehungen (Rolle et al., 1984). Die equine Herpesvirus-1 Infektion wird als hochkontagiöse, meist fieberrhafte, zyklisch verlaufende Allgemeinkrankheit mit verschiedenen klinischen Erscheinungsbildern beschrieben. EHV-1 Infektionen sind

## Literaturübersicht

die Ursache von vier Krankheitsbildern beim Pferd (Allen und Bryans, 1986; Mumford, 1994):

1. Abort,
2. Rhinopneumonie,
3. Neugeborenen-Syndrom und
4. Paresen oder Paralysen.

Die Übertragung erfolgt durch direkten oder indirekten Kontakt über infektiöse Nasensekrete, abortierte Föten und Plazenten (Schneider, 1994). Die respiratorische Erkrankung beginnt nach einer Inkubationszeit von 2 bis 10 Tagen mit Fieber und Inappetenz, gefolgt von Nasenausfluß, Konjunktivitis und sporadisch auftretendem feuchten Husten. Durch bakterielle Sekundärinfektion kann eine komplizierte Bronchopneumonie entstehen (Mayr et al., 1984). Bei der Abortform können tragende Stuten 14 bis 120 Tage nach Virusexposition im 6. bis 11., meist jedoch im 8. bis 10. Trächtigkeitsmonat verfahren, wobei die tote Frucht in ihren Hüllen in der Regel ohne weitere Krankheitssymptome des Muttertieres ausgetrieben wird. Die spätere Fruchtbarkeit der Stute bleibt unbeeinträchtigt (Campbell und Studdert, 1983). Durch EHV-1 bedingte zentralnervöse Störungen treten meist in Gemeinschaft mit Aborten und/oder respiratorischen Symptomen auf (Wintzer et al., 1987; Ludwig et al., 1987).

Wie bei BHV-1 spielt auch beim EHV-1 die Neigung zur Latenz (Thein und Böhm, 1976; Mumford, 1994) eine große Rolle. Unter natürlichen Bedingungen sind alle Equiden für die EHV-1-Infektion empfänglich. Montali et al. (1985) berichteten über einen Virusabortal bei einem Wildesel in Verbindung mit einer gleichzeitig aufgetretenen Myelitis bei einem Zebra im Nachbarstall. Borchers und Fröhlich (1997) zeigten, daß Bergzebras in Namibia eine hohe Seroprävalenz von EHV-1 Antikörpern haben. Die EHV-1-Infektion des Pferdes ist weltweit verbreitet. In verschiedenen Ländern konnten Antikörper-Prävalenzraten von bis zu 100% nachgewiesen werden.

### 2.3.1.5 Bovine Virus Diarrhoe/Mucosal Disease (BVD/MD)

Das Virus der Bovinen Virusdiarrhoe gehört zusammen mit dem Virus der Border Disease und dem Virus der Europäischen Schweinepest aufgrund der Organisation und Expression ihres Genomes zu dem Genus Pestivirus in die Familie der Flaviviridae (Horzinek, 1991; Thiel et al., 1996). Seroepizootiologische Untersuchungen bei freilebenden Wildwiederkäuern aus verschiedenen Kontinenten

## Literaturübersicht

zeigten, daß zahlreiche Arten Antikörper gegen das Virus der BVD besitzen. Vereinzelt gelang auch die Virusisolierung (Nettleton, 1990; von Campen et al., im Druck).

Die Pestiviren sind weltweit verbreitet und gehören zu den wichtigsten Krankheitserregern bei Rindern und Schafen. Sie verursachen große wirtschaftliche Schäden in der landwirtschaftlichen Produktion (Duffel und Harkness, 1985; Brownlie et al., 1987; Thiel et al., 1996).

Das Virus kommt in zwei Biotypen vor, einem zytopathogenem (zp) und einem nicht zytopathogenem (nzp) Typ (Brownlie, 1991). Die Art der Manifestation der Krankheit hängt 1. von der Zytopathogenität des Virus, 2. vom Immunstatus des Tieres und 3. vom Zeitpunkt der Infektion ab (Liess, 1989). Krankheitsbilder, die mit BVDV-Infektionen beim Rind assoziiert sind, sind auf akute postnatale oder foetale Infektionen zurückzuführen. Die Manifestationen reichen von inapparenten Infektionen, hämorrhagischen Syndromen, foetalen Mißbildungen und Aborten bis zur Mucosal Disease (Baker, 1995; Loken, 1995). Die Bedeutung von BVDV-assoziierten Erkrankungen bei freilebenden Wildtieren ist gegenwärtig noch unbekannt (Nettleton, 1990; Depner et al., 1991).

### 2.3.1.6 Enzephalomyokarditis (EMC)

Das EMC-Virus gehört zu dem Genus der Kardioviren in die Familie der Picornaviren. Bei der natürlichen Infektion des Schweines und der Maus beträgt die Inkubationszeit 2 bis 5 Tage. Das Virus hat eine hohe Affinität zum Myokard. Es kommt zu Myokarditiden, die sich in Nekrosen und Kalzifikationen manifestieren. Das Myokard erscheint blaß und brüchig (Wells et al., 1989). Auf dem Myokard sind Petechien zu sehen. Im Herzbeutel kann es zu großen Ansammlungen von wässrigen und fibrinhaltigen Flüssigkeiten kommen. Der Tod tritt in Folge der Herzmuskelveränderungen durch Lungen- und Leberstauung sowie Kreislaufversagen ein. Im Gehirn können milde, nicht eitrige Enzephalitiden mit perivaskulären Infiltraten und Gliosen auftreten (Simpson et al., 1977).

Die klinischen Erscheinungen sind eher unauffällig. Etwa 24 Stunden vor dem Tod fallen die Tiere durch Apathie, Anorexia und leichte Dyspnoe auf. Das EMC-Virus kommt unter natürlichen Bedingungen bei wildlebenden Nagern vor, von denen es auf Menschen und Haustiere übertragen wird, insbesondere auf das Schwein. Bisher

## Literaturübersicht

wurden Infektionen bei Menschenaffen, Schweinen, Elefanten und Erdhörnchen nachgewiesen (Gainer und Bigler, 1967).

### 2.3.1.7 Parainfluenza 3 (PI 3)-Infektion

Das PI 3-Virus gehört in die Familie der Paramyxoviren. Parainfluenzaviren zählen zu den wichtigen pathogenen Erregern des Respirationstraktes.

PI 3 ist eine Zoonose. Die Übertragung findet durch direkten Kontakt oder Tröpfcheninfektion statt. Das PI 3-Virus wird mit dem Nasensekret 7-8 Tage p.i. ausgeschieden (Woods, 1968).

Infektionen mit PI 3 gehören zu den Faktorenkrankheiten. Zumeist verlaufen PI 3-Infektionen klinisch inapparent, können aber durch endogene oder exogene Stressoren sowie Begleitinfektionen zu schweren Erkrankungen des Respirationstraktes führen.

Bei der Enzootischen Bronchopneumonie des Rindes (Shipping Fever) ist das PI 3-Virus als bedeutender Krankheitsfaktor identifiziert worden (Goswami und Russell, 1982). Beim Rind erzeugt es im Zusammenwirken mit Adeno- und Respiratory-syncytial-Viren, bakteriellen Sekundärinfektionen, Mykoplasmeninfektionen sowie anderen Stressfaktoren schwere Symptome. Dann kommt es zu Entzündungen im oberen Respirationstrakt oder zu Pneumonien. Die Tiere haben hohes Fieber, Atembeschwerden und speichern stark. 5% der Tiere sterben 3-4 Tage nach Auftreten der ersten klinischen Symptome.

Das PI 3-Virus ist weltweit verbreitet.

### 2.3.1.8 Riftvalleyfieber (RVF)

Das RVFV (engl.: Rift Valley Fever Virus) gehört in die Familie der Bunyaviren zu dem Genus der Phleboviren.

Das RVFV wurde 1930 in Ostafrika erstmals isoliert (Daubney und Hudson, 1931). Epizootische Ausbrüche wurden seit 1950 aus vielen Ländern der Sub-Sahara berichtet. Die nördliche Grenze war der Sudan. Die Ausbrüche treten in einem Gebiet sporadisch auf, und die interepizootischen Intervalle können viele Jahre dauern (Eddy und Peters, 1980). RVFV wird von einem großen Spektrum an Mosquitoarten und auch von Wirbeltieren übertragen. Es wird diskutiert, ob der Wildtier-Mosquito-Zyklus

## Literaturübersicht

das Virus in den interepizootischen Zeiten erhält. Weiterhin gibt es Hinweise, daß Moskitos das Virus eventuell transvariell übertragen, was einen alternativen Mechanismus für die interepizootische Erhaltung darstellen würde. Es besteht die potentielle Gefahr, daß das Virus mit den Moskitos über weite Distanzen verbreitet wird. Das Virus kann durch direkten Kontakt von infiziertem Gewebe oder Blut auf transkutanem oder aerogenem Weg übertragen werden.

Viele Haustierarten sind für das Virus empfänglich, insbesonders Schafe. Erkrankte Tiere zeigen nach einer Inkubationszeit von ca. 29 bis 72 Stunden Fieber, Appetitlosigkeit, Erbrechen, mukopurulenter Nasenausfluß und blutige Durchfälle. Trächtige Tiere abortieren regelmäßig (Meegan und Shope, 1981).

## 2.3.2 Bakterielle Erkrankungen

### 2.3.2.1 Leptospirose

Die Gattung der Leptospira ist in die Familie Spirochaetaceae eingeordnet. Man unterscheidet zwei Arten: die apathogenen, im Wasser lebenden *L. biflexa* und die pathogenen *L. interrogans*. Letztere sind ein spiralig gewundenes Gebilde mit gebogenen oder knopfartigen Enden, wodurch es ein kleiderbügelartiges Aussehen erlangt. Die Leptospirose ist weltweit verbreitet und führt bei allen warmblütigen Tierarten zu einer fieberrhaften, akut bis chronisch verlaufenden Infektion.

Hämolsine und Lipasen greifen die Erythrozyten an. Frei werdende Endotoxine können schwere Schäden am ZNS und in den Blutgefäßen verursachen. Typische Symptome sind Anämie, Ikterus, Hämaturie, aber auch Aborte. Durch Aborte und Leistungsrückgang (z.B. Milchverlust) ist die Leptospirose von wirtschaftlicher Bedeutung in der Nutzlerhaltung.

Leptospiren werden mit Harn, Fruchtwasser, Nachgeburt, Milch, Sperma und Speichel ausgeschieden. Die Infektion erfolgt oral durch verletzte oder unverletzte Schleimhaut. Unter feuchtwarmen Bedingungen (Sommer, Herbst) haben sie eine gute Überlebensfähigkeit. Erregerreservoir sind Ratte, Maus und andere Kleinnager. Weide- und Futterplätze werden in der Regel von inapparenten Erregerträgern (Dauerausscheider) unter den Haustieren verseucht (Rolle et al., 1993).

### 2.3.2.2 Brucellose

Brucellose ist eine Zoonose, die durch gram-negative Kokken des Genus *Brucella* verursacht wird. Die verschiedenen Erreger (*B. abortus*: Rinderbrucellose, *B. melitensis*: Maltafieber, Schaf- und Ziegenbrucellose; *B. suis*: Schweinebrucellose; *B. ovis*: Schafsbrucellose; *B. canis*: Hundebrucellose) beschränken sich nicht nur auf ihren Hauptwirt, sondern befallen auch andere Spezies. Fast alle Tierarten sind für Brucellen empfänglich. In vielen serologischen und bakteriologischen Arbeiten wurden Infektionen von Wildtieren mit *Brucella* spp. nachgewiesen (Moore und Schnurrenberger, 1981). Beim Afrikanischen Büffel (*Syncerus caffer*) (Herr und Marshall, 1981), Elch (*Cervus canadensis*) und Bison (*Bison bison*) (Corner und Connell, 1953; Thorne et al., 1978) sind auch Erkrankungen bekannt. Die Brucellose ist eine langsam verlaufende, klinisch häufig nicht erkennbare Infektionskrankheit. Zu den wichtigsten klinischen Erscheinungen gehören Abort, Geburt von lebensschwachen Kälbern, Orchitiden, Entzündungen der akzessorischen Geschlechtsdrüsen und Polyarthritis. Die Übertragung erfolgt hauptsächlich oral, aber auch durch sonstigen Kontakt u. a. durch Sperma (Rolle et al., 1993).

### 2.3.3 Parasiten

#### 2.3.1 Beschälseuche der Pferde (Trypanosomen)

Trypanosomen sind protozoäre Parasiten der Ordnung der Kinetoplasida und sie besitzen die charakteristischen Organellen, wie Kinetoplast und Flagellum. Normalerweise sind Trypanosomen digenetisch und brauchen daher für ihren Lebenszyklus zwei Wirte. Eine Ausnahme bildet *Tryp. equiperdum*.

Trypanosomiasis bei den Haustieren wird im allgemeinen als Nagana bezeichnet.

*Tryp. equiperdum* ist der Erreger der Beschälseuche (Dourine). Bei erkrankten Tieren sind Schwellungen der äußeren Genitalien und der Subkutis am Unterbauch pathognostisch.

Im Gegensatz zu allen anderen Trypanosomen benötigt *Tryp. equiperdum* keine Arthropoden als Vektor, sondern wird während des Coitus übertragen und in der Regel durch ein subklinisch erkranktes Tier in die Herde eingeschleppt. Empfänglich sind alle Equiden.

Die Symptome sind die Folge der immunologischen Reaktion auf den Erreger. Histamin- und Kininausschüttungen führen zu Erythemen und Ödemen. Man kennt drei Formen der Dourine: die asymptomatische, die interstitielle und die nervale Form. Bei der nervalen Form kann der Parasit aus der Zerebrospinalflüssigkeit isoliert werden. Die Mortalität beträgt 100%.

Trypanosomen parasitieren in allen Wirbeltierklassen. Trypanosomiasis wird charakterisiert durch intermittierende Präsenz von Parasiten im Blut und intermittierendes Fieber. Wildtiere, z.B. Kudu, Büffel, Afrikanische Elefanten und Nashörner, sind als Reservoir für Trypanosomen bekannt. Sie erkranken nur in Stresssituationen. Durch die zunehmende Anzahl von Wildfarmen werden vermehrt Wildtiere umgesiedelt, z.T. von Tse-Tse-Gebieten in Tse-Tse-freie Gebiete. Als Folge können Tiere, die eigentlich als immun gelten, auch in Abwesenheit des Tse-Tse-Vektors klinisch an Trypanosomiasis erkranken (Connor, 1994).

### 3 Ziele

In der vorliegenden Arbeit sollen folgende Fragestellungen bearbeitet werden:

1. Sind freilebende Nashörner für die untersuchten Infektionskrankheiten prinzipiell empfänglich?
2. Gibt es geographische Unterschiede im Anteil seropositiver Reagenzien für die verschiedenen Infektionskrankheiten in den Untersuchungsgebieten?
3. Gibt es artspezifische Unterschiede zwischen Breit- und Spitzmaulnashörnern in der Exposition zu den verschiedenen Infektionskrankheiten?
4. Gibt es Hinweise für Assoziationen zwischen dem Auftreten mehrerer Infektionskrankheiten?

;

### 4 Material und Methoden

#### 4.1 Untersuchungsgegenstand:

Folgende Krankheiten werden untersucht:

##### Virale Erkrankungen:

- Afrikanische Pferdepest
- Blauzungenkrankheit (Bluetongue)
- Bovine Herpes Virus-1 Infektion
- Bovine Virus Diarrhoe/ Mucosal Disease
- Enzephalomyokarditis
- Equine Herpes Virus-1 Infektion
- Parainfluenza 3 Infektion
- Rifttafieber

##### Bakterielle Erkrankungen:

- Brucellose
- Leptospirose

##### Protozoen- Erkrankungen:

- Beschälseuche der Pferde (*Trypanosoma equiperdum*)

#### 4.2 Untersuchungsgebiete

Die Seren stammten von freilebenden Nashörnern aus verschiedenen Nationalparks und Wildfarmen. Mit Ausnahme von Simbabwe konnten Proben aus den afrikanischen Ländern mit der höchsten Populationsdichte von Nashörnern gesammelt werden (s. Kap. 2.1.2). Die Proben wurden von freilebenden Nashörnern gewonnen, wenn diese für Enthornungen, Kennzeichnungen oder Translokationen immobilisiert wurden.

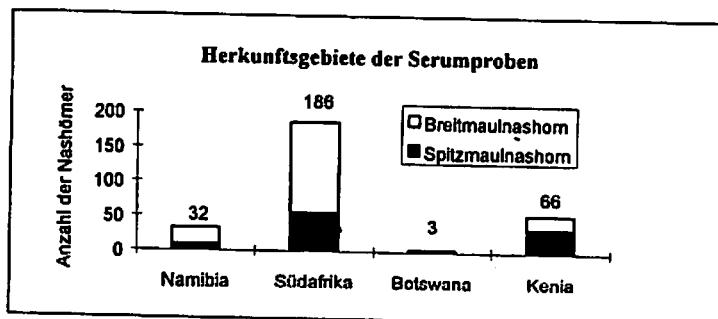


Abb. 1: Herkunftsänder der Proben, nach Tierarten

Insgesamt wurden 287 Seren untersucht, die sich wie folgt aufteilten: 32 Seren stammten aus Namibia, Waterbergplateau Park; von 186 Proben aus Südafrika stammten 122 aus dem Krüger-Nationalpark, 51 aus dem Natal-Distrikt, 13 aus dem Free State/Kimberley Distrikt und Bophutswana, 3 Proben stammten aus Botswana und 66 aus Kenia (siehe Abb. 1). In den statistischen Auswertungen wurden die Proben aus Botswana den südafrikanischen Proben zugeordnet.

Tab. 4: Herkunftsgebiete der Seren der Nashörner

Land	Anzahl	Distrikt	Lokalisation
Südafrika	186	Krüger-Nationalpark	24,00°S 31,30°E
		Umflozi-Nationalpark	28,30°S 31,00°E
		Kimberley	28,45°S 24,45°E
		Pilansberg	25,10°S 27,05°E
		Ventersburg	26,06°S 27,08°E
Namibia	32	Waterbergplateau Park	20,21°S 17,16°E
Kenia	66	Tsavo-Nationalpark	2,50°S 38,30°E
		Solio Ranch	2,23°S 36,50°E
		Nairobi-Nationalpark	1,18°S 36,50°E
Botswana	3	Gaborone	24,40°S 25,55°E

#### 4.3 Probenmaterial

Von den insgesamt 287 Serumproben von freilebenden Nashörnern konnten nicht alle in die verschiedenen Tests miteinbezogen werden (siehe Kap. 6.2.1). Die Anzahl der jeweils untersuchten Proben für die verschiedenen Infektionskrankheiten ist in Tab. 5 aufgeführt.

Tab. 5: Anzahl der auswertbaren Seren für die einzelnen Krankheiten

Infektionserreger	Anzahl untersuchter Proben
Afrikanische Pferdepest-Virus	271
Blauzungen-Viruse	270
Bovines Herpesvirus-1	232
Equines Herpesvirus-1	273
Bovine Virusdiarrhoe Virus	258
Parainfluenza 3-Virus	231
Enzephalomyokarditisvirus	242
L. grippotyphosa	278
L. tarrassovi	278
L. bratislava	278
L. copenhageni	278
Brucella abortus	275
Trypanosoma equiperdum	253

Abb. a

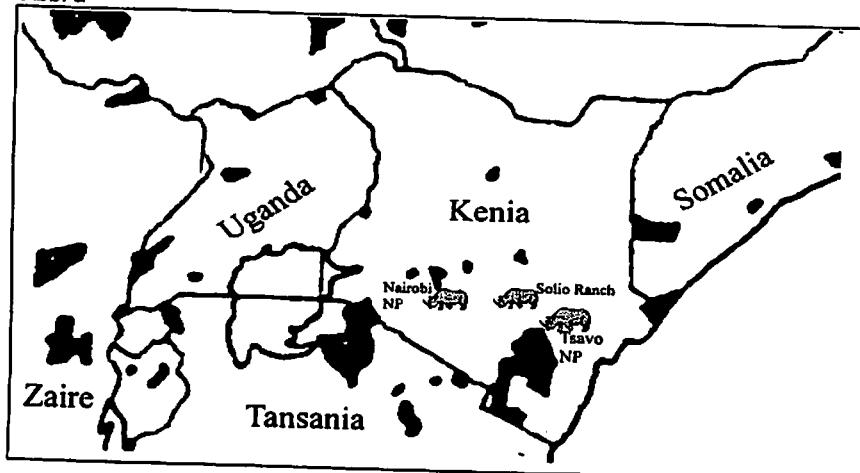


Abb. b

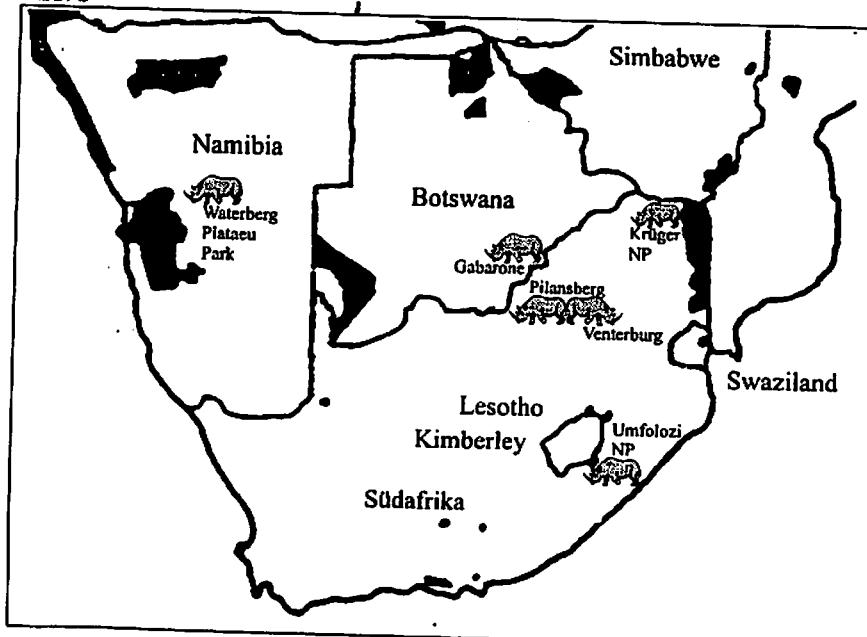


Abb. 2: Nationalparks in den verschiedenen afrikanischen Ländern und die Herkunft des Untersuchungsmaterials (die Nashörner zeigen die Herkunftsgebiete der Proben an)

#### 4.4 Labordiagnostik

##### 4.4.1 Seren

Das Probenmaterial wurde tiefgekühlt als koaguliertes Vollblut, in Ethylen-Diamin-Tetra-Na-Azetat (EDTA) Röhrchen oder als Serum eingesandt. Darüber hinaus waren 52 Proben in Glasampullen gefriergetrocknet. Der Versand erfolgte per Luftfracht aus den afrikanischen Ländern.

