

## Aktuelle Bedeutung der Histomoniasis (Schwarzkopfkrankheit) beim Wirtschaftsgeflügel

Prof. Dr. Michael Hess und Dr. Elvira Grabensteiner (Wien, Österreich)

### Einleitung

Die Histomoniasis erlangt in jüngster Vergangenheit eine zunehmende Bedeutung, sowohl bei Puten als auch bei Hühnern, insbesondere bei Tieren in der Freilandhaltung (HAFEZ et al. 2001; ESQUENET et al., 2003). Hintergrund ist die zunehmende Alternativhaltung von Legehennen in Verbindung mit dem Verbot geeigneter Prophylaktika und Therapeutika, mit deren Hilfe die Erkrankung über Jahrzehnte gezielt bekämpft wurde. Während bei Puten die prophylaktische Verwendung von Nifursol als Futterzusatzstoff bis zum 31.03.2003 noch erlaubt war (EWG/1756/2002), sind hochwirksame Therapeutika (Nitroimidazol und Dimetridazol) schon vor Jahren verboten worden (EWG/1798/1995; EWG/2205/2001), da die Unbedenklichkeit dieser Stoffe (Karzinogenität und Genotoxizität) für den Verbraucher nicht auszuschließen ist. Auch das in Nordamerika zur Prophylaxe eingesetzte Nitarson (4-Nitrophenylarsonic acid) besitzt in Europa keine Zulassung.

Unter Berücksichtigung aktueller Gegebenheiten kann die Histomoniasis als beispielhaft dafür gelten, dass die Änderung von Haltungsformen und das gleichzeitige Verbot von Arzneimitteln immer im Gesamtkontext der gesamten Tierproduktion gesehen werden müssen und keine isolierten Entscheidungsprozesse darstellen dürfen. In diesem Zusammenhang muss darauf verwiesen werden, dass die Nicht-Behandlung klinisch kranker und damit leidender Tiere eine nicht unerhebliche Tierschutzrelevanz besitzt.

Im Folgenden soll der aktuelle Kenntnisstand der Schwarzkopfkrankheit dargestellt werden, wobei auch auf die Notwendigkeit zukünftiger Forschungsarbeiten eingegangen wird.

### Ätiologie der Histomoniasis

Die Schwarzkopfkrankheit, Typhlohepatitis oder Histomoniasis bei Puten wurde von SMITH (1895) zum ersten Mal beschrieben. Wesentliche Erkenntnisse zur Ätiologie konnten durch die Untersuchungen von TYZZER (1920) gewonnen werden. In dieser Arbeit werden zum ersten Mal Flagellen und Pseudopodien als morphologisches Hauptkriterium des Erregers beschrieben, weshalb der Erreger in die Gruppe der Protozoen eingestuft wurde. Die Morphologie des Parasiten und das Vorkommen bei Puten führten zur Bezeichnung *Histomonas meleagridis*. Die Erkenntnis, dass der Parasit bei Hühnern ebenfalls vorkommen kann, führte zur Empfehlung diese Tierarten getrennt zu halten. Als weitere empfängliche Vogelarten werden insbesondere Perlhuhn, Fasan, Pfau und Wachtel beschrieben, während das Wassergeflügel als nicht empfänglich gilt (McDOUGALD, 1997). Durch die Pathogenese und die hohe Prävalenz der Erkrankung bei Puten ist diese Spezies sicherlich als empfänglichster Wirt anzusehen.

Je nach Lokalisation im Darm hat der Parasit eine unterschiedliche Morphologie. So besitzt die im Darmlumen lebende invasive Form eine abgerundete Gestalt mit 1 oder 2 Geißeln, während die ins Gewebe eindringende Form unbegeißelt ist. Die Vermehrung beider Formen geschieht durch Zweiteilung (HONIGBERG und KULDOVA, 1969).

