

Hinweise zum Vorkommen von Rinderbotulismus in Deutschland anhand von Laboruntersuchungen der Jahre 1996 – 2010

von Helge Böhnelt und Frank Gessler

(3 Abbildungen, 2 Tabellen, 39 Literaturangaben)

Kurztitel: Rinderbotulismus in Deutschland 1995 – 2010

Stichworte: Botulismus – Clostridium botulinum – Labordiagnose – Rind – Deutschland

Zusammenfassung:

Seit 1995 bearbeiten wir Proben zum Labornachweis von Botulinumtoxin bzw. Clostridium (C.) botulinum. Aus unseren Unterlagen wurden diejenigen Fälle bei Rindern herausgesucht, bei denen eine klinische Verdachtsdiagnose durch eine positive Labordiagnose mittels des Mäuse-Biotests eindeutig bestätigt wurde. Die durch die genaue Postanschrift des Tierbesitzers identifizierbaren Betriebe wurden auf einer Deutschlandkarte gemäß den Postleit-

zahlen eingetragen und der Rinderbesatzdichte des Jahres 2007 gegenübergestellt. Von 1996 bis 2010 wurden 1.108 Betriebe in 525 Postleitzahlbereichen erfasst, die Probleme mit Botulismus hatten. Viehdichte und Krankheitsauftreten korrelieren nicht miteinander. Da C. botulinum ein Bodenbakterium ist, muss davon ausgegangen werden, dass die Krankheitserreger auch in der Zukunft Einfluss auf die Herdengesundheit bei Rindern in den betroffenen Regionen haben werden.

Abstract

Indications on the occurrence of bovine botulism in Germany according to laboratory investigations in the years 1996 - 2010

Key words: Botulism – Clostridium botulinum – laboratory diagnosis – bovine – Germany

Since 1995 we have examined specimens for botulinum toxins and Clostridium (C.) botulinum, respectively. From our data we compiled those farms where a suspected clinical diagnosis of botulism was confirmed by a positive laboratory result (mouse bio-assay), and from which the correct postal address was given. The geographical distribution of these farms is shown in a map of Germany and compared to the concentration of cattle in the year 2007. From 1996 until 2010 1108 farms with botulinum related problems in 525 post code areas were identified. There is no correlation between cattle concentration and disease prevalence. As C. botulinum is a soil bacterium it must be presumed that also in the future this

pathogen may have an influence on herd health in the affected regions.

1 Einleitung

1.1 Krankheit

»Botulismus« ist gewohnheitsmäßig die Bezeichnung eines Krankheitskomplexes, der als Faktoreuseuche bei Rindern letztlich immer durch Stoffwechselprodukte, sog. »Toxine« des anaeroben Bakteriums Clostridium botulinum hervorgerufen wird (Botulinum-Toxikose) (Graham und Schwarze, 1921). Welche Faktoren beteiligt sind, ist auch heute noch weitgehend unklar (Böhnelt und Gessler, 2004). Die Anwendung der Henle-Koch-Postulate führt deshalb nicht zur Lösung des Problems, da die Krankheit nicht einfach reproduziert werden kann (Selbitz et al., 2011). Bis zum Ende des 20. Jahrhunderts wurde Botulismus hauptsächlich als eine Vergiftung nach oraler Aufnahme des Toxins beschrieben. Eine von Meyer (1928) bereits dokumentierte Darminfektion beim Menschen wurde 1967

bei Pferden (»shaker foal syndrom«; Rooney und Prickett, 1967) und 1976 bei Säuglingsbotulismus (»Infant botulism«; Midura und Arnon, 1976) nachgewiesen. Botulinumtoxine verhindern die Übertragung von Nervenreizen besonders an den Synapsen quergestreifter Muskeln und beeinträchtigen auch das autonome Nervensystem (z. B. Speicheln). Die resorbierte Toxinmenge in einem bestimmten Zeitraum und die Empfindlichkeit des Organismus ergeben das klinische Bild und den Verlauf der Erkrankung (perakut, akut). Bei geringerer Toxinresorption kann es bei Einzeltieren zu einer chronischen Form kommen, die mehrere Tage anhalten kann. Die Tiere werden struppig mit aufgeschürztem Bauch, teilnahmslos mit Koordinationsstörungen der Gliedmaßen und machen innerhalb weniger Tage einen elenden verhungerten Eindruck (Graham und Schwarze, 1921). Ende der 1990er Jahre wurde eine klinische Erkrankungsform diagnostiziert, die auf einer Infektion mit Toxinbildung innerhalb des Verdauungstraktes bei Rindern basiert, und die ganzen Rinderbestände über Monate betrifft (»viszeraler Botulismus«) (Schwagerick und Böhnelt, 2001; Böhnelt et al., 2001). In Frankreich wurden bei Rindern bereits im Jahr 2002 bei Botulismus mehr Fälle von Darminfektion als von Vergiftung gezählt (AFSSA, 2002).

