

## INHALTSVERZEICHNIS

|  |          |
|--|----------|
| Inhaltsverzeichnis.....  | I        |
| Abbildungsverzeichnis.....   | IV       |
| Tabellenverzeichnis.....   | V        |
| Abkürzungsverzeichnis.....   | VI       |
| <b>1 EINLEITUNG .....</b>  | <b>1</b> |
| <b>2 LITERATUR.....</b>  | <b>3</b> |
| 2.1 Taxonomie des Milzbrand-Erregers ( <i>Bacillus anthracis</i> ).....              | 3        |
| 2.2 Pathogenese.....   | 3        |
| 2.3 Infektionsverlauf und klinische Manifestation von Milzbrand (Anthrax) .....      | 5        |
| 2.3.1 Wirtsspektrum und Empfänglichkeit.....   | 5        |
| 2.3.2 Hautmilzbrand .....  | 6        |
| 2.3.3 Darmmilzbrand .....  | 6        |
| 2.3.4 Lungenmilzbrand .....  | 7        |
| 2.4 Epidemiologie von <i>B. anthracis</i> .....                                      | 8        |
| 2.4.1 Verbreitung.....   | 8        |
| 2.4.2 Lebenszyklus des Erregers zwischen Umwelt und Wirt .....                       | 9        |
| 2.4.3 Sporulation in der Umwelt.....   | 10       |
| 2.4.4 Anatomie der Spore.....  | 10       |
| 2.4.5 Germination im Wirtsorganismus.....  | 11       |
| 2.4.6 Direkte Übertragung .....  | 11       |
| 2.4.7 Indirekte Übertragung durch Vektoren .....                                     | 12       |
| 2.4.8 Verbreitung durch nicht-arthropodenartige Vektoren .....                       | 13       |
| 2.5 Epidemiologisch relevante Umweltfaktoren .....                                   | 14       |
| 2.5.1 Klima .....  | 14       |
| 2.5.2 Boden.....   | 15       |
| 2.5.3 Verhalten und Konstitution des Wirtes .....                                    | 16       |
| 2.6 Kontrolle und Bekämpfung .....   | 17       |
| 2.7 Prophylaxe und Therapie .....  | 18       |
| 2.8 Klassische molekularbiologische Methoden der Charakterisierung .....             | 18       |
| 2.9 Moderne Methoden der Stammtypisierung .....                                      | 20       |
| 2.9.1 Progressive Hierarchical Resolving Assay using Nucleic Acids: PHRANA .....     | 20       |
| 2.9.2 Single Nucleotide Polymorphism-Analysis (SNP-Analyse).....                     | 21       |
| 2.9.3 Multiple Loci of Variable Numbers of Tandem Repeat (VNTR) Analysis (MLVA)..... | 23       |
| 2.9.4 Single Nucleotide Repeat-Analysis (SNR-Analyse) .....                          | 25       |
| 2.10 Der Etosha Nationalpark (ENP).....  | 26       |
| 2.10.1 Beschreibung des Etosha Nationalparks .....                                   | 26       |
| 2.10.2 Topographie .....   | 27       |
| 2.10.3 Klima .....   | 29       |
| 2.10.4 Vegetation .....  | 29       |