### Epidemiologie

In der Außenwelt weist der Erreger nur eine sehr geringe Tenazität auf, weshalb eine direkte Übertragung von Tier zu Tier eher unwahrscheinlich ist. Hinzu kommt die große Anfälligkeit unter den Bedingungen der Magen-Darm-Passage. Allerdings berichten HIEPE und JUNGMANN (1983) sowie NORTON und Mitarbeiter (1999) über einen Ausbruch ohne Begleitinfektion mit einem möglichen Zwischenwirt, was durch eigene Beobachtungen bei Legehennen bestätigt wird. Diese Befunde wurden kürzlich von HU und McDOUGALD (2003) experimentell bestätigt. In diesem Experiment wurden nur einige Puten einer Versuchsgruppe infiziert, jedoch erkrankten auch nicht-infizierte Kontaktiere, was die direkte Übertragung innerhalb einer Tierpopulation unterstreicht. Unbestritten kommt aber der Übertragung durch Zwischenwirte eine besondere Bedeutung zu, wobei der Blinddarmwurm (*Heterakis gallinarum*) eine Sonderstellung einnimmt. Es konnte gezeigt werden, dass schon die Wurmeier des *Heterakis gallinarum* bei der Kopulation mit den Protozoen infiziert werden (LEE, 1969; LEE, 1971). Zusätzlich ist zu berücksichtigen, dass Regenwürmer in den Ausläufen als Stapelwirte für *Heterakis gallinarum* fungieren (LUND und CHUTE, 1973). Die besondere Epidemiologie bei der Übertragung bedingt, dass einmal mit infizierten Tieren besiedelte Ausläufe nur schwierig saniert werden können. Hinzu kommt die sehr hohe Infektiosität der Histomonaden in den Heterakiseiern, was eine jahrelange Infektionsgefahr bei der Nutzung von Ausläufen bedeutet.

### Pathogenese

Nach Aufnahme des Parasiten kommt es zu einer Besiedlung der Blinddärme, wobei der Erreger nach Eindringen in die Blinddarmschleimhaut eine Konformationsänderung, von der Invasions- zur Gewebeform, durchführt. Im Anschluss daran gelangt die Gewebeform über den Pfortaderkreislauf in die Leber, was zu ausgeprägten Nekrosen führen kann. Zusätzlich kommt es zur Beeinflussung verschiedener Blutparameter (McDOUGALD und HANSEN, 1970). Die Inkubationszeit beträgt 7 bis 11 Tage und ist unabhängig von der Infektionsart, d. h. direkt oder indirekt über Vektoren. Die gleichzeitige Koinfektion mit *Clostridium perfringens* oder *Escherichia coli* führt zu einer Verstärkung der klinischen Symptome. (BRADLEY and REID, 1966). Die Gewebeschäden werden besonders durch eine Koinfektion mit Kokzidien verstärkt (McDOUGALD und HU, 2001).

### Pathologie

Die Sektion verendeter Tiere erlaubt eine erste Verdachtsdiagnose, nachdem sämtliche Differentialdiagnosen abgegrenzt wurden. Hier ist insbesondere die Blinddarmkokzidiose zu berücksichtigen. Aus den typischen Veränderungen in Blinddarm und Leber, Entzündungsreaktion mit Nekrosen und Schwellung, ergibt sich die Diagnose: Typhlohepatitis. Während allerdings bei der Pute die Infektion mit *Histomonas meleagridis* mit einer ausgeprägten Hepatitis einhergeht, zeigen erste eigene Untersuchungen bei Legehennen, dass die Leber bei die-

