


Universität Zürich^{UZH}
 Abteilung für Veterinärbakteriologie

Universität Bern | Universität Zürich
vetsuisse-fakultät




Tuberkulose

Herausforderungen bei der Umsetzung

Dr. med. vet. FVH Sarah Schmitt, Dipl. ACVM
 Abteilung für Veterinärbakteriologie
Nationales Referenzlabor für Tuberkulose
 Winterthurerstrasse 270, 8057 Zürich
 Email: sarah.schmitt@vetbakt.uzh.ch

Seite 1

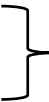
1


Universität Zürich^{UZH}
 Abteilung für Veterinärbakteriologie


Universität Bern | Universität Zürich
vetsuisse-fakultät

Mycobacterium tuberculosis-Komplex (MTBC)

- ❖ *M. bovis* (Karlson and Lessel 1970)
- ❖ *M. caprae* (Aranaz et al. 2003)
- ❖ *M. tuberculosis* (Koch, 1882)



«Tuberkuloseerreger» im Sinne der TSV 2023

- ❖ *M. africanum* (Castets et al. 1968)
- ❖ *M. canettii* (van Soolingen et al. 1997)
- ❖ *M. microti* (Well and Oxon 1937)
- ❖ *M. pinnipedii* (Cousins et al. 2003)
- ❖ *M. mungi* (Alexander et al. 2010)
- ❖ *M. orygis* (van Ingen et al. 2012)
- ❖ *M. suricattae* (Parsons et al. 2013)
- ❖ «dassie» und «chimpanzee» Bacillus (Wagner et al. 1958, Coscolla et al. 2013)



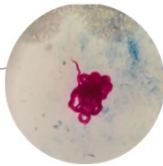
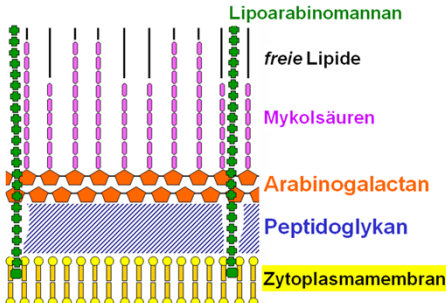
Seite 2

2


Universität Zürich^{UZH}
 Abteilung für Veterinär bakteriologie

Universität Bern | Universität Zürich
vetsuisse-fakultät

Eigenschaften von Mykobakterien


- ❖ Komplexe wachsartige Zellwand

↓

- ❖ Säurefestigkeit (ZN-Färbung)
- ❖ Hohe Tenazität
- ❖ Geringe Durchlässigkeit für Nährstoffe → lange Generationszeit → lange Inkubationszeit bei Mensch und Tier!
- ❖ geringe Durchlässigkeit für Antibiotika → lange Therapiedauer
- ❖ Fakultativ intrazellulär, Vermehrung in Makrophagen

Seite 3

3


Universität Zürich^{UZH}
 Abteilung für Veterinär bakteriologie

Universität Bern | Universität Zürich
vetsuisse-fakultät

Rindertuberkulose – Verlauf der Immunantwort

R. de la Rua-Domenech et al. / Research

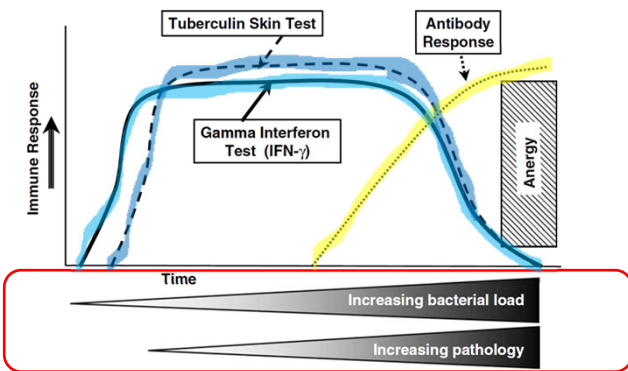


Abbildung aus de la Rue-Domenech, 2006

Zelluläre Immunantwort:

- ❖ wichtig, da eine frühe Detektion möglich ist!
 - IFN-γ: 1-5 Wochen p.i.
 - Hauttest: 3-6 Wochen p.i.

