

Amtliche Methode und Falldefinition

Trichomonadenseuche des Rindes

Inhaltsverzeichnis

1. Charakterisierung des Befalls	3
1.1 Erreger	3
1.2 Klinische Symptomatik	3
1.3 Differenzialdiagnose	3
1.4 Diagnostische Indikation	3
1.5 Zuständige Untersuchungseinrichtung	3
1.6 Rechtsgrundlagen (in der jeweils geltenden Fassung)	3
2. Untersuchungsmaterial.....	5
3. Untersuchungsgang	6
3.1 Erregernachweis	6
Falldefinition - Trichomonadenseuche der Rinder; <i>Tritrichomonas foetus</i>	8

Amtliche Methode

1. Charakterisierung des Befalls

1.1 Erreger

Die Trichomonadenseuche des Rindes wird durch einen einzelligen Parasiten, *Tritrichomonas (T.) foetus*, verursacht.

1.2 Klinische Symptomatik

Der Erreger wird i.d.R. beim Deckakt übertragen, eine Übertragung kann auch mechanisch bei der künstlichen Besamung oder während der gynäkologischen Untersuchung erfolgen. Im Anschluss an eine Infektion besiedeln die Trichomonaden beim Bullen die Präputialhöhle, den Penisgraben und die Mündung der Harnröhre. Infizierte Bullen zeigen oft nur leichte oder überhaupt keine Symptome. Bei Kühen werden Vagina und Uterus besiedelt. Die Infektion führt hier zu Vaginitis, Endometritis, Pyometra und Aborten. Als Komplikation können bakterielle Begleitinfektionen auftreten. Bullen spielen eine bedeutende Rolle bei der Übertragung der Trichomonaden, da sie lebenslang Träger und Ausscheider des Parasiten sein können.

1.3 Differenzialdiagnose

Es besteht eine Verwechslungsmöglichkeit von *T. foetus* mit anderen Trichomonaden. Hier spielen insbesondere Kontaminationen mit Flagellaten aus dem Darmtrakt eine Rolle. Eine Differenzierung von *T. foetus* gegenüber kontaminierenden Trichomonaden kann mittels PCR erfolgen.

1.4 Diagnostische Indikation

Ungeklärte Abortursachen.

1.5 Zuständige Untersuchungseinrichtung

Friedrich-Loeffler-Institut (FLI), Naumburger Str. 96a, 07743 Jena
Tel: +49 3641 804-2462 oder -2273; Fax: +49 3641-804 2228

1.6 Rechtsgrundlagen (in der jeweils geltenden Fassung)

- 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“)

