

Abschlussbericht ANIHWA-ER-NET

„Improved understanding of the epidemiology of peste des petits ruminants; IUEPPR“

Zuwendungsempfänger: Friedrich-Loeffler-Institut, Institut für Virusdiagnostik (Prof. Dr. Martin Beer)	Förderkennzeichen: 2813ERA074
Vorhabenbezeichnung (in Deutsch): „Verbesserung des Verständnis zur Epidemiologie der Peste der kleinen Wiederkäuer-Erkrankung“	
Laufzeit des Vorhabens: 01.12.2013 bis 30.11.2017 (4 Jahre)	
Berichtszeitraum: 01.12.2013 bis 30.11.2017	

1. Aufzählung der wichtigsten wissenschaftlich-technischen Ergebnisse und andere wesentliche Ereignisse

Work Package 2: Rapid detection of PPR in the field for early warning and prevention of outbreak

Milestones 2.2 und 2.7: Entwicklung sensitiver, schneller diagnostischer Verfahren für den Nachweis von PPRV-Genom in Wild- und Nutztieren mittels „pen-side“ Tests im Feld.

Die Ergebnisse des Vergleichs der Sensitivität der neu entwickelten PPRV RT-PCR-Assays mit veröffentlichten PPRV-PCR-Assays ergaben, dass die Sensitivität der neu entwickelten PCR-Assays für Vertreter der vier PPRV Linien vergleichbare Ergebnisse liefern, wie jene der sensitivsten veröffentlichten PCR-Teste (Polci et al. 2013, Batten et al. 2011). Die sensitivsten und robustesten PCR-Assays wurden in den Folgemonaten intensiv auch auf Ihre Funktionalität für molekulare *pen-side* Tests geprüft.

Der Vergleich zweier kommerziell erhältlicher PCR-Kits (Hersteller Quanta und Bionline) und zweier publizierter PCR-Assays (Bao et al. 2008 und Kwiatek et al. 2010) zeigte, dass das Bionline Kit zusammen mit dem PCR-Assay von Bao et al. (2008) verlässlichere und eindeutige Resultate lieferte. Die Validierung der geeignetsten PCR-Assays und -Protokolle erfolgte anhand verschiedener Probenpanels (Kot, Speichel, oranasal-, konjunktival-, rektal-Tupfer), die von experimentell PPRV-infizierten Tieren gewonnen wurden (siehe Ausführungen zu WP 4).

Die vergleichenden Untersuchungen verschiedener PPRV *real-time* reverse transcription-PCR (RT-qPCR)-Assays mit Tierversuchsproben unterschiedlicher Materialien aus 7 Transmissionsstudien mit 7 verschiedenen Paarhuferarten (*Artiodactyla*; siehe unten, WP 4) ergaben, dass die veröffentlichten PCR-Assays von Bao et al. (2008) und Batten et al. (2011) robust funktionieren, der PCR-Assay von Batten et al. (2011) jedoch etwas sensitiver ist. Dazu wurden oronasale, konjunktivale und fäkale Tupferproben, EDTA-Blut, Serum und Gewebe bis zu 31 unterschiedlicher Organe von Rindern, Dromedaren, Lamas, Alpakas, Schweinen, Schafen und Ziegen analysiert.

PPRV-RNA konnte dabei nach PPRV-Infektion bis zu 3,5 Wochen bei Schweinen, bis zu 11 Wochen bei Ziegen, mindestens 3 Wochen bei Schafen und bis zu 2 Wochen bei Neuweltkameliden nachgewiesen werden.

Auch der Nachweis von PPRV-Antikörpern mittels kompetitivem ELISA (cELISA) zeigte für die Seren aller Tierarten eine hohe Sensitivität, jedoch war der PPRV-Antikörperspiegel einiger Kameliden nahe darüber oder darunter des festgelegten cut-off dieses serologischen Testverfahrens. **Eine Möglichkeit die Sensitivität der Diagnose von PPRV-Antikörpern mittels cELISA bei Kameliden zu erhöhen, wäre in erster Linie eine Anpassung des cut-offs dieses Testes.** Dies wurde zudem mit dem Testhersteller diskutiert.

