

# Paratuberkulose des Rindes- Zügige Diagnostik und praxisorientierte Bekämpfung sind keine Utopie!

Anna Katharina Schwalm und Reinhard Sting  
E-Mail: katharina.schwalm@cvuas.bwl.de

11. Stendaler Symposium, 03. – 05. April 2019

Chemisches und  
Veterinäruntersuchungsamt  
Stuttgart

## DIE ERKRANKUNG

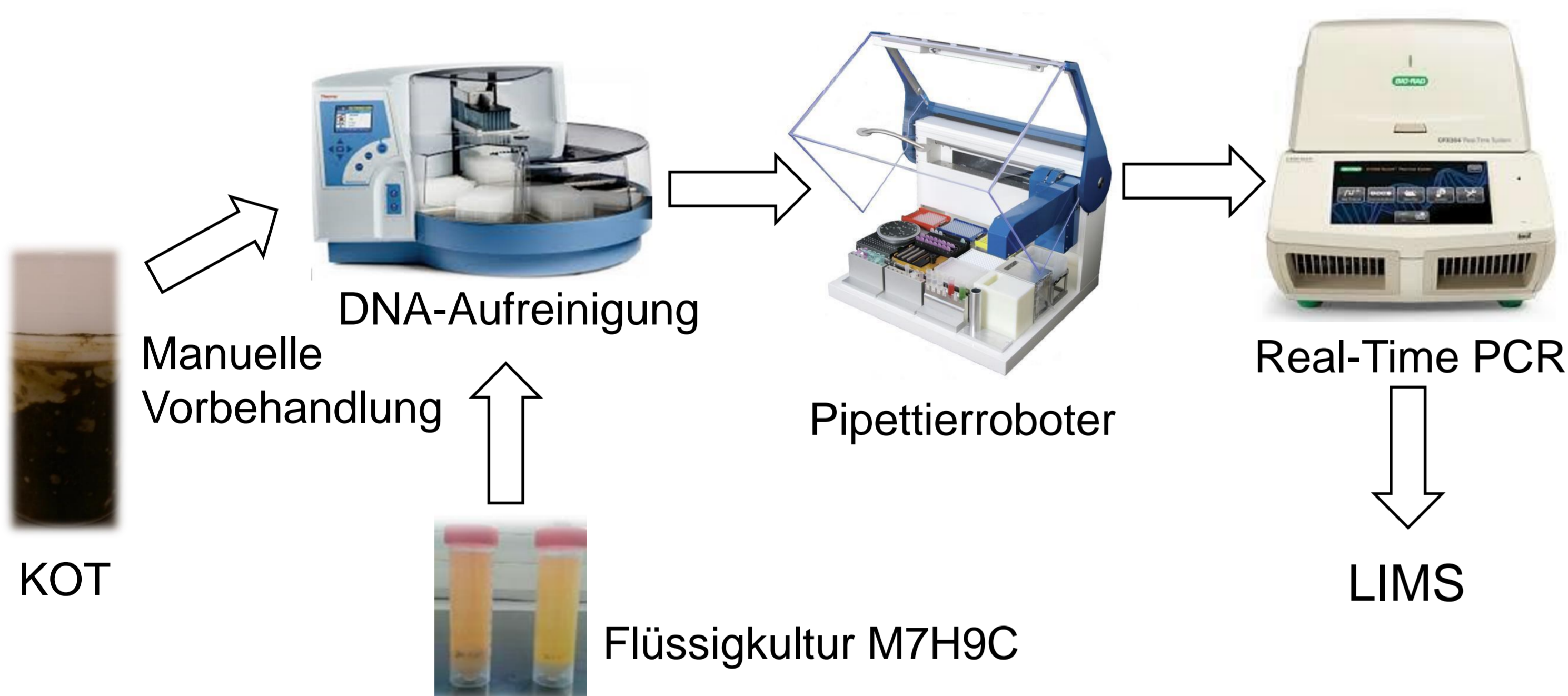
Die Paratuberkulose (Johne'sche Erkrankung) ist die bedeutendste, chronische bakterielle Infektionskrankheit bei Rindern, die in Deutschland flächendeckend vorkommt. Der Erreger, *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP), wird intermittierend in Nestern über den Kot ausgeschieden und infizierte Tiere zeigen erst spät typische Krankheitserscheinungen. Aufgrund der stabilen Zellwand überlebt MAP lange in der Umwelt. Langsame Stoffwechselprozesse führen zu einer Anzuchtdauer auf Festmedien von bis zu 16 Wochen. Die entscheidenden Infektionsquellen sind die fäkal-orale Übertragung der Mutterkuh auf das neugeborene Kalb innerhalb einer Herde sowie der Zukauf infizierter Tiere zwischen Herden.