1.2 Diagnose

Die Diagnose des akuten Botulismus kann klinisch meist eindeutig gestellt werden. Bei chronischen Verlaufsformen treten auf Grund der anfangs rela-

tiv unspezifischen Symptome, die dem Landwirt auffallen (Rückgang der Herdenmilchleistung, Abmagern, struppiges Fell bei Einzeltieren) erst später pathognomonische Symptome auf (besonders fehlende oder reduzierte Reflexe an Augen und/oder Ohren, Nervenlähmungen mit Bewegungsstörungen) (Schwagerick und Böhnel, 2001; siehe auch Hellwig, 2010). Wie bei anderen Erkrankungen auch ist das klinische Bild die Grundlage der Diagnose des Botulismus. Zusätzlich wird die Erfassung betriebsspezifischer Daten über z. B. Haltung, Fütterung oder Leistung an Hand des Botulinum-Fragebogens empfohlen (Schwagerick et al., 2011). Laboruntersuchungen können Differentialdiagnosen ausschließen und die Verdachtsdiagnose gegebenenfalls bekräftigen.

Vom lebenden Tier sind frisch gewonnene Kot- und wenn möglich Pansen-saftproben (jeweils etwa 50 g) einzusenden. Ein Nachweis von Toxin im Blut ist nur selten zu führen, jedoch gibt der Nachweis von Antikörpern im Serum (etwa 5 ml Probe) Hinweise auf Dauer und ursächlichen Toxintyp der Erkrankung. Bei verendeten oder euthanasierten Tieren sollte zusätzlich Inhalt von Pansen und verschiedenen Darmabschnitten (Ileum, Colon, Caecum) und Leber (auch jeweils etwa 50 g) eingesandt werden. Je frischer die Proben sind bzw. je früher sie gekühlt oder besser, eingefroren werden, desto eher können postmortale Veränderungen ausgeschlossen werden.

Cave: Speichel kann BoNT und *C. botulinum* enthalten, also ist Vorsicht auch schon bei der klinischen Untersuchung angebracht (Böhnel et al., 2008; Böhnel und Gessler, 2010b).

Für die Laboruntersuchungen gibt es keine internationalen Standardverfahren mit entsprechenden Referenzsubstanzen. Im Allgemeinen wird entsprechend CDC (1998) und AOAC International (2001) der Mäusetest mit eindeutiger Toxinneutralisation als beweisend angesehen. Molekularbiologische Verfahren haben sich für die Routinediagnose noch nicht durchgesetzt (Gessler und Böhnel, 2004; Lindström und Korkeala, 2006; Böhnel und Gessler, 2010b; Čapek und Dickerson, 2010). Es ist darauf hinzuweisen, dass selbst bei klinisch eindeutigen Fällen die Labordiagnose u. U. nur 30 % der Fälle erkennt (Popoff, 1989; AFSSA, 2002).

Tabelle 1: Abklärung der Diagnose des Botulismus in Zusammenwirken von Hoftierarzt und Diagnoselabor.

Klinische Verdachtsdiagnose	Labor-diagnose*	Enddiagnose	weitere klinische und Laboruntersuchungen nach 3 Wochen notwendig
positiv	positiv fraglich negativ	positiv positiv positiv	nein nein nein
fraglich	positiv fraglich negativ	positiv fraglich fraglich	nein ja ja
negativ	positiv fraglich negativ	fraglich negativ negativ	ja ja nein

*Toxinneutralisation, fraglich = nicht eindeutiges Ergebnis.

Geringe Toxinmengen, die unter der Nachweisgrenze liegen, können bei Resorption über einen längeren Zeitraum klinische Symptome auslösen. Deshalb können negative Laborbefunde Botulinumtoxin als Krankheitsursache generell nicht ausschließen. Bei weiter bestehendem Verdacht sollten erneut zusätzliche Proben untersucht werden. Tabelle 1 zeigt die notwendige Zusammenarbeit von Praktiker und Labor, um die Diagnose Botulismus abzuklären. Es ist der Hoftierarzt, der für die Enddiagnose verantwortlich ist.

2 Eigene Untersuchungen

2.1 Material und Methoden

Unser Labor untersucht bei Verdacht auf Botulismus Proben von erkrankten, verdächtigen oder verendeten Tieren. Bei einem Bestandsproblem sollen von jeweils fünf erkrankten Tieren und von der Sektion eines verendeten Tieres Proben eingesandt werden. Zusätzlich können noch Futtermittel, Boden, Wasser und sonstige Proben untersucht werden (Gessler und Böhnel, 2004).

