

Amtliche Methodensammlung und Falldefinition

Surra (*Trypanosoma evansi*)

Inhaltsverzeichnis

Amtliche Methode	3
1. Charakterisierung der Infektion.....	3
1.1 Erreger	3
1.2 Klinische Symptomatik	3
1.3 Differenzialdiagnose	4
1.4 Diagnostische Indikation	4
1.5 Zuständige Untersuchungseinrichtung	4
1.6 Rechtsgrundlagen (in der jeweils geltenden Fassung)	4
2. Untersuchungsmaterial	5
3. Untersuchungsgang	5
3.1 Blutausstrich, Blut, Gewebe und Gewebeflüssigkeit.....	5
3.2 Nachweis spezifischer Antikörper	5
3.3 Nukleinsäure-Nachweis	6
Falldefinition - Surra	7

Amtliche Methode

1. Charakterisierung der Infektion

1.1 Erreger

Surra wird durch eine Infektion mit *Trypanosoma (T.) evansi*, einem von Insekten übertragenen einzelligen Parasiten, hervorgerufen. Surra ist eine hauptsächlich bei Pferden und Kamelen vorkommende Erkrankung. Das Subgenus Trypanozoon umfasst drei Subspezies: *T. brucei* (*T. brucei brucei*, *T. b. gambiense* und *T. b. rhodesiense*), *T. evansi* und *T. equiperdum*. *T. brucei*, *T. evansi* und *T. equiperdum* werden derzeit über die Zusammensetzung ihrer Kinetoplast-DNA (kDNA) klassifiziert: *T. brucei* besitzt eine vollständige intakte Maxicircle-kDNA, während diese bei *T. evansi* vollständig fehlt und bei *T. equiperdum* die Integrität der Maxicircle-kDNA je nach Stamm stark variieren kann; beide, *T. evansi* und *T. equiperdum*, werden als dyskinetoplastisch bezeichnet.

Trypanosoma evansi kommt in Afrika, Asien, Zentral- und Südamerika vor. Neben Pferden und Kamelen sind auch Esel, Maultiere, Lamas, Büffel, Rinder, Schafe, Ziegen, Hunde, Katzen und weitere Tierarten (z.B. Fledermäuse in Südamerika) betroffen. In sehr seltenen Fällen können sich auch Menschen infizieren. Die Übertragung erfolgt mechanisch durch blutsaugende Insekten und Vampirfledermäuse. Zu den Insekten, die die Infektion übertragen können, gehören vor allem *Tabanus* spp. (Bremsen) aber auch *Musca* spp. (echte Fliegen). Fleischfressende Tiere können sich über die Fütterung mit infiziertem Fleisch anstecken. Eine vertikale Übertragung (diaplazentar oder über Kolostrum und Milch) auf die Nachkommen erscheint möglich. Die Inkubationszeit wird mit 5 - 60 Tagen angegeben.

Die Tenazität von *T. evansi* in der Umwelt außerhalb von Wirtstieren wird als sehr gering angesehen. Trypanosomen überleben nur eine kurze Zeit außerhalb ihres Wirtes. Fliegen können nach ca. 8 Stunden den Erreger nicht mehr übertragen. Vampirfledermäuse (in Süd- und Zentralamerika) sind Wirte, Reservoire und Vektoren. Sie können eine hohe Parasitämie entwickeln und übertragen *T. evansi* mit ihrem Speichel. Fledermäuse können an einer *T. evansi*-Infektion sterben. Überlebende Fledermäuse können den Erreger weiter übertragen (Carrier). Fleischfresser können sich über die Aufnahme infizierten Fleisches anstecken.

Es wurde gezeigt, dass bereits eine fünfminütige Inkubation bei 50 °C in Zellkulturmedium ausreichend ist, um verschiedene Trypanosomen-Spezies sicher abzutöten. Präzise Daten zum Einfluss der Temperatur oder Austrocknung auf das Überleben liegen nicht vor. Eine thermische Desinfektion (60 °C Kerntemperatur, 15 min) wird für Tätigkeiten mit Trypanosomen in Laboratorien empfohlen (TRBA 100, Schutzmaßnahmen für Tätigkeiten mit biologischen Arbeitsstoffen in Laboratorien).