Das koagulierte Vollblut wurde zur Serumgewinnung 10 min bei 3000 U/min (Beckmann Kühlzentrifuge) zentrifugiert. Einige Proben waren stark hämolytisch, da sie in EDTA-Röhrchen abgefüllt und tiefgefroren worden waren. Sie wurden ebenfalls 10 min bei 3000 U/min zentrifugiert. Die Proben wurden zur Aufbereitung 15 min bei 12000 U/min (Fa. Heraeus Biofuge 13) zentrifugiert. Seren, die sich später im Virusneutralisationstest als toxisch erwiesen, wurden darüber hinaus steril filtriert (0,45µm Porengröße). Bis zur Durchführung der serologischen Tests wurden sie bei -20°C gelagert. Die Seren wurden mit Dulbecco's Modified Eagle Medium (DME) (Life Technologie, 13425 Berlin) 1:4 vorverdünnt. Hämolytische Seren wurden nur im Enzym Linked Immunosorbantassay, Immunfluoreszenztest und im Mikroagglutinationstest eingesetzt. So ergeben sich bei den einzelnen Tests unterschiedliche Gesamtserenzahlen (siehe Tab. 5).

Um die gefriergetrockneten Proben wieder auf 100% Konzentration zu rekonstituieren, hätten sie in 0,25ml Phosphat-gepufferter Salzlösung (PBS) aufgelöst werden müssen. Um eine optimale Ausbeute des Materials zu erreichen, wurden sie zuerst in 0,5ml PBS aufgelöst und die Glasampulle, in der die Proben gefriergetrocknet worden waren, anschließend mit weiteren 0,5ml PBS ausgespült, auf 0,5ml portioniert und bei -20°C wieder eingefroren. Somit waren diese Proben 1:4 vorverdünnt.

Vor den Versuchen wurden alle Seren im Wasserbad 30 min bei 56°C inaktiviert.

#### **4.4.2 Zellkulturen:**

Für die Virusvermehrung sowie zum Teil für den Nachweis von Antikörpern gegen das Bovine Herpes Virus-1 (BHV-1), das Bovine Virusdiarrhoe Virus (BVDV), und das Parainfluenza 3 (PI 3)-Virus wurden Georgia bovine kidney cells (GBK) (American Type Culture Collection, Rockville, Maryland 20850, USA) verwendet.

Das Equine Herpes Virus-1 wurde auf Equinen Dermiszellen (ED), das Enzephalomyokarditisvirus (EMCV) auf Babyhamster-Nierenzellen (BHK-21) vermehrt und getestet. Die beiden letztgenannten Zelllinien wurden von der Zellbank für Zelllinien in der Veterinärmedizin, Bundesforschungsanstalt (Bfa) für Viruskrankheiten der Tiere, 17498 Insel Riems, bezogen.

Das Wachstumsmedium für die GBK- und ED-Zellen enthielt 5% fetales Kälberserum (FKS) in DME-Medium, das Erhaltungsmedium 2,5% FKS. Bei den BHK-21-Zellkulturen betrug der Anteil FKS im Wachstumsmedium 10 %.

Nach Dichtwachsen der Zellen zu Monolayern wurden unter Einwirkung einer Trypsin/EDTA-Lösung (0,25%/nM, Life Technologie, Berlin) die Zellen vom Petrischalenboden abgelöst, die Zellsuspension mehrmals resuspendiert und die Zellen 1:2 bzw. maximal 1:8 passagiert. Die Zellzücht erfolgte bei 37°C, 5% CO<sub>2</sub> und 70% bis 80% Luftfeuchtigkeit (Begasungsbrutschrank BB 16, Heraeus-Functionline, Heraeus Holding GmbH, Berlin). Die Zellen wurden täglich makroskopisch und mikroskopisch kontrolliert.

#### **4.4.3 Infektionserreger**

Die Antigene wurden von den folgenden Institutionen zur Verfügung gestellt:

Afrikanisches Pferdepestvirus (Serotyp 9, Institute for Animal Health, Pirbright Südafrika): Laboratory) Ash Road, Pirbright, Surrey

Blauzungen-Virus (BTV 1SA): GU24 ONF, GB

Rifttafiebervirus: Centre for Applied Microbiology & Research, Porton Down, Salisbury, Wiltshire SP4 0JG, GB

BVDV (Stamm NADL): Institut für Zoo- und Wildtierforschung, Alfred-Kowale-Str. 17, 10315 Berlin

BHV-1 (Cooper strain, USA): Virologisches Institut der Freien Universität Berlin, Königin-Luise- Str. 49, 14149 Berlin

EMCV: Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten der Tiere, Tübingen, Paul- Ehrlich-Str. 28, D-72076 Tübingen

Parainfluenza 3: Riemser Tierarzneimittel GmbH, PF 229, 2201 Riemserort

Brucella abortus: Bundesinstitut für gesundheitlichen

Leptospiren spp: Verbraucherschutz und Veterinärmedizin, Diedersdorferweg 1, 12277 Berlin

Trypanosoma equiperdum:

#### **4.4.4 Virusvermehrung**

Die Vermehrung erfolgte durch Beimpfen eines zu mehr als 80% geschlossenen Zellrasens. Die Virussuspension mußte 1 h bei 37°C absorbieren. Danach wurde

## Material und Methoden

diese mit Erhaltungsmedium überschichtet und die Zellkultur bei 37°C, 5% CO<sub>2</sub> inkubiert. Täglich wurde die Anzucht auf einen zytopathogenen Effekt (zpE) überprüft. Der zpE ist bei BHV-1 nach zwei Tagen, bei BVDV nach drei bis vier Tagen, bei EMCV nach einem Tag, bei EHV-1 nach zwei Tagen und bei PI 3-Virus nach sieben Tagen zu erwarten.

Auf dem Höhepunkt der Virusvermehrung wurde die Kultur bei -70°C eingefroren. Das Virus wurde durch thermische Beugung (dreimaliges Einfrieren und Auftauen bei -70°C und Zimmertemperatur) aus den Zellen gewonnen. Das Zellmaterial der zerstörten Zellen wurde bei 4000 U/min 15 min lang bei +4°C abzentrifugiert. Das so grob gereinigte Virus wurde portioniert und bei -70°C tiefgefroren.

### 4.4.5 Leptospirenanzucht

Für die Mikroagglutination wurden lebende Leptospiren-Kulturen von WHO-Standardstämmen in flüssigem EMJH-Medium (EMJH- Medium: Difco, Detroit, Michigan, USA; das Medium besteht aus Bacto-Leptospira Medium Base EMJH, Nr. 0794 und Bacto-Leptospira Enrichent ENMJH, Nr. 095) verwendet. Zur Herstellung der Antigene wurden die Kulturen so lange bebrütet, bis die Dichte der Leptospiren ca. 1-2 x 10<sup>9</sup>/ml betrug (4-10 Tage). Das Kulturröhrchen zeigte dann im Vergleich zur unbeimpften Kontrolle makroskopisch eine geringe Trübung. Durch Dunkelfeldbeobachtung wurde geprüft, ob die Trübung nicht durch andere Keime oder durch Ausfällungen bedingt war. Bei 200facher Vergrößerung waren ca. 300-350 Leptospiren pro Gesichtsfeld zu zählen.

„Brutnester“ oder Spontanagglutinationen durften nicht vorhanden sein, die Kulturen sollten keinesfalls älter als 2 Wochen sein.

## Material und Methoden

### 4.4.6 Virustitration

#### 4.4.6.1 Virustitration für den Virusneutralisationstest (VNT)

Die jeweiligen Viren wurden logarithmisch zur Basis 10 titriert. Je 100µl jeder Verdünnungsstufe von 10<sup>1</sup> bis 10<sup>6</sup> wurden in je zwei Reaktionsvertiefungen einer 24-Lochplatte (Nunc-Gibco®, Paisley, Renfrewshire PA3 4eF, GB) eingefüllt und je 100µl geeignete Zellsuspension (ca. dreimal 10<sup>5</sup> Zellen/ml) hinzugegeben. Der Reaktionsansatz wurde bei 37°C für eine für das jeweilige Virus spezifische Zeit (siehe Tab. 5.) im CO<sub>2</sub>-Brutschrank inkubiert.

Die Titerberechnung erfolgte nach Spaermann und Kärber (1985). Die für den VNT benötigte Zahl der kulturinfektiösen Dosen (KID50) wurde durch entsprechende Verdünnung der Viruslösung eingestellt. Es wurden nur Virusverdünnungen im VNT verwendet, die zwischen 700 bis 1000 KID50/ml aufwiesen.

Die Virusverdünnungen wurden in einer Kontrolltitration vor dem eigentlichen Versuch getestet.

#### 4.4.6.2 Virustitration für den Hämagglutinationshemmtest (HAH)

Die antigenen Wirksamkeit der PI 3-Viren wurde im HAH (Mikromethode) quantifiziert. Die Testantigene wurden vor Verwendung im HAH unter gleichen Bedingungen in Zweier-Potenzen bis zu einer Verdünnung von 1:1024 austitriert und auf die Gebrauchsverdünnungen von vier hämagglutinierenden Einheiten (HE) eingestellt. Dazu wurde zu 0,05 ml der Antigenverdünnung die gleiche Menge einer 0,4%igen Meerschweinchenerthrozytensuspension (s.u.) gegeben und bis zur vollständigen Sedimentation der antigenfreien Erythrozytenkontrolle inkubiert.

Als HA-Titer, 1 Einheit, galt die Virusverdünnung, bei der noch eine vollständige Agglutination der Erythrozyten feststellbar war (Mayr et al., 1977). Die Gebrauchsverdünnung wurde auf 4 hämagglutinierende Einheiten (HE) eingestellt.

#### 4.4.7 Testverfahren

##### 4.4.7.1 Virusneutralisationstest (VNT)

**Prinzip:** Die Fähigkeit von neutralisierenden Antikörpern zur Hemmung des zpE in Zellkulturen wird zum Nachweis seropositiver Reagenzien verwendet.

**Durchführung:** Der VNT erfolgte auf Mikroliterflachbodenplatten (Nunc®), mit 50 kulturinfektiösen Dosen (KID 50)/ Kavität und logarithmischen Serumverdünnungen zur Basis 2. Der VNT wurde in zwei Stufen durchgeführt. Im ersten Schritt (Screening) wurde das Serum in einem Doppelansatz in einer Verdünnung von 1:2 eingesetzt (insgesamt 50µl). Als positive Reaktion wurde gewertet, wenn in beiden Kavitäten der zpE des Virus gehemmt worden war. Die positiven Seren wurden im zweiten Schritt austitriert (4-fach Versuchsansatz). Die Neutralisationszeit mit je 50µl der zuvor eingestellten Virussuspension beträgt 1 h bei 37°C. Anschließend wurden 100µl der eingestellten Zellsuspension ( $3 \times 10^5$  Zellen/ml) hinzugegeben und die Zellen für eine virusspezifische Zeit (siehe Tab. 6) bei 37°C inkubiert. Auf jeder Platte wurden Virus-, Serum- und Zellkontrollen mitgeführt. Täglich wurden die Zellkulturen auf einen möglichen zpE bzw. auf dessen Hemmung hin kontrolliert.

Eine Variation des VNT, der Plaque-Reduktionstest wurde zum Nachweis von Antikörpern gegen BHV-1 durchgeführt. Es wurde der Standard-Mikroneutralisationstest nach Jenny und Wessmann (1973) verwendet.

Im Screening wurden 50µl Serum (1:4 Verdünnung) mit dem gleichen Volumen einer Virussuspension mit 70 Plaque-bildenden Einheiten (PFU) für eine Stunde bei 37°C inkubiert. Jede Serumprobe wurde in zwei Reaktionsvertiefungen getestet. Anschließend wurden 100µl Zellsuspension ( $3 \times 10^5$  Zellen/ml) in jede Reaktionsvertiefung pipettiert. Nach 3h wurden 200µl einer 1,6%igen Carboxymethylcellulose in ZKM-Lösung (CMC) als Overlay hinzugefügt. Die positiven Proben wurden in einem zweiten Schritt in Zweierpotenzen verdünnt und austitriert. Das Verfahren entsprach der oben beschriebenen Methode, wobei im zweiten Schritt vier Reaktionsvertiefungen pro Verdünnungsstufe verwendet wurden. Die Zellen wurden nach einer virus-spezifischen Zeit (siehe Tab.6) mit 0,3% Formalin in PBS fixiert, mit Giemsa-Lösung gefärbt und mikroskopisch auf zpE untersucht. In jedem Test wurden Virus-, Serum- und Zellkontrollen mitgeführt.

Der Neutralisationstiter wurde definiert als der reziproke Wert derjenigen Verdünnung, bei der eine 50%ige Hemmung stattgefunden hatte (Mayr et al., 1977). Die Berechnung des Titers erfolgt nach der Methode von Spaemann und Kärber (1985).

Einzelheiten zu dem Versuchsansatz mit den verschiedenen Antigenen können der Tab. 6 entnommen werden.

Tab. 6: Versuchsansatz beim Virusneutralisationstest

Virus	Zelllinie	Inkubationsdauer nach Zellsuspensionszugabe
BHV-1	auf GBK-Zellen Infektionstiter $1 \times 10^4$ KDI/ml	2 d
BVDV	auf GBK-Zellen Infektionstiter $1 \times 10^4$ KDI/ml	5 d
EMCV	auf BHK 21-Zellen; Infektionstiter $1 \times 10^5$ KDI/ml	1 d

##### 4.4.7.2 Hämagglutinationshemmtest (HAH)

**Prinzip:** In diesem Testverfahren wurden neutralisierende Antikörper gegen PI 3-Viren durch ihre Fähigkeit der Hemmung der Hämagglutination nachgewiesen.

**Durchführung:** Es wurde die  $\beta$ -Methode mit konstanter Antigenmenge und variierender Serumverdünnung verwendet. Die Serumproben wurden in einem plasma-isotonischen Puffer (0,85%ige Natriumchloridlösung) in Zweierpotenzen verdünnt. 25µl der Serumverdünnung und 25µl der Gebrauchsverdünnung des Antigens (4HE) wurden in die Reaktionsvertiefungen pipettiert, geschüttelt und für 1 h bei Raumtemperatur belassen. Zu dem Virus-Serumgemisch wurden 25µl einer 0,4%igen Erythrozytensuspension zugegeben. Die Erythrozytensuspension wurde aus Meerschweinchenblut (Zentrale Versuchstierzucht, Berlin) hergestellt. Dazu wurde das Blut mit Na-Citrat versetzt (2ml auf 5 bis 10 ml Blut) und bei 800g 10 min zentrifugiert. Anschließend wurde der Überstand dekantiert und dreimal mit 0,01M Phosphat-bicarbonatpuffer, pH 7,2 (PBS) gewaschen. Das Erythrozytensediment

## Material und Methoden

wurde mit 1:9 Volumenteilen PBS auf eine 10%ige Suspension angefüllt. Für den Versuch wurde die Erythrozytensuspension mit PBS auf 0.5% verdünnt. Es wurden je eine Serum-, eine Erythrozyten- und eine Antigenkontrolle angelegt. Allen Kontrollen wurden 25µl der Erythrozytensuspension zugegeben. Der HAH-Serumtitr war die Serumverdünnung, bei der noch eine vollständige Hemmung der Hämagglutination festzustellen war.

### **4.4.7.3 Kompetitiver Enzyme Linked Immunosorbant Assay (ELISA)**

Aus seuchenhygienischen Gründen wurden diese Tests im Institute for Animal Health, Pirbright, GB durchgeführt. Für die Detektion von Antikörpern gegen Bluetongue (BT) und Afrikanische Pferdepest (AHS) wurde ein kompetitiver ELISA mit monoklonalen (für BT) bzw. polyklonalen (für AHS) Antikörpern verwendet (Afshar et al., 1987). Da die BRD frei von Rifttafieber (RVF) ist, wurden die Seren auch auf Antikörper gegen RVF in einem Labor untersucht, in dem der entsprechende biologische Sicherheitsstandard gegeben ist (Centre for Applied Microbiology and Research, Porton Down, UK). Der kompetitive ELISA stellt eine zuverlässige und sensitive Methode dar, mit der bei verschiedenen Tierspezies Antikörper gegen RVF nachgewiesen werden können (Paweska et al., 1995).

**Prinzip:** Das Prinzip des Testes besteht in der Hemmung der Reaktion zwischen Virusantigen und einem Antikörper (Ak) gegen das entsprechende Virus in dem zu testenden Serum. Sind im Testserum Antikörper gegen das Virus vorhanden, wird die Farbreaktion durch Zugabe von einem Chromogen (enzymgebundener Anti-Maus Ak) und Substrat gehemmt. Die Seren wurden in einem ersten Schritt in einer Verdünnung von 1:5 getestet und bei positiver Reaktion austitriert. Eine Hemmung der optischen Dichte von mehr als 50 % wurde als positiv angesehen.

## Material und Methoden

### **Afrikanische Pferdepest**

**Durchführung:** Der ELISA wurde auf Dynatech® Platten durchgeführt. Als Antigen wurde AHS-Virus Sero-Typ 4 ELISA verwendet. Das gefriergetrocknete Meerschweinchen-Antiserum sowie das positive und negative Kontrollserum wurden in 1ml steriles destillierten Wasser rekonstituiert. Das positive Serum wurde 1:8 und 1:16 in PBS verdünnt und bis zum Gebrauch bei -20°C gelagert. Die Testplatten wurden mit je 50µl Antigen (AHSV 9) (ca. 1:200 in 0,05 M Karbonat/Bikarbonat-Puffer, pH 9,6; Sigma No.-3041) pro Kavität beschichtet und über Nacht bei 4°C inkubiert. Anschließend wurde fünfmal mit PBS gewaschen. In Reihe 1-10 (Doppelansatz) wurden 50µl/Kavität der Testseren in 1:5 Verdünnung in einem Blockpuffer (PBS +0,05% Tween20, 5% Magermilchpulver, Marvel, Cadbury und 1% Rinderserum) pipettiert. In Reihe 11 und 12 der Platte wurden positive und negative Kontrollen mitgeführt. In alle Kavitäten wurde Anti-AHS-Meerschweinchenserum 1:400 in Blockpuffer eingefüllt. Anschließend wurde 1 h bei 37°C unter Schütteln inkubiert und anschließend fünfmal gewaschen. Je 50µl einer austitrierten Verdünnung eines Kanichen-Anti-Meerschweinchen-Meerrettich-Peroxidase-Konjugates wurden in alle Kavitäten pipettiert. Anschließend wurde für 1 h bei 37°C unter Schütteln inkubiert und danach gewaschen. 50µl von dem Chromogen/Substrat-Gemisch (OPD) wurden allen Kavitäten zugegeben. Nach 10 min wurde die Reaktion mit 50µl 1M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> gestoppt und bei 392nm photometrisch (Titertek Multiskan Plus) gemessen. Als positive Reaktion wurde gewertet, wenn die Farbreaktion mehr als 50% im Vergleich zur negativen Kontrolle gehemmt wurde.

### **Blauzungenerkrankung**

**Durchführung:** Der Test wurde auf einer 96 NUNC® Flachboden Maxisorb ELISA Platte durchgeführt. Jeweils 50µl der 1:100 in PBS verdünnten Antigenlösung (BTV 1SA) wurden in alle Kavitäten pipettiert. Die Platte wurde steril verklebt und unter Schütteln 1 h bei 37°C inkubiert. Die Platte wurde dreimal mit PBS gewaschen. Anschließend wurden ca. 40µl eines Blockpuffers (PBS mit 0,1% Tween20 und 0,3% FKS) in alle Kavitäten pipettiert. (In die Konjugatkontrolle weitere 60µl). 10µl Testserum wurden in die Testkavitäten (bzw. je 10µl des positiven, schwach positiven und des negativen Serums als Kontrollen) pipettiert. 50µl eines monoklonalen Antikörpers gegen BTV (MAk) in einer Verdünnung 1:100 in einem Blockpuffer wurden in alle Kavitäten pipettiert (nicht Konjugatkontrolle). Inkubation für 1 h bei

## Material und Methoden

37°C, danach wurden die Platten 3x gewaschen, ausgeschlagen und getrocknet. 50µl Kaninchen- Anti-Maus Konjugat wurden in einer Verdünnung von 1:1000 in alle Kavitäten pipettiert. Inkubation für 1 h bei 37°C. Anschließend wurde erneut dreimal gewaschen und getrocknet. Danach wurden 50µl des Substrat/Chromogen- Gemisches [Orthophenyl-Diamin-Dihydrochlorid- (OPD) Lösung (1x30mg Tablette in 75ml sterilem destilliertem Wasser)], zu der unmittelbar vor dem Gebrauch 3% Wasserstoffperoxid im Verhältnis 4:1 zugesetzt wurde, in alle Kavitäten eingefüllt. Nach 10 Minuten Reaktionszeit wurde die Farbreaktion mit 1 molarer Schwefelsäure gestoppt.

Die optische Dichte wurde bei 492 nm im Photometer (Titertek Multiskan Plus) gemessen. Der Durchschnitt der optischen Dichte- (OD)-Werte der monoklonalen Kontrollen (Km) wurde errechnet und daraus die prozentuale Hemmung (PI) wie folgt ermittelt:

$$PI=100 - ((OD \text{ der Test Kavitäten}/OD \text{ der Km Kavitäten}) \times 100)$$

Hemmungen > 50% wurden beim BT-Virus als positiv bezeichnet.

Die zu erwartenden Werte der Kontrollen sollten bei der positiv-Kontrolle 80-100%, bei der schwach-positiven Kontrolle 51-81%, Negativ-Kontrolle -25-+25%, MAK-Kontrolle -19-+20% und bei der Konjugat-Kontrolle bei 95-105% liegen. Der MAK-Kontroll-OD-Wert sollte zwischen 0.4 und 1.0 OD liegen (Afshar et al., 1987).

### 4.4.7.4 Mikroagglutinationsreaktion (MAR) für den Nachweis von Antikörpern gegen Leptospiren

**Prinzip:** Im Agglutinationstest wird korpuskuläres Antigen (Leptospiren) mit spezifischen Antikörpern im Testserum vernetzt. Diese verklumpten Immunkomplexe sinken auf den Boden der Reaktionsgefäße und werden als Nachweis für die immunologische Reaktion gewertet. Dieses Mikrotitrierverfahren ist materialsparend und liefert gut reproduzierbare Ergebnisse (Takasty, 1956).