Trichomonadenseuche des Rindes

- Delegierte Verordnung (EU) 2018/1629 der Kommission vom 25. Juli 2018 zur Änderung der Liste der Seuchen in Anhang II der Verordnung (EU) 2016/429 des Europäischen Parlaments und des Rates zu Tierseuchen und zur Änderung und Aufhebung einiger Rechtsakte im Bereich der Tiergesundheit („Tiergesundheitsrecht“)
- Durchführungsverordnung (EU) 2018/1882 der Kommission vom 3. Dezember 2018 über die Anwendung bestimmter Bestimmungen zur Seuchenprävention und -bekämpfung auf Kategorien gelisteter Seuchen und zur Erstellung einer Liste von Arten und Artengruppen, die ein erhebliches Risiko für die Ausbreitung dieser gelisteten Seuchen darstellen
- Delegierte Verordnung (EU) 2020/686 der Kommission vom 17. Dezember 2019 zur Ergänzung der Verordnung (EU) 2016/429 [...] betreffend die Zulassung von Zuchtmaterialbetrieben sowie die Anforderungen an die Rückverfolgbarkeit und die Tiergesundheit in Bezug auf Verbringungen innerhalb der Union von Zuchtmaterial von bestimmten gehaltenen Landtieren [...]
- Delegierte Verordnung (EU) 2020/688 der Kommission vom 17. Dezember 2019 zur Ergänzung der Verordnung (EU) 2016/429 [...] hinsichtlich Tiergesundheitsanforderungen an Verbringungen von Landtieren und Bruteiern innerhalb der Union
- Delegierte Verordnung (EU) 2020/689 der Kommission vom 17. Dezember 2019 zur Ergänzung der Verordnung (EU) 2016/429 des Europäischen Parlaments und des Rates hinsichtlich Vorschriften betreffend Überwachung, Tilgungsprogramme und den Status „seuchenfrei“ für bestimmte gelistete und neu auftretende Seuchen
- Delegierte Verordnung (EU) 2020/692 der Kommission vom 30. Januar 2020 zur Ergänzung der Verordnung (EU) 2016/429 [...] hinsichtlich Vorschriften für den Eingang von Sendungen von bestimmten Tieren, bestimmtem Zuchtmaterial und bestimmten Erzeugnissen tierischen Ursprungs in die Union und für deren anschließende Verbringung und Handhabung
- Durchführungsverordnung (EU) 2020/2002 der Kommission vom 7. Dezember 2020 mit Durchführungsbestimmungen zur Verordnung (EU) 2016/429 [...] in Bezug auf die Meldung gelisteter Seuchen innerhalb der Union und die Berichterstattung über gelistete Seuchen innerhalb der Union, in Bezug auf Formate und Verfahren für die Vorlage von Überwachungsprogrammen in der Union und von Tilgungsprogrammen und die Berichterstattung darüber sowie für Anträge auf Anerkennung des Status „seuchenfrei“ sowie in Bezug auf das elektronische Informationssystem
- Durchführungsverordnung (EU) 2020/2235 der Kommission vom 16. Dezember 2020 mit Durchführungsbestimmungen zu den Verordnungen (EU) 2016/429 und (EU) 2017/625 des Europäischen Parlaments und des Rates hinsichtlich der Muster für Veterinärbescheinigungen, der Muster für amtliche Bescheinigungen und der Muster für Veterinär-/amtliche Bescheinigungen für den Eingang in die Union von Sendungen bestimmter Kategorien von Tieren und Waren und für deren Verbringungen innerhalb der Union, hinsichtlich der amtlichen Bescheinigungstätigkeit im Zusammenhang mit derartigen Bescheinigungen sowie zur Aufhebung der Verordnung (EG) Nr. 599/2004, der Durchführungsverordnungen (EU) Nr. 636/2014 und (EU) 2019/628, der Richtlinie 98/68/EG und der Entscheidungen 2000/572/EG, 2003/779/EG und 2007/240/EG (Text von Bedeutung für den EWR)

- Durchführungsverordnung (EU) 2021/403 der Kommission vom 24. März 2021 [...] hinsichtlich der Muster für Veterinärbescheinigungen, der Muster für amtliche Bescheinigungen und der Muster für Veterinär-/amtliche Bescheinigungen für den Eingang in die Union von Sendungen bestimmter Kategorien von Landtieren und ihres Zuchtmaterials und für deren Verbringungen zwischen Mitgliedstaaten [...]
- Durchführungsverordnung (EU) 2021/404 der Kommission vom 24. März 2021 zur Festlegung der Listen von Drittländern, Gebieten und Zonen derselben, aus denen der Eingang in die Union von Tieren, Zuchtmaterial und Erzeugnissen tierischen Ursprungs [...] zulässig ist [...]
- Durchführungsverordnung (EU) 2021/547 der Kommission vom 29. März 2021 zur Änderung der Durchführungsverordnung (EU) 2019/1715 in Bezug auf die Verfahren für die Einrichtung und Nutzung von ADIS und EUROPHYT, die Ausstellung von elektronischen Veterinärbescheinigungen, amtlichen Bescheinigungen, Veterinär-/amtlichen Bescheinigungen und Handelspapieren, die Verwendung elektronischer Signaturen und die Funktionsweise von TRACES sowie zur Aufhebung der Entscheidung 97/152/EG
- Gesetz zur Vorbeugung vor und Bekämpfung von Tierseuchen (Tiergesundheitsgesetz - TierGesG) in der jeweils geltenden Fassung
- Verordnung über anzeigepflichtige Tierseuchen in der jeweils geltenden Fassung
- Assessment of listing and categorisation of animal diseases within the framework of the Animal Health Law (Regulation (EU) No 2016/429): Trichomonosis; doi: 10.2903/j.efsa.2017.4992

2. Untersuchungsmaterial

Die Diagnose der Trichomonadenseuche des Rindes erfolgt durch den direkten mikroskopischen Nachweis des Erregers in Spülproben oder anderen für die Untersuchung geeigneten Proben (z. B. abgestoßene Früchte, Eihäute, Vaginalsekret). Des Weiteren gibt es die Möglichkeit der Untersuchung mittels Erregeranzüchtung. Vaginaltupferproben dürfen nicht austrocknen und sind daher sofort nach der Probenentnahme in ein geeignetes Medium zu überführen. Der Probenversand erfolgt bei Raumtemperatur oder gekühlt, nicht gefroren. Proben sind nach Möglichkeit per Kurier zum FLI zu schicken. Die entsprechenden Vorschriften sind zu beachten (siehe Kapitel Probenversand - Diagnostische Proben der amtlichen Methodensammlung). Die Proben sind in jedem Fall telefonisch anzukündigen (03641 804-2462 oder -2273 (Labor)).

