

Nationales veterinärmedizinisches Referenzlabor für Psittakose

Die Psittakose ist eine durch bakterielle Erreger der Gattung Chlamydiae verursachte Infektionserkrankung. Sie tritt sowohl bei Tieren als auch beim Menschen auf und gehört deshalb zum Formenkreis der Zoonosen.

Bedeutung der Chlamydien als Krankheitserreger - Zoonotisches Potential

Chlamydien sind obligat-intrazelluläre und damit auf einen Wirtsorganismus angewiesene Prokaryoten mit einem unter den Bakterien einzigartigen Lebenszyklus, der durch zwei hauptsächliche Erscheinungsformen gekennzeichnet ist: a) extrazellulär vorkommende infektiöse Elementarkörperchen und b) in zytoplasmatischen Einschlüssen existierende vermehrungsfähige Retikularkörperchen. Vor kurzem wurde die Klassifizierung (taxonomische Einteilung) der Chlamydien geändert. Demnach umfasst die Familie *Chlamydiaceae* nunmehr zwei Gattungen (*Chlamydia* und *Chlamydophila*) mit insgesamt 9 Spezies (s. Tab. 1). Nach der vorher üblichen Nomenklatur war die gesamte Erregergruppe in der Gattung *Chlamydia* (C.) mit vier Arten untergebracht: *C. trachomatis*, *C. pneumoniae*, *C. psittaci* und *C. pecorum*. Da die bis zum jetzigen Zeitpunkt veröffentlichten Arbeiten auf der alten Taxonomie beruhen, wird in manchen Fällen weiterhin mit dieser Einteilung operiert.

Tabelle 1:

Aktuelle und vorherige taxonomische Einteilung der Familie *Chlamydiaceae*

Neue Spezies	Alte Spezies
<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Chlamydia trachomatis</i>
<i>Chlamydia muridarum</i>	
<i>Chlamydia suis</i>	
<i>Chlamydophila psittaci</i>	<i>Chlamydia psittaci</i>
<i>Chlamydophila abortus</i>	
<i>Chlamydophila caviae</i>	
<i>Chlamydophila felis</i>	
<i>Chlamydophila pecorum</i>	<i>Chlamydia pecorum</i>
<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	<i>Chlamydia pneumoniae</i>

Während *C. pneumoniae* als fast ausschließlich humanpathogen gilt, sind die anderen Arten weniger wirtsadaptiert und werden bei den verschiedensten Tierarten angetroffen.

Die wohl bekannteste durch Chlamydien verursachte Erkrankung ist die Psittakose oder Ornithose (Erreger: *C. psittaci*), eine systemische, gelegentlich tödlich verlaufende Krankheit bei Ziervögeln, Haus- und Wildgeflügel. Sie äußert sich in Lethargie, Hyperthermie, anormaler Exkretion, Nasen- und Augenausfluss und verminderter Legeleistung, auch Durchfall und starke Atembeschwerden können damit verbunden sein. Aviäre Stämme von *C. psittaci* können beim Menschen noch andere Infektionen hervorrufen, wobei die Symptome von unauffällig bis zur schweren Verlaufsformen von Pneumonie, Endokarditis und Enzephalitis reichen. In einer Langzeitstudie über 10 Jahre wurde in der Tschechoslowakei bei Beschäftigten in der Landwirtschaft eine deutliche Häufung von Erkrankungen mit unspezifischer Symptomatik festgestellt, die sich serologisch auf *C.-psittaci*-Infektionen zurückführen ließen.

In Verbindung mit den vor allem bei Schafen häufig vorkommenden enzootischen Aborten, ebenfalls verursacht von *C. psittaci*, wurden in den letzten Jahren mehrere schwere Allgemeininfektionen bei schwangeren Frauen berichtet, die zu Fehlgeburten führten. Bei Katzen kommen Keratokonjunktivitiden vor, die nachweislich auf den Menschen übertragbar sind und zu gleichen Symptomen führen können.

An den Chlamydien-Erkrankungen des Schweines sind drei Arten beteiligt, *C. trachomatis*, *C. pecorum* und *C. psittaci*. Sie werden u.a. in Zusammenhang gebracht mit Aborten bei Sauen, Polyarthritiden bei Ferkeln sowie Genitalerkrankungen bei Ebern. Bei einer Vielzahl von Erkrankungskomplexen beim Schwein wie z.B. Pneumonien, Aborten, chronischen Endometritiden sowie erhöhten peripartalen Ferkelverlusten sind Chlamydien häufig auch als alleiniger Erreger isoliert worden. Die Genese dieser Erkrankungen ist noch weitgehend unerforscht. Auch der mögliche Zoonosecharakter der *C. psittaci*-Infektionen bedarf noch der Klärung.