1.2 Klinische Symptomatik

Befallene Tiere entwickeln hohes Fieber, progressive Anämie, Gewichtsverlust, Ikterus, Schwäche und Lethargie sowie Ödeme, die vor allem in distalen Bereichen des Körpers zu beobachten sind. Bei Pferden kann

Surra (*Trypanosoma evansi*)

es auch zu einer Schädigung des Nervensystems, zu Ataxie und Lähmungserscheinungen v. a. der Hinterhand kommen. *Trypanosoma evansi* kann bei Büffeln und Kamelen Aborte verursachen. Die Erkrankung verläuft bei Kamelen und Pferden oft tödlich. Bei befallenen Tieren kann der Tod schon nach 2 - 4 Wochen eintreten, bei einem chronischen Verlauf können bis zu 2 Jahre bis zum Tod des Tieres vergehen.

1.3 Differenzialdiagnose

Vergleichbare Symptome (Fieber bzw. Fieberschübe, Anämie, starker Gewichtsverlust, Gelbsucht, fortschreitende Schwäche und Lethargie, Lähmungen) können bei einer Infektion mit *Trypanosoma (T.) equiperdum*, dem Erreger der Beschälseuche bei Pferden, auftreten. Eine Infektion mit diesem Erreger, der aber nur bei Equiden vorkommt, kann mit den bisher verfügbaren immundiagnostischen Methoden nicht von der Infektion mit *T. evansi* unterschieden werden.

1.4 Diagnostische Indikation

Klinisch, epidemiologisch oder anamnestisch begründeter Verdacht

1.5 Zuständige Untersuchungseinrichtung

- Friedrich-Loeffler-Institut, Südufer 10, 17493 Greifswald-Insel Riems, Tel. 038351 7-0
- Staatliche Veterinäruntersuchungsämter

1.6 Rechtsgrundlagen (in der jeweils geltenden Fassung)

- Durchführungsverordnung (EU) 2018/1301 vom 27. September 2018 zur Änderung der Durchführungsverordnung (EU) 2018/659 über die Bestimmungen für den Eingang lebender Equiden sowie von Sperma, Eizellen und Embryonen von Equiden in die Union
- Ergänzung der Verordnung (EU) 2016/429 vom 9. März 2016 des Europäischen Parlaments und des Rates hinsichtlich Tiergesundheitsanforderungen an Verbringungen von Landtieren und Bruteiern innerhalb der Union (EU) 2020/688 vom 17. Dezember 2019
- Verordnung (EU) 2016/429 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 9. März 2016 zu Tierseuchen und zur Änderung und Aufhebung einiger Rechtsakte im Bereich der Tiergesundheit („Tiergesundheitsrecht“)

2. Untersuchungsmaterial

- Blut oder Gewebeflüssigkeit zum direkten mikroskopischen Nachweis von Trypanosomen im Giemsa-gefärbten Ausstrich, oder nach Haematokrit-Zentrifugation oder Mini-Anionenaustauscherchromatographie mit DEAE-Zellulose
- Blut, Gewebe oder Gewebeflüssigkeit zur Untersuchung mittels molekularbiologischer Methoden
- Blut zum serologischen Nachweis spezifischer Antikörpern mittels Card-Agglutinationstest auf Trypanosomiasis (CATT; card agglutination test)/*T. evansi*)

3. Untersuchungsgang

Beim Verdacht auf eine Infektion mit *T. evansi* (entsprechende Symptomatik; Herkunft aus einem Endemiegebiet; Kontakt zu einem infizierten Tier) sollte das Tier von anderen Tieren im Bestand separiert werden und Proben für den direkten Erregernachweis, für den Nachweis spezifischer Antikörper oder den Nukleinsäure-Nachweis gewonnen werden.

3.1 Blutausstrich, Blut, Gewebe und Gewebeflüssigkeit

Bei einer Infektion mit *T. evansi* kann ein Erregernachweis im Blut aber auch in Lymphknoten-Biopsien oder in aus Ödemen gewonnenen Flüssigkeiten gelingen.