## ZIELSETZUNG

Vorrangiges Ziel unserer Studien war der Einsatz rascher und sensibler Methoden für den Nachweis von MAP nach spätestens 6-8 Wochen (40 bis 60 Tage). Neben laktierenden Kühen können somit zusätzlich Tiere während der Trockenstehphase untersucht werden. Mit Hilfe der Ergebnisse soll der MAP-Status der Mutterkühe vor der Geburt ermittelt werden, um gezielte Maßnahmen zur Verhinderung einer Infektion während und nach dem Abkalben treffen zu können. Zusätzlich war das Ziel, mit den angewandten Methoden den Herdenstatus mittels Umgebungsproben zu bestimmen.

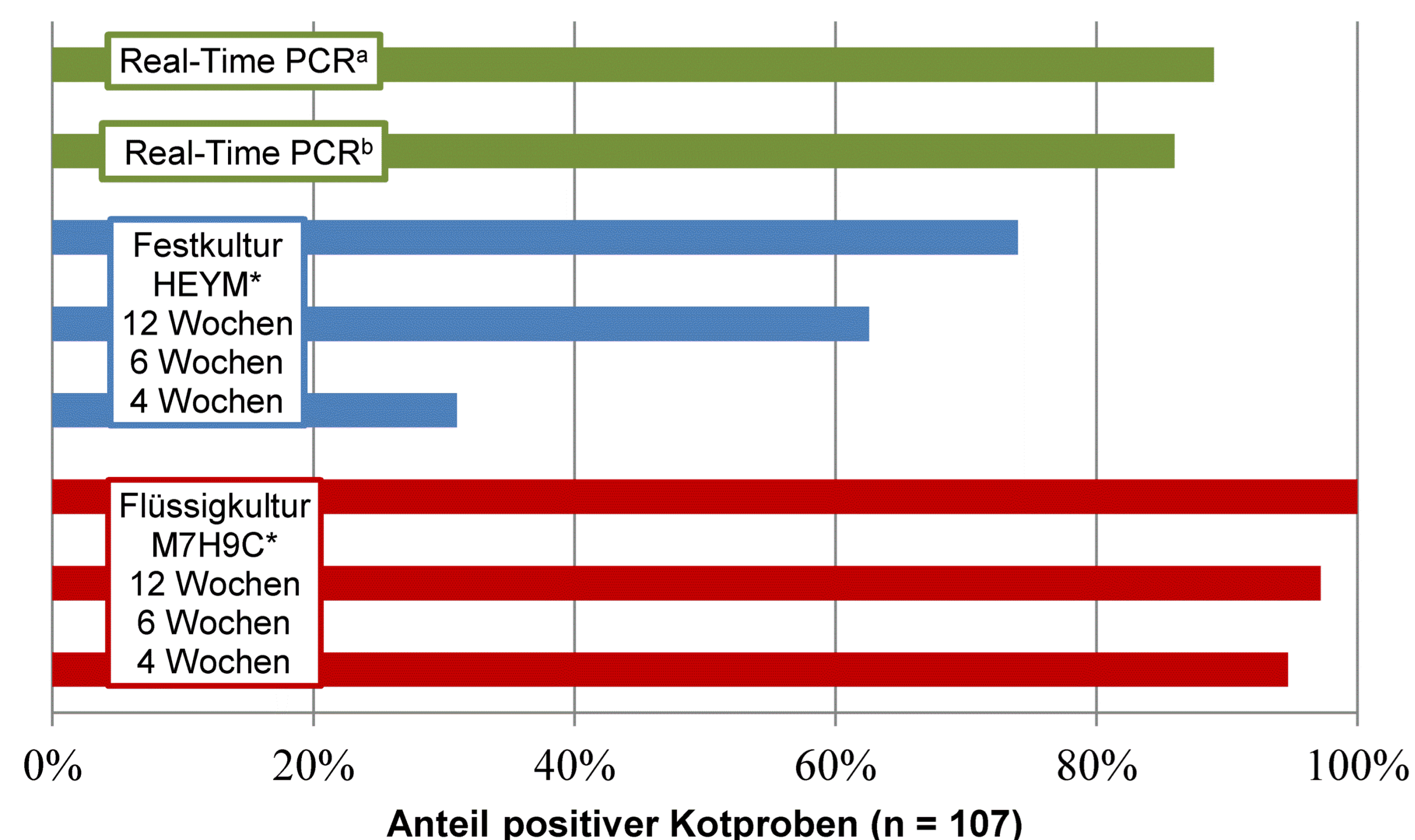
## ERGEBNISSE

Im Rahmen einer **Validierungsstudie** gelang der sichere Nachweis von MAP in Kot- und Umgebungsproben innerhalb einer Woche mittels Real-Time PCR-Kits<sup>a,b</sup> und binnen 4-6 Wochen mit Hilfe der Flüssigkultur