Humorale Immunantwort:

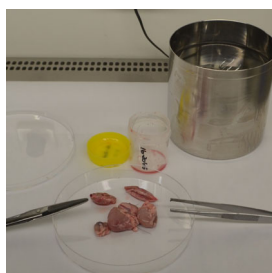
- ❖ Antikörper entwickeln sich sehr spät
- ❖ Wird geboostert durch eine vorherige zelluläre Immunantwort
- ❖ Spielt beim Rind keine Rolle, Wichtigkeit steigt bei anderen Tierarten

Seite 4

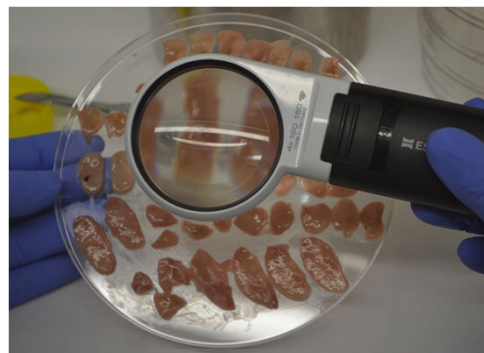
4



Feinsektion beim LyMON oder Rotwildmonitoring



Feinsektion



Seite 5

5



Rindertuberkulose CH



- ❖ Seit 1960 anerkannt frei
- ❖ Seit 1980 Überwachung im Rahmen der amtlichen Fleischkontrolle
- ❖ 1991-2012: 5 Fälle
- ❖ 2013/2014
 - Ausbruch in der Westschweiz
- ❖ 2013
 - Ausbruch in der Ostschweiz
- ❖ Auszurottende Seuche gemäss TSV

Westschweiz

- ❖ Epidemiologische Abklärungen:
 - 2013: rund 6700 Tiere untersucht, 7 Seuchenfälle
 - 2014: rund 3100 Tiere untersucht, keine weiteren Seuchenfälle
- ❖ *M. bovis*
 - Wiederauftreten eines «Einheimischen» Stammes
 - Reservoir: positiver Betrieb von 1998

Ostschweiz

- ❖ Epidemiologische Abklärungen:
 - 2013: > 4000 Tiere untersucht, 4 Seuchenfälle
- ❖ Tuberkulin-Hauttest und Interferon-Gamma-Test
- ❖ *M. caprae*
 - Sömmerung im Voralberg
 - Reservoir: Rotwild

Seite 6

6



Tuberkulose CH – andere Tierarten



Quelle: Zoo Basel


M. tuberculosis

M. microti


Quelle: BGK Homepage

**Massnahmen beim
Verbringen vorgeschrieben!**

Seite 7

7



Tuberkulose – neue TW

Tabelle 1: Darstellung der indirekten Testverfahren für die verschiedenen Tierarten

Tierart	Tuberkulin-Hauttest	IFN- γ (IDvet)	ELISA
Rind	X	X	
Büffel	X	X	
Bisons	X	X	
Ziegen/Ziegenartige	X	X*	
Schafe	X	X*	
Kameliden	X		X

* momentan nicht zugelassen für den Export in die EU.

Seite 8

8



Tuberkulin-Hauttest Rind

5. Als Standardmethode gilt die Untersuchung auf Ebene Bestand mittels Tuberkulin-Hauttest in Form des Simultantests mit bovinem Tuberkulin (PPD-B) und aviärem Tuberkulin (PPD-A) (Anhang 2, Abschnitt A). Ausnahme stellen die Kameliden dar, hier muss, um die Sensitivität zu erhöhen, der Tuberkulin-Hauttest mit einem ELISA kombiniert werden (siehe Anhang 2, Abschnitt C).

Tierart	Test	Sensitivität %	Spezifität %	Quelle
Rind	Simultantest	75 – 95.5	78.8 – 99	de la Rúa-Domenech et al. 2006
Rind	Monotest (Hals)	80.2 – 100	75.5 – 96.8	de la Rúa-Domenech et al. 2006
Rind	Monotest (Schwanzfalte)	63.2 – 96.8	96.8 – 99	de la Rúa-Domenech et al. 2006

Seite 9

9



Tuberkulin-Hauttest Rind – Kreuzreaktionen mit NTMs

Nachweisraten anderer NTMs:

Spezies	Nachweisraten	Quelle
<i>M. avium</i> ssp. <i>hominissuis</i>	32.1%	EURL Madrid
<i>M. nonchromogenicum</i>	27.6%	
<i>M. avium</i> ssp. <i>avium</i>	10.7%	

Seltener:

- ❖ *M. kansasii*, *M. persicum*, *M. intermedium*, *M. smegmatis*,
M. marinum, *M. szulgai*, *M. gastri*, *M. flavescens*

} Kreuzreaktionen!!

Seite 10

10



Tuberkulin-Hauttest Ziege, Schafe, NWK

Tierart	Test	Sensitivität %	Spezifität %	Quelle	Bemerkung
Ziege	Simultantest	44.6 - 83.7	100	Gutierrez <i>et al.</i> 1998 Liébana <i>et al.</i> 1998	Um Sensitivität zu erhöhen: Kombination mit einem serologischen Verfahren empfohlen.
Schaf	Simultantest	81.6	99.6	Cordes et al. 1981	Um Sensitivität zu erhöhen: Kombination mit einem serologischen Verfahren empfohlen.
Alpaka, Lama	Monotest oder Simultantest	46 – 80	91 - 100	SANCO/7034/2 013 (Working document EU commission)	Um Sensitivität zu erhöhen: Kombination mit einem serologischen Verfahren vorgeschrieben . 15 bis max. 30 Tag nach dem Intrakutantest.

