15. Paratuberkulose – Paratuberculosis

Köhler, H., Möbius, P.

Summary

Paratuberculosis is distributed in cattle herds all over Germany. In 2014, 515 cases in ruminants were reported. Since 2000 the number of annually reported cases has been increasing steadily. A multi-locus genotyping approach with 14 targets is applied for molecular typing of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) isolates. Genotypes of MAP-Type II predominate among isolates from domestic and wild ruminants in Germany. Four MAP-Type II genotypes were found most frequently.

In 2014, the licensing process for two real-time PCRs for the detection of MAP in faecal and tissue samples was ongoing. Submissions for laboratory diagnosis focussed on faeces and tissue samples from small ruminants and from wild ruminants in zoological gardens.

Sequencing, assembly and annotation of a MAP Type I/III isolate from Germany was accomplished, the so far best assembled strain of this MAP-Type worldwide. Further research at FLI aims at the identification and characterization of early diagnostic biomarkers for paratuberculosis.

In 2014, the National Paratuberculosis Guidelines, which had been published by the former Federal Ministry of Consumer Protection, Nutrition and Agriculture in 2005 were replaced by National Recommendations for Hygienic Requirements in Ruminant Husbandry, which contain special recommendations for measures against paratuberculosis in cattle husbandry.

Zusammenfassung

Die Paratuberkulose ist in Rinderbeständen in ganz Deutschland verbreitet. Im Jahr 2014 wurden im TSN 515 Fälle bei Wiederkäuern erfasst. Seit dem Jahr 2000 steigt die Zahl der jährlichen Meldungen kontinuierlich an. Für die molekulare Typisierung von MAP-Isolaten wird eine Multilokus-Typisierungsstrategie angewendet, die 14 Zielregionen umfasst. Mit dieser Methodik konnte gezeigt werden, dass unter den MAP-Isolaten aus Deutschland Genotypen des MAP-Typ II überwiegen. Vier MAP-Typ-II-Genotypen sind besoonders weit verbreitet.

Im Jahr 2014 fanden experimentelle Untersuchungen im Rahmen der Zulassung von zwei Real-time PCRs zum MAP-Nachweis in Kot- und Gewebeproben statt. Die labordiagnostischen Untersuchungen konzentrierten sich auf Kot- und Organproben von kleinen Wiederkäuern sowie von Wildwiederkäuern aus zoologischen Gärten und Tierparks.

Die Sequenzierung, Assemblierung und Annotation eines MAP-Typ I/III-Isolates aus Deutschland ist abgeschlossen. Damit liegt der weltweit am besten assemblierte Typ I/III-Stamm vor. Weitere aktuelle Forschungsvorhaben des FLI zielen auf die Identifizierung und Charakterisierung früher diagnostischer Biomarker für die Paratuberkulose ab.

Die Paratuberkulose-Leitlinien, die im Jahr 2005 durch das damalige BMVEL veröffentlicht worden waren, wurden 2014 durch „Empfehlungen für hygienische Anforderungen an das Halten von Wiederkäuern“ abgelöst, die „Maßnahmen zum Schutz gegen die Paratuberkulose in Rinderhaltungen“ enthalten.

Labordiagnostische Untersuchungen

Die Primärdiagnostik der Paratuberkulose erfolgt in Deutschland in den Untersuchungsämtern der Länder bzw. der Tiergesundheitsdienste. Das NRL für Paratuberkulose sieht seine Aufgaben in der Entwicklung und Implementierung neuer diagnostischer Tests sowie in der Unterstützung der Untersuchungsämter bei der Sicherung der Qualität

etablierter diagnostischer Methoden. Darüber hinaus ist das NRL für die Zulassung und Chargenprüfung kommerziell verfügbarer diagnostischer Tests zuständig. Im Jahr 2014 fanden experimentelle Untersuchungen im Rahmen der Zulassung von zwei Real-time PCR Kits zum MAP-Nachweis in Kot- und Gewebeproben statt. Darüber hinaus wurde eine Untersuchung zu den Testcharakteristika (diagnostische Sensitivität und Spezifität für die Einzeltierdiagnostik) des Direktnachweises von MAP in Kotproben von Rindern mittels Real-time PCR im Vergleich zur kulturellen Anzüchtung und zum Antikörpernachweis im Serum durchgeführt. Dabei erwies sich der Direktnachweis mittels Real-time PCR bei der Einzeltierdiagnostik als sensitiver als der Antikörpernachweis.

Die labordiagnostischen Untersuchungen konzentrierten sich auf Kot- und Organproben von kleinen Wiederkäuern sowie von Wildwiederkäuern aus zoologischen Gärten und Tierparks mit dem Verdacht auf Paratuberkulose.

Statistische Angaben

Die Paratuberkulose ist in Deutschland eine meldepflichtige Tierkrankheit. Im Jahr 2014 wurden beim Rind 502 Fälle erfasst (Tab. 1). Darunter befanden sich auch Nachweise bei zwei Kälbern, die jünger als 6 Monate waren. Beim Rind ist die Erkrankung in ganz Deutschland verbreitet (Abb. 1). Seit dem Jahr 2000 zeigen die jährlichen Meldungen einen ansteigenden Trend und es werden regelmäßig auch Fälle bei Schaf und Ziege mitgeteilt.

