

„Forschung trifft Praxis: Transfer und Herausforderungen der Zoonosenforschung“

Q-Fieber – eine andauernde Herausforderung für Wissenschaft und Öffentliches Gesundheitswesen

Professor Dr. med. vet. Heinrich Neubauer, FLI, IBIZ, Jena

Berlin 10.-11.Februar. 2014



FRIEDRICH-LOEFFLER-INSTITUT

seit 1910

FLI

Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit
Federal Research Institute for Animal Health

Steckbrief: *Coxiella burnetii*

Infektiosität: **Extrem hoch (ein Keim inhalativ)**

Vorkommen: **Weltweit (außer NZ)**

Wirte: **Säugetiere und Arthropoden**

Gewebetropismus: **Reproduktionsorgane**

Ausbreitung: **Ausscheidung mit allen Körperflüssigkeiten**

Gechlechts- oder Altersspezifität beim Wirt: **nein**



Klinisches Bild beim Tier

Verlauf meist klinisch inapparent

fiebrhafte Allgemeinerkrankungen, Pneumonie

In der Trächtigkeit: Aborte oder Frühgeburten durch Plazentitis

Rind: nach 6. Monat

Schaf: ??

Hund, Katze, Pferd: ?

Ziege: Abort

Differentialdiagnose: Chlamydien, Brucellen

Infektionsquelle:

Tierische Sekrete

- Urin, Plazenta, Aborte, Lochien, Milch
- von Schafen, Rindern, Ziegen, Hauskatzen, Hunden, Damwild



FRIEDRICH-LOEFFLER-INSTITUT

seit 1910

FLI

Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit
Federal Research Institute for Animal Health

Q-Fieber beim Menschen: Klinisches Bild

Symptome:

Fieber (teilweise biphasisch),
Cephalgien (retroorbital),
Schüttelfrost, Myalgien,
unproduktiver Husten,
Neurologische Symptome

Inkubationszeit

3-20 Tage (dosisabhängig),
bis zu 40% der Infizierten erkranken akut

Übertragung:

- **Inhalation** getrockneter Sekrete bzw. Exkrete
- Mensch-zu-Mensch selten



Q-Fieber beim Menschen: Akute vs. chronische Erkrankung

Akut

Rö-Thorax: **Atypische Pneumonie** (50%) mit unproduktivem Husten
Rundherde
DD: Virus-, Mykoplasmen-, Chlamydieninfektion

Chronisch

Endokarditis (1% aller akuten Fälle)
Hepatitis
Vaskulitiden
Pulmonale Infektionen
Osteomyelitis
"Chronic Fatigue Syndrome"
asymptomatisch



Warum Forschen an Q-Fieber in Deutschland?

Ausbreitung seit 1948 von Nord nach Süd, DDR weitgehend frei

Ausbrüche beim Menschen mit 100 oder 1000den von Erkrankten

Epidemiologie trotzdem weitgehend unbekannt

- Verbreitung in den Tierbeständen und der Umwelt
- Spannungsfeld ‚Demographischer Wandel‘
- der Mensch als Patient

Tiermedizin: Impfstoff vs klassischer Antibiotikatherapie vs hilflosem Aktionismus?



FRIEDRICH-LOEFFLER-INSTITUT

seit 1910

FLI

Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit
Federal Research Institute for Animal Health

Der Verbund 2006-2013 (2015):

Prof. Dr. Kimmig/Prof. Dr. Fischer, NKL LGA, Baden-Württemberg



Prof. Dr. Straube/Dr. Boden/Prof. Dr. Pletz, FSU, Thüringen



Universitätsklinikum
Jena

Prof. Dr. Ganter - Tierärztliche Hochschule Hannover
Prof. Dr. Runge, LAVES, Niedersachsen



Prof. Dr. Neubauer/Prof. Dr. Menge/Dr. Henning NRL, FLI, Jena, Thüringen



Dr. Frangoulidis, Inst. für Mikrobiologie der Bundeswehr, München, Bayern



Dr. Heydel, Justus-Liebig-Universität, Gießen, Hessen



FRIEDRICH-LOEFFLER-INSTITUT

seit 1910

FLI

Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit
Federal Research Institute for Animal Health

Tierart	Anzahl	Anzahl	Anzahl	Anzahl	Anzahl	Anzahl	Gesamt
	Seren	Organproben	Tupfer	Milch	DNA	sonstige	
Rind	1423	209	1701	3747	1	62	7143

75 Isolate tierischen Ursprungs, 2 Isolate humanen Ursprungs, 1 Umweltisolat 2006-2013

Humanproben	2201	26	0	0	0	25	2252
Gesamtprobenanzahl	7623	2243	3782	3922	259	592	18421

Serum, Vaginal- und Kottupfer, Nachgeburten, Gewebe, Umweltproben
 *Zebus, Lama, Alpaka, Frettchen, Fuchs, Hund, Reh, Mufflon etc
 Zecken (1500)



seit 1910

FLI

Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit
 Federal Research Institute for Animal Health