Durch den Mäuse-Bioassay wird etwa vorhandenes Toxin direkt nach Auswaschung durch eine Pufferlösung aus der Probe durch i. p. Injektion in der Maus durch deren Tod nachgewiesen. Bakterielle Formen werden in Flüssigmedium kultiviert und zur Toxinproduktion angeregt. Anschließend wird etwa gebildetes Toxin ebenfalls in der Maus nachgewiesen. Die einzelnen Toxintypen werden durch Toxinneutralisation mit typspezifischen Antiseren unterschieden. Aus praktischen Gründen gruppieren wir die Toxine A, B und E sowie C und D. Eine quantitative Auswertung wird mit diesen Nachweismethoden üblicherweise nicht durchgeführt. Detaillierte Angaben zu den Ver-

fahren sind in der Literatur zu finden (CDC, 1998; AOAC International, 2001; Gessler und Böhnel, 2004). Aus Tierschutzgründen werden beim Vorliegen einer eindeutigen positiven Toxinneutralisation bei einer Probe weitere Untersuchungen zu einer Einsendung abgebrochen. Der Toxinnachweis durch Bakterienkultur im Reagenzglas zeigt das Vorhandensein von Toxin bildenden Bakterien und lässt Rückschlüsse auf eine etwaige Toxinbildung im erkrankten Organismus zu.

2.2 Geographische Zuordnung

Um einen Überblick über das geographische Vorkommen des Botulismus bei Rindern an Hand der uns zugesandten Proben zu bekommen, wurde entsprechend der Postleitzahlen der betroffenen Betriebe eine Verteilung in Deutschland erstellt. Grundlage war die durch den Hoftierarzt als »von Botulismus betroffener Betrieb« gestellten Enddiagnose entsprechend Klinik und Labordiagnose (Tab. 1). Außerdem mussten für jeden gewerteten Fall Name des Besitzers und Postanschrift vorliegen. Eine Differenzierung nach dem klinischen Bild (akut, chronisch) oder der Ätiologie (Vergiftung, Infektion) wurde nicht vorgenommen. Positive Ergebnisse von Futter- oder anderen Proben oder Antikörper-ELISA wurden nicht berücksichtigt. Über die Größe der Postleitzahlbezirke und deren genaue Anzahl gibt es keine Angaben.

Der so geschaffenen Karte (Abb. 2) wurde die des Rinderbesatzes 2007 entgegengestellt (Abb. 3) (Destatis, 2011).

3 Ergebnisse

Insgesamt wurden für die Jahre 1996 bis 2010 Einsendungen von 1.613 be-

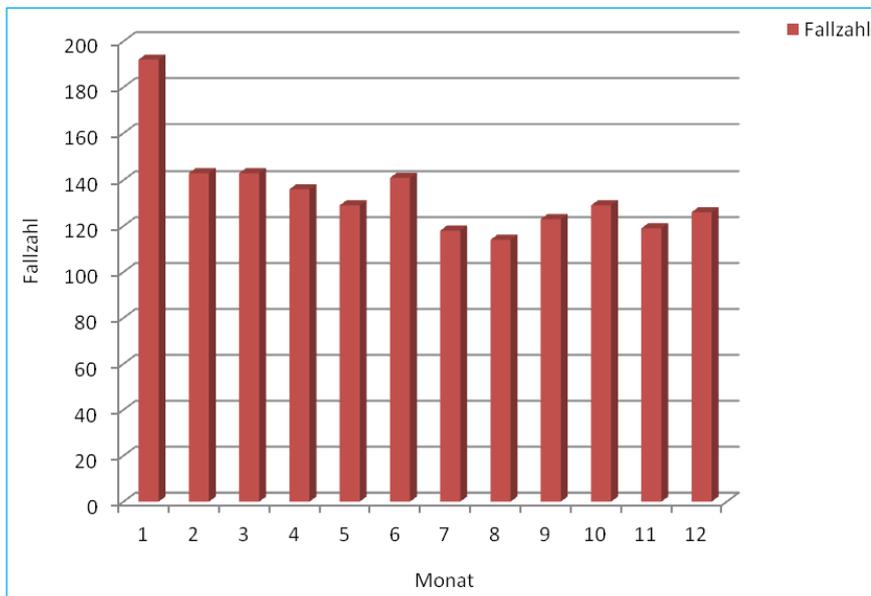


Abb. 1: Jahreszeitliche Verteilung der eingegangenen Proben mit positiver Toxinneutralisation im Untersuchungszeitraum 1996 – 2010.

Tabelle 2: Anzahl der betroffenen Betriebe pro PLZ-Bereich im Untersuchungszeitraum 1996 – 2010.

Anzahl der betroffenen Betriebe pro PLZ-Bereiche	Anzahl der PLZ-Bereiche
1	346
2	76
3	40
4	17
5	17
6	5
7	5
8	1
9	1
10	4
11	2
12	1
13	1
14	2
15	1
17	3
19	1
20	1
35	1

wiesen wurden. In einem Postleitzahlbereich waren 35 Gehöfte betroffen. Die Größe der Kreise in der Darstellung entspricht einer Gruppierung von 1, 2 – 10, 11 – 35 Fälle pro PLZ-Bereich (Abb. 2).

4 Diskussion

Die uns zugesandten Proben dienen der Unterstützung oder der Bestätigung von klinischer Diagnose »Botulismus«. Proben von unverdächtigen Betrieben wurden uns nicht eingeschickt. Unsere Ergebnisse können nicht als repräsentativ gelten, da wir nicht von allen Betrieben mit Botulismus(verdacht) Einsendungen erhalten. Auf Grund dieser Vorauswahl ist eine statistische Auswertung der Ergebnisse zum Vorkommen von Botulismus in Deutschland nicht möglich.

