

Aus dem Department für Nutztiere und öffentliches Gesundheitswesen an der
Veterinärmedizinischen Universität Wien

Universitätsklinik für Schweine

(LeiterIn: Univ.-Prof. Dr. med.vet. Andrea Ladinig Dipl. ECPHM)

**Klinische Symptome beim Ferkel
nach okulärer Infektion mit
Chlamydia trachomatis und *Chlamydia suis***

Diplomarbeit

Veterinärmedizinische Universität Wien

zur Erlangung der Würde des akademischen Grades

Magistra Medicinae Veterinariae

der Veterinärmedizinischen Universität Wien

vorgelegt von

Sara-Ursula Setudeh

Wien, im Juli 2021

Betreuerin: Dr. med. vet. Christine Unterweger, Dipl. ECPHM

Universitätsklinik für Schweine

Department für Nutztiermedizin und öffentliches Veterinärwesen

Veterinärmedizinische Universität Wien

Gutachter: Priv.-Doz. Dr.med.vet. Dipl.ECVM Joachim Spergser

Institut für Mikrobiologie

Veterinärmedizinische Universität Wien

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich meinen Eltern und meiner Familie meinen großen Dank aussprechen, die stets liebevoll, stärkend und unterstützend an meiner Seite waren und mir dieses Studium ermöglichten.

Besonders danken möchte ich meiner Betreuerin Dr. med. vet. Christine Unterweger, Dipl. ECPHM für die Geduld, ausdauernde Betreuung und Hilfestellung meiner Diplomarbeit.

Des Weiteren möchte mich recht herzlich bei all denjenigen bedanken, die mich in der gesamten Zeit meines Studiums und bei dem Verfassen meiner Diplomarbeit unterstützt und motiviert haben.

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung und Fragestellung	1
2. Literaturübersicht	3
2.1. Chlamydien	3
2.2. Chlamydia trachomatis	6
2.2.1. Allgemeines	6
2.2.2. Trachom	7
2.3. Chlamydia suis	12
2.3.1. Allgemeines	12
3. Tiermodelle	15
3.1. Allgemeines	15
3.2. Genitale Infektionsstudien mit <i>C. trachomatis</i>	16
3.3. Okuläre Infektionsstudien mit <i>C. trachomatis</i>	16
4. Material und Methode	18
5. Ergebnisse	24
5.1. Innere Körpertemperatur (IKT)	24
5.2. Körpergewicht	24
5.3. Kotuntersuchung	26
5.4. Sonstige Befunde der allgemeinen Untersuchung	26
5.5. Augenuntersuchung	27
5.5.1. Chlamydia trachomatis	27
5.5.2. Chlamydia suis	32
5.5.3. Kontrollgruppe	35
6. Diskussion	36
7. Zusammenfassung	40
8. Summary	42

9. Abbildungsverzeichnis.....	43
10. Tabellenverzeichnis.....	45
11. Literaturverzeichnis.....	46

Abkürzungsverzeichnis

C	Chlamydia
CO	Hornhauttrübung
EK	Elementarkörperchen
FT	Follikuläre trachomatöse Entzündungen
ggr	geringgradig
hgr	hochgradig
IFU	Inclusion forming unit
IKT	Innere Körpertemperatur
KBR	Komplementbindungstest
LGV	Lymphogranuloma venereum
mgr	mittelgradig
n	Anzahl der Ferkel
n/SD	Anzahl der Ferkel pro Studientag
OIE	Weltorganisation für Tiergesundheit
PBS	Phosphate buffered saline (Phosphat gepufferte Salzlösung)
PRRSV	Porcines Reproduktives und Respiratorisches Syndrom Virus
RK	Retikularkörperchen
SD	Studientag
spp	Spezies
TI	Intensive trachomatöse Entzündung
TS	Trachomatöse Vernarbung
TT	Trachomatöse Trichiasis
WHO	Weltgesundheitsorganisation

1. Einleitung und Fragestellung

Chlamydia (C.) spp. sind gram-negative, obligat intrazelluläre Bakterien mit einem breiten Wirtsspektrum (Schautteet und Vanrompay 2011). Sie sind weltweit sowohl in der Human- als auch in der Veterinärmedizin epidemiologisch und klinisch relevant (Tan et al. 2020).

Infektionen mit *Chlamydia (C.) trachomatis*, der beim Menschen dominierenden Spezies, sind weltweit stark verbreitet (Abdelsamed et al. 2013). Anhand ihrer Oberflächenmerkmale wird *C. trachomatis* in 18 Serovare unterteilt (Schachter und Caldwell 1980, Wang und Grayston 1991). Während die Serovare D-K genitale Infektionen auslösen und zu den am häufigsten venerisch übertragbaren Pathogenen gehören (Rowley et al. 2019), führen die Serovare A-C zu Infektionen der Bindehaut. Diese okulären Infektionen können nach vorangegangenen Konjunktivitiden zu fibrotischen Veränderungen der Bindehaut und in weiterer Folge zur Entstehung eines Trachoms, auch Körnerkrankheit oder Ägyptische Augenentzündung genannt, führen. Die Erblindung durch das Trachom stellt die häufigste Ursache für eine infektionsbedingte Erblindung beim Menschen dar und tritt vor allem in tropischen und subtropischen Regionen endemisch auf (Taylor et al. 2014).

Obwohl Chlamydieninfektionen beim Menschen allgemein antibiotisch gut behandelt werden können, ist es derzeit noch nicht möglich, die Entstehung der Spätfolgen zu verhindern (Evans et al. 2019). Da Trachom-betroffene Bevölkerungsgruppen in Armut leben, findet *C. trachomatis* dort ideale Bedingungen für die Übertragung und die damit verbundenen wiederkehrenden Neu- und Reinfektionen trotz Antibiotikabehandlungen. Dazu gehören Überbevölkerung, Mangel an adäquaten Wasserressourcen, eingeschränkte Nutzung von Wasser für die Körperhygiene, unzureichende Abfallentsorgung und andere Bedingungen, die die Vermehrung der Erreger begünstigen (van Lansingh 2016, Vastine et al. 1974, Wright et al. 2007). Daher ist die Notwendigkeit der Findung eines geeigneten Tiermodells für die Entwicklung eines Impfstoffes gegeben.

Bezogen auf die genitalen Infektionen sind Tiermodelle für Infektions- und Immunisierungsstudien in Mäusen (Müller et al. 2017), Meerschweinchen (Jonge et al. 2011), Schweinen (Kahn et al. 1975) und auch Primaten (Bannantine und Rockey 1999) gut etabliert.

Tiermodelle für okuläre Entzündungen sind bei weitem seltener beschrieben. Mausmodelle sind für okuläre Infektionsmodelle nicht einsetzbar, da Mäuse weder durch Infektion mit

C. muridarum noch mit *C. trachomatis* fibrotische Veränderungen an der Bindehaut entwickelten (Rank und Whittum-Hudson 1994). Eine Infektion von Meerschweinchen mit *C. trachomatis* konnte weder auf okulärem noch auf genitalem Wege demonstriert werden (Rank und Whittum-Hudson 1994).

Schweine sind in vielerlei Hinsicht immunologisch und physiologisch dem Menschen sehr ähnlich (Lorenzen et al. 2015, Lossi et al. 2016, Meurens et al. 2012). Genitale Infektionsmodelle mit *C. suis* als auch mit *C. trachomatis* in Schweinen sind in der Literatur grundsätzlich gut beschrieben (Amaral et al. 2020, Käser et al. 2017). Um die Immunantwort auf okuläre Chlamydieninfektionen zu untersuchen und mögliche Mechanismen in der Entstehung fibrotischer Pathologien zu evaluieren, ist die Etablierung eines okulären Infektionsmodells im Schwein sehr vielversprechend. Für das Schwein als Modell spricht auch die Tatsache, dass die weltweit am weitesten in Schweineherden verbreitete Chlamydienart, *C. suis*, der Humanspezies *C. trachomatis* nicht nur genetisch ähnlich ist, sondern die durch sie ausgelösten Symptome beim Schwein sich mit jenen des Menschen decken: Fruchtbarkeitsstörungen bis hin zur Unfruchtbarkeit nach Genitalinfektionen sowie Konjunktivitis (Lorenzen et al. 2015, Vanrompay et al. 2005).

An der Universitätsklinik für Schweine der Veterinärmedizinischen Universität Wien wurde in Zusammenarbeit mit dem Laura Bassi Institut Wien das Schwein als Tiermodell für okuläre *C. trachomatis* Infektionen in einem Tierversuch getestet. Als Positivkontrolle diente eine mit *C. suis* infizierte Ferkelgruppe, als Negativkontrolle nicht infizierte Ferkel. Nach erfolgter Infektion dauerte der Versuch drei Wochen an. Ziel des Tierversuches war die tägliche Erhebung und Auswertung definierter klinischer Parameter, sowie die Erhebung der Unterschiede dieser Parameter zwischen der Versuchsgruppe und den Kontrollgruppen. Die gegenständliche Diplomarbeit entstand im Rahmen dieses Tierversuches.

Die Hypothese dieser Arbeit lautete, dass eine einmalige okuläre Infektion mit dem *C. trachomatis* Serovar A/SA1/OT beim Chlamydien-seronegativen Ferkel Veränderungen an den Konjunktiven, Skleren, Cornea und der Umgebung induziert sowie Augenausfluss und konjunktivale Follikel (Granulome) verursacht. Daraus soll sich ein Tiermodell entwickeln, welches in Zukunft für die Trachomforschung eingesetzt werden kann.

2. Literaturübersicht

2.1. Chlamydien

Bakterien des Phylums *Chlamydiae* sind gram-negative, obligat intrazelluläre Bakterien, die in der Lage sind, eine Vielzahl von eukaryotischen Wirtsarten zu infizieren (Bachmann et al. 2014).

Allen Chlamydien gemeinsam ist eine charakteristische, obligat intrazelluläre Lebensweise und ein einzigartiger biphasischer Entwicklungszyklus mit unterschiedlichen extrazellulären und intrazellulären Formen. Die extrazelluläre, infektiöse und metabolisch inaktive Form, das Elementarkörperchen (EK), dringt in eine Wirtszelle ein. Als solche kommen entweder Schleimhautepithelzellen der Bindehaut, des Respirations-, Urogenital- oder Gastrointestinaltraktes, aber auch Monozyten und Makrophagen in Frage (Cossé et al. 2018). Das Elementarkörperchen differenziert sich in die intrazelluläre metabolisch aktive Form, nämlich in das Retikularkörperchen (RK), mit einem Durchmesser von 0,2 bis 0,4µm. Das Retikularkörperchen vermehrt sich innerhalb eines membrangebundenen Kompartiments, einem sogenannten Einschluss. Nach mehreren Teilungsrunden differenzieren sich die RKs wieder in EKs, welche dann durch Zellyse und/oder Extrusion freigesetzt werden, um benachbarte Zellen zu infizieren (Bastidas et al. 2013). Dieser Zyklus dauert je nach Chlamydienspezies 48-72 Stunden (Abb.1).

Unter Stressbedingungen, wie sie beispielsweise durch die Einnahme bestimmter Antibiotika (insbesondere Beta-Laktam-Antibiotika) entstehen, können sich Chlamydien vom produktiven Entwicklungszyklus in ein Persistenzstadium umwandeln. Diese sogenannten „aberrant bodies“ sind weiterhin lebensfähig, aber nicht infektiös (Wyrick 2010). Dieses Stadium ist reversibel, sobald der Stressreiz entfernt wird. Daher sind *in vivo* Reinfektionen und ein Wiederauftreten der klinischen Symptome möglich, insbesondere nach einer Behandlung mit genannten Antibiotika (Schoborg 2011). EKs sind an ein längerfristiges extrazelluläres Überleben angepasst und können viele Monate außerhalb des natürlichen Wirts existieren (Longbottom und Coulter 2003).

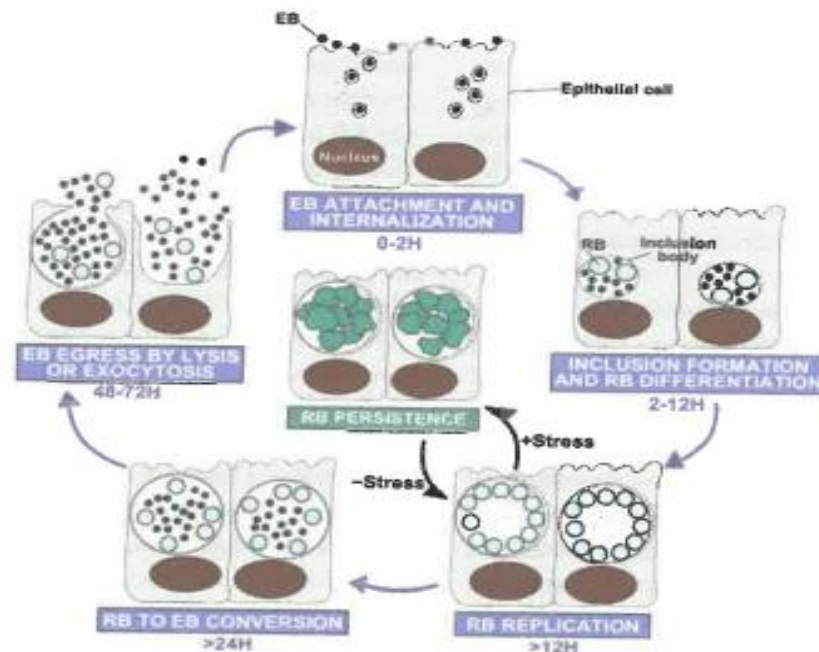


Abb.1: Entwicklungszyklus der Chlamydien; Umwandlung der Elementarkörperchen in Retikularkörperchen und Darstellung des Resistenzstadiums (Tan et al. 2020)

Derzeit sind elf Chlamydienpezies beschrieben (Tab.1). Die meisten von ihnen sind in der Lage, mehrere Wirtsarten an verschiedenen anatomischen Stellen zu infizieren. Zusätzlich wurden einige neue Spezieskandidaten beschrieben, die in den kommenden Jahren als neue Spezies deklariert werden könnten (Sachse und Borel, 2020).

Die Bandbreite der empfänglichen Wirte reicht von einzelligen Protisten bis zu hoch spezialisierten Säugetieren (Rahnama und Fields 2018). Einige Spezies sind auf den Menschen übertragbar und sind somit als Zoonoseerreger von erheblicher Bedeutung für die öffentliche Gesundheit (Tab.1). Als bekannteste Beispiele gelten *C. abortus*, das insbesondere bei schwangeren Frauen nach Kontakt mit abblammenden Schafen oder Ziegen Aborte auslösen kann, sowie *C. psittaci*, das auch bei Menschen schwere Symptome auslösen kann (Sachse et al 2015). Das zoonotische Potential bei *C. suis* wird noch diskutiert, nachdem es bei einem Trachompatienten sowie bei Schlachthofarbeitern und Landwirten detektiert wurde (Dean et al 2013, De Puysseleyn et al. 2014, 2017).

Tab. 1: Übersicht über die aktuell bekannten Chlamydienpezies, dem dazugehörigen Hauptwirt sowie Angaben zum Zoonosepotential. *C. trachomatis* und *C. suis* als Hauptinteresse dieser Studie sind hervorgehoben

Ordnung	Familie	Genus	Spezies	Hauptwirt	Zoonose- potenzial
Chlamydiales	Chlamydiaceae	Chlamydia	<i>C. abortus</i>	Wiederkäuer, Schwein	ja
			<i>C. psittaci</i>	Vogel	ja
			<i>C. felis</i>	Katze	ja
			<i>C. caviae</i>	Meerschweinchen	ja
			<i>C. pecorum</i>	Wiederkäuer, Schwein, Koala	nein
			<i>C. pneumoniae</i>	Koala, Pferd, Reptilien, Amphibien	nein
			<i>C. trachomatis</i>	Mensch	-
			<i>C. suis</i>	Schwein	unklar
			<i>C. muridarum</i>	Maus, Hamster	nein
			<i>C. avium</i>	Vogel	unklar
			<i>C. gallinaceae</i>	Vogel	unklar

In weiterer Folge wird nur auf jene zwei Chlamydienpezies (*C. trachomatis* und *C. suis*) näher eingegangen, die im Infektionsversuch eingesetzt worden sind.

2.2. Chlamydia trachomatis

2.2.1. Allgemeines

C. trachomatis ist ein wichtiges Humanpathogen und ist an einer Reihe klinischer Erkrankungen ursächlich beteiligt (Cevenini et al. 2002, Clarke 2011). *C. trachomatis* Stämme werden in drei Biovare eingeteilt und können wiederum in Serovare subtypisiert werden. Das Biovar, welches für die Entstehung eines Trachoms verantwortlich ist, besteht aus den Serovaren A-C und setzt sich aus Linien mit ausgeprägtem Organotropismus für das Auge zusammen. Daneben gibt es das Genitaltrakt-Biovar, das aus den Serovaren D-K besteht und einen ausgeprägten Tropismus zum Urogenitaltrakt zeigt. Das *Lymphogranuloma venereum* (LGV) Biovar (Decker 2016) mit den Serovaren L1-L3 führt zu einer chronisch verlaufenden Lymphknotenentzündung, die mit Schwellungen der Lymphknoten in der Genital- und/oder Leistengegend verbunden ist (Elwell et al. 2016).

