

# Inhalt

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>LITERATURÜBERSICHT</b>	<b>2</b>
<b>2.1</b>	<b>Hantaviruserkrankungen des Menschen</b>	<b>4</b>
2.1.1	Hämorrhagisches Fieber mit renalem Syndrom	5
2.1.2	Hantavirus-induziertes Kardiopulmonales Syndrom	7
2.1.3	Pathogenese und Diagnostik beim Menschen und im Nagetier	8
<b>2.2</b>	<b>Hantavirusinfektionen bei Tieren</b>	<b>13</b>
2.2.1	Hantaviren im natürlichen Reservoir	13
2.2.2	Wirtsspezifität von Hantaviren	15
2.2.3	Übersprünge („Spillover“) von Hantaviren	18
<b>2.3</b>	<b>Hantavirusinfektionen in Deutschland</b>	<b>20</b>
<b>2.4</b>	<b>Zielstellung</b>	<b>24</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN</b>	<b>25</b>
<b>3.1</b>	<b>Nagetiere</b>	<b>25</b>
<b>3.2</b>	<b>Versuchsplanung</b>	<b>28</b>
<b>3.3</b>	<b>Pathologisch-anatomische Untersuchungen</b>	<b>30</b>
<b>3.4</b>	<b>Molekulare Speziesbestimmung</b>	<b>32</b>
3.4.1	Probenmaterial	32
3.4.2	DNA-Isolierung	32
3.4.3	Cytochrom <i>b</i> -spezifische Polymerase Kettenreaktion (cyt <i>b</i> -PCR)	32
3.4.4	Agarose-Gelelektrophorese	32
3.4.5	Sequenzierung mittels Didesoxy-Strangabbruchmethode nach Sanger	33
3.4.6	Auswertung	33
3.4.7	Phylogenetische Analyse	34
<b>3.5</b>	<b>PUUV S-Segment Reverse Transkription-Polymerase Kettenreaktion (RT-PCR) zum Nachweis von PUUV-RNA</b>	<b>35</b>
3.5.1	Probenmaterial	35
3.5.2	Kontrollen	35
3.5.3	RNA-Isolierung	35
3.5.4	Durchführung der RT-PCR	35
3.5.5	Agarose-Gelelektrophorese	36
3.5.6	Sequenzierung mittels Didesoxy-Strangabbruchmethode nach Sanger	36
3.5.7	Auswertung	36
3.5.8	Phylogenetische Analysen	36
<b>3.6</b>	<b>Indirekter Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) zum Nachweis von anti-PUUV N-spezifischen Immunglobulinen der Klasse G (IgG)</b>	<b>37</b>
3.6.1	Probenmaterial	37
3.6.2	Antigen und Kontrollen	37
3.6.3	Durchführung	37
3.6.4	Auswertung	39
<b>3.7</b>	<b>Histopathologische Untersuchung</b>	<b>39</b>

3.7.1	Probenmaterial .....	39
3.7.2	Kontrolle .....	39
3.7.3	Durchführung .....	39
3.7.3.1	Hämatoxylin und Eosin (H&E)-Färbung.....	40
3.7.4	Auswertung .....	40
<b>3.8</b>	<b>Immunhistologische Untersuchung zum Nachweis des PUUV N-Proteins.....</b>	<b>40</b>
3.8.1	Proben- und Kontrollmaterial.....	40
3.8.2	Schweineseren.....	41
3.8.3	Durchführung .....	41
3.8.4	Auswertung .....	42
<b>3.9</b>	<b>PUUV S-Segment Reverse Transkription-semiquantitative Polymerase Kettenreaktionen (RT-sqPCR) zum organspezifischen Nachweis von PUUV-RNA.....</b>	<b>42</b>
3.9.1	PUUV S RT-sqPCR 1 .....	43
3.9.1.1	Probenmaterial.....	43
3.9.1.2	Kontrollen.....	45
3.9.1.3	Primer und Sonden .....	45
3.9.1.4	Durchführung .....	45
3.9.1.5	Auswertung .....	46
3.9.2	PUUV S RT-sqPCR 2 .....	46
3.9.2.1	Probenmaterial.....	46
3.9.2.2	Kontrollen.....	48
3.9.2.3	Primer und Sonden .....	48
3.9.2.4	Durchführung .....	48
3.9.2.5	Auswertung .....	49
<b>3.10</b>	<b>RNAscope® zum Nachweis von Positivstrang-RNA.....</b>	<b>49</b>
3.10.1	Probenmaterial.....	49
3.10.2	Kontrollen.....	50
3.10.3	Sonden .....	50
3.10.4	Durchführung.....	50
3.10.5	Auswertung.....	51
<b>4</b>	<b>ERGEBNISSE .....</b>	<b>52</b>
<b>4.1</b>	<b>Rötelmäuse .....</b>	<b>52</b>
4.1.1	Speziesbestimmung.....	52
4.1.2	Ergebnisse der RT-PCR und des indirekten anti-PUUV-IgG-ELISA und phylogenetische Zuordnung der PUUV-Sequenzen.....	52
4.1.3	Gewebeverteilung viraler RNA mittels RT-sqPCR.....	56
4.1.4	Gewebe- und Zellverteilung des PUUV N-Proteins.....	57
4.1.5	Gewebe- und Zellverteilung von Positivstrang-RNA .....	65
4.1.6	Pathologisch-anatomische Befunde .....	74
4.1.7	Histopathologische Befunde .....	74
4.1.8	Organspezifischer Nachweis von PUUV-RNA und N-Protein .....	79
4.1.9	Organspezifischer Nachweis von PUUV-RNA mittels RT-sqPCR, N-Protein mittels IHC und Positivstrang-RNA mittels ISH .....	81
4.1.10	Zusammenhang zwischen PUUV-Infektion und Koinfektion .....	83

