

Amtliche Methodensammlung

Q-Fieber

1. Charakterisierung der Infektion
2. Untersuchungsmaterial
3. Untersuchungsgang

Q-Fieber

1. Charakterisierung des Befalls

1.1 Erreger

Der Erreger des Q-Fiebers, *Coxiella burnetii*, ist ein sehr kleines, gramnegatives, obligat intrazelluläres Bakterium.

1.2 Klinische Symptomatik

Die Krankheitserscheinungen beim Tier sind meistens gering. Seine Hauptbedeutung hat der Erreger als Auslöser von Unfruchtbarkeit und Aborten beim Wiederkäuer (Schaf, Ziege, Rind; auch Wildwiederkäuer, z. B. Damwild) sowie als Zoonoseerreger. Besonders reichlich ist der Erreger im Fruchtwasser, in den Nachgeburten und den Lochien enthalten. Die Übertragung erfolgt kongenital, oral oder aerogen. Ferner werden Coxiellen auch durch Zecken übertragen. In Deutschland spielt hierbei insbesondere die Schafzecke *Dermacentor marginatus* eine wichtige Rolle bei der Aufrechterhaltung des sogenannten Wildtierzyklus. Neben der kutanen Übertragung der Coxiellen durch den Saugakt kann der Erreger auch durch Inhalation erregerhaltigen Zeckenkotes übertragen werden.

1.3 Differentialdiagnose

Als Differentialdiagnose kommen andere Abortursachen, insbesondere durch Chlamydien bedingte Aborte, in Betracht.

1.4 Diagnostische Indikation

Ungeklärte Aborte und Fruchtbarkeitsstörungen.

1.5 Zuständige Untersuchungseinrichtung

Friedrich-Loeffler-Institut (FLI), Naumburger Str. 96a, 07743 Jena

Tel: +49 3641 804 2327; Fax: +49 3641-804 2228

1.6 Rechtsgrundlagen

Grundlage für die Bekämpfung des Q-Fiebers ist in Deutschland das Tiergesundheitsgesetz (TierGesG) in der jeweils geltenden Fassung. Des Weiteren ist das Q-Fieber aufgeführt in der Verordnung über meldepflichtige Tierkrankheiten in der jeweils geltenden Fassung.

2. Untersuchungsmaterial

Der Nachweis einer Q-Fieber-Infektion erfolgt durch den Erregernachweis. Serologische Befunde allein gelten als nicht beweisend für ein akutes Infektionsgeschehen. Geeignetes Untersuchungsmaterial stellen Feten bzw. Fetusteile (Lunge, Leber, Niere, Milz, Labmagen) sowie die Eihäute und Teile der Nachgeburten dar. Des Weiteren können Milchproben, Vaginaltupferproben sowie abgesammelte Zecken eingeschickt werden. Tupferproben sollten mit Hilfe einer kleinen Menge physiologischer Kochsalzlösung vor dem Austrocknen geschützt werden.

Das Material kann gefroren oder gekühlt versandt werden. Die entsprechenden Vorschriften sind zu beachten (siehe Kapitel Probenversand – Diagnostische Proben der amtlichen Methodensammlung). Die Proben sind an das Friedrich-Loeffler-Institut (FLI), Naumburger Str. 96a, 07743 Jena zu schicken. Sie sind in jedem Fall telefonisch anzukündigen (03641 804-2327 oder -2336).

Einsendungen an das Labor:

Bitte verwenden Sie das Einsendeformular, das auf der Internetseite des Labors zu finden ist: <https://www.fli.de/de/institute/institut-fuer-bakterielle-infektionen-und-zoonosen-ibiz/referenzlabore/nrl-fuer-q-fieber/>.

3. Untersuchungsgang

3.1 Erregernachweis

3.1.1 Anzucht

Versuche zur Isolierung von Coxiellen erfordern ein S3-Labor. Die Methode ist bei Henning und Sting (2000) beschrieben. Sie erfolgt mittels Buffalo Green Monkey (BGM)-Zellen in 75 cm² Plastikflaschen. Als Medium dient z. B. antibiotikumfreies Minimal Essential Medium (MEM) Eagle mit Earle's Salzen und Zusatz von 5 % neonatalem Kälberserum (NKS), 1 % nicht-essentiellen Aminosäuren 100x, 1 % Vitaminen 100x sowie 2 mmol L-Glutamin. Nach Anreicherung der Proben werden diese in MEM aufgeschwemmt und anschließend durch einen Spritzenfilter mit einer Porengröße von 0,45 µm filtriert. Dieses Filtrat dient als Inokulum für eine BGM-Zellkultur, die über einen Zeitraum von sechs Wochen auf das Auftreten von für Coxiellen typischen Vakuolen beobachtet wird.