**Durchführung:** Auf einer 96-Kavitäten Mikrotiterplatte mit U-Bodenform (Greiner®) wurden in alle Kavitäten 25µl 0.85% Kochsalzlösung vorgelegt. Ausgehend von Reihe eins nach zwölf der Platte wurde eine Verdünnungsreihe zur Basis zwei (1:10 bis 1:10240) der Testseren hergestellt. Anschließend wurden 25µl einer definierten Menge des Antigens in alle Kavitäten pipettiert. Negative und positive Kontrollen wurden mitgeführt. Die Platte wurde 2 h bei Raumtemperatur inkubiert.

## Material und Methoden

Nach Schütteln wurde die Testplatte unter dem Phasenkontrastmikroskop ausgewertet. Der Agglutinationstiter ist die Verdünnung, bei der 50% der Leptospiren agglutiniert sind.

### 4.4.7.5 Indirekter Immunfluoreszenztest (IIF) zum Nachweis von EHV-1 Antikörpern

**Prinzip:** Bei dieser Methode werden spezifische Antikörper aus der γ-Globulin-Fraktion von Seren nachgewiesen. γ-Globuline können selbst als Antigen wirken und mit Antiglobulinseren reagieren. Antiglobuline sind speziespezifisch. In einem ersten Schritt werden Antigen und Testserum inkubiert und anschließend mit einem markierten Antispezies-Antikörper sichtbar gemacht (Rolle et al., 1993).

**Durchführung:** 96er Flachbodenplatten (Greiner®) wurden mit ED-Zellen beschickt und mit EHV-1 (1x10<sup>3</sup>PFU/Zelle) infiziert. Die Platten wurden für 2 Tage im Feuchtbrutschrank bei 37°C inkubiert und anschließend mit 3% Formalin in PBS fixiert. Für den Test wurden die Zellen mit 1% Triton in PBS aufgeschlossen und anschließend mit 1% FKS/PBS gewaschen. In jede Kavität wurden 40µl des Testserums in einer Verdünnungsreihe zur Basis 2, von 1:10 bis 1:1280, pipettiert und für 45 min bei 37°C inkubiert. Anschließend wurden die Platten dreimal mit 1%igem FKS in PBS gewaschen und 40µl eines Ziege-Anti-Pferd-FITC (Fluorescein (FITC)-conjugated AffiniPure (ab) 2 Fragment-Anti-Horse-IgG (H+L) (Jackson Immuno Research Laboratories, INC) in einer 1:50 Verdünnung aufgetragen.

Nach weiterer Inkubation für 45 min und 3x Waschen mit PBS wurden die Platten aqua dest. bedeckt und unter dem Fluoreszenzmikroskop (ICM 405, Zeiss, Göttingen) ausgewertet.

Ausschlaggebend für die Titerbestimmung war die Verdünnungsstufe, bei der noch eine deutliche Fluoreszenz festzustellen war.

### 4.4.7.6 Komplementbindungsreaktion (KBR) zum Nachweis von Antikörpern gegen *Brucella abortus* und *Trypanosoma equiperdum*

**Prinzip:** In der KBR werden Antikörper mit Hilfe des Komplementsystems nachgewiesen. Das Komplementsystem ist ein System aus ca. 20 Serumproteinen aus der Globulinfraktion in inaktiver Form. Durch Aktivierung der ersten Komponente C1 (klassischer Reaktionsweg) bzw. der Komponente C3 (Alternativweg) läuft eine

## Material und Methoden

Kaskadenreaktion ab, deren Endprodukt ein Membran-attackierender Komplex ist und z.B. Erythrozyten hämolsieren kann.

### Durchführung:

**Vorversuch:** Als Komplement wurde Serum von gesunden männlichen Meerschweinchen verwendet, das mit Richardsonlösung konserviert wurde. Die Komplementevaluierung mußte an jedem Versuchstag durchgeführt werden. Dazu wurden in 3x9 (1-9) Reagenzgläser eine mit 0,05 ml ansteigende Menge Komplements in einer Verdünnung von 1:40 pipettiert und mit einer entsprechenden Menge Veronalpuffer (VBD) aufgefüllt, so daß in allen Reagenzgläsern 0,5ml - Flüssigkeit enthalten waren mit ansteigender Komplementkonzentration. Weitere 1,5 ml VBD wurden in alle Röhrchen pipettiert. Nach 1 h Inkubation im 37°C Wasserbad wurden 0,5 ml Ambozeptor (anti-Schaf-Hämolsin, „Ambozeptor 6000“ der Behring-Werke, Marburg) in der Arbeitsverdünnung und 0,5ml 2% Hammelerythrozytenlösung (SRBC) dazugegeben und für weitere 30 min im Wasserbad inkubiert. Die ersten Reagenzgläser (s.o.) in denen eine vollständige Hämolyse ablief, enthielten die minimale hämolytische Konzentration des Komplements (MHD), die nächststehenden Reagenzgläser enthielten die volle hämolytische Konzentration (FHD). Die Arbeitsverdünnung des Komplements wurde mit der Formel: 2FHD/40 berechnet.

**Hauptversuch:** Test- und Kontrollseren wurden 30 min bei 56°C im Wasserbad inaktiviert. Auf einer Mikrotiter U-Platte (Greiner®) wurden in Reihe 2-10 und 12 je 25µl VBD vorgelegt. Die Testseren wurden von Reihe 2 nach 10 geometrisch verdünnt. In alle Kavitäten (nicht Reihe 11 und 12) wurden 25µl Brucella bzw. Trypanosomen-Antigen (BgVV, Berlin) in einer Verdünnung 1:1000 pipettiert. Die Reihen 11 und 12 wurden als antikomplementäre Kontrollen mitgeführt und es wurde anstatt Antigen 25µl VBD pipettiert. In alle Kavitäten wurden 50µl Komplements in Gebrauchsverdünnung gegeben. Die Platten wurden mit Klebeband verschlossen und bei 4°C über Nacht stehengelassen. Am nächsten Morgen wurden 50µl des hämolytischen Systems (2%SRBC und Ambozeptor in gleichen Teilen) in alle Kavitäten eingesetzt, die Platten wurden luftdicht und blasenfrei verschlossen und 30 min bei 37°C im Wasserbad inkubiert. Nach einer Stunde wurden die Ergebnisse abgelesen. Eine 50% Hämolyse galt als positive Reaktion.

(Für 2 Liter VBD eines 1:5 Konzentrates werden 83,00g NaCl; 10,19g Na5,5-diethylbarbiturat in 800ml heißem aqua dest. aufgelöst und langsam mit 34,6 ml 1n

## Material und Methoden

HCl versetzt. Anschließend werden 5ml „VBD-Stammlösung“ MgCl<sub>2</sub>·6 H<sub>2</sub>O 20,3 g; CaCl<sub>2</sub>·2 H<sub>2</sub>O 4,4 g in 100 ml aqua dest. aufgelöst

Richardson A: Borsäure 1,86 g, Borax 4,58 g, 22,94 g Sorbit in 200 ml gesättigter NaCl und Richardson B: Borax 1,14 g, Natriumazid 1,62 g in 200 ml gesättigter NaCl).

### 4.5 Statistik

Für die statistische Auswertung der Daten wurden zwei relative Häufigkeiten verglichen. Es wurde der „Fisher Exakt-Test“ (Siegel, 1985) verwendet, um die Unterschiede im Anteil seropositiver Tiere unter den verschiedenen Aspekten (geographische, artspezifische Unterschiede) zu evaluieren.

Bei mehrfacher Anwendung des Tests auf denselben Datenkörper wurde das Signifikanzniveau nach dem Bonferroni-Verfahren adjustiert (Sachs, 1997).

Für die Darstellung von Zusammenhängen zwischen Exposition zu mehreren Infektionskrankheiten wurde der Tanimoto-Koeffizient (Bortz, 1985) errechnet.

Die eigenen Ergebnisse mit statistischer Auswertung werden in Kapitel 5 dargestellt.

## 5 Ergebnisse

### 5.1 Anzahl positiver Reagenter für die untersuchten Infektionskrankheiten bei freilebenden Nashörnern

Eines der Hauptziele dieser Arbeit ist es, die Frage zu klären, für welche Krankheitserreger freilebende Nashörner in Afrika empfänglich sind (siehe Kap. 3). Gegen zehn der vierzehn untersuchten Erreger konnten Antikörper im Serum nachgewiesen werden. Die Ergebnisse der serologischen Tests sind in Tab. 7 zusammengefaßt:

Tab. 7: Anzahl der seropositiven Reagenter bei zehn der untersuchten Infektionskrankheitserreger bei freilebenden Nashörnern in Afrika. (Da nicht alle unterschidliche n- Zahlen).

Erreger	n	positiv	negativ	% positiv
Afrikanisches Pferdepest-Virus	278	77	201	27,7
Blauzungen- Virus	277	157	120	56,7
Bovines Herpes Virus-1	232	7	225	3,0
Equines Herpes Virus-1	273	25	248	9,1
Bovine Virus Diarrhoe Virus	258	3	255	1,2
Parainfluenza 3-Virus	231	58	173	25,1
Enzephalomyokarditis Virus	242	0	242	0,0
L. grippotyphosa	278	10	268	3,6
L. tarassovi	278	9	269	3,2
L. bratislava	278	24	254	8,6
L. copenhageni	278	17	261	5,9
Brucella abortus	275	0	275	0,0
Trypanosoma equiperdum	253	0	253	0,0
Riftalfeber-Virus	278	0	278	0,0

Die meisten seropositiven Tiere konnten bei den Untersuchungen auf AHS und BT, beides Orbiviruserkrankungen, nachgewiesen werden.

Des Weiteren sind erstmals Antikörper gegen Bovine und Equine Herpesviren bei Nashörnern gefunden worden. Fünfundzwanzig Tiere waren seropositiv für das Equine Herpes Virus-1, und sieben Nashörner hatten neutralisierende Antikörper gegen das Bovine Herpesvirus-1.

Bei drei Tieren wurden erstmals Antikörper gegen BVDV detektiert.

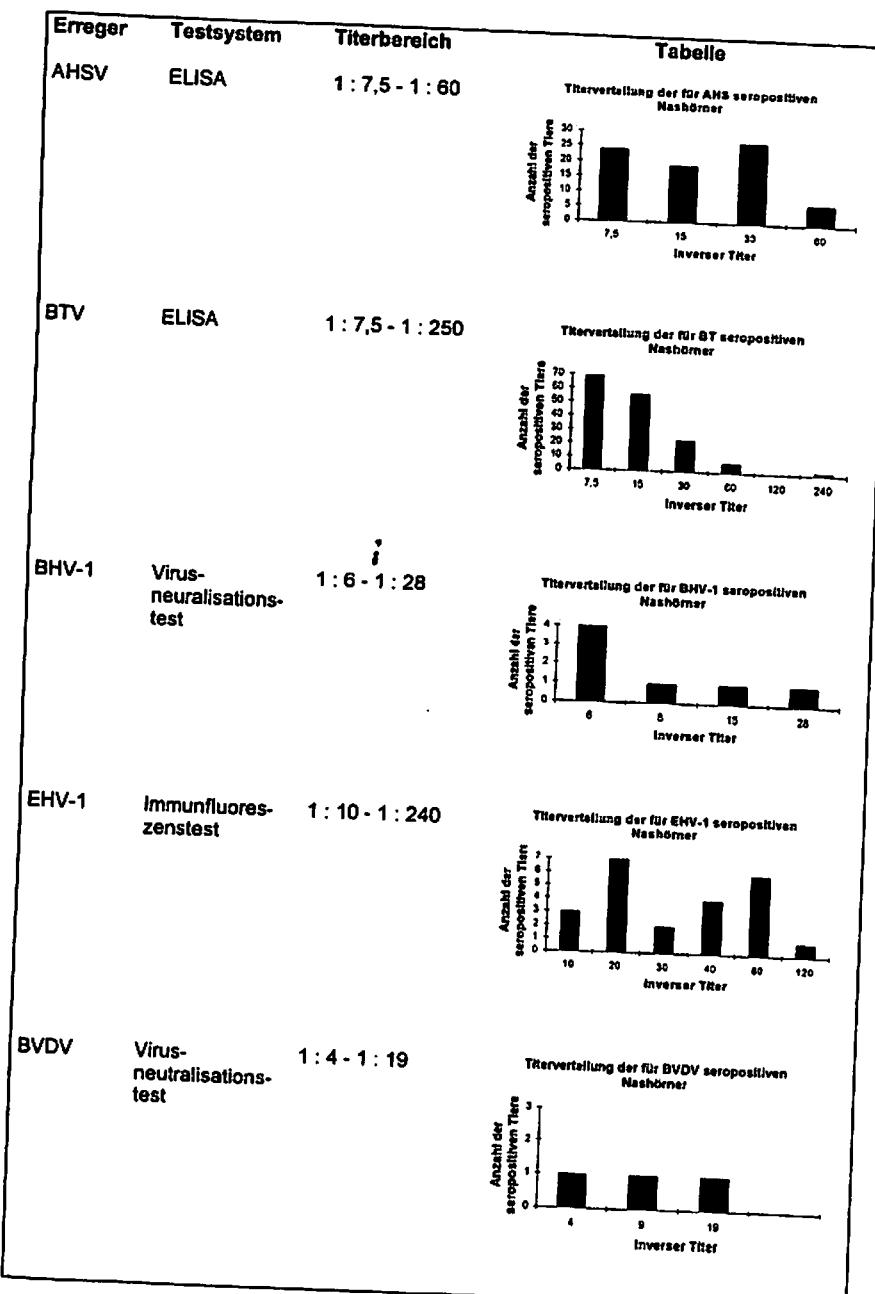
Fünfundzwanzig Prozent der untersuchten Nashörner hatten Antikörper gegen das PI 3-Virus.

Es konnten gegen alle der getesteten Leptospiren-Serovare Antikörper nachgewiesen werden, dabei war die Seroprävalenz von *L. bratislava* am höchsten.

Es konnten keine Antikörper gegen das EMCV, RVFV, *Brucella abortus* und *Trypanosoma equiperdum* detektiert werden.

In Abb. 3 sind die Ergebnisse der serologischen Untersuchungen zusammengefaßt:

## Ergebnisse



## Ergebnisse

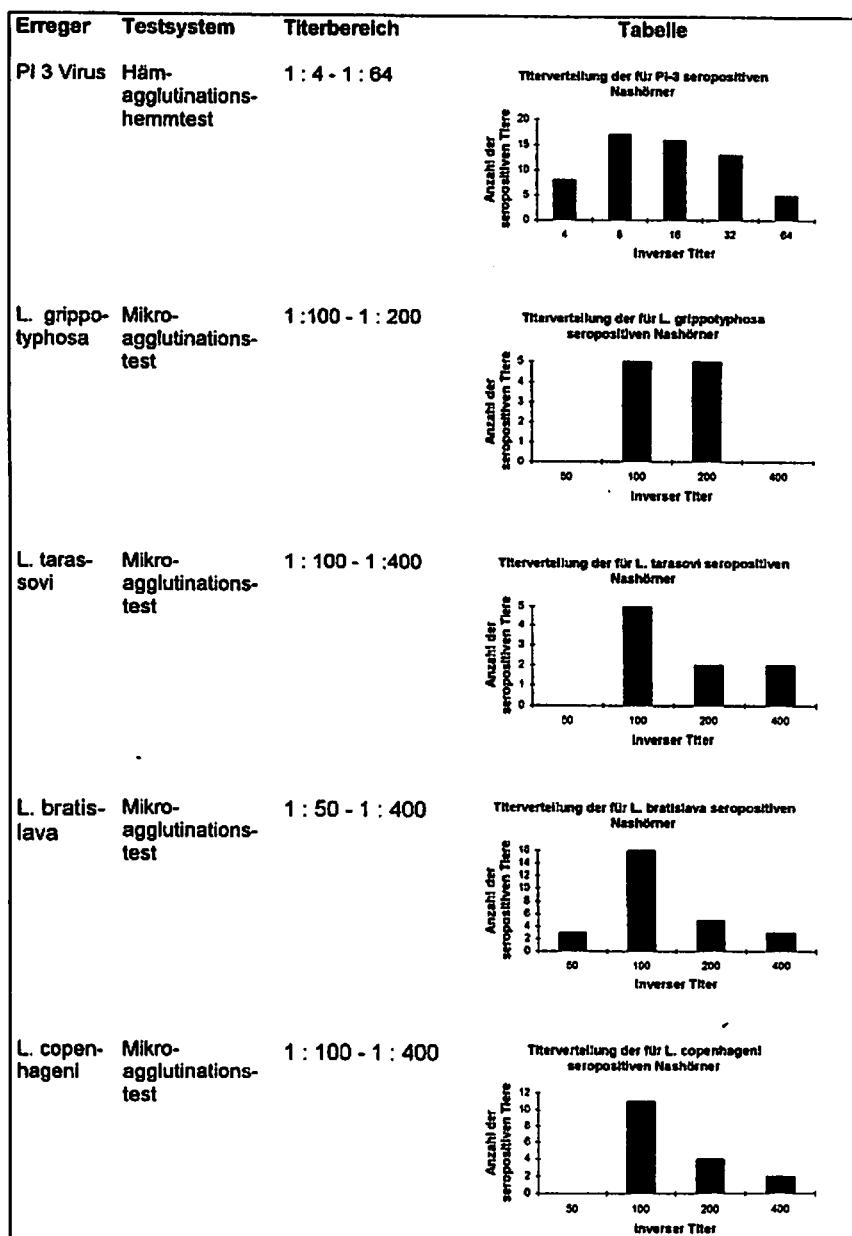


Abb. 3: Ergebnisse der serologischen Untersuchungen

## Ergebnisse

### 5.2 Artspezifische Unterschiede in der Exposition zu verschiedenen Erregern

Ein weiteres Ziel der Untersuchungen war es, zu klären, ob es artspezifische Unterschiede in der Seroprävalenz der einzelnen Erreger gibt.

Die Unterschiede in der Seroprävalenz zwischen Breitmaul- und Spitzmaulnashörnern sind in Abb. 4 dargestellt.

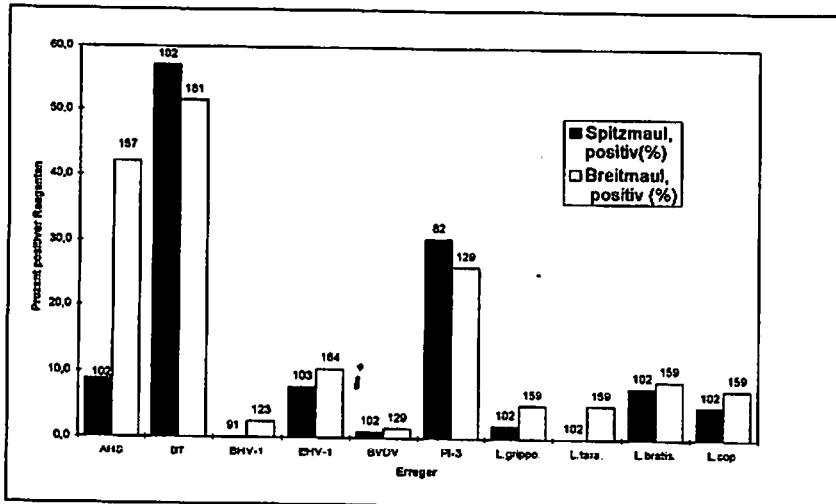


Abb. 4: Anzahl der seropositiven Spitz- und Breitmaulnashörner für die verschiedenen Erreger (Die Zahl über den Säulen ist die Anzahl der untersuchten Proben.)

Für AHS ergibt sich ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Nashornarten ( $p<0,001$ , Fisher-Exakt Test, zweis.,  $n= 278$ ). Dabei hatten mehr Breitmaulnashörner Antikörper gegen AHS als Spitzmaulnashörner. Für alle anderen Erreger ließen sich keine signifikanten Unterschiede feststellen.

Tab. 8: p-Werte, (Fisher Exakt Test, zweis.) für die Wahrscheinlichkeit eines Unterschiedes zwischen den beiden Nashornarten, bezüglich der Anteile seropositiver Reagenzien für die verschiedenen Infektionserreger.

	Namibia	KNP	Natal	Kenia
AHS		<0,0001	0,1366	0,0286
BT	0,4414	1,0000	1,0000	0,7279
BHV-1		1,0000	0,4615	
EHV-1	1,0000	0,5056	0,2552	
BVDV		1,0000	1,0000	
PI-3	1,0000	0,0326	0,0093	0,6323
L. grippotyphosa	1,0000	1,0000	1,0000	0,0052
L. tarassovi	1,0000	1,0000	0,2543	
L. bratislava		0,4060	0,3186	0,4797
L. copenhageni	1,0000	1,0000	1,0000	0,3497

## Ergebnisse

In Abb. 5 ist der Anteil von Spitz- bzw. Breitmaulnashörnern im Untersuchungsmaterial dargestellt.

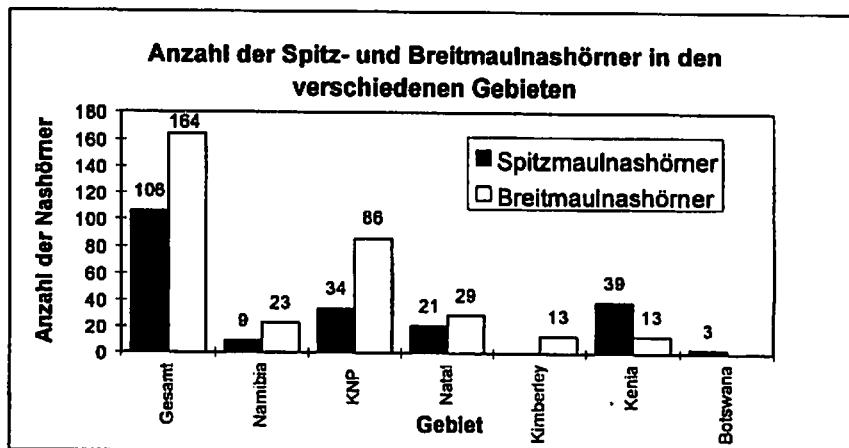


Abb. 5: Anzahl der Spitz- und Breitmaulnashörner an der Gesamtzahl aller untersuchter Nashörner und in den verschiedenen Gebieten

Serumproben von 17 Nashörnern konnten aufgrund fehlender Angaben keiner Nashornart zugeordnet werden. Aus Kimberley wurde kein Material von Spitzmaulnashörner untersucht, so daß ein Vergleich der beiden Arten für dieses Gebiet nicht möglich ist. Da die Probenzahl aus Botswana zu gering war, kann dieses Gebiet in der Auswertung ebenfalls nicht berücksichtigt werden.

Im KNP ( $p<0,0001$ , Fisher Exakt Test ; zweis.,  $n=115$ ) und in Kenia ( $p=0,0286$ , Fisher Exakt Test; zweis.,  $n=52$ ) gibt es mehr Breitmaulnashörner mit Antikörpern gegen AHS als Spitzmaulnashörner.