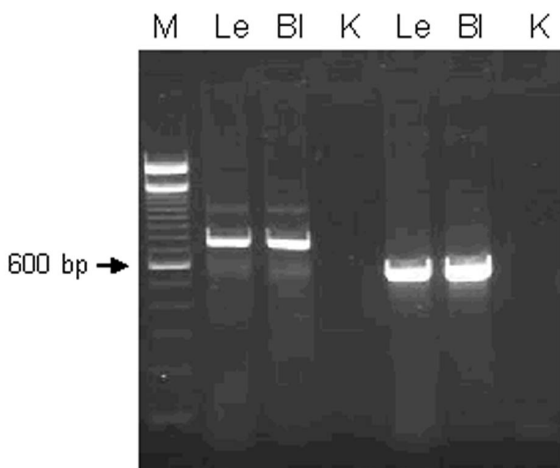
sen Tieren wesentlich weniger geschädigt ist. Das Fehlen multipler nekrotischer Herde in der Leber infizierter Hühner erschwert die (Verdachts-) Diagnose oder macht sie ohne weitere Untersuchungen unmöglich. Zumindest scheint es den Rückschluss zu erlauben, dass bei Legehennen viel häufiger milde bis subklinische Verlaufsformen vorkommen, die im Feld zu Leistungsabfall führen und oftmals nicht diagnostiziert werden.

**Diagnose**

Die Diagnostik wird besonders dadurch erschwert, dass der Parasit in der Außenwelt rasch abstirbt und dann nicht mehr nachzuweisen ist. Es besteht zwar die Möglichkeit der Kultivierung des Erregers aus körperwarmen Tieren, jedoch sind besondere Bedingungen notwendig, um das Überleben des Trophozoiten zu gewährleisten (DWYER, 1970; McDOUGALD und GALLOWAY, 1973). Der direkte Erregernachweis kann somit nur mittels Histologie durchgeführt werden. Hierfür sind mehrere Methoden beschrieben, insbesondere die Perjodsäure-Schiff-Reaktion (PAS-Reaktion), mittels derer der im Gewebe unbegeißelte Erreger nachgewiesen werden kann (KEMP und REID, 1966). Allerdings ist diese Methode arbeits- und zeitaufwendig, was die Notwendigkeit nach Alternativen unterstreicht. Erschwert wird die Histologie auch dadurch, dass der Erreger von Makrophagen und Pilzzellen nicht leicht differenziert werden kann, was den Bedarf nach besseren Diagnosemöglichkeiten zusätzlich unterstreicht. ESQUENET und Mitarbeiter (2003) beschreiben den zytologischen Nachweis mittels Direktfärbung von Abklatschpräparaten.

Ein weiterer Ansatzpunkt könnte der Nachweis mittels molekularer Methoden sein, insbesondere der Polymerase-Kettenreaktion (PCR). Basierend auf der in der Datenbank zugänglichen Nukleotidsäuresequenz (AF293056) (GERBROD et al., 2001) ist es möglich, Oligonukleotide zu konstruieren, die in einer PCR zum Nachweis von ribosomaler RNA Sequenzen des Flagellaten benutzt werden können (Abb. 1) (GRABENSTEINER und HESS, in Vorbereitung). Allerdings bedürfen diese Verfahren noch der weiteren Evaluierung und Optimierung.

**Abbildung 1: Molekularer Nachweis von *Histomonas meleagridis* mittels PCR in Organproben**



von Legehennen

Mit Ausnahme der Erregerisolierung, die sehr aufwendig

ist, gibt es keine Methode die ausgeschiedene Erregermenge zu quantifizieren. Für die Isolierung gibt es eine Vielzahl von Protokollen, was auch die Schwierigkeit der Isolierung widerspiegelt. Eine Standardmethode mit Untersuchung unterschiedlichster Einflüsse auf das Wachstumsverhalten wurde von STEPKOWSKI und KLIMONT (1979) beschrieben. Die nicht bewegliche Gewebeform lässt sich bis dato überhaupt nicht quantifizieren, was die Untersuchung von Schutzmechanismen sehr schwierig macht.