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-trichomonadenseuche/>.

3. Untersuchungsgang

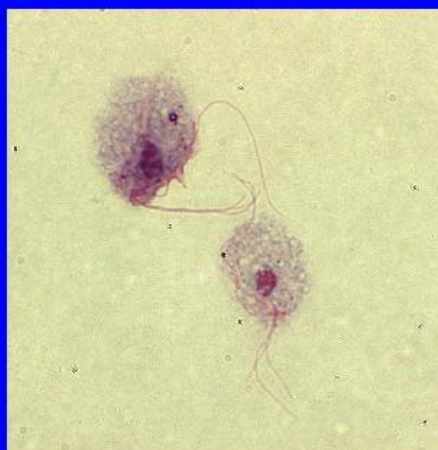
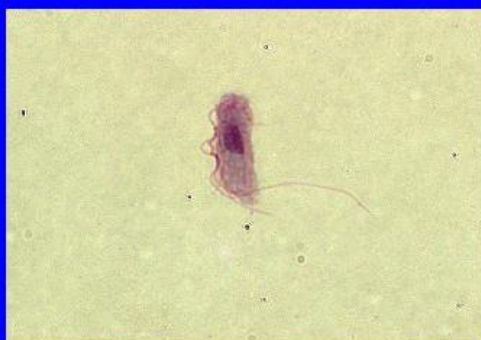
3.1 Erregernachweis

3.1.1 Anzucht

Es können verschiedene Kulturmedien für die Anzucht verwendet werden (WOAH/OIE in der geltenden Fassung). Für die Anzucht auf Zellkulturbasis werden die Proben unter Verwendung kommerziell erhältlicher Medien kultiviert. Die Anzucht der Trichomonaden kann mittels Co-Kultivierung auf BGM Zellen unter Verwendung von DMEM Medium Glutamax (500 ml), ohne Pyruvat, 4,5 g/L D-Glucose, 25 mm HEPES, 10 % fetalem Kälberserum, 1 % MEM NEA, 1 % MEM Vitamine durchgeführt werden. Im Falle starker Kontamination kann der Zusatz von 1 % Penicillin/Streptomycin [10.000 IU/ml; 10 mg/ml] oder 1 % Gentamycin [10 mg/ml] erfolgen (Co-Kultivierung nicht im WOAH-Kapitel erwähnt). Die Anzuchten werden arbeitstäglich mikroskopisch bis mind. Tag 7 p. i. kontrolliert. Bei Zellkulturen ist nach Bedarf umzusetzen.

3.1.2 Färberischer Nachweis

Die Trichomonaden können mit Hilfe von nach Giemsa gefärbten Ausstrichpräparaten nachgewiesen werden.



Trichomonas foetus
(Giemsa Färbung)

3.1.3 Polymerase Kettenreaktion (PCR)

Zum Erregernachweis mittels PCR werden je 1 ml des Kulturüberstandes entnommen. Die Aufreinigung der DNS erfolgt mit Hilfe eines kommerziellen DNS-Isolierungskits (z. B. Roche; Qiagen) gemäß der Anleitung des Herstellers. Die anschließende PCR erfolgt entsprechend den Angaben von Campero *et al.* (2003) bzw. Felleisen *et al.* (1998).

Die Primer TFR 1 (5'-TGCTTCAGTTCAGCGGGTCTTCC-3') und TFR 2 (5'-CGGTAGGTGAACCTGCCGTTGG-3') dienen dem Nachweis von Trichomonaden. Die für *T. foetus* spezifische PCR wird mit den Primern TRF 3 (5'-CGGGTCTTCTATATGAGACAGAACC-3') und TRF 4 (5'-CCTGCCGTTGGATCAGTTTCGTTAA-3') durchgeführt. Die Darstellung der Amplifikate erfolgt im 1,5 % Agarosegel mittels Ethidiumbromidfärbung. Als positiver Befund wird das Erscheinen eines 372 bp-großen (Trichomonaden-PCR) bzw. 347 bp-großen (*T. foetus*-PCR) PCR-Produktes gewertet.