Jahr	Material	Anzuchtdauer	Herkunft
2010	Rind/Eihaut	71d	Thüringen, Gotha
2010	Rind/Eihaut	4d	Thüringen, SHK
2011	Rindermilch	49d	Saarland
2011	Tupfer/Rind	5d	Bayern, Unterfranken
2012	Plazenta/Rind	5d	Niedersachsen, Cuxhaven
2012	Rindermilch	10d	Bayern, Oberbayern
2010	Schaf/Fetus	29d	Baden-Württemberg, Gingen
2010	Schaf/Ngb	35d	Baden-Württemberg, Ludwigsburg
2010	Schaf/Ngb	6d	Rheinland-Pfalz
2010	Schaf/Plazenta	33d	Thüringen, Wartburgkreis
2011	Schaf/Tupfer	33d	Nordrhein-Westfalen
2011	Schaf/Fetus	36d	Niedersachsen, Stade
2011	Schaf/Ngb	4d	Hessen
2010	Ziege/Ngb	54d	Baden-Württemberg, Esslingen
2011	Mensch/Aortenaneurysma		Limburg, NL
2011	Umwelt		Baden-Württemberg, Reutlingen
*2010	Ziege/Plazenta	76d	Thüringen, Altenburger Land
*2010	Ziege/Plazenta	6d	Thüringen, Altenburger Land
*2010	Ziege/Plazenta	34d	Thüringen, Altenburger Land

76d
6d
34d



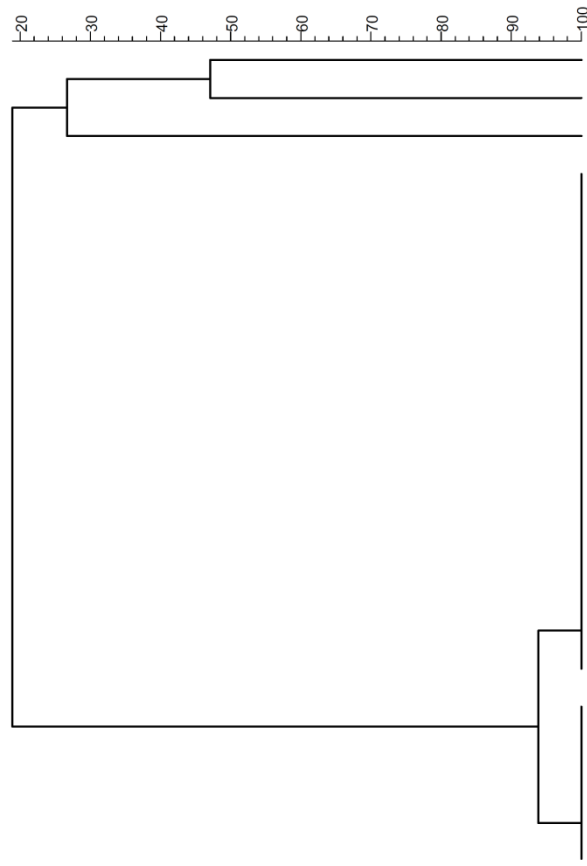
FRIEDRICH-LOEFFLER-INSTITUT

seit 1910

FLI

Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit
Federal Research Institute for Animal Health

Typisierung von mitteldeutschen *C. burnetii* Isolaten



Strain	Year	Host	Origin
Dugway (5J108-111)	1957	rodent	USA
NineMile (RSA 493)	1935	tick	USA
Priscilla (Q177)	1980	goat	USA
isolate 10	2003	human	NW, Germany
isolate 12	2003	sheep	NW, Germany
isolate 14	2004	sheep	NW, Germany
isolate 15	2004	sheep	NW, Germany
isolate 16	2004	sheep	NW, Germany
isolate 20	2008	sheep	TH, Germany
isolate 28	2009	sheep	TH, Germany
isolate 29	2009	sheep	TH, Germany
isolate 30	2009	sheep	TH, Germany
isolate 31	2009	sheep	TH, Germany
isolate 32	2009	sheep	TH, Germany
isolate 33	2009	sheep	TH, Germany
isolate 35	2009	sheep	TH, Germany
isolate 36	2009	sheep	TH, Germany
isolate 02	1997	fallow deer	BW, Germany
isolate 04	1998	tick	BW, Germany
isolate 05	1998	tick*	BW, Germany
isolate 07	1999	sheep	BW, Germany
isolate 08	2001	sheep	NI, Germany

Soest

Jena

(Hilbert et al., 2012)



