

Detailanalyse der Virusvarianten

Über 3000 Virussequenzen aus allen Landkreisen Mecklenburg-Vorpommerns wurden bestimmt. Die Auswertung zeigte eine detaillierte Übersicht über das Auftreten der verschiedenen Virusvarianten von Alpha über Delta bis Omikron. Die Daten flossen in regelmäßige Berichten ein, die als Informationsgrundlage der Landesregierung dienten. Die enge Zusammenarbeit zwischen Laboren und den Sequenzanalysten führten zu regional interessanten Befunden. So konnte ein regionaler Ausbruch mit der Gammavariante und Ausbrüche unter Schiffsbesatzungen in Häfen von Mecklenburg-Vorpommern aufgeschlüsselt werden.

Bei allen Analysen ermöglicht der Zugriff auf die Metadaten durch das Studienzentrum einen umfänglichen Einblick in das Ausbruchsgeschehen und die regionale Vernetzung die Möglichkeit der schnellen und konkreten Interaktion der Akteure.

Links:

<https://www.comv-gen.de>

<https://tiny.one/prepmedvet>

Auswertung der Laborvergleichsstudie zum kulturellen Nachweis und zur molekularen Identifizierung von *Campylobacter fetus* ssp. *venerealis*

Hosny El-Adawy

FLI, Institut für bakterielle Infektionen und Zoonosen, Nationales Referenzlabor für Vibrionenseuche der Rinder



Hosny El-Adawy
(© M. Pfau, FLI)

Die Vibrionenseuche der Rinder ist eine durch Infertilität, frühe embryonale Mortalität und Abort charakterisierte venerische Erkrankung. Sie wird heute als „bovine genitale Campylobacteriose“ bezeichnet. Der Erreger der bovinen genitalen Campylobacteriose ist *Campylobacter fetus* ssp. *venerealis* (enzootischer Abort), ein Bakterium mit ausgeprägtem Tropismus für den Genitaltrakt des Rindes. Der Präputialsack klinisch gesunder Bullen ist das natürliche Erregerreservoir. Infektionen mit diesem Erreger sind anzeigepflichtig. Nach der ersten Infektion im Bestand verläuft die Seuche akut mit plötzlichem Rückgang der Konzeptionsrate (z.T. unter 10 Prozent). Im Verlauf erreicht die Erkrankung das chronische Stadium, die älteren Tiere erlangen nach und nach ihre ursprüngliche Fruchtbarkeit wieder.

Das Nationale Referenzlabor für Vibrionenseuche der Rinder am Friedrich-Loeffler-Institut in Jena hat im Jahr 2021 eine Laborvergleichsstudie (LVS) zum kulturellen Nachweis und zur molekularen Identifizierung von *Campylobacter fetus* ssp. *venerealis* durchgeführt.

Autorenteam*

Christian Kohler, Juliane Moritz, Katja Goller, Lina Stacker, Jacqueline King, Neetika Nath, Ana Tzvetkova, Martin Beer, Lars Kaderali, Karsten Becker, Nils-Olaf Hübner, Anne Pohlmann

Friedrich Loeffler-Institut für Medizinische Mikrobiologie, Universitätsmedizin Greifswald, Universität Greifswald

Zentralbereich Hygiene, Universitätsmedizin Greifswald, Universität Greifswald

Institut für Bioinformatik, Universitätsmedizin Greifswald, Universität Greifswald

Institut für Virusdiagnostik, Friedrich-Loeffler-Institut Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit, Greifswald - Insel Riems

Zielsetzung und Zweck

Ziel des LVS war die Überprüfung der in den einzelnen Untersuchungseinrichtungen etablierten Standardmethoden, basierend auf der amtlichen Methodensammlung.

Als Probenmaterial wurden pro Labor fünf Transporttupfer mit oder ohne den jeweiligen „gesuchten“ Erreger versendet (Tab. 1). Die biologischen Proben stammten aus einer Sammlung des Institutes.

Teilnehmende Laboratorien und Einrichtungen

Insgesamt haben 23 Untersuchungseinrichtungen (20 deutsche Labore aus den Bundesländern Baden-Württemberg (3), Bayern (2), Brandenburg (1), Hamburg (1), Hessen (1), Mecklenburg-Vorpommern (1), Niedersachsen (2), Nordrhein-Westfalen (4), Rheinland-Pfalz (1), Sachsen (1), Sachsen-Anhalt (1), Schleswig-Holstein (1) und Thüringen (1)) und drei Labore aus Österreich (Innsbruck, Linz und Mödling) teilgenommen.