Augen-, Genital sowie LGV Serovare können grundsätzlich verschiedene Zelltypen und Gewebe infizieren: Schleimhautepithelzellen des Auges, des Oropharynx, des Genitaltraktes und des Anorektalgewebes. Die Genome der *C. trachomatis* Stämme des Auges und des Genitaltraktes haben eine genetische Übereinstimmung von über 99% (Harris et al. 2012) und haben asymptomatisch verlaufende Infektionen, das Auftreten von Entzündungsprozessen mit subepithelialen Lymphfollikeln sowie die finale Gewebszerstörung durch eine sich langsam über Monate bis Jahre entwickelnde Fibrose im Entzündungsbereich gemeinsam. Andere pathologischen Veränderungen, der Gewebetropismus sowie die auftretenden klinischen Symptome sind allerdings serovar- und gewebespezifisch.

Infektionen mit den Serovaren D-K gehören zu den am weitesten verbreiteten sexuell übertragbaren bakteriellen Krankheiten beim Menschen (Newman et al. 2015, Rowley et al. 2012). Im speziellen werden die Serovare D, E und F am häufigsten nachgewiesen und sind für 75% der Urogenitalinfektionen verantwortlich (Morré et al. 2000).

Generell infizieren die Serovare A-C die konjunktivalen Epithelzellen, was im Falle einer Nicht-Behandlung in weiterer Folge zu einem Entropium, einer Trichiasis, einer Trübung der Hornhaut und schlussendlich zur Erblindung führen kann (siehe 2.2.2 Trachom). Alle anderen *C. trachomatis* Serovare können die konjunktivale Mukosa infizieren, führen jedoch nicht bis zum Entstehen des klassischen Trachoms und zu der damit einhergehenden Blindheit. Augeninfektionen mit urogenitalen Isolaten sind in der Regel selbstlimitierend (Hu et al. 2013).

Das in der Studie eingesetzte Augenisolat Serovar A kann nach einer erfolgten Infektion des Auges zur Erblindung führen, ist jedoch nicht in der Lage, im Genitaltrakt eine Infektion auszulösen (Hu et al. 2013).

In weiterer Folge wird nur auf jene Serovare (A-C) eingegangen, die das klassische Trachom auslösen können.

2.2.2. Trachom

Das Trachom ist eine chronische folliculäre Bindehautentzündung (Darougar 1981) und die weltweit am häufigsten vorkommende menschliche Augenerkrankung (Araújo Silva et al. 2017, Darougar 1981). Sie stellt nach dem Katarakt die zweithäufigste Ursache von Erblindung dar (Araújo Silva et al. 2017). Es wurde bereits 1900 v. Chr. im Papyrus Ebers zum ersten Mal beschrieben. Man versteht darunter eine chronische Keratokonjunktivitis, die durch eine wiederkehrende Infektion mit den *C. trachomatis* -Serovaren A-C verursacht wird. Durch die Entzündungsprozesse entstehen an den Konjunktiven der oberen Augenlider Narben, die in weiterer Folge zu einem Entropium sowie zu Trichiasis führen können (Mariotti 2004, Khandekar und Mohammed 2007, Burton et al. 2015).

Das Wort „Trachom“ stammt vom griechischen Wort „Tráchomas“ und bedeutet soviel wie „rau, klumpig oder geschwollen“, was die Veränderungen der tarsalen Konjunktiva gut beschreibt.

Das Trachom ist hochinfektiös und die Übertragung erfolgt in der Regel mit den Händen als Schmierinfektion. Infektiös ist hauptsächlich das Augen- und Nasensekret der Erkrankten. Ferner kann die Erkrankung über Fliegen übertragen werden (Emerson et al. 2000, Last et al. 2020, Taylor et al. 2014). Von der Infektion bis hin zu den ersten Symptomen vergehen in der Regel ein bis drei Wochen.

Die klinische Manifestation gliedert sich in folgende zwei Phasen (Hu et al. 2010, Hu et al. 2013):

1. Aktives, infektiöses beidseitiges Trachom
2. Phase der Bindehautvernarbungen

An der aktiven Form erkranken insbesondere Kinder im Vorschulalter (Dolin et al. 1998; (Bailey et al. 1999). Sie ist gekennzeichnet durch milde, meist selbstlimitierende Verläufe folliculärer Konjunktivitis, die jedoch rezidivieren können. Bailey et al. schätzten die Dauer klinischer Verläufe bei nicht therapierten Kindern unter 5 Jahren auf 15 Wochen, jene bei älteren Kindern oder Erwachsenen auf 8 Wochen (Bailey et al. 1999). In den allermeisten Fällen läuft diese Phase jedoch asymptomatisch ab. Nach zahlreichen Reinfektionen treten typische Symptome einer chronischen Konjunktivitis auf. Dazu zählen Hyperämie, Photophobie, mukopurulenter Augenausfluss sowie Fremdkörpergefühl im Auge. Pathognomon sind die „Herbert´schen Gruben“, welche sich als flache Vertiefungen am oberen Cornearand durch die Auflösung der Follikel - subepitheliale Ansammlungen von lymphatischen Zellen – darstellen (Hu et al. 2013).

Die erste Phase geht nach wiederkehrenden Trachomen eines längeren Zeitraums in die zweite Phase über. Chronische Ausprägungen mit Narbenkomplikationen und Erblindungen findet man demnach bei älteren Kindern und Erwachsenen, insbesondere bei Fällen mit stark ausgeprägtem Entzündungsgeschehen sowie persistenten und wiederkehrenden Infektionen (Wolle et al. 2009).

An der Bindehaut des Oberlides bilden sich gelbweißliche, wenig erhabene Lymphfollikel, die nicht mit Blutgefäßen versorgt sind. Durch diese ergibt sich eine Rauheit der Oberfläche der Bindehaut. Das Oberlid schwillt durch den Entzündungsprozess an und hängt in Folge über das Auge herab (Ptosis trachomatosa). Zusätzlich können Blutgefäße, von der Bindehaut ausgehend, in den oberen Rand der normalerweise gefäßfreien Hornhaut einsprossen (Pannus trachomatosus) (Augenarzt, 2012). Die Lymphfollikel an der Bindehaut des Oberlides verschmelzen und platzen auf. Auf der Innenseite des Oberlides entsteht an diesen Stellen Narbengewebe, das in verschiedenen Schweregraden beobachtet werden kann. Durch den deformierten Lidrand rollt sich dieser nach innen ein, es entsteht ein Entropium und die Wimpern zerkratzen in weiterer Folge die Hornhaut. Da Frauen insbesondere in den Ländern hoher Prävalenz tendentiell mehr Zeit mit ihren infizierten Kindern verbringen als die Väter, tritt diese Trichiasis vermehrt bei ihnen auf (Congdon et al. 1993, West et al. 2001). Als letzte Konsequenz entwickelt sich durch den Reiz der Wimpern, den sekundären Einfluss von bakteriellen und fungalen Infektionen sowie einer ausgetrockneten Augenoberfläche eine Hornhauttrübung. Diese kann ohne zielgerichtete therapeutische Behandlung zur Erblindung führen (Taylor et al. 2014). Die Erblindung ist irreversibel.

Als Bewertungssystem zieht die Weltgesundheitsorganisation (WHO) im Rahmen des Trachoma-Kontrollprogrammes derzeit die 1987 von Thylefors et al. verfasste Bewertungsskala heran (Tab.2).

Tab. 2: WHO Trachoma -Bewertungsskala nach (Thylefors et al. 1987)

Grad	Abkürzung	Beschreibung
Follikuläre trachomatöse Entzündung	FT	Auftreten von mind. 5 Follikeln (jedes > 0,5mm im Durchmesser) in der oberen, tarsalen Konjunktiva
Intensive trachomatöse Entzündung	TI	Ausgeprägte entzündliche Verdickung der tarsalen Konjunktiva, die mehr als die Hälfte der tiefen normalen Gefäße verdeckt
Trachomatöse Vernarbung	TS	Narbenbildung in der tarsalen Konjunktiva, gut sichtbar als weiße Linien, Bänder oder Bahnen
Trachomatöse Trichiasis	TT	Mind. eine Wimper kratzt am Augapfel
Hornhauttrübung	CO	Leicht erkennbare Hornhauttrübung über der Pupille



Abb. 2: Klinische Merkmale des Trachoms und das vereinfachte WHO-Grading (Taylor et al. 2014) (A) TF, (B) TI, (C) TS, (D) TT, (E) CO

Einen weiteren Infektionsweg stellt der Genitaltrakt von mit Serotypen D bis K infizierten Müttern während der Geburt dar. Bei den Neugeborenen entsteht bei einer Infektion der Augen eine Ophthalmia neonatorum (Tan 2019). Auch bei Erwachsenen kann eine Infektion gewisser Genitalseerotypen zu einer Einschlusskonjunktivitis führen (Taylor et al. 2014).

Die Diagnose wird in erster Linie anhand einer klinischen Untersuchung gestellt. Ein direkter Erregernachweis dient der Bestätigung. Dafür werden Konjunktivalabstriche entnommen und mittels PCR der DNA-Nachweis durchgeführt. Auch eine Anzucht in der Zellkultur ist möglich (Budai 2007, Meyer 2007, Yang et al. 2007). Der Nachweis von spezifischen Antikörpern der Klassen IgA-, IgM- und IgG-Klasse erfolgt idealerweise mit gepaarten Serumproben. Nach *C. trachomatis*-Infektionen können IgA- und IgG-Antikörper monate- oder sogar jahrelang nachweisbar bleiben (Taylor et al. 2014). Daher dürfen positive serologische Befunde bei fehlender Symptomatik nicht zwangsläufig als persistierende Infektion missinterpretiert werden. Therapeutisch ist Azithromycin aus der Gruppe der Makrolide das Mittel der Wahl, da nur eine einzige okuläre Verabreichung ausreicht (Essig und Marre 1997). Prinzipiell eignen sich jedoch alle lokalen und systemischen intrazellulär wirkenden Antibiotika wie Makrolide oder Tetracykline. Ist durch eine fortgeschrittene Erkrankung bereits eine Lidfehlstellung aufgetreten, so muss die Lage des Oberlides mittels Operation angepasst werden. Ist die Cornea bereits stark vernarbt und das Sehvermögen deutlich eingeschränkt, kann eine keratoplastische Operation mit Ersatz der Cornea durchgeführt werden (Solomon und Mabey 2007).

Zwar spielt das Trachom in Europa eine untergeordnete Rolle, doch ist es in 44 Ländern (WHO, 2020), insbesondere in den ärmsten und abgelegensten Gebieten Afrikas, aber auch in Asien, Australien sowie dem Nahen Osten, ein Problem der öffentlichen Gesundheit: im März 2020 lebten 137 Millionen Menschen in Trachoma-endemischen Gebieten und waren somit dem Risiko einer Erblindung ausgesetzt (WHO, 2020). Vor allem Kinder unter fünf Jahren sind in diesen Gebieten von einem aktiven Trachom betroffen.

Bereits 1993 initiierte die World Health Organisation (WHO) die „WHO Allianz für die globale Elimination von Trachom bis zum Jahr 2020“ (WHO, 2020). Es wurde eine Strategie zur Trachom-Kontrolle erarbeitet, die auf vier Säulen basiert: dem operativen Eingriff, dem Einsatz von Antibiotika, Hygieneschulungen im Gesichtsbereich und der Optimierung der Umweltfaktoren. Diese werden unter dem Begriff SAFE geführt (**S**urgery for trichiasis, **A**ntibiotics for *C. trachomatis* infection, **E**ducation on improving **F**acial cleanliness und **E**nvironmental improvements). Ejere et al. (2012) konnten zeigen, dass das Risiko, an einem Trachom zu erkranken, bei Kindern, die ihr Gesicht nicht säubern konnten und viel Kontakt zu Fliegen hatten, mehr als doppelt so groß war als bei Kindern ohne diesen Einflussfaktoren. Auch das Einhalten von Hygienemaßnahmen in sanitären Einrichtungen (Evans et al. 2019) und bei der Wasserversorgung ist von größter Bedeutung (Rabiu et al. 2012, Stocks et al. 2014). Die Erfahrung zeigte jedoch, dass oft nur die Komponenten S und/oder A angenommen wurden (Greenland et al. 2019). Als Grund dafür wird die Tatsache angegeben, dass S und/oder A klar definiert und somit ohne Probleme einsatzfähig sind, während dies auf „E“ und „F“ nicht zutrifft (Evans et al. 2019, Greenland et al. 2019, Rabiu et al. 2012). Als Konsequenz waren die Erfolgsquoten der SAFE-Strategie gering und Infektionen treten oft wieder auf. Postoperative Raten von Trichiasis-Rezidive sind hoch, selbst bei Behandlung gegen *C. trachomatis* zum Zeitpunkt der Operation mit Antibiotika (Solomon und Mabey 2007).

Sollte in Österreich ein Fall von Trachoma auftreten, muss dieser der dafür zuständigen Bezirksverwaltungsbehörde gemeldet werden (RIS,2016).

Präventive Monitoringprogramme zur Reduktion von Neuinfektionen scheiterten bisher an der Tatsache, dass ein hoher Anteil an infizierten Menschen keine Symptome zeigt und dieser somit nicht erkannt wird (Brunham und Rekart 2008). Die Entwicklung einer Vakzine gegen *C. trachomatis* wäre ein großer Fortschritt für die allgemeine öffentliche Gesundheit. Bereits in den 1960er Jahren wurden Infektions- sowie Vakzinestudien am Menschen durchgeführt (Jawetz 1965, Mabey et al. 2014). Es konnte gezeigt werden, dass eine Reinfektion mit

demselben *C. trachomatis* Stamm verglichen mit den klinischen Symptomen der Erstinfektion zu einer Abschwächung dieser führte und zudem die bakterielle Ausscheidung verringert wurde (Jawetz 1965). Zum Durchbruch dieser Vakzine kam es nicht und es folgten eine Reihe weiterer Studien an Tiermodellen. Aus derzeitiger Sicht sieht es nicht so aus, als ob in den nächsten Jahren ein Impfstoff für die okuläre Variante des Trachoms auf den Markt kommen würde.

2.3. Chlamydia suis

2.3.1. Allgemeines

Zu den Chlamydienarten, von denen bekannt ist, dass sie Schweine infizieren, gehören *C. suis*, *C. pecorum*, *C. abortus* und *C. psittaci*. *C. suis* ist die häufigste Chlamydienart bei Schweinen (Hoffmann et al. 2015, Schautteet und Vanrompay 2011). Infektionen mit *C. suis* wurden mit einer Vielzahl von Krankheiten und pathologischen Veränderungen in Verbindung gebracht (Schautteet und Vanrompay 2011), darunter Konjunktivitis (Rogers und Andersen 1999), Pneumonie (Reinhold et al. 2008), Enteritis (Guscetti et al. 2009, Rogers und Andersen 2000) und Polyarthritits (Turner 1982). Darüber hinaus können Infektionen verschiedene Reproduktionsstörungen verursachen. Dazu zählen Aborte (Thoma et al. 1997, Unterweger et al. 2018), perinatale Sterblichkeit (Woollen et al. 1990), vaginaler Ausfluss, Umrauschen (Camenisch et al. 2004, Kauffold et al. 2006), schlechte Reproduktionsleistung bei Sauen (Eggemann et al. 2000) sowie mindere Samenqualität bei Ebern (Kauffold et al. 2006). Chlamydiosen beim Schwein verlaufen zudem oft klinisch inapparent und sind an polyfaktoriellen Erkrankungen beteiligt (Li et al. 2017).

Vor 1999 wurden die Stämme von *C. suis* aufgrund der Homologie der ompA-DNA-Sequenz der Spezies *C. trachomatis* zugeordnet. Gegenwärtig ist der einzige bekannte natürliche Wirt von *C. suis* das Schwein (*sus scrofa*) (Schautteet und Vanrompay 2011). Im Gegensatz zu *C. trachomatis* besitzt *C. suis* jedoch eine geringe Wirts- und Organspezifität. Die Epidemiologie sowie die klinische und zoonotische Bedeutung dieser Arten sind noch weitgehend unbekannt. *C. suis* scheint jedoch sowohl häufig vorzukommen als auch weit verbreitet zu sein und tritt besonders oft bei Mischinfektionen mit *C. abortus* und *C. pecorum* auf (Englund et al. 2012).

Generell bleiben *C. suis* -Infektionen bei Schweinen im Feld - insbesondere Fruchtbarkeitsprobleme - oft unterdiagnostiziert und werden zu wenig gemeldet. Gründe dafür liegen hauptsächlich bei unbefriedigenden diagnostischen Routineinstrumenten, die unklare Ergebnisse liefern, aber auch bei mangelnden Kenntnissen über die Pathogenese und immunologische Reaktionen der Erreger (Unterweger et al. 2020). Infolgedessen sind angemessene Strategien zur Behandlung und Eliminierung von Chlamydien in Schweinebetrieben sehr schwierig oder sogar unmöglich. Chlamydien-Infektionen werden routinemäßig durch den Nachweis von Antikörpern diagnostiziert. Im Allgemeinen kann dies durch zwei Methoden erfolgen, ELISA und den Komplementbindungstest (KBR-Test). Sensitive und spezifische Tests auf ELISA-Basis sind jedoch für die Routinediagnostik nicht kommerziell verfügbar. Der einzige in den meisten europäischen Ländern angewandte Routinetest ist die KBR, eine von der Weltorganisation für Tiergesundheit (OIE) empfohlene Diagnosetechnik, welche zumindest für die *C. abortus*-Diagnostik Aussagen zulässt. Die suboptimale Sensitivität und vor allem die Kreuzreaktivität schließen jedoch seinen Einsatz für die artspezifische Diagnose aus (Sachse et al. 2009).

