



Technische Weisungen

über die

Entnahme von Proben und deren Untersuchung auf Paratuberkulose (*Mycobacterium avium ssp. paratuberculosis*, MAP)

vom 12. Juli 2016

Das Bundesamt für Lebensmittelsicherheit und Veterinärwesen (BLV),

gestützt auf die Artikel 237 Absatz 2 und 312 Absatz 5 der Tierseuchenverordnung vom 27. Juni 1995 (TSV; SR 916.401),

erlässt folgende

Weisungen:

I. Geltungsbereich

1. Die vorliegenden Technischen Weisungen regeln die Anforderungen an die Entnahme von Proben und deren Untersuchung auf den Erreger der Paratuberkulose (ParaTb), *Mycobacterium avium ssp. paratuberculosis* (MAP) bei Tieren der Rinder-, Schaf- und Ziegengattungen einschliesslich Büffel und Neuweltkameliden sowie in Gehege gehaltene Wildwiederkäuer, die klinische Anzeichen oder pathologisch-anatomische Veränderungen zeigen, welche den Verdacht auf Paratuberkulose nahe legen (Verdachtsfall gemäss Art. 238 Abs. 1 TSV). Sie legen das Untersuchungsmaterial und die anzuwendenden Untersuchungsmethoden fest.

II. Probenahme

2. Die Kantonstierärztin / der Kantonstierarzt bestimmt die für die Probenahme verantwortliche Person.
3. Als Untersuchungsmaterial für den direkten Nachweis von MAP dienen Kotproben, Schleimhautgeschabsel vom Enddarm, pathologisch veränderte Darmteile (vorwiegend Jejunum oder Ileum) oder Darmlymphknoten.
4. Es ist geeignetes Probenmaterial in sterile, flüssigkeitsdichte Gefässe zu entnehmen.
Jede Probe muss 3-fach verpackt sein und umfasst:
 - a. ein stabiles Probengefäss (luft- und wasserdicht)
 - b. eine Umverpackung (z.B. Plastikhülle mit genügend saugfähigem Material, damit ggf. auslaufende Flüssigkeit vollständig aufgesaugt wird) und
 - c. eine äussere Verpackung (z.B. Transportbox).

Auf der Verpackung ist das Etikett Raute UN3373 und direkt daneben die offizielle Bezeichnung Biologischer Stoff, Kategorie B anzubringen.

Der Versand erfolgt gleichentags per A-Post oder Kurier. Es muss sichergestellt sein, dass die Proben am nächsten Tag im Labor ankommen.

III. Laboratorien

5. Laboratorien, die Untersuchungen im Rahmen der amtlichen ParaTb-Bekämpfung durchführen, bedürfen hierzu der Anerkennung durch das BLV (Art. 312 TSV). Die Liste der anerkannten Laboratorien ist im Internet publiziert: <https://www.blv.admin.ch/blv/de/home/tiere/tierseuchen/tierseuchendiagnostik.html>
6. Die Kantonstierärztin / der Kantonstierarzt bestimmt, in welchem ParaTb-anerkannten Labor die Proben zur Untersuchung eingeschickt werden.
7. **Nationales Referenzlabor:** Institut für Veterinärbakteriologie, Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich, Winterthurerstrasse 270, CH-8057 Zürich.

IV. Untersuchungsmethoden

8. Amplifikation MAP-spezifischer DNA (real-time PCR)

Untersuchungsmaterial: Kot, Schleimhautgeschabsel vom Enddarm, pathologisch veränderte Darmschleimhaut, Darmlymphknoten, MAP-verdächtige Bakterienkulturen.

Für den direkten Nachweis von MAP im Probenmaterial dürfen nur vom BLV genehmigte real-time PCR-Testsysteme zur Anwendung kommen. Die vom BLV zugelassenen Testkits sind im Internet veröffentlicht: <https://www.blv.admin.ch/blv/de/home/tiere/tierseuchen/tierseuchendiagnostik.html>. Die Testanleitung des Herstellers ist zu befolgen. Wichtig ist die vorangehende korrekte DNA-Extraktion für Mykobakterien, die einen mechanischen Aufschluss beinhalten muss.

9. Mikroskopischer Erregernachweis:

Untersuchungsmaterial: Kot, Schleimhautgeschabsel vom Enddarm, pathologisch veränderte Darmschleimhaut, Darmlymphknoten.