Q-Fieber

3.1.2 Färberischer Nachweis

Die Coxiellen können mit Hilfe von nach Giménez gefärbten Ausstrichpräparaten nachgewiesen werden (Abb. 1).

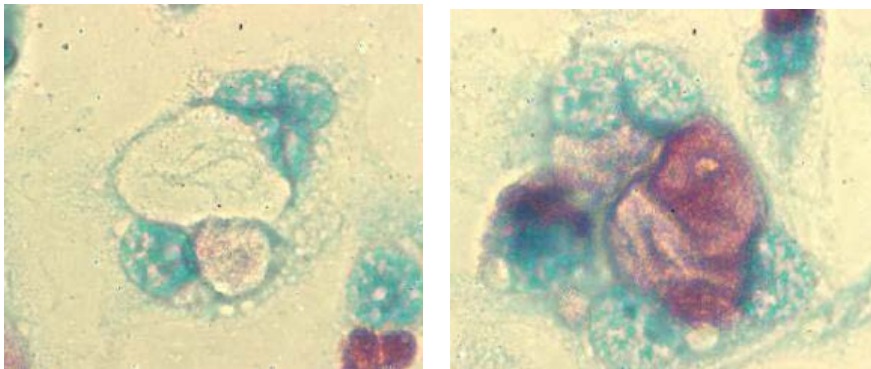


Abbildung 1: *Coxiella burnetii* in BGM-Zellkultur (Giménez-Färbung)

3.1.3 Polymerase Kettenreaktion (PCR)

Nähere Angaben zur Probenaufbereitung sowie zu den PCR-Methoden sind bei Henning *et al.* (2007) zu finden. Nachfolgend wird als Beispiel eine der Möglichkeiten beschrieben.

Die Aufreinigung der DNS erfolgt mit Hilfe eines kommerziellen DNS-Isolierungskits gemäß der Anleitung des Herstellers. Die PCR zum Nachweis von Coxiellen erfolgt gemäß der Vorschrift nach Zhang *et al.* (1998) als nested-PCR. Die Darstellung der Amplifikate erfolgt im Agarose-Gel (1 % oder 1,5 %) mittels Ethidiumbromidfärbung unter UV-Licht. Als positiver Befund gilt das Erscheinen eines 438 bp-großen PCR-Produktes als Bande im Agarose-Gel, unter der Bedingung, dass alle mitgeführten Negativkontrollen negativ sind und in der Referenzstammprobe ein Amplifikat der korrekten Größe gebildet wurde.

Der Erreger kann auch mittels real-time PCR (quantitative PCR) nachgewiesen werden (Klee *et al.*, 2006).

Des Weiteren ist ein kommerzieller RT-qPCR Kit für den Nachweis von *Coxiella burnetii*-DNA erhältlich (LSI VetMAX® *Coxiella burnetii* - Absolute Quantification, life technologies und ADIAVET COXIELLA REAL TIME®, Bio-X Diagnostics S.A.).

3.1.4 Antikörpernachweis

Die serologischen Tests können mittels KBR oder kommerziell erhältlicher Antikörper-ELISA durchgeführt werden.

Literatur

- Henning, K. und Sting, R.: Die Isolierung und Kultivierung des Q-Fieber-Erregers (*Coxiella burnetii*) mittels Zellkulturen. Tierärztl. Umschau 55, 140-144, 2000.
- Henning, K., Kilwinski, J., Hotzel, H., Panning, M.: Nachweis des Q-Fieber-Erregers *Coxiella burnetii* in Milch. Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit 2 (2) : 228-229, 2007.
- Klee, S.R., Tyczka, J., Ellerbrok, H., Franz, T., Linke, S., Georg Baljer, G., and Appel, B.: Highly sensitive real-time PCR for specific detection and quantification of *Coxiella burnetii*. BMC Microbiology 2006, 6:2 doi: 10.1186/1471-2180-6-2
- Zhang, G. Q.; Nguyen, S. V.; To, H.; Ogawa, M.; Hotta, A.; Yamaguchi, T.; Kim, H. J.; Fukushi, H.; Hirai, K. (1998): Clinical evaluation of a new PCR assay for detection of *Coxiella burnetii* in human serum samples. Journal of Clinical Microbiology 36, 77-80