Insgesamt 87 Proben von experimentell mit PPRV infizierten Tieren aller sieben *Artiodactyla*-Arten wurden für vergleichende Untersuchungen folgender virologischer und molekularer Testverfahren ausgewählt: RT-qPCR (PCR), Virusisolierung mittels Zellkultur (Vi), Antigen-ELISA, Lateral Flow Device (LFD). **Die Ergebnisse zeigten, dass der Nachweis mittels PCR-Assays am sensitivsten ist und sich für alle untersuchten Tierarten eignet.**

Für die meisten Materialien der Ziegenproben ergaben sich ähnliche Ergebnisse mittels PCR, Virusisolierung und Antigen-ELISA. Allerdings eignete sich nur die PCR für den Virusnachweis in EDTA-Blut und isolierten weißen Blutzellen (Leukozyten) aller Tierarten. PPRV-positive Ergebnisse konnten für Proben von Rindern und Neuweltkameliden nur mittels PCR ermittelt werden. Nur wenige der PPRV und PPRV-Genom-positiven Schweineproben mit moderater Viruslast konnten auch mittels Antigen-ELISA als positiv erkannt werden.

Die Prüfung der Testung vor Ort mittels LFD (lateral-flow-device; ein ‚pen-side‘ Test zur schnellen Diagnose von PPRV im Feld) ergab, dass sich solche Tests nur für die PPRV-Diagnose in hoch bis moderat viruslastigen Tupferproben (Cq-Werte < 25; TCID₅₀/ml ≥ 10^{3.5}) und Serumproben (Cq-Werte < 33) von Ziegen eignen. Das ist ein wichtiges Ergebnis für die Einordnung solcher Testergebnisse und für die Nutzung dieser Assays im Ausbruchfall. Nur positive Ergebnisse haben dabei daher eine Aussagekraft. Negative Proben müssen im Labor nachgetestet werden.

Die Robustheit und Eignung verschiedener veröffentlichter sowie selbst entwickelter PPRV PCR-Assays als „pen-side“ Tests für die schnelle molekulare PPRV-Diagnose im Feld wurde schließlich in der letzten Projektperiode mit Referenzproben aus den Transmissionsstudien mit den 7 *Artiodactyla*-Arten (siehe unten, WP 4) validiert.

WP 3: Molecular epidemiology of PPR using next-generation sequencing (NGS) Technology

M3.1 bis M3.5: Molekulare Epidemiologie mittels NGS

Ein standardisiertes Protokoll für die Vorbereitung von Proben zur PPRV-Vollängengensequenzierung (*whole-genome sequencing*) mittels Tiefensequenzierung (next-generation sequencing = NGS) wurde im Projekt entwickelt und zur Anwendungsreife gebracht. Beim Vergleich zweier Kits konnten bei vergleichbarer Datenmenge in der cDNA ungefähr doppelt so viele PPRV-Reads (read = kurzes Genomfragment, das durch NGS generiert wird) mit einem Kit des Herstellers Quanta als mit einem von Roche detektiert werden.

Die Sequenzierung eines während eines PPRV-Ausbruchs in Wildziegen (Bezoarziegen) in Kurdistan isolierten PPRV der Linie 4 (Hoffmann et al. 2012), ergab die höchste Homologie zu einem Isolat aus der Türkei (PPRV-Turkey-2000). Eine Teilsequenz des Kurdistan Isolat wurde bereits in einer international genutzten Datenbank (GenBank) veröffentlicht (Wernike et al. 2014). Drei PPRV Stämme der Linien 1 bis 3 wurden dem FLI vom OIE Referenzlabor in Pirbright zugesandt. Diese vier beschriebenen PPRV werden als Referenzstämme für die vier PPRV-Linien verwendet. Weitere neue

Isolate z.B. aus Indien werden mit der etablierten Methodik analysiert und für phylogenetische sowie epidemiologische und evolutionäre Analysen genutzt. **Die etablierte NGS-Methodik kann für zukünftige Ausbruchsanalysen genutzt werden und soll auch beim ersten Ausbruch in der EU (Bulgarien, Ende Juni 2018) zum Einsatz kommen.**