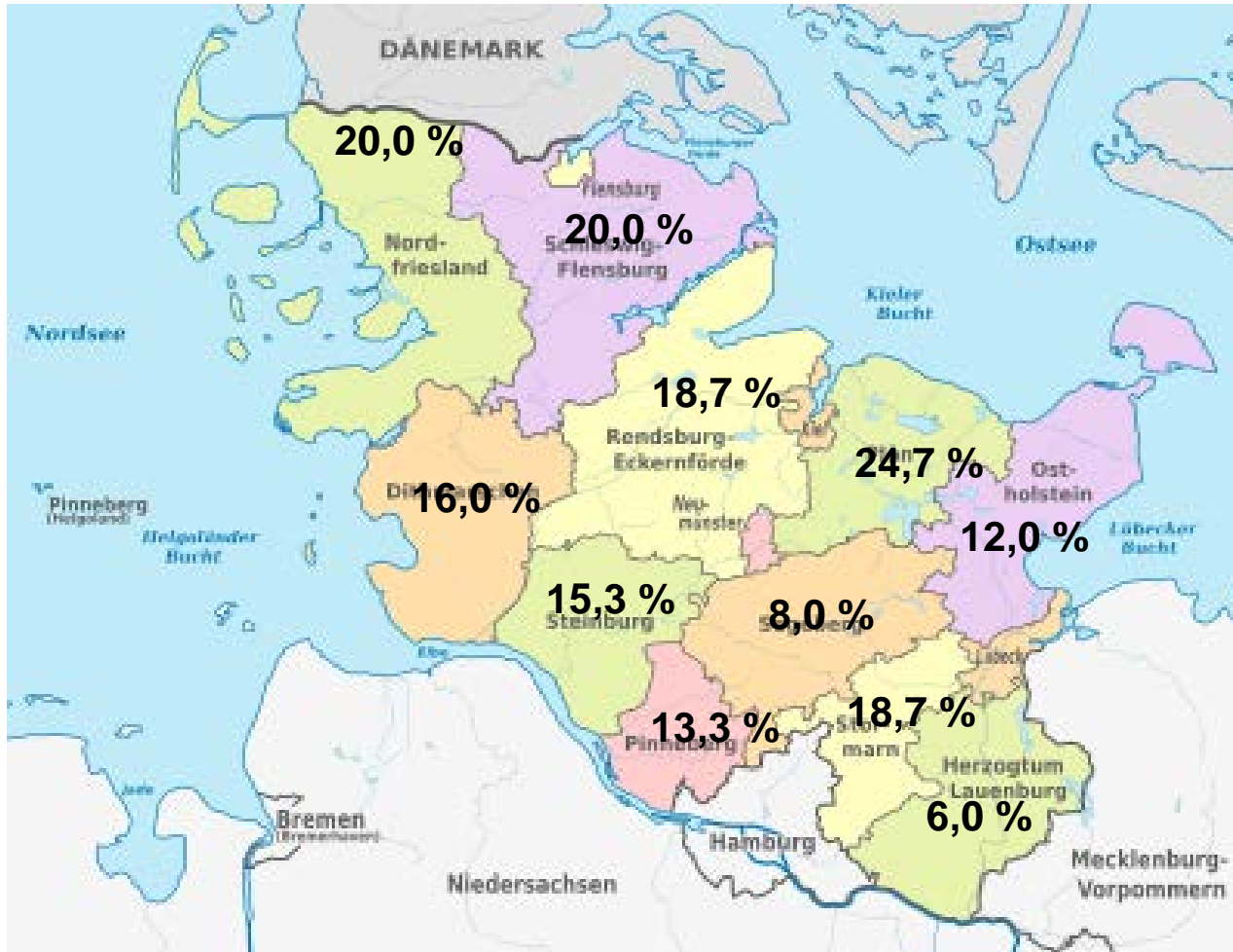
FRIEDRICH-LOEFFLER-INSTITUT

seit 1910

FLI

Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit
Federal Research Institute for Animal Health

