



Förderschwerpunkt "Forschungsverbünde zu zoonotischen Infektionskrankheiten
des Bundesministeriums für Bildung und Forschung (BMBF)



Bundesministerium
für Bildung
und Forschung

Zoonotische Chlamydien - Modelle für chronische und persistente Infektionen bei Mensch und Tier

Koordinator:

Dr. Konrad Sachse

Institut für molekulare Pathogenese

Nationales und OIE-Referenzlabor für Chlamydiose

Friedrich-Loeffler-Institut, Standort Jena

9 Teilprojekte

paritätisch aus Human- und Veterinärmedizin

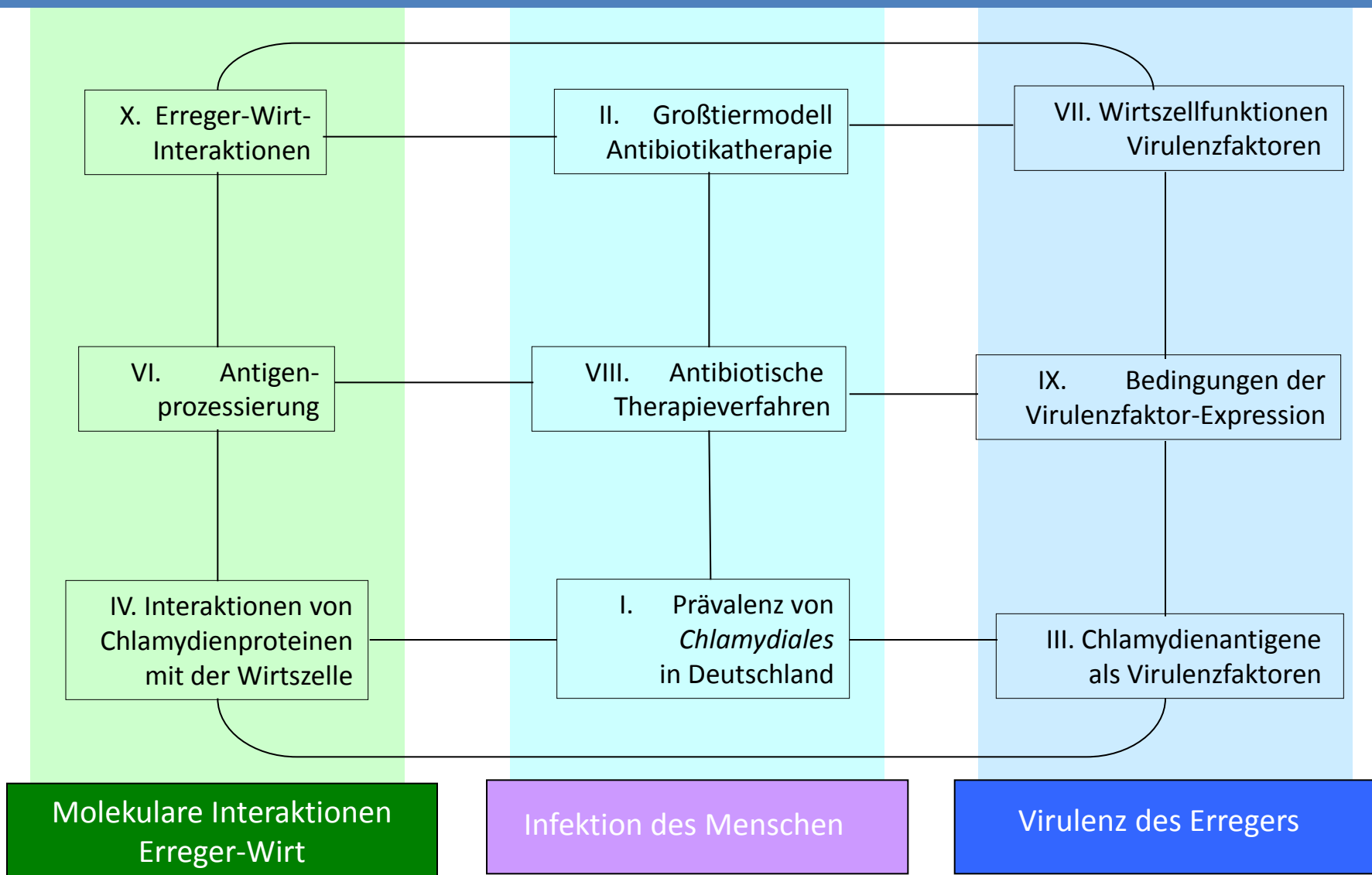
Laufzeit: 1.9.2007 – 31.08.2014

Fördersumme: 3,2 Mio €





Zoonotische Chlamydien - Modelle für chronische und persistente Infektionen bei Mensch und Tier



Schnelle Nachweismethoden für Chlamydien auf DNA-Mikroarraybasis: Paralleler Ansatz



DNA-Mikroarrays zur
Chlamydiendiagnostik

Industriepartner:
Fa. Alere Technol.