Der Vergleich zweier für Morbilliviren geeigneter Zelllinien, Vero DOG-SLAM (VDS) (von Messling et al. 2003) und goat-SLAM/CHS-20 (Adombi et al. 2011), zeigte, dass mit VDS-Zellen ein konstant hoher Virustiter des PPRV-Kurdistan-2011 über 10 Passagen erhalten werden konnte. Im Gegensatz dazu, zeigte dasselbe in CHS-20-Zellen angezüchtete PPRV in jeder Folgepassage einen zunehmend schwächer werdenden Virustiter sowie eine deutlich abnehmende Genomlast (PCR). Ab der 6. Passage konnte PPRV in CHS-20-Zellen nicht mehr weiter vermehrt werden.

Erste Untersuchungen zur Identifizierung von seltenen Mutationen, die zur Attenuierung von PPRV in-vitro führen, zeigten bei der Sequenzierung von PPRV nach der 10. Passage auf VDS-Zellen, dass nur in einem Teil der Virionen geringste Veränderungen in der Basensequenz vorhanden sind. Interessanterweise nahm die Diversität der Varianten sogar deutlich ab und lediglich der nichtkodierende Bereich zwischen M- und F-Protein zeigt immer noch Varianten (im Vergleich zum Rest des Genomes). Zudem konnte kein abgeschwächter Virustiter nach der 10. Passage festgestellt werden (siehe oben). Ein PPRV Isolat, das aus Ziegen mit klinischen Symptomen während eines PPRV Ausbruches in Shahjadpur in Indien isoliert wurde (PPRV/India/Shahjadpur/2013), wurde von Naveen Kumar (Central Institute for Research on Goats, Indian Council of Agricultural Research, Makhdoom, District-Mathura, India) zur Vollständigensequenzierung mittels NGS am FLI zur Verfügung gestellt. Die höchste Sequenzhomologie wurde zu einem PPRV Linie 4 Isolat aus Indien (PPRV/India/TN/Gnigee/2014) gefunden.

Des Weiteren wurden von PPRV Isolaten aus Bangladesh, Ägypten und dem Iran Teile der Genome sequenziert und damit ein Beitrag zu Erweiterung der Kollektion an PPRV Sequenzen geleistet. Diese Isolate konnten alle ebenfalls der PPRV Linie 4 zugeordnet werden. **Die Artikel zu den Isolaten aus Ägypten (Elhaig et al. *Circulation and genetic characterization of Peste des Petits Ruminants virus from Ismailia and Suez, Northeastern Egypt. Submitted for publication in Archives of Virology*) und dem Iran (Marashi et al. 2017. *PPRV outbreak in wild small ruminants. Emerging Infectious Diseases*) sind bei ‚peer-reviewed‘ Journals veröffentlicht. Diese Sequenzen wurden zudem über GenBank der Öffentlichkeit zugänglich gemacht.**

WP 4: Host specific pathogenicity studies for PPR

M4.1 bis M4.5: Wirtsspezifische Pathogenese- und Transmissionsstudien

In einem initialen Tierversuch wurde der aus Wildziegen (Bezoarziegen) in Kurdistan isolierte PPRV-Stamm der Linie 4 (PPRV-Kurdistan-2011) (Hoffmann et al. 2012) auf seine Virulenz in Ziegen und Schafen Deutscher Haustierrassen vergleichend getestet.

Alle 3 infizierten und die 3 Kontaktziegen zeigten schwere klinische Symptome, davon mussten 4 Ziegen aufgrund der Schwere der Symptome euthanasiert werden. Von 3 infizierten und 3 Kontaktschafen erkrankten alle bis auf 1 Kontaktschaf. Die Ziegen zeigten deutlich schwerwiegendere klinische Symptome als die Schafe. **Dieser Tierversuch wies erstmals darauf hin, dass PPRV-Kurdistan-2011 insbesondere für Europäische Ziegen hochvirulent und hochkontagiös ist, während die Virulenz und Übertragbarkeit für Schafe offenbar geringer ist.** Die Studie steht als

Veröffentlichung zur Verfügung (Wernike et al. 2014). Welche Rolle PPRV-infizierte Schafe als Reservoir für die Verbreitung von PPRV und die Übertragung auf hochempfindlichen Ziegen spielen, muss mittels Transmissionsexperimente weiter untersucht werden.