Spitzmaulnashörner haben im KNP ( $p=0,0326$ , Fisher Exakt Test; zweis.,  $n=65$ ) und in Natal ( $p=0,0093$ , Fisher Exakt Test; zweis.,  $n=49$ ) häufiger Antikörper gegen PI-3 als Breitmaulnashörner.

In Kenia sind mehr Breitmaulnashörner seropositiv für L. grippotyphosa als Spitzmaulnashörner ( $p=0,0052$ , Fisher Exakt Test; zweis.,  $n=47$ ).

### 5.3 Geographisch-epizootiologische Unterschiede

Im folgenden Abschnitt werden die Ergebnisse in Hinblick auf die geographische Verteilung der Antikörper Nachweise dargestellt.

#### 5.3.1 Afrikanische Pferdepest (AHS)

Abb. 6a zeigt, daß es im KNP ( $p<0,0001$ ; Fisher Exakt Test, zweiseitig,  $n=183$ ) und in Natal ( $p = 0,0005$ ; Fisher Exakt Test, zweiseitig,  $n=114$ ) signifikant mehr seropositive Nashörner für AHS gibt als in Kenia. Bemerkenswert ist, daß weder in Namibia noch in Kimberley Antikörper gegen AHS bei Nashörnern gefunden werden konnten. Bei Betrachtung der einzelnen Spezies können für Spitzmaulnashörner keine signifikanten Unterschiede zwischen den Verbreitungsgebieten festgestellt werden. Bei den Breitmaulnashörnern gibt es in Natal einen signifikant höheren Anteil seropositiver Tiere für AHS als in Kenia ( $p= 0,0002$ , Fisher Exakt Test, zweiseitig,  $n=61$ ).

#### 5.3.2 Blauzungenerkrankung (BT)

Abb. 6b zeigt den prozentualen Anteil seropositiver Tiere für BT in den verschiedenen Verbreitungsgebieten. Es ist zu erkennen, daß es in Natal signifikant mehr seropositive Nashörner gibt als in Namibia ( $p <0,0001$ ; Fisher Exakt Test, zweiseitig,  $n=51$ ) wie auch im KNP ( $p<0,0001$ ; Fisher Exakt Test, zweiseitig,  $n=166$ ). In Kenia ist der Anteil seropositiver Reagenter für BT im Vergleich zu Namibia ( $p<0,0001$ ; Fisher Exakt Test, zweiseitig,  $n=92$ ) und KNP ( $p<0,0001$ , Fisher Exakt Test, zweiseitig,  $n=178$ ) signifikant höher.

Innerhalb der einzelnen Spezies wurden in Natal mehr Spitzmaulnashörner mit Antikörpern gegen BT detektiert als in Namibia ( $p=0,0017$ ; Fisher Exakt Test, zweiseitig,  $n=30$ ) und im KNP ( $p=0,0006$ ; Fisher Exakt Test, zweiseitig,  $n=54$ ).

Bei den Breitmaulnashörnern waren in Natal signifikant mehr Tiere seropositive als in Namibia ( $p=0,0010$ ; Fisher Exakt Test, zweiseitig,  $n=52$ ), und in Kimberley mehr als im KNP ( $p<0,0001$ ; Fisher Exakt Test, zweiseitig,  $n=96$ ).

## AHS

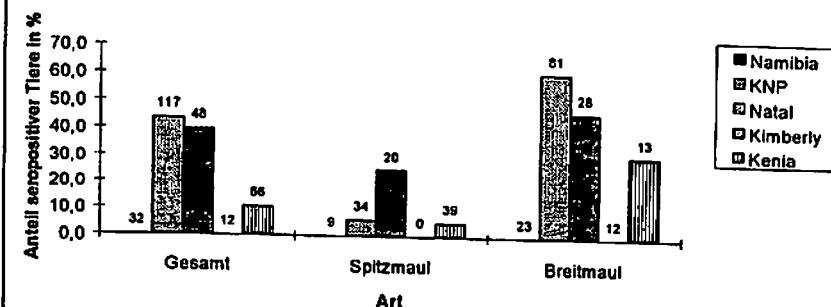


Abb. 6a: Prozentualer Anteil seropositiver Tiere für Afrikanische Pferdepest in den verschiedenen Verbreitungsgebieten (die Zahlen über den Säulen geben die Anzahl der jeweils untersuchten Proben an).

## BT

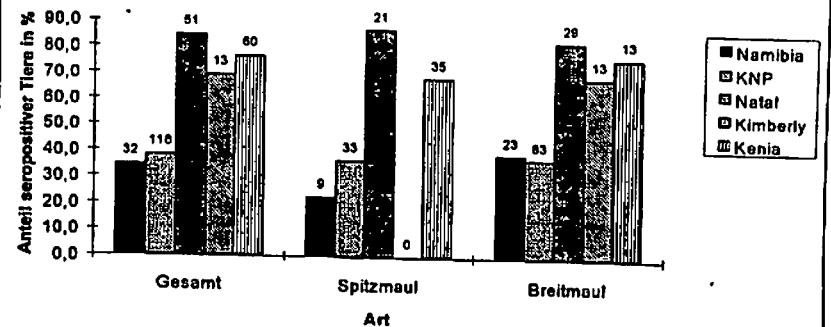


Abb. 6b: Prozentualer Anteil seropositiver Tiere für die Blauzungenerkrankung in den verschiedenen Verbreitungsgebieten (die Zahlen über den Säulen geben die Anzahl der jeweils untersuchten Proben an).

### 5.3.3 Bovines Herpes Virus -1 (BHV-1)

In Abb. 6c ist der Anteil seropositiver Tiere für BHV-1 in den verschiedenen Verbreitungsgebieten dargestellt. Es konnten nur wenige Nashörner mit Antikörpern gegen BHV-1 detektiert werden, so daß ein statistischer Vergleich der Gebiete nicht möglich ist.

In Namibia konnten keine Antikörper nachgewiesen werden. In den drei Gebieten aus Südafrika war jeweils ein Tier seropositiv für BHV-1. Vier der insgesamt sieben seropositiven Nashörner stammten aus Kenia. Aufgrund unvollständiger Informationen konnten diese aber keiner Nashornart zugeordnet werden.

BHV-1

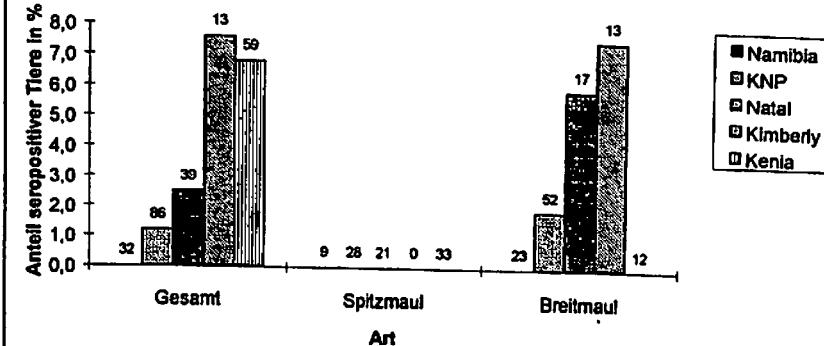


Abb. 6c: Prozentualer Anteil seropositiver Tiere für Bovines Herpes Virus-1 in den verschiedenen Verbreitungsgebieten (die Zahlen über den Säulen geben die Anzahl der jeweils untersuchten Proben an)

EHV-1

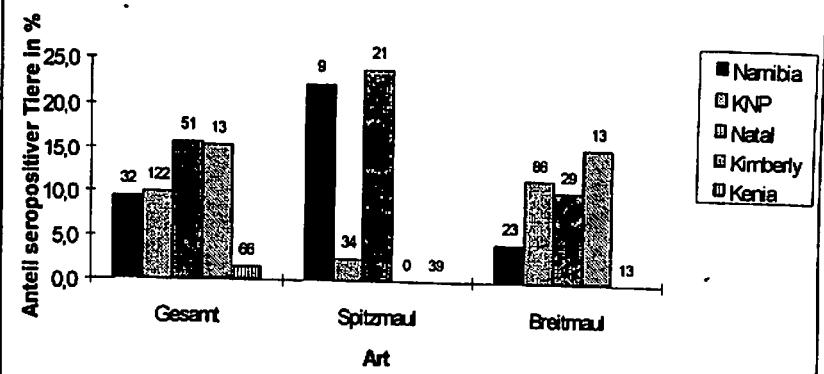


Abb. 6d: Prozentualer Anteil seropositiver Tiere für Equines Herpes Virus-1 in den verschiedenen Verbreitungsgebieten (die Zahlen über den Säulen geben die Anzahl der jeweils untersuchten Proben an)

### 5.3.5 Bovine Virus Diarrhoe Virus (BVDV)

In Abb. 6e ist der Anteil seropositiver Nashörner für BVDV dargestellt. Es konnten bei jeweils einem Nashorn Antikörper gegen BVDV im KNP, Natal und Kimberley detektiert werden. Alle drei Regionen sind in Südafrika.

### 5.3.6 Parainfluenza 3- Virus (PI 3)

In der Abb. 6f ist der prozentuale Anteil der seropositiven Tiere für PI 3 in den verschiedenen Verbreitungsgebieten dargestellt. Es ist zu erkennen, daß es in Namibia ( $p=0,0005$ ; Fisher Exakt Test; zweis., n=98) und im KNP ( $p=0,0001$ ; Fisher Exakt Test; zweis., n=133) signifikant mehr PI 3 seropositive Nashörner gibt als in Kenia.

Darüber hinaus haben im KNP im Vergleich zu Natal signifikant mehr Nashörner Antikörper gegen PI 3 ( $p=0,0009$ ; Fisher Exakt Test; zweis. n=117). In Kimberley konnten keine Antikörper gegen PI 3 detektiert werden.

Bei Betrachtung der einzelnen Nashornarten haben Spitzmaulnashörner in Namibia ( $p<0,0001$ ; Fisher Exakt Test; zweis., n=48) und KNP ( $p<0,0001$ ; Fisher Exakt Test; zweis., n=53) einen signifikant höheren Anteil seropositiver Tiere für PI 3 als in Kenia. Anders sind die Verhältnisse bei den Breitmaulnashörnern, wo im KNP signifikant mehr Tiere seropositiv sind als in Natal ( $p=0,0007$ ; Fisher Exakt Test; zweis., n=80) und Kimberley ( $p=0,0026$ , Fisher Exakt Test; zweis., n=64).

BVDV

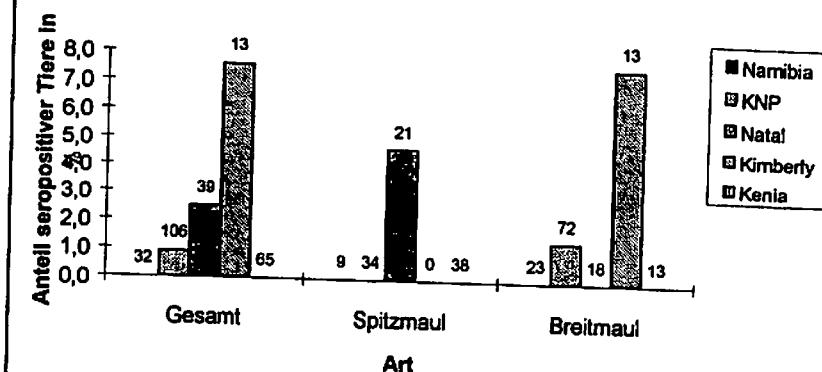


Abb. 6e: Prozentualer Anteil seropositiver Tiere für Bovines Virus Diarrhoe Virus in den verschiedenen Verbreitungsgebieten (die Zahlen über den Säulen geben die Anzahl der jeweils untersuchten Proben an)

PI 3

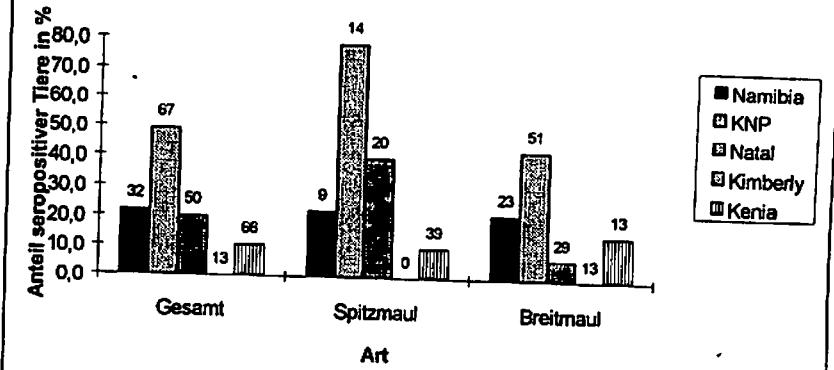


Abb. 6f: Prozentualer Anteil seropositiver Tiere für Parainfluenza 3 in den verschiedenen Verbreitungsgebieten (die Zahlen über den Säulen geben die Anzahl der jeweils untersuchten Proben an)

### 5.3.7 *Leptospira grippotyphosa*

In Abb. 6g ist die Verbreitung von Antikörpern gegen *L. grippotyphosa* in den verschiedenen Untersuchungsgebieten dargestellt. Die Unterschiede zwischen den Gebieten sind nicht signifikant.

Bemerkenswert ist, daß in Kimberley bei keinem Nashorn Antikörper gegen diesen Erreger detektiert werden konnten.

Bei den Breitmaulnashörnern ist beachtenswert, daß es in Kenia einen sehr hohen prozentualen Anteil an Reagenten gibt.

### *L. grippotyphosa*

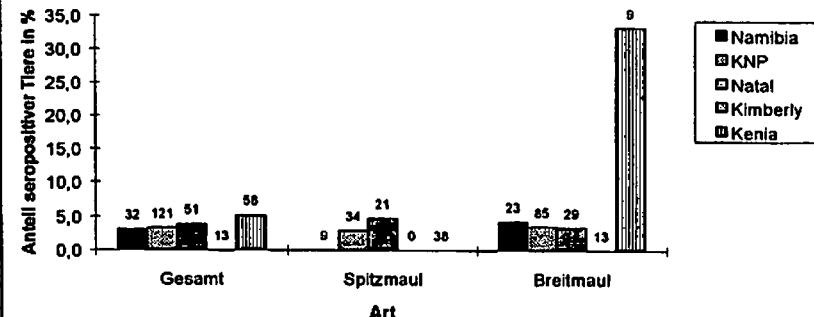


Abb. 6g: Prozentualer Anteil seropositiver Tiere für *L. grippotyphosa* in den verschiedenen Verbreitungsgebieten (die Zahlen über den Säulen geben die Anzahl der jeweils untersuchten Proben an)

### *L. tarassovi*

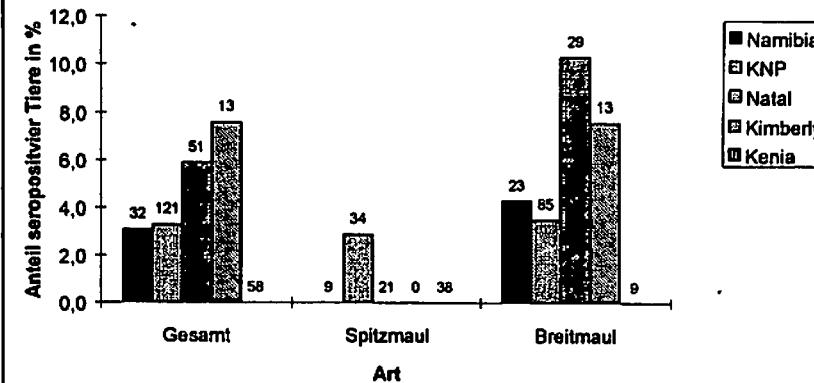


Abb. 6h: Prozentualer Anteil seropositiver Tiere für *L. tarassovi* in den verschiedenen Verbreitungsgebieten (die Zahlen über den Säulen geben die Anzahl der jeweils untersuchten Proben an)

### 5.3.8 *Leptospira bratislava*

In Abb. 6i sind die Unterschiede des Anteils seropositiver Reagenter für *L. bratislava* in den verschiedenen Verbreitungsgebieten dargestellt.

Herauszustellen ist, daß es in Natal signifikant mehr seropositive Nashörner gibt als im KNP (p=0,0046, Fisher Exakt Test, zweiseitig, n=114). Dieser Unterschied gilt auch für die Spitzmaulnashörner (p=0,0018, Fisher Exakt Test, zweiseitig, n=55).

Bei den Nashörnern aus Namibia konnten keine Antikörper gegen *L. bratislava* nachgewiesen werden.

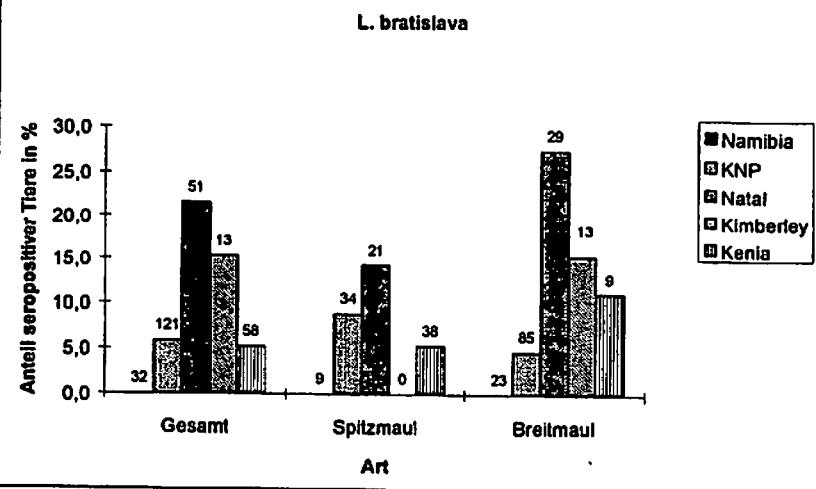


Abb. 6i: Prozentualer Anteil seropositiver Tiere für *L. bratislava* in den verschiedenen Verbreitungsgebieten (die Zahlen über den Säulen geben die Anzahl der jeweils untersuchten Proben an)

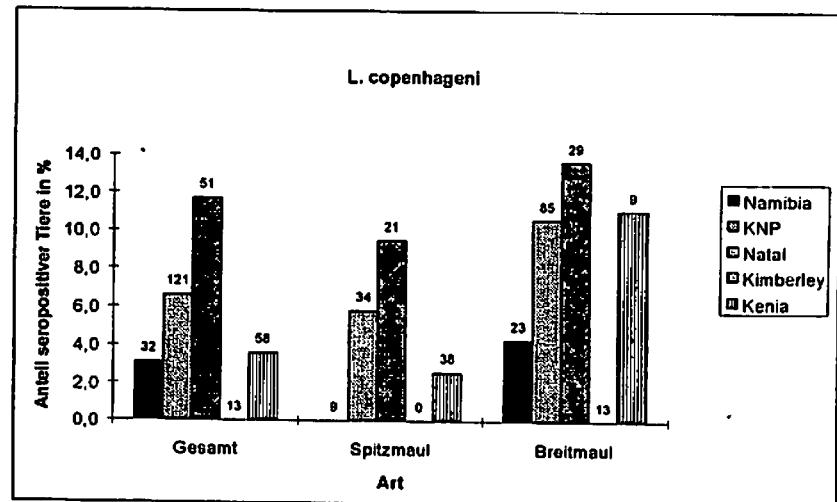


Abb. 6j: Prozentualer Anteil seropositiver Tiere für *L. copenhageni* in den verschiedenen Verbreitungsgebieten (die Zahlen über den Säulen geben die Anzahl der jeweils untersuchten Proben an)

## Ergebnisse

Die Zusammenfassung der geographisch-epizootiologischen Unterschiede ergibt folgende Fakten:

- weder bei Nashörnern aus Namibia noch aus Kimberley konnten Antikörper gegen AHS nachgewiesen werden. Dagegen lag der Anteil seropositiver Nashörner im KNP und Natal zwischen 40 und 50%,
- gegen BT waren in Natal, Kimberley und Kenia bis zu 80% seropositiv,
- vier von sieben Nashörnern mit Antikörpern gegen BHV-1 stammten aus Kenia,
- sowohl in Namibia als auch in Natal ist die Exposition zu EHV-1 höher als in Kenia
- Antikörper gegen BVDV konnten erstmals bei drei Tieren aus den Gebieten in Südafrika nachgewiesen werden, i
- im KNP ist der prozentuale Anteil seropositiver Nashörner für PI 3 fast 50%,
- der Anteil Reagenzien für die verschiedenen *Leptospira* spp. unterscheidet sich in den einzelnen Verbreitungsgebieten. Auffallend ist, daß besonders in Natal Antikörper gegen die verschiedenen *Leptospira* spp. nachgewiesen werden konnten. In Kimberley allerdings konnten keine Antikörper gegen *L. grippotyphosa* und *L. copenhageni* gefunden werden. In Kenia waren keine Nashörner für *L. tarassovi* und in Namibia keine für *L. bratislava* seropositiv.

## Ergebnisse

### 5.4 Mehrfachinfektionen

Nachstehend ist dargestellt, inwieweit die untersuchten Nashörner Antikörper gegen mehr als einen der untersuchten Erreger haben.

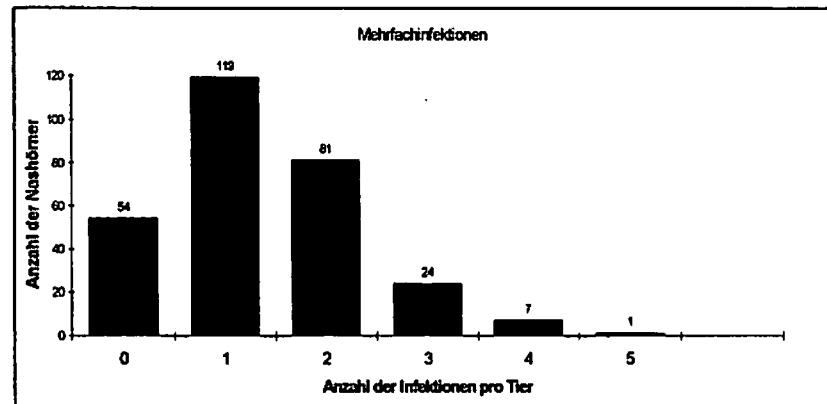


Abb. 7: Anzahl der Nashörner mit Antikörpern gegen mehr als einen Infektionserreger.

In Abb. 7 wird die Anzahl der Mehrfachinfektionen in Bezug auf die Nashörner dargestellt. Es ist zu erkennen, daß der größte Anteil der Nashörner gegen nur einen der untersuchten Infektionserreger Antikörper aufweist.

In Tab. 9 ist die Anzahl der Nashörner, bei denen Antikörper gegen die verschiedenen Erreger gemeinsam auftraten, zusammengestellt (z.B. haben 41 Nashörner Antikörper gegen AHS und gleichzeitig gegen BT).