Ergebnisse

Die Bestimmung der Subspezies von *C. fetus* war Hauptbestandteil und Zielsetzung des LVS. 21 (91,3 Prozent) der 23 teilnehmenden Labore haben die Anforderungen des LVS erfolgreich erfüllt und konnten die Gattung *C. fetus* bis zur Subspezies *venerealis* nachweisen. Insgesamt zeigte sich, dass 21 Labore die Proben hinsichtlich der Identifizierung von *C. fetus* Subspezies *venerealis* bzw. hinsichtlich des Ausschlusses dieser Subspezies richtig bestimmt haben (Tab. 2).

LVS/ Probe	Art der Probe	Inhalt	Auswertung
2021-FLI#CF1	TUPFER	<i>Campylobacter fetus</i> ssp. <i>venerealis</i>	C.f.-positiv; C.f.v.-positiv; in PCR positiv
2021-FLI#CF2	TUPFER	<i>Campylobacter jejuni</i>	Negativ
2021-FLI#CF3	TUPFER	<i>Campylobacter fetus</i> ssp. <i>fetus</i>	C.f.-positiv; C.f.f.-positiv; C.f.v.-negativ; In PCR negativ
2021-FLI#CF4	TUPFER	<i>Campylobacter fetus</i> ssp. <i>venerealis</i>	C.f.-positiv; C.f.v.-positiv; in PCR positiv
2021-FLI#CF5	TUPFER	<i>Staphylococcus aureus</i>	Negativ
2021-FLI#CFV-PK	DNA	DNA von <i>C. fetus</i> ssp. <i>venerealis</i> Typstamm als PCR-positiv-Kontrolle	C.f.v.-positiv; C.f.-positiv
2021-FLI#Cff-PK	DNA	DNA von <i>C. fetus</i> ssp. <i>fetus</i> Typstamm als PCR-positiv-Kontrolle	C.f.f.-positiv; C.f.-positiv