Die Dauer der PPRV-Ausscheidung und die minimale infektiöse Dosis des PPRV-Kurdistan-2011 bzw. die Sensitivität verschiedener Nachweismethoden wurde vergleichend in Ziegen, VDS-Zellen und mittels molekularbiologischer Methoden (PCR) untersucht. Dazu wurden 4 Gruppen (à 4 Ziegen) mit unterschiedlichen Verdünnungsstufen des PPRV-Kurdistan-2011 (unverdünnt, 10^{-1} bis 10^{-3} Verdünnung) experimentell intranasal infiziert. Alle Ziegen, die das unverdünnte PPRV (Titer $10^{4,00}$ TCID₅₀/ml), sowie 3 von 4 Ziegen, die die 1. Verdünnungsstufe (10^{-1} ; Titer $10^{2,83}$ TCID₅₀/ml) erhalten hatten, wurden durch die iatrogene PPRV-Inokulation infiziert; jedoch keine der Ziegen die PPRV der 2. und 3. Verdünnungsstufe erhalten hatten. **Im Gegensatz zum Ergebnis des Tiermodells, konnten die PPRV-Inokula auf VDS-Zellen bis zur 2. Verdünnungsstufe bzw. einem Titer von $10^{1,75}$ TCID₅₀/ml re-isoliert werden und zeigten somit eine höhere Sensitivität als die Virusisolierung in der Ziege.**

Mittels PPRV-spezifischer RT-qPCR konnte Virusgenom in allen Verdünnungsstufen nachgewiesen werden (Cq 22,66 bis 32,24). Die maximale Ausscheidungsdauer in Tupferproben von Maul/Nase, Bindehaut und Kot betrug bis zu 80 Tage nach Infektion. Andererseits weisen vorläufige Ergebnisse der Virusisolierung von PPRV aus ausgesuchten Tupferproben (Tage 4, 10, 28-45 und 66-80) darauf hin, dass eine Virusisolierung in VDS-Zellen teilweise an den Tagen 4 und 10, jedoch nicht an den bisher untersuchten Folgetagen möglich ist, obwohl diese Proben PCR-positive getestet wurden. **Der molekularbiologische Nachweis stellt somit eindeutig die sensitivste Methode zur Detektion von Virusgenom dar wie bereits von Hoffmann et al. (2009) für andere Viren beschrieben.**

In Kooperation mit Jörn Gethmann (Institut für Epidemiologie, FLI) und Hans-Herrmann Thulke (Department of Ecological Modelling, Helmholtz-Centre for Environmental Research UFZ, Leipzig) wird anhand von Daten aus den Tierversuchen derzeit ein SEIR-Modelle zur Berechnung Reproduktionsrate (R₀) entwickelt.

Im vorletzten Zwischenbericht wurde bereits von der sehr überraschenden Übertragung von PPRV von Schweinen auf eine Ziege bzw. ein anderes Schwein berichtet. **Wildschweine könnten daher eine wichtige Rolle bei der unbemerkten PPRV-Verbreitung über weite Strecken spielen.** Um herauszufinden, ob Wildschweine auch mögliche Überträger von PPRV sind, wurden vier Wildschweine intranasal mit PPRV (PPRV Linie 4/Kurdistan 2011) infiziert und zwei Tage später zwei Hausschweine und zwei Ziegen dazu gestellt. Von allen Tieren wurden regelmäßig Blut- und Tupferproben (oronasal, konjunktival, fäkal) entnommen. Die Wildschweine zeigten milde bis moderate Klinik zwischen 3 und 28 dpi und eine erhöhte Körpertemperatur (bis 41.1°C) an mehreren Tagen zwischen 3 und 22 dpi. Aus dem Blut aller vier Wildschweine konnte bis zur Serokonversion (zwischen 7 und 14 dpi) an mindestens einem Tag nach Infektion infektiöses PPRV mittels Zellkultur isoliert werden. Aus fäkalen Tupferproben von zwei Wildschweinen konnte an zwei bis drei aufeinanderfolgenden Proben Tagen zwischen 4 und 10 dpi PPRV mittels Zellkultur isoliert werden. Dagegen konnte mittels PCR PPRV Genom in einem deutlichen längeren Zeitraum in Proben aller Wildschweinen detektiert werden: im Blut zwischen 4 und 10 dpi (bis zur Serokonversion), oronasal von 2 bis 14 dpi, konjunktival 5 bis 15 dpi und fäkal 4 bis 24 dpi. Eine Übertragung auf die Kontakttiere fand jedoch nicht statt.