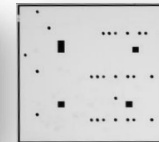
Chlamydiaceae

C. psittaci (ompA)

C. trachomatis (ompA)

23S rDNA

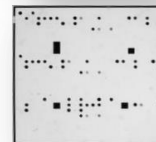
rnpB



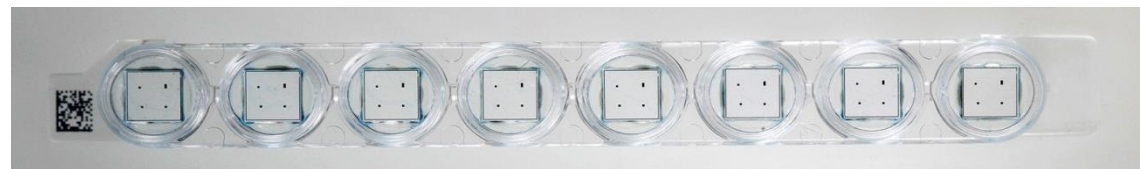
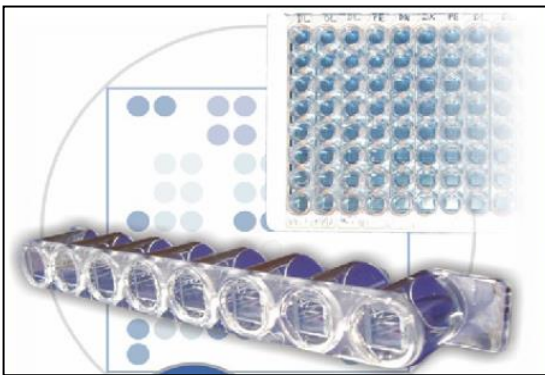
**Nachweis aller
Chlamydien-Spezies**



Genotypisierung



Genotypisierung



ArrayStrip™

Borel et al. (2008) Mol Cell Probes 22, 55-64
Sachse et al. (2009) Vet Microbiol 135, 22-30
Ruettger et al. (2011) Mol Cell Probes 25, 19-27

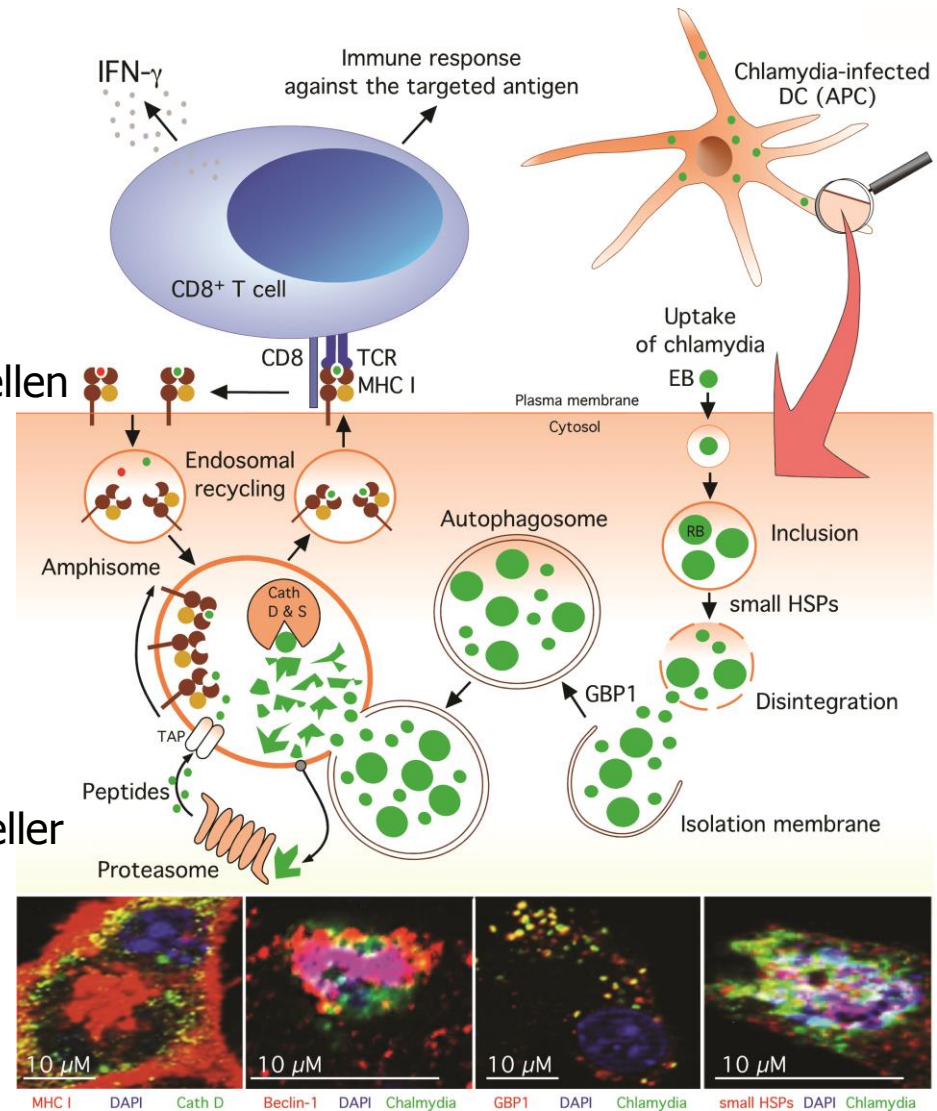
Zoonotic
Chlamydiae



Neuer Mechanismus der Antigen-Präsentation entdeckt

Mit chlamydialem Antigen beladene MHC I werden auf der Zelloberfläche den CD8+ T-Zellen präsentiert und von dort ins Amphisom-Kompartiment recycelt.

