

24. Vibrionenseuche der Rinder - Bovine genital campylobacteriosis

EL-ADAWY, H. H.

Summary

Bovine genital campylobacteriosis is a venereal disease characterised by infertility, early embryonic death, and abortion in cattle. *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis* is the causative agent of this sexually transmissible disease. A second subspecies *Campylobacter fetus* subsp. *fetus* can be recovered from intestinal tract of ruminants but has also zoonotic potential for humans. Both subspecies have to be diagnosed by phenotypic methods and/or subspecies-specific PCRs. A third subspecies, *Campylobacter fetus* subsp. *testudinum*, was described and is primarily isolated from reptiles (Fitzgerald et al., 2014)

Bovine genital campylobacteriosis is a notifiable disease in Germany. In 2021 *C. fetus* subsp. *venerealis* was not reported in Germany.

Zusammenfassung

Bei der Vibrionenseuche der Rinder handelt es sich um eine venerische Erkrankung der Rinder, die in Deutschland selten diagnostiziert wird und der Anzeigepflicht unterliegt. Das verursachende Agens ist *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis*. Dieses Bakterium ist wegen unterschiedlicher Epidemiologie und klinischer Bedeutung und der daraus resultierenden Konsequenzen durch geeignete Diagnostikmethoden von *C. fetus* subsp. *fetus* zu unterscheiden. Eine dritte Subspezies, *Campylobacter fetus* subsp. *testudinum*, wurde 2014 beschrieben und wird hauptsächlich bei Reptilien nachgewiesen (Fitzgerald et al., 2014).

Im Jahr 2021 wurde *C. fetus* subsp. *venerealis* in Deutschland nicht gemeldet.

Labordiagnostische Untersuchungen

Es wurde eine Arbeitsanleitung zur Diagnostik der bgC erarbeitet, welche in der amtlichen Methodensammlung des FLI zu finden ist. Das Untersuchungsmaterial (Präputialspülproben, Vaginaltupfer etc.)

muss frisch sein und nach spätestens 6 h sollte die Kultivierung auf Skirrow-Medium oder Mueller-Hinton-Agar mit Zusatz von 10% Schafblut begonnen werden. Die Anzucht erfolgt bei 37°C mikroaerophil (85% N₂, 10% CO₂, 5% O₂) über 5 bis 7 Tage.

Die traditionelle Differenzierung der Subspezies von *C. fetus* basiert auf ihrer unterschiedlichen Toleranz gegenüber 1% Glycin (Schulze et al., 2006). Alternativ wird zur phänotypischen Differenzierung die PCR verwendet. Mit einer konventionellen Duplex-PCR wird zum einen die Spezies *C. fetus* identifiziert, zum anderen ist es möglich, eine Subspezies-Differenzierung von *C. fetus* subsp. *fetus* und *C. fetus* subsp. *venerealis* durchzuführen (Hum et al., 1997). Eine weitere Möglichkeit zur Differenzierung der beiden *Campylobacter-fetus*-Subspezies *fetus* und *venerealis* bietet eine PCR basierend auf dem Nachweis des *C.-venerealis*-spezifischen Insertionselementes ISCfe1 (Abril et al., 2007).

Die Sequenzierung des gesamten Genoms kann für die Subtypisierung von *Campylobacter fetus* verwendet werden (Abdel-Glil et al., 2020). Entsprechend den Ergebnissen von Abdel-Glil et al., 2020 wurde zur Auswertung von Gesamtgenomsequenzen eine bioinformatische Toolbox (https://gitlab.com/FLI_Bioinfo/cfvcatch/-/issues/1) durch das NRL zur Verfügung gestellt.

Gesamtgenom-Sequenzierung mit anschließender bioinformatischer Datenanalyse ist in vielen Ländern bereits Standard bei der Isolat-basierten Feintypisierung, für Ausbruchsanalysen und zur Charakterisierung von *Campylobacter fetus*. Während Sequenzierung mittels Verfahren der zweiten Generation (next generation sequencing) etabliert ist, befinden sich Verfahren der dritten Generation in der Validierungsphase. DNS-Isolation und Erstellung von Libraries sollten nach Herstellerangaben durchgeführt werden. Die Datenanalyse beginnt mit einer Qualitätskontrolle. Dabei sollten mindestens

80% der Basen einer Probe einen Qualitätswert (Phred Score) 30 aufweisen. Quantitativ sollte eine Coverage von mindestens 30 angestrebt werden, wobei mindestens 70% der Reads taxonomisch dem Genus *Campylobacter* zugeordnet werden sollten. In der Datenanalyse folgt nun meist die Assemblierung der Reads zur Vorhersage von Contigs. Die assemblierten Genome sollten eine Größe von $\sim 1.8 \text{ Mbp} \pm 25\%$ und einen N50-Wert von 15kB aufweisen. Zur Typisierung ist das klassische MLST (7 Gene), basierend auf der Genomsequenz, möglich. Hochauflösende Phylogenie ist durch die Bestimmung von Einzelnukleotidänderungen (SNPs) möglich.

Statistische Angaben

Die bgC stellt eine in Deutschland nur selten auftretende Tierseuche dar. Die Zahl der Neuausbrüche dieser Tierseuche war in den letzten Jahren immer kleiner als zehn (Tab. 1). Im Jahr 2021 wurde kein Fall einer Infektion durch *C. fetus* subsp. *venerealis* gemeldet. Die Verdachtsproben erwiesen sich alle als *C. fetus* subsp. *fetus*.