Seite 11

11



Serologie (ELISA) bei den Kameliden

C. ELISA bei den Kameliden

1. Allgemeine Bestimmungen

Der Intrakutantest bei Kameliden muss immer mit einem serologischen Test (ELISA), der 15–30 Tage nach der Tuberkulinisierung durchgeführt wird, kombiniert werden. Die Kombination beider Methoden erhöht die Sensitivität [5, 6].

2. Interpretation der Resultate

Folgende Kriterien werden zur Bewertung herangezogen [5]:

Tabelle zur Interpretation der Ergebnisse

Tuberkulin-Hauttest	ELISA	Interpretation
Positiv	Nicht nötig	Positiv
Zweifelhaft	Positiv	Positiv
Zweifelhaft	Negativ	Wiederholung des Tuberkulin-Hauttests mittels Simultantest nach 42 Tagen
Negativ	Negativ	Negativ
Negativ	Positiv	Positiv
Negativ	Fraglich	Wiederholung des Tuberkulin-Hauttests mittels Simultantest nach 42 Tagen

! Durch Infektion mit *M. microti* fallen diese Tests bei Kameliden positiv aus!

***M. microti* gehört aber nicht zu den tierseuchenrechtlich relevanten Mitgliedern des *M. tuberculosis*-Komplexes.**

Eine Unterscheidung von *M. bovis*/*M. caprae*/*M. tuberculosis* von *M. microti* ist mit den indirekten Testmethoden (Intrakutantest und ELISA) daher nicht möglich.

Seite 12

12



Tuberkulin-Hauttest Cerviden

Tierart	Test	Sensitivität %	Spezifität %	Quellen
Weisswedelhirsch (<i>Odocoileus virginianus</i>)	Simultantest	97	81 - 99	-Cousins, D.V., Florisson, N., 2005 -Busch <i>et al.</i> , 2017
Rentier (<i>Rangifer tarandus</i>)	Simultantest	92	25	-Waters <i>et al.</i> , 2011 -Corrin <i>et al.</i> 1993
Rotwild (<i>Cervus elaphus</i>)	Simultantest	80	46 - 76	-Palmer <i>et al.</i> , 2001 -Norden <i>et al.</i> , 1996
Damhirsch (<i>Dama dama</i>)	Simultantest	76-84	81	-Boadella <i>et al.</i> , 2012 -de Lisle <i>et al.</i> , 2001

**Um Sensitivität zu erhöhen:
Kombination mit einem serologischen Verfahren empfohlen.**

Problem: Die Kriterien zur Interpretation und Durchführung sind nicht klar definiert!

Seite 13

13



Tuberkulose – neue TW

7. Der IFN- γ Test (mit Ausnahme der Kameliden) kann zur Abklärung von zweifelhaften Reaktionen im Hauttest durchgeführt werden. Der IFN- γ Test vom Hersteller IDvet, kann für die in der Tabelle 1 aufgeführten Tierarten eingesetzt werden (Anhang 2, Abschnitt B).

Tabelle 1: Darstellung der indirekten Testverfahren für die verschiedenen Tierarten

Tierart	Tuberkulin-Hauttest	IFN- γ (IDvet)	ELISA
Rind	X	X	
Büffel	X	X	
Bisons	X	X	
Ziegen/Ziegenartige	X	X*	
Schafe	X	X*	
Kameliden	X		X


* momentan nicht zugelassen für den Export in die EU.

Kommerzielle Verfahren existieren bislang nicht für NWK!

Bei Ziege & Schaf darf der IFN- γ nicht für den Export in die EU verwendet werden!

Seite 14

14



**Universität
Zürich^{UZH}**
Abteilung für Veterinärbakteriologie

Universität Bern | Universität Zürich
vetsuisse-fakultät

IFN-γ Test

Voraussetzungen:


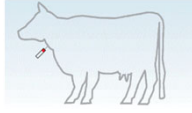
- ❖ Tiere müssen ausgeruht sein
- ❖ Tiere dürfen nicht immunsupprimiert sein
- ❖ Tiere müssen älter als 6 Monate sein (falsch-positive Resultate!)