FLI: Etablierung eines Co-kultivierungsassays zum Nachweis der Kreuzpräsentation bakterieller Antigene,
- Weiterentwicklung eines FACS-gestützten Assays zum Nachweis bakt. Zellinfektionen



Fiegl et al. J Immunol. 2013 Mar 15;190:2791-806.
Leonhardt et al. J Immunol. 2010 Mar 15;184:2985-98



Zoonotic
Chlamydiae

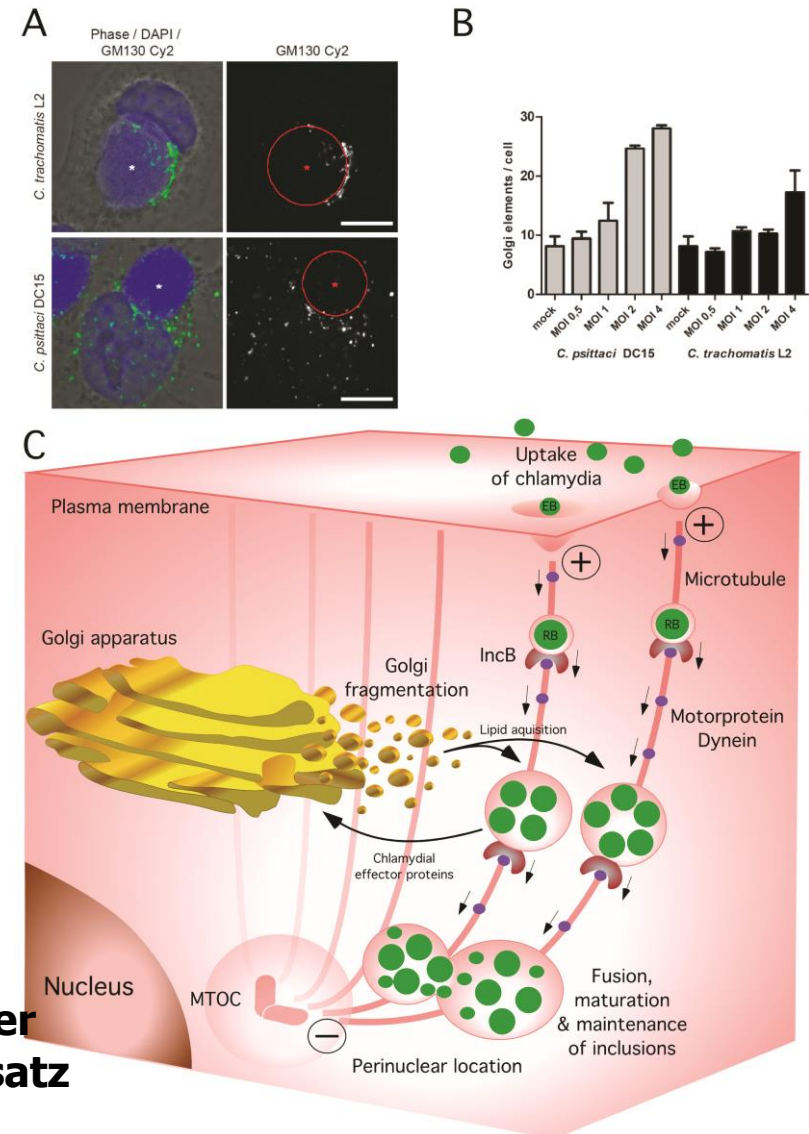


Molekulare Erreger-Wirts-Interaktionen

Infektionen mit humanpathogenen und zoonotischen Chlamydien führen zu einer Fragmentierung des Golgi-Apparats.

(A) HeLa cells were infected with either *C. trachomatis* L2 or *C. psittaci* at MOI 2. (26 h p.i.) Golgi matrix protein, GM130, (in green). Cells (DAPI) Inclusions are indicated using a red line. Scale bar; 10µm. **(B)** HeLa cells were infected with *C. trachomatis* L2 or *C. psittaci* using different MOIs.

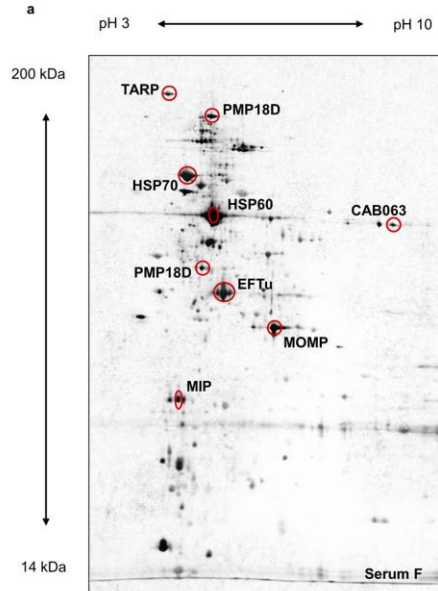
(C) Intracellular transport and lipid supply of chlamydial inclusion. Chlamydiae exploit the host's intracellular trafficking machinery by recruiting the microtubule motor protein dynein to the outer surface of the vacuole (mediated by Inc B).