Als indirekter Erregernachweis steht bis heute nur ein Agargelpräzipitationstest (AGPT) zur Verfügung (CLARKSON, 1963). Nachteilig für den AGPT ist die geringe Sensitivität, welche für unterschiedliche Infektionserreger, einschließlich der Parasiten, beschrieben ist (SWARUP et al., 1987; JITHENDRAN et al., 1996). Beispielhaft fanden JITHENDRAN und Mitarbeiter (1996), dass nur 28,3 % der mit *Dicrocoelium dendriticum* infizierten Tiere serologisch positiv waren, während mit der Immunelektrophorese nahezu 70 % der Tiere positiv waren. Damit ist AGPT auch für die Histomoniasis eher ungeeignet, um Bestände effektiv zu kontrollieren und den Immunstatus aufzuklären.

**Immunität**

Nach einer Infektion mit *Histomonas meleagridis* kommt es zu einer Immunantwort des Wirtes. So können präzipitierende Antikörper 10 bis 12 Tage nach experimenteller intrakloakaler Infektion von Puten und Hühnern nachgewiesen werden (JOYNER, 1966). Allerdings basieren solche Daten größtenteils auf Untersuchungen bei Puten, wobei behandelte Tiere benutzt wurden, da die Mortalitätsrate ansonsten zu hoch wäre. Eher kritisch zu beurteilen ist, ob sich die entwickelnde Immunität auch protektiv auswirkt (CLARKSON, 1963). Die geringe Anzahl von Versuchen bei Hühnern erfordert hierzu weitere Untersuchungen, um diese Fragestellung näher zu erörtern. So konnte nach intrakloakaler Infektion mit passagierten Histomonaden eine Schutzwirkung gegen die alleinige Infektion mit Histomonaden erzielt werden, die nach Infektion mit Heterakiseiern nicht möglich war (LUND et al., 1966). Allerdings beruhen diese Untersuchungen nahezu ausschließlich auf klinischen Beobachtungen, d. h. einer reduzierten Mortalität. Weitergehende Untersuchungen zur Erregerausscheidung im Kot und der Erregeransammlung in Geweben, Leber und Blinddärmen liegen bis dato nicht vor. Dies ist darin begründet, dass es kein einfaches quantifizierbares Nachweissystem für Histomonaden gibt, welches auch eine entsprechende Verlässlichkeit aufweist.

AUGUSTINE und LUND (1970) konnten trotz Passagierung keine Veränderungen der Hauptantigene im Immunfluoreszenztest feststellen, was für eine Stabilität dieser Antigene spricht und die Möglichkeit einer Impfung unterstreicht. Damit scheint es aber auch durchaus möglich, eine Immunantwort zu nutzen, um Bestände zu überprüfen und epidemiologische Daten zu erheben.

**Bekämpfung**

Zur Bekämpfung der Parasitose wurden in den letzten Jahrzehnten vermehrt Amöbostatika (Imidazolpräparate) eingesetzt (JOYNER et al., 1963). Dabei wurden diese Stoffe sowohl prophylaktisch als auch therapeutisch angewandt. Sie sind selbst in geringen Dosen äußerst wirksam und eine Resistenzentwicklung ist nicht bekannt (CALLAIT et al., 2002). Da sämtliche Prophylaktika und Thera-

peutika mittlerweile verboten sind, gibt es keine Möglichkeit mehr die Erkrankung vorbeugend zu bekämpfen und erkrankte Tiere zu therapieren, was einem Therapienotstand gleichkommt. Auch stehen keine Impfstoffe als spezifische Prophylaktika zur Verfügung, um die Erkrankung gezielt zu verhindern. Dies unterstreicht die Notwendigkeit, den Erregereintrag zu verhindern oder weitgehend zu reduzieren. Hier kommt der Bekämpfung des Blinddarmwurms und etwaiger bakterieller Begleitinfektionen eine besondere Bedeutung zu.