Vorteile:

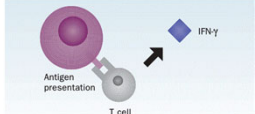
- ❖ Etwas höhere Sensitivität als Hauttest
- ❖ Bereits nach 1-5 Wochen post infectionem positiv (früher als Simultantest)
- ❖ Einmalige Blutentnahme
- ❖ Auswertung ist standardisiert
- ❖ Kann ohne Wartezeit nach dem Hauttest durchgeführt werden

Nachteile:

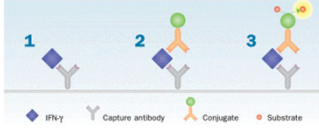
- ❖ Präanalytik ist aufwändig
 - Lithium-Heparin-Blut (mind. 5ml)
 - Transport ins Labor **< 8h** (max. 24h)
 - Transport bei Raumtemperatur
- ❖ Zeit- und arbeitsintensiv im Labor (2 Tage) → nicht als Herdensingreening geeignet!
- ❖ Hohe Kosten
- ❖ Kreuzreaktionen mit diversen NTMs (*M. kansasii*, *M. persicum*, *M. intermedium*, *M. smegmatis*, *M. marinum*, *M. szulgai*, *M. gastri*, *M. flavescens*)
- ❖ Sensitivität und Spezifität abhängig von diversen Kriterien

Heparinisiertes Vollblut



Inkubation von lebenden T-Lymphozyten mit Antigenen in-vitro




Interferon-γ ELISA

Bilder: Biogen®/Printics

Seite 15

15



**Universität
Zürich^{UZH}**
Abteilung für Veterinärbakteriologie

Universität Bern | Universität Zürich
vetsuisse-fakultät

IFN-γ Test - Rind

Tierart	Test	Sensitivität %*	Spezifität %*	Quelle
Rind	IFN-γ	73 – 100	85 – 99.6	de la Rua-Domenech <i>et al.</i> 2006
	IFN-γ (IDvet, S/P%)		97.46	Ghielmetti <i>et al.</i> 2021

*Sensitivität und Spezifität abhängig vom verwendeten Testkit / Cut-off / Zeit zwischen Blutabnahme und Stimulation / Rasse / Alter / Wahl des Goldstandards

Evaluation of Three Commercial Interferon-γ Assays in a Bovine Tuberculosis Free Population

Giovanni Ghielmetti^{1*}, Patricia Landolt¹, Ute Friedel¹, Marina Morach², Sonja Hartnack³, Roger Stephan¹ and Sarah Schmitt¹

¹Section of Veterinary Bacteriology, Institute for Food Safety and Hygiene, University of Zurich, Zurich, Switzerland, ²Institute for Food Safety and Hygiene, University of Zurich, Zurich, Switzerland, ³Section of Epidemiology, University of Zurich, Zurich, Switzerland

Beurteilung IDvet	S/P %
Negativ	< 35%
Positiv	≥ 35%

Seite 16

16



IFN-γ Test - Ziege, Schaf, NWK

Tierart	Test	Sensitivität %*	Spezifität %*	Quelle
Ziege	IFN-γ	83.7 – 87.2	96	Gutierrez <i>et al.</i> 1998 Liébana <i>et al.</i> 1998
Schaf	IFN-γ	64.5 – 73.91	81.2 – 100	Munoz-Mendoza <i>et al.</i> 2015
Lama, Alpaka	IFN-γ	57.7 – 66.7	89.1	Rhodes <i>et al.</i> 2012

*Sensitivität und Spezifität abhängig vom verwendeten Testkit / Cut-off / Zeit zwischen Blutabnahme und Stimulation / Rasse / Alter / Wahl des Goldstandards

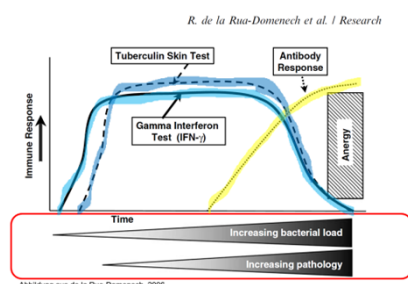
Seite 17

17



Zusammenfassung – Rind

- ❖ Gute diagnostische Tools *ante mortem* vorhanden
 - Probleme mit Kreuzreaktivität bestimmter NTMs
 - Beim IFN-γ: Je nach Situation muss flexibel der Cut-off angepasst werden!
- ❖ **Aber:** je nach Stadium der Krankheit ist der Erreger bzw. die Immunantwort schwer zu detektieren!



Seite 18

18



Zusammenfassung – andere Tierarten

- ❖ Limitierte diagnostische Möglichkeiten *ante mortem*!
- ❖ Kombination von verschiedenen Methoden nötig!



Simultantest mit anschließender Serologie



Simultantest mit anschließender Serologie, (IFN- γ Test)



(Simultantest) mit anschließender Serologie

Quelle: BOK Homepage

Seite 19