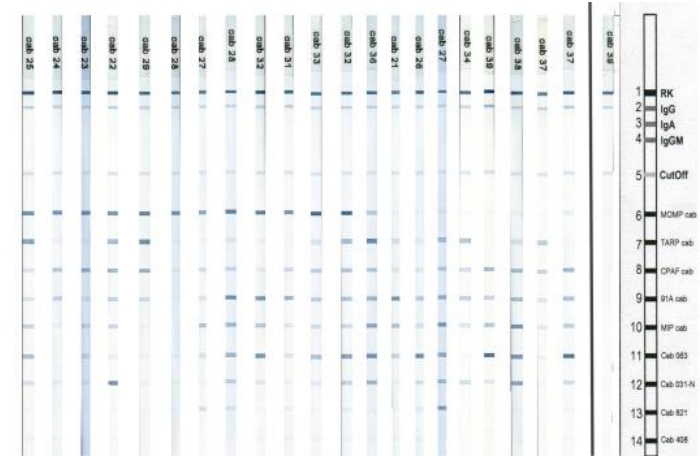
Identifizierung molekularer Interaktionspartner zwischen Erreger- und Wirtszelle: Therapieansatz

Böcker et al. (2014) PLoS One, Revision submitted

Wichtigste Ergebnisse: Technologie



Molekulare Erreger-Wirts-Interaktionen



Leibniz-Inst. (HKI) und Uni-Klinik Ulm:
Proteomics-Verfahren
Etablierung IVIAT für Chlamydien zur
Auffindung immunreaktiver Proteine;
Hefe-Zwei-Hybrid-Technologie zur
Auffindung humaner Interaktionspartner
chlamydialer Effektorproteine

Immunantwort auf *C. abortus*-
Infektion des Menschen:
Neue Marker für die
serologische Diagnostik -
Neuer Test entwickelt

Industriepartner: Fa. Mikrogen

Borth et al. (2011) PLoS One 6: e16692,
Borth et al. (2010) Steroid Biochem Mol Biol 119, 89-95
Forsbach-Birk et al. (2013) PLoS One 8, e80310

