

Open Access

Berl Münch Tierärztl Wochenschr (134)
1–10 (2021)
DOI 10.2376/1439-0299-2020-34

© 2021 Schlütersche Fachmedien GmbH
Ein Unternehmen der Schlüterschen
Mediengruppe
ISSN 1439-0299

Korrespondenzadresse:
eva.sodoma@ages.at

Eingegangen: 11.09.2020
Angenommen: 23.03.2021
Veröffentlicht: 07.05.2021

<https://www.vetline.de/berliner-und-muenchener-tieraerztliche-wochenschrift-open-access>

Zusammenfassung

Summary



CC BY-NC-ND 4.0

Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit (AGES),
Institut für Veterinärmedizinische Untersuchungen Linz, Österreich¹
Tiroler Tiergesundheitsdienst, Österreich²
Landesveterinärdirektion, Amt der Tiroler Landesregierung, Österreich³
Bezirkshauptmannschaft Kufstein, Referat für Veterinärangelegenheiten,
Österreich⁴

Ergebnisse und Erfahrungen aus den labordiagnostischen Analysen im freiwilligen Paratuberkulose-Bekämpfungsprogramm in Tirol

Results and experiences of laboratory diagnostic analysis within the voluntary paratuberculosis control program in Tyrol

Eva Sodoma¹, Simone Mitterhuemer¹, Michaela Altmann¹, Christian Mader², Josef Kössler³, Paul Ortner³, Matthias Vill⁴, Michael Duenser¹

Seit dem Jahr 2013 werden im österreichischen Bundesland Tirol Milchviehbetriebe mittels Umgebungsuntersuchungen auf das Vorhandensein von *Mycobacterium avium* subspezies *paratuberculosis* (MAP) untersucht. Der Tiroler Tiergesundheitsdienst (T-TGD) fungiert als Initiator und Organisator dieses freiwilligen und für die Landwirte kostenlosen Bekämpfungsprogramms. Als Ziele werden die Verringerung der weiteren Ausbreitung der Paratuberkulose, die Zertifizierung MAP-unverdächtiger Bestände sowie die Sicherung der Absatzmärkte für Tiere und tierische Produkte formuliert.

Die teilnehmenden Milchviehbestände werden im Zwei-Jahres-Intervall mittels kultureller und molekularbiologischer Untersuchung von Sockentupfern bzw. in Betrieben mit bis zu fünf Rindern mittels Sammelkotproben auf das Vorhandensein von MAP getestet. Betriebe mit positivem Ergebnis haben die Möglichkeit, alle Einzeltiere ab einem Alter von 24 Monaten auf MAP untersuchen zu lassen. Von 4.503 teilnehmenden Milchviehherden im Durchgang 2018/2019 zeigten nur mehr 23 Betriebe (0,5 %) positive Resultate auf Bestandesebene. Bei den zeitgleich durchgeführten Einzeltieruntersuchungen wurden 1.194 Tiere aus 70 Betrieben untersucht, davon wurden 28 Rinder (2,4 %) aus 18 Beständen (25,7 %) MAP-positiv eingestuft. Der ermittelte Medianwert der jeweiligen Anteile an positiv getesteten Rindern pro Gesamtheit der untersuchten Rinder im Bestand ist über einen Zeitraum von fünf Jahren von 12,4 % auf 4,9 % zurückgegangen. Circa 86 % der Tiroler Milchviehbetriebe sind aktuell als MAP-unverdächtig zertifiziert.

Die über einen Zeitraum von 2013 bis 2020 erhobenen Daten weisen darauf hin, dass Untersuchungen auf Bestandesebene in unverdächtigen und auf Einzeltierebene in Kombination mit Hygiene- und Managementmaßnahmen in verdächtigen Betrieben einen wichtigen Beitrag zur Kontrolle der Paratuberkulose in Tirol leisten. Zu berücksichtigen bei der Interpretation der Ergebnisse ist die geringe Bestandsgröße von durchschnittlich zwölf Milchkühen pro Betrieb in dieser