In 47,4 % der betroffenen Betriebe wurde die Toxintypengruppe CD nachgewiesen. Zusätzlich wurde in 35,9 % beide Toxingruppen CD und ABE gefunden. Somit ist die Toxingruppe CD diejenige, die am häufigsten auftritt. Da es keine spezifische Therapie bei Botulismus gibt, bedeutet aufgrund der Erfahrungen der letzten Jahre eine Impfung aller Tiere eine wesentliche Verbesserung des Gesundheitszustandes des ganzen Bestandes bei den unter-

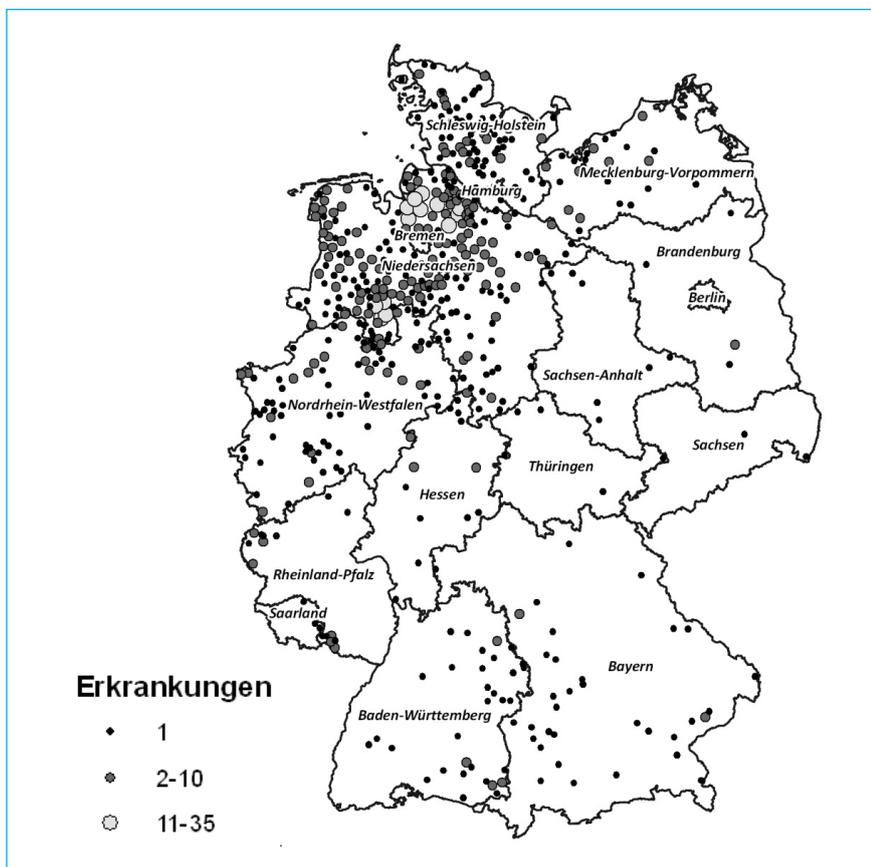


Abb. 2: Geographische Verteilung der 1.108 betroffenen landwirtschaftlichen Betriebe gruppiert nach Postleitzahlbereichen im Untersuchungszeitraum 1996 – 2010.

troffenen Beständen ausgewählt, die den o. g. Kriterien entsprachen. Betroffene Betriebe wurden nur jeweils einmal gewertet, auch wenn im Laufe der Jahre mehrmals Krankheitsausbrüche nachgewiesen worden waren. Die jahreszeitliche Verteilung der Einsendungen zeigt Abbildung 1. Es konnten die

Angaben von 1.108 Betrieben in 525 Postleitzahlbereichen ausgewertet werden (Tab. 2).

Es waren 185 Fälle (16,7 %) mit Beteiligung der Typengruppe ABE, 525 (47,4 %) mit CD und 398 (35,9 %), in denen sowohl ABE als auch CD gleichzeitig oder im Laufe der Jahre nachge-