Die genaue am FLI verwendete Methodik ist auf Anfrage erhältlich.

3.1.4 Antikörpernachweis

Zurzeit werden keine serologischen Tests eingesetzt. In der Literatur wurde der Nachweis einer humoralen Antwort auf eine Infektion mit *T. foetus* mit Hilfe des Mikroagglutinationstests beschrieben.

Literatur

- https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.04.15_TRICHOMONOSIS.pdf
(Stand 2018)

Falldefinition - Trichomonadenseuche der Rinder; *Tritrichomonas foetus*

Klinisches Bild

Der Erreger wird i.d.R. beim Deckakt übertragen, eine Übertragung kann auch mechanisch bei der künstlichen Besamung oder während der gynäkologischen Untersuchung erfolgen. Im Anschluss an eine Infektion besiedeln die Trichomonaden beim Bullen die Präputialhöhle, den Penisgraben und die Mündung der Harnröhre. Infizierte Bullen zeigen oft nur leichte oder überhaupt keine Symptome. Bei Kühen werden Vagina und Uterus besiedelt. Die Infektion führt hier zu Vaginitis, Endometritis, Salpingitis, Pyometra und Aborten. Vermehrtes Umrindern, verlängerte Zwischenkalbezeiten und Brunstintervalle sind eine Folge. Als Komplikation können bakterielle Begleitinfektionen auftreten. Bullen spielen eine bedeutende Rolle bei der Übertragung der Trichomonaden, da sie lebenslang Träger und Ausscheider des Parasiten sein können.

Labordiagnostischer Nachweis

Positiver Befund mit mindestens einer der folgenden Methoden:

Erregernachweis:

- Mikroskopischer Nachweis (z. B. Dunkelfeld-Mikroskop, gefärbtes Ausstrichpräparat)
- Anzucht des Erregers
- Genomnachweis (PCR)

Indirekter Nachweis:

- (nicht gebräuchlich)

Zusatzinformation

Problematisch ist die Verwechslungsmöglichkeit von *Tritrichomonas foetus* mit anderen Trichomonaden. Hierbei spielen insbesondere Kontaminationen mit Flagellaten aus dem Darmtrakt eine Rolle. Daher sollte im positiven Falle eine Bestätigung des Ergebnisses mittels einer speziesspezifischen PCR erfolgen.

Epidemiologischer Zusammenhang

Die Übertragung erfolgt beim Deckakt oder durch infizierten Samen. Über kontaminierte Geräte ist eine Übertragung ebenfalls möglich.

Voraussetzung für den Verdacht

Vorliegen klinischer Symptome (Verkalbungen, mehrmaliges Umrindern, Fruchtbarkeitsstörungen), zusätzlich Erregernachweis durch mikroskopischen Nachweis oder Anzüchtung.

Durch TSN zu übermittelnder Fall

Voraussetzung für die Feststellung eines Falles:

Direkter Erregernachweis in Verbindung mit einer speziesspezifischen molekularbiologischen Bestätigung als *Tritrichomonas foetus* (PCR).

Rechtsgrundlagen (in der jeweils geltenden Fassung)