Um zu zeigen, dass nicht nur eine Übertragung von PPRV Linie 4 Stämmen durch (Haus-)schweine auf Ziegen, sondern auch von Ziegen auf Hausschweine stattfinden kann, wurden zwei Ziegen intranasal mit PPRV/Kurdistan 2011 infiziert und zwei Tage später zwei Hausschweine als Kontaktkontrollen dazu gestellt. Das Versuchsdesign ähnelte dem der vorherigen Transmissionsversuche. Eine

Übertragung von PPRV auf Hausschweine konnte bereits kurz nach der ersten Ausscheidung infektiösen PPRV durch Ziegen (4 dpi) bei den Kontaktschweinen (6 dpi) nachgewiesen werden. PPRV konnte aus allen Tupferproben der zwei Ziegen bis zur Euthanasie (12 dpi) isoliert werden. Bei den Schweinen konnte PPRV RNA in fast allen Tupferproben zwischen 6 dpi bis zum Versuchsende und im Blut 8 bis 12 dpi nachgewiesen werden, jedoch kein Virus isoliert werden. Die Ziegen sero-konvertierten 8 dpi und die Schweine 12 dpi. Entsprechend hatte die Übertragung von Ziegen auf Schweine früher stattgefunden im Vergleich zur PPRV-Übertragung durch Schweine auf eine Ziege bzw. Schwein (Serokonversion zwischen 16 und 21 dpi). Ein möglicher Grund ist die Ausscheidung deutlich höherer maximale PPRV-Titer durch Ziegen im Vergleich zu Schweinen (ungefähr 2 bis 3 Log-Stufen) und die damit einhergehende höhere Wahrscheinlichkeit einer Übertragung auf Kontakttiere. Die Ziegen zeigten hochgradige klinische Symptome vor allem ab 8 dpi bis zur Euthanasie am Tag 12 pi, während die Schweine nur milde klinische Symptome, wie reduziertes Allgemeinbefinden und erhöhte Temperatur zwischen 10 und 12 dpi zeigten. **Ein ähnlicher deutlicher temporärer Abfall weißer Blutzellen (Leukozytopenie) bei den Schweinen (um 71%) und Ziegen (um 68 bis 81%) weist darauf hin, das eine PPRV-Infektion auch bei Schweinen eine beträchtliche Immunsuppression verursachen kann.**

Dies könnte die Empfänglichkeit/Prädisposition von Schweinen für Sekundärinfektionen oder gleichzeitig auftretende Erreger beeinflussen und die Unterschiede klinischer Symptome bei Haus- und Wildschweinen in den drei separaten Tierversuchen erklären.

In letzter Zeit wurde immer wieder von klinischen Symptomen und Todesfällen bei Dromedaren in Assoziation mit PPRV-Infektionen mit PPRV Linie 4 Stämmen berichtet (Zakian et al. 2016, Khalafalla et al. 2010). Experimentell mit einem PPRV Linie 3 Stamm infizierte Dromedare zeigten dagegen keine klinischen Symptome (Wernery 2011). Ob PPRV Stämme der Linie 4 für Kameliden virulenter sind und Neuweltkameliden für PPRV empfänglich sind, wurde bisher noch nicht untersucht. In Anlehnung an die oben aufgeführten Tierversuche wurden entsprechend in zwei getrennten Tierversuchen, 6 Dromedare und 6 Neuweltkameliden (3 Lamas und 3 Alpakas) intranasal mit dem Linie 4 Stamm PPRV/Kurdistan 2011 infiziert und 3 Tage später zwei Kontaktziegen und 2 Dromedare bzw. 1 Lama dazu gestellt. Keines der Tiere zeigte auffällige klinische Symptome. Zwei Dromedare sero-konvertierten 20 dpi und alle 6 Neuweltkameliden zwischen 12 und 21 dpi, wobei die meisten Tiere einen niedrigen Antikörperspiegel hatten und der Antikörperspiegel eines der Lamas geringfügig unter dem cut-off des ELISAs lag. Eine geringgradige PPRV-RNA Ausscheidung wurde bis zur Serokonversion bei 3 Alpakas und 2 Lamas in oronasalen Tupferproben zwischen 3 und 10 dpi, bei einem Alpaka im Blut (8dpi) und einem Lama im Kot (14dpi) nachgewiesen. **Dagegen konnte bei den serokonvertierten Dromedaren keine PPRV-RNA Ausscheidung nachgewiesen werden. Keine der Kontaktziegen wurde infiziert.**