Epidemiologische Untersuchungen

Die Vibrionenseuche der Rinder ist eine durch Infertilität, frühe embryonale Mortalität und Abort charakterisierte, venerische Erkrankung. Heute wird sie als bovine genitale Campylobacteriose (bgC) bezeichnet. Der Erreger der bgC ist *Campylobacter* (*C.*) *fetus* subsp. *venerealis* (enzootischer Abort). Es ist ein Bakterium mit ausgeprägtem Tropismus für den Genitaltrakt des Rindes. Der Präputialsack klinisch gesunder Bullen ist das natürliche Reservoir für den Erreger. Abzugrenzen von der bgC sind Infektionen mit *C. fetus* subsp. *fetus*, der seinen natürlichen Standort im Intestinaltrakt von Rindern hat und gleichfalls Aborte auslösen kann. Eine dritte Subspezies stellt *C. fetus* subsp. *testudinum* dar, welche aus Mensch und Reptilien isoliert wurde (Fitzgerald et al., 2014).

Die Erregerübertragung beim Rind erfolgt hauptsächlich durch den natürlichen Deckakt. Bullen zeigen meist keine Krankheitsanzeichen. Da der Erreger im Samen enthalten sein kann, besteht die Gefahr der Übertragung durch künstliche Besamung. Bei weiblichen Tieren sind die Hauptsymptome Fruchtbarkeitsstörungen, Aborte in jedem Trächtigkeitsstadium und Sterilität.

Die Unterschiede in der Epidemiologie und der klinischen Bedeutung der Subspezies von *C. fetus* erfordern eine exakte Identifizierung und Differenzierung. Bei Aborten sind differentialdiagnostisch Brucellose, Trichomoniasis und Salmonellose auszuschließen.

Forschung

Einige deutsche Isolate der *Campylobacter fetus*-Subspezies *fetus* und *venerealis* und unterschiedlicher Wirte wurden in eine phylogenetische Untersuchung durch Gesamtgenom-Sequenzierung aufgenommen, um die Epidemiologie beider Subspezies zu charakterisieren. Insgesamt wurden 182 Isolate aus 17 Ländern, die über einen Zeitraum von mehr als 60 Jahren gesammelt wurden, in die Analyse einbezogen. Der Mensch wird als ursprünglicher Wirt für *C. fetus* angesehen. Häufig kann der Erreger in der intestinalen Mikrobiota nachgewiesen werden. Beginnend mit der Domestizierung vor etwa 10.000 Jahren begann die Kolonisierung des Rindes durch *C. fetus* und dieses Bakterium wurde dort als venerisches Pathogen adaptiert (Iraola et al., 2017).

Ein weiteres Ziel ist die kontinuierliche Erweiterung der Stammsammlung, welche möglichst alle deutschen *C. fetus*-Isolate, die im Zusammenhang mit veterinärmedizinischen Untersuchungen in den Landesbehörden anfallen, umfassen soll.

Staatliche Maßnahmen

Bei der bgC handelt es sich um eine anzeigepflichtige Tierseuche. Rechtsgrundlage der Untersuchungen zum Vorkommen von *C. fetus* subsp. *venerealis* sind die Verordnung über anzeigepflichtige Tierseuchen und die Verordnung zum Schutz gegen übertragbare Geschlechtskrankheiten der Rinder vom 3. Juni 1975 (Deckinfektionen-Verordnung - Rinder) in der jeweils geltenden Fassung.

Zoonosepotential

Im Gegensatz zu *C. fetus* subsp. *fetus* und *C. fetus* subsp. *testudinum*, welchen zoonotisches Potential zugeschrieben wird, fehlt dieses der Subspezies *venerealis*. Diese Subspezies wurde bisher ausschließlich bei Rindern nachgewiesen.

Tabelle 11: Zahl der Ausbrüche der bgC in Deutschland in den Jahren 2006 bis 2021 (Stand 24.06.2022)

Jahr	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021
bgC	6	7	9	6	-	1	3	3	2	2	-	-	-	-	-	-

Literaturhinweise

Abdel-Glil MY, Hotzel H, Tomaso H, Linde J. Phylogenomic analysis of *Campylobacter fetus* reveals a clonal structure of insertion element ISCfe1 positive genomes. *Front Microbiol* 2020; 11, 585374. doi: 10.3389/fmicb.2020.585374

Abril C, Vilei EM, Brodard I, Burnens A, Frey J, Miserez R. Discovery of insertion element ISCfe1: a new tool for *Campylobacter fetus* subspecies differentiation. *Clin Microbiol Inf* 2007;13:993-1000.

Fitzgerald C, Tu ZC, Patrick M, Stiles T, Lawson AJ, Santovenia M, Gilbert MJ, van Bergen M, Joyce K, Pruckler J, Stroika S, Duim B, Miller WG, Loparev V, Sinnige JC, Fields PI, Tauxe RV, Blaser MJ, Wagenaar JA. *Campylobacter fetus* subsp. *testudinum* subsp. nov., isolated from humans and reptiles. *Int J Syst Evol Microbiol* 2014;64:2944-2948.

Hum S, Quinn K, Brunner J, On SLW. Evaluation of a PCR assay for identification and differentiation of *Campylobacter fetus* subspecies. *Aust Vet J* 1997;75:827-831.

Iraola G, Forster SC, Kumar N, Lehours P, Bekal S, García-Peña FJ, Paolicchi F, Morsella C, Hotzel H, Hsueh PR, Vidal A, Lévesque S, Yamazaki W, Balzan C, Vargas A, Piccirillo A, Chaban B, Hill JE, Betancor L, Collado L, Truysers I, Midwinter AC, Dagi HT, Mégraud F, Calleros L, Pérez R, Naya H, Lawley TD.