Tab.9: Anzahl der Nashörner, bei denen Antikörper gegen die verschiedenen Infektionserreger gleichzeitig nachgewiesen werden konnten.

AHS	BT	BHV-1	EHV-1	BVDV	PI 3	L.grip	L.tara	L.brat	L.cop
AHS	-	41	-	8	1	13	6	3	6
BT	-	-	5	13	1	22	6	3	4
BHV-1	-	-	-	-	-	-	-	16	9
EHV-1	-	-	-	-	1	5	1	1	-
BVDV	-	-	-	-	-	-	-	2	3
PI 3	-	-	-	-	-	-	-	1	2
L.grip	-	-	-	-	-	3	4	1	-
L.tara	-	-	-	-	-	-	2	1	3
L.brat	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L.cop	-	-	-	-	-	-	-	-	3

Tab. 10 zeigt die Beteiligung der verschiedenen Infektionserreger bei seropositiven Nashörnern. Es ist zu erkennen, daß die Erreger am häufigsten bei Doppelinfektionen beteiligt sind.

Tab. 10: Beteiligung der Erreger an Mehrfachinfektionen

Anzahl der Infektionen Infektionserreger	1	2	3	4	5
AHS	19	36	17	4	0
BT	64	68	20	4	1
BHV-1	0	4	1	1	1
EHV-1	5	7	9	3	1
PI 3	21	24	9	3	1
BVDV	1	0	0	2	0
L. gripp.	3	1	3	2	0
L. tara.	3	1	3	1	1
L. brat.	2	14	3	5	0
L. cop.	1	8	5	3	0

## 6 Diskussion

### 6.1 Die Bedeutung von seroepizootiologischen Untersuchungen bei bedrohten Wildtierarten

Seroepizootiologische Untersuchungen schaffen die Basis für das Verständnis der Epizootiologie von Infektionskrankheiten. Sie helfen Erreger, die an einer Epidemie beteiligt sind, zu identifizieren, den Infektionsstatus einer Population abzuschätzen, sowie Übertragungswege aufzudecken (Munson und Cook, 1993). Das Wissen um die epizootiologische Situation ist die Voraussetzung zur Verhütung und Bekämpfung von Infektionskrankheiten (Dedek, 1992).

Wissenschaftliche Untersuchungen an bedrohten Tierarten, wie z.B. den Nashörnern, sind für Artenschutz und Arterhaltung von großer Bedeutung. Die Restpopulationen überleben nur häufig in einem sehr labilen ökologischen Gleichgewicht, so daß die Kenntnis aller möglichen schädigenden Einflußfaktoren von großer Bedeutung ist (Taylor et al., 1997). Im Gegensatz zu den Haustierbeständen ist das Wissen über die epizootiologische Situation lebender Wildtiere noch lückenhaft (Dedek, 1992). Eine Vielzahl von Infektionen und Parasiten, die bei Haus- und Nutztieren sowie beim Menschen von Bedeutung sind, kommt auch bei wildlebenden Tieren vor. Sie können zu klinischen Erscheinungen führen, verlaufen jedoch meistens subklinisch oder werden nicht erkannt (Krauss et al., 1984).

Im Rahmen systematischer und regelmäßiger wildtierhygienischer Untersuchungen kommt serologischen Screenings eine besondere Bedeutung zu (Schwedler, 1986). Serologische Screenings sind geeignet, grundlegende Informationen über die epizootiologische Situation beim Wild zu erhalten und Risikosituationen für Wild- und Haustiere sowie den Menschen aufzuzeigen. Sie bilden die Grundlage für ein serologisches „Wildlife monitoring“ (Dedek, 1992).

Das Auftreten von Antikörpern gegen ein spezifisches Antigen im Serum eines Tieres bedeutet, daß sich dieses Tier zu irgendeinem Zeitpunkt in seinem Leben mit diesem Antigen immunologisch auseinandergesetzt hat (Thrusfield, 1995). Das heißt, in serologischen Studien werden die Expositionen von Individuen bzw. Populationen gegen verschiedene Erreger geprüft.

## 6.2 Methodenkritik

### 6.2.1 Probenmaterial

Das Probenmaterial stammt aus sehr unterschiedlichen Bezugsquellen und war deshalb von heterogener Qualität. Einige Proben waren durch unsachgemäße Behandlung hämolytisch (19,2 %) oder kontaminiert (11,9 %). Unbekannte Lagerungsart und -dauer oder der Einfluß der Gefriertrocknung (18% der Proben) sowie lange Transportwege müssen bei der Interpretation der Ergebnisse berücksichtigt werden.

In Hinblick auf Altersverteilung, Geschlechterverteilung oder Jahreszeit fehlten in den meisten Fällen genaue Angaben zu den einzelnen Proben. Die Proben stammten hauptsächlich von klinisch gesunden Tieren, die aus Gründen des „Wildlife Managements“ immobilisiert worden waren. Es liegen daher keine Berichte klinischer Symptome der untersuchten Tiere vor.

Der größere Anteil (ca. 60%) der auswertbaren Proben stammt von Breitmaulnashörnern. Dies ist auf die stärkere Verbreitung des Breitmaulnashorns im südlichen Afrika zurückzuführen (Abb. 1).

Die Bestimmung von Seroprävalenzen in einer Population setzt Untersuchungen einer bestimmten Probengruppe, in einem definierten Gebiet und in einem definierten Zeitraum voraus (Thrusfield; 1995). Das vorliegende Untersuchungsmaterial wurde nur sporadisch in den unterschiedlichen Gebieten gesammelt. Daher wurde in dieser Arbeit aus epidemiologischer Sicht ausschließlich die Anzahl seropositiver Reagenzien bestimmt.

### 6.2.2 Statistik

Bei zwei so seltenen Tierarten wie den afrikanischen Nashörnern ist es nicht möglich, eine Stichprobe nach den Kriterien einer statistischen Zufallsprobe zu erheben. Allerdings ist darauf hinzuweisen, daß die Auswahl der immobilisierten Tiere keiner Selektion nach bestimmten Kriterien gefolgt ist.

Es sind daher keine Aussagen über die Population der Nashörner möglich. Diese Studie ist im statistischen Sinne nur als Stichprobe zu verstehen.

### 6.2.3 Laboruntersuchungen

Die meisten serologischen Tests, die für größere Wildtiere verwendet werden, sind direkt aus der Haustierdiagnostik übernommen worden. Durch speziespezifische Unterschiede in der Immunantwort eines Wildtieres kann aber nicht uneingeschränkt davon ausgegangen werden, daß serologische Tests bei den Wildtieren auf gleiche Weise reagieren. Eine Standardisierung für Wildtiere ist für die meisten Tests nicht durchgeführt worden (Gardner et al., 1996). Der Virusneutralisationstest hat sich aber als geeignete Methode bewährt (Kölbl, 1994). Bei der Interpretation von serologischen Tests müssen verschiedene Faktoren berücksichtigt werden: 1) eine genaue Beurteilung ist nur möglich, wenn die Ergebnisse innerhalb einer signifikanten Anzahl von Individuen unter gleichen Bedingungen verglichen werden können 2) die Sensitivität und Spezifität der einzelnen Tests ist für Nashörner unbekannt, die Beurteilung der Titerstufen kann daher nicht aus der Haustierdiagnostik übertragen werden. 3) bei der Untersuchung von Einzelproben eines Tieres können zum Zeitpunkt der Probennahme die Antikörpertiter von vorangegangenen Infektionen unter den nachweisbaren Level gefallen sein (Munson und Cook, 1993). Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung sind als orientierende Studie von Infektionskrankheiten bei Nashörnern zu werten, die die Grundlage für weiterführende bakteriologische und virologische Arbeiten bildet.

#### 6.2.3.1 Kompetitiver ELISA für den Nachweis von Antikörpern gegen Afrikanische Pferdepest (AHS) und Blauzungenerkrankung (BT)

Für den Nachweis von Antikörpern gegen AHS und BT stehen verschiedene Methoden zur Verfügung. Diese reichen von den sehr schnell durchführbaren ELISA-Tests mit polyklonalen oder monoklonalen Antikörpern bis zur Polymerase Kettenreaktion (PCR), sowie zur Zellkultur oder Inokulation in neugeborene Mäuse (Sanchez-Vizacino, 1996).

Der kompetitive ELISA mit polyklonalen Antikörpern hat sich für den schnellen und spezifischen Nachweis von AHS-Antikörpern bewährt (Afshar et al., 1987). Bis 1982 war die Komplementbindungsreaktion für einen BT-Antikörper-Nachweis das Verfahren der Wahl (Eaton, 1996). Sie wurde durch die Agar-Gel-Immunodiffusion

## Diskussion

abgelöst. Bei diesem Test kam es aber zu Kreuzreaktionen mit Antikörpern gegen das Enzootische Hämorrhagie-Virus. Zur spezifischen Bestimmung von BT-Antikörpern wird heute ein kompetitiver ELISA mit monoklonalen Antikörpern gegen das BT-Protein VP7 verwendet (Afshar et al., 1989; Lunt et al., 1988).

Ein Vorzug des kompetitiven ELISAs ist es, daß im Gegensatz zum indirekten ELISA kein artspezifisches Anti-Nashorn-Konjugat verwendet werden muß. Dieses Testverfahren ist daher besonders geeignet für Untersuchungen bei Wildtieren. Weiterhin werden für den ELISA nur geringe Mengen Serum benötigt, was bei der begrenzten Probenmenge in dieser Untersuchung einen großen Vorteil gegenüber dem Virusneutralisationstest bedeutete. Selbst der hämolytische Zustand von Seren hat keinen Einfluß auf die Testreaktion, so daß fast alle Seren getestet werden konnten.

Die Seren mußten aus seuchenhygienischen Bestimmungen gegen beide Erreger im Institute for Animal Health, Pirbright Laboratory, GB getestet werden.

## Diskussion

Über die Exposition von Nashörnern liefert auch eine Untersuchung eines einzelnen Serums aussagekräftige Ergebnisse. Es besteht eine hohe Kreuzreaktivität zwischen EHV-1 und -4. Da nur eine sehr begrenzte Menge an Probenmaterial vorhanden war, wurde nur auf Antikörper gegen EHV-1 untersucht. In Vorversuchen konnte eine Kreuzreaktion von Nashornserum mit dem Ziege-Anti-Pferd-FITC nachgewiesen werden, so daß der IIF eingesetzt werden konnte. Der IIF wurde dem VNT in diesem Fall vorgezogen, da mit dieser Methode auch nicht neutralisierende Antikörper nachgewiesen werden können.

### 6.2.3.4 Hämaggultinationshemmtest (HAH) für den Nachweis von *Parainfluenza 3-Antikörpern*

Antikörper gegen PI 3-Virus wurden mit dem HAH nachgewiesen (Carbrey et al., 1971). Der HAH ist die anerkannte Standardmethode in der PI 3-Diagnostik. Hämolysische Seren können allerdings nicht getestet werden.

### 6.2.3.5 Nachweis von Antikörpern gegen Riftalfeber (RVF)

Der Virusneutralisationstest für den Nachweis von Antikörpern gegen RVFV ist hochspezifisch. Es werden selbst früheste Immunreaktionen gegen RVFV nachgewiesen. Im Neutralisationstest werden allerdings lebende Erreger eingesetzt, so daß dieser Test nur in endemischen Gebieten angewendet werden sollte.

Als Alternativen stehen ELISA, Hämaggultinationshemmtest, Agar-Gel-Immunodiffusionstest, Immunfluoreszenztest und die KBR zur Verfügung. Kreuzreaktionen zwischen RVFV und anderen Viren aus der Phlebotomus-Fieber-Serumgruppe sind prinzipiell möglich. Der kompetitive ELISA stellt eine zuverlässige und sensitive Alternative dar, mit der bei verschiedensten Tierspezies Antikörper gegen RVFV nachgewiesen werden können (Paweska et al., 1995). Er ist daher die Methode der Wahl.

### 6.2.3.6 Mikroagglutinationsreaktion (MAR) für den Nachweis von *Leptospiranantikörpern*

Antikörper gegen Leptospiren können mit der Komplementbindungsreaktion (KBR), dem Objektträgeragglutinations-Schnelltest (Screening) und der MAR nachgewiesen werden. Die MAR hat die größte Bedeutung unter den serodiagnostischen Verfahren,

### 6.2.3.3 Indirekter Immunfluoreszenztest (IIF) für den Nachweis von *Equinen Herpesvirus-1 (EHV-1)-Antikörpern*

Die Seroprävalenz von EHV-1 Antikörpern bei Equiden ist weltweit nahezu 100%, so daß nur durch eine Untersuchung von Serumpaaren eine Aussage über den Infektionsstatus eines Tieres gemacht werden kann. Für eine orientierende Studie

da sie hochempfindlich und spezifisch ist. Es ist dabei zu beachten, daß bei chronischen Erkrankungen die Antikörper unter die Nachweisgrenze fallen können. Für eine optimale Sensitivität in der Diagnostik ist es von Vorteil, auf möglichst viele Serovare zu untersuchen (Schönberg et al., 1984).

#### 6.2.3.7 Komplementbindungsreaktion (KBR) für den Nachweis von Brucellenantikörpern

Bei Haustieren richtet sich die Wahl der Methode u.a. nach den staatlichen Seuchenbekämpfungsvorschriften, nach der Tierart sowie nach dem Zweck der Untersuchung (Alton et al., 1975; Erlberg, 1984). Einige Nashornseren hatten antikomplementäre Wirkung und konnten nicht ausgewertet werden. Die KBR ist gemäß WHO-FAO-Bericht (1971) standardisiert. Die KBR kann material- und zeitsparend auch als Mikromethode in Mikrotiterplatten durchgeführt werden (Palmer und Whaley, 1986).

#### 6.2.3.8 Komplementbindungsreaktion für den Trypanosomenantikörpernachweis

Humorale Antikörper gegen Trypanosomen können auch bei latenten Infektionen im Serum nachgewiesen werden. Die KBR wird zur Verifizierung klinischer Diagnosen und zur Detektion von latenten Infektionen angewendet (Anonymus, 1997). Die Mikromethode ist material- und zeitsparend (Herr et al., 1985). Seren mit antikomplementärer Wirkung wurden nicht ausgewertet. Kreuzreaktionen gegen *T. cruzi* und *T. evansi* sind prinzipiell möglich.

#### 6.3 Anzahl positiver Reagenter für die untersuchten Infektionskrankheiten bei freilebenden Nashörnern in den verschiedenen Gebieten

##### 6.3.1 Afrikanische Pferdepest (AHS)

Im Rahmen serologischer Untersuchungen von Wildtieren aus dem südlichen Afrika sind in 7 von 121 Nashornseren Antikörper gegen AHS im Virusneutralisationstest nachgewiesen worden (Barnard, pers. Mitteilung). In den eigenen Untersuchungen wurde ein höherer Anteil an seropositiven Nashörnern nachgewiesen. Eine mögliche Ursache ist, daß die Proben im kompetitiven ELISA getestet wurden, der ein sehr sensitives Testverfahren darstellt, da im Gegensatz zum VNT nicht nur neutralisierende Antikörper nachgewiesen werden können. Es konnte gezeigt werden, daß Nashörner Träger von Antikörpern gegen AHS sind und daß sie als Anzeiger dienen können, ob AHS in dem jeweiligen Lebensraum der Tiere vorkommt.

Es gibt keinerlei Berichte über klinische Erkrankungen oder Virusnachweise von AHS beim Nashorn, d.h. die Frage, ob Nashörner auch als Überträger oder Virusreservoir in Frage kommen, kann im Rahmen dieser Untersuchungen nicht geklärt werden.

Das Virus der AHS ist in Ost- und Zentralafrika endemisch und breitet sich in regelmäßigen Zeitabständen südwärts aus (Theiler, 1921). Die AHS ist nicht direkt kontagiös, sondern wird durch Stechmücken, hauptsächlich *Culicoides* spp., übertragen. Die Verbreitung der Krankheit ist somit an ihren Vektor gebunden. In Namibia fiel Anfang dieses Jahrhunderts regelmäßig ein Großteil der Pferdepopulation AHS-Epidemien zum Opfer, aber seit der Einführung eines Impfstoffes im Jahre 1934 gab es nur noch sporadische Ausbrüche (Schneider, 1994). 1994 sind in Namibia nur vier Fälle gemeldet worden (Anonymus, 1994).

Durch serologische und virologische Untersuchungen konnte nachgewiesen werden, daß Zebras aus Namibia für den Ausbruch der AHS in Spanien 1987 verantwortlich waren (Lubroth, 1988). Entgegen vielen anderslautenden Berichten ist AHS in Südafrika, mit Ausnahme der Transvaal-Tiefebene und Natal, nicht endemisch. Das Transvaal-Hochland, Orange Free State (Kimberley) und die Kapprovinzen sind normalerweise frei von AHS (Coetzer und Erasmus, 1994). Im Krüger-Nationalpark (KNP) haben die meisten Zebras Antikörper gegen AHS (Erasmus et al., 1976). Auch in Kenia sind sowohl bei Zebras als auch bei Afrikanischen Elefanten Antikörper gegen AHS nachgewiesen worden (Davies und Otino, 1977; Erasmus et al., 1978).

Diese Angaben stimmen mit den Ergebnissen dieser Untersuchung überein. Die obengenannte Verbreitung des AHS-Virus erklärt, warum weder in Namibia noch in Kimberley seropositive Nashörner gefunden werden konnten. Die Ursache für den signifikanten Unterschied zwischen dem KNP und Natal einerseits und Kenia andererseits kann an der Jahreszeit der Probennahme, an der aktuellen epidemiologischen Situation von AHS zur Zeit der Probenentnahme und am unterschiedlichen Infektionsdruck durch die Vektorpopulation liegen.

### 6.3.2 Blauzungenerkrankung (BT)

BT ist in Afrika endemisch (Meltzer, 1989). Es ist bekannt, daß das Virus der Blauzungenerkrankung sich in verschiedenen Antilopenarten replizieren kann (Simpson, 1978); es gibt aber keine Berichte von pathogenen Einflüssen des Virus auf diese Tiere. Des Weiteren sind Antikörper gegen das BT Virus bei den meisten Huftieren im südlichen Afrika nachgewiesen worden (Bengis und Erasmus, 1988). BT gehört, ebenso wie AHS, zu den ursprünglich in Afrika einheimischen Infektionskrankheiten. Die meisten Wildtiere haben sich durch Selektion an das Virus adaptiert, so daß es nicht zu klinischen Erkrankungen kommt.

In Simbabwe wurden in 12 von 35 untersuchten Nashornseren (34%) Antikörper gegen das BT-Virus im kompetitiven ELISA nachgewiesen (Anderson, im Druck). In Südafrika konnte dagegen bei entsprechenden Untersuchungen kein Nachweis von BT-Antikörpern bei Nashörnern erbracht werden (Barnard, unveröffentlichte Daten). In den eigenen Untersuchungen hatten fast 57% der getesteten Nashornseren Antikörper gegen das BT-Virus.

Im Vergleich zu Untersuchungen an Wiederkäuern, die bis zu 98 % seropositive Ergebnisse zeigten (House et al., 1982), scheinen Nashörner nicht so empfänglich für dieses Virus zu sein. Ebenso wie das AHS-Virus wird das BT-Virus durch blutsaugende Insekten übertragen, insbesondere *Culicoides* spp., Moskitos und Zecken. Das Auftreten der Krankheit ist somit mit dem Lebenszyklus der Insekten verbunden, d.h. Erkrankungen treten vermehrt im feuchtwarmem Sommer auf. Über Vektoren kann der Erreger bis zu 200 km verweht werden. In Südafrika wurde die Seuche 1906 erstmals beobachtet. Mit dem Export von Merinolandschafen wurde sie in weitere afrikanische Länder verbreitet. Davies und Walker (1974) berichten, daß in Kenia BT auch unter den Wildtieren weitverbreitet ist. In Namibia ist BT ebenfalls

endemisch, dort wurde 1994 bei 12 Schafen BT diagnostiziert (Schneider, 1994). Die Unterschiede im Anteil seropositiver Nashörner in den einzelnen Untersuchungsgebieten sind vermutlich vom Jahreszeitpunkt der Probennahme und der unterschiedlichen Verbreitung der Vektoren z.B. durch günstigere Lebensbedingungen für Stechmücken (Sumpfgebiet) abhängig.

### 6.3.3 Bovines Herpes Virus- 1 (BHV-1) Infektion

In dieser Untersuchung konnten erstmals bei sieben Nashörnern Antikörper gegen BHV-1 nachgewiesen werden. Der Verdacht einer Herpesvirusinfektion bei Nashörnern war früher nur von einem Fall im Zoo Berlin bekannt (Götzenboth, 1988). Allerdings konnte damals kein Virus isoliert oder nachgewiesen werden.

Eine Infektion mit BHV-1 ruft eine Antikörperreaktion hervor, die ein Leben lang bestehen bleibt. Fast alle Wiederkäuer sind empfänglich für BHV-1, es soll aber keine anderen Reservoirs für BHV-1 geben (Anonymus, 1996). Allerdings sind Infektionen auch von Nicht-Wiederkäuern bekannt, denn es wurden auch in Seren von Flußpferden (*Hippopotamus amphibius*) Antikörper gegen BHV-1 gefunden (Kaminjolo und Paulsen, 1970).

In anderen Untersuchungen aus Südafrika und Simbabwe konnten bei Nashörnern keine Antikörper gegen BHV-1 nachgewiesen werden (Barnard und Anderson unveröffentl. Daten). Fünf der sieben positiven Reagenzien stammten von der Solio Game Ranch in Kenia. Es ist anzunehmen, daß es dort durch intensiven Kontakt mit Wildwiederkäuern zu einer BHV-1-Infektion gekommen ist. Der Antikörernachweis bedeutet jedoch nicht, daß Nashörner ein Reservoir für BHV-1 sind. Das Virus ist in Südafrika weitverbreitet. In Namibia wurden die letzten gesicherten BHV-1 Infektionen 1993 diagnostiziert (Anonymus, 1994). In Kenia sind bis zu 40% der Rinder infiziert (Kaminjolo und Paulsen, 1970). Infolge der geringen Anzahl der seropositiven Tiere können keine signifikanten geographischen Unterschiede festgestellt werden.

### 6.2.4 Equines Herpes Virus- 1 (EHV-1) Infektion

Das EHV-1 und das nah verwandte EHV-4 sind weltweit verbreitet. Bei Wildtieren sind Antikörper gegen EHV-1 und EHV-4 auch bei allen Zebraarten nachgewiesen

worden (Barnard und Paweska, 1993; Borchers und Frölich, 1997). Eine Virusisolierung aus freilebenden Zebras ist allerdings noch nicht gelungen. Berichte von Infektionen beim Nashorn gibt es bisher nicht. In dieser Untersuchung konnte erstmals die Prävalenz von Antikörpern gegen EHV-1 bei Nashörnern und somit ihre Empfänglichkeit für dieses Virus nachgewiesen werden.