Untersuchungsverfahren: Chemische Färbung von Ausstrichpräparaten mit der Ziehl-Neelsen-Färbung. Lichtmikroskopische Untersuchung bei 1000-facher Vergrößerung.

Nachweis säurefester Stäbchen: Auch im Darminhalt von gesunden Wiederkäuern sind säurefeste Stäbchenbakterien in unterschiedlichen Grössen nachweisbar. Daher ist der mikroskopische Nachweis von säurefesten Stäbchen im chemisch angefärbten Ausstrich des o.a. Untersuchungsmaterials kein eindeutiger Nachweis von MAP. Nur im Zusammenhang mit den für ParaTb typischen klinischen Symptomen und/oder den charakteristischen pathologisch-anatomischen Veränderungen der Darmschleimhaut ist der mikroskopische Nachweis von säurefesten kurzen Stäbchen (ca. 1.5 x 0,5 µm) in charakteristischen dichten Agglomeraten aus ≥ 3 Bakterien ein ätiologisch gewichtiges Indiz. Mikroskopisch positive Befunde müssen durch eine MAP-spezifische PCR bestätigt werden.

Aufgrund der intermittierenden Ausscheidung bzw. der ungleichmässigen Verteilung von MAP in einem Probenmaterial, schliesst ein mikroskopisch negativer Befund eine Infektion mit MAP nicht sicher aus. Für den Ausschluss von Paratuberkulose muss die Untersuchung mit der PCR oder der Kultur weitergeführt werden.

10. Kultureller Nachweis

Untersuchungsmaterial: Kot, Schleimhautgeschabsel vom Enddarm, pathologisch veränderte Darmschleimhaut, Darmlymphknoten.

Das Untersuchungsmaterial wird gründlich homogenisiert und dekontaminiert. Das Inokulum wird auf mindestens zwei Röhren (Schrägagar) Herolds Egg Yolk Medium mit Mycobactin verimpft, **12-16 Wochen** inkubiert und dabei regelmässig auf das Wachstum

typischer MAP-Kolonien untersucht. Verdächtige Kolonien werden mit der PCR als MAP identifiziert. Abschlussuntersuchung durch Abschwemmung der Kulturen und PCR-Untersuchung von DNA aus dem abgeschwemmten Material.

11. Geben Befunde der pathologischen Untersuchungen (Sektion, Histologie, Ziehl-Neelsen-Färbung) den Hinweis auf das Vorliegen von Paratuberkulose, muss der Erregernachweis mit PCR bestätigt werden.
12. Die Serologie ist für die Einzeltierdiagnostik nicht geeignet und findet im Geltungsbereich dieser Technischen Weisungen daher keine Anwendung.

V. Untersuchungen im Verdachtsfall und Beurteilung der Befunde

13. Geeignetes Probenmaterial von Einzeltieren mit klinischen Anzeichen einer Infektion oder pathologisch-anatomischen Veränderungen wird mittels Direkt-PCR untersucht.
14. Ist die Untersuchung auf MAP mittels PCR positiv, gilt das Tier als MAP-positiv (Seuchenfall).
15. Ist die Untersuchung auf MAP mittels PCR negativ, wird die Untersuchung mittels PCR und einer neuen Probe wiederholt. Ist das Resultat der zweiten Untersuchung positiv, gilt das Tier als MAP-positiv (Seuchenfall). Ist das Resultat der zweiten Untersuchung negativ, gilt das Tier als MAP-negativ (kein Seuchenfall).

VI. Berichterstattung

16. Die Resultate sind gemäss den „Technischen Weisungen über die Berichterstattung der anerkannten Laboratorien an das Laborinformationssystem alis“ an die Labordatenbank des BLV zu übermitteln.

VII. Meldepflicht für Laboratorien

17. Das Untersuchungslabor meldet einen positiven Befund bei einer unter Kapitel IV. genannten Untersuchungsmethode (Erregernachweis) unverzüglich der / dem zuständigen Kantonstierärztin / Kantonstierarzt (gemäss Art. 237a Abs. 2 TSV).

VIII. Inkrafttreten

Diese Weisungen treten am 15.08.2016 in Kraft.

BUNDESAMT FÜR LEBENSMITTELSICHERHEIT
UND VETERINÄRWESEN