M7H9C. Alle Tests waren 100% spezifisch. Die Real-Time PCRs zeigten eine Sensitivität von 86%<sup>b</sup> bzw. 89%<sup>a</sup>. In der Flüssigkultur konnten 95% nach 4 Wochen und 100% Sensitivität nach 12 Wochen erreicht werden. Für Festkultur lag die Sensitivität nach 4-wöchiger Anzucht bei 31%, nach 12-wöchiger Anzucht bei 74%.



Semiautomatisierter Nachweis von MAP in Kotproben mittels Real-Time PCR-Kits und Anzucht in Flüssigmedium M7H9C.

### Validierungsstudie: Vergleichende Untersuchung von PCR direkt aus Kot und Anzuchtmethoden



\*Verifizierung mittels Real-Time PCR nach Herthnek and Bolske (2006) [5]

<sup>a</sup>IDvet Kombinationstest:

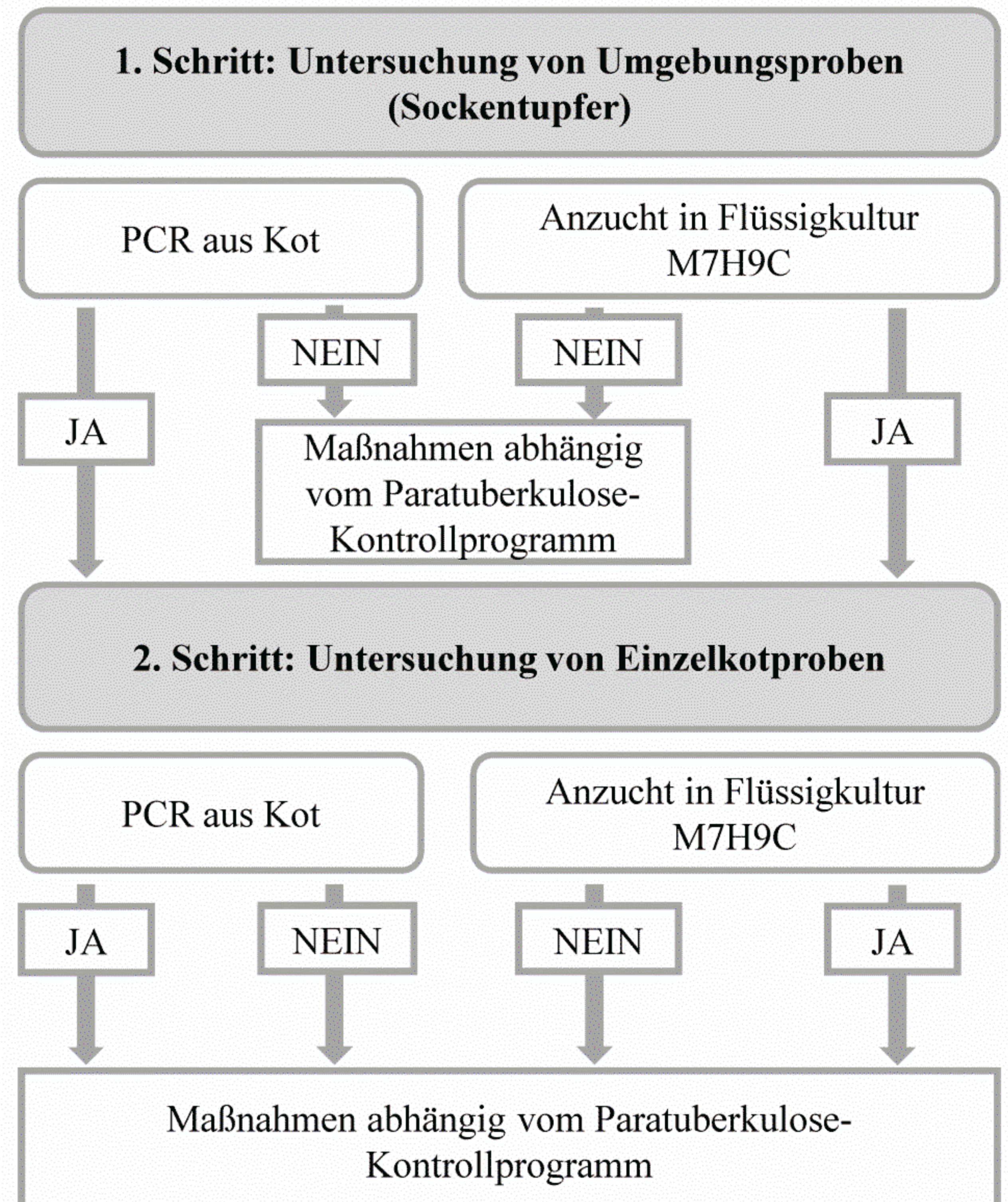
ID Gene Easy Preparation mit ID Gene Mag Paratuberculosis Extraction und ID Gene Paratuberculosis duplex PCR; IDvet Genetics Grabels; FLI-C 034