Die mikroskopische Untersuchung (400 - 1000x-fache Vergrößerung in der Ölimmersion) eines Giemsa-gefärbten dünnen Ausstrichs ermöglicht die Identifizierung der Untergattung Trypanozoon basierend auf der typischen Morphologie der Parasiten: Größe 25 - 35 µm, kleiner und subterminaler Kinetoplast, dünnes hinteres Ende, große gewellte Membran, zentraler Kern und freies Flagellum.

Die mikroskopische Beobachtung von Trypanosomen entsprechender Morphologie und Größe bestätigt den Verdacht, jedoch erfordert es ergänzende molekulare Tests zur Artidentifizierung, wenn auch andere pathogene Trypanosomen-Arten in einem Wirt vorhanden sein könnten.

Die analytische Sensitivität des mikroskopischen Nachweises kann durch Erregeranreicherungs-Methoden gesteigert werden, die für die Diagnose der Schlafkrankheit oder Nagana genutzt werden. Dazu zählen der mikroskopische Nachweis nach Haematokrit-Zentrifugation („Woo's technique“, „HCT“) oder Mini-Anionenaustauscherchromatographie mit DEAE-Zellulose. Diese Methoden sind im WOAHA Manual for Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (WOAH-Manual) beschrieben.

3.2 Nachweis spezifischer Antikörper

Eine Infektion mit *T. evansi* führt zu einer Antikörperreaktion. Mehrere Antikörper-Nachweisverfahren sind für die Verwendung im Labor und auch im Feld etabliert worden. Für einige dieser Verfahren sind noch breiter angelegte Evaluierungen und Standardisierungen vor ihrem Einsatz erforderlich. Häufig eingesetzte

Surra (*Trypanosoma evansi*)

Tests sind der Immunfluoreszenztest (IFAT), der „Enzyme Linked Immunosorbent Assay“ (ELISA) und der Kartenagglutinationstest (Card Agglutination Test for Trypanosomiasis (CATT)/*T. evansi*). Für den Feldeinsatz erscheint derzeit nur der Einsatz des CATT/*T. evansi* sinnvoll. Der CATT/*T. evansi* ist standardisiert und ist kommerziell verfügbar (Applied Technology and Production Unit, Institute of Tropical Medicine; Anschrift: Nationalestraat 155, 2000 Antwerpen, Belgien; E-mail: production@itg.be).

3.3 Nukleinsäure-Nachweis

Mehrere Primerpaare, die Zielsequenzen spezifisch für die Untergattung (Trypanozoon) oder möglicherweise artspezifischen (*T. evansi*) Nukleinsäure(DNA)-Sequenzen haben, stehen für die Diagnose einer Infektion durch Polymerase-Kettenreaktion (PCR) zur Verfügung. Der DNA-Nachweis mittels PCR ist oft empfindlicher als der mikroskopische Nachweis, kann jedoch falsch-negative Ergebnisse liefern, wenn die Parasitämie sehr niedrig ist; in diesen Fällen kann der Verdacht auf eine potentielle Infektion nur durch eine serologische Untersuchung bestätigt werden.

Im WOH-Manual wird eine Trypanozoon-spezifische Endpunkt-PCR als besonders sensitiv empfohlen (TBR-PCR; Primer: TBR1: CGA ATG AAT ATT AAA CAA TGC GCA G, TBR2: AGA ACC ATT TAT TAG CTT TGT TGC; Amplifikationsbedingungen: 94 °C, 3 min - initiale Denaturierung; 30 Zyklen - 94 °C 1 min, 60°C 2 min, 74°C 30 s). Die Probe (DNA) kann mit handelsüblichen, für Blut geeigneten Kits oder mittels Phenol-Chloroform-Extraktion hergestellt werden. Die analytische Sensitivität des PCR-Nachweises kann gesteigert werden, in dem der „Buffy-Coat“ einer bei 8000 x g zentrifugierten Blutprobe (0,5 ml) zur DNA-Extraktion verwendet wird. Das Ergebnis ist positiv für Trypanozoon, wenn nach Amplifikation im Agarosegel ein 177-bp-Produkt sichtbar ist.