|          |   |           |
|----------|---|-----------|
| 2.10.5   | Bodenarten.....   | 31        |
| 2.10.6   | Wild-Populationsdaten.....  | 32        |
| 2.10.7   | Wildtier-Populationsdynamik .....   | 33        |
| <b>3</b> | <b>MATERIAL UND METHODEN.....</b>   | <b>35</b> |
| 3.1      | Material .....  | 35        |
| 3.1.1    | Herkunft der Tier-Tupferproben .....  | 35        |
| 3.1.2    | Herkunft der Umweltproben .....   | 35        |
| 3.2      | Methoden der Probenentnahme .....   | 36        |
| 3.2.1    | Kadaver.....  | 36        |
| 3.2.2    | Umweltproben .....  | 36        |
| 3.2.3    | Transport und Lagerung .....  | 37        |
| 3.3      | Untersuchungsmethodik und Probenaufbereitung .....  | 38        |
| 3.4      | Screening der Umweltproben .....  | 38        |
| 3.5      | Isolatsuche in Umweltproben .....   | 39        |
| 3.6      | Gesamtkeimzahl der auf TSPBA angezüchteten Sporenbildner in Umweltproben .....            | 40        |
| 3.7      | Gewinnung der DNA aus <i>B. anthracis</i> -Kolonien der Tupfer- und Umweltproben .....    | 40        |
| 3.8      | Analyse der Isolate in der 31 Marker MLVA .....   | 41        |
| 3.9      | Auswertung der Fragmentanalyse.....   | 42        |
| 3.10     | Sequenzierung von neu auftauchenden Allelen.....  | 42        |
| 3.11     | Doppelinfektionen mit <i>B. anthracis</i> -Stämmen .....                                  | 43        |
| 3.12     | Entwicklung einer in ArcGIS genutzten Access-Datenbank .....                              | 43        |
| 3.13     | Kartographie der Isolate und statistische Auswertungen .....                              | 44        |
| <b>4</b> | <b>ERGEBNISSE.....</b>  | <b>45</b> |
| 4.1      | Probenumfang und Zusammensetzung.....   | 45        |
| 4.2      | Positive und negative Nachweise von Anthrax im Etosha Nationalpark .....                  | 46        |
| 4.2.1    | Verteilung auf tiergebundene Variablen.....   | 46        |
| 4.2.2    | Verteilung der Nachweise unter Einbezug von Klimaelementen .....                          | 48        |
| 4.2.3    | Nachweisverteilung auf (natur-) räumliche Kategorien und Bezugsgrößen .....               | 51        |
| 4.3      | Genotypen nach SNP-Analyse .....  | 56        |
| 4.4      | Genotypen nach der MLVA 31 Marker .....   | 56        |
| 4.4.1    | Verteilung der Genotypen auf Wildspezies im ENP .....                                     | 57        |
| 4.4.2    | Verteilung der Genotypen auf (natur-) räumliche Kategorien und Bezugsgrößen des ENP ..... | 58        |
| 4.4.3    | Genetische und räumliche Distanz der ENP-Genotypen .....                                  | 60        |
| 4.4.4    | Doppelinfektionen.....  | 60        |
| 4.5      | Auswertung der Umweltproben .....   | 61        |
| 4.6      | Genotypen-Vergleich der Tier- und Umweltisolate.....                                      | 65        |
| 4.7      | Clusteranalysen .....   | 68        |
| 4.7.1    | Cluster positiver Nachweise .....   | 68        |
| 4.7.2    | Cluster nach der MLVA 31 Marker.....  | 70        |
| 4.8      | Verteilung der Genotypen nach SNR-Analyse .....   | 73        |
| 4.8.1    | Analysen der GT außerhalb des ENP.....  | 73        |
| 4.8.2    | Analysen der GT im ENP.....   | 79        |

|           |  |            |
|-----------|--|------------|
| <b>5</b>  | <b>DISKUSSION</b> .....  | <b>84</b>  |
| 5.1       | Zielsetzung und Untersuchungsauslage.....  | 84         |
| 5.2       | Spezies-abhängige Verteilung der Nachweise.....  | 85         |
| 5.3       | Saisonalität des Auftretens von Milzbrand.....   | 88         |
| 5.4       | Doppelinfektionen.....   | 90         |
| 5.5       | Langzeitstudie der Umweltproben.....   | 91         |
| 5.6       | Wasserstellen als potentielle Infektionsquelle.....  | 96         |
| 5.7       | Aussagekraft der drei Genotypisierungs-Methoden im Vergleich.....  | 98         |
| <b>6</b>  | <b>ZUSAMMENFASSUNG</b> .....   | <b>104</b> |
| <b>7</b>  | <b>SUMMARY</b> .....   | <b>106</b> |
|           | Literaturverzeichnis.....  | IX         |
| ANHANG 1  | Anthrax-Ausbrüche in afrikanischen Ländern.....  | XXVI       |
| ANHANG 2  | Ausgewählte ENP-Populationszahlen der Wildzählung 2005.....  | XXVII      |
| ANHANG 3  | Nährmedien, diagnostische Tests, Probenaufbereitung und Qualitätskontrolle<br>der gewonnenen DNA.....                            | XXVIII     |
| ANHANG 4  | Protokolle zur Durchführung der diagnostischen PCR (RT-PCR) Ansatz der<br>Primer und Sonden und des Primer/Sonden-Mastermix..... | XXX        |
| ANHANG 5  | MLVA 31 Marker.....  | XXXI       |
| ANHANG 6  | Copy Code Tabellen der MLVA 31 Marker.....   | XXXV       |
| ANHANG 7  | Zuordnung der Copy Codes zu einem Genotypen.....   | XXXVII     |
| ANHANG 8  | Namibische Isolate aus Nutz- und Wildtieren Isolate der Verdachtsproben<br>aus dem ENP.....                                      | XXXVIII    |
| ANHANG 9  | Anthrax-positive und negative Nachweise aus ENP.....   | XXXIX      |
| ANHANG 10 | Genotypenverteilung nach Isolierungsjahr, Herkunft und Spezies.....  | XL         |
| ANHANG 11 | Laborergebnisse der Langzeitstudie der Umweltproben.....   | XLII       |
| ANHANG 12 | SNR-Typen und Marker für die GT 105, 123, 129, 136 und 138.....  | XLV        |
|           | Eigene Publikationen.....  | XLVI       |
|           | Danksagung.....  | XLVII      |
|           | Selbstständigkeitserklärung.....   | XLVIII     |