Tab. 1: Details der Ringversuchsproben

	2021-FLI#CF1	2021-FLI#CF2	2021-FLI#CF3	2021-FLI#CF4	2021-FLI#CF5
Code	Bewertung/ Klassifikation	Bewertung/ Klassifikation	Bewertung/ Klassifikation	Bewertung/ Klassifikation	Bewertung/ Klassifikation
1	Positiv/C.f.v. [§]	Negativ/C. <i>jejuni</i> [†]	Positiv/C.f.f. [‡]	Positiv/C.f.v. [§]	Negativ/S. <i>aureus</i> [#]
2	Positiv/C.f.v. [§]	Negativ/C. <i>jejuni</i> [†]	Negativ/C.f.f. [‡]	Positiv/C.f.v. [§]	Negativ/S. <i>aureus</i> [#]
3	Positiv/C.f.v. [§]	Negativ/C. <i>jejuni</i> [†]	Negativ/C.f.f. [‡]	Positiv/C.f.v. [§]	Negativ/kA*
4	Positiv/C.f.v. [§]	Negativ/C. <i>jejuni</i> [†]	Negativ/C.f.f. [‡]	Positiv/C.f.v. [§]	Negativ/kA*
5	Positiv/C.f.v. [§]	Negativ/C. <i>jejuni</i> [†]	Negativ/C.f.f. [‡]	Positiv/C.f.v. [§]	Negativ/S. <i>aureus</i> [#]
6	Positiv/C.f.v. [§]	Negativ/C. <i>jejuni</i> [†]	Negativ/C.f.f. [‡]	Positiv/C.f.v. [§]	Negativ/S. <i>aureus</i> [#]
7	Positiv/C.f.v. [§]	Negativ/C. <i>jejuni</i> [†]	Negativ/C.f.f. [‡]	Positiv/C.f.v. [§]	Negativ/kA*
8	Positiv/C.f.v. [§]	Negativ/ <i>Campylobacter</i>	Negativ/C.f.f. [‡]	Positiv/C.f.v. [§]	Negativ/Staph.
9	Positiv/C. <i>fetus</i>	Negativ/C. <i>jejuni</i> [†]	Positiv/C. <i>fetus</i>	Positiv/C. <i>fetus</i>	Negativ/S. <i>aureus</i> [#]
10	Positiv/C.f.v. [§]	Negativ/C. <i>jejuni</i> [†]	Negativ/C.f.f. [‡]	Positiv/C.f.v. [§]	Negativ/kA*
11	Positiv/C. <i>fetus</i>	Negativ/C. <i>jejuni</i> [†]	Positiv/C. <i>fetus</i>	Positiv/C. <i>fetus</i>	Negativ/S. <i>aureus</i> [#]
12	Positiv/C.f.v. [§]	Negativ/C. <i>jejuni</i> [†]	Positiv/C.f.f. [‡]	Positiv/C.f.v. [§]	Negativ/S. <i>aureus</i> [#]
13	Positiv/C.f.v. [§]	Negativ/C. <i>jejuni</i> [†]	Negativ/C. <i>fetus</i>	Positiv/C.f.v. [§]	Negativ/S. <i>aureus</i> [#]
14	Positiv/C.f.v. [§]	Negativ/C. <i>jejuni</i> [†]	Negativ/C.f.f. [‡]	Positiv/C.f.v. [§]	Negativ/kA*
15	Positiv/C.f.v. [§]	Negativ/C. <i>jejuni</i> [†]	Negativ/C.f.f. [‡]	Positiv/C.f.v. [§]	Negativ/S. <i>aureus</i> [#]
16	Positiv/C.f.v. [§]	Negativ/C. <i>jejuni</i> [†]	Negativ/C.f.f. [‡]	Positiv/C.f.v. [§]	Negativ/S. <i>aureus</i> [#]
17	Positiv/C.f.v. [§]	Negativ/ <i>Campylobacter</i>	Negativ/C.f.f. [‡]	Positiv/C.f.v. [§]	Negativ/S. <i>aureus</i> [#]
18	Positiv/C.f.v. [§]	Negativ/C. <i>jejuni</i> [†]	Negativ/C. <i>fetus</i>	Positiv/C.f.v. [§]	Negativ/S. <i>aureus</i> [#]
19	Positiv/C.f.v. [§]	Negativ/C. <i>jejuni</i> [†]	Negativ/C.f.f. [‡]	Positiv/C.f.v. [§]	Negativ/S. <i>aureus</i> [#]
20	Positiv/C.f.v. [§]	Negativ/C. <i>jejuni</i> [†]	Negativ/C.f.f. [‡]	Positiv/C.f.v. [§]	Negativ/S. <i>aureus</i> [#]
21	Positiv/C.f.v. [§]	Negativ/ <i>Campylobacter</i>	Negativ/C.f.f. [‡]	Positiv/C.f.v. [§]	Negativ/S. <i>aureus</i> [#]
22	Positiv/C.f.v. [§]	Negativ/kA*	Positiv/C.f.f. [‡]	Positiv/C.f.v. [§]	Negativ/kA*
23	Positiv/C.f.v. [§]	Negativ/C. <i>jejuni</i> [†]	Negativ/C.f.f. [‡]	Positiv/C.f.v. [§]	Negativ/S. <i>aureus</i> [#]
FLI	Positiv/C.f.v.[§]	Negativ/C. <i>jejuni</i>[†]	Negativ/C.f.f.[‡]	Positiv/C.f.v.[§]	Negativ/S. <i>aureus</i>[#]

Tab. 2: Ergebnisse der 23 teilnehmenden Labore hinsichtlich der Identifikation von *C. fetus* ssp. *venerealis*.

Grün gekennzeichnet (letzte Zeile): Probe wurde richtig bewertet; Rot gekennzeichnet (Zeile 9 und 11): Probe teilweise bewertet; §C.f.v.: *Campylobacter fetus* ssp. *venerealis*; †C. *jejuni*: *Campylobacter jejuni*; *kA: keine Angabe; ‡C.f.f.: *Campylobacter fetus* ssp. *fetus*; #S. *aureus*: *Staphylococcus aureus*

Zwei teilnehmende Labore haben die Proben 2021-FLI#CF1 und 2021-FLI#CF4 nur teilweise diagnostiziert, wobei zwei *C. fetus*-Proben richtig erkannt wurden. Alle anderen Proben wurden von den teilnehmenden Laboren korrekt als *C. fetus* subspezies *venerealis* positiv oder negativ diagnostiziert. Das eingesetzte Methodenspektrum umfasste klassische Bakteriologie (21 von 23 (91,3 Prozent)), MALDI-TOF (18

von 23 (78,3 Prozent)) und die Anwendung verschiedener PCR-Protokolle (18 von 23 (78,3 Prozent)); (13x konventionelle PCRs, 4x Real-Time-PCRs und 1x beide Verfahren). 17 (73,9 Prozent) Labore führten die Gram-Färbung durch. 15 (65,2 Prozent) Labore wiesen *C. fetus* ssp. *venerealis* mittels kulturellen Nachweises und molekularer Identifizierung nach (Tab. 3).