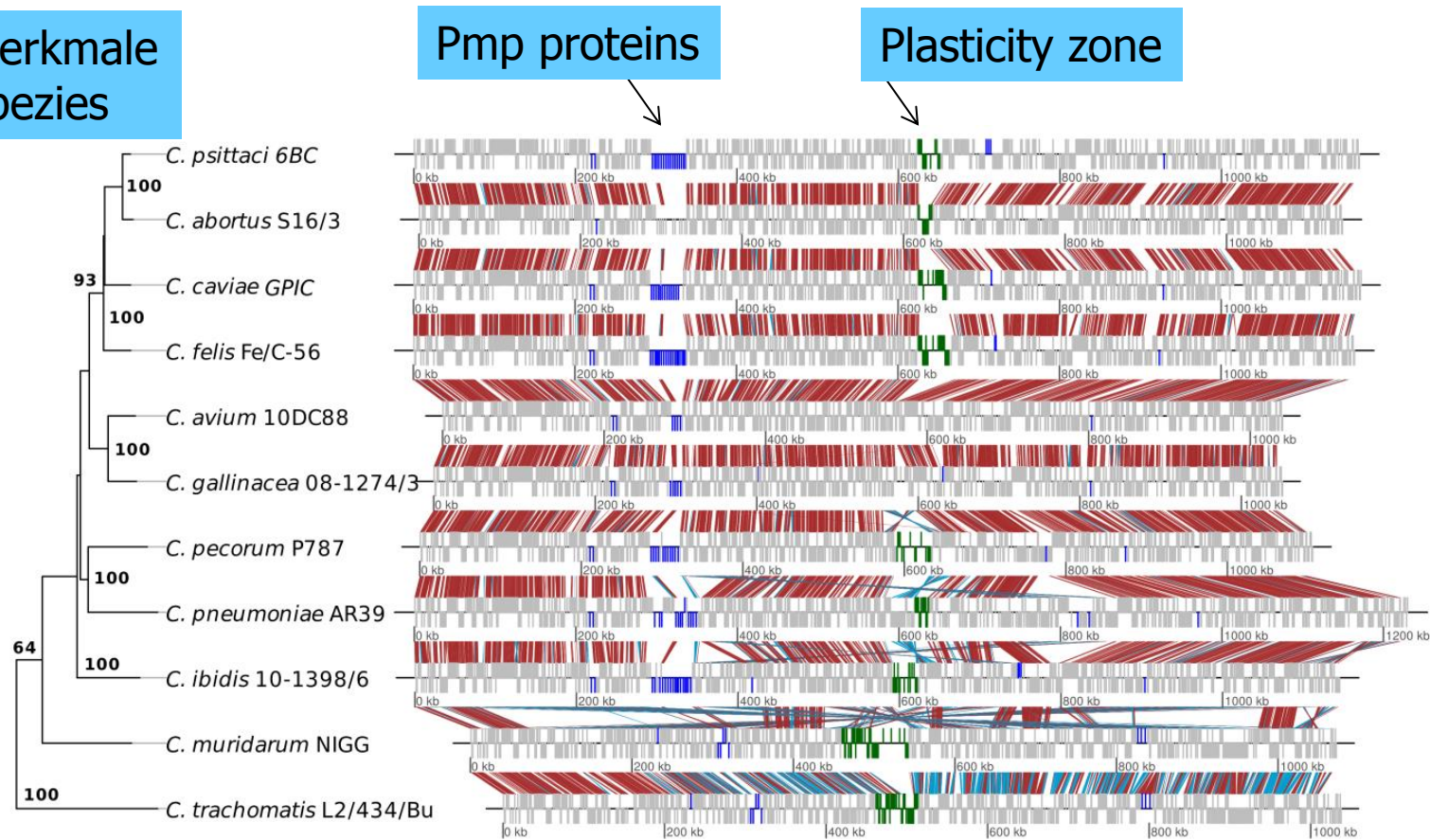
Zoonotic
Chlamydiae



Wichtigste Ergebnisse: Technologie

Leibniz-Inst. (HKI): **Genomics-Plattform**, Etablierung einer Bioinformatik-Pipeline zur Auswertung von Genom-Sequenzierungsdaten

Alleinstellungsmerkmale
der einzelnen Spezies



Schöfl et al. (2011) J Bacteriol.193, 4258
Voigt A, Schöfl G, Saluz HP (2012) PLoS One 7(4): e35097

Wichtigste Ergebnisse: Therapie

FLI: Etablierung und Charakterisierung eines bovinen Tiermodells zur respiratorischen *Chlamydia psittaci*-Infektion

Modell gegenwärtig genutzt zur Evaluierung antimikrobieller Therapieprinzipien mit dem Ziel der effektiven Bekämpfung von Chlamydien-Infektionen

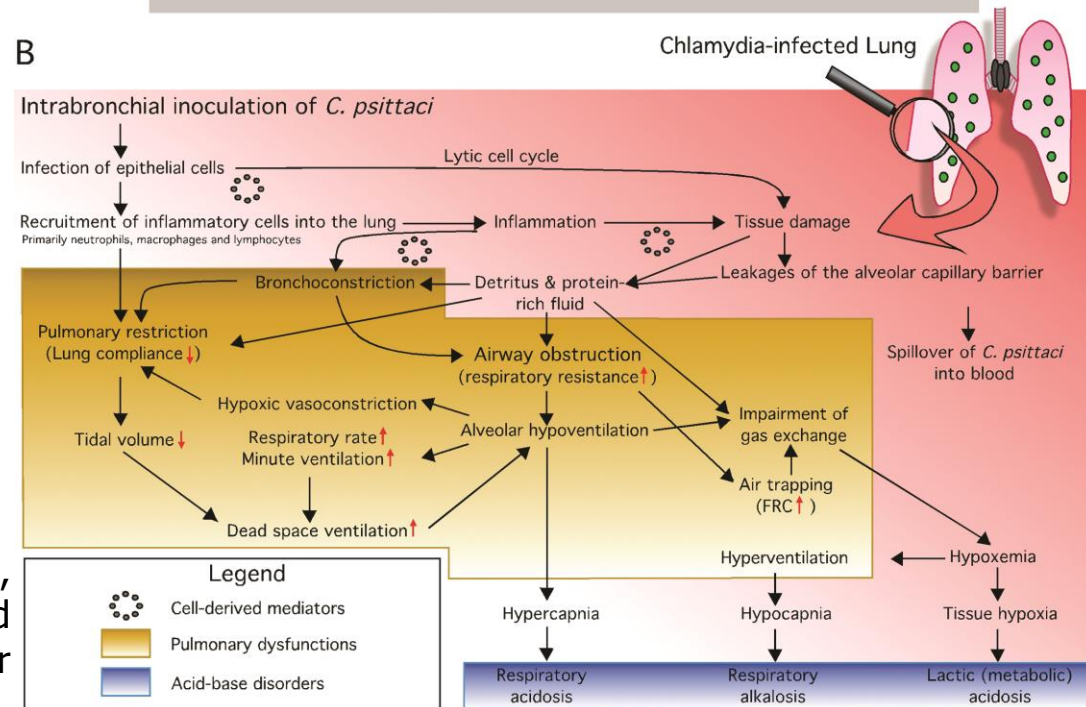
Zusammenarbeit
Human- und Veterinärmedizin

Komplexität der Pathogenesemechanismen, pathophysiologischen Interaktionen und systemischen Konsequenzen im Wirtstier