- 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“)
- Delegierte Verordnung (EU) 2018/1629 der Kommission vom 25. Juli 2018 zur Änderung der Liste der Seuchen in Anhang II der Verordnung (EU) 2016/429 des Europäischen Parlaments und des Rates zu Tierseuchen und zur Änderung und Aufhebung einiger Rechtsakte im Bereich der Tiergesundheit („Tiergesundheitsrecht“)
- Durchführungsverordnung (EU) 2018/1882 der Kommission vom 3. Dezember 2018 über die Anwendung bestimmter Bestimmungen zur Seuchenprävention und -bekämpfung auf Kategorien gelisteter Seuchen und zur Erstellung einer Liste von Arten und Artengruppen, die ein erhebliches Risiko für die Ausbreitung dieser gelisteten Seuchen darstellen
- Delegierte Verordnung (EU) 2020/686 der Kommission vom 17. Dezember 2019 zur Ergänzung der Verordnung (EU) 2016/429 [...] betreffend die Zulassung von Zuchtmaterialbetrieben sowie die Anforderungen an die Rückverfolgbarkeit und die Tiergesundheit in Bezug auf Verbringungen innerhalb der Union von Zuchtmaterial von bestimmten gehaltenen Landtieren [...]
- Delegierte Verordnung (EU) 2020/688 der Kommission vom 17. Dezember 2019 zur Ergänzung der Verordnung (EU) 2016/429 [...] hinsichtlich Tiergesundheitsanforderungen an Verbringungen von Landtieren und Bruteiern innerhalb der Union
- Delegierte Verordnung (EU) 2020/689 der Kommission vom 17. Dezember 2019 zur Ergänzung der Verordnung (EU) 2016/429 des Europäischen Parlaments und des Rates hinsichtlich Vorschriften betreffend Überwachung, Tilgungsprogramme und den Status „seuchenfrei“ für bestimmte gelistete und neu auftretende Seuchen
- Delegierte Verordnung (EU) 2020/692 der Kommission vom 30. Januar 2020 zur Ergänzung der Verordnung (EU) 2016/429 [...] hinsichtlich Vorschriften für den Eingang von Sendungen von bestimmten Tieren, bestimmtem Zuchtmaterial und bestimmten Erzeugnissen tierischen Ursprungs in die Union und für deren anschließende Verbringung und Handhabung
- Durchführungsverordnung (EU) 2020/2002 der Kommission vom 7. Dezember 2020 mit Durchführungsbestimmungen zur Verordnung (EU) 2016/429 [...] in Bezug auf die Meldung gelisteter Seuchen innerhalb der Union und die Berichterstattung über gelistete Seuchen innerhalb der Union, in Bezug auf Formate und Verfahren für die Vorlage von Überwachungsprogrammen in der Union und von Tilgungsprogrammen und die Berichterstattung darüber sowie für Anträge auf Anerkennung des Status „seuchenfrei“ sowie in Bezug auf das elektronische Informationssystem

- Durchführungsverordnung (EU) 2020/2235 der Kommission vom 16. Dezember 2020 mit Durchführungsbestimmungen zu den Verordnungen (EU) 2016/429 und (EU) 2017/625 des Europäischen Parlaments und des Rates hinsichtlich der Muster für Veterinärbescheinigungen, der Muster für amtliche Bescheinigungen und der Muster für Veterinär-/amtliche Bescheinigungen für den Eingang in die Union von Sendungen bestimmter Kategorien von Tieren und Waren und für deren Verbringungen innerhalb der Union, hinsichtlich der amtlichen Bescheinigungstätigkeit im Zusammenhang mit derartigen Bescheinigungen sowie zur Aufhebung der Verordnung (EG) Nr. 599/2004, der Durchführungsverordnungen (EU) Nr. 636/2014 und (EU) 2019/628, der Richtlinie 98/68/EG und der Entscheidungen 2000/572/EG, 2003/779/EG und 2007/240/EG (Text von Bedeutung für den EWR)
- Durchführungsverordnung (EU) 2021/403 der Kommission vom 24. März 2021 [...] hinsichtlich der Muster für Veterinärbescheinigungen, der Muster für amtliche Bescheinigungen und der Muster für Veterinär-/amtliche Bescheinigungen für den Eingang in die Union von Sendungen bestimmter Kategorien von Landtieren und ihres Zuchtmaterials und für deren Verbringungen zwischen Mitgliedstaaten [...]
- Durchführungsverordnung (EU) 2021/404 der Kommission vom 24. März 2021 zur Festlegung der Listen von Drittländern, Gebieten und Zonen derselben, aus denen der Eingang in die Union von Tieren, Zuchtmaterial und Erzeugnissen tierischen Ursprungs [...] zulässig ist [...]
- Durchführungsverordnung (EU) 2021/547 der Kommission vom 29. März 2021 zur Änderung der Durchführungsverordnung (EU) 2019/1715 in Bezug auf die Verfahren für die Einrichtung und Nutzung von ADIS und EUROPHYT, die Ausstellung von elektronischen Veterinärbescheinigungen, amtlichen Bescheinigungen, Veterinär-/amtlichen Bescheinigungen und Handelspapieren, die Verwendung elektronischer Signaturen und die Funktionsweise von TRACES sowie zur Aufhebung der Entscheidung 97/152/EG
- Gesetz zur Vorbeugung vor und Bekämpfung von Tierseuchen (Tiergesundheitsgesetz - TierGesG) in der jeweils geltenden Fassung
- Verordnung über anzeigepflichtige Tierseuchen in der jeweils geltenden Fassung
- Assessment of listing and categorisation of animal diseases within the framework of the Animal Health Law (Regulation (EU) No 2016/429): Trichomonosis; doi: 10.2903/j.efsa.2017.4992