Landesweite Q Fieber-Prävalenzstudie Kuhmilch Schleswig-Holstein



FRIEDRICH-LOEFFLER-INSTITUT

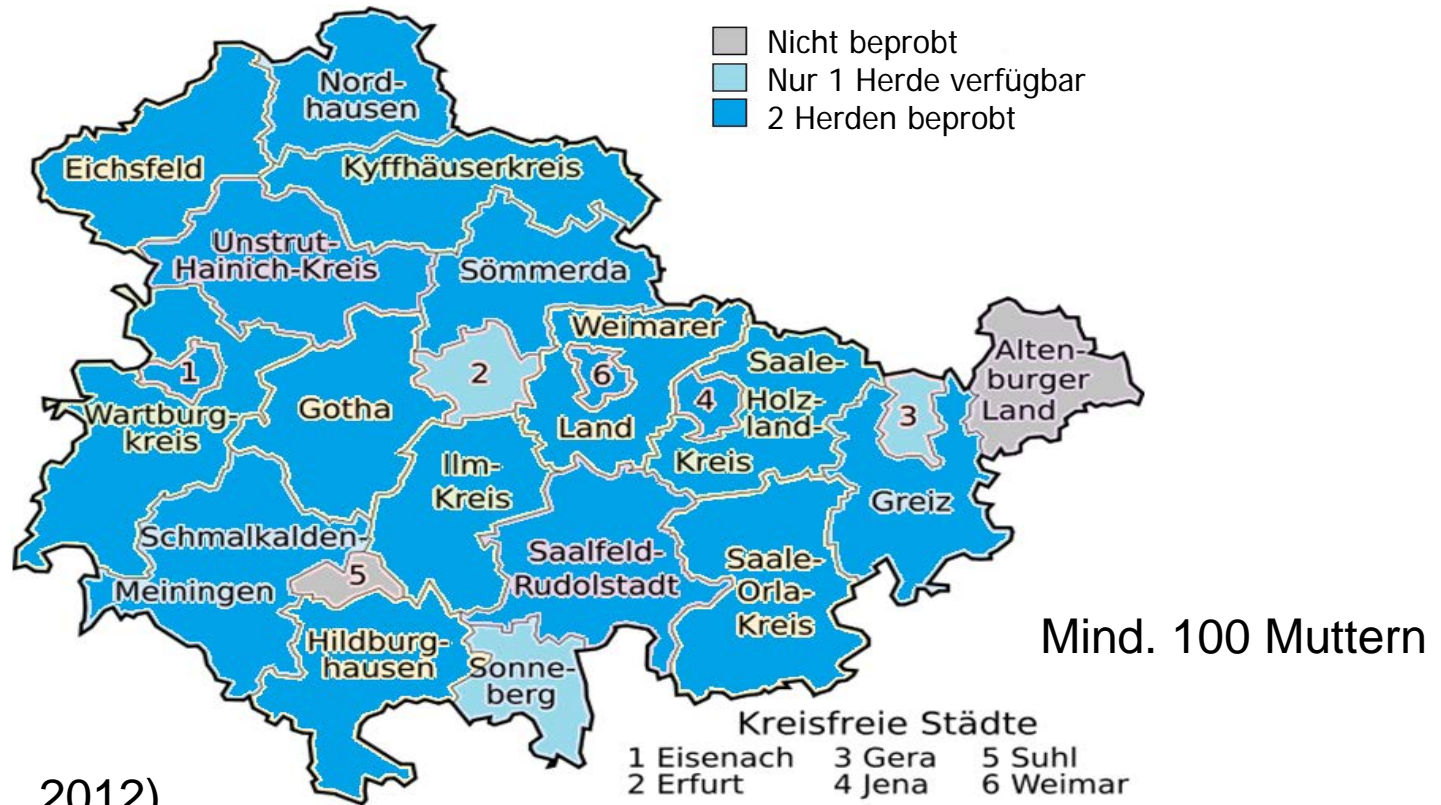
seit 1910

FLI

Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit
Federal Research Institute for Animal Health

Die Thüringische Schaf-Studie

40 / 202 Herden aus 16 Landkreisen und 5 Städten



(Hilbert et al., 2012)



FRIEDRICH-LOEFFLER-INSTITUT

seit 1910

FLI

Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit
Federal Research Institute for Animal Health

positive samples vs. # of samples taken

flock #	flock size (ewes)	abortion rate (%)	serum	vaginal swab	rectal swab	afterbirth	foetus/ foetal swab
1	500	0	1/28	0/11	0/11	-	-
2	1000	0	0/29	0/11	0/11	0/9	-
3	1800	< 1	4/29	0/11	0/11	0/11	-
4	1300	0	0/29	0/11	0/11	-	-
5	1200	3	4/29	0/11	0/11	0/3	0/4
6	500	0	0/29	0/11	0/11	-	-
7	450	0	0/29	0/11	0/11	0/9	-
8	1100	< 1	3/30	0/11	0/11	-	-
9	1800	0	1/29	0/11	0/11	-	-
10	550	0	4/29	0/11	0/11	0/3	-
11	700	< 1	2/29	0/11	0/11	-	-
12	330	0	0/30	0/11	0/11	0/2	-
13	2500	2	7/30	11/11	11/11	7/11	-
14	400	< 1	0/29	0/11	0/11	-	-
15	700	< 1	0/29	0/11	0/11	-	-
16	750	< 1	0/29	0/11	0/11	-	-
17	900	< 1	0/29	0/11	0/11	0/3	0/2
18	250	< 1	0/29	0/11	0/11	-	-
19	450	< 1	0/29	0/11	0/11	0/1	-
20	1000	< 1	0/29	0/11	0/11	-	-
21	500	< 1	0/29	0/11	0/11	-	-
22	406	< 1	0/29	0/11	0/11	-	-
23	700	< 1	3/29	0/11	0/11	-	-
24	700	0	0/29	0/11	0/11	-	-
25	550	< 1	5/29	0/11	0/11	-	-
26	1000	1	0/29	0/11	0/11	-	-
27	317	< 1	0/29	0/11	0/11	-	-
28	350	6	0/29	0/11	0/11	0/1	-
29	420	0	0/29	0/11	0/11	-	-
30	1178	< 1	0/29	0/11	0/11	-	-
31	500	< 1	0/29	0/11	0/11	-	-
32	120	0	0/29	0/11	0/11	0/4	-
33	115	< 1	17/29	1/11	4/11	1	-
34	400	< 1	0/29	0/11	0/11	0/1	-
35	650	< 1	0/29	0/11	0/11	-	-
36	133	0	0/29	0/11	0/11	-	-
37	377	< 1	0/29	0/11	0/11	0/2	-
38	409	< 1	0/29	0/11	0/11	-	-
39	25	0	0/25	0/11	0/11	-	-
40	460	< 1	0/29	0/11	0/11	-	-

1158 / 1281 Serum-Proben
 440 / 477 Vaginaltupfer
 440 / 451 Rektaltupfer
 71 / 188 Nachbeburten
 6 / 15 Foetentupfer

28 % (11) Herden seropositiv
 5 % (2) Herden PCR positiv

(Hilbert et al., 2012)

* *Coxiella burnetii* Isolate



FRIEDRICH-LOEFFLER-INSTITUT

seit 1910

FLI

Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit
 Federal Research Institute for Animal Health

Diagnostik des **akuten** Q Fiebers beim Menschen

- Ziel der Untersuchung:
Testung des ubiquitär einsetzbaren kommerziellen ELISA im klinischem Kontext und Untersuchung eines Benefits durch zusätzl Einsatz einer nested PCR aus Serum
- n = 22 stationäre Q Fieber-Patienten des Jenaer Ausbruches 2005
- Ergebnis:
Insgesamt zeigt der **ELISA** eine gute Sensitivität. Er sollte aber in der **ersten Erkrankungswoche durch die PCR aus Serum** oder eine Verlaufskontrolle ergänzt werden.