Epidemiologische Untersuchungen

Die Paratuberkulose tritt in Rinderbeständen aller Bundesländer auf. Teilweise sind Schaf- und Ziegenbestände und Wildwiederkäuer betroffen. Auch in Zoologischen Gärten kommt es in seltenen Fällen zum Nachweis von Paratuberkulose bei unterschiedlichen Wiederkäuerspezies. Eine bundesweite Erhebung der Prävalenz der Paratuberkulose wurde bisher nicht durchgeführt. Es gibt Regionen in Deutschland, in denen die Erkrankung schon seit Jahrzehnten endemisch vorkommt: Gebiete in Nordrhein-Westfalen, Rheinland-Pfalz und Niedersachsen. In den östlichen Bundesländern hat sich die Erkrankung seit 1989 kontinuierlich verbreitet und tritt inzwischen ebenfalls flächendeckend auf.

Isolate von *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) gehören zwei großen Gruppen an: dem sogenannten Schaftyp (MAP Typ I/III) oder dem Rindertyp (MAP Typ II). Durch eine weitergehende Charakterisierung von MAP mit einer Kombination aus bis zu drei verschiedenen Genotypisierungsmethoden und 14 Zielstrukturen im Genom können verschiedene MAP-Stämme identifiziert und dadurch mögliche Übertragungswege verfolgt werden. Der Großteil der bisher genotypisierten Isolate aus Deutschland stammte von Rindern aus 147 Beständen in 12 Bundesländern (n=350), 45 von Schaf, Ziege, Esel sowie von Rot- und Damwild aus unterschiedlichen Habitaten - wild lebend, in privater Haltung oder aus Zoologischen Gärten. Zusätzlich wurde ein humanes Isolat untersucht.

Fast alle Isolate gehörten dem MAP-Typ II an, auch die Mehrzahl der Isolate von Ziegen, Rotwild, Damwild, Esel, Mensch und Schafen. Nur zehn Schafisolate und zwei Rinderisolate aus verschiedenen Bundesländern konnten dem MAP-Typ III zugeordnet werden. Der MAP Typ I (in Australien endemisch) wurde in Deutschland bisher nicht nachgewiesen. Isolate vom Schaftyp (Typ I + III) bevorzugen andere Nährmedien als Isolate vom Rindertyp und die kulturelle Isolierung benötigt bis zu einem Jahr. Damit werden erstgenannte möglicherweise bei Routineanzüchtungen übersehen.

Bei der Feintypisierung wurden bei den Rinderisolaten insgesamt 62 Genotypen gefunden sowie 22 verschiedene Genotypen für die Isolate von anderen Tierarten. Acht dieser Genotypen traten nur bei Schaf, Rotwild, Esel und Mensch auf, die Mehrzahl wurde ebenso bei Rindern nachgewiesen. Vier

Genotypen wurden besonders häufig detektiert, jedoch über 50% der Genotypen nur in jeweils einzelnen Isolaten. Inwiefern die weite Verbreitung von vier bestimmten Genotypen für eine höhere Virulenz dieser Isolate spricht, muss in weiterführenden Untersuchungen geklärt werden.
Einzelne Isolate aus Umgebungsproben sind nicht geeignet, Übertragungswege bestimmter Stämme zwischen Beständen mittels molekularer Typisierung nachzuweisen.

Forschung

Im Jahr 2003 wurde der erste Stamm vom MAP-Typ III von einem Schaf in Deutschland isoliert und am Friedrich-Loeffler-Institut genotypisiert. Durch das sehr langsame Wachstum dieses Mycobacteriums, den sehr hohen G/C Gehalt und viele repetitive Elemente im Genom, existiert bis heute weltweit keine geschlossene („finished") Genomsequenz für einen derartigen MAP-Stamm vom Typ I/III.
In Zusammenarbeit mit Kollegen des HZI in Braunschweig, des Fritz-Lipmann-Instituts in Jena und der Mathematischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität in Jena ist es uns gelungen, den Stamm JIII-386 zu sequenzieren, zu assemblieren, zu annotieren und mit anderen Genomsequenzen zu vergleichen. Dieser MAP-Stamm stellt derzeit weltweit den am besten assemblierten Schafstamm (Typ I/III) dar. Die Auswertung, welche den Vergleich zu einem ebenfalls durch das FLI neu sequenzierten („finished") MAP-Stamm vom Typ II aus Deutschland und vier anderen MAP-Stämmen aus den USA und Australien umfasst, beschäftigt sich insbesondere mit den Unterschieden zwischen Typ I/III und Typ II und deren phylogenetischer Verwandtschaft zu *Mycobacterium avium* subsp. *hominissuis*.
Weitere Forschungsvorhaben des FLI zielen auf die Identifizierung und Charakterisierung früher diagnostischer Biomarker für die Paratuberkulose ab.