Unabhängig vom Testsystem ist die Interpretation der Ergebnisse kompliziert, da Serum-Antikörper auch bei Infektionen von Reproduktionstrakt, Digestionstrakt und Respirationstrakt stammen können. Aufgrund der geringen Sensitivität der KBR beweist ein negativer Chlamydien-Antikörper-Befund keine Chlamydienfreiheit (Unterweger et al. 2018).

Häufiger als der Antikörpernachweis erfolgt der Nachweis von Chlamydien-Nukleinsäuren mittels PCR oder Kulturversuch in der Zellkultur aus Konjunktivalupfern. Die Prüfung auf antimikrobielle Resistenzen insbesondere gegen Tetracykline wäre angemessen (Borel et al. 2012, Wanninger et al. 2016), wird aber derzeit in den meisten europäischen Ländern aufgrund des hohen Kosten- und Arbeitsaufwandes nicht routinemäßig durchgeführt. Die Interpretation eines positiven Nachweises in den Konjunktiven ohne klinische Symptomatik ist schwierig.

Therapeutisch wird beim Auftreten von Chlamydien bedingten Konjunktividen ohne weitere klinische Beschwerden, insbesondere bei Abwesenheit von Fruchtbarkeitsproblemen, vom Tierarzt nichts unternommen (persönliche Kommunikation). Konjunktividen treten meist in Mastbeständen auf und eine antibiotische Therapie in dieser Altersgruppe ist aufgrund einzuhaltender Wartezeiten wirtschaftlich nicht zielführend. Auch eine Einzeltierbehandlung ist in der Mast im Fall von Konjunktividen unüblich. Präparate zur lokalen Anwendung am Auge sind beim Schwein derzeit nicht zugelassen und somit muss eine etwaige Therapie entweder oral oder systemisch erfolgen. Die dafür zugelassenen Präparate sind über mindestens zehn Tage zu verabreichen. In Frage kommt der Einsatz von Tetracyklinen oder Makroliden, wobei

der Einsatz von Tetrazyklinen ökonomischer ist. Des Weiteren stehen Makrolid-haltige Antibiotika im Gegensatz zu Tetrazyklinen auf der Liste der kritischen Antibiotika (WHO 2019). Da insbesondere *C. suis* TetA(C) Resistenzgene tragen kann (Borel et al. 2012, Di Francesco et al. 2008), ist jedoch der Einsatz von Tetrazyklinen ebenfalls kritisch zu sehen, insbesondere, weil sich dieses Resistenzgen zumindest in vitro von *C. suis* auf *C. trachomatis* übertragen lässt (Marti et al. 2017) und *C. suis* auch zu den potentiellen Zoonoseerregern zählt. Insofern wäre auch im Schweinebereich eine Impfung von großem Wert für die öffentliche Gesundheit sowie auch für die Schweinebestände selbst. Bisher gab es dazu jedoch keinen wissenschaftlichen Vorstoß.

3. Tiermodelle

3.1. Allgemeines

Bei der Entwicklung von Impfstoffen eignen sich Tiermodelle optimal, um im Vorfeld Wirt-Pathogen-Interaktionen sowie die Reaktionen des Wirtes auf eine Immunisierung zu testen (Käser et al. 2015). Nicht nur die Auswahl eines validierten und prädiktiven Tiermodells ist essentiell, um die klinische Fragestellung zu beantworten (Denayer et al. 2017), sondern auch die Auswahl des geeigneten Tieres. In der gewählten Tierart müssen sich die Biologie und die Symptome der menschlichen Krankheit gut widerspiegeln (Lorenzen et al. 2015). Aufgrund ihrer genetischen Verwandtschaft können nicht-menschliche Primaten in Infektionsmodellen hilfreiche biologische Daten liefern. Allerdings ist der Einsatz dieser Tiere aus ethischen und moralischen Gründen umstritten und wird stark reguliert. Mäuse hingegen sind einfach zu handhaben und stellen das am häufigsten verwendete Tiermodell in der biomedizinischen Forschung dar (Robinson et al. 2019). Zahlreiche Impfstoffe wurden bisher an Mäusen entwickelt und getestet. Durch die großen physiologischen und immunologischen Unterschiede zwischen Maus und Mensch müssen diese Studien oft an weiteren biologisch relevanteren Tiermodellen wiederholt werden, bevor mit der klinischen Phase begonnen werden darf (McShane und Williams 2014).

Bei der Suche nach erschwinglicheren und biologisch relevanten Tiermodellen fand man im Schwein insbesondere in der Impfstoffindustrie einen geeigneten Alternativkandidaten. Das Schwein ist zunehmend auch deshalb ein beliebtes Modell für menschliche Krankheiten geworden, da es dem Menschen sehr ähnlich ist (Lorenzen et al. 2015). Es gibt viele Ähnlichkeiten hinsichtlich seiner Anatomie, Genetik, Immunologie (Meurens et al., 2012) und Physiologie (Lossi et al. 2016, Meurens et al. 2012). Sie haben einen dem Menschen ähnlichen Reproduktionszyklus, wodurch sie sich auch für genitale Infektionen als Modell gut eignen. Zudem sind Schweine weit verbreitet und können im Vergleich zu nicht-menschlichen Primaten problemlos gehalten werden (Rogers 2016). Das Schweinmodell wurde bereits für Studien zahlreicher humanmedizinisch relevanter Infektionskrankheiten (Meurens et al. 2012) sowie im Zuge von Impfstoffentwicklungen (Gerds et al. 2015) verwendet.

3.2. Genitale Infektionsstudien mit *C. trachomatis*

Die Mehrzahl der bislang durchgeführten Tierstudien mit *C. trachomatis* wurde an Mäusen, Meerschweinchen und nicht-menschlichen Primaten durchgeführt (Clercq et al. 2013, Müller et al. 2017, Tuffrey et al. 1982). Diese beinhalten sowohl Studien im Genitaltrakt als auch Trachomstudien, wobei genitale Studien den Trachomstudien numerisch überlegen sind. Mäuse können genital sowohl mit *C. muridarum* als auch mit *C. trachomatis* infiziert werden, jedoch verlaufen die Infektionen mit *C. trachomatis* in der Regel mild (Tuffrey et al. 1982). In einem der wenigen alternativen Meerschweinchenmodelle mit *C. trachomatis* konnten ebenfalls Hinweise auf aufsteigende genitale Infektionen gezeigt werden (Jonge et al. 2011). Allerdings mit weit geringerer Intensität als bei Infektionen mit den spezieseigenen *C. caviae* (Rank et al. 1982). Schweine haben sich hingegen als wertvolles Tiermodell für die Entwicklung von genitalen *C. trachomatis* -Impfstoffen erwiesen (Amaral et al. 2020, Käser et al. 2018, Müller et al. 2017). Auch Lorenzen et al. folgern, dass das Schwein einen größeren prädiktiven Wert für weibliche Genitaltrakt-Studien hat, als durch Nagetiermodelle erreicht werden kann, zumal sie ebenfalls zusätzlich für die genitale Chlamydiose, die noch dazu von einer *C. trachomatis* verwandten Chlamydienart ausgelöst wird, krankheitsanfällig sind (Lorenzen et al. 2015).

3.3. Okuläre Infektionsstudien mit *C. trachomatis*

Bereits zur Überprüfung der Koch'schen Postulate bei *C. trachomatis* als auslösendes Agens für das Trachom wurden nicht-humane Primaten eingesetzt (Wang 1999). Nicht nur der kausale Zusammenhang zwischen Erreger und Krankheitsbild konnte mit Hilfe der Affen gezeigt werden, die Affen eigneten sich auch als Modell für die Erforschung der Trachompathogenese (Collier und Mogg 1969) sowie für die Chlamydien-Impfstoff-Forschung (Chang et al. 1964, Karunakaran et al. 2010). Nach okulärer Infektion dieser Affen mit dem *C. trachomatis* serovar A Stamm A2497 konnte eine anfängliche Spitzenausscheidung beobachtet werden, gefolgt von einer Clearance und kleineren über Monate andauernden Reaktivierungsspitzen. Die klinischen Symptome in Form von Hyperämie und chronisch folliculärer Konjunktivitis blieben während des gesamten Infektionszeitraums bestehen (Kari et al. 2013). Makaken werden insbesondere gerne in Trachom-Studien eingesetzt, weil ihre Immunreaktionen denen des Menschen sehr ähnlich sind (Kari et al. 2011). Die sehr kurze

Schutzdauer der Impfstoffe, der eingeschränkte serovarspezifische Schutz sowie Auftreten von Infektionen trotz Impfung veranlassten dazu, diese Studien nicht weiterzuverfolgen (Provost und Vickers 1972).

Mausmodelle sind für okuläre Infektionsmodelle nicht einsetzbar, da Mäuse weder durch Infektion mit *C. muridarum*, noch mit *C. trachomatis* fibrotische Veränderungen an der Bindehaut entwickeln (Rank und Whittum-Hudson 1994). *C. muridarum* ist eine an die Maus angepasste Chlamydienspezies, dessen Genom jedoch weitgehend mit dem von *C. trachomatis* übereinstimmt und sich nur in 6 Genen unterscheidet (Karunakaran et al. 2010). Ein okuläres Meerschweinchenmodell für *C. trachomatis* Infektionen konnte bis dato nicht etabliert werden (Monnickendam et al. 1980, Tan et al. 2020).

In vitro Infektionsversuch der porzinen Netzhautzelllinie (VIDO R1) mit *C. suis* zeigen, dass erstens der *C. suis* Lebenszyklus von rund 48 Stunden vergleichbar mit jenem von *C. trachomatis* ist und zweitens nach Infektion der Zellen jene Immunmediatoren, Zytokine und Chemokine, die auch bei menschlichen *C. trachomatis* Infektionen von Bedeutung sind, stark erhöhte Werte aufweisen (Käser et al. 2015). Anhand dieser Ergebnisse und der Tatsache, dass *C. suis* - sowie *C. trachomatis* Infektionen beim Menschen ähnlich ablaufen, kann man die Tests an Schweinen für das humane Trachom rechtfertigen.

4. Material und Methode

15 PRRSV-freie abgesetzte männlich kastrierte Ferkel im Alter von vier Wochen und einem durchschnittlichen Gewicht von 8 kg wurden in den Kontumazstall der Universitätsklinik für Schweine (BSL2-Status) eingestallt. Die Mütter aller 15 Tiere (n=5) waren im Vorfeld negativ auf das Vorhandensein von *C. suis* spezifischen Antikörpern sowohl mittels eines *C. suis* spezifischen inhouse ELISA als auch mittels KBR getestet worden. Sie wurden in drei Versuchsgruppen (I, II, III) á fünf Tiere unterteilt. Gruppe I war die mit *C. trachomatis* serovar A infizierte Gruppe. Gruppe II diente als Infektionsgruppe mit *C. suis* und fungierte somit als Positivgruppe. Bei Gruppe III handelte es sich um die Negativkontrollgruppe (Tab.3).

Tab. 3: Übersicht über angewandte Inokula in den drei verschiedenen Gruppen

Gruppe	Serovar	Infektionsdosis und Menge
Gruppe I	<i>Chlamydia trachomatis</i> serovar A	1x100µl, 10 ⁹ IFU
Gruppe II	<i>Chlamydia suis</i> S45	1x100µl, 10 ⁹ IFU
Kontrollgruppe III	Phosphate Buffered Saline (PBS)	100µl

Die Gruppen waren räumlich getrennt und hatten eine separate Luftzufuhr. Der Kontakt mit den Tieren erfolgte immer nach derselben Reihenfolge: zuerst Gruppe III, dann Gruppe I und zuletzt Gruppe II. Das Betreten der Stallungen der Gruppe I und II erfolgte nach Durchlaufen der Hygieneschleuse mit integriertem Duschzwang jeweils mit separaten Overalls, FFP2-Masken sowie Augenschutz.

Der Versuch dauerte 28 Tage, wobei die erste Woche der Eingewöhnung diente. Alle Tiere wurden ab dem Zeitpunkt des Einstallens einmal wöchentlich gewogen und täglich einem verkürzten klinischen Untersuchungsgang unterzogen. Dieser bestand aus der adspektorischen Überprüfung des Allgemeinverhaltens, der Körperhaltung, des Ernährungszustandes, der Hautoberfläche, der Adspektion der Kopfregeion mit Augen und Augenumgebung, Rüssel, Nasenausfluss und Ohren, Kot und der Messung der inneren

Körpertemperatur. Die erhobenen Daten wurden dokumentiert und in Microsoft Excel© eingegeben. Alle Abläufe der Studie sind zeitlich in Abb. 3 dargestellt.

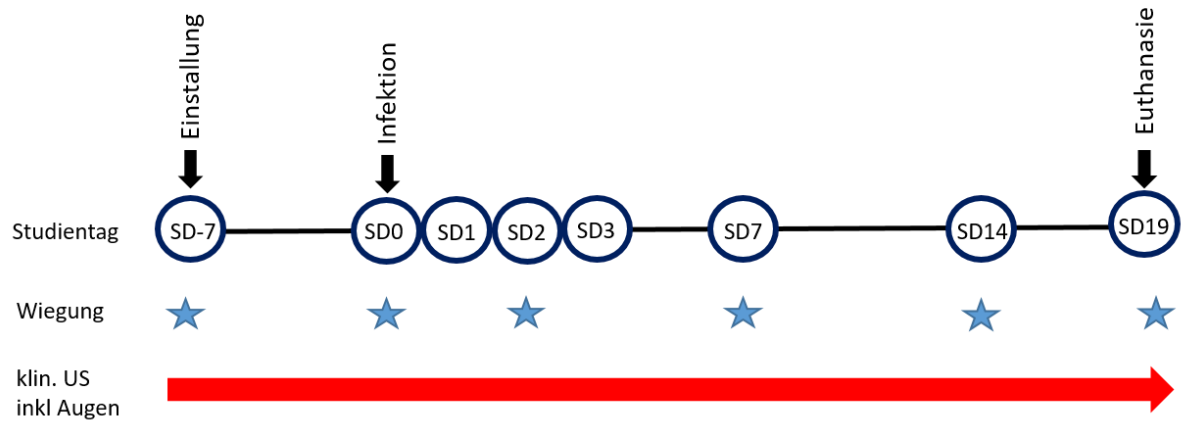


Abb. 3: zeitlicher Überblick über den Versuchsablauf beginnend sieben Tage vor Infektion (SD-7) bis zum Ende der Studie am SD19. SD=Studientag

Am Studientag (SD) 0, sieben Tage nach der Einstellung, erfolgte die einmalige okuläre Infektion definierter Chlamydienstämmen bzw. PBS mittels Mikropipette in das rechte untere Augenlid (Abb.4).



Abb. 4: Okuläre Infektion mit definierten Chlamydienstämmen bzw. PBS mittels Mikropipette in das rechte Auge, Studientag (SD) 0

Ab dem Zeitpunkt der okulären Infektion (SD 0) wurde zusätzlich zum täglichen klinischen Untersuchungsgang ein nach einem definiertem Untersuchungsschema vorgegebener ophthalmologischer Untersuchungsgang an jeweils beiden Augen durchgeführt. Ebenso wurden definierte Augenstrukturen fotografiert (Abb. 5), um im Laufe des Versuches den Verlauf der klinischen Symptome zu dokumentieren und deutlicher miteinander vergleichen zu können. Dabei wurden das Auge in Nahaufnahme, die Lidbindehäute und Sklera festgehalten. Dafür wurden die Tiere mit Hilfe einer weiteren Person fixiert. Das zu untersuchende Auge wurde für eine genaue Betrachtung mit den Fingern weit geöffnet. Für ausreichendes Tageslicht wurde gesorgt.



Abb. 5: Fotografieren der Augenstrukturen während des täglichen Augenuntersuchungsganges

Bei dem vorgegebenen ophthalmologischen Untersuchungsgang wurde wie folgt vorgegangen: Das jeweilige Auge wurde zuerst adspektorisch untersucht. Dabei wurde auf die Umgebung des Auges, die Augenlider und den Bulbus geachtet, um Umfangsvermehrungen, Ausflüsse oder Hautveränderungen, Stellung, Bewegung und Umfang der Lider und die Bulbusgröße zu bewerten. Anschließend wurden durch Spreizen der oberen und unteren Augenlider (Abb. 6) die Lidbindehäute und Sklera auf Farbe und Gefäßinjektion überprüft. Durch gleichzeitig sanften Druck auf den Augenbulbus von dorsal und medial wurde das dritte Augenlid sichtbar gemacht und konnte somit genauso in die Beurteilung miteinfließen.



Abb. 6: Spreizen des oberen und unteren Augenlides für die Augenbeurteilung, rechtes Auge

Die Befundung erfolgte nach der allgemeinen klinischen Propädeutik von Baumgartner und Wittek (2018). Der physiologische Befund lautete somit „Lidbindehaut blassrosa, Skleren von weißer Farbe und mit fein dargestellten Episkleralgefäßen“. Zusätzlich wurden adspektorisch die tarsalen und bulbären Lidbindehäute (Abb. 7), Corneae und Pupillen sowie eventuell vorhandene Follikel überprüft. Dafür wurde ein eigens für diese Studie entwickelter Score genutzt (Tab.4).