4.2	<b>Apodemus-Arten</b>	84
4.2.1	Speziesbestimmung	84
4.2.2	Ergebnisse der RT-PCR und des indirekten anti-IgG-ELISA	84
4.2.3	Gewebeverteilung viraler RNA mittels RT-sqPCR	87
4.2.4	Gewebe- und Zellverteilung des PUUV N-Proteins mittels IHC	87
4.2.5	Pathologisch-anatomische Befunde	87
4.2.6	Histopathologische Befunde	87
5	<b>DISKUSSION</b>	90
5.1	PUUV-Infektionen in Rötelmäusen, Wald- und Gelbhalsmäusen des LK OS	90
5.2	Gewebeverteilung des PUUV im Rötelmausreservoir	93
5.3	Konsequenzen der PUUV-Infektion	95
5.3.1	Diskrepanzen zwischen dem Nachweis viraler RNA, N-Protein und Positivstrang-RNA	98
5.3.2	Bedeutung des Organ- und Zelltropismus für den Infektionsverlauf	100
5.4	Histopathologische Befunde	103
5.5	Rolle von Koinfektionen im Reservoir	105
5.6	Ausblick	107
6	<b>ZUSAMMENFASSUNG/SUMMARY</b>	109
6.1	Zusammenfassung	109
6.2	Summary	112
7	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b>	114
8	<b>ANHANG</b>	136
8.1	<b>Lösungen und Puffer</b>	136
8.1.1	Sektion	136
8.1.2	Molekulare Speziesbestimmung	136
8.1.3	PUUV S RT-PCR	136
8.1.4	Indirekter anti-PUUV N-IgG-ELISA	137
8.1.5	H&E-Färbung	137
8.1.6	Immunhistologie	138
8.1.7	PUUV S RT-sqPCR 1	140
8.1.8	PUUV S RT-sqPCR 2	140
8.1.9	RNAscope®	140
8.2	<b>Bezugsquellen</b>	141
8.2.1	Antikörper, Einmalwaren, Kits und Reagenzien	141
8.2.2	Geräte und Software	145
8.3	<b>Tabellen</b>	147
8.3.1	Histopathologische Befunde	147
8.3.2	Immunhistologische Befunde	153
8.3.3	Zusammenhang zwischen PUUV-Infektion und Koinfektion	158
8.3.4	Zusammenhang zwischen Nachweis des PUUV N-Proteins und der PUUV-Positivstrang-RNA	159
8.3.5	Tabelle zur molekularen Speziesbestimmung	161
8.3.6	Tabelle zur phylogenetischen Zuordnung der PUUV-Sequenzen	162
8.3.7	Ct-Werte der RT-sqPCR	164

8.3.8	Organspezifischer Nachweis von PUUV-RNA und PUUV N-Proteins.....	165
8.3.9	Organspezifischer Nachweis von PUUV-RNA, PUUV N-Protein und PUUV-Positivstrang-RNA.....	168
8.3.10	Rohdaten-Tabellen.....	169
<b>8.4</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>182</b>