<sup>b</sup>gerbion Kombinationstest:

NukEx Mag Extreme SC und diarellaMAP vet PCR; gerbion, Kornwestheim; FLI-B 673

In der sich anschließenden **Feldstudie** zeigten sich beide Methoden als ideal für die Bestimmung des MAP-Herdenstatus mit Hilfe von Umgebungsproben. Dabei ergaben alle in der Flüssigkultur positiv getesteten Umgebungsproben aus drei Milchviehherden auch in der Real-Time PCR<sup>b</sup> positive Ergebnisse. Bei der Testung der Einzelkotproben waren signifikant mehr Proben (53/245) in der Flüssigkultur positiv ( $p < 0.0001$ ). Dennoch konnten 74% (39/53) der in Flüssigkultur positiven Proben auch in der Real-Time PCR<sup>b</sup> nachgewiesen werden.

## PRAKTISCHE UMSETZUNG



## SCHLUSSFOLGERUNG

Die Untersuchung von Kotproben mit Hilfe von Real-Time PCR bzw. Flüssigkultur M7H9C in zwei Schritten (Umgebungsproben, Einzeltieruntersuchungen) ermöglicht die Erkennung MAP-ausscheidender Kühe innerhalb von einer bzw. maximal 8 Wochen. Die Sensitivität des Erregernachweises kann durch die Auswahl der Nachweismethode betriebsspezifisch gewählt werden, abhängig von der Paratuberkulose-Historie und den Zielen eines Kontrollprogramms.

## MATERIAL & METHODEN

In der **Validierungsstudie** [3] wurden für den Nachweis von MAP in Kotproben kommerzielle Real-Time PCR-Kits<sup>a,b</sup> sowie eine selbsthergestellte Flüssigkultur (M7H9C) [1; 2] und die Festkultur (HEYM) verwendet. Verglichen wurden die Nachweismethoden mit der Anzucht in Flüssigkultur als Standard (siehe Balkendiagramm).

In der anschließenden **Feldstudie** [4] wurden die diarella MAP Real-Time PCR<sup>b</sup> und die Flüssigkultur M7H9C zur Testung von 12 Sockentupfern und 245 Einzelkotproben aus drei Milchviehbetrieben in Baden-Württemberg angewendet.

## LITERATUR

- [1] Whittington et al., 1999; J Clin Microbiol 37 (4): 1077-1083
- [2] Whittington et al., 2013; J Clin Microbiol 51 (12): 3993-4000
- [3] Schwalm et al., 2018; J Microbiol Methods 152: 39-47
- [4] Schwalm et al., 2019; eingereicht im J. Dairy Sci
- [5] Herthnek and Bolske, 2006; BMC Microbiol 6 (87)