Um die Übertragung von PPRV in Schafherden zu quantifizieren, wurden weiterhin fünf 1:1 Experimente durchgeführt. Dazu wurden zwei Tage nach der Infektion von einzeln gehaltenen Schafen mit PPRV/Kurdistan 2011 einzelne naive Kontaktschafe dazu gestellt. Von den PPRV-infizierten Schafe zeigten 4 von 5 milde bis moderate klinische Symptome und ein Schaf kurzzeitig schwere klinische Symptome. Alle PPRV-infizierten Schafe zeigten insbesondere zwischen 4 und 7 dpi erhöhte Körpertemperaturen von über 40 °C (maximal 40.9 °C). Die Viruslast in den Tupferproben war geringfügig höher (maximal $10^{4.0}$ TCID₅₀/ml) im Vergleich zu den Schweineproben (0.5-1 Log-Stufen; maximal $10^{3.5}$ TCID₅₀/ml) und damit deutlich geringer als in den Ziegenproben (maximal $10^{6.0}$ TCID₅₀/ml). Infektiöses Virus wurde im Zeitraum 4 bis 10 dpi für 1 bis 4 aufeinanderfolgenden Tagen bis kurz nach der Serokonversion (8dpi) insbesondere oronasal ausgeschieden. PPRV Genom

konnte dagegen über einen deutlich längeren Zeitraum detektiert werden: ab 2 bzw. 4 dpi bis zum Versuchsende bei 4 von 5 Schafen und bis 12 dpi bei einem Schaf in Tupferproben. Im Blut wurde PPRV Genom von 4 bis 21 dpi über die Dauer von 1 bis 17 Tagen detektiert. Überraschenderweise fand keine Übertragung auf die Kontakttiere statt. Die Vergleichende Analyse unterschiedlicher Gewebe von bis zu 31 Organen der PPRV-infizierten Paarhufer (*Artiodactyla*) zeigte in diesem Versuch, dass sich Tonsillen, Kopf und Lunge assoziierte Lymphknoten, sowie Peyersche Plaques des Jejunums und Ileums besonders gut für die post-mortale PPRV-Diagnose eignen.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Tierversuche mit Rindern, Kameliden, Schafen, Ziegen, Haus- und Wildschweinen sehr bedeutende Unterschiede in der Ausscheidungsdynamik und Pathogenese aufzeigten. Die Ergebnisse weisen darauf hin, dass Rinder und Kameliden ‚dead-end‘ hosts für PPRV der Linie 4 sind. Im Gegensatz dazu können PPRV-infizierte Schweine und Schafe aufgrund der milden bis moderaten klinischen Symptome zur unbemerkten Verbreitung von PPRV beitragen. Ein geschlossener Übertragungszyklus von PPRV zwischen Schweinen und Ziegen konnte im Tierversuch gezeigt werden. Die tatsächliche Rolle der Schweine in der Aufrechterhaltung von PPRV-Infektionen in Schweineherden muss unbedingt weiter untersucht werden.

2. Vergleich des Standes des Vorhabens mit der ursprünglichen (bzw. mit Zustimmung des Zuwendungsgebers geänderten) Arbeits-, Zeit- und Ausgabenplanung

Alle Arbeits- und Zeitplanungen entsprachen dem Stand des Vorhabens.