Code	PCR-Methode	MALDI-TOF MS	Nährmedium	Gram-Färbung
1	konventionell	durchgeführt	Columbia Blut-Agar; Skirrow-Agar; CCDA-Agar	durchgeführt
2	kA*	durchgeführt	Columbia Blut-Agar; Skirrow-Agar; CCDA-Agar	durchgeführt
3	konventionell	durchgeführt	Lander-Medium; Skirrow-Agar	kA*
4	konventionell	durchgeführt	Schafblut-und Skirrow-Agar	kA*
5	konventionell	durchgeführt	Skirrow-Agar	durchgeführt
6	Real-time-PCR	durchgeführt	Skirrow-Agar	durchgeführt
7	Real-time-PCR	kA*	Skirrow-Agar	durchgeführt
8	Real-time-PCR	kA*	Skirrow-Agar	durchgeführt
9	kA*	durchgeführt	Columbia Blut-Agar	kA*
10	konventionell	durchgeführt	Schafblut-und CAMPY-Agar	durchgeführt
11	kA*	durchgeführt	Skirrow-Agar	durchgeführt
12	konventionell	durchgeführt	Skirrow-Agar	durchgeführt
13	konventionell	durchgeführt	Columbia Blut-Agar; Skirrow-Agar	durchgeführt
14	konventionell	durchgeführt	Skirrow-Agar	durchgeführt
15	konventionell	durchgeführt	Columbia Blut-Agar; Skirrow-Agar	durchgeführt
16	konventionell	durchgeführt	Columbia Blut-Agar; Skirrow-Agar	kA*
17	konventionell	kA*	kA*	kA*
18	konventionell	durchgeführt	Butzler-, Skirrow-und Blut-Agar	durchgeführt
19	kA*	durchgeführt	Mueller-Hinton Blut Agar; Skirrow-Agar	durchgeführt
20	kA*	durchgeführt	Columbia Blut Agar; Skirrow-Agar; CCDA-Agar	durchgeführt
21	Real-time- und konventionell PCR	kA*	Columbia Blut Agar; Skirrow-Agar; CCDA-Agar	durchgeführt
22	Real-time-PCR	kA*	kA*	kA*
23	konventionell	durchgeführt	Columbia Blut-Agar	durchgeführt
FLI-IBIZ	Real-time- und konventionelle PCR	durchgeführt	Mueller-Hinton Blut Agar	durchgeführt

Tab. 3: Durchgeführte Methoden zur Identifikation von *C. fetus* ssp. *venerealis*.

* kA: keine Angabe

Bei der Verwendung des MALDI-TOF ist zu beachten, dass die Anzeige „*C. fetus* ssp. *venerealis*“ nicht sicher zur Spezies-identifikation verwendet werden kann, sondern eher im Sinne *C. fetus* zu bewerten ist.

Ein Labor (Laborcode 22) hat alle Eluate auch mittels Sequenzierung der 16S rRNA- und *rpoB*-Gene zur Identifizierung der Bakterien charakterisiert. Dabei zeigte sich die bekannte hohe Homologie der beiden Subspezies. Infolgedessen kann dieses Labor die Vorgaben des Ringversuchs zum Nach-

weis von *C. fetus* ssp. *venerealis* nicht erfüllen. Aus diesem Grund legte das Labor die Nachweise *C. fetus*-positiv oder -negativ als Auswertekriterium fest.

Eine vom FLI durchgeführte Kontroll-Real-Time-PCR unter Verwendung des versandten originalen Tupfermaterials ergab die erwarteten Ergebnisse. Mit der Positivkontrolle von 100pg *C. fetus* ssp. *venerealis*-DNA wurde ein CT-Mittelwert von 25 erhalten.

Abweichungen vom erwarteten Ergebnis, die bei Spezies- und Subspezies-spezifischen PCRs vereinzelt aufgetreten sind, sollten in den betroffenen Laboren abgeklärt werden.