A



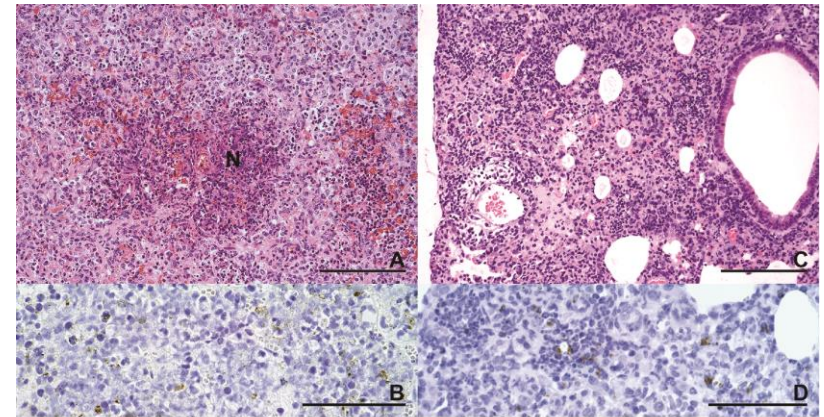
B



Wichtigste Ergebnisse: Technologie

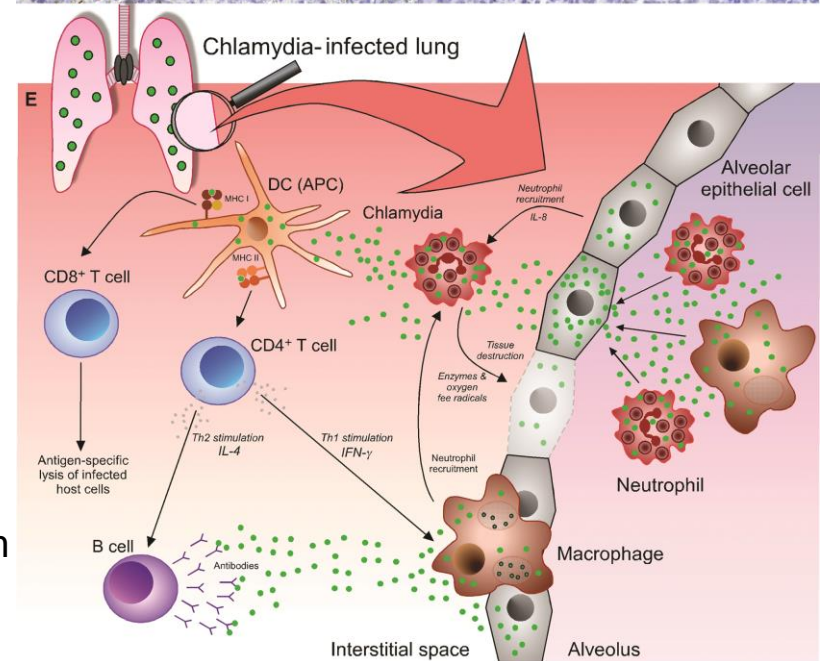
Lungenläsionen 4 dpi nach *C. psittaci*-Infektion in Kalb (A, B) und Maus (C, D).

Lesions in the calf (A) are characterized by fibrinopurulent exudate and foci of necrosis (N), whereas neutrophilic infiltrates predominate in the mouse (C). Numerous chlamydial inclusions (brown) are present in intra-lesional neutrophils and macrophages of calf (B) and mouse (D). A, C bars=100 μ m. B, D bars=200 μ m.



Modell der lokalen Immunantwort auf Chlamydien

Alveolare Epithelzellen $\rightarrow$ IL-8
Neutrophile $\rightarrow$ Enzyme, O-Radikale
Makrophagen und DC binden Antigen $\rightarrow$ pro-infl.
Zytokine,
Chlamydien-aktivierte DCs präsentieren bakt.
Antigen für T-Zellen $\rightarrow$ IFN-gamma + Aktiv. B-Zellen



Zoonotic
Chlamydiae



Wichtigste Ergebnisse: Technologie

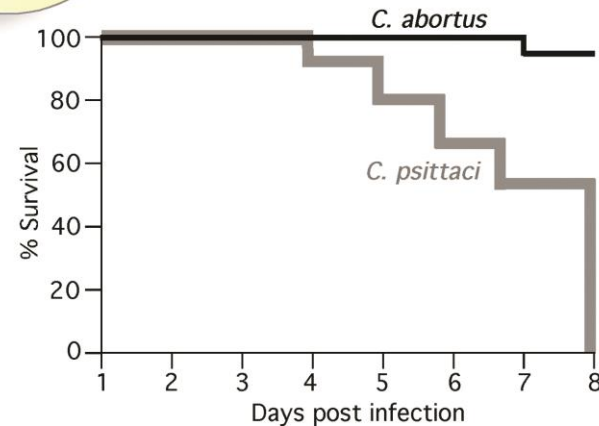
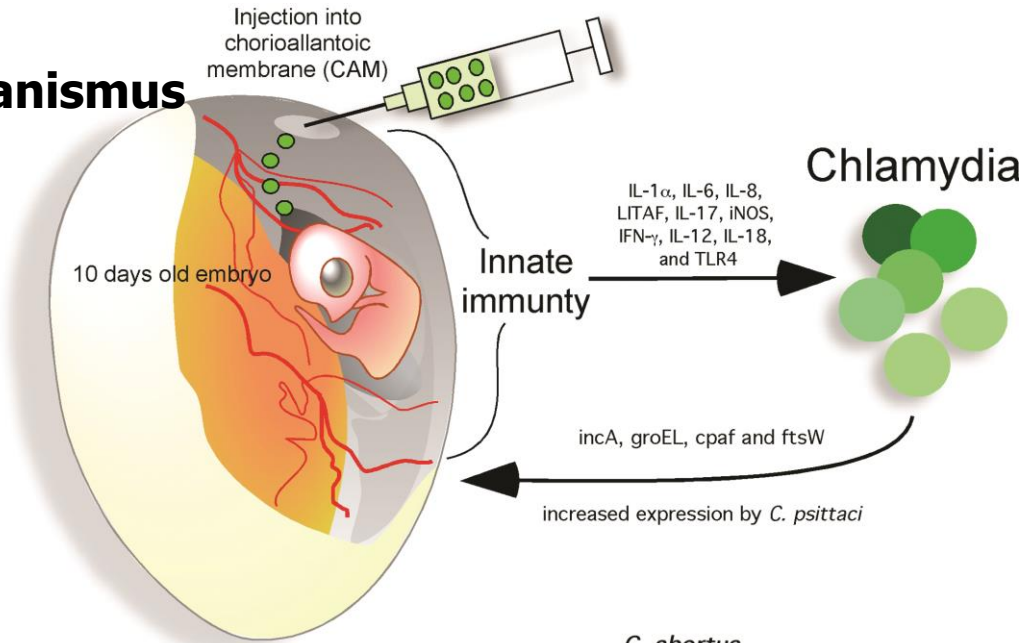
Immunologie:

Nachweis eines Escape-Mechanismus der angeborenen Immunität

C. psittaci vs. *C. abortus* im Hühnerembryo-Modell

- Immunantwort gegen beide Keime etwa gleich
- *C. psittaci* setzt Hochregulation von Virulenzgenen dagegen
 - proliferiert wesentlich besser

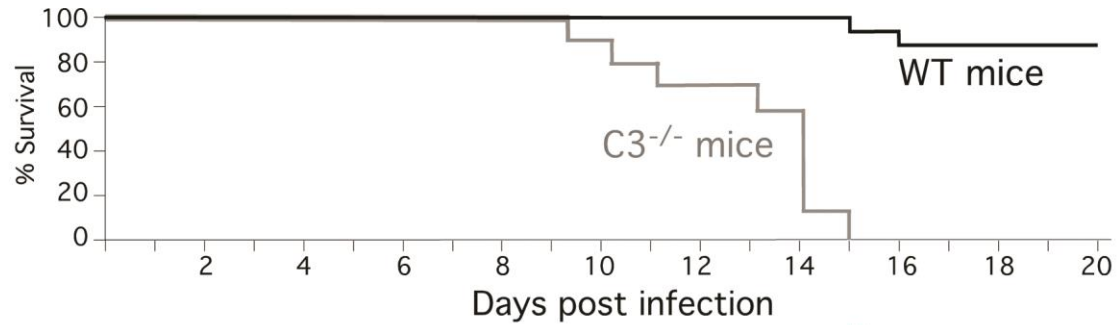
Ansatz für Erklärung der Wirtsspezifität



Wichtigste Ergebnisse: Technologie

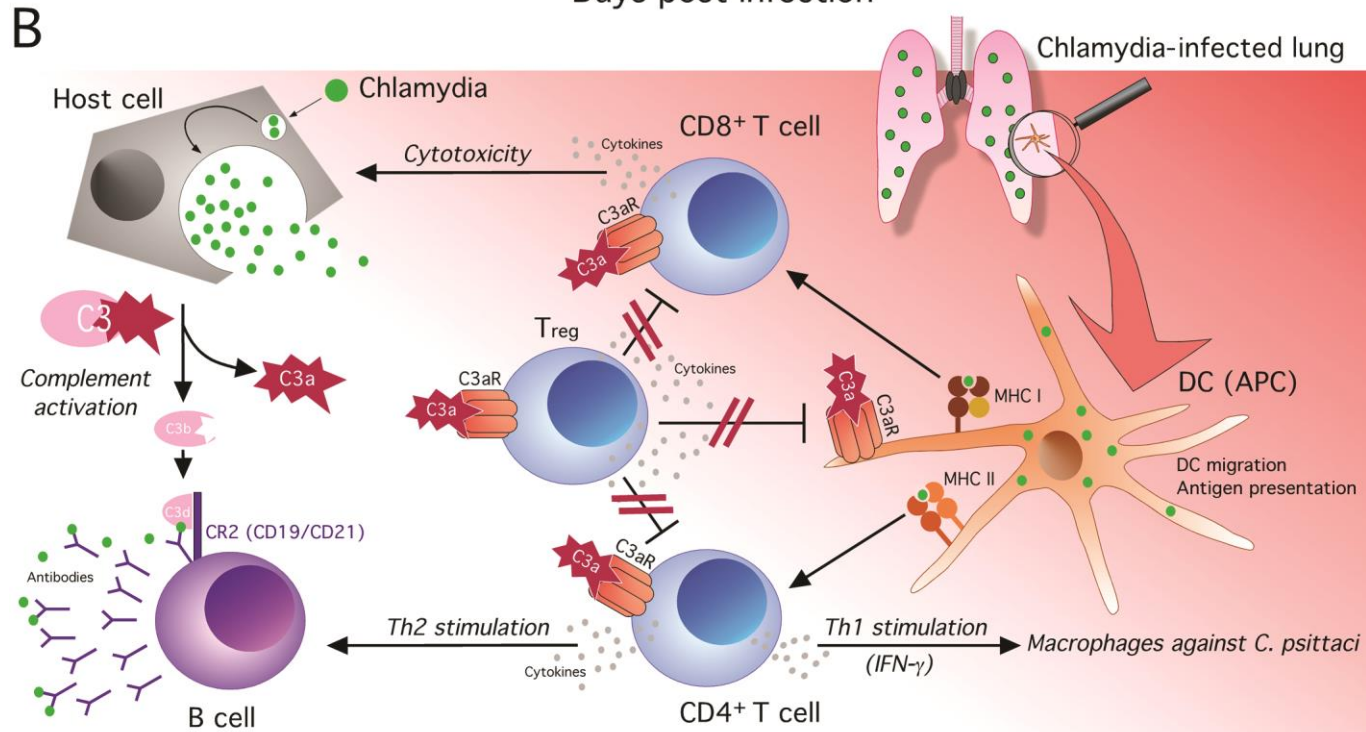
MHH: Mausmodell zur Klärung der Rolle des Komplementsystems