Tab. 4: Augenbeurteilungsscore

Lid Rötungen	0	Physiologisch (mgr. gerötet)
	1	Hgr. gerötet
Lid Ödem	0	Kein Ödem
	1	Ggr. ödematös
	2	Hrg. ödematös
Bindehaut tarsal	0	Normal
	1	Gerötet
	2	Ödem, Schwellung
Bindehaut bulbär	0	Normal
	1	Gerötet
	2	Ödem. Schwellung
Follikel	0	Ja
	1	Nein
Hornhaut	0	Klar
	1	Trüb
Pupille	0	Sichtbar
	1	Nicht sichtbar
Ausfluss	1	Nicht vorhanden
	2	Serös
	3	Mukös
	4	Seromukös
	5	Purulent
	A	Ggr.
	B	Mgr.
	C	Hgr.

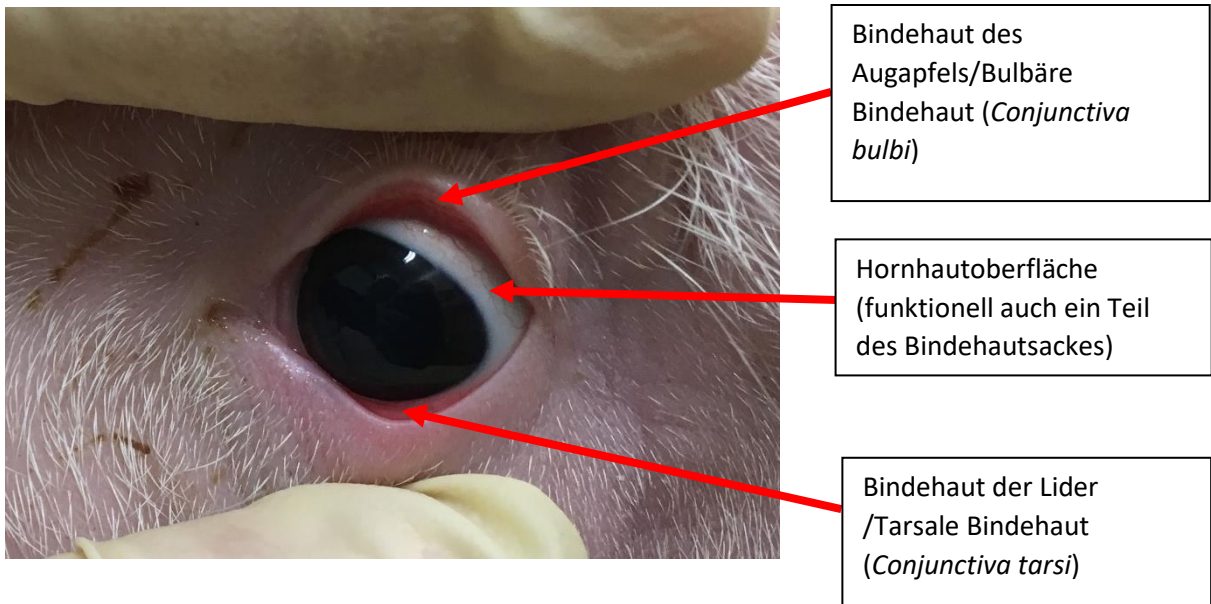


Abb. 7: Darstellung der Bindehäute des Auges

Diese Studie wurde von der institutionellen Ethik- und Tierschutzkommission und der nationalen Behörde gemäß §§ 26ff. des Tierversuchsgesetzes genehmigt. Tierversuchsgesetz 2012 - TVG 2012 (GZ68.205/0183-WF/V/3b/2017).

5. Ergebnisse

Es werden zuerst die Ergebnisse der allgemeinen Untersuchung bei allen drei Gruppen im Vergleich dargestellt, im Anschluss daran die Befunde der Augenuntersuchung für jede Gruppe einzeln.

4.1. Innere Körpertemperatur (IKT)

An nur wenigen Tagen und bei nur wenigen Tieren konnten Abweichungen der inneren Körpertemperatur festgestellt werden – zu allen anderen Zeitpunkten lag die IKT im physiologischen Bereich (Ferkel: 38,5 bis 39,5 °C).

In Gruppe I konnten am SD9 bei drei, am SD10 bei einem und am SD 11 an einem anderen Schwein (n=1) von fünf Tieren eine Erhöhung der IKT (>40 °C bis 40,2 °C) gemessen werden. Dies unterschied sich von Gruppe II, in der einzelne Schweine eine erhöhte Körpertemperatur von 40 °C – 40,2 °C bereits am SD2 (n=2), zwischen SD6 und SD8 (n=1-2/SD) sowie am SD10 (n=1) aufwiesen. In der Kontrollgruppe gab es zu keinem Zeitpunkt bei keinem Tier eine erhöhte IKT.

4.2. Körpergewicht

Alle drei Gruppen nahmen kontinuierlich an Gewicht zu. Die mittleren Gewichte der Ferkel der Gruppe-I betragen am SD0 10,80 kg und an SD19 22,50 kg, die Tageszunahmen lagen in diesem Zeitraum bei rund 600 g. Die Gewichtsmittelwerte der Ferkel der Gruppe-II betragen am SD0 10,96 kg und an SD19 21,67 kg entsprechend einer täglichen Zunahme von rund 560g. In der Kontrollgruppe lagen die mittleren Gewichte der Ferkel am SD0 bei 10,35 kg und am SD19 bei 21, die Tageszunahmen lagen somit in diesem Zeitraum bei rund 600 g (Abb.8).

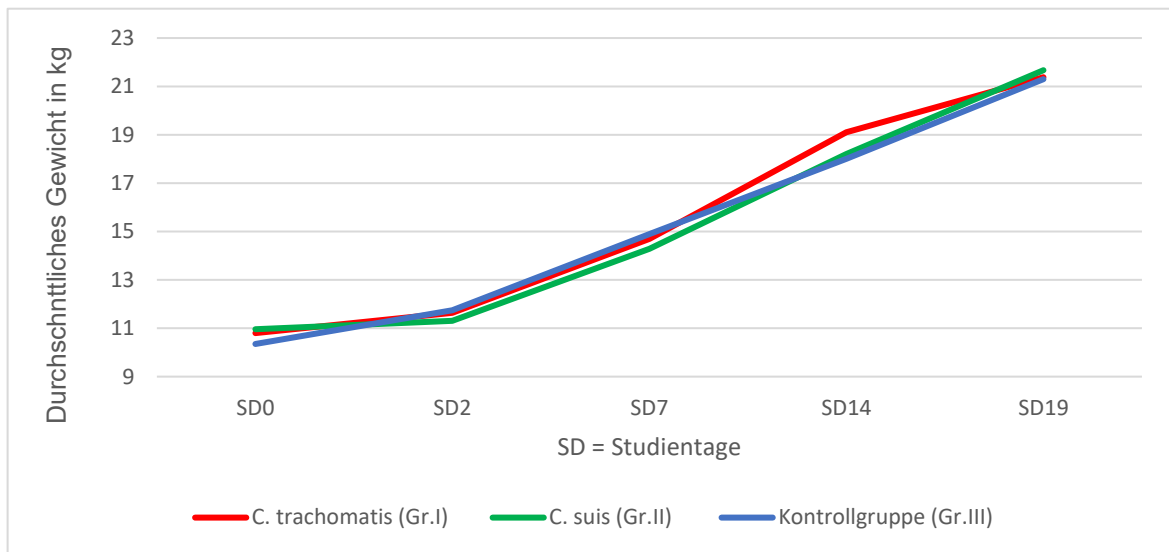


Abb. 8: Verlauf der Gewichtszunahme der Gruppen I-III während der Studie, am SD0, SD2, SD7, SD14 und SD19 (SD=Studientag)

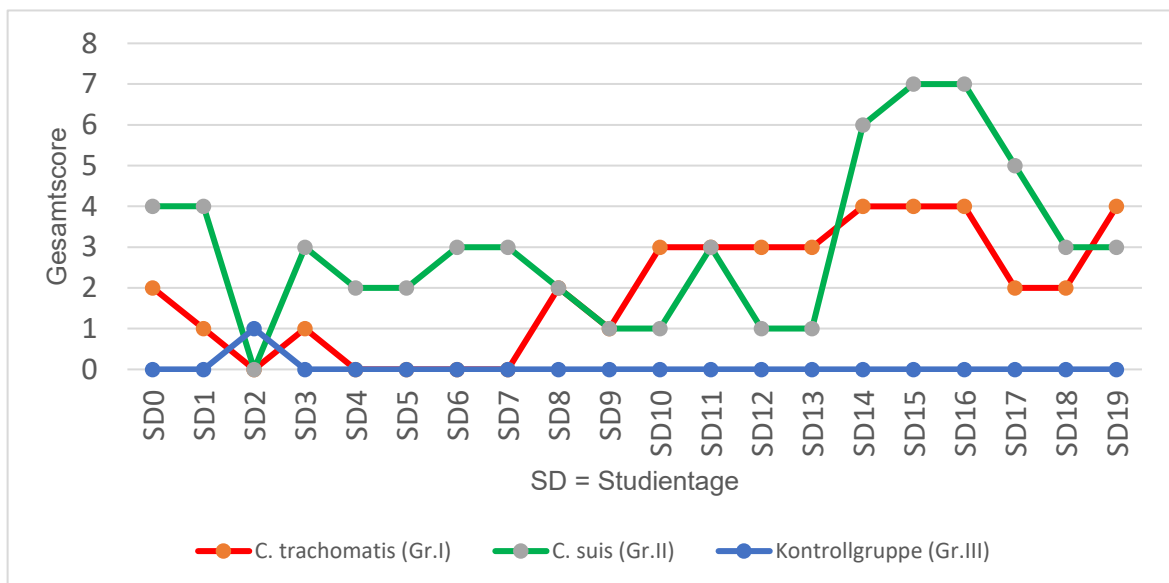


Abb. 9: Gesamtbeurteilung ($\Sigma \triangleq$ Score und Anzahl der betroffenen Tiere) der Kotkonsistenz der drei Gruppen (I-III) über einen Zeitraum von 19 Tagen

4.3. Kotuntersuchung

In der Gruppe I konnte in den ersten vier Tagen (SD0-SD3) bei vereinzelt Tieren (n=1-2/SD) eine pastöse Kotkonsistenz festgestellt werden. Bereits an SD0, am Tag der Infektion, fielen zwei von fünf Tieren auf. Im Verlauf der zweiten und dritten Woche kam es bis SD15 zu einer stufenförmigen Erhöhung der Anzahl der betroffenen Tiere (n=1-4/SD), was sich ab SD15 bis SD18 umkehrte und bis SD19 wieder anstieg. In der Gruppe II zeigten den gesamten Versuchsverlauf – mit Ausnahme von SD2 – vereinzelt Tiere pastös- flüssigen Durchfall. Im letzten Drittel des Versuchverlaufs waren sogar an drei aufeinanderfolgenden Tagen (SD14 – SD16) fünf von fünf Tiere davon betroffen, wovon ein bis zwei Tiere (n=1-2/SD) mit einem Score >1 beurteilt wurden. In der Kontrollgruppe konnte nur am SD2 ein Ferkel mit einer pastösen Kotkonsistenz beobachtet werden (Abb.9)

4.4. Sonstige Befunde der allgemeinen Untersuchung

In keiner der drei Gruppen fielen nach der Infektion Abweichungen von der physiologischen Norm auf. Die Gruppen waren insbesondere frei von Atemwegssymptomen oder Lahmheiten. Alle Tiere waren lebhaft und aufmerksam. Auffallend war jedoch der erhöhte Speichelfluss bei allen Tieren der Gruppe II, beginnend ab SD5.

Im Folgenden werden die Befunde der Augenstrukturen für jede Gruppe einzeln beschrieben. Aufgrund der geringen Tierzahl wurden alle Einzelscores der erhobenen Augenparameter addiert und somit ein Gesamtscore erhoben. Ein hoher Gesamtscore kann daher sowohl durch niedrigere Scores aller Tiere oder einen hohen Score eines einzelnen Tieres zustandekommen. Der Gesamtscore entspricht der Intensität der Symptome.

4.5. Augenuntersuchung

4.5.1. *Chlamydia trachomatis*

4.5.1.1. Veranschaulichung des Verlaufs

Im Folgenden wird ein Ausschnitt der Fotodokumentation der Gruppe I gezeigt (Abb.10).



Abb. 10: Darstellung der Augen und Bindehäute von Schweinen mit einer *C. trachomatis* Infektion von Studientag 2 bis 8

4.5.1.2. Rötungen und Ödeme der linken und rechten Unterlider

In der ersten Woche des Versuchs waren zwei Tage nach der okulären Infektion (SD0), mit Ausnahme von SD3, die Unterlider der linken und rechten Augenseite hgr. gerötet (n=1-4/SD) und ggr. bis mgr. ödematisiert (n=2-3/SD). Rötungen waren bis auf SD11 (n=1) den ganzen restlichen Versuch über nicht mehr zu sehen. In der zweiten Hälfte des Versuchs waren die Ödeme deutlich weniger ausgeprägt als in der ersten Hälfte. Es waren nur noch vereinzelt Tiere betroffen. Am SD19 waren insgesamt drei und an den anderen Tagen nur je ein Schwein von fünf betroffen. Die Schweregrade der Rötungen und Ödeme blieben, wenn sie auftraten, gleich. An keinem Tag wurde bei mehr als vier Tieren Ödeme oder Rötungen beschrieben. Die Befunde beider Augen waren zu jedem Zeitpunkt ident (Abb.11 und 12).

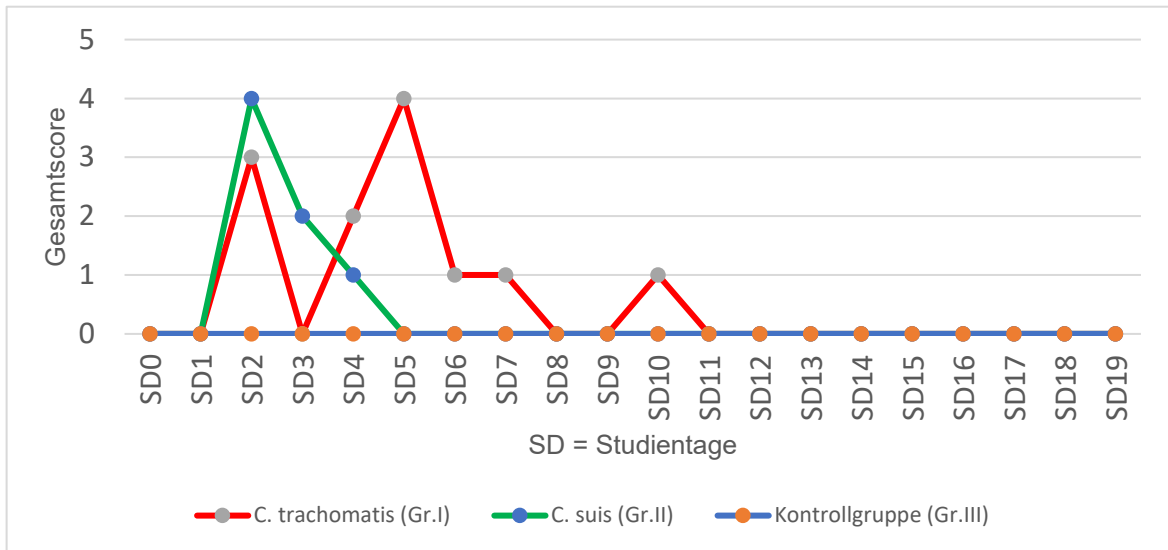


Abb. 11: Gesamtbeurteilung ($\Sigma \triangleq$ Score und Anzahl der betroffenen Tiere) der Rötungen des Unterlides links der drei Gruppen (I-III) über einen Zeitraum von 19 Tagen, repräsentativ für beide Unterlider

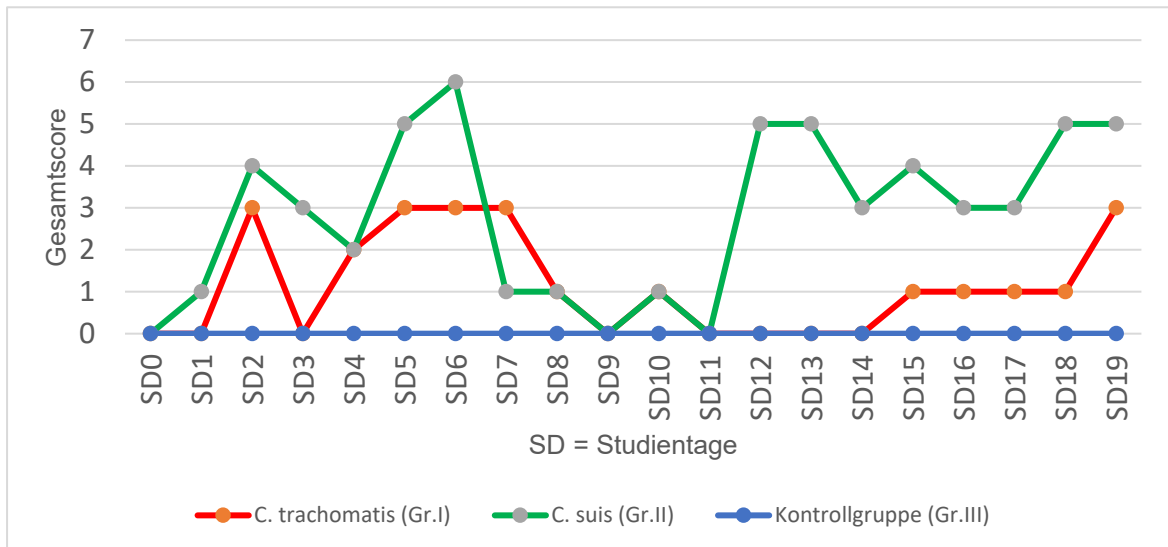


Abb. 12: Gesamtbeurteilung ($\Sigma \triangleq$ Score und Anzahl der betroffenen Tiere) des Grads der Ödematisierung am Unterlid links der drei Gruppen (I-III) über einen Zeitraum von 19 Tagen, repräsentativ für beide Unterlider

4.5.1.3. Rötungen und Ödeme der linken und rechten Oberlider

Am linken und rechten Oberlid traten von SD2 an relativ zeitgleich mgr. Rötungen ($n=1-2/SD$) und ggr. Schwellungen auf. Die ggr. Ödeme waren bis zum Versuchsende mit Ausnahme weniger Tage durchgehend zu beobachten. In der ersten Hälfte des Versuchs waren davon mehr Schweine betroffen ($n=2-3/SD$) als in der zweiten Hälfte ($n=\max. 1$). Rötungen konnten beidseits nur bis SD6 beobachtet werden, es waren an diesen Tagen maximal zwei von fünf Ferkel betroffen. Lediglich bei einem Schwein waren am SD10 mgr. Rötungen auf der rechten Augenseite zu sehen (Abb. 13 und 14).