Boden K et al., Diagn Microbiol Infect Dis. 2010



FRIEDRICH-LOEFFLER-INSTITUT

seit 1910

FLI

Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit
Federal Research Institute for Animal Health

Welche Rolle spielt das Q Fieber bei **ambulant erworbenen Pneumonien** in Deutschland?

- Untersuchung von 255 CAP-NETZ-Proben gesammelt deutschlandweit während der Sommersaison
- Kombination von PCR aus Rachenspülwasser und Serum mit Antikörpernachweis
- Insgesamt 9 positive Fälle (**3,4%**) (Berlin: 4; Ulm: 5)
 - 6 pos. PCRs in Rachenspülwasser
 - 1 pos. PCR im Serum
 - 2 Antikörpernachweise (einer mit pos. PCR aus RSW)

Schack M et al., Epidemiol Infect. 2013

Bestimmung des Anteils von Q Fieber assoziierten Endokarditiden

- prospektiv: ELISA & IIFT aus Serum, wenn positiv: PCR aus entsprechendem Biopsiematerial
- Kooperationen mit Herzzentren in Deutschland
- Verfolgung Therapieverlauf chronischer Q Fieber-Fälle

1066 Proben (Berlin) paraffinierter Herzklappen in der Real-time-PCR negativ



FRIEDRICH-LOEFFLER-INSTITUT

seit 1910

FLI

Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit
Federal Research Institute for Animal Health



Maternofetale Konsequenzen bei Q Fieber in der Schwangerschaft

Dogma:

Komplikationsrate von **81%** bei Frauen ohne Cotrimoxazol-Therapie in Frankreich [Carcopino 2007]

Deutschland: 11 Schwangere mit Infektion bestätigt (Soest: 5; Jena: 6)

Ergebnis: 1 Todesfall anderer Genese, 1 Geburt in 35. SSW (3250 g), alle weiteren Geburten/Schwangerschaften ohne Komplikationen

Schlussfolgerung:

Indikation für Cotrimoxazol-Behandlung strenger stellen, dabei Berücksichtigung der klinischen Symptomatik und des Titerprofils

Boden K et al. BMC Infect Dis. 2012



FRIEDRICH-LOEFFLER-INSTITUT

seit 1910

FLI

Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit
Federal Research Institute for Animal Health

Welche Lebensgewohnheiten beeinflussen das Risiko einer *C. burnetii*-Infektion in der akuten Ausbruchssituation ? (Jena 2005)

Erhöhtes Risiko in der Multivariaten Analyse bei:

- Wohnortdistanz zur Weide (OR bei 60 m: 14,7; OR bei 275m: 7,6)
- Schichtarbeit (OR: 2,4)
- outdoor-Aktivitäten mehr als 4 h/ Tag (OR: 2,5)
- häufiges Lüften



Boden K et al., Int J Hyg Environ Health. 2014



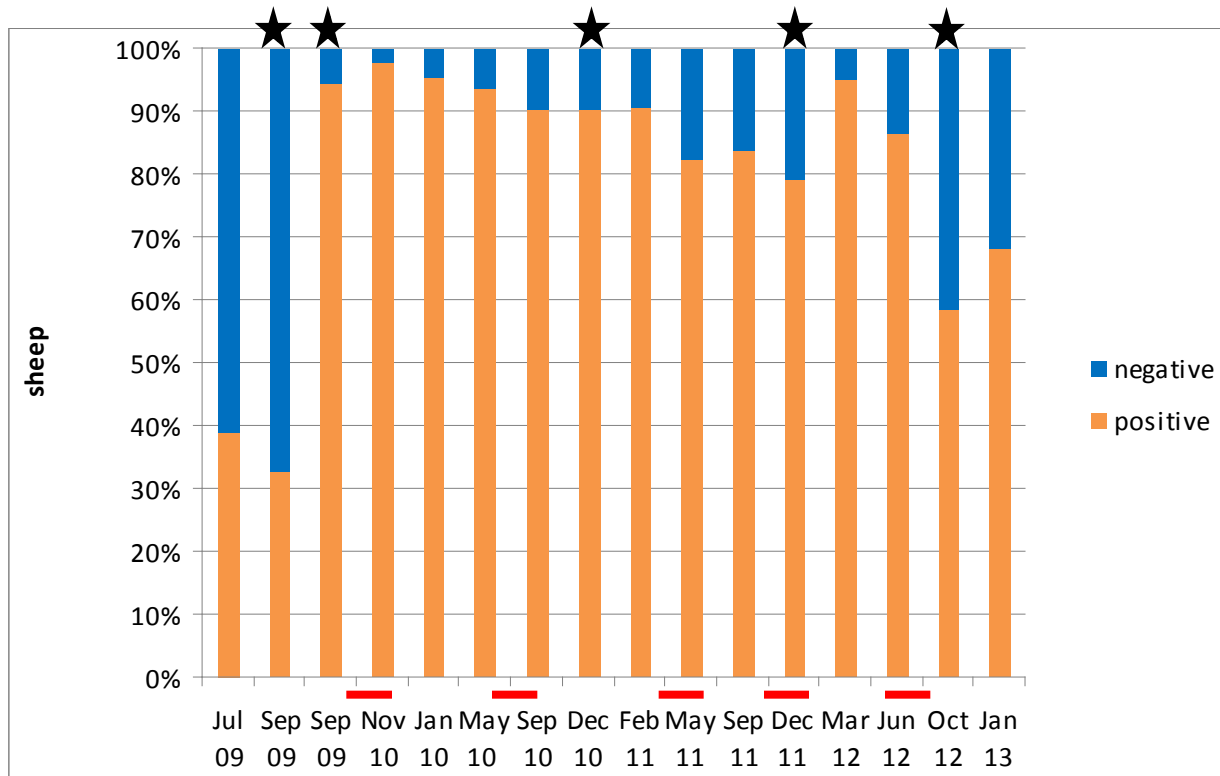
FRIEDRICH-LOEFFLER-INSTITUT

seit 1910

FLI

Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit
Federal Research Institute for Animal Health