Glykosylierte Virusstrukturproteine auf der Virushülle spielen bei der Induktion der zellulären und humoralen Immunantwort eine große Rolle. Das Glykoprotein B (gB) der Herpesviren besitzt hoch konservierte Epitope und ist an der Kreuzreaktion verschiedener Herpesviren im Neutralisationstest beteiligt (Ludwig et al., 1983). So ist es möglich, daß Nashörner spezifische Herpesviren haben, die mit EHV-1 kreuzreagieren.

Der Anteil seropositiver Nashörner (9,1%) ist im Vergleich zu Zebras (bis zu 87%) allerdings wesentlich geringer. Das kann u. a. an einer geringeren Spezifität des Testes liegen, an unvollständigen Kreuzreaktionen mit dem Ziege-Anti-Pferd-Konjugat, und auch in einer geringeren Empfänglichkeit für das Virus begründet sein. In Pferdepopulationen aus verschiedenen Ländern ist eine EHV-1 Seroprävalenz von bis zu 100% nachgewiesen worden. In Südafrika gehören equine Herpesviren zu den wichtigsten Erregern beim Pferd. Im KNP waren 87% der Burchell-Zebras (*Zebra quagga burchelli*) seropositiv für EHV-1 und 92% positiv für EHV-4 (Barnard und Paweska, 1993). Das entspricht dem Durchseuchungsgrad der Pferdepopulation in diesem Gebiet (Sabine et al., 1983). In Namibia werden sporadische Ausbrüche der Equinen Herpesvirus-1 -Infektion gemeldet. In einer serologischen Untersuchung von Hartmann-Bergzebras (*Equus zebra hartmannae*) aus Namibia waren 100% der Tiere seropositiv für EHV-1 und 33% positiv für EHV-4 (Borchers und Frölich, 1997). Aus Kenia liegen Daten über den Infektionsstatus von EHV-1 weder für Pferde noch für Zebras vor (Anonymus, 1994). Man kann aber davon ausgehen, daß diese ungewisse Situation der in den anderen afrikanischen Ländern entspricht. Durch die Eigenschaft der Herpesviren, latente Infektionen auszubilden, werden Virusreservoir geschaffen, die eine ständige Quelle für Neuinfektionen sind, womit die hohen Prävalenzen für EHV-1 erklärt werden können (Rock, 1992). Inwieweit Zebras als Virusreservoir eine Rolle spielen, ist aber noch völlig ungeklärt (Barnard und Paweska, 1993).

Die territorialen Unterschiede in den Anteilen seropositiver Nashörner in dieser Untersuchung sind wahrscheinlich auf den unterschiedlichen Kontakt mit Virusträgern

zurückzuführen, d.h. in Kenia haben die Nashörner vermutlich einen geringeren Kontakt zu infizierten Equiden.

### 6.3.5 Bovine Virus Diarrhoe/ Mucosal Disease (BVD/MD)

Das Virus der BVD/MD ist weltweit verbreitet. Seroepidemiologische Untersuchungen bei Wildwiederkäuern aus Europa, Nordamerika, Australien und Afrika zeigen, daß viele Spezies Antikörper gegen das BVDV haben, wobei nicht nur Wiederkäuer empfänglich sind (von Campen et al. im Druck). In dieser Untersuchung konnten bei drei Nashörnern Antikörper gegen BVDV nachgewiesen werden - ein Beweis, daß auch Nashörner BVDV- exponiert sind. Das entspricht auch den neuesten Untersuchungen von Anderson (unveröffentliche Daten), der bei einem Spitzmaulnashorn in Simbabwe Antikörper gegen BVDV nachweisen konnte. Für eine Beurteilung geographisch-epidemiologischer Unterschiede reicht die Zahl der seropositiven Tiere nicht aus.

### 6.3.6 Parainfluenza 3-Infektion (PI 3)

PI 3 ist weltweit verbreitet. Wildwiederkäuer weisen eine hohe Prävalenz des Virus auf (Erasmus und Boshoff, 1967; Barrat et al., 1985; Kingscote und Bohat, 1987; Giovannini et al., 1988). Auch bei anderen Wildtieren, wie z.B. Flußpferd, Afrikanischer Elefant und Bergzebra, konnten Antikörper gegen PI 3 nachgewiesen werden. Eine krankmachende Wirkung des PI 3-Virus beim Wild ist derzeit noch nicht nachgewiesen. Am wahrscheinlichsten ist, daß ähnlich wie beim Rind eine PI 3-Virusinfektion prädisponierend wirkt für schwerwiegende Sekundärinfektionen, vornehmlich der Atmungsorgane. Andere Symptome wie Aborte können nicht ausgeschlossen werden (Dedek, 1992). Erasmus (1967) wies bei 10 von 16 Nashörnern PI 3-Antikörper nach. In der vorliegenden Untersuchung ist der Anteil seropositiver Nashörner geringer, doch konnte bestätigt werden, daß Nashörner für das Virus empfänglich sind.

Obwohl das Virus ein breites Wirtsspektrum hat und viele Wildtierarten Antikörper aufweisen, gelten Rinder als das Hauptvirusreservoir (Dedek, 1992). Daher können Unterschiede in der Exposition von Wildtieren zu PI 3 mit der wechselnden Intensität von Haustier- Wildtierkontakte begründet werden.

### 6.3.7 Enzephalomyokarditis (EMC)

Bei einer serologischen Studie von Wildtieren im südlichen Afrika wurden keine Antikörper gegen das EMC-Virus nachgewiesen (Bengis, 1996). Dieses Ergebnis stimmt mit den eigenen Untersuchungen überein.

Das Reservoir für das EMC-Virus sind wildlebende Nagetiere. In Zoos wurden EMC-Virusinfektionen auch bei Primaten, Pferden, Rindern, Elefanten und Großkatzen nachgewiesen (Krauss et al., 1986). Es gibt Berichte über Todesfälle von Nashörnern, die in Zoos gehalten wurden (Gaskin et al., 1980; Olsen, 1989). Berichte über freilebende seropositive Nashörner liegen nicht vor. Da aber das Nashorn offensichtlich an EMC erkrankt, kann die Abwesenheit von Antikörpern im Neutralisationstest auch darauf zurückzuführen sein, daß beim Nashorn EMCV-neutralisierende Antikörper eine nur kurze Halbwertszeit haben und so bei der Probenentnahme nicht mehr vorhanden waren. In der Zoohaltung haben Nashörner einen engeren Kontakt zu den virustragenden Nagetieren als in der freien Wildbahn. So sind freilebende Nashörner einem geringeren Infektionsdruck ausgesetzt.

### 6.3.8 Rifttafieber (RVF)

In Afrika einheimische Tiere sind häufig nur inapparent mit dem RVF-Virus infiziert (Anonymus, 1996). Es ist bekannt, daß der Kaffernbüffel für das RVF-Virus empfänglich ist (Davies, 1981). Im KNP konnten sowohl beim Flußpferd als auch beim Afrikanischen Elefanten Antikörper gegen das RVF-Virus nachgewiesen werden (Bengis und Erasmus, 1988). Berichte über serologische Untersuchungen auf RVFV beim Nashorn liegen nicht vor. In dieser Untersuchung konnten keine seropositiven Tiere identifiziert werden. Aus Simbabwe gibt es aber neue Untersuchungen, bei denen 23 von 194 untersuchten Nashörnern Antikörper gegen RVFV hatten (Anderson, im Druck). Es kann also davon ausgegangen werden, daß das Nashorn für RVFV zwar empfänglich, die Exposition aber gering ist.

### 6.2.9 Beschälseuche der Pferde (*Trypanosoma equiperdum*)

Es gibt mehrere Berichte über Trypanosomoses beim Spitzmaulnashorn (Harthoorn, 1976; McCulloch und Achad, 1969). Clausen (1981) fand bei 32 von 33 Nashörnern aus Kenia und Tansania Antikörper gegen Trypanosomen der Brucegruppe. Berichte über Erkrankungen oder Infektionen mit *Tryp. equiperdum* liegen nicht vor. Auch in dieser Untersuchung konnten keine seropositiven Nashörner nachgewiesen werden. Im Gegensatz zu allen anderen Trypanosomen wird *Tryp. equiperdum* nicht über Arthropoden als Vektoren übertragen sondern während des Koitus. In der Regel wird der Erreger durch ein subklinisch erkranktes Tier in eine Herde eingeschleppt. Empfänglich sind alle Equiden. Obwohl das Nashorn mit den Equiden zu den Perissodactyla gehört, ist eine Übertragung von *Tryp. equiperdum* sehr unwahrscheinlich.

### 6.3.10 Brucellose

Brucellose ist in Afrika endemisch. In serologischen Untersuchungen konnte nachgewiesen werden, daß sowohl Haustiere als auch Wildtiere schon vor dem Import von europäischen Haustierrassen mit *Brucella* spp. infiziert waren. Bei Wildtieren wurden u.a. beim Kaffernbüffel, Flußpferd, Elandantilope (*Taurotragus oryx*), Gnu (*Connochaetes taurinus*), Wasserbock (*Kobus ellipsiprymnus*) und Zebra (*Equus burchelli*) Antikörper gegen Brucellen gefunden. Der Infektionszyklus kann sich innerhalb der Antikörper gegen Brucellen befinden. Der Infektionszyklus kann sich innerhalb der Wildtiere aufrechterhalten, sie stellen dadurch ein Reservoir für die Haustiere dar (Berman, 1981). Im KNP waren 26 Prozent und in Simbabwe 13,6 Prozent der Büffel in der KBR für *Brucella abortus* positiv (Herr und Marshall, 1981). Es gibt keine Hinweise, daß Brucellen irgendeine pathogene Wirkung bei Wildtieren in Afrika haben. Bei Nashörnern wurden noch nie Antikörper gegen Brucellen gefunden. Das Ergebnis der eigenen Untersuchungen entspricht somit den vorherigen Erfahrungen. Es kann gegenwärtig davon ausgegangen werden, daß Nashörner nicht für Brucellose-Erreger empfänglich sind.

### 6.3.11 Leptospirose

Die Leptospirose ist weltweit verbreitet. Bei Wildtieren verlaufen die meisten Infektionen inapparent. Die Hauptansteckungs- und Infektionsquellen für Wildtiere sind Nagetiere (Hübner, 1982; Boch und Schneidawind, 1988). Man unterscheidet Hauptwirte und Fehlwirte. Hauptwirte sind leicht empfänglich, erkranken aber nur selten und sind Erregerreservoir. Fehlwirte dagegen sind relativ resistent, erkranken aber im Falle einer Infektion schwer (Hunter et al., 1988). Bei Spitzmaulnashörnern wird die hämolytische Anämie mit der Leptospirose in Zusammenhang gebracht (Jessup et al., 1992). Die einzelnen Serovare haben unterschiedliche Affinitäten zu bestimmten Tierarten (van der Hoeden, 1964) und sind für bestimmte Gebiete spezifisch. Pferde gelten nur für die Serovare *L. bratislava* als Hauptwirt (Hathaway et al., 1981).

Bei Nashörnern sind Antikörper gegen Leptospiren, sowohl bei in menschlicher Obhut gehaltenen als auch bei freilebenden Tieren regelmäßig nachgewiesen worden (Douglass und Potter, 1980; Mikululica, 1986;). Nashörner sind folglich, wie die meisten Warmblüter, empfänglich für Leptospirose.

Bei einer serologischen Studie von freilebenden Nashörnern in Simbabwe konnte eine hohe Seroprävalenz (63%) für verschiedene Serovare (z.B. *L. icterohaemorrhagiae*, *L. tarassovi*, *L. bratislava*) nachgewiesen werden. Die verschiedenen Serovare scheinen spezifisch für bestimmte Sumpfgebiete oder Flusstäler zu sein. Es gab keine Hinweise für eine Exposition gegenüber Leptospiren in ariden Gebieten wie dem Damaraland in Namibia. Das Auftreten von Infektionen ist von feucht-warmen klimatischen Bedingungen sowie leicht alkalischen Bodenverhältnissen abhängig, die ein Überleben des Erreger außerhalb des Wirtes begünstigen (Buxton und Fraser, 1977). In Südafrika besteht in den niederschlagsreichen Gebieten, wie dem östlichen Transvaal, Natal und den Kapprovinzen, die größte Exposition zu Leptospiren. In Natal wurden bei zwei Spitzmaulnashörnern Antikörper gegen die Serovare *L. mini*, *L. hardjo*, *L. tarassovi*, *L. copenhageni* und *L. pomona* gefunden. Auch in Kenia ist die Seroprävalenz in den humiden Regionen am höchsten. D'Souza (1983) wies bei einer serologischen Studie in Rinderseren aus verschiedenen ökologischen Zonen Kenias bei 9,2% der Tiere Antikörper gegen *L. grippotyphosa* nach. In Kenia wird die Übertragung des Erregers von Haustieren auf Wildtiere durch das System des „free-grazing“ begünstigt, da Wild- und Haustiere die gleichen Wasserstellen nutzen.

In der eigenen Untersuchung wurden gegen alle der vier untersuchten Leptospiren-Serovare Antikörper gefunden. Der Anteil der seropositiven Tiere mit 21% entspricht der Prävalenz von Leptospiren in verschiedenen Ländern Afrikas (Feresu, 1987). Die Unterschiede für das Vorkommen von Antikörpern in den verschiedenen Gebieten sind mit der beschriebenen Gebietsspezifität der Leptospiren zu erklären.

### 6.4 Mehrfachinfektionen von einzelnen Tieren

Assoziationen zwischen dem simultanen Auftreten von Antikörpern gegen mehrere verschiedene Infektionserreger sind weitgehend unbekannt.

Baker (1987) und Horohov et. al. (1986) beschreiben beim Rind einen Zusammenhang zwischen IBR und BVD/MD, der mit immunsuppressiven Wirkungen dieser Infektionskrankheiten begründet wird.

In der vorliegenden Untersuchung konnten keine statistisch gesicherten Zusammenhänge nachgewiesen werden, daß Antikörper gegen bestimmte Erreger vermehrt gemeinsam auftreten (z.B. AHS vermehrt mit BT).

Grundsätzlich gäbe es für eine Mehrfachinfektion folgende Ursachen: 1) die betroffenen Tiere sind einem hohen Infektionsdruck ausgesetzt. Dieser kann u.a. durch eine hohe Tierdichte in einem Gebiet, hohe Belastung mit Vektoren (krankheitsübertragende Insekten) und für den Erreger günstige klimatische Bedingungen entstehen. 2) Immunsuppressive Einflüsse auf das Tier: dazu gehören Streßsituationen, die durch natürliche Gegebenheiten entstehen, wie Dürre und daraus resultierender Nahrungsmangel, oder auch Konkurrenz zu Artgenossen durch zu hohen Tierbesatz. Der Mensch verursacht Streß bei Managementmaßnahmen, wie z.B. Fang, Markierung und Translokationen von Tieren in andere Gebiete.

### 6.5 Artspezifische Unterschiede in der Exposition zu verschiedenen Erregern

Nur für die Afrikanische Pferdepest ergab sich ein signifikanter Unterschied in dem Anteil seropositiver Reagenter zwischen Breitmaul- und Spitzmaulnashörnern. Die beiden afrikanischen Nashornarten unterscheiden sich in Ernährungstyp, Habitatwahl und Sozialverhalten (Grzimek, 1987). So sind Breitmaulnashörner selektive „Grazer“, sie bevorzugen die schmackhaften, schattenliebenden Gräser. Bevorzugte Habitate scheinen die semi-ariden Savannenlandschaften zu sein. Im *Combretum*-Wald zu finden. Sie vermeiden *Bushveld* und Akaziendickicht (Pienaar, 1994). Für Spitzmaulnashörner dagegen sind Akazien sehr wichtige und bevorzugte Nahrungsquellen (Emslie und Adcock, 1994). In ihrem Sozialverhalten unterscheiden sich die Arten dadurch, daß Spitzmaulnashörner Einzelgänger sind (Mutter-Kind-Gruppe ausgeschlossen), wogegen die Breitmaulnashörner in Gruppen bis zu fünf Tieren (weibliche Tiere und Jungtiere) zusammenleben. Epidemiologisch ergeben sich daraus unterschiedliche Expositionswahrscheinlichkeiten für Infektionskrankheiten. Spitzmaulnashörner werden eher mit *(Tragelaphus strepsiceros)* und Elandantilope (DuToit, 1994). Breitmaulnashörner dagegen werden beispielsweise eher mit Zebras den Lebensraum teilen. Zebras sind als Virusreservoir für AHS bekannt. Für Breitmaulnashörner ist daher die Wahrscheinlichkeit einer Exposition zu AHS größer als für Spitzmaulnashörner, die andere Habitate bevorzugen.

### 6.6 Schlußfolgerungen

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, daß Nashörner für eine Vielzahl von Infektionskrankheiten empfänglich sind.

Bei Translokationen von freilebenden Nashörnern und bei Auswilderung von Zootieren in freie Wildbahn sollten diese Erkenntnisse berücksichtigt werden. Um das Risiko exotische Krankheiten (z.B. Afrikanische Pferdepest) in nicht-endemische Gebiete zu verschleppen (Jessup et al., 1993), so gering wie möglich zu halten, sollte zumindestens serologisch eine Exposition zu den verschiedenen Erregern der zu transportierenden Tiere untersucht werden.

Nashörner, die in Zoologischen Einrichtungen aufgewachsenen sind, sind größtenteils immunologisch inkompetent gegenüber vielen Infektionserregern aus der freien Wildbahn (Price, 1993). Bei einer Auswilderung könnte das Risiko einer Infektion durch gezielte Impfung minimiert werden.

Nashörner erkranken oder sterben noch häufig aus ungeklärten Ursachen (Miller, 1993). Die vorliegenden serologischen Befunde sind für eine umfassende Differentialdiagnostik von Relevanz. Im Falle klinischer Erkrankungen insbesondere des Respirationstraktes und Verdauungsapparates sollten Krankheiten wie IBR/IPV, Rhinopneumonitis, Parainfluenza 3- Infektion und BVD/MD stärker berücksichtigt werden. Andererseits sollen die Ergebnisse dieser Arbeit helfen, das Spektrum möglicher Krankheitserreger einzuschränken. So ist z.B. eine *Brucella* spp.-Infektion sehr unwahrscheinlich, da gegenwärtig in keinem Fall Antikörper oder Antigen bei Nashörnern gefunden wurden.

Weiterhin ist zu vermuten, daß es auch Nashorn-spezifische Viren gibt, die mit den in dieser Arbeit untersuchten Erregern in den serologischen Verfahren möglicherweise kreuzreagieren. Zum Beispiel sind Äquivalente des Glykoproteins B bei verschiedenen Herpesviren vorhanden, die an serologischen Kreuzreaktionen beteiligt sind (Borchers et al., 1990). So ist es denkbar, daß ein dem EHV ähnliches Nashornherpesvirus existiert. Es ist daher von großem Interesse, diese Viren zu isolieren und zu charakterisieren.

Zur Anzucht von nashorneigenen Virusarten sollte eine Nashornzelllinie etabliert werden. Des Weiteren ist zu empfehlen ein Nashorn Immunglobulin G herzustellen, um das Spektrum der anwendbaren Testverfahren zu erweitern und deren Spezifität zu erhöhen. Für dieses Vorhaben sollten auch in menschlicher Obhut gehaltene Nashörner miteinbezogen werden, da diese leichter erreichbar sind.

## 7 Zusammenfassung

Infektionskrankheiten bei freilebenden Nashörnern wurden in der Vergangenheit noch keiner systematischen Untersuchung unterzogen.

In der vorliegenden Arbeit wurde erstmals eine größere Stichprobe von Seren (n=287) von freilebenden Nashörnern aus verschiedenen Ländern Afrikas auf Antikörper gegen elf Infektionskrankheiten untersucht. Die Proben stammten aus Südafrika, Namibia, Kenia und Botswana.

Gegen sieben Erreger konnten Antikörper nachgewiesen werden. So wurden erstmals Antikörper gegen Herpesviren (Bovines Herpesvirus-1, Equines Herpesvirus-1) bei Nashörnern detektiert und damit deren Empfänglichkeit für diese Erreger festgestellt.

Bezogen auf die Gesamtzahl der untersuchten Seren ergaben sich folgende Expositionen zu weiteren Infektionserregern:

27,7 %	seropositiv für Afrikanische Pferdepest
56,7 %	seropositiv für Blauzungenerkrankung
3,0%	seropositiv für Bovines Herpesvirus-1
9,1%	seropositiv für Equines Herpesvirus-1
1,2%	seropositiv für Bovine Virusdiarrhoe-Virus
25,1%	seropositiv für Parainfluenza 3
21%	seropositiv für <i>Leptospira</i> spp.

Es konnten keine Antikörper gegen das Enzephalomyokarditis-Virus, das Riftfieber-Virus, *Brucella* spp. und *Trypanosoma equiperdum* nachgewiesen werden.

Einige Infektionskrankheiten zeigten signifikante geographisch-epizootiologische Unterschiede in dem Anteil seropositiver Reagenzien.

Weder Nashörner aus Namibia noch aus Kimberley hatten Antikörper gegen das Afrikanische Pferdepest-Virus, dagegen lag der Anteil seropositiver Tiere im Krüger-Nationalpark und in Natal zwischen 40 und 50%. Vier der sieben für das Bovine Herpesvirus-1 positiven Nashornseren stammten aus Kenia. Antikörper gegen das Bovine Virusdiarrhoe-Virus konnten nur bei südafrikanischen Nashörnern nachgewiesen werden. Auch die Exposition zu den verschiedenen Leptospiren-Serovaren war gebietsspezifisch. So waren einerseits in Natal die Nashörner

besonders zu *L. bratislava* exponiert. Andererseits konnten in Kenia keine Antikörper gegen *L. tassavovi* und in Kimberley keine Antikörper gegen *L. copenhageni* nachgewiesen werden.

Artspezifische Unterschiede in der Exposition zu den einzelnen Infektionskrankheiten konnten nur für die Afrikanische Pferdepest festgestellt werden. Durch verschiedene Habitatpräferenzen und Artenvergesellschaftungen der afrikanischen Nashornarten ergeben sich vermutlich unterschiedliche Expositionswahrscheinlichkeiten für die Afrikanische Pferdepest. So werden Spitzmaulnashörner, die Akaziedickichte u.ä. bevorzugen, eher mit Tieren in Kontakt kommen, die ein ähnliches Nahrungsspektrum haben, wie z.B. Großer Kudu (*Tragelaphus strepsiceros*) und Elandantilope (*Taurotragus oryx*) (DuToit, 1994). Dagegen teilen Breitmaulnashörner als „Grazer“ das Habitat eher mit Zebras. Zebras sind aber als Virusreservoir für die Afrikanische Pferdepest bekannt. Für Breitmaulnashörner ist daher die Wahrscheinlichkeit einer Exposition zu der Afrikanische Pferdepest größer als für Spitzmaulnashörner.