(A) Komplementfaktor C3 verleiht Mäusen Schutz gegen *C. psittaci*



(B) Schema der C3a/C3a-Rezeptor-abhängigen Regulation der adaptiven Immunantwort gegen Chlamydien

Chlamydial elementary bodies (green) activate the complement cascade leading to the cleavage of inactive complement factor C3 into active C3a and C3b. This stimulates B cells and antibody production of plasma cells. For the development of an effective adaptive protection, the immune-modulator C3a stimulates directly CD4⁺ (Th1 and Th2) and cytotoxic CD8⁺ T cells.



Wichtigste Ergebnisse: Epidemiologie

Prävalenzstudie Mensch (Capnetz, FLI) im Zusammenhang mit Tierkontakten

Prävalenz von Chlamydieninfektionen in Deutschland vergleichbar mit Nachbarländern; Zoonot. Risiko bei Kontakt mit Wiederkäuern ist niedriger als mit Vögeln

Prävalenzstudie Rind (Uni Bochum, FLI)

Reinhold, P., Sachse, K., Kaltenboeck, B. (2011) *Chlamydiaceae* in cattle: Commensals, trigger organisms, or pathogens? (Review) Vet. J. 189, 257-267

Chlamydienprävalenz in DE ist hoch. Auch bei Ausbleiben klin. Symptome gibt es messbare gesundheitl. Schädigungen beim Tier. Impfstoff wird gebraucht

Prävalenzstudie Schaf (FLI)

Lenzko, H., Moog, U., Henning, K., Lederbach, R., Diller, R., Menge, C., Sachse, K., Sprague, L.D. (2011) High frequency of chlamydial co-infections in clinically healthy sheep flocks. BMC Vet. Res. 7:29

Prävalenz auf Bestandsebene ist höher als vermutet. Chlamydiale Mischinfektionen erstmals systematisch erfasst. Synergieeffekte wahrscheinlich, Forschung noch am Anfang

Prävalenzstudie Taube (Uni Bochum, FLI)

Sachse, K., Kuehlewind, S., Ruetzger, A., Schubert, E., Rohde, G. (2012) More than classical *Chlamydia psittaci* in urban pigeons. Vet. Microbiol. 157, 476-480

Stadttauben als Reservoir zoonotischer Chlamydien verdienen mehr Beachtung. *Chlamydia psittaci* ist nicht die einzig relevante Chlamydienspezies.



Zoonotic
Chlamydiae



Weiterer Forschungsbedarf



Auch bei Ausbleiben klinischer Symptome gibt es **messbare gesundheitliche Schädigungen** beim Einzeltier und im Tierbestand.

Ist das beim Menschen ähnlich (Persistenz, Chronizität) ?



Immunprophylaxe gilt trotz bekannter Einschränkungen immer noch als der gangbarste Weg zur Vermeidung von Chlamydiosen.

—→ **Impfstoff** wird gebraucht (F/E-Bedarf)



Chlamydiale **Mischinfektionen** sind relativ häufig (10-20% der Fälle bei Tier und Mensch)

—→ **Forschungsbedarf**



Das **zoonotische Potential** der neu entdeckten Spezies *Chlamydia avium* und *Chlamydia gallinacea* muss künftig untersucht werden —→ **Forschungsbedarf**



Zoonotic
Chlamydiae



Von der monokausalen Betrachtung zum multilateralen Ansatz

Mono-Infektion

Co-Infektion

Synergie-Effekte

kompetitive Effekte

in vitro-Modelle
in ovo-Modell
Tiermodell



Zoonotic
Chlamydiae



Obligat (und fakultativ) intrazelluläre Erreger - Synergien im doppelten Sinne

Gemeinsamkeiten

**Obligat intrazellulärer
Entwicklungszyklus**

**Ähnliche Manifestationen
(z.B. Aborte, resp. Infektionen)**

**Neigung zur
Persistenz und Chronizität**

Untersuchungsgegenstände

- ✦ Molekulare Pathogenesemechanismen (Erreger-Wirt-Interaktionen, Nutzung vorh. *in vitro* und *in vivo*-Modelle)
- ✦ Zelluläre Immunantwort (Antigenpräsentation, Regulation der Virulenzfaktoren etc.)
- ✦ Vertiefung der herausgearbeiteten alternativen Therapieansätze
- ✦ Interaktionen zwischen Erregern bei Co-Infektionen (neue Modelle)
- ✦ Harmonisierung der Diagnostik



Zoonotic
Chlamydiae



Herzlichen Dank für die Förderung unseres Verbandes



Zoonotic
Chlamydiae

Zoonotische Chlamydien
BMBF
VERBUND

2007
2013