Übertragungswege und Pathogenese von *Coxiella burnetii* bei Schafen sowie Sanierung einer Schafherde von Q Fieber



Serumblutproben

Prozentsatz *C. burnetii*-seropositiver Schafe an den verschiedenen Probennahmen

n = 235–332

★ Impfung
— Ablammzeit



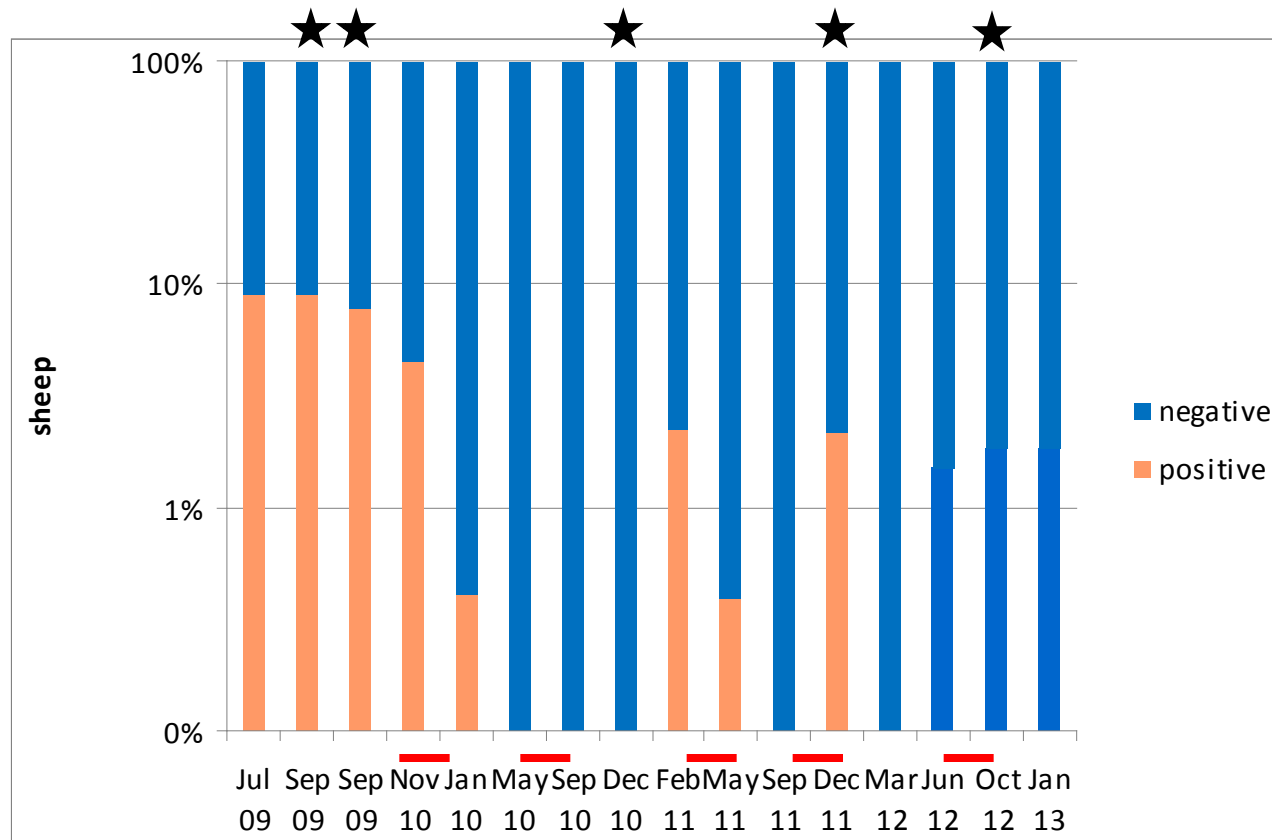
FRIEDRICH-LOEFFLER-INSTITUT

seit 1910

FLI

Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit
Federal Research Institute for Animal Health

Übertragungswege und Pathogenese von *Coxiella burnetii* bei Schafen sowie Sanierung einer Schafherde von Q Fieber



★ Impfung
 — Ablammzeit

Vaginaltupfer

Nachweis von *C. burnetii* in Vaginaltupfern an den verschiedenen Probennahmen

n = 214–332

→ **Signifikanter Abfall von *Coxiella burnetii*-positiven Vaginaltupfern in 2009**