Fazit und Zusammenfassung

Die Laborvergleichsstudie zum kulturellen Nachweis und zur molekularen Identifizierung von *Campylobacter fetus* ssp. *venerealis* 2021 war ein Projekt zur Erhebung des Status quo der von den teilnehmenden Untersuchungseinrichtungen verwendeten Methoden und deren Leistungsfähigkeit.

Umso mehr kann man mit dem Ausgang des LVS insgesamt zufrieden sein. Gezeigt hat sich, dass Bakteriologie, MALDI-TOF MS und PCR sehr wichtig für die Diagnostik sind.

Ein großer Dank geht an die teilnehmenden Landesuntersuchungsämter für die konstruktive Zusammenarbeit vor, während und nach der Durchführung sowie an Kerstin Cernic, Byrgit Hofmann, Peggy Methner und Petra Flemming für die exzellente Unterstützung bei der Vorbereitung des Versuchs.

Tiergerechtigkeit zukunftsfähiger Haltungssysteme im Fokus des FLI im Kooperationsprojekt InKalkTier

Janine Benthin für das InKalkTier-Team*

FLI, Institut für Tierschutz und Tierhaltung



Janine Benthin
(© privat)

Das Institut für Tierschutz und Tierhaltung (ITT) in Celle ist seit Dezember 2021 Kooperationspartner im Projekt „InKalkTier Interaktives Kalkulations- und Informationssystem zu Tiergerechtigkeit, Umweltwirkung und Ökonomie von zukunftsfähigen Tierhaltungsverfahren“. In der Kooperation zwischen dem Kuratorium für Technik und Bauwesen in der Landwirtschaft e.V. (KTBL) und dem Friedrich-Loeffler-Institut (FLI) entsteht eine neue Web-Anwendung: InKalkTier. Sie soll als Hilfestellung zur Bewertung zukunftsfähiger Tierhaltungsverfahren von Rind, Schwein und Geflügel herangezogen werden können, um z. B. Behörden bei Baugenehmigungsverfahren Informationen bereitzustellen, sowie um für die Politikberatung und die Information der Fachöffentlichkeit genutzt zu werden. Das ITT setzt hierbei seinen Arbeitsschwerpunkt auf Tiergerechtigkeit und ergänzt somit die Arbeitssäulen Umwelt und Ökonomie des KTBL (Abb.).

Zukünftig soll InKalkTier-Anwender:innen ermöglichen, für verschiedene Tierarten und verschiedene Produktionsrichtungen Haltungsverfahren zu wählen und diese auf der Grundlage wissenschaftlicher Erkenntnisse und Befragungen von Expert:innen beurteilen zu lassen. Ziel ist es, eine automatisierte Bewertung bezüglich der Aspekte Tiergerechtigkeit und Umwelt sowie ökonomische Daten zunächst zu den Investitions- und jährlichen Gebäudekosten darzustellen. Eine Gesamtbewertung von Haltungsverfahren über die drei Aspekte hinweg wird es nicht geben. Die entsprechenden Bewertungsgrundlagen der einzelnen Haltungsverfahren können im Detail nachvollzogen und mit anderen Haltungsverfahren und unterschiedlichen baulich-technischen Elementen bspw. zur Steigerung der Tiergerechtigkeit verglichen werden. Das neu entwickelte Datenmodell, auf dem die Webanwendung basiert, wird eine Erweiterung der Inhalte der drei Bewertungsaspekte auch nach Projektende mit überschaubarem technischem Aufwand ermöglichen.

Mit der Anwendung InKalkTier wird eine wissenschaftlich fundierte Informationsplattform entstehen, die zu den Elementen des Haltungsverfahrens im Bewertungsteil zusätzlich eine Verknüpfung zu einer Infothek enthält, durch die Anwender:innen zu weiteren detaillierten Informationen mit Grafiken und Abbildungen sowie zu Fachliteratur geführt werden.

Bearbeitung durch das KTBL		Bearbeitung durch das FLI
Umwelt <i>(Ammoniak, Staub, Geruch, Nährstoffeinträge von Stickstoff und Phosphor)</i>	Ökonomie <i>(Investitionsbedarf, jährliche Gebäudekosten, Arbeitszeitbedarf (zeitlich nicht prioritär))</i>	<u>Tiergerechtigkeit</u> <i>(Tiergesundheit, Tierverhalten)</i>

Abb.: Schematische Darstellung der drei Aspekte zur Bewertung in InKalkTier; unterteilt in die jeweiligen Arbeitsbereiche der verantwortlichen Institutionen