Die Sequenzen zusätzlicher PCR-Primer-Paare, die zur Bestätigung oder zur weiteren Charakterisierung geeignet sein sollen, finden sich im WOH-Manual; die Empfindlichkeit der auf den zusätzlichen Primer-Paaren basierenden PCRs wird allerdings als geringer als die der TBR-PCR angesehen.

Falldefinition - Surra

Klinisches Bild

Fieber bzw. Fieberschübe, Anämie, starker Gewichtsverlust, Gelbsucht, fortschreitende Schwäche und Lethargie, Blutergüsse, Lähmungen bei Equiden und Paarhufern (Artiodactyla).

Inkubationszeit: variabel (Wochen bis Monate)

Labordiagnostischer Nachweis

Positiver Befund mit mindestens einer der folgenden Methoden:

Direkter Nachweis des Erregers

- Mikroskopischer Nachweis im Giemsa-gefärbten Blutausschlag; typische Morphologie: Größe 25 - 35 µm, kleiner und subterminaler Kinetoplast, dünnes hinteres Ende, große gewellte Membran, zentraler Kern und freies Flagellum
- Mikroskopischer Nachweis nach Haematokrit-Zentrifugation oder Mini-Anionenaustauscherchromatographie mit DEAE-Zellulose, Techniken, die für die Diagnose der Schlafkrankheit oder Nagana genutzt werden
- Nachweis erregerspezifischer Nukleinsäure (DNA)

Indirekter Nachweis der Infektion mit dem Erreger

- Indirekter Nachweis spezifischer Antikörper
 - Card-Agglutinationstest auf Trypanosomiasis (CATT): standardisiert und kommerziell verfügbar (Applied Technology and Production Unit, Institute of Tropical Medicine; Anschrift: Nationalestraat 155, 2000 Antwerpen, Belgien; E-mail: production@itg.be)
 - Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA): als alternative Methode zugelassen (siehe WOAHA Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals)

Zusatzinformation

Das WOAHA Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals bietet weitere Definitionen und Empfehlungen zum Erregernachweis, zu serologischen und molekularen Tests sowie zur Definition eines bestätigten Falls.

Surra (*Trypanosoma evansi*)

Differenzialdiagnose

Infektionen mit anderen Trypanosomen, z.B. Infektionen mit *T. equiperdum*, dem Erreger der Beschälseuche, können einen sehr ähnlichen klinischen Verlauf nehmen.

Epidemiologischer Zusammenhang

Herkunft aus einem Endemiegebiet oder Kontakt zu infizierten Tieren

Voraussetzung für den Verdacht

Positiver Erreger- oder Antikörpernachweis in Verbindung mit anamnestischen Anhaltspunkten (epidemiologischer Zusammenhang, z.B. Therapieversuche in der Vergangenheit)

Durch TSN zu übermittelnder Fall

Voraussetzungen für die Feststellung eines Falles:

Erregernachweis oder Antikörpernachweis in Verbindung mit anamnestischen (epidemiologischen) und klinischen Anhaltspunkten

Rechtsgrundlagen (in der jeweils geltenden Fassung)

- Durchführungsverordnung (EU) 2018/1301 vom 27. September 2018 zur Änderung der Durchführungsverordnung (EU) 2018/659 über die Bestimmungen für den Eingang lebender Equiden sowie von Spermata, Eizellen und Embryonen von Equiden in die Union
- Ergänzung der Verordnung (EU) 2016/429 vom 9. März 2016 des Europäischen Parlaments und des Rates hinsichtlich Tiergesundheitsanforderungen an Verbringungen von Landtieren und Bruteiern innerhalb der Union (EU) 2020/688 vom 17. Dezember 2019
- Verordnung (EU) 2016/429 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 9. März 2016 zu Tierseuchen und zur Änderung und Aufhebung einiger Rechtsakte im Bereich der Tiergesundheit („Tiergesundheitsrecht“)

Friedrich-Loeffler-Institut, Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit
Südufer 10, D-17493 Greifswald - Insel Riems, www.fli.de