3. Haben sich die Aussichten für die Erreichung der Ziele des Vorhabens innerhalb des angegebenen Berichtszeitraums gegenüber dem ursprünglichen Antrag geändert (Begründung)?

Nein

4. Sind inzwischen von dritter Seite Ergebnisse bekannt geworden, die für die Durchführung des Vorhabens relevant sind?

Nein

5. Sind oder werden Änderungen in der Zielsetzung notwendig?

Nein

6. Fortschreibung des Verwertungsplans. Diese soll, soweit im Einzelfall zutreffend, Angaben zu folgenden Punkten enthalten (Geschäftsgeheimnisse des Zuwendungsempfängers brauchen nicht offenbart zu werden):

- Erfindungen/Schutzrechtsanmeldungen und erteilte Schutzrechte, die vom Zuwendungsempfänger oder von am Vorhaben Beteiligten gemacht oder in Anspruch genommen wurden, sowie deren standortbezogene Verwertung (Lizenzen u.a.) und erkennbare weitere Verwertungsmöglichkeiten,

Keine

- Wirtschaftliche Erfolgsaussichten nach Projektende (mit Zeithorizont) – z.B. auch funktionale/wirtschaftliche Vorteile gegenüber Konkurrenzlösungen, Nutzen für verschiedene Anwendergruppen/-industrien am Standort Deutschland, Umsetzungs- und Transferstrategien (Angaben soweit die Art des Vorhabens dies zulässt)

Neue diagnostische Methoden, die sich weiter in der Entwicklungsphase befinden, werden nach Fertigstellung veröffentlicht.

- Wissenschaftliche und/oder technische Erfolgsaussichten und nach Projektende (mit Zeithorizont) u.a. wie die geplanten Ergebnisse in anderer Weise (z.B. für öffentliche Aufgaben, Datenbanken, Netzwerke, Transferstellen etc.) genutzt werden können - u.a. ist auch eine etwaige Zusammenarbeit mit anderen Einrichtungen, Firmen, Netzwerken, Forschungsstellen u.a. einzubeziehen

Die neu entwickelten diagnostischen Methoden werden eine rasche Erkennung eines möglichen Auftretens von PPRV in Europa deutlich verbessern und an nationalen und internationalen Referenzlaboren, z.B. am FLI, genutzt werden können. Dadurch werden z.B. auch zukünftige Monitoringuntersuchungen, auch im Rahmen des Projektes, optimiert werden.

Ergebnisse des NGS von internationalen Proben aus dem Feld und von Tierversuchen erlauben die Identifizierung genetischer Parameter, die die Übertragung zwischen Nutz- und Wildtieren begünstigen/ermöglichen, sowie die Verbesserung vorhandener/zu entwickelnder Nachweissysteme. Entsprechend können die Übertragungswege zwischen Tieren einer/unterschiedlicher Spezies näher erforscht werden und die Ergebnisse damit zur zukünftig geplanten Eradikation des PPRV beitragen.

Die Ergebnisse des Projektes werden auf wissenschaftlichen Meetings vorgestellt und in internationalen *peer-reviewed* Zeitschriften publiziert, Sequenzdaten werden in einer international zugänglichen Datenbank veröffentlicht (GenBank) und somit der wissenschaftlichen Gemeinschaft zur Verfügung gestellt.

- Wissenschaftliche und wirtschaftliche Anschlussfähigkeit für eine mögliche notwendige nächste Phase bzw. die nächsten innovatorischen Schritte zur erfolgreichen Umsetzung der Ergebnisse.

Die mittels der Entwicklung der neuen diagnostischen Methoden und Übertragungsmodelle gesammelten Erfahrungen können für die Entwicklung von Methoden und Modellen für ähnlich verlaufende Viruserkrankungen genutzt werden. Des Weiteren ermöglichen sie eine Überwachung von Impferfolgen einer in der Zukunft geplanten Impfkampagne in betroffenen Ländern. Das durch das Projekt erlangte Wissen wird derzeit bereits für die Beurteilung des ersten PPR-Falles in der EU (Bulgarien, Juni 2018) eingesetzt.