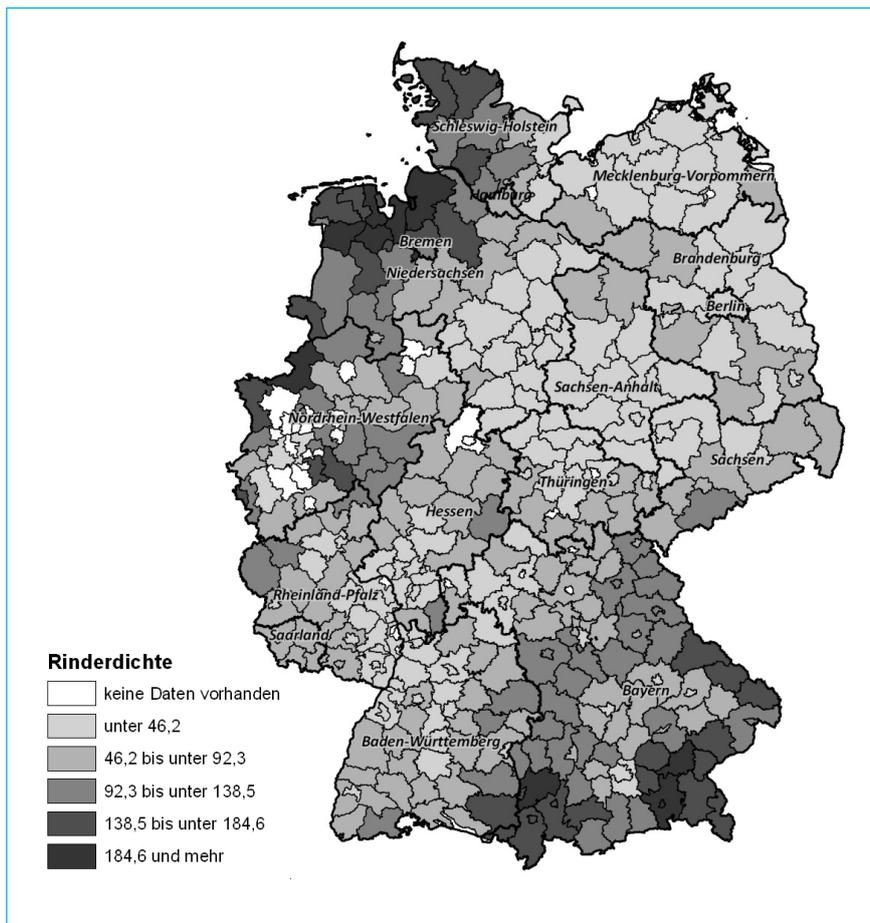


Abb. 3: Geographische Verteilung der Rinderbesatzdichte 2007 nach Landkreisen (destatis, 2011).

schiedlichen klinischen Formen der Erkrankung (eigene unveröffentlichte Daten). Allerdings ist es derzeit in Deutschland nur möglich mit Ausnahmegenehmigungen einen Impfstoff gegen die Typen C und D einzusetzen. In den Betrieben (16,7 %), in denen nur die Typen ABE vorkommen, ist deshalb eine Impfung nicht erfolgreich; dort, wo beide Toxingruppen auftreten, wird der Krankheitsdruck wesentlich reduziert (eigene unveröffentlichte Daten). Im Jahr 1996 gab es in Deutschland gerundet 186.000 Milchkuhbestände mit 5,2 Mio. Tieren. Im Jahr 2010 waren diese auf 91.000 mit 4,2 Mio. Tieren gesunken (Destatis, 2011). Angaben zur Prävalenz der Erkrankung bei Rindern oder gar zur Toxintypisierung gibt es für Deutschland bisher nicht. Die hier vorgelegten Daten lassen erkennen, dass es anscheinend eine unterschiedliche Verteilung der Krankheitsfälle in Deutschland gibt. Ein Vergleich mit der Viehdichte ergibt keinen direkten Zusammenhang mit der Zahl der betroffenen Betriebe. Eine Ursache für das gehäufte Auftreten besonders in Norddeutschland oder das geringere

Vorkommen in Süddeutschland kann nicht gegeben werden.

Wie bei anderen Clostridiosen kann sich in Betrieben eine bestandsspezifische Immunität aufbauen, die das Auftreten klinischer Fälle verhindert, wenn ein Gehöft als geschlossene Einheit betrachtet wird. Allerdings ist die moderne Landwirtschaft ohne Zukauf von neuen Tieren oder Futterkomponenten, z. T. aus dem Ausland, dem Zu-Pachten von Acker- und Weideland nicht denkbar, sodass Krankheitskeime (unterschiedliche Typen, Subtypen oder Stämme) in den Betrieb eingebracht werden können. *C. botulinum* bildet Sporen, die in der Umwelt viele Jahre überleben können (Mitscherlich und Marth, 1984). Kranke Tiere scheiden den Erreger mit dem Kot aus. Ebenso tragen gesunde Tiere in der Inkubationszeit und in der Rekonvaleszenz zu einer Anreicherung von *C. botulinum* in der Umwelt bei (Smith und Sugiyama, 1986). Da davon ausgegangen werden muss, dass der toxische Erreger *C. botulinum* im Umkreis der betroffenen Betriebe über viele Jahre im Boden eine Infektions- bzw. Kontaminations-

quelle für Tiere und Futter darstellt, sind eine Vielzahl von Betrieben auch in Zukunft gefährdet. Jede zusätzliche Ausbringung von *C. botulinum* (bereits vorkommende oder neu eingeschleppte Toxintypen) kann das Erkrankungsrisiko steigern. Für Typ A wurde nachgewiesen, dass die Zahl der Bakterien Einfluss auf die Toxinbildung hat (»Quorum sensing«) (Cooksley et al., 2010).

Auch bei Betrieben, die die Viehhaltung aufgegeben haben, muss somit davon ausgegangen werden, dass *C. botulinum* weiterhin im Boden vorkommt und auch an rein pflanzlichem Material anhaften kann. Die Rolle der organischen Dünger, beispielsweise von Biokompost oder der Gärückstände aus Biogasanlagen ist dabei unklar.