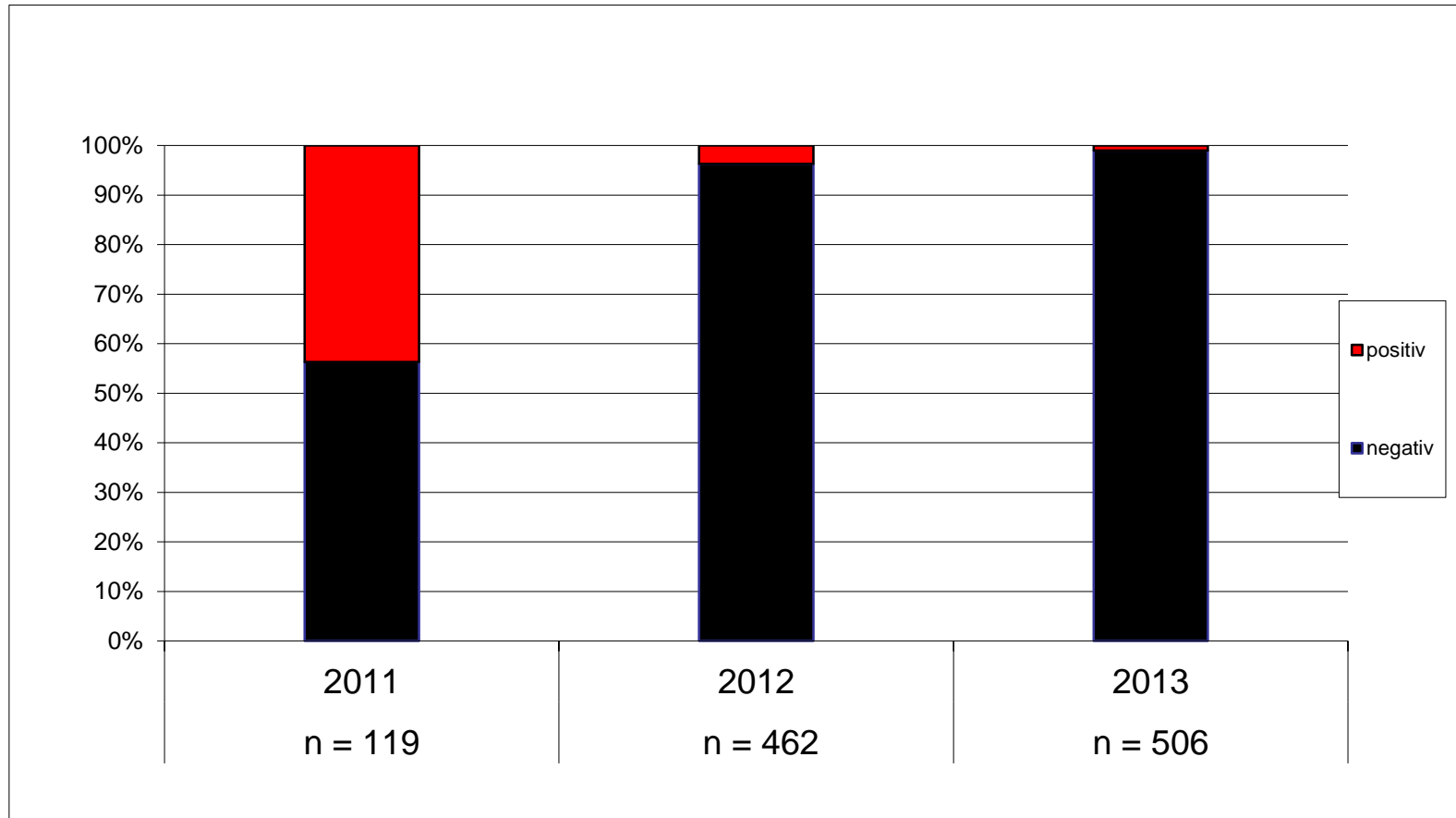
FRIEDRICH-LOEFFLER-INSTITUT

seit 1910

FLI

Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit
 Federal Research Institute for Animal Health

Ergebnisse der Vaginaltupferuntersuchung Betrieb 3 2500 Ziegen



Dr. U Moog, Thüringer Schafgesundheitsdienst



FRIEDRICH-LOEFFLER-INSTITUT

seit 1910

FLI

Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit
Federal Research Institute for Animal Health

Zeckenuntersuchungen (Weideflächen Kalktrockenrasen)

- Zecken:
 - 4 Orte
 - 309 gesammelte Zecken
- DNA-Isolation
 - Anfängliche Probleme mit PCR-Inhibitionen konnten durch Optimierung behoben werden: Testung von drei verschiedenen Kits
 - Verwendung von High Pure PCR Template Preparation Kit/Retsch MM400.
- Real-Time-PCR Untersuchungen (IS1111)
 - **Keine positiven Zecken**



Methodenplattform

Etablierung einer neuen Zelllinie zur Anzucht von *Coxiella burnetii*

F3 „bovine placental trophoblast“ Zelllinie (Prof. Dr. Christiane Pfarrer)