Es konnten keine Hinweise für Assoziationen zwischen dem Auftreten mehrerer Infektionskrankheiten nachgewiesen werden.

## 8 Summary

### **Seroepizootiological investigation of infectious diseases in free-ranging Black (*Diceros bicornis*) and White (*Ceratotherium simum*) rhinoceroses from different parts of Africa**

Information on infectious diseases in free-ranging rhinoceroses is still limited. In this survey 287 serum samples from free-ranging rhinoceroses from several African countries were tested for antibodies against eleven infectious diseases of which seven were detected. For the first time antibodies against herpesviruses (bovine herpesvirus 1, equine herpesvirus 1) as well as bovine viral diarrhea virus were found. As a result of the investigations in this survey, the samples tested

27,7 %	seropositive for African horsesickness virus,
56,7 %	seropositive for bluetongue virus,
3,0 %	seropositive for bovine herpesvirus 1,
9,1 %	seropositive for equine herpesvirus 1,
1,2 %	seropositive for bovine viral diarrhea virus,
25,1 %	seropositive for parainfluenza type 3 and
21,0 %	seropositive for <i>Leptospira</i> spp..

There was no evidence of an exposure to the encephalomyocarditis virus, Rift Valley fever virus, *Brucella* spp. or *Trypanosoma equiperdum*.

The exposition to some of the infectious diseases showed significant geographical differences. Neither in Namibia nor in the Kimberley region rhinoceroses had antibodies against African horsesickness, whereas in Kruger Nationalpark and Natal up to 50% of the rhinoceroses were seropositive. Four out of seven rhinoceroses, positive for bovine herpesvirus 1 originated from Kenya. All bovine viral diarrhea virus-seropositive samples were drawn in South Africa. Furthermore it was demonstrated that the dominant *Leptospira* serovar varied from one area to another.

Only for African horsesickness differences in exposition were demonstrated between the two African rhinoceros species. The higher percentage of seropositive white rhinoceroses may be due to the differences in habitat preference of the two species. White rhinoceroses inhabit mainly grassland areas whereas the browsing black

rhinoceroses prefer bush vegetation providing an adequate browse at a height of about 1,5m (shrubs and young trees). It is therefore more likely for white rhinoceroses to share their habitat with zebras, which are known to be a reservoir for the African horsesickness virus.

## 9. Literatur

- AFSHAR, A.; THOMAS, F.C.; WRIGHT, P.F.; SHAPIRO, J.L.; SHETTIGARA, P.T.; ANDERSON, J. (1987): Comparison of competitive and Indirect Enzyme-Linked Immunosorbant Assays for detection of bluetongue virus antibodies in serum and whole blood. *J Clin Microbiol* 25, 1705-1710.
- AFSHAR, A.; THOMAS, F.C.; WRIGHT, P.F.; SHAPIRO, J.L.; ANDERSON, J. (1989): Comparison of competitive ELISA, indirect ELISA and standard AGID tests for detection of bluetongue virus antibodies in cattle and sheep. *Vet Rec* 124, 136-141.
- ALLEN, G.P.; BRYANS, J.T. (1986): Molecular epizootiology, pathogenesis and prophylaxis of equine herpesvirus-1 infections. *Prog Vet Microbiol Immunol* 2, 78-144.
- ALTON, G.; JONES, L.; PIETZ, D. (1975): Laboratory techniques in brucellosis diagnosis. *WHO Monogr. Ser.* 2.Aufl., Genf, 55.
- ANONYMUS. (1994): Annual Report 1994. Directorate of Veterinary Services Namibia, Windhoek.
- ANONYMUS. (1996): Manual of standards for diagnostic tests and vaccines. O.I.E., Paris, 1996, 102-108.
- ANONYMUS. (1997): Annual Report 1996/1997. State Veterinarian Skukuza.
- BAKER, J.A.; YORK, C.J.; GILLESPIE, J.H.; MITCHELL, G.B. (1957): Virus diarrhoe of cattle. *Am J Vet Res* 15, 525.
- BAKER, J.A. (1987): Bovine viral diarrhea: a review. *J Am Vet Med Assoc* 190, 1449-1457.
- BARBIERS, R. (1994): *Mycobacterium tuberculosis* in a black rhinoceros (*Diceros bicornis*). *Am Assoc Zoo Vet Ann Proc* 171-172.

- BARNARD, B.J.H.; PAWESKA, J.T. (1993): Prevalence of antibodies against some Equine viruses in zebra (*Zebra burchelli*) in Kruger National Park, 1991-1992. *Onderstepoort J Vet Res* 60, 175-179.
- BARRAT, J.; BLAMCOU, J.; CHASTEL, C.; DANNACHER, G.; GOURREAU, J.M.; KIHM, U.; LARENAUDIE, B.; LE GOFF, C.; PASTORET, P.P.; RERREAU, SCHWERS, A.; TRAP, D.; UILENBERG, G.; VANNIER, PH. (1985): Enquêtes sérologique des laboratoires des services vétérinaires sur les maladies infectieuses de quelques mammifères sauvages en France. *Bull. Lab. Vét.* n 19/20, 7.
- BAUER, K.; GEBERMANN, E.; SCHMITTDIEL, E.; WINTERROLL, G. (1980): Serologische Untersuchungen über den Verbreitungsgrad der IBR/IPV Virusinfektion in Bayern. *Tierärztl. Umsch* 35, 594-600.
- BEEHLER, B.A.; BUSH, M. (1981): The use of iodochlorhydroxyne for treatment of chronic diarrhea in an Indian rhinoceros (*Rhinoceros unicornis*). *J Zoo An Med* 12, 22-24.
- BEHMEYER, D.; JESSUP, D.; JONES, K.; FRANTI, C.E.; RIEMANN, H.; BAHR, A. (1989): Antibodies to nine infectious disease agents in deer from California. *J Zoo Wildl Med* 2(3), 297-306.
- BENGIS, R.G.; ERASMUS, J.M. (1988): Wildlife diseases in South Africa: a review. *Rev Sci Tech Off Int Epizoot* 7, 807-821.
- BENGIS, R.G. (1996): Epidemiological aspects of selected diseases of free ranging S.A. wildlife. *Zoological Medicine*, 1-4.
- BERMAN, D.T. (1981): Brucellosis. In: Ristic, M.T.; McIntyre, I. Hrsg.: *Diseases of Cattle in the Tropics*. Martinus Nijhoff Publishers, The Hague.
- BIGALKE, R.D.; KEEP, M.E.; KEEP, P.J.; SCHOEMAN, J.H. (1970): A large *babesia* sp and the *theileria* like piroplasm of the square-lipped rhinoceros. *J S Afr Vet Med Assoc*, 41(4), 292-294.
- BOCH J.; SCHNEIDAWIND, H. (1988): Krankheiten des jagdbaren Wildes. Paul Parey Verlag, Hamburg u. Berlin.
- BORCHER, K.; ÖZEL, M.; PAULI, H.; GELDERBLOM, H.; LUDWIG, H. (1990): Conserved epitopes of simian herpesvirus SA8 and bovine herpesvirus type 2. *Arch Virol* 111, 1-14.

## Literatur

- BORCHERS, K.; FRÖLICH, K. (1997):  
Antibodies against equine herpesviruses in free-ranging mountain zebras from Namibia.  
*J Wildl Dis.* 33, 812-817.
- BROCKLESBY, D.W. (1967):  
A babesia species of the black rhinoceros.  
*Vet Rec.* 80, 484.
- BROWNIE, J. (1991):  
The pathways of mucosal disease and molecular aspects of bovine virus diarrhea virus.  
*Vet Microbiol.* 371-382.
- BUT, P.; LUNG L.-C.; TAM, Y-K. (1990)  
Ethnopharmacology of rhinoceros horn I: antipyretic effects of rhinoceros horn and other animal horns.  
*J Ethnopharmacology*, 30, 157-168.
- BUXTON, A.; FRASER, G. (1977):  
Animal microbiology.  
*Blackwell Sci Publ. Oxford*; Bd. 2, 1-33.
- CAMBELL, T.M.; STUDDERT, M.J. (1983):  
Equine herpesvirus type 1 (EHV 1).  
*Veterinary Bulletin* 53, 135-146.
- CARBREY, E.A.; BROWN, L.N.; CHOW, T.L.; et al. (1971):  
Recommended standard laboratory techniques for diagnosing infectious bovine rhinotracheitis, bovine virus diarrhea, and shipping fever (parainfluenza 3).  
*Proc Annu Meet US Anium Health Assoc* 75, 629-648.
- CHAFFEE, P.S. (1968):  
Report of the death of a rhinoceros.  
*J Sm Animal Prac* 9, 133-134.
- CHAPLIN, H.J.; MALECEK, A.C.; MILLER, R.E. (1986):  
Acute intravascular hemolytic anemia in the black rhinoceros: hemolytic and immunohemolytic observations.  
*Am J Vet Res* 47, 1313-1320.
- CLAUSEN, B.; ASHFORD, W.A. (1980):  
Bacteriologic survey of black rhinoceros (*Diceros bicornis*).  
*J Wildl Dis* 16, 475-480.
- CLAUSEN, B. (1981):  
Survey for trypanosomes in black rhinoceros (*Diceros bicornis*).  
*J Wildl Dis* 17(4), 581-586.

## Literatur

- COETZER, J.A.W.; ERASMUS, B.J. (1994):  
African horsesickness.  
In: Coetzer, J.A.W.; Thomson, G.R.; Tustin, R.C. Hrsg.: *Infectious Diseases of livestock with special reference to Southern Africa*, Oxford University Press, 460-479.
- CONNER, R.J. (1994):  
African animal trypanosomiasis.  
In: Coetzer, J.A.W.; Thomson, G.R.; Tustin, R.C. Hrsg.: *Infectious Diseases of livestock with special reference to Southern Africa*, Oxford University Press, 167-199.
- CORNER, A.H.; CONNELL, R. (1953):  
Brucellose in bison, elk and moose in Elk Island National Park.  
*Can J Comp Med.* 22, 9-21.
- CRABB, B.S.; STUDDERT, M.J. (1995):  
Equine herpesviruses 4 (equine rhinopneumonitis virus) and 1 (equine abortion virus).  
*Advances in Virus Research*, 45, 153-189.
- CUMMING, D.H.M., DU TOIT, R.F.; STUART, S.N. (1990):  
African elephants and Rhinos. Status survey and conservation plan.  
*Proc. of the International Union for the Conservation of Natural Resources*.
- DALOVSIO, J.R.; STETTER, M.; WELLS-MIKOTA, S.K. (1992):  
Rhinoceros rhinorrhea: cause of an airborne *mycobacterium bovis* outbreak in zoo keepers. (TB in *Ceratotherium simum*).  
*Clin Inf Dis* 15(4), 598-600.
- DAUBNEY, R.; HUDSON, J.R. (1931):  
Enzootic hepatitis of Rift Valley Fever. An undescribed virus disease of sheep, cattle, and man from East Africa.  
*J Pathol.* 34, 545-557.
- DAVIES, F.G.; WALKER, A.R. (1974):  
The distribution in Kenya of bluetongue virus and antibody and the Culicoides vector.  
*J Hyg* 72, 265.
- DAVIES, F.G. (1981):  
The possible role of wildlife as maintenance hosts for some African insect-borne virus diseases.  
In: Proc of a workshop on Wildlife Disease Research and Economic Development, Kibete, 8-9 September 1980 (L. Karstad, B. Nestel und M Graham, eds.) IDRC, Ottawa, 24-27.
- DAVIES, F.G.; OTIENO, S. (1977):  
Elephants and zebras as possible reservoir hosts for African horsesickness virus.  
*Vet Rec* 100, 291-292
- DEDEK, J.; GLATZ, K.; BERGMANN, H.; LUDWIG, H. (1981):  
Zum Auftreten der Infektiösen Bovinen Rhinotracheitis (IBR) in einem Rinderbestand.  
*Monh Vet Med* 36, 55-60.

## Literatur

- DEDEK, J. (1992): Untersuchungen zur Analyse und Wertung der epizootiologischen Situation bei jagdbarem Wild. Erarbeitung von Grundlagen für ein Wildlife monitoring. Habilitationsschrift, Humboldt-Universität Berlin.
- DIERENFELD, E.; DU TOIT, R.; MILLER, R.E.; DOLENSEK, E.P. (1988): Vitamin E in captive and wild black rhinoceros. *J Wildl Dis* 24, 547-550.
- DOUGLASS, E.M.; POTTER, D. (1980): Hemolytic anemia suggestive of leptospirosis in the black rhinoceros (*Diceros bicornis*). *J Am Vet Med Assoc* 177, 921-923.
- D'SOUZA, C.F. (1983): Occurrence of bovine leptospirosis in Kenya. Thesis Kab Ag Df 967 L4 D76.
- Du TOIT, J.G. (1994): White and black rhinoceros as game ranch animals. Proc of a Symposium on „Rhinos as game ranch animals“, Onderstepoort, 111-116.
- EATON, B. (1996): Bluetongue. In: O.I.E. Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines, Paris, 3rd ed. p. 109-118.
- EDDY, G.; PETERS, C.J. (1980): The extended horizons of Rift Valley fever: current and projected immunogens. *Prog Clin Biol Res* 47, 179-191.
- EMSLIE, R.H.; ADCOCK, K. (1994): Feeding ecology of black rhinos. Proc of a Symposium on „Rhino as Game Ranch Animals“, Onderstepoort, 9-10.09.1994, S.65-81.
- ERASMUS, B.J.; YOUNG, E.; PIETERSE, L.M.; BOSHOFF, S.T. (1978): The susceptibility of zebra and elephants to African horsesickness virus. In: Bryans, J.T.; Gerber, H. Hrsg.: *Equine Infectious Diseases*. Proc 4th Int Conf Equine Infectious Diseases, 24-27 September 1976, Princeton, New Jersey: Veterinary Publications, Inc, 409-413.
- ERASMUS, J.B.; BOSHOFF, A. (1967): Antibodies to parainfluenza 3 virus in sera of domestic and game animals in South Africa. *Bull Off int Epiz* 68, 657-664.

## Literatur

- ELBERG, S. (1984): A guide to the diagnosis, treatment and prevention of human brucellosis. WHO VPH/81.3, 1.rev.ed., Geneva.
- FAIRBANKS, V.F.; MILLER, R.E. (1990): Beta-globin chain hemoglobin polymorphism and hemoglobin stability in the black rhinoceros (*Diceros bicornis*). *Am J Vet Res* 51, 803-807.
- FERESU, S.B. (1987): Serological survey of leptospiral antibodies in cattle in Zimbabwe. *Trop Anim Health Prod* 19, 209-214.
- GAINER, J.H.; BIGLER, W.I. (1967): Encephalomyocarditis (EMC) virus recovered from two cotton rats and a racoon. *Bull Wildl Dis Assoc* 4, 47-49.
- GARDNER, I.A.; HIETALA, S.; BOYCE W.M. (1996): Validity of using serological tests for diagnosis of diseases in wild animals. *Rev Sci Tech Off Int Epiz* 15(1), 323-335.
- GASKIN, M.; JORGE, J.M.; SIMPSON, C.F.; (1980): The tragedy of encephalomyocarditis virus infection in zoological parks. *Proc Am Assoc Zoo Vet*, 1-7.
- GIOVANNINI, A.; CANCELLOTTI, F. M.; TURILLI, C.; RANDI, E. (1988): Serological investigations for some bacterial and viral pathogens in fallow deer (*Cervus dama*) and wild boar (*Sus scrofa*) of the San Rossore Preserve, Tuscany, Italy. *J Wildl Dis* 24, 127-132.
- GÖLTENBOTH, R. (1988): Verdacht einer Herpesvirusinfektion bei Spitzmaulnashörnern im Zoologischen Garten Berlin. *VAZ* 8, 123-124.
- GÖLTENBOTH, R.; FRANCKE, R. (1990): Zyklus und Trächtigkeitsdiagnose durch Kotanalysen beim Spitzmaulnashorn, Asiatischen Elefanten und Okapi. *VAZ* 10, 25-30.
- GÖLTENBOTH, R. (1995): Nashörner. In: Göttenboth, R.; Klös, H.G. Hrsg.: *Krankheiten der Zoo- und Wildtiere*, Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin, 209-233.
- GOSWAMI, K.K.A.; RUSSELL, W.C. (1982): A comparison of paramyxovirus by immunoprecipitation. *J Gen Virol* 60, 177-182.

- GRINER, L.A. (1983):  
Pathology of zoo animals.  
Zoological Society of San Diego, San Diego, 1983, 484-488.
- GRÜNBERG, W.; BURTSCHER, H. (1968):  
Über eine pockenartige Krankheit beim Rhinoceros (*Diceros bicornis* L.).  
Zbl Vet Med, Reihe B 15, 647-649
- GRZIMEK, B. (1987):  
Unpaarhufer.  
Grzimeks Enzyklopädie, Säugetiere. Kindler Verlag, München, 1987; Bd. 4.
- HAMBLIN, C.; HEDGER, R.S. (1979):  
The prevalence of antibodies to bovine viral diarrhea/mucosal disease virus in African wildlife.  
Comp Immunol Microbiol Infect Dis 2, 295-303.
- HAMBLIN, C.; ANDERSON, E.C.; JAGO, M.; MLENGEYA, T.; HIRJI, K. (1990):  
Antibodies to some pathogenic agents in free-living wild species in Tanzania.  
Epidemiol Infect 105(3), 585-594.
- HATHAWAY, S.C.; LITTLE, T.W.A.; FINCH, S.M. (1981):  
Leptospiral infection in horses in England: A serological study.  
Vet Rec 108, 396-398.
- HERR, S.; MARSHAL, C. (1981):  
Brucellosis in free-living African buffalo (*Syncerus caffer*): A serological survey.  
Onderstepoort J Vet Res 48, 133-134.
- HERR, S.; HUCHZERMAYER, H.; TE BRUGGE, L.A.; WILLIAMSON, C.; ROOS, J.A.; SCHIELE, G.J. (1985):  
The use of a single complement fixation technique in bovine brucellosis, Johne's disease, dourine, equine piroplasmosis and Q-fever serology.  
Onderstepoort J Vet Res 52, 279-283.
- HOROHOV, D.W.; WYCROFF, J.W.; MOORE, N.; ROUSE, B.T. (1986):  
Regulation of herpesvirus simplex virus specific cell-mediated immunity by specific suppressor factor.  
J Virol 58, 331-338.
- HOUSE, J.A.; GROOCOCK, C.M.; CAMPBELL, C.H. (1982):  
Antibodies to bluetongue viruses in animals imported into United States zoological gardens.  
Can J Comp Med 45, 154-159.
- HORZINEK, M. C. (1991):  
Pestiviruses taxonomic perspectives.  
Archives of Virology, Supplementum 3: 1-5.
- HÜBNER, A. (1982):  
Serologische Untersuchungen über das Vorkommen von Leptospireninfektionen beim heimischen Wild bei Berücksichtigung weiterer Infektionskrankheiten.  
Vet med Diss, Humboldt-Universität Berlin.
- HUNTER, P.; FLAMAND, J.R.B.; MYBURGH, J.; VAN DER MERWE, S.M. (1988):  
Serological reactions to *Leptospira* species in game animals of northern Natal.  
Onderstepoort J Vet Res 55, 323-325.
- JENNY, E.W.; WEISSMEN, S.J. (1973):  
Microtiter serology. Methods for bovine virology: IBR-NT (microtiter).  
In: Jenny, E.W.; Wessman, S.J. Hrgs.: Serologic Microtiter Techniques for Diagnostic Virology. Veterinary Services Diagnostic Laboratory, Ames, 6-7.
- JESSUP, D.A.; MILLER, C.A.; BOLIN, M.D.; et al. (1992):  
Retrospective evaluation of leptospirosis in free-ranging and captive black rhinoceros (*Diceros bicornis*) by microscopic agglutination titres and fluorescent antibody testing.  
J Zoo Wildl Med 23, 401-408.
- JONES, I.M. (1979):  
The husbandry and veterinary care of captive rhinoceroses  
In: Oliney, P.J.S. Hrgs.: International Zoo Yearbook, Zoological Society of London, London, 239
- JONES, M.L. (1982):  
Longevity of captive mammals.  
Zool Gart 52, 113-128.
- JONES, I.M. (1983):  
Klinik und Pathologie der Nashörner.  
Int. Zuchtbuch Afr Nashörner 2, 94-106.
- KAMINJOLO, J.S.; PAULSEN, J. (1970):  
The occurrence of virus-neutralizing antibodies to infectious bovine rhinotracheitis virus in sera from hippopotami and buffaloes.  
Zbl Vet Med, Reihe B 17(8), 864-868.
- KEEP, M.E.; BASSON, P.A. (1973):  
Mycobacteriosis in a black rhinoceros (*Diceros bicornis* Linnaeus 1758)  
J S Afr Vet Assoc, 44, 285-286.
- KINGSCOTE, B. F.; YATES, W.D.G.; TIFFIN, G.B. (1987):  
Diseases of wapiti utilizing cattle range in Southwestern Alberta.  
J Wildl Dis 23, 86-91.
- KOCK, N.D.; KOCK, M.D.; KOCK, R.A.; MORKEL, P. (1992):  
Serological evidence for *cowdria ruminantium* infection in free-ranging black (*Diceros bicornis*) and white (*Ceratotherium simum*) rhinoceroses in Zimbabwe.  
J Zoo Wildl Med 23(4), 409-413.