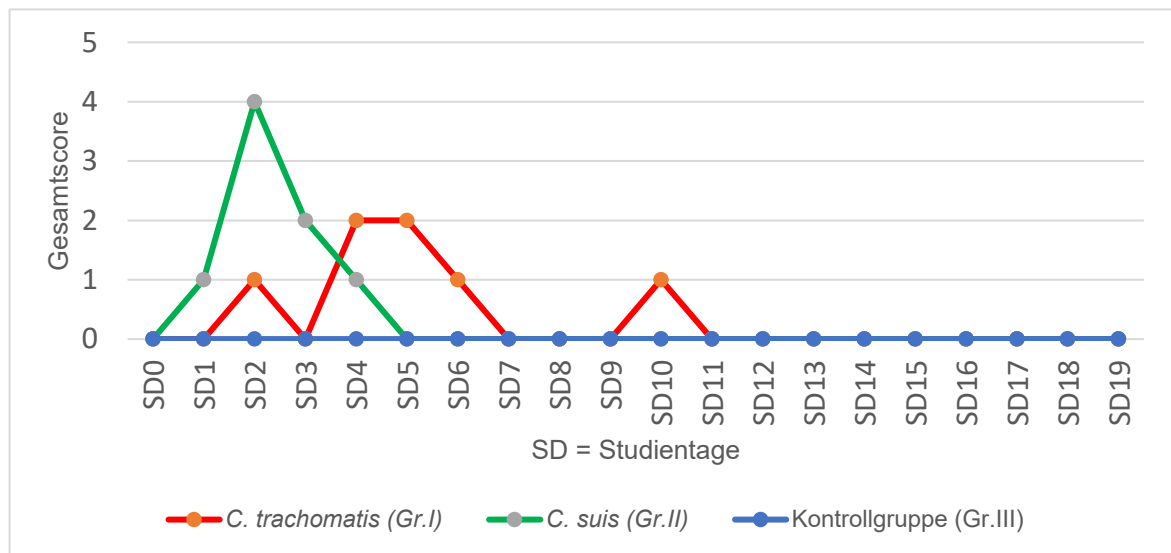


Abb. 13: Gesamtbeurteilung ($\sum \triangleq$ Score und Anzahl der betroffenen Tiere) der Rötungen am Oberlid rechts der drei Gruppen (I-III) über einen Zeitraum von 19 Tagen, repräsentativ für beide Oberlider

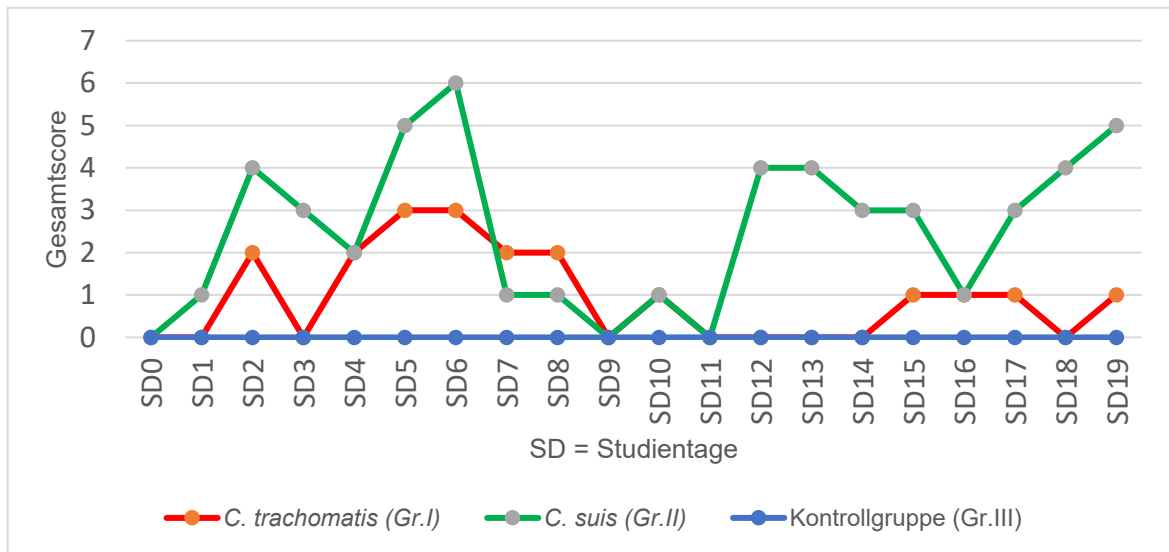


Abb. 14: Gesamtbeurteilung ($\Sigma \triangleq$ Score und Anzahl der betroffenen Tiere) der Ödematisierung am Oberlid links der drei Gruppen (I-III) über einen Zeitraum von 19 Tagen, repräsentativ für beide Oberlider

4.5.1.4. Tarsale Bindehäute der linken und rechten Unter- und Oberlider

Es waren nur an zwei Tagen, SD4 und SD7, ein bis zwei Schweine mit mgr. geröteten tarsalen Bindehäuten zu beobachten (Abb 15).

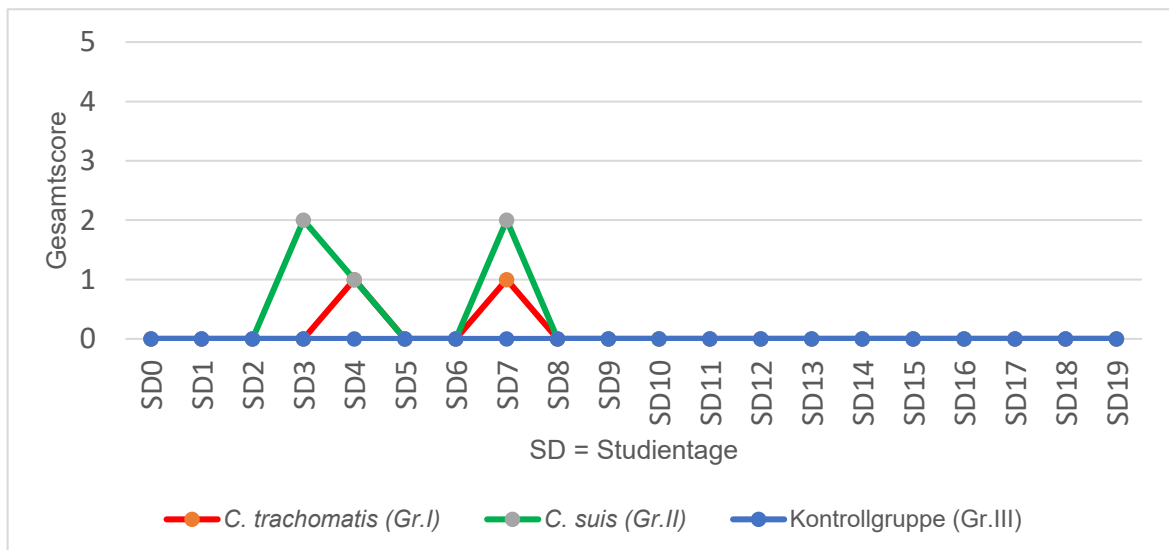


Abb. 15: Gesamtbeurteilung ($\Sigma \triangleq$ Score und Anzahl der betroffenen Tiere) der Rötungen am Unterlid, an der tarsalen Bindehaut links der drei Gruppen (I-III) über einen Zeitraum von 19 Tagen, repräsentativ für beide Unter- und Oberlider

4.5.1.5. Bulbäre Bindehäute der linken und rechten Unter- und Oberlider

An zwei Tagen, SD4 und SD7, wurden mgr. Rötungen bei ein bis drei Tieren verzeichnet (Abb.16).

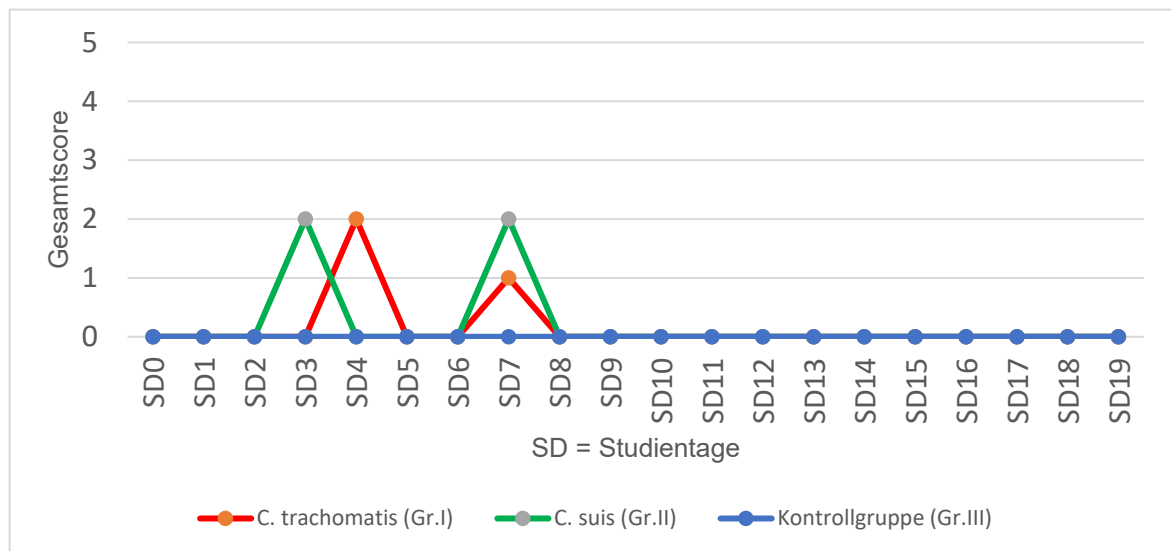


Abb. 16: Gesamtbeurteilung ($\Sigma \triangleq$ Score und Anzahl der betroffenen Tiere) der Rötungen bulbäre Bindehaut rechts der drei Gruppen (I-III) über einen Zeitraum von 19 Tagen, repräsentativ für beide Unter- und Oberlider

4.5.1.6. Augenausfluss am linken und rechten Auge

Ein Ferkel zeigte ab SD12 am linken Auge mgr. serösen Augenausfluss. Dieser wurde auch bei einem zweiten Ferkel am SD2 am rechten Auge sowie bei einem dritten Ferkel ebenfalls am rechten Auge ab der zweiten Versuchshälfte beschrieben (Abb.18).

4.5.1.7. Nasenausfluss

Nasenausfluss wurde bei keinem Tier zu irgendeinem Zeitpunkt beobachtet (Abb.19).

4.5.2. *Chlamydia suis*

4.5.2.1. Veranschaulichung des Verlaufs

Im Folgenden wird ein Ausschnitt der Fotodokumentation der Gruppe II gezeigt (Abb.17).



Abb. 17: Abbildung der Augen und Bindehäute mit besonderem Augenmerk auf Ödeme und Rötungen der Lidbindehäute von SD1 bis SD7

4.5.2.2. Rötungen und Ödeme der linken und rechten Unterlider

Tiere der Gruppe II zeigten am linken Unterlid von SD2 bis SD4 und am rechten Unterlid ab SD1 bis SD4 hgr. Rötungen, ab SD5 bis zum Ende des Versuchs traten keine Rötungen mehr auf.

Ab dem Zeitpunkt der Infektion waren die Unterlider beider Augen der meisten Tiere (n=1-5/SD) beinahe durchgehend ggr. bis mgr. ödematisiert, in der ersten Versuchshälfte gab es mehr mgr. Ödeme als in der zweiten Hälfte (Abb. 11 und 12).

4.5.2.3. Rötungen und Ödeme der linken und rechten Oberlider

Hgr. Rötungen am linken Oberlid konnten am SD2 bei vier von fünf Tieren beobachtet werden. Zusätzlich konnte bei einem Tier an SD1 auch Rötungen am rechten Oberlid sowie bei vier von fünf Tieren am SD2 befundet werden. Die Anzahl der betroffenen Tiere mit Rötungen nahm beidseitig ab SD3 wieder kontinuierlich ab und verschwanden ab SD5 vollständig bis zum Versuchsende.

Auch bei den Oberlidern konnten gleich wie bei den Unterlidern ggr. bis mgr. Ödeme über den gesamten Verlauf – mit Ausnahme von zwei Tagen, SD9 und SD11 - aufgezeigt werden. In der ersten Hälfte wurden häufiger mgr. Ödeme und in der zweiten Hälfte hauptsächlich ggr. Ödeme befundet. Nach der ersten Hälfte der Versuchsdauer kam es an drei Tagen zu einer Reduktion der betroffenen Tiere, die Ödeme vorwiesen. Ab der zweiten Hälfte des Versuchs nahm die Zahl der auffälligen Ferkel wieder rasant zu und es waren bis auf einen Tag sogar immer mindestens drei von fünf Schweine betroffen. Am letzten Tag des Versuchs, SD19, waren fünf von fünf Tiere mit ggr. Ödemen zu sehen (Abb. 13 und 14).

4.5.2.4. Tarsale Bindehäute der linken und rechten Unter- und Oberlider

An den tarsalen Bindehäuten der linken und rechten Unterlider konnten an drei Tagen und an den linken und rechten Oberlidern an zwei Tagen mgr. gerötete tarsale Bindehäute verzeichnet werden (n=1-2/SD). Der restliche Verlauf war unauffällig. An diesen Tagen waren nie mehr als zwei Tiere mit geröteten oder ödematösen tarsalen Lidbindehäuten zu beobachten und die Schweregrade waren ident (Abb. 15).

4.5.2.5. Bulbäre Bindehäute der linken und rechten Unter- und Oberlider

Links wie auch rechts waren an den SD3 und SD7 - zeitgleich mit der Rötung der tarsalen Lidbindehäute - jeweils nur ein Schwein mit mgr. geröteten bulbären Bindehäuten zu beobachten (Abb.16).

4.5.2.6. Augenausfluss am linken und rechten Auge

Im Vergleich mit den anderen beiden Gruppen zeigte sich bei den Tieren der Gruppe II besonders deutlicher Augenausfluss, der in der ersten Woche nach Infektion bei einzelnen Tieren als beidseitig ggr. serös beschrieben wurde, dann aber durchgehend bis Versuchsende bei allen Tieren als ggr. bis mgr. auftrat (Abb.18).

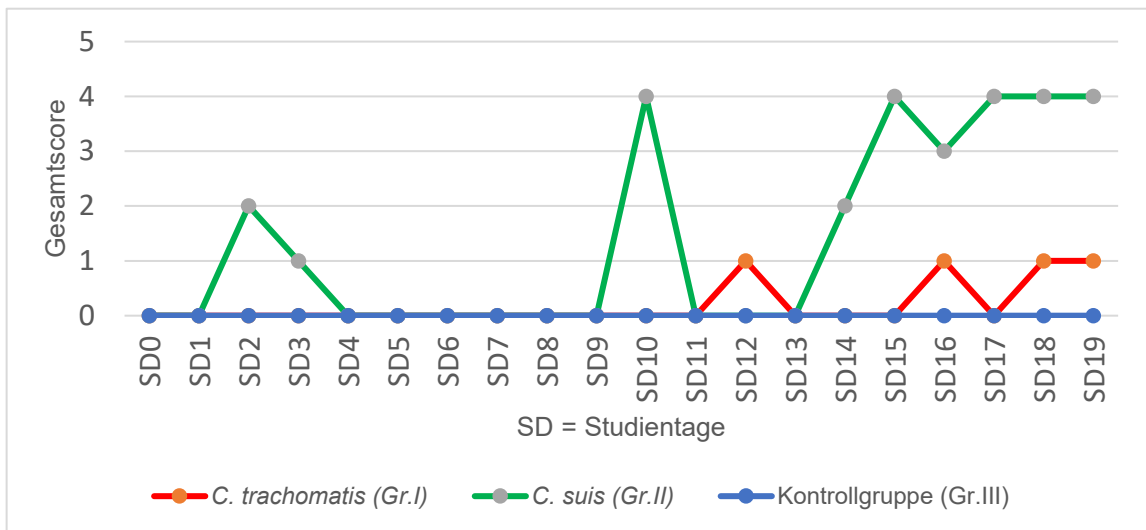


Abb. 18: Gesamtbeurteilung ($\Sigma \triangleq$ Score und Anzahl der betroffenen Tiere) Augenausfluss links der drei Gruppen (I-III) über einen Zeitraum von 19 Tagen, repräsentativ für beide Augen

4.5.2.7. Nasenausfluss

In den ersten Tagen nach Infektion war bei keinem der Ferkel der Gruppe II Nasenausfluss sichtbar. An SD7 und SD8 zeigten alle Tiere einen beidseitigen ggr. serösen und kontinuierlichen Ausfluss, der sich mit Unterbrechung am SD9 in unterschiedlichem Grad, aber immer beidseits bei mindestens zwei Tieren pro SD fortsetzte. An allen SD, außer am SD15, entsprach der Gesamtscore der Anzahl der Tiere. Am SD15 zeigten drei Tiere ggr. serösen, ein weiteres mgr. serösen und kontinuierlichen Ausfluss (Abb.19).