Staatliche Maßnahmen

Die Paratuberkulose ist nicht bekämpfungspflichtig. Die vom damaligen BMVEL im Jahr 2005 veröffentlichten Leitlinien für den Umgang mit der Paratuberkulose in Wiederkäuerbeständen (Paratuberkuloseleitlinien) wurden im Jahr 2014 durch die vom BMEL heraus gegebenen „Empfehlungen für hygienische Anforderungen an das Halten von Wiederkäuern" abgelöst. Die deutschlandweite Bekämpfungsstrategie ist in den „Maßnahmen zum Schutz gegen die Paratuberkulose in Rinderhaltungen" formuliert, die in den Empfehlungen enthalten sind. Sie stellen eine Weiterentwicklung der Paratuberkulose-Leitlinien dar und lösen diese ab. Folgende Ziele sollen erreicht werden:

- Senkung der Häufigkeit der MAP-Infektionen in den Beständen
- Verminderung der wirtschaftlichen Schäden in den Betrieben
- Eindämmung der Ausbreitung in andere Rinderbestände
- Schaffung und Schutz von Paratuberkulose-unverdächtigen Rinderbeständen.

Zoonosepotenzial

Es gibt auch weiterhin keine wissenschaftlich gesicherten Erkenntnisse über einen ursächlichen Zusammenhang zwischen Morbus Crohn des Menschen und der Paratuberkulose bei Wiederkäuern.

Tabelle 1: Im TSN gemeldete Paratuberkulose-Fälle 2014

Jahr	Rind	Schaf	Ziege	Gesamt
2014	502	8	6	515

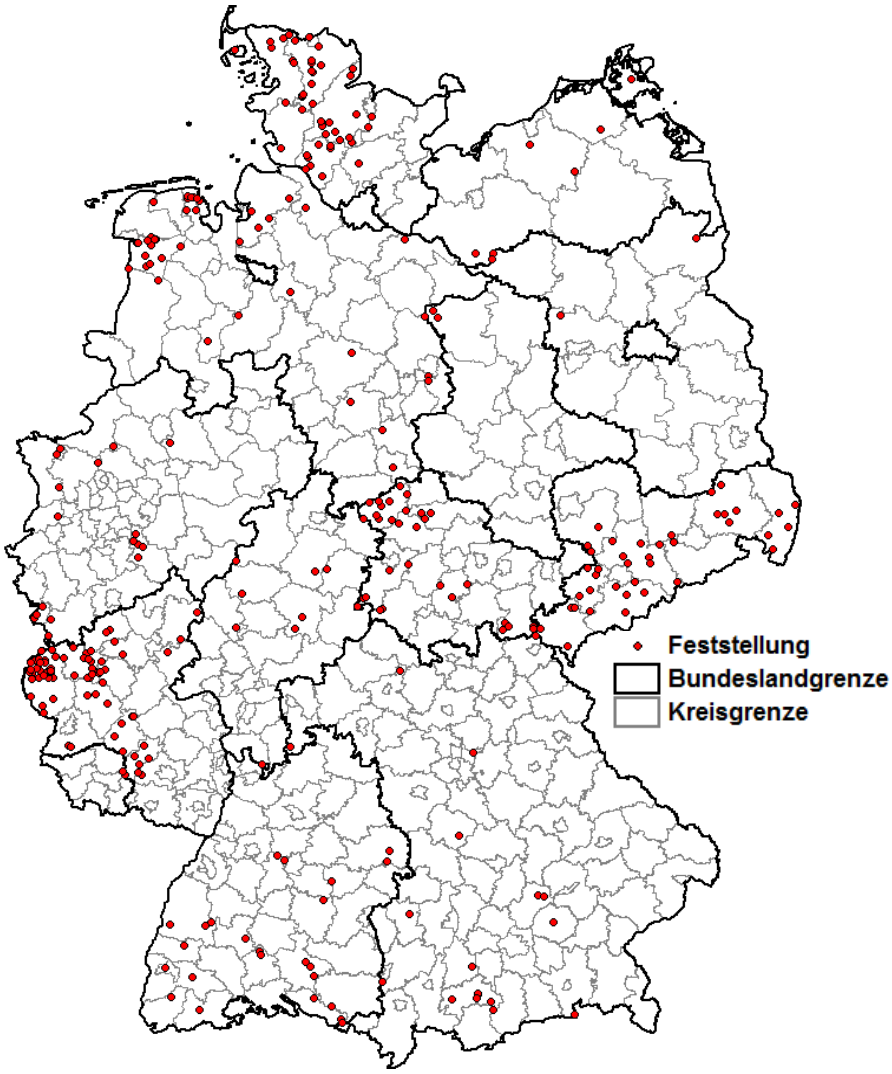

Abbildung 1: Geografische Verteilung der im Jahr 2014 in Deutschland gemeldeten Paratuberkulosefälle (TSN)