## Literatur

- KÖLBLE, S. (1994):  
Virologische Untersuchungen.  
in: Wildhygiene, Dedeck und Steineck (Hrsg.) Gustav Fischer Verlag, Leipzig, 30.
- KRAUSS, H.; ROETTCHER, D.; WEISS, R.; DANNER, K.; HÜBSCHLE, O.F.B. (1984):  
Wildtiere als Infektionspotential für Nutztiere: Untersuchungen an Wild in Sambia.  
Giessener Beiträge zur Entwicklungsforch., Reihe I, Bd. 10, 133.
- KRAUSS, H.; WEBER, A. (1986):  
Zoonosen.  
Deutscher Ärzteverlag, Köln, 159-189.
- KULOW, W. (1990):  
Krankheiten der Nashörner aus der Sicht des Zootierarztes, mit einem Beitrag zur medikamentellen Immobilisierung.  
Diss Vet med: FU-Berlin.
- LAKSHMANA, C.K.; RAMANANATHAN, S.; RAMA KRISHNA, R. (1984):  
Salmonellosis in an adult Indian rhinoceros (*Rhinoceros unicornis*).  
J Zoo Anim Med 15, 155.
- LANG, E.M. (1976):  
Nashörner.  
In: Klös, H.-G.; Lang, E.M. Hrsg.: Zootierkrankheiten, Paul Parey Verlag, Berlin, Hamburg, 164-171.
- LEISSL, B. (1989):  
Anonymous Virus infections of ruminants.  
Elsevier, Amsterdam.
- LUBROTH, J. (1988):  
African horsesickness and the epizootic in Spain 1987.  
Equi Pract 10, 26-33.
- LUDWIG, H.; PAULI, G.; GELDERBLOM, H.; DARAI, G.; KOCH, H.-G.; FLÜGEL, R.M.; NORRILD, B.; DANIEL, M.D. (1983):  
B virus (herpesvirus simiae).  
in: Roizmann (Hrsg.): The Herpesviruses. Bd. 2. Plenum Press, New York, London, S. 385-428.
- LUDWIG, H.; RUDOLPH, R.; CHOWDHURY, S.I.; van den BOSSCHE, G.; WINTZER, H.-J.; KRAUSER, K. (1987):  
Equine Herpesvirus Typ 1 (EHV-1) Infektion beim Pferd: Neurologische Symptomatik bei einer Warmblutstute mit akutem tödlichen Verlauf. Molekulare Charakterisierung des Gehirnisolates und pathologische Korrelate.  
Berl Münch Tierärztl Wschr 100, 147-152.

## Literatur

- LUNT, R.A.; WHITE, J.R.; BLACKSELL, S.D. (1988):  
Evaluation of a monoclonal antibody blocking ELISA for the detection of group specific antibodies to bluetongue virus in experimental and field sera.  
J Gen Virol 69, 2729-2740.
- MANN, P.C.; BUSH, M.; JANSSEN, D.L.; FRANK, E.S.; MONTALI, R.J. (1981):  
Clinicopathologic correlations of tuberculosis in large zoo mammals.  
J Am Vet Med Assoc 179, 1123-1129.
- MARTIN, E.B.; MARTIN, C.B. (1985):  
Horns of a dilemma.  
BBC Wildlife 3(3), 127-131.
- MAYR, A., P. A. BACHMANN, B. BIBRACK, AND G. WITTMANN. (1977):  
Virologische Arbeitsmethoden, Vol. 2.  
Gustav Fischer Verlag, Jena, 1977, 243-250.
- MAYR, A.; EISSNER, G.; MAYR-BIBRACK, B. (1984):  
Handbuch der Schulzimpfungen in der Tiermedizin.  
Paul Parey Verlag, Berlin.
- MAYR, A.; MAHNEL, H. (1970):  
Charakterisierung eines vom Rhinoceros isolierten Hühnerpockenvirus.  
Arch ges Virusforsch 31, 51-60.
- MBISE, A.N.; NYANGE, J.F.C.; MBASHA, E.M.S. (1984):  
An outbreak of anthrax in wildlife in Lake Manyara National Park, Tanzania.  
Proc of the Tanzania Veterinary Association Scientific Conference 2, 126-139.
- MCCULLOCH, B.; ACHARD, P.L. (1969):  
Mortalities in black rhino.  
Int Zoo Ybk 9, 139-142.
- MEEGAN, J.; SHOPE, R.E. (1981):  
Emerging concepts on Rift Valley fever.  
Perspect Virol 11, 267-287.
- MELTZER, D.G.A. (1989):  
Bluetongue in free-ranging wild ruminants.  
Proc of a Symposium on Orbiviruses, Onderstepoort 21st of April, 1-8.
- MIHOK, S.; MUNYOKI, E.; BRETT, R.A.; JONYO, J.F.; ROTTCHER, D.; MAJIWA, P.A.O.; KANGETHE, E.K.; KABURIA, H.F.A.; ZWEYGARTH, E. (1992):  
Trypanosomiasis and the conservation of black rhinoceros (*Diceros bicornis*) at the Ngulia Rhino Sanctuary, Tsavo West National Park, Kenya.  
Afr J Ecol 30(2), 103-115.

- MIKULICA, V. (1986):  
Sozialverhalten der Breitmaulnashörner (*Ceratotherium simum*) in der Gefangenschaft.  
Zeitschrift der Humboldt Univ zu Berlin, Mathematisch-naturwissenschaftliche Reihe 35(3), 296-300.
- MILLER, R.E. (1993):  
Hemolytic anemia in the black rhinoceros (*Diceros bicornis*).  
In: Fowler, M.E. (eds.): Zoo and Wild Animal Medicine, W.B. Saunders Comp., Philadelphia, 455-458.
- MONTALI, R.J.; ALLEN, J.T.; BRYAN, J.T.; PHILLIPS, L.G.; BUSH, M. (1985):  
Equine herpesvirus type 1 abortion in an onager and suspected herpesvirus myelitis in a zebra.  
J Am Vet Med Assoc, 1248-1249.
- MOORE, C.P.; SCHNURRENBERGER, P.R. (1981):  
A review of naturally occurring brucella abortus infections in wild mammals.  
J Am Vet Med Assoc 179(11), 1105-1112.
- MUKHERJEE, S.C.; DAS, R.K.; ARORA, B.M.; MEHROTA, M.L. (1984):  
A case of rabies in a captive rhinoceros (*Rhinoceros unicornis*).  
Ind Comp Microbiol, Immunol Inf Dis 5, 32.
- MUMFORD, J. A. (1994):  
Equine herpesvirus 1 and 4 infections.  
In: Coetzer, J.A.W.; Thomson, G.R. Tustin, R.C. eds.: Infections Diseases of Livestock, 2nd ed., Oxford University Press, Oxford, 911-925.
- MUNSON, L.; COOK, R.A. (1993):  
Monitoring, investigation, and surveillance of diseases in captive wildlife  
J Zoo Wildl Med 24(3), 281-290.
- NEITZ, W.O. (1933):  
The blesbok (*Damaliscus albifrons*) as a carrier of heartwater and bluetongue.  
J S Afr Vet Med Assoc 4, 24-26.
- NETTLETON, P.F. (1990):  
Pestivirus infections in ruminants other than cattle.  
Rev Sci Tech Off Int Epizoot 9, 131-150.
- NOWELL, K.; MILLIKEN, T.; THOMSON, J.B. (1992)  
The horns of dilemma: the market for rhino horn in Taiwan.  
Traffic International, Cambridge, 1-76.
- OLSEN, J. (1989):  
Fatal encephalomyocarditis virus infection in a black rhinoceros (*Diceros bicornis*).  
Pers comm Busch Gardens, Tampa, Florida.

- PAGE, C.D.; SCHMIDT, R.E. (1987):  
Disseminated intravascular coagulation in a neonatal white rhinoceros (*Ceratotherium simum simum*).  
J Zoo Anim Med 18, 53.
- PALMER, D.F.; WHALEY, S.D. (1986):  
Complement fixations test.  
In: Rose, N.R.; Friedman, H.; Fahey, J.L. Hrsg.: Manual of clinical laboratory immunology: 3rd ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C., 144-160.
- PAWESKA, J.T.; BARNARD, B.J.B.; WILLIAM, R. (1995):  
The use of sucrose-acetone-extracted Rift-Valley fever virus antigen from cell culture in an indirect enzyme-linked immunosorbant assay and haemagglutination inhibition test.  
Onderstepoort J Vet Res 62, 227-233.
- PICARD, A.J. (1989):  
Epidemiology of African horsesickness and the role of free ranging equidae.  
Proc of a Symposium on Orbiviruses, Onderstepoort 21rst of April, 7-10.
- PIENAAR, D.J. (1994):  
Habitat preference of the white rhino in the Kruger National Park.  
Proc of a Symposium on „Rhino as Game Ranch Animals“, Onderstepoort, 9-10.09.1994, S.59-64.
- PILASKI, J.; RÖSEN, A.; DARAI, G. (1986):  
Comparative analysis of the genomes of orthopoxviruses isolated from elephant, rhinoceros, and okapi by restriction enzyme.  
Arch Virol 88, 135-142.
- POTTER, D. (1994):  
Update on the current situation of Rhinos in Natal.  
Proc of a Symposium on „Rhinos as Game Ranch Animals“, Onderstepoort 9-10.09.1994, 25-30.
- POWERS, R.D.; PRICE, R.A. (1967):  
Human tuberculosis in a rhinoceros.  
J Am Vet Med Assoc 151, 890.
- PUSCHMANN, W. (1983):  
Wildtiere in Menschenhand.  
VEB Deutscher Landwirtschaftsverlag, Berlin, 380-389.
- ROCK, D.L. (1992):  
Latent infection with alpha-herpesviruses.  
In Proc of the 6th Int Conf on Equine Infectious Diseases eds. W. Plowright, P.D. Rossdale and Wade, R.W. Publications Ltd, Newmarket, 175-180.
- ROLLE, M.; MAYR, A.; BACHMANN, P.A. (1993):  
Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre.  
6th ed. Enke Verlag, Stuttgart,

## Literatur

- ROTH, H.H. (1965):  
A survey of brucellosis in game animals in Rhodesia.  
Bull Off Int Epiz 64, 813-823.
- RÜEDI, D. (1983):  
Erfahrungen bei der Haltung, Zucht und tierärztlichen Betreuung des Indischen Panzernashorns (*Rhin. unic.*) im Zoologischen Garten Basel.  
In: Klös, H.-G.; Frese, R. Hrsg.: Internationales Zuchtbuch für Afrikanische Nashörner, Zoo Berlin 2, 90-93.
- SABINE, M.; FEILEN, C.; HERBERT, L.; JONES, R.F.; LOMAS, S.W.; LOVE, D.N.; WILD, J. (1983):  
Equine herpesvirus abortion in Australia 1977-1982.  
Equine Vet J 15, 366-370.
- SACHS, L. (1997):  
Angewandte Statistik.  
Springer Verlag, Berlin.
- SANFORD, W.R. (1990):  
The African Rhino.  
Heinemann, Oxford, 48 pp.
- SANCHEZ -VIZACINO J.M.(1996):  
Manual of standard 1996.  
3rd ed, O.I.E, Paris, 128-136.
- SCHALLER, K. PILASKI, J. (1979):  
Pocken bei Breitmaulnashörnern (*Cerat. sim. sim.*) im Zoologischen Garten Münster.  
Zool Gart (NF) 49, 169-184
- SCHNEIDER, H.(1994):  
Animal health and veterinary medicine in Namibia.  
Agrivet, Windhuk.
- SCHÖNBERG, A.; MÜLLER, F.; WEBER, A.; FINGSHEIDT, E.; BREM, S.; SEELIGER, H.; SCHAAAL, E. (1984):  
Diagnostik bei Leptospiren.  
Zbl Bakt Hyg A 258, 480-491.
- SCHRÖDER, H.D. (1978):  
Beitrag zu den Erkrankungen der Unpaarhufer.  
Verh ber Int Symp Erkrank Zootiere 20, 37-38.
- SCHWEDLER, H. (1986):  
Zur Strategie und Taktik der Tierseuchenbekämpfung in der DDR.  
MonhVet Med 41, 1.
- SHEPHERD, A.J.; SWANEPOEL, R.; SHEPHERD, S.P.; McGILLIVRAY, G.M.; SEARLE, L.A. (1987):  
Antibodies to crimean-congo-hemorrhagic fever virus in wild mammals from Southern Africa.  
Am J Trop Med Hyg 36(1), 133-142.
- SIEGEL, S. (1985):  
Nichtparametrische statistische Methoden.  
Fachbuchhandlung für Psychologie Verlagsabteilung, Frankfurt a. M..
- SIMPSON, C.F.; LEWIS, A.L.; GASKIN, J.M. (1977):  
Encephalomyocarditis virus infection of captive elephants.  
J Am Vet Med Ass 171(9), 902-905.
- SIMPSON, V.R. (1978):  
Serological evidence of bluetongue in game animals in Botswana.  
Trop Anim Health Prod 10, 55-60.
- SIMPSON, V.R. (1979):  
Bluetongue antibody in Botswana's domestic and game animals.  
Trop Anim Health Prod 11, 43-49.
- SPEARMANN, R.; KÄRBER, G. (1985):  
Das Virus als Partikel.  
In: Horzinek, M. C. Hrsg.: Kompendium der allgemeinen Virologie, 2nd ed., Paul Parey Verlag, Berlin, 22-23.
- STRAUB, O. (1978):  
Vorkommen der durch IBR/IPV-Viren hervorgerufenen Krankheiten und mögliche differentialdiagnostische Probleme in den verschiedenen Kontinenten und deren Länder.  
Dtsch Tierärztl Wschr, 85, 84-90.
- TAKATSY, G. (1956):  
The use of spiral loops in serological and virological micro-methods.  
Acta Microbiol Acad Sci Hung, 3, 191-202.
- TAYLOR, R.D. (1986):  
The unsuccessful introduction of white rhinoceros to Matusadona National Park, Kariba.  
Pachyderm, 6, 14-15.
- TAYLOR, S.K.; LANE, M.V.; HUNTER, D.L.; EYRE, K.G.; KAUFMAN, S.; FRYE, S.; JOHNSON, M.R. (1997):  
Serologic survey for infectious pathogens in free-ranging American Bison.  
J Wildl Dis, 33(2), 308-311.
- THEILER, A.(1921):  
African horsesickness.  
Science Bulletin, No.19, Department of Agriculture, Union of South Africa, Onderstepoort.

## Literatur

- THEIN, P.; BÖHM, D. (1976):  
Ethiologie und Klinik einer virusbedingten Keratokonjunktivitis beim Fohlen.  
Zbl Vet Med, Reihe B 23, 507-519.
- THIEL, H.-J., P. G. W. PLAGEMANN, AND V. MOENNIG. (1996):  
Pestiviruses.  
In: Fields Virology (3. ed.). B. N. Fields, D. M. Knipe, P. M. Howley (Hrsg.). Lippincott  
Raven Publishers, Philadelphia, pp. 1059-1073.
- THOMPSON, J.K.; PRIESTLEY, F.W.; POLDING, J.B. (1949):  
Enteritis *pseudomonas pyogenes* infection in a white rhinoceros.  
Vet Rec 61, 341.
- THORNE, E.T.; MORTON, J.K.; THOMAS, G.M. (1978):  
Brucellosis in elk. Serologic and bacteriologic survey in Wyoming.  
J Wildl Dis 14, 74-81.
- THRUSFIELD, M. (1995):  
Veterinary Epidemiology.  
Butterworth Heinemann, Oxford.
- TURNBULL, P.C.B.; CARMAN, J.A.; LINDEQUE, P.M.; JOUBERT, F.; HÜBSCHLE, O.J.B.; SNEYENBOS, G.H. (1989):  
Further progress in understanding anthrax in the Etosha National Park.  
Madoqua 16, 93-104.
- Van der HOEDEN, J. (1964):  
Zoonoses.  
Elsevier Publishing Company, Amsterdam.
- VAN OIRSCHOT, J.T.; STRAVER, P.J.; VAN LIESHOUT, J.A.H.; QUAK, J.;  
WESTENBRINK, R.; VAN EXSEL, A.C.A. (1993):  
A subclinical infection of bulls with bovine herpesvirus type 1 at an artificial  
insemination.  
Vet Rec 132, 32-35.
- VAN OIRSCHOT, J.T.:  
Manual of Standards for diagnostic tests and vaccines.  
3rd ed, O.I.E., Paris, 281-290.
- VERWOERD, D.W.; ERASMUS, B.J. (1994):  
Bluetongue.  
In: Coetzer, J.A.W.; Thomson, G.R.; Tustin, R.C. Hrsg.: Infectious Diseases of  
livestock with special reference to Southern Africa, Oxford University Press, 443-457.
- WALKER, A.R.; DAVIES, F.G. (1971):  
A preliminary survey of the epidemiology of bluetongue in Kenya.  
J Hyg 69 47-60.

- WALKER, C.H. (1994):  
Rhinos in Africa- the present situation.  
Proc. of a Symp. „Rhinos as Game Ranch Animals”, 9-10. Sept. 1994, Onderstepoort,  
South Africa.
- WALLACH, J.D.; BOEVER, W.J. (1983):  
Perissodactyla (equids, tapirs, rhinos), Proboscidae (elephants) and Hippopotamidae  
(hippopotamus).  
In: Wallach, J.D.; Boever, W.J. (Hrsg.): Diseases of Exotic Animals, Philadelphia,  
761-829.
- WELLS, S.K.; GUTTER, A.E.; SOIKE, K.F.; BASKIN, G.B. (1989):  
Encephalomyocarditis virus: epizootic in a zoological collection.  
J Zoo Wildl Med, 20(3), 291-296.
- WOODS, G.T. (1968):  
The natural history of bovine myxovirus parainfluenza 3.  
J Am Vet Med Assoc, 152, 771-777.
- WYLER, R.; ENGELS, M.; SCHWYZER, M. (1989):  
Infectious bovine rhinotracheitis / vulvovaginitis (BHV-1).  
In: Wittmann G. Hrsg: Herpesvirus diseases of cattle, horses and pigs. Kluwer  
Academic Publishers, Boston, 1-72.

## Abkürzungen

### Abkürzungen

AHS:	Afrikanische Pferdepest (African horsesickness)
Ak:	Antikörper
Bfa:	Bundesforschungsanstalt
BgVV:	Bundesamt für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin
BHV-1:	bovinus Herpesvirus-1
BT:	Blauzungenerkrankung (Bluetongue)
BVD/MD:	Bovine Virusdiarrhoe/ Mucosal Disease
BVDV:	Bovine Virusdiarrhoe Virus
DME:	Dulbeccos' Modified Eagle
ED:	equine Dermiszellen
EDTA:	Ethylen Diamin-Tetra- Na-Azetat
EHV-1:	equines Herpesvirus-1
ELISA:	Enzyme Linked Immunosorbant Assay
EMCV:	Enzephalomyokarditis-Virus
FHD:	volle hämolytische Dosis (full haemolytic dose)
FITC:	Fluoreszin Isothiozyanat
FKS:	fötales Kälberserum
gB:	Glykoprotein B
G-6-P:	Glucose-6- Phoshat
GBK:	Georgia bovine kidney
H.A.:	Hämaggglutination
H.E.:	hämagglutinierende-Einheit
HAH:	Hämaggglutinationshemmtest
IBR/IPV:	Infektiöse bovine Rhinopneumonie/ Infektiöse pustuläre Vulvovaginitis
IIF:	Immunfluoreszenzhemmtest (Inhibiting Immunofluorescence)
KBR:	Komplementbindungsreaktion
KID <sub>50</sub> :	Kulturinfektiöse Dosis unter Zugrundelegung des 50% Endpunkt
Km:	monoklonale Kontrolle
KNP:	Krüger Nationalpark
Mak:	monoklonale Antikörper
MAR:	Mikroagglutination

## Abkürzungen

MHD:	minimale Hemmdosis
MKS:	Maul- und Klauenseuche
nzp:	nicht zytopathogen
OD:	optische Dichte
OPD:	Orthophenyl-Diamin-Dihydrochlorid
P.I.:	prozentuale Hemmung
PBS:	Phosphat gepufferte Salzlösung
PFU:	Plaque bildende Einheit
PI 3:	Parainfluenza 3
RVFV:	Rifttafiebervirus
SRBC:	Hammelbluterythrozten
VBD:	Veronalpuffer
VNT:	Virusneutralisationstest
W.H.O.:	Weltgesundheitsorganisation
ZKM:	Zellkulturmedium
ZNS:	Zentral Nervensystem
zp:	zytopathogen

## Danksagung

Die vorliegende Arbeit konnte nur durch Unterstützung von vielen Seiten entstehen, hiermit danke ich allen Beteiligten herzlich.

Herrn Prof. Dr. R.R. Hofmann, Direktor des Institutes für Zoo- und Wildtierforschung (IZW) danke ich für die Überlassung des Themas der Arbeit. Nur durch seine stets hilfreiche Unterstützung und vorbehaltloses Bereitstellen aller Möglichkeiten und Einrichtungen des Institutes war ein so reibungsloses Arbeiten möglich. Insbesondere danke ich Herrn Dr. K. Frölich für die ständige Betreuung in allen fachlichen und logistischen Fragen.

Mein besonderer Dank gilt auch Frau Dr. S. Quandt, ohne deren unermüdlichen Einsatz es nicht möglich gewesen wäre, ein so umfangreiches Probenmaterial zu sammeln. Dabei danke ich auch den Mitarbeitern der verschiedenen Nationalparks für die Überlassung der Proben. Insbesondere sind Dr. P. Morkel, P. Erb (beide Namibia) Dr. C. Raath, Dr. Grobler (beide Krüger National Park, RSA), Dr. D. Cooper (Natal), Dr. B. Barnard (Institut of Veterinary Research, Onderstepoort) zu nennen. Aus Kenia konnten die Proben nur mit freundlicher Unterstützung von Dr. Richard Kock, Kenia Wildlife Service und Dr. D. Jessup in die Untersuchung miteinbezogen werden.

Herr Prof. Dr. H. Ludwig danke ich für die hilfreiche Unterstützung in virologischen Fragen; seinen Mitarbeitern Frau Dr. K. Borchers und Frau T. Leifskau für die Hilfe bei den serologischen Tests.

Herr Prof. Dr. C. Staak und seinen Mitarbeitern im BgVV-Berlin danke ich für die hilfreiche Unterstützung bei der Durchführung der Komplementbindungsreaktion und Mikroagglutination. Dr. C. Hamblin, danke ich für die bereitwillige Hilfe bei den Untersuchung der Orbiviruserkrankungen.

Dr. J. Streich, IZW danke ich für die Hilfe bei der statistischen Auswertung der Ergebnisse. Frau B. Kirsch und Frau K. Höning in der Forschungsgruppe „Wildtierkrankheiten“ des IZWs danke ich für Ihre unendliche Geduld mit meinen Unzulänglichkeiten und für Ihre unermüdliche Unterstützung während und nach den Laborarbeiten.

Meiner Familie, den Freunden und Kollegen in Deutschland und Afrika, die mich durch alle Motivationsphasen in dieser Promotionszeit begleiten haben, danke ich für den ständigen Rückhalt, den nötigen Antrieb und die produktive Kritik, die für eine solche Arbeit unersetztbar sind.

## Lebenslauf

Name:	Carola Ingeborg Fischer
geboren am:	03.04.1969 in Hagen / Westfalen
Grundschule:	Funckeschule, Hagen 1975-1979
Weiterführende Schulen:	Theodor-Heuss-Gymnasium, Hagen 1979-1988
	Denstone College, Großbritannien 1986-1987
Schulabschluß:	Abitur im Juni 1988, Hagen
Studium:	Fachbereich Veterinärmedizin, Freie Universität Berlin WS 1988 / 89- SS 1994
Studienabschluß:	Staatsexamen im August 1994, Berlin
Approbation	Oktober 1994, Berlin
	Februar 1995, Windhuk, Namibia
Promotion	Beginn Juli 1995 am Institut für Zoo- und Wildtierforschung, Berlin