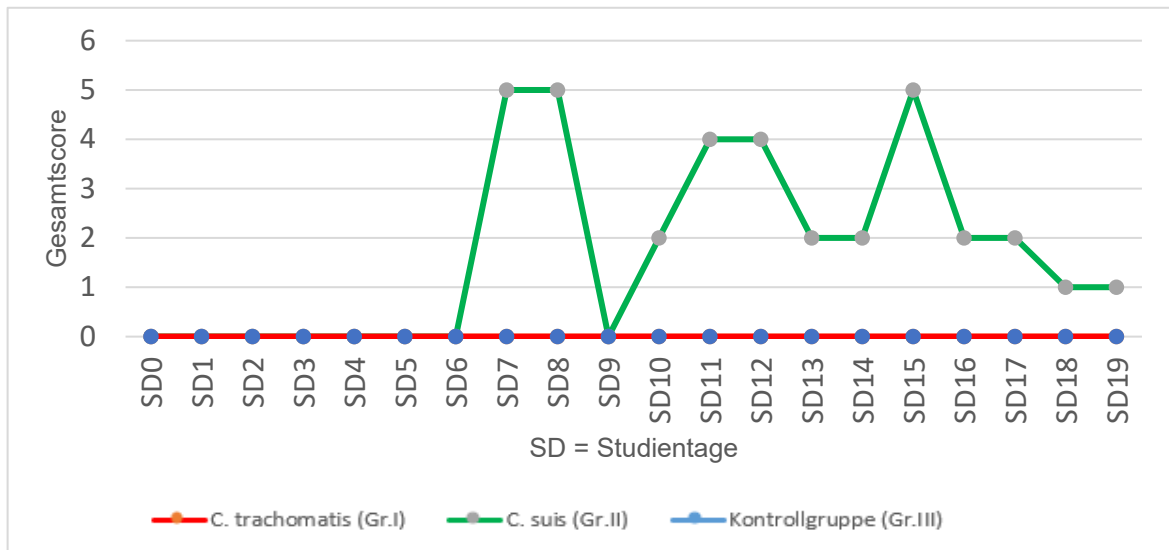


Abb. 19: Gesamtbeurteilung ($\Sigma \triangleq$ Score und Anzahl der betroffenen Tiere) des Nasenausflusses der drei Gruppen (I-III) über einen Zeitraum von 19 Tagen

4.5.3. Kontrollgruppe

Es wurden über den gesamten Untersuchungszeitraum kaum Abweichungen von der Norm bei allen untersuchten Parametern erhoben (Abb.8-9, 11-16, 18-19).

5. Diskussion

Diese Studie stellt den ersten okulären Infektionsversuch von *C. trachomatis* im Schweinmodell dar. Nachdem bereits in mehreren Studien gezeigt werden konnte, dass andere häufig verwendete Tiermodelle, wie beispielsweise das Meerschweinchen (*Cavia porcellus domestica*) und die Maus (*Mus musculus*), nicht für diesen Erreger empfänglich sind und keine klinischen Symptome zeigten (Rank und Whittum-Hudson 1994), stellte sich die Frage, ob das Hausschwein (*sus scrofa domesticus*) als Infektionsmodell geeignet sei.

Das von einem Trachomapatienten gewonnene Isolat, *C. trachomatis* A/SA1/OT, wurde bereits erfolgreich in einem Menschenaffenmodell eingesetzt. Bei den Ferkeln dieser Studie konnten jedoch keine für das Trachom spezifischen klinischen Anzeichen festgestellt werden.

Obwohl dezente Anomalien kurzfristig und in geringem Ausmaß nachgewiesen werden konnten, ist diese Beobachtung nicht signifikant. Im Versuchsstall waren die Tierdichte mit fünf Tieren pro Gruppe sehr gering und die Schadgaswerte für Ammoniak lagen unter 20ppm, was einer idealisierten Versuchsanordnung gleichkommt. Unter „normalen“ Umständen hingegen, d.h. in einem Schweinestall mit einer hohen Tierdichte, ammoniakhaltiger Luft und anderen haltungsbedingten Herausforderungen, wären diese Beobachtungen aufgrund der Vielzahl an Fremdbeeinflussungen mit hoher Wahrscheinlichkeit nicht wahrgenommen worden.

Die fehlenden Hinweise auf eine Infektion waren möglicherweise auf die strenge Wirtsspezifität von *C. trachomatis* zurückzuführen. Zwar konnte bei Menschenaffen gezeigt werden, dass sie okulär für *C. trachomatis* A-C gut empfänglich sind (Rank und Whittum-Hudson 1994), sonst gelang dieses Experiment noch bei keiner anderen Tierart, welches erfolgsversprechende Ergebnisse lieferte. Somit dürfte die genetische Ähnlichkeit der Menschenaffen zum Menschen eine ausschlaggebende Rolle beim Erfolg der Chlamydieninfektion spielen.

In der vorliegenden Studie wurde nur mit *C. trachomatis* Serovar A infiziert, daher kann aus der derzeitigen Sicht keine Aussage über den Infektionserfolg nach okulärem *C. trachomatis* B oder C Kontakt getroffen werden. Zukünftige Studien sollten sich mit den okulären Stämmen B und C auseinandersetzen, um eine okuläre Empfänglichkeit zu überprüfen.

Eine zweite Erklärung könnte der Versuchsdauer zuzuschreiben sein. Klinische Veränderungen im Bereich der Augen beim Menschen sind immer erst nach einem längeren Zeitraum, nach zahlreichen Reinfektionen, oft erst Jahre nach Erstinfektion auslösbar. Diese Zeit war im experimentellen Setting nicht vorgesehen. Rank und Whittum-Hudson (1994) konnten zeigen, dass eine einzelne topische Augeninfektion selbstlimitierend ist. Gegebenenfalls hätten die Tiere in dem gegenwertigen Versuch nach einer gewissen Zeit noch einmal oder mehrmals infiziert werden müssen, falls Infektionen beim Schwein überhaupt möglich sind.

Die Diplomarbeit beschäftigte sich nur mit den klinischen Aspekten nach der okulären Infektion, es kann aber an dieser Stelle vorweggenommen werden, dass es zu keinem Zeitpunkt über den gesamten Versuch zu einer Infektion mit den für das Trachom spezifischen klinischen Symptomen gekommen ist. Dies wurde mit Hilfe von regelmäßigen Entnahmen von Konjunktivaltupfern mit anschließender Chlamydienanzucht sowie molekulardiagnostischen Methoden, also auch mit immunhistochemischen Färbemethoden postmortal abgeklärt.

Im Gegensatz dazu konnten bei den Positivkontrollen – mit *C. suis* infizierten Ferkeln – sehr wohl die okulären Infektionen bestätigt werden, die Negativkontrollen blieben ebenfalls negativ. Das Schwein als Trachommodell hat sich in dieser Studie als nicht geeignet erwiesen. Allerdings konnte bereits in anderen Studien gezeigt werden, dass sich Sauen durchaus als genitale Infektionsmodelle mit *C. trachomatis* eignen (Amaral et al. 2020, Käser et al. 2017).

Die mit *C. suis* infizierten Tiere der Studie entwickelten insbesondere in der ersten Woche nach Infektion klinische Symptome wie Rötungen der Konjunktiven sowie Lidödeme. Für die Infektion wurde eine hohe Infektionsdosis verwendet und der verwendete Stamm, S45, wurde ursprünglich aus dem Kot eines asymptomatischen österreichischen Ferkels isoliert. Dieser stammt nicht aus entzündeten Konjunktividen von Schweinen, wie man erwarten könnte. Ein solches aus Konjunktivitis von Ferkeln stammendes Isolat wurde in der sonst einzigen okulären Infektionsstudie von Rogers und Anderson (1999) bei gnotobiotischen Ferkeln eingesetzt, ohne irgendwelche klinischen Veränderungen oder histologische Läsionen auslösen zu können. Die Entwicklung von Läsionen nach *C. suis* Infektionen kann laut Englund et al. (2012) von verschiedenen Faktoren wie der Virulenz des Stammes, der Infektionsdosis, dem Infektionsweg, dem Alter und dem Immunstatus des Wirtes abhängen.

Auch der Einfluss von Ko-infektionen und nichtinfektiösen Parametern spielt eine wesentliche Rolle (Becker et al. 2007). Bei den Ferkeln dieser Studie waren Reinfektionen sicher möglich,

da sie zu fünf in einem Raum gehalten wurden. In schweinehaltenden Betrieben ist die Belegdichte wesentlich höher und somit auch die Möglichkeit der Reinfektionen gegeben.

Die Lidödeme erinnerten stark an eine Infektion mit Edema Disease *E.coli* (EDEC) und somit an eine Ödemkrankheit, die aber zu keinem Zeitpunkt des Versuches als Verdachtsdiagnose im Raum stand. Tatsächlich sieht man in ferkelproduzierenden Betrieben in den ersten Wochen nach dem Absetzen oft Lidödeme dieser Art und möglicherweise sind diese das Resultat nach primärem Chlamydienkontakt. Ödeme scheinen zumindest in der vorliegenden Studie nach Erstinfektionen mit *C. suis* eine größere Bedeutung zu haben als Hyperämien der Konjunktiven. Interessanterweise waren die Lidödeme der unteren Lider stärker und länger ausgeprägt als die Oberlider. Eine mögliche Erklärung könnte darin liegen, dass das Unterlid tendenziell straffer ist und somit die Ödeme ersichtlicher werden lassen. Andererseits wird dies in der täglichen Praxis sonst immer umgekehrt beobachtet, also stärkere Lidödeme am Oberlid als am Unterlid. Es ist aber naheliegend, dass die klinische Untersuchung in dieser Studie genauer durchgeführt wurde als bei einer klinischen Untersuchung in der Praxis und Unterlidödeme einfach übersehen werden oder ihnen keine Aufmerksamkeit geschenkt wird. Generell finden *C. suis* Infektionen in der Routinediagnostik außerhalb von Fruchtbarkeitsstörungen sehr wenig Aufmerksamkeit.

Das klassische Chlamydienreservoir im Körper stellt der Darm dar (Englund et al. 2012) und eine übermäßige Besiedelung kann Durchfall verursachen (Schautteet und Vanrompay 2011). In der *C. suis* Infektionsgruppe hatten die Tiere biphasisch dünnflüssigen bis pastösen Kot und, was ebenfalls nicht Gegenstand dieser Arbeit war und hier angefügt werden muss, eine Darminfektion mit *C. suis*. Dies konnte mittels immunohistochemischer Methoden bestätigt werden – während im Darm der *C. trachomatis* infizierten Ferkel nie *C. trachomatis* nachgewiesen werden konnte. Die Kotkonsistenz sowie die Chlamydieninfektion im Darm passen gut zusammen. In zukünftigen Studien ist es ratsam, diese Aspekte, auch wenn es sich um okuläre Infektionen handelt, zu berücksichtigen. Denn durch die permanente rektale Ausscheidung ist auch das Risiko einer Augenreinfektion groß.

Die Kontrollgruppe zeigte zu keinem Zeitpunkt klinische Symptome. Dies zeigt zumindest, dass die Symptome insbesondere der mit *C. suis* infizierten Tiere nicht zufällig entstanden sind. Diese Studie zeigt vor allem, dass okuläre *C. suis* Infektionen beim Ferkel klinisch weit mehr Bedeutung haben als bisher angenommen. Es ist die erste Studie, bei der nach experimenteller okulärer Infektion mit *C. suis* auch eine klinische Konjunktivitis sowie weitere

Symptome ausgelöst werden konnte. Nach Infektion konnte eine erhöhte innere Körpertemperatur gemessen werden. Biphasisch zeigten die Tiere eine weichere Kotkonsistenz und ebenfalls biphasisch konnten Lidödeme sowie Hyperämie der Lidbindehäute beschrieben werden. Dass sich in dieser kurzen Zeit eine bleibende Konjunktivitis entwickeln würde, war nicht zu erwarten. Dafür würden zahlreiche Reinfektionen nötig sein und man hätte die Studie um einige Wochen verlängern müssen.

Möglicherweise könnte das Schwein als Trachommodell bei einer längeren Studiendauer mit einer Infektion mit *C. trachomatis* funktionieren. Da die Entstehung des Trachoms beim Menschen oft Jahre dauert, ist jedoch unklar, wie lange die Studie dauern müsste, um eine klinische Infektion beim Schwein auslösen zu können. Somit eignet sich das Schwein als Trachommodell zumindest auf den ersten Blick bei Verwendung des beschriebenen Infektionsmodells nicht, sollte jedoch noch nicht als unbrauchbar deklariert werden.

6. Zusammenfassung

Chlamydia spp. sind gramnegative, obligat intrazelluläre Bakterien mit einem breiten Wirtsspektrum und beschäftigen weltweit die Human- und die Veterinärmedizin epidemiologisch wie auch klinisch. *C. trachomatis*, ein Humanpathogen, führt durch unzureichende Hygiene, Immunität oder Behandlungen zu rezidivierenden Infektionen und somit in weiterer Folge zur Entstehung eines Trachoms. Durch diese wiederholten Entzündungen und damit einhergehenden morphologischen Veränderungen des Augenlids und der Hornhaut kommt es zur Erblindung. Da es sich um die häufigste Ursache für eine infektionsbedingte Erblindung handelt und bisherige Behandlungsmethoden mit Antibiotika nicht ausreichend sind, um die Krankheit zu minimieren und zu bekämpfen und das Problem mit sich bringt, Antibiotikaresistenzen voranzutreiben, steht die Erforschung eines geeigneten Impfstoffes an oberster Priorität. Seit vielen Jahren wird daran gearbeitet – bisher ohne Erfolg. Ein Grund dafür liegt darin, dass es noch kein geeignetes Tiermodell gibt, das für diese Forschung geeignet ist. In der gegenständigen Arbeit, in der das Schwein anhand einer okulären Infektion von sechs Wochen alten Ferkeln als Tiermodell getestet wurde, wurden die klinischen Symptome in einer *C. trachomatis* (Serovar A/SA1/OT) - Infektionsgruppe, einer mit dem *C. suis* Referenzstamm S45 infizierten Positivkontrollgruppe sowie einer Negativkontrolle erhoben. Der Versuch dauerte von der Infektion an (SD0) bis zur Euthanasie (SD19) rund drei Wochen und die drei Gruppen wurden räumlich getrennt im Kontumazstall der Universitätsklinik für Schweine an der Veterinärmedizinischen Universität Wien aufgestellt. Die Tiere wurden täglich klinisch untersucht und die Augen und deren Strukturen nach einem definierten Untersuchungsschema begutachtet und definierte Augenstrukturen fotografiert. Die Tiere der *C. trachomatis* Gruppe zeigten während des ganzen Versuchs keine für das Trachom spezifischen klinischen Anzeichen. Minimale, kurzzeitige Auffälligkeiten wiesen nicht ausreichend auf eine erfolgreiche Infektion hin. Warum es zu keiner Infektion kam, könnten beispielsweise am engen Wirtsspektrum von *C. trachomatis*, aber auch an der Infektionsdosis, der mangelnden Zeit für Reinfektionen und mangelnden Ko-infektionen liegen. *C. suis* infizierte Tiere zeigten hingegen deutliche klinische Anzeichen einer Konjunktivitis und Lidödeme. Die Kontrolltiere zeigen zu keinem Zeitpunkt klinische Abweichungen von der Norm. Die Hypothese, dass Aufzuchtferkel durch eine einmalige okuläre Infektion mit *C. trachomatis* Veränderungen an den Konjunktividen, Skleren, Cornea und der Umgebung, Augenausfluss, sowie konjunktivale Follikel, sogenannte Granulome, verursacht, musste verworfen werden.

Um das Schwein in Zukunft als Tiermodell für die Trachomforschung verwenden zu können, müssen noch weitere Modifikationen des Versuchsablaufes sowie der Infektion stattfinden.

7. Summary

Chlamydia spp. are gram-negative, obligate intracellular bacteria with a broad host spectrum and are of worldwide concern to human and veterinary medicine, both epidemiologically and clinically. *C. trachomatis*, a human pathogen, leads to recurrent infections due to inadequate hygiene, immunity or treatments, and thus subsequently to the development of trachoma. The repeated infections and the associated morphological changes in the eyelid and cornea lead to blindness. As this is the most common cause of infection-related blindness, the research into a suitable vaccine is a top priority. The current treatment methods with antibiotics are not sufficient to minimize and combat the disease and cause the problem of increasing antibiotic resistance. Work on this has been going on for many years - so far without success.

One reason for this could be the fact that there is still no animal model suitable for this research. In the present study, in which the pig was tested as an animal model on the basis of an ocular infection of six-week-old piglets the clinical symptoms were recorded in a *C. trachomatis* (serovar A/SA1/OT) infection group, a positive control group using the *C. suis* reference strain S45 and a negative control.