Weiterführende Untersuchungen zum Vorkommen von *C. botulinum* in Biogasanlagen (mit unterschiedlichen Betriebssystemen) in den verschiedenen Regionen Deutschlands liegen nicht vor. In Untersuchungen in Schweden wird auf das Überleben von Clostridien sporen im Biogasprozess und damit verbundene mögliche Gesundheitsprobleme hingewiesen (Bagge et al., 2005; Sahlström et al., 2008; Bagge et al., 2010), wohingegen Lebuhn und Wilderer (2006) keine Probleme mit *C. botulinum* sehen. Köhler (2011) wies in einer von zehn Biogasanlagen *C. botulinum* im Gärrest nach. In eigenen Untersuchungen wurden von 14 Digestat-Proben in 28,6 % (n=4) *C. botulinum* als Bakterien oder Toxin nachgewiesen (unveröffentlichte Daten). Rindergülle wird gern in der Biogasproduktion eingesetzt. Sie stabilisiert die Prozessbiologie und versorgt Mikroorganismen in bestimmtem Maße mit Mineralstoffen und Spurenelementen, besonders wenn sie im mesophilen Temperaturbereich eingesetzt wird (Hölker, 2009a, b). Es besteht ein dringender Forschungsbedarf, um auszuschließen, dass durch die Biogasproduktion, d. h. das Ausbringen des Gärsubstrates als Dünger auf Weide- und Ackerflächen, der Botulismus-Erreger weiträumig verteilt wird und zu einem Gesundheitsrisiko für Mensch und Tier werden kann.

Botulismus ist von der EU als Zoonose eingestuft (EU, 2003). Neben der generellen Gesundheitsgefährdung von Tieren und dem Menschen durch Verbreitung der Sporen durch Staub und Was-

ser direkt oder über Lebensmittel indirekt (CDC, 1998) wurde in den letzten Jahren ein direkter Zusammenhang zwischen Erkrankungen von Rindern und Menschen auf betroffenen Rinderbetrieben beschrieben (Dressler und Saberi, 2009).

Die klinische Erkrankung Botulismus bei Rindern kann nur in Ausnahmefällen durch Antitoxine beeinflusst werden, die allerdings auf dem deutschen Markt innerhalb weniger Stunden nach der Verdachtsdiagnosestellung praktisch nicht erhältlich sind. Eine anderweitige Behandlung gibt es nicht. Als Prophylaxe kann ein Impfstoff in Deutschland mit Ausnahmegenehmigung nach vorheriger Erkrankung und Nachweis von *C. botulinum* eingesetzt werden. Diese Impfung gegen die Toxintypen C und D wirkt auch bei Fällen von viszeralem oder chronischem Botulismus. Allerdings dürfen schwer erkrankte, festliegende Tiere nicht geimpft werden (eigene unveröffentlichte Beobachtungen). Gegen die Typen A, B und E gibt es keinen verfügbaren Impfstoff. Die Herstellung von bestandsspezifischem Impfstoff scheitert daran, dass unter praktischen Gesichtspunkten eine nach dem Tierseuchengesetz geforderte Isolierung der notwendigen Erreger nicht möglich ist.

So bleibt nur die Bemühung, die Zahl der Botulinusporen im Betrieb durch entsprechende Managementmaßnahmen (Haltung, Fütterung, Genetik der Tiere) zumindest nicht ansteigen zu lassen. Auf diese Problematik kann hier nicht weiter eingegangen werden; es wird auf entsprechende Lehrbücher und Veröffentlichungen verwiesen (Böhnel und Gessler, 2010a; Selbitz et al., 2011).

Die dargestellten Fälle lassen keinen Rückschluss auf die tatsächliche Zahl der betroffenen Betriebe zu. Von weiteren etwa 1.000 Betrieben wurden Proben mittels Antikörper-ELISA oder PCR positiv beurteilt und sind hier nicht mit eingerechnet. Ebenso wurden Erkrankungen bei Pferden, Schweinen oder Geflügel in diesem Beitrag nicht dargestellt. Die geographische Verbreitung der betroffenen Betriebe und die große Anzahl der an Botulinumtoxikosen (Botulismus) erkrankten Tiere weist darauf hin, dass es dringend erforderlich ist, weitere Untersuchungen zu diesem Krankheitskomplex anzustellen, wie es bereits von Popoff und

Argente (1996) für Frankreich vorgeschlagen und auch in England gefordert wird (ACMSF, 2006 a, b). Cobb et al. (2002) wollten das Problem durch eine 14-tägige Sperre der Milchlieferung lösen. Ein Expertengremium des Bundesinstituts für Risikobewertung hat weitergehende Untersuchungen angeordnet (BfR, 2010, 2011). Da Botulinumtoxine als Proteine relativ instabil sind, ist bei einer Fragestellung zu Problemen in der Umwelt besonders das Vorkommen von Sporen zu bearbeiten, da diese auskeimen und dann gegebenenfalls Toxine bilden können.