### Ziel zukünftiger Forschungsarbeiten

Der oben dargestellte Abriss über die Histomoniasis spiegelt den aktuellen Kenntnisstand wider. Dabei ist auffallend, dass die Mehrzahl der vorhandenen Arbeiten älteren Datums ist. Die jahrzehntelange Verwendung wirksamer prophylaktischer und therapeutischer Substanzen ließ Forschungsarbeiten auf dem Gebiet der Histomoniasis als wenig plausibel erscheinen. Dies hat sich unter den eingangs erwähnten Bedingungen dramatisch verändert, so dass mittlerweile eine Vielzahl von Fragestellungen der Klärung bedarf.

Dazu zählen primär Fragen der Epidemiologie und somit des Erregereintrages in die Bestände. Damit im Zusammenhang stehen Fragen der Prävalenz bei Puten und insbesondere bei Hühnern, da in älteren Arbeiten nahezu ausnahmslos Puten für entsprechende Forschungsarbeiten verwendet wurden. Um diese Fragestellungen zu beantworten, bedarf es einer Verbesserung der diagnostischen Möglichkeiten. Fragen der Pathogenese bilden die Grundlage, um effektive Bekämpfungsstrategien zu entwickeln. Dabei müssen für eine Vielzahl von Themen molekulare Methoden angewandt werden, um das vorhandene Defizit schnellstmöglich aufzuholen.

### Literatur

- AUGUSTINE, P.C., E.E. LUND (1970): Indirect fluorescent antibody tests comparing two strains of *Histomonas meleagridis* and *H. wenrichi*. J. Protozool. 17, 97-99
- BRADLEY, R.E., W.M. REID (1966): *Histomonas meleagridis* and several bacteria as agents of infectious enterohepatitis in gnotobiotic turkeys. Exp. Parasitol. 19, 91-101
- CALLAIT, M.P., C. GRANIER, C. CHAUVE, L. ZENNER (2002): In vitro activity of therapeutic drugs against *Histomonas meleagridis* (Smith, 1895). Poult. Sci. 81, 1122-1127
- CLARKSON, M.J. (1963): Studies on the immunity to *Histomonas meleagridis* in the turkey and the fowl. Immunol. 6, 156-168
- DWYER, D.M. (1970): An improved method for cultivating *Histomonas meleagridis*. J. Parasitol. 56, 191-192
- ESQUENET, C., P. DE HERDT, H. DE BOSSCHERE, S. RONSMANS, R. DUCATELLE, J. VAN ERUM (2003): An outbreak of histomoniasis in free-range layer hens. Avian Pathol. 32, 303-306
- GERBOD, D., V.P. EDGCOMB, C. NOEL, L. ZENNER, R. WINTJENS, P. DELGADO-VISCOGLIOSI, M.E. HOLDER, M.L. SOGIN, E. VISCOGLIOSI (2001): Phylogenetic position of the trichomonad parasite of turkeys, *Histomonas meleagridis* (Smith) Tyzzer, inferred from small subunit rRNA Sequence. J. Eukaryot. Microbiol. 48, 498-504
- HAFEZ, H. M., A. MAZAHARI, C. PRUSAS, K. BÖHLAND, M. PÖPPL, D. SCHULZE (2001): Aktuelle Geflügelkrankheiten bei Legehennen im Zusammenhang mit alternativen Haltungssystemen. Tierärztl. Praxis 3, 168
- HIEPE, T., R. JUNGSMANN (1983): Ordnung Trichomonadida, Gattung *Histomonas*. In: Hiepe T. (Hrsg.) Veterinärmedizinische Protozoologie 44-46
- HU, J., L.R. McDOUGALD (2003): Direct lateral transmission of *histomonas meleagridis* in turkeys. Avian Dis. 47, 489-492
- HONIGBERG, B.M., J. KULDOVA (1969): Structure of a nonpathogenic *Histomonad* from the Cecum of galliform birds and revision of the Trichomonad Family Monocercomonadidae Kirby. J. Protozool. 16, 526-535