The experiment lasted from infection (SD0) to euthanasia (SD19) for about three weeks and the three groups were housed separated in the infection facility stable of the University Clinic for Swine at the University of Veterinary Medicine Vienna. The animals were clinically examined daily. The eyes and their structures were assessed according to a defined examination scheme and the defined eye structures were photographed.

The animals of the *C. trachomatis* group showed no clinical signs specific for the trachoma during the entire experiment. Minimal short-term abnormalities did not indicate sufficient evidence of an effective infection. Why no infection occurred could be explained by the narrow host range of *C. trachomatis*, but also the lack of time for reinfections and a lack of co-infections.

C. suis infected animals, however, showed clear clinical signs of conjunctivitis and eyelid edema. The control animals did not show any clinical deviations from the norm at any time. The hypothesis that a single ocular infection with *C. trachomatis* caused changes in the conjunctiva, sclera, cornea and the surrounding area, eye discharge and conjunctival follicles, so-called granulomas, had to be rejected.

In order to be able to use the pig as an animal model for trachoma research in the future, further modifications of the test procedure as well as an infection must occur.

8. Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Entwicklungszyklus der Chlamydien; Umwandlung der Elementarkörperchen in Retikularkörperchen und Darstellung des Resistenzstadiums (Tan et al. 2020).....	4
Abb. 2: Klinische Merkmale des Trachoms und das vereinfachte WHO-Grading (Taylor et al. 2014) (A) TF, (B) TI, (C) TS, (D) TT, (E) CO	10
Abb. 3: zeitlicher Überblick über den Versuchsablauf beginnend sieben Tage vor Infektion (SD-7) bis zum Ende der Studie am SD19. SD=Studientag.....	19
Abb. 4: Okuläre Infektion mit definierten Chlamydienstämmen bzw. PBS mittels Mikropipette in das rechte Auge, Studientag (SD) 0.....	20
Abb. 5: Fotografieren der Augenstrukturen während des täglichen Augenuntersuchungsganges.....	21
Abb. 6: Spreizen des oberen und unteren Augenlides für die Augenbeurteilung, rechtes Auge	21
Abb. 7: Darstellung der Bindehäute des Auges.....	23
Abb. 8: Verlauf der Gewichtszunahme der Gruppen I-III während der Studie, am SD0, SD2, SD7, SD14 und SD19 (SD=Studientag)	25
Abb. 9: Gesamtbeurteilung ($\sum \triangleq$ Score und Anzahl der betroffenen Tiere) der Kotkonsistenz der drei Gruppen (I-III) über einen Zeitraum von 19 Tagen.....	25
Abb. 10: Darstellung der Augen und Bindehäute von Schweinen mit einer <i>C. trachomatis</i> Infektion von Studientag 2 bis 8	27
Abb. 11: Gesamtbeurteilung ($\sum \triangleq$ Score und Anzahl der betroffenen Tiere) der Rötungen des Unterlides links der drei Gruppen (I-III) über einen Zeitraum von 19 Tagen, repräsentativ für beide Unterlider.....	28
Abb. 12: Gesamtbeurteilung ($\sum \triangleq$ Score und Anzahl der betroffenen Tiere) des Grads der Ödematisierung am Unterlid links der drei Gruppen (I-III) über einen Zeitraum von 19 Tagen, repräsentativ für beide Unterlider.....	28
Abb. 13: Gesamtbeurteilung ($\sum \triangleq$ Score und Anzahl der betroffenen Tiere) der Rötungen am Oberlid rechts der drei Gruppen (I-III) über einen Zeitraum von 19 Tagen, repräsentativ für beide Oberlider	29
Abb. 14: Gesamteurteilung ($\sum \triangleq$ Score und Anzahl der betroffenen Tiere) der Ödematisierung am Oberlid links der drei Gruppen (I-III) über einen Zeitraum von 19 Tagen, repräsentativ für beide Oberlider.....	30
Abb. 15: Gesamtbeurteilung ($\sum \triangleq$ Score und Anzahl der betroffenen Tiere) der Rötungen am Unterlid, an der tarsalen Bindehaut links der drei Gruppen (I-III) über einen Zeitraum von 19 Tagen, repräsentativ für beide Unter- und Oberlider	30
Abb. 16: Gesamtbeurteilung ($\sum \triangleq$ Score und Anzahl der betroffenen Tiere) der Rötungen bulbäre Bindehaut rechts der drei Gruppen (I-III) über einen Zeitraum von 19 Tagen, repräsentativ für beide Unter- und Oberlider.....	31
Abb. 17: Abbildung der Augen und Bindehäute mit besonderem Augenmerk auf Ödeme und Rötungen der Lidbindehäute von SD1 bis SD7	32
Abb. 18: Gesamtbeurteilung ($\sum \triangleq$ Score und Anzahl der betroffenen Tiere) Augenausfluss links der drei Gruppen (I-III) über einen Zeitraum von 19 Tagen, repräsentativ für beide Augen	34

Abb. 19: Gesamtbeurteilung ($\Sigma \triangleq$ Score und Anzahl der betroffenen Tiere) des Nasenausflusses der drei Gruppen (I-III) über einen Zeitraum von 19 Tagen 35

9. Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Übersicht über die aktuell bekannten Chlamydienpezies, dem dazugehörigen Hauptwirt sowie Angaben zum Zoonosepotential. <i>C. trachomatis</i> und <i>C. suis</i> als Hauptinteresse dieser Studie sind hervorgehoben	5
Tab. 2: WHO Trachoma -Bewertungsskala nach (Thylefors et al. 1987).....	9
Tab. 3: Übersicht über angewandte Inokula in den drei verschiedenen Gruppen.....	18
Tab. 4: Augenbeurteilungsscore.....	22

10. Literaturverzeichnis

- Abdelsamed H, Peters J, Byrne GI. 2013. Genetic variation in *Chlamydia trachomatis* and their hosts: impact on disease severity and tissue tropism. *Future microbiology*, 8 (9): 1129–1146. DOI 10.2217/fmb.13.80.
- Amaral AF, Rahman KS, Kick AR, Cortes LM, Robertson J, Kaltenboeck B, Gerdt V, O'Connell CM, Poston TB, Zheng X, Liu C, Omesi SY, Darville T, Käser T. 2020. Mucosal Vaccination with UV-Inactivated *Chlamydia suis* in Pre-Exposed Outbred Pigs Decreases Pathogen Load and Induces CD4 T-Cell Maturation into IFN- γ + Effector Memory Cells. *Vaccines*, 8 (3). DOI 10.3390/vaccines8030353.
- Augenarzt <http://www.augenarzt.com/erkrankungen/vorderer-augenabschnitt/trachom.html> (Zugriff 01.06.2021)
- Araújo Silva MB, Andrade MS, Oliveira YV de, Santiago Marques MG, Mourão Pinho C, Araújo de Miranda Lopes K. 2017. Trachoma as cause of blindness: literature review. *International Archives of Medicine*, 10. DOI 10.3823/2326.
- Bachmann NL, Polkinghorne A, Timms P. 2014. *Chlamydia* genomics: providing novel insights into chlamydial biology. *Trends in microbiology*, 22 (8): 464–472. DOI 10.1016/j.tim.2014.04.013.
- Bailey R, Duong T, Carpenter R, Whittle H, Mabey D. 1999. The duration of human ocular *Chlamydia trachomatis* infection is age dependent. *Epidemiology and infection*, 123 (3): 479–486. DOI 10.1017/S0950268899003076.
- Bannantine JP, Rockey DD. 1999. Use of primate model system to identify *Chlamydia trachomatis* protein antigens recognized uniquely in the context of infection. *Microbiology (Reading, England)*, 145 (Pt 8): 2077–2085. DOI 10.1099/13500872-145-8-2077.
- Bastidas RJ, Elwell CA, Engel JN, Valdivia RH. 2013. Chlamydial intracellular survival strategies. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 3 (5): a010256. DOI 10.1101/cshperspect.a010256.
- Baumgartner W, Wittek T, Hrsg. 2018. *Klinische Propädeutik der Haus- und Heimtiere*. Stuttgart: Enke Verlag.
- Becker A, Lutz-Wohlgroth L, Brugnera E, Lu ZH, Zimmermann DR, Grimm F, Grosse Beilage E, Kaps S, Spiess B, Pospischil A, Vaughan L. 2007. Intensively kept pigs pre-disposed to chlamydial associated conjunctivitis. *Journal of veterinary medicine. A, Physiology, pathology, clinical medicine*, 54 (6): 307–313. DOI 10.1111/j.1439-0442.2007.00963.x.
- Borel N, Regenscheit N, Di Francesco A, Donati M, Markov J, Masserey Y, Pospischil A. 2012. Selection for tetracycline-resistant *Chlamydia suis* in treated pigs. *Veterinary microbiology*, 156 (1-2): 143–146. DOI 10.1016/j.vetmic.2011.10.011.
- Brunham RC, Rekart ML. 2008. The arrested immunity hypothesis and the epidemiology of chlamydia control. *Sexually transmitted diseases*, 35 (1): 53–54. DOI 10.1097/OLQ.0b013e31815e41a3.

- Budai I. 2007. Chlamydia trachomatis: milestones in clinical and microbiological diagnostics in the last hundred years: a review. *Acta microbiologica et immunologica Hungarica*, 54 (1): 5–22. DOI 10.1556/AMicr.54.2007.1.2.
- Burton M, Habtamu E, Ho D, Gower EW. 2015. Interventions for trachoma trichiasis. *The Cochrane database of systematic reviews*, (11): CD004008. DOI 10.1002/14651858.CD004008.pub3.
- Camenisch U, Lu ZH, Vaughan L, Corboz L, Zimmermann DR, Wittenbrink MM, Pospischil A, Sydler T. 2004. Diagnostic investigation into the role of Chlamydiae in cases of increased rates of return to oestrus in pigs. *The Veterinary record*, 155 (19): 593–596. DOI 10.1136/vr.155.19.593.
- Cevenini R, Donati M, Sambri V. 2002. Chlamydia trachomatis - the agent. *Best practice & research. Clinical obstetrics & gynaecology*, 16 (6): 761–773. DOI 10.1053/beog.2002.0323.
- Chang HI Chin Hy, Wang kc. 1964. Experimental studies on trachoma vaccine in monkeys. *Chinese medical journal (Peking, China : 1932)*, 83: 755–762.
- Clarke IN. 2011. Evolution of Chlamydia trachomatis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1230: E11-8. DOI 10.1111/j.1749-6632.2011.06194.x.
- Clercq E de, Kalmar I, Vanrompay D. 2013. Animal models for studying female genital tract infection with Chlamydia trachomatis. *Infection and immunity*, 81 (9): 3060–3067. DOI 10.1128/IAI.00357-13.
- Collier LH, Mogg AE. 1969. Dissemination and immunogenicity of live TRIC agent in baboons after parenteral injection. II. Experiments with a 'slow-killing' strain. *The Journal of hygiene*, 67 (3): 449–455. DOI 10.1017/s0022172400041863.
- Congdon N, West S, Vitale S, Katala S, Mmbaga BB. 1993. Exposure to children and risk of active trachoma in Tanzanian women. *American journal of epidemiology*, 137 (3): 366–372. DOI 10.1093/oxfordjournals.aje.a116683.
- Cossé MM, Hayward RD, Subtil A. 2018. One Face of Chlamydia trachomatis: The Infectious Elementary Body. *Current topics in microbiology and immunology*, 412: 35–58. DOI 10.1007/82_2016_12.
- Darougar S. 1981. Chlamydial ocular infection. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 8 (5): 350–354. DOI 10.1093/jac/8.5.350.
- Denayer T, Stöhr T, van Roy M. 2017. Animal models in translational medicine: Validation and prediction. *European Journal of Molecular & Clinical Medicine*, 2 (1): 5. DOI 10.1016/j.nhtm.2014.08.001.
- Di Francesco A, Donati M, Rossi M, Pignanelli S, Shurdhi A, Baldelli R, Cevenini R. 2008. Tetracycline-resistant Chlamydia suis isolates in Italy. *The Veterinary record*, 163 (8): 251–252. DOI 10.1136/vr.163.8.251.
- Eggemann G, Wendt M, Hoelzle LE, Jäger C, Weiss R, Failing K. 2000. Zum Vorkommen von Chlamydien-Infektionen in Zuchtsauenbeständen und deren Bedeutung für das Fruchtbarkeitsgeschehen. *DTW. Deutsche tierärztliche Wochenschrift*, 107 (1): 3–10.

Ejere HOD, Alhassan MB, Rabiou M. 2012. Face washing promotion for preventing active trachoma. *The Cochrane database of systematic reviews*, (4): CD003659. DOI 10.1002/14651858.CD003659.pub3.

Elwell C, Mirrashidi K, Engel J. 2016. Chlamydia cell biology and pathogenesis. *Nature reviews. Microbiology*, 14 (6): 385–400. DOI 10.1038/nrmicro.2016.30.

Emerson PM, Bailey RL, Mahdi OS, Walraven GEL, Lindsay SW. 2000. Transmission ecology of the fly *Musca sorbens*, a putative vector of trachoma. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 94 (1): 28–32. DOI 10.1016/S0035-9203(00)90427-9.

Englund S, af Segerstad CH, Arnlund F, Westergren E, Jacobson M. 2012. The occurrence of *Chlamydia* spp. in pigs with and without clinical disease. *BMC veterinary research*, 8: 9. DOI 10.1186/1746-6148-8-9.

Essig A, Marre R. 1997. Diagnostik und Therapie von Chlamydieninfektionen. *Deutsche medizinische Wochenschrift* (1946), 122 (31-32): 971–975. DOI 10.1055/s-2008-1047717.

Evans JR, Solomon AW, Kumar R, Perez Á, Singh BP, Srivastava RM, Harding-Esch E. 2019. Antibiotics for trachoma. *The Cochrane database of systematic reviews*, 9: CD001860. DOI 10.1002/14651858.CD001860.pub4.

Gerdts V, Wilson HL, Meurens F, van Drunen Littel-van den Hurk S, Wilson D, Walker S, Wheler C, Townsend H, Potter AA. 2015. Large animal models for vaccine development and testing. *ILAR journal*, 56 (1): 53–62. DOI 10.1093/ilar/ilv009.

Greenland K, White S, Sommers K, Biran A, Burton MJ, Sarah V, Alemayehu W. 2019. Selecting behaviour change priorities for trachoma 'F' and 'E' interventions: A formative research study in Oromia, Ethiopia. *PLoS neglected tropical diseases*, 13 (10): e0007784. DOI 10.1371/journal.pntd.0007784.

Guscetti F, Schiller I, Sydler T, Heinen E, Pospischil A. 2009. Experimental enteric infection of gnotobiotic piglets with *Chlamydia suis* strain S45. *Veterinary microbiology*, 135 (1-2): 157–168. DOI 10.1016/j.vetmic.2008.09.038.

Harris SR, Clarke IN, Seth-Smith HMB, Solomon AW, Cutcliffe LT, Marsh P, Skilton RJ, Holland MJ, Mabey D, Peeling RW, Lewis DA, Spratt BG, Unemo M, Persson K, Bjartling C, Brunham R, Vries HJC de, Morr  SA, Speksnijder A, B b ar CM, Clerc M, Barbeyrac B de, Parkhill J, Thomson NR. 2012. Whole-genome analysis of diverse *Chlamydia trachomatis* strains identifies phylogenetic relationships masked by current clinical typing. *Nature genetics*, 44 (4): 413-9, S1. DOI 10.1038/ng.2214.

Hoffmann K, Schott F, Donati M, Di Francesco A, H ssig M, Wanninger S, Sidler X, Borel N. 2015. Prevalence of Chlamydial Infections in Fattening Pigs and Their Influencing Factors. *PLoS one*, 10 (11): e0143576. DOI 10.1371/journal.pone.0143576.

Hu VH, Harding-Esch EM, Burton MJ, Bailey RL, Kadimpeul J, Mabey DCW. 2010. Epidemiology and control of trachoma: systematic review. *Tropical medicine & international health : TM & IH*, 15 (6): 673–691. DOI 10.1111/j.1365-3156.2010.02521.x.