Literatur

1. ACMSF (Advisory committee on the microbiological safety of food) (2006 a): Ad hoc group on Infant botulism. Report on minimally processed infant weaning Foods and the Risk of Infant Botulism. Food Standards Agency, London. <http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/infantbotulismreport.pdf> (letzter Zugang 10.4.2011).
2. ACMSF (Advisory committee on the microbiological safety of food) (2006 b): Ad hoc group on botulism in cattle. Report on botulism in cattle. Food Standards Agency, London. <http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/botulismincattlereport12206.pdf> (letzter Zugang 10.4.2011).
3. AFSSA (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments) (2002): Rapport sur le botulisme d'origine aviaire et bovine. Maisons-Alfort. <http://www.avicampus.fr/PDF/botulismeAFSSA.pdf> (letzter Zugang 10.4.2011).
4. AOAC International (2001): AOAC official method 977.26 (Sec 17.07.01). Clostridium botulinum and its toxins in foods. Official method of analysis, 17th ed., AOAC International, Gaithersburg, Md.
5. Bagge, E., M. Persson, K.-E. Johansson (2010): Diversity of spore-forming bacteria in cattle manure, slaughterhouse waste and samples from biogas plants. *J appl Microbiol* 109, 1549-1565.
6. Bagge, E., L. Sahlström, A. Albin (2005): The effect of hygienic treatment on the microbial flora of biowaste at biogas plants. *Water Res* 39, 4879-4886.
7. BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung) (2010): Viszeraler Botulismus: Sachverständigengespräch im BfR. Bericht des BfR vom 1. September 2010. http://www.bfr.bund.de/cm/343/viszeraler_botulismus_sachverstaendigengesaech_im_bfr.pdf (letzter Zugang 11.4.2011).
8. BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung) (2011): Ausgewählte Fragen und Antworten zum chronischen Botulismus. FAQ des BfR vom 29.04.2011. <http://www.bfr.bund.de/de/start.html> (letzter Zugang 4.5.2011).
9. Böhnel, H., F. Gessler (2004): Von der Bakterien-spore zum Tod des Patienten. *Botulinomics – Die Entwicklungskaskade des Botulismus. Tierärzt Umschau* 59, 12-19.
10. Böhnel, H., F. Gessler (2010a): Clostridial neurotoxines – tetanus and botulism. In: Pathogenesis of bacterial infections in animals, 4th ed., C. L. Gyle, J. F. Prescott, J. G. Songer, C. O. Thoen (eds): Ames (Iowa), Wiley-Blackwell, 189-202.
11. Böhnel, H., F. Gessler (2010b): Nachweis von Botulismus beim Pferd: diagnostische Möglichkeiten. *Prakt. Tierarzt* 91, 876-884.
12. Böhnel, H., B. Schwagerick, F. Gessler (2001): Visceral botulism – A new form of bovine Clostridium botulinum toxication. *J vet Med A* 48, 373-383.
13. Böhnel, H., C. Wagner, F. Gessler (2008): Tonsils – place of botulinum toxin production. *Results of routine laboratory diagnosis in farm animals. Vet Microbiol* 130, 403-409. doi:10.1016/j.vetmic.2008.02.003.
14. Čapek, P., T. J. Dickerson (2010): Sensing the deadliest toxin: Technologies for botulinum neurotoxin detection. *Toxins* 2, 24-53.
15. CDC (Centers for Disease Control and Prevention) (1998): Botulism in the United States, 1899-1996. Handbook for epidemiologists, clinicians and laboratory workers. Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta.
16. Cobb, S. P., R. A. Hogg, D. J. Challoner, M. M. Brett, C. T. Livesey, R. T. Sharpe, T. O. Jones (2002): Suspected botulism in dairy cows and its implications for the safety of human food. *Vet Rec* 150, 5-8.
17. Cooksley, C. M., I. J. Davis, K. Winzer, W. C. Chan, M. W. Peck, N. P. Minton (2010): Regulation of neurotoxin production and sporulation by a putative agrBD signaling system in proteolytic Clostridium botulinum. *Appl env Microbiol* 76, 4448-4460.
18. Destatis (Statistische Ämter des Bundes und der Länder) (2011): Rinderbesatzdichte, Viehbestand. www.destatis.de (letzter Zugang 20.07.2011)
19. Dressler, D., F. A. Saberi (2009): Botulinum Toxin: vom Medikament zum Toxin ... *Fortschr Neurol Psychiat* 77 (Suppl 1), 549-554.
20. EU (2003): EU-Directive 2003/99/EC of the European Parliament and of the council of 17 November 2003 on the monitoring of zoonoses and zoonotic agents. *Off J Europ Union* L325/31, dated 12.12.2003.
21. Gessler, F., H. Böhnel (2004): Nachweis von Botulinum-Neurotoxinen – ein methodischer Über- und Ausblick. *Tierärztl. Umschau* 59, 5-9.
22. Graham, R., H. Schwarze (1921): Botulism in cattle. *J Bact* 6, 69-83.
23. Hellwig, E. G. (Hrsg.) (2010): Chronischer Botulismus. Tagungsbericht (30.9.-1.10.2010, Horstmar-Leer). *Nutztierversuch Rind, Sonderheft, AVA, Horstmar-Leer.*
24. Hölker, U. (2009a): Nicht zu heiß vergären. *Biogas J.* 12, 2, 24-27.
25. Hölker, U. (2009b): Rindergülle zeigt positive Einflüsse. *Biogas J.* 12, 4, 68-71.
26. Köhler, B. (2011): Vorkommen und Bedeutung pathogener Clostridien im Kreislauf der Natur unter besonderer Berücksichtigung von Cl. Botulinum in Biogasanlagen. In: Hygienische Unbedenklichkeit von Biogasanlagen. Tagungsband, 27.10.2011, Rottersdorf. (Hrsg.: C.A.R.M.E.N., Straubing). 39-52.
27. Leuhn, M., P. Wilderer (2006): Biogastechnologie zur umweltverträglichen Flüssigmistverwertung und Energiegewinnung in Wasserschutzgebieten: wasserwirtschaftliche und hygienische Begleituntersuchung. Projektteil: Mikrobiologische und virologische Untersuchungen. Abschlussbericht des StMUGV-Projekts. TU München.
28. Lindström, M., H. Korkeala (2006): Laboratory diagnostics of botulism. *Clin Microbiol Rev* 19, 298-314.
29. Meyer, K. F. (1928): Botulismus. In: *Handbuch der pathogenen Mikroorganismen*. 3. Aufl. Bd. IV, 2. W. Kolle, R. Kraus, P. Uhlenhuth (Hrsg.) Fischer und Urban & Schwarzenberg, Jena, 1269-1364.
30. Midura, T. F., S. Arnon (1976): Infant botulism. Identification of Clostridium botulinum and its toxins in faeces. *Lancet* ii: 934-936.
31. Mitscherlich, E., H. E. Marth (1984): Microbial survival in the environment. Springer, Berlin.
32. Popoff, M. R. (1989): Revue sur l'épidémiologie du botulisme bovin en France et analyse de sa relation avec les élevages de volailles. *Rev sci tech Off int Epiz* 8, 129-145.
33. Popoff, M. R., G. Argente (1996): Le botulisme animal – est-il une menace pour l'homme? *Bull Acad vét Franç* 69, 373-382.
34. Rooney, J. R., M. E. Prickett (1967): Shaker foal syndrome. *Mod vet Pract* 48, 44-45.
35. Sahlström, L., E. Bagge, E. Emmoth, A. Holmqvist, M.-L. Danielsson-Tham, A. Albin (2008):

A laboratory study of survival of selected microorganisms after heat treatment of biowaste used in biogas plants. Bioresource Technol 99, 7859–7865.

36. Schwagerick, B., H. Böhnel (2001): *Eine chronische Erkrankung bei Milchkühen mit Nachweis von Botulinumtoxin – eine Fallstudie. Prakt. Tierarzt* 82, 516–524.

37. Schwagerick, B., H. Böhnel, H. M. Clausen, F. Gessler, R. Merle, B. Neufeld, W. Schrödl, (Autoren in alphabetischer Reihenfolge), 2011: *Fall-Kontroll-Studie Botulinom in Milchviehbetrieben. Studienfragebogen. Schlussbericht Verbundprojekt Botulinom. FK 01KI0744 Teilprojekt C7, Untersuchungen zum Vorkommen von Clostridium botulinum bei Rindern.*

38. Selbitz, H.-J., U. Truyen, P. Valentin-Weigand (Hrsg.) (2011): *Tiermedizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre*, 9. Aufl., Enke, Stuttgart. 5–10.

39. Smith, L. D., H. Sugiyama (1988): *Botulism. The organism, its toxins, the disease.* 2nd ed., Charles C. Thomas, Springfield, Ill.

Korrespondenzadresse:

Prof. Dr. Dr. Helge Böhnel

PD Dr. Frank Gessler

Marie-Curie-Str. 7

37079 Göttingen

info@miprolab.com

Anmerkungen und Danksagung

Die Autoren sind Mitarbeiter von miprolab mikrobiologische Diagnostik GmbH, Göttingen und Mitglieder des Vereins zur Förderung des Instituts für angewandte Biotechnologie der Tropen an der Georg-August-Universität Göttingen e.V.

Der Dank der Autoren gilt allen Mitarbeitern und Doktoranden des vormaligen Instituts für Tropentierhygiene, Universität Göttingen, des Instituts für angewandte Biotechnologie der Tropen an der Georg-August-Universität Göttingen und der miprolab mikrobiologische Diagnostik GmbH, Göttingen. Das diesem Bericht zugrunde liegende Vorhaben wurde mit Mitteln des Bundesministeriums für Bildung und Forschung unter dem Förderkennzeichen 01KI0740 und 01KI0744 gefördert. Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt bei den Autoren. Die Karte der Krankheitsvorkommen wurde von geoSYS, Berlin, erstellt.