- JITHENDRAN, K.P., J. VAID L. KRISHNA (1996): Comparative evaluation of agar gel precipitation, counterimmunoelectrophoresis and passive haemagglutination tests for the diagnosis of *Dicrocoelium dendriticum* infection in sheep and goats. Vet Parasitol. 61, 151-156
- JOYNER, L.P., S.F.M. DAVIES, S.D. KENDALL (1963): Chemotherapy of histomoniasis. In: Schitzler R.J. and Hawking, F. Experimental Chemotherapy, Vol. 1. Academic Press, New York, 333-349
- JOYNER, L.P. (1966): The control of histomoniasis. Poult. Rev. 6, 19-23, 31
- KEMP, R.L., W.M. REID (1966): Staining techniques for differential diagnosis of *Histomoniasis* and mycosis in domestic poultry. Avian Dis. 10, 357-363
- LEE, D.L. (1969): The structure and development of *Histomonas meleagridis* (Masticamoebidae: Protozoa) in the female reproductive tract of its host, *Heterakis gallinae* (Nematoda). Parasitology 59, 877-884
- LEE, D.L. (1971): The structure and development of the protozoan *Histomonas meleagridis* in the male reproductive tract of its intermediate host, *Heterakis gallinarum* (Nematoda). Parasitology 63, 439-445
- LUND, E.E., P.C. AUGUSTINE, E.J. ELLIS (1966): Earthworm transmission of *Heterakis* and *Histomonas* to turkeys and chickens. Exp. Parasit. 18, 403-407
- LUND, E.E., A.M. CHUTE (1973): Two consecutive transfers of *Heterakis gallinarum*: Effects on caecal worms and on *Histomonads*. J. Helminthol. 47, 141-153
- McDOUGALD, L.R., M.F. HANSEN (1969): *Histomonas meleagridis*: Effect on plasma enzymes in chickens and turkeys. Exp. Parasitol. 27, 229-235
- McDOUGALD, L.R., R.B. GALLOWAY (1973): Blackhead disease in vitro isolation of *Histomonas meleagridis* as a potentially useful diagnostic aid. Avian Dis. 17, 847-850
- McDOUGALD, L.R. (1997): Other protozoan diseases of the intestinal tract. In: Calnek, B.W. (Hrsg.): Diseases of poultry, 10th Edition. Iowa State University Press, Iowa, USA, pp. 890-899
- McDOUGALD, L.R., J. HU (2001): Blackhead disease (*Histomonas meleagridis*) aggravated in broiler chickens by concurrent infection with cecal coccidiosis (*Eimeria tenella*). Avian Dis. 45, 307-312
- NORTON, R.A., F.D. CLARK, J.N. BEASLEY (1999): An outbreak of histomoniasis in turkeys infected with a moderate level of *ascaridia dissimilis* but no *heterakis gallinarum*. Avian Dis. 43, 342-348
- SMITH, T. (1895): An infectious disease among turkeys caused by Protozoa (infectious enterohepatitis). US Dept. Agric. Bur. Anim. Indust., Bull. No. 8, 7
- STEPKOWSKI, S., S. KLIMONT (1979): Obserwacje nad hodowla in vitro *Histomonas meleagridis* (Smith, 1895). Medycyna Weterynaryjna 35, 502-505
- SWARUP, D., S.P. PACHAURI, B. SHARMA, S.K. BANDHOPADHYAY (1987): Serodiagnosis of *Fasciola gigantica* infection in buffaloes. Vet. Parasitol. 24, 67-74
- TYZZER, E.E. (1920): The flagellate character of the parasite producing blackhead in turkeys *Histomonas meleagridis*. J. Parasitol. 6, 124-130

### Anschrift der Verfasser

Prof. Dr. Michael Hess  
Dr. Elvira Grabensteiner  
Universitätsklinik für Geflügel  
Veterinärmedizinische Universität Wien  
Veterinärplatz 1  
1210 Wien  
Österreich

E-Mail: Michael.Hess@vu-wien.ac.at