Pflege der Zellkultur etwas aufwendiger als bei BGM-Zellen

Anzuchtzeiten konnten verkürzt werden

Gut geeignet für Milchproben



FRIEDRICH-LOEFFLER-INSTITUT

seit 1910

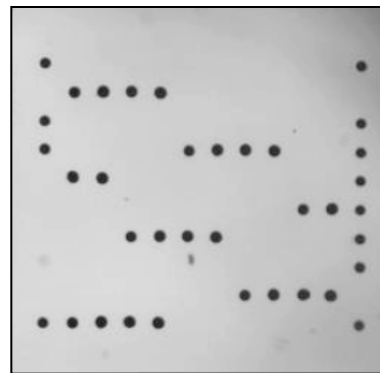
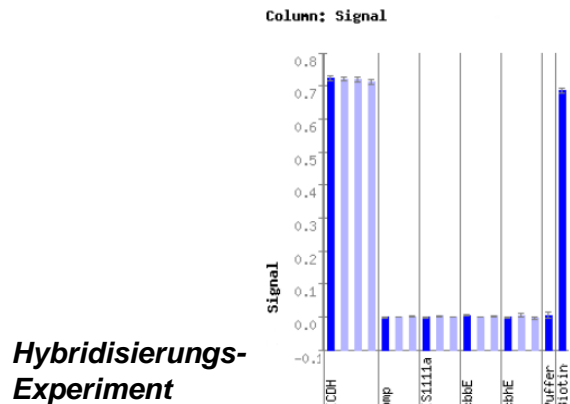
FLI

Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit
Federal Research Institute for Animal Health

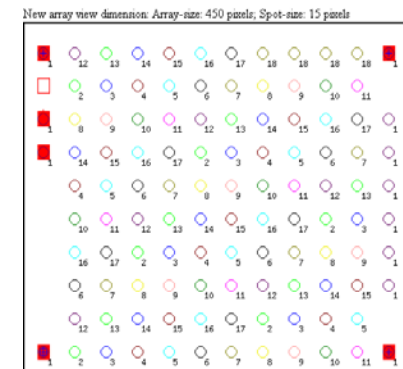
Methodenplattform

Coxiella AT (Clondiag ArrayTube) Chip

- Pilot-Array (Auf dieser Basis soll die 'Untersuchung von Virulenzfaktoren' aufbauen)
- 5 verschiedene Marker
- Array-Layout: 12x10 mit 3-4 Sonden je Marker
- Etablierung & Optimierung der PCR sowie des Biotin-Labelings
- Erste Hybridisierungs-Experimente mit Referenzstämmen



AT-Layout

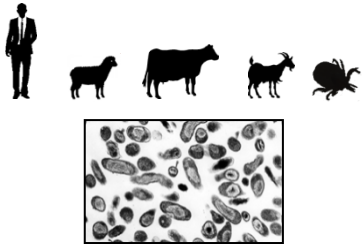


Evaluierung von potentiellen Biomarkern für zur Charakterisierung der Virulenz von *Coxiella burnetii* Isolaten bei Mensch und Rind

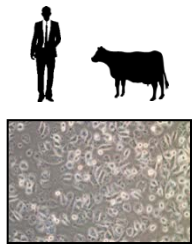
Prof. Dr. C. Menge, Dr. C. Heydel, Dr. K. Kerner, Prof. Dr. A. Henke

Pathogen-spezifische und wirtsspezifische Faktoren beeinflussen

- das Überleben des Erregers nach Invasion und die Replikationseffizienz
- *Die Zytokin-Antwort und die Expression von Oberflächenmolekülen der Wirtszellen (Th1-Th2 Immunbalance)*



C. burnetii-Stämme unterschiedlicher Herkunft



Monocyten-abgeleitete Makrophagen

Die etablierten *in vitro*-Systeme erlauben die Bestimmung der **Adaptation der *C.b.*-Stämme an die Wirtsspezies** und der **Virulenz-Unterschiede zwischen Isolaten**.

Die Identifizierung der korrespondierenden genetischen Elemente als Zielstrukturen für diagnostische Schnelltests könnte die Risikobewertung bei Coxiellose-Ausbrüchen beim Tier und Q-Fieber-Ausbrüchen beim Menschen verbessern.



FRIEDRICH-LOEFFLER-INSTITUT

seit 1910

FLI

Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit
Federal Research Institute for Animal Health

1. Einrichtung zweier humanmedizinischer **S3 Spezialdiagnostik-labors** (Konsiliarlabor Stuttgart und FSU Jena). Die diagnostische Sicherheit wurde somit deutlich erhöht.
2. Relativierung des bisher als hoch eingeschätzten Risikos für **Schwangere** mit Q-Fieber und Erarbeitung verbesserter, **minimiert toxischer Therapieempfehlungen**.
3. Relativierung des Risikos bei **Herzklappeninfektionen** bzw. der Operationen zum Herzklappenersatz sowie bei **ambulant erworbenen Pneumonien**.
4. Ermittlung der **Risikofaktoren, Durchseuchungsmuster und Risikogebiete** durch umfangreiche Prävalenzstudien.
5. Eine deutsche **Sammlung aktueller und genau charakterisierter Isolate** (n=80) von *Coxiella burnetii* wurde generiert.



6. Grosse Human- und tiermedizinischen **Probenbanken** wurden generiert und stehen zur Verfügung.
7. Durch die weltweit erste, auf statistischen Kriterien beruhende Prävalenzstudie bei Schafherden wurde gezeigt, dass *C. burnetii* auch **in klinisch unauffälligen Herden weit verbreitet** ist.
8. Die Abschätzung der **Wirtschaftlichkeit einer Herdensanierung** (Impfung, Therapie und Hygiene) ist erfolgt.
9. Es wurden **keine weiteren natürlichen (Arthropoden-) Reservoirs** bestätigt.
10. Eine **europaweite Zusammenarbeit** von Spezialisten hat gezeigt, dass nur eine Grenzen überschreitende Bekämpfung des Q-Fiebers zur Ausrottung führen kann.

