

20. Vibrionenseuche der Rinder - Bovine genital campylobacteriosis

El-Adawy, H. H.

Summary

Bovine genital campylobacteriosis is a venereal disease of cattle that is rarely diagnosed in Germany and is subject to mandatory notification. BGC is characterized by infertility, early embryonic death, and abortion in cattle. The causative agent is *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis*. This bacterium must be distinguished from *C. fetus* subsp. *fetus* by suitable diagnostic methods due to its different epidemiology and clinical significance and the resulting consequences. A third subspecies, *Campylobacter fetus* subsp. *testudinum*, was described in 2014 and is mainly found in reptiles (Fitzgerald et al., 2014). In 2022, *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 2022 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. fetus 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/-](https://gitlab.com/FLI_Bioinfo/cfvcatch/-/issues/1)

[/issues/1](https://gitlab.com/FLI_Bioinfo/cfvcatch/-/issues/1)) durch das NRL zur Verfügung gestellt.

Gesamtgenom-Sequenzierung mit anschließender bio-informatischer 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.

Entsprechend den gesetzlichen Vorgaben (TÄHAV § 12c, d), ist bei Einsatz eines Antibiotikums ein Antibio-gramm des isolierten Erregers nach qualifizierter Probennahme zu erstellen.

Die Empfindlichkeitsprüfung der *Campylobacter* gegenüber antibakteriellen Wirkstoffen kann nach verschiedenen national oder international anerkannten Verfahren wie der Agardiffusion, der Bouillondilution oder mittels Epsilonometer (E) Test durchgeführt werden. Die Methoden und die Interpretationskriterien orientieren sich am Standard für antimikrobielle Empfindlichkeitstestung für Bakterien des Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2018).

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 2022 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 Menschen 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

Genomische Epidemiologie von *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis* aus Deutschland

Campylobacter fetus subsp. *venerealis* (Cfv) verursacht die genitale *Campylobacteriose* der Rinder (BGC), eine von der Weltorganisation für Tiergesundheit (WOAH) gelistete, handelsrelevante Krankheit, die durch schwerwiegende

Reproduktionsverluste wie Unfruchtbarkeit, frühen Embryonentod und Abort bei Rindern gekennzeichnet ist. BGC hat erhebliche wirtschaftliche Auswirkungen, die mehrere Länder dazu veranlasst haben, strenge Tilgungs- und Überwachungsmaßnahmen zur Eindämmung der Krankheit zu ergreifen. In Deutschland ist die Inzidenz von BGC-Fällen in den letzten 28 Jahren gering gewesen. Ziel dieser Studie war es, die genomische Vielfalt deutscher Cfv-Stämme, die aus verschiedenen deutschen Bundesländern isoliert wurden, zu untersuchen. In dieser Studie wurden 63 Cfv-Stämme, die zwischen 1985 und 2015 gesammelt wurden, mittels Ganzgenomsequenzierung analysiert und mit Genomdaten von 91 internationalen Cfv-Isolaten verglichen. Die phylogenetische Analyse zeigte, dass die Cfv-Population genetisch konserviert ist und geografische Cluster aufweist. In Deutschland wurde eine phylogenetische Linie identifiziert, die alle Stämme umfasst. Diese deutsche Linie gehörte zu einer Subklade, die wahrscheinlich im neunzehnten Jahrhundert entstand und sich im Laufe der Zeit diversifizierte. Die Ergebnisse dieser Studie deuten auf eine nicht wiederkehrende grenzüberschreitende Einführung von Cfv in Deutschland hin. Die BGC-Bekämpfungsmaßnahmen in Deutschland können als erfolgreich angesehen werden, da seit 2015 keine Ausbrüche mehr gemeldet wurden.

Staatliche Maßnahmen

Bei der bgC handelt es sich um 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.

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.

Literaturhinweise

- Abdel-Glil MY, Hotzel H, Tomaso H, Didelot X, Brandt C, Seyboldt C, Linde J, Schwarz S, Neubauer H, El-Adawy H. (2023). Genomic epidemiology of *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis* from Germany. *Front Vet Sci.* ;9:1069062. doi: 10.3389/fvets.2022.1069062
- 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, Truyers I, Midwinter AC, Dagi HT, Mégraud F, Calleros L, Pérez R, Naya H, Lawley TD. Distinct *Campylobacter fetus* lineages adapted as

livestock pathogens and human pathobionts in the intestinal microbiota. Nat Commun 2017;8:1367.

Schulze F, Bagon A, Müller W, Hotzel H. Identification of Campylobacter fetus subspecies by

phenotypic differentiation and PCR. J Clin Microbiol 2006;44:2019-2024

Jahr	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022
bgC stände	6	7	9	6	-	1	3	3	2	2	-	-	-	-	-	-	-

Tabelle 1: Zahl der Ausbrüche der bgC in Deutschland in den Jahren 2006 - 2022 nach TSN (Stand 06.10.2023)