

## INHALTSVERZEICHNIS

<b>1. EINLEITUNG.....</b>	<b>1</b>
<b>2. LITERATURÜBERSICHT.....</b>	<b>3</b>
2.1. ORTHOMYXOVIRIDAE.....	3
2.2. GENUS INFLUENZAVIRUS A.....	4
2.2.1. Morphologie der <i>Influenza A</i> Viren .....	4
2.2.2. Genetische Veränderbarkeit der Influenzaviren .....	6
2.2.3. Virusreplikation .....	7
2.2.4. Speziespezifität .....	8
2.2.5. Pathogenität.....	9
2.2.6. Epidemiologie und Übertragung.....	10
2.2.7. Tenazität von Influenzaviren in Wasser .....	12
2.2.8. Gegenwärtige epidemiologische Situation.....	14
2.2.8.1. Hoch-pathogene Influenzaviren .....	14
2.2.8.2. Nachweis niedrig-pathogener Influenzaviren bei Wildvögeln in Deutschland .....	15
2.3. ORTHOMYXOVIREN BEI POIKILOOTHERMEN .....	16
2.3.1. Reptilien und Amphibien.....	16
2.3.2. Fische.....	17
2.4. FISCHE IM BODENSEE .....	19
2.5. DREIKANTMUSCHEL (DREISSENA POLYMORPHA (PALLAS, 1771)) .....	22
2.5.1. Systematik und Taxonomie.....	22
2.5.2. Vorkommen .....	22
2.5.3. Anatomie und Ernährung .....	23
2.5.4. Rolle der Dreikantmuschel als Biofilter.....	24
<b>3. MATERIAL UND METHODEN.....</b>	<b>27</b>
3.1. ZELLKULTURMEDIEN, PUFFERLÖSUNGEN UND REAGENZIEN.....	27
3.1.1. Virologische Untersuchungen.....	27
TABELLE 3.4: ANZUCHTMEDIUM EPC UND RTG.....	28
Patricin .....	32
3.1.2. Molekularbiologische Untersuchungen .....	33
3.1.3. Feldproben .....	36
3.1.4. Muschelversuche .....	37
3.2. WEITERE MATERIALIEN UND GERÄTE .....	37
3.2.1. Virologische Untersuchungen.....	37
Zellkulturlaschen .....	37
3.2.2. Molekularbiologische Untersuchungen .....	38
3.2.3. Feldproben .....	39
3.2.4. Muschelversuche .....	39
3.3. EINGESETZTE ZELLLINIEN .....	39
3.4. VERWENDETE VIRUSISOLATE UND VIRUSVERMEHRUNG SOWIE KONTROLLSEREN .....	41
3.5. VIRUSTITRATION .....	42
3.6. HÄMAGGLUTINATIONSTEST .....	43
3.7. HÄMAGGLUTINATIONS-HEMMUNGSTEST (HAH-Test) .....	43
3.8. ENZYME LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY (ELISA) .....	45
3.9. RNA ISOLIERUNG .....	46
3.10. REAL-TIME REVERSE-TRANSCRIPTION-POLYMERASE CHAIN REACTION (RRT-PCR) .....	47
3.11. QUANTITATIVE REAL-TIME REVERSE-TRANSCRIPTION-POLYMERASE CHAIN REACTION (QRRT-PCR) .....	48
3.11.1. Klonierung .....	49
3.11.2. Sensitivität .....	49
3.12. SEQUENZIERUNG .....	49
3.13. UNTERSUCHUNG DER FELDPROBEN VON BODENSEEFISCHEN .....	52
3.13.1. Spikeversuche mit Fischproben .....	52
3.13.2. Organisation der Probenentnahme .....	52
3.13.3. Untersuchungszeitraum .....	53

3.13.2. Untersuchungsgebiete .....	53
3.13.3. Untersuchungsmaterial .....	53
3.13.4. Probennahme und Transport .....	53
3.13.5. Aufbereitung und Konservierung des Probenmaterials .....	55
3.14. UNTERSUCHUNG VON SCHILDKRÖTENSEREN .....	55
3.15. LABORVERSUCHE MIT DREIKANTMUSCHELN .....	56
3.15.1. Spikeversuche mit Muschelmaterial .....	56
3.15.2. Untersuchungsmaterial und Hälterung unter Laborbedingungen .....	56
3.15.3. Eingesetztes Virus .....	57
3.15.4. Exposition der Muscheln .....	57
3.15.5. Reinwasserversuche .....	57
3.15.5.1. Präparation der Muscheln .....	58
3.15.5.2. Virusnachweis mittels PCR .....	59
3.15.5.3. Virusnachweis mittels Virusanzucht .....	59
3.15.5.4. Statistische Auswertung .....	60
3.16. ZELLKULTURVERSUCHE .....	61
3.16.1. Verwendete Virusisolate .....	61
3.16.2. Infektion der Zellen .....	62
3.16.3. Virusnachweis .....	62
4. ERGEBNISSE .....	64
4.1.1. Untersuchung der Feldproben von Bodenseefischen .....	64
4.1.1.1. Spikeversuche .....	64
4.1.1.2. Untersuchung der Kiemen- und Schuppenproben sowie Rachen- und Kloakentupfer von Bodenseefischen mittels RRT-PCR .....	66
4.1.1.3. Untersuchung von Fischseren mittels Hämaggulinations-Hemmungstest (HAH-Test) und Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) .....	68
4.1.2. Untersuchung von Schildkrötenseren .....	70
4.1.2.1. Untersuchung von Schildkrötenseren mittels Hämaggulinations-Hemmungstest (HAH-Test) und Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) .....	70
4.1.3. Laborversuche mit Dreikantmuscheln .....	72
4.1.3.1. Spikeversuche .....	72
4.1.3.2. Vorversuche mit und ohne Desinfektion der Muscheloberfläche .....	73
4.1.3.3. Kontaminationshauptversuche .....	82
4.1.4. Zellkulturversuche .....	100
4.1.4.1. Reptilienzellen .....	100
4.1.4.2. Fischzellen .....	106
5. DISKUSSION .....	112
5.1. INFLUENZAVIREN BEI WECHSELWARMEN TIEREN .....	112
5.1.1. Feldproben .....	112
5.1.1.1. Spikeversuch .....	112
5.1.1.2. Untersuchung der Kiemen- und Schuppenproben sowie der Rachen- und Kloakentupfer von Bodenseefischen mittels qRRT-PCR .....	113
5.1.1.3. Untersuchung der Fisch- und Schildkrötenseren mittels Hämaggulinations-Hemmungstest (HAH-Test) und Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) .....	114
5.1.2. Zellkulturversuche .....	117
5.2. LABORVERSUCHE MIT DREIKANTMUSCHELN .....	119
5.2.1. Spikeversuche .....	119
5.2.2. Kontamination von Dreikantmuscheln mit aviären Influenzaviren .....	120
6. ZUSAMMENFASSUNG .....	127
7. SUMMARY .....	131
8. LITERATURVERZEICHNIS .....	134
9. ANHANG .....	156