- Hu VH, Holland MJ, Burton MJ. 2013. Trachoma: protective and pathogenic ocular immune responses to *Chlamydia trachomatis*. *PLoS neglected tropical diseases*, 7 (2): e2020. DOI 10.1371/journal.pntd.0002020.
- Jawetz E. 1965. Experimental Inclusion Conjunctivitis in Man. *JAMA*, 194 (6): 620. DOI 10.1001/jama.1965.03090190042012.
- Jonge MI de, Keizer SAS, El Moussaoui HM, van Dorsten L, Azzawi R, van Zuilekom HI, Peters PPW, van Opzeeland FJH, van Dijk L, Nieuwland R, Roosenboom-Theunissen HWM, Vrijenhoek MP, Debyser I, Verweij PJM, van Duijnhoven WGF, van den Bosch JF, Nuijten PJM. 2011. A novel guinea pig model of *Chlamydia trachomatis* genital tract infection. *Vaccine*, 29 (35): 5994–6001. DOI 10.1016/j.vaccine.2011.06.037.
- Kahn T, Bosch J, Levitt MF, Goldstein MH. 1975. Effect of sodium nitrate loading on electrolyte transport by the renal tubule. *The American journal of physiology*, 229 (3): 746–753. DOI 10.1152/ajplegacy.1975.229.3.746.
- Kari L, Bakios LE, Goheen MM, Bess LN, Watkins HS, Southern TR, Song L, Whitmire WM, Olivares-Zavaleta N, Caldwell HD. 2013. Antibody signature of spontaneous clearance of *Chlamydia trachomatis* ocular infection and partial resistance against re-challenge in a nonhuman primate trachoma model. *PLoS neglected tropical diseases*, 7 (5): e2248. DOI 10.1371/journal.pntd.0002248.
- Kari L, Whitmire WM, Olivares-Zavaleta N, Goheen MM, Taylor LD, Carlson JH, Sturdevant GL, Lu C, Bakios LE, Randall LB, Parnell MJ, Zhong G, Caldwell HD. 2011. A live-attenuated chlamydial vaccine protects against trachoma in nonhuman primates. *The Journal of experimental medicine*, 208 (11): 2217–2223. DOI 10.1084/jem.20111266.
- Karunakaran KP, Yu H, Foster LJ, Brunham RC. 2010. Development of a *Chlamydia trachomatis* T cell Vaccine. *Human vaccines*, 6 (8): 676–680. DOI 10.4161/hv.6.8.12299.
- Käser T, Cnudde T, Hamonic G, Rieder M, Pasternak JA, Lai K, Tikoo SK, Wilson HL, Meurens F. 2015. Porcine retinal cell line VIDO R1 and *Chlamydia suis* to modelize ocular chlamydiosis. *Veterinary immunology and immunopathology*, 166 (3-4): 95–107. DOI 10.1016/j.vetimm.2015.06.003.
- Käser T, Pasternak JA, Delgado-Ortega M, Hamonic G, Lai K, Erickson J, Walker S, Dillon JR, Gerdts V, Meurens F. 2017. *Chlamydia suis* and *Chlamydia trachomatis* induce multifunctional CD4 T cells in pigs. *Vaccine*, 35 (1): 91–100. DOI 10.1016/j.vaccine.2016.11.050.
- Käser T, Renois F, Wilson HL, Cnudde T, Gerdts V, Dillon J-AR, Jungersen G, Agerholm JS, Meurens F. 2018. Contribution of the swine model in the study of human sexually transmitted infections. *Infection, genetics and evolution : journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*, 66: 346–360. DOI 10.1016/j.meegid.2017.11.022.
- Kauffold J, Melzer F, Berndt A, Hoffmann G, Hotzel H, Sachse K. 2006. *Chlamydiae* in oviducts and uteri of repeat breeder pigs. *Theriogenology*, 66 (8): 1816–1823. DOI 10.1016/j.theriogenology.2006.04.042.

Khandekar R, Mohammed AJ. 2007. The prevalence of trachomatous trichiasis in Oman (Oman eye study 2005). *Ophthalmic epidemiology*, 14 (5): 267–272. DOI 10.1080/09286580601160622.

Last A, Versteeg B, Shafi Abdurahman O, Robinson A, Dumessa G, Abraham Aga M, Shumi Bejiga G, Negussu N, Greenland K, Czerniewska A, Thomson N, Cairncross S, Sarah V, Macleod D, Solomon AW, Logan J, Burton MJ. 2020. Detecting extra-ocular Chlamydia trachomatis in a trachoma-endemic community in Ethiopia: Identifying potential routes of transmission. *PLoS neglected tropical diseases*, 14 (3): e0008120. DOI 10.1371/journal.pntd.0008120.

Li M, Jelocnik M, Yang F, Gong J, Kaltenboeck B, Polkinghorne A, Feng Z, Pannekoek Y, Borel N, Song C, Jiang P, Li J, Zhang J, Wang Y, Wang J, Zhou X, Wang C. 2017. Asymptomatic infections with highly polymorphic Chlamydia suis are ubiquitous in pigs. *BMC veterinary research*, 13 (1): 370. DOI 10.1186/s12917-017-1295-x.

Longbottom D, Coulter LJ. 2003. Animal chlamydioses and zoonotic implications. *Journal of comparative pathology*, 128 (4): 217–244. DOI 10.1053/jcpa.2002.0629.

Lorenzen E, Follmann F, Jungersen G, Agerholm JS. 2015. A review of the human vs. porcine female genital tract and associated immune system in the perspective of using minipigs as a model of human genital Chlamydia infection. *Veterinary research*, 46 (1): 7. DOI 10.1186/s13567-015-0241-9.

Lossi L, D'Angelo L, Girolamo P de, Merighi A. 2016. Anatomical features for an adequate choice of experimental animal model in biomedicine: II. Small laboratory rodents, rabbit, and pig. *Annals of anatomy = Anatomischer Anzeiger : official organ of the Anatomische Gesellschaft*, 204: 11–28. DOI 10.1016/j.aanat.2015.10.002.

Mabey DCW, Hu V, Bailey RL, Burton MJ, Holland MJ. 2014. Towards a safe and effective chlamydial vaccine: lessons from the eye. *Vaccine*, 32 (14): 1572–1578. DOI 10.1016/j.vaccine.2013.10.016.

Mariotti SP. 2004. New steps toward eliminating blinding trachoma. *The New England journal of medicine*, 351 (19): 2004–2007. DOI 10.1056/NEJMe048205.

Marti H, Kim H, Joseph SJ, Dojiri S, Read TD, Dean D. 2017. Tet(C) Gene Transfer between Chlamydia suis Strains Occurs by Homologous Recombination after Co-infection: Implications for Spread of Tetracycline-Resistance among Chlamydiaceae. *Frontiers in microbiology*, 8: 156. DOI 10.3389/fmicb.2017.00156.

McShane H, Williams A. 2014. A review of preclinical animal models utilised for TB vaccine evaluation in the context of recent human efficacy data. *Tuberculosis (Edinburgh, Scotland)*, 94 (2): 105–110. DOI 10.1016/j.tube.2013.11.003.

Meurens F, Summerfield A, Nauwynck H, Saif L, Gerdts V. 2012. The pig: a model for human infectious diseases. *Trends in microbiology*, 20 (1): 50–57. DOI 10.1016/j.tim.2011.11.002.

Meyer T. 2007. Moderne Diagnostik der Chlamydia-trachomatis-Infektion. *Der Hautarzt; Zeitschrift für Dermatologie, Venerologie, und verwandte Gebiete*, 58 (1): 24–30. DOI 10.1007/s00105-006-1266-9.

Ming Tan, Johannes H. Hegemann and Christine Sütterlin. 2020. *Chlamydia Biology: From Genome to Disease*. Caister Academic Press.

Monnickendam MA, Darougar S, Treharne JD, Tilbury AM. 1980. Guinea-pig inclusion conjunctivitis as a model for the study of trachoma: clinical, microbiological, serological, and cytological studies of primary infection. *The British journal of ophthalmology*, 64 (4): 279–283. DOI 10.1136/bjo.64.4.279.

Morré SA, Rozendaal L, van Valkengoed IGM, Boeke AJP, van Voorst Vader PC, Schirm J, Blok S de, van den Hoek JAR, van Doornum GJJ, Meijer CJLM, van den Brule AJC. 2000. Urogenital Chlamydia trachomatis Serovars in Men and Women with a Symptomatic or Asymptomatic Infection: an Association with Clinical Manifestations? *Journal of Clinical Microbiology*, 38 (6): 2292–2296. DOI 10.1128/jcm.38.6.2292-2296.2000.

Müller T, Becker E, Stallmann S, Waldhuber A, Römmler-Dreher F, Albrecht S, Mohr F, Hegemann JH, Miethke T. 2017. Vaccination with the polymorphic membrane protein A reduces Chlamydia muridarum induced genital tract pathology. *Vaccine*, 35 (21): 2801–2810. DOI 10.1016/j.vaccine.2017.04.017.

Newman L, Rowley J, Vander Hoorn S, Wijesooriya NS, Unemo M, Low N, Stevens G, Gottlieb S, Kiarie J, Temmerman M. 2015. Global Estimates of the Prevalence and Incidence of Four Curable Sexually Transmitted Infections in 2012 Based on Systematic Review and Global Reporting. *PloS one*, 10 (12): e0143304. DOI 10.1371/journal.pone.0143304.

Provost PJ, Vickers JH. 1972. Attempted immunization against trachoma infection in baboons. *American journal of veterinary research*, 33 (3): 599–605.

Rabiu M, Alhassan MB, Ejere HOD, Evans JR. 2012. Environmental sanitary interventions for preventing active trachoma. *The Cochrane database of systematic reviews*, (2): CD004003. DOI 10.1002/14651858.CD004003.pub4.

Rank RG, White HJ, Hough AJ, Pasley JN, Barron AL. 1982. Effect of estradiol on chlamydial genital infection of female guinea pigs. *Infection and immunity*, 38 (2): 699–705. DOI 10.1128/iai.38.2.699-705.1982.

Rank RG, Whittum-Hudson JA. 1994. [6] Animal models for ocular infections, 235: 69–83. DOI 10.1016/0076-6879(94)35132-5.

Reinhold P, Kirschvink N, Theegarten D, Berndt A. 2008. An experimentally induced Chlamydia suis infection in pigs results in severe lung function disorders and pulmonary inflammation. *Veterinary research*, 39 (3): 35. DOI 10.1051/vetres:2008012.

RIS <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/trachoma> (Zugriff 23.10.2020)

Robinson NB, Krieger K, Khan FM, Huffman W, Chang M, Naik A, Yongle R, Hameed I, Krieger K, Girardi LN, Gaudino M. 2019. The current state of animal models in research: A review. *International journal of surgery (London, England)*, 72: 9–13. DOI 10.1016/j.ijsu.2019.10.015.

Rogers CS. 2016. Genetically engineered livestock for biomedical models. *Transgenic research*, 25 (3): 345–359. DOI 10.1007/s11248-016-9928-6.

Rogers DG, Andersen AA. 1999. Conjunctivitis caused by a swine *Chlamydia trachomatis*-like organism in gnotobiotic pigs. *Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 11 (4): 341–344. DOI 10.1177/104063879901100408.

Rogers DG, Andersen AA. 2000. Intestinal lesions caused by a strain of *Chlamydia suis* in weanling pigs infected at 21 days of age. *Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 12 (3): 233–239. DOI 10.1177/104063870001200306.

Rowley J, Toskin I, Ndowa F. 2012. Global incidence and prevalence of selected curable sexually transmitted infections, 2008. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 20.

Rowley J, Vander Hoorn S, Korenromp E, Low N, Unemo M, Abu-Raddad LJ, Chico RM, Smolak A, Newman L, Gottlieb S, Thwin SS, Broutet N, Taylor MM. 2019. Chlamydia, gonorrhoea, trichomoniasis and syphilis: global prevalence and incidence estimates, 2016. *Bulletin of the World Health Organization*, 97 (8): 548-562P. DOI 10.2471/BLT.18.228486.

Sachse K, Vretou E, Livingstone M, Borel N, Pospischil A, Longbottom D. 2009. Recent developments in the laboratory diagnosis of chlamydial infections. *Veterinary microbiology*, 135 (1-2): 2–21. DOI 10.1016/j.vetmic.2008.09.040.

Schachter J, Caldwell HD. 1980. Chlamydiae. *Annual review of microbiology*, 34: 285–309. DOI 10.1146/annurev.mi.34.100180.001441.

Schautteet K, Vanrompay D. 2011a. Chlamydiaceae infections in pig. *Veterinary research*, 42: 29. DOI 10.1186/1297-9716-42-29.

Schoborg RV. 2011. Chlamydia persistence -- a tool to dissect chlamydia--host interactions. *Microbes and infection*, 13 (7): 649–662. DOI 10.1016/j.micinf.2011.03.004.

Solomon, Anthony W. Evans, Jennifer R.; Kumar, Rahul; Perez, Ángela; Singh, Balendra P.; Srivastava, Rajat Mohan; Harding-Esch, Emma Mabey D. 2007. Trachoma. *BMJ Clinical Evidence*, 2007. Antibiotics for trachoma; DOI 10.1002/14651858.CD001860.pub4

Stocks ME, Ogden S, Haddad D, Addiss DG, McGuire C, Freeman MC. 2014. Effect of water, sanitation, and hygiene on the prevention of trachoma: a systematic review and meta-analysis. *PLoS medicine*, 11 (2): e1001605. DOI 10.1371/journal.pmed.1001605.

Tan A-K. 2019. Ophthalmia Neonatorum. *The New England journal of medicine*, 380 (2): e2. DOI 10.1056/NEJMicm1808613.

Tan M, Hegemann J, Suetterlin C. 2020. CHLAMYDIA BIOLOGY. From genome to disease. [S.l.]: Caister Academic Press, 1 volume.

Taylor HR, Burton MJ, Haddad D, West S, Wright H. 2014. Trachoma. *The Lancet*, 384 (9960): 2142–2152. DOI 10.1016/S0140-6736(13)62182-0.

Thoma R, Guscetti F, Schiller I, Schmeer N, Corboz L, Pospischil A. 1997. Chlamydiae in porcine abortion. *Veterinary pathology*, 34 (5): 467–469. DOI 10.1177/030098589703400512.

Thylefors B, Dawson CR, Jones BR, West SK, Taylor HR. 1987. A simple system for the assessment of trachoma and its complications. *Bulletin of the World Health Organization*, 65 (4): 477–483.

Tuffrey M, Falder P, Taylor-Robinson D. 1982. Genital-tract infection and disease in nude and immunologically competent mice after inoculation of a human strain of *Chlamydia trachomatis*. *British journal of experimental pathology*, 63 (5): 539–546.

Turner GV. 1982. A microbiological study of polyarthritis in slaughter pigs. *Journal of the South African Veterinary Association*, 53 (2): 99–101 PMID: 6750122

Unterweger C, Ruczizka U, Hießberger N, Spargser J, Hennig-Pauka I. 2018. Diagnostische Abklärung von Aborten bei Zuchtsauen nach Leptospiren- und Chlamydieninfektion. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde*, 160 (7-8): 475–480. DOI 10.17236/sat00171.

Unterweger C, Schwarz L, Jelocnik M, Borel N, Brunthaler R, Inic-Kanada A, Marti H. 2020. Isolation of Tetracycline-Resistant *Chlamydia suis* from a Pig Herd Affected by Reproductive Disorders and Conjunctivitis. *Antibiotics*, 9 (4). DOI 10.3390/antibiotics9040187.

van Lansingh C. 2016. Trachoma. *BMJ Clinical Evidence*, 2016. PMID: [26860629](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26860629/)

Vanrompay D, Hoang TQT, Vos L de, Verminnen K, Harkinezhad T, Chiers K, Morré SA, Cox E. 2005. Specific-pathogen-free pigs as an animal model for studying *Chlamydia trachomatis* genital infection. *Infection and immunity*, 73 (12): 8317–8321. DOI 10.1128/IAI.73.12.8317-8321.2005.

Vastine DW, Dawson CR, Daghfous T, Messadi M, Hoshiwara I, Yoneda C, Nataf R. 1974. Severe endemic trachoma in Tunisia. I. Effect of topical chemotherapy on conjunctivitis and ocular bacteria. *The British journal of ophthalmology*, 58 (10): 833–842. DOI 10.1136/bjo.58.10.833.

Wang SP, Grayston JT. 1991. Three new serovars of *Chlamydia trachomatis*: Da, Ia, and L2a. *The Journal of infectious diseases*, 163 (2): 403–405. DOI 10.1093/infdis/163.2.403.

Wang Y. 1999. Etiology of trachoma: a great success in isolating and cultivating *Chlamydia trachomatis*. *Chinese medical journal*, 112 (10): 938–941.

Wanninger S, Donati M, Di Francesco A, Hässig M, Hoffmann K, Seth-Smith HMB, Marti H, Borel N. 2016. Selective Pressure Promotes Tetracycline Resistance of *Chlamydia Suis* in Fattening Pigs. *PLoS one*, 11 (11): e0166917. DOI 10.1371/journal.pone.0166917.

West SK, Muñoz B, Mkocha H, Hsieh YH, Lynch MC. 2001. Progression of active trachoma to scarring in a cohort of Tanzanian children. *Ophthalmic epidemiology*, 8 (2-3): 137–144. DOI 10.1076/oep.8.2.137.4158.

WHO <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/trachoma> (Zugriff 23.10.2020)

Wolle MA, Muñoz BE, Mkocha H, West SK. 2009. Constant ocular infection with *Chlamydia trachomatis* predicts risk of scarring in children in Tanzania. *Ophthalmology*, 116 (2): 243–247. DOI 10.1016/j.ophtha.2008.09.011.

Woollen N, Daniels EK, Yeary T, Leipold HW, Phillips RM. 1990. Chlamydial infection and perinatal mortality in a swine herd. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 1990.

World health organisation <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/trachoma> (Zugriff: 02.04.2021)

Wright HR, Turner A, Taylor HR. 2007. Trachoma and poverty: unnecessary blindness further disadvantages the poorest people in the poorest countries. *Clinical & experimental optometry*, 90 (6): 422–428. DOI 10.1111/j.1444-0938.2007.00218.x.

Wyrick PB. 2010. *Chlamydia trachomatis* persistence in vitro: an overview. *The Journal of infectious diseases*, 201 Suppl 2: S88-95. DOI 10.1086/652394.

Yang JL, Schachter J, Moncada J, Habte D, Zerihun M, House JI, Zhou Z, Hong KC, Maxey K, Gaynor BD, Lietman TM. 2007. Comparison of an rRNA-based and DNA-based nucleic acid amplification test for the detection of *Chlamydia trachomatis* in trachoma. *The British journal of ophthalmology*, 91 (3): 293–295. DOI 10.1136/bjo.2006.099150.