Aufgaben des Referenzlabors

- Unterstützung der Untersuchungseinrichtungen der Bundesländer
- Optimierung der Diagnostik
- Abklärung unklarer Befunde
- Durchführung von Ringversuchen
- Abgabe von Diagnosereagenzien an die Untersuchungseinrichtungen Aktuelle Arbeitsschwerpunkte
- Mögliche Übertragungswege vom Tier zum Menschen (Zoonotisches Potential)
- Interne Validierung verschiedener Nachweis- und Differenzierungsmethoden für Chlamydien auf der Grundlage der PCR
- Sequenzierung charakteristischer Genregionen in Feldisolaten
- Direktnachweise aus Untersuchungsmaterial
- Identifizierung von Pathogenitätsfaktoren

Erregernachweis und Artendifferenzierung mittels PCR

Zu den Aufgaben des Referenzlabors gehört u.a. die Optimierung der diagnostischen Verfahren. Mit den traditionellen Methoden wie Zellkultur, histochemische Färbung, Immunfluoreszenz, Komplementbindungsreaktion, Antikörper- bzw. Antigen-ELISA kann auf Grund weit verbreiteter Kreuzreaktionen zwischen den Chlamydienarten nur die Gattung *Chlamydia* (neue Taxonomie: *Chlamydia* und *Chlamydophila*) nachgewiesen werden. Ein artspezifischer diagnostischer Nachweis ist gegenwärtig nur mit Hilfe der PCR möglich. Hierzu einige Details:

Als Zielregion für Nachweis und Differenzierung ist der *omp1*-Genlocus geeignet. Das Gen kodiert das MOMP (major outer membrane protein) und ist für eine Vielzahl von Stämmen der verschiedenen Chlamydienspezies sequenziert und analysiert worden. Vom phylogenetischen Standpunkt aus gilt der *omp1*-Genlocus im ganzen als hochkonservierter Abschnitt. Die vergleichende Analyse der Sequenzen zeigte jedoch auch, dass neben hochkonservierten Bereichen vier variable Domänen vorhanden sind. Dieser Sequenzpolymorphismus bildet die Grundlage für die Differenzierung zwischen den Spezies des Genus *Chlamydia* mit Hilfe der PCR nach Kaltenböck et al.

Im ersten Schritt wird eine genus-spezifische PCR durchgeführt, bei der die Primer an hochkonservierte Zielsequenzen binden. Bei der zweiten Amplifikation setzt man spezies-spezifische Primer ein, die komplementär zu sogenannten "DNA signature regions" (für die jeweiligen Chlamydienarten spezifische Abschnitte) sind. An Hand der amplifizierten Fragmente wird die Identifizierung der Chlamydienart vorgenommen.

Die hohe Spezifität des Nachweises ergibt sich im wesentlichen aus zwei Voraussetzungen: a) durch mehrstufige DNA-Amplifikation ("nested PCR") werden unspezifische Reaktionsprodukte bei der spezies-spezifischen PCR praktisch ausgeschlossen, und b) nur wenn der jeweilige spezies-spezifische Primer an den charakteristischen Signaturabschnitt bindet, kommt es in der zweiten PCR überhaupt zur Amplifikation.

Von entscheidender Bedeutung für die Sensitivität ist die effektive DNA-Extraktion im Rahmen der Probenaufarbeitung, wobei die Entfernung der DNA-Polymerase-Inhibitoren erfolgen muss. Unter optimalen Bedingungen lassen sich wenige EBE noch nachweisen. Die Befunde liegen innerhalb eines Tages vor.

Als alternative Zielregion kommen die ribosomalen RNA-Gene in Betracht. Die Spacerregion zwischen den 16S- und 23S-rRNA-Genen weist eine gewisse Diversität zwischen den einzelnen Chlamydienspezies auf, wodurch sie auch für differentialdiagnostische Zwecke nutzbar wird. Nach Amplifizierung eines genus-spezifischen Abschnitts mittels PCR kann eine Identifizierung mittels Restriktionsanalyse oder DNA-Sequenzierung vorgenommen werden.

Ansprechpartner

Dr. Konrad Sachse (Leiter des Referenzlabors)
e-mail: K.Sachse@bgvv.de

Dr. Helmut Hotzel
e-mail: H.Hotzel@bgvv.de

Ansprechpartner außerhalb des BgVV

Konsiliarlaboratorium für Chlamydien, Friedrich-Schiller-Universität
Jena, Institut für Med. Mikrobiologie
eberhard.straube@med.uni-jena.de oder
oehme@bach.med.uni-jena.de

Weitere Informationen zur Psittakose und zu Chlamydien

http://www.medicine-worldwide.de/krankheiten/sexuell_uebertragbare_krankheiten/harnroehrenentzuendung.html

http://www.cdc.gov/nchstp/dstd/chlamydia_facts.htm

<http://www.niaid.nih.gov/factsheets/stdclam.htm>

http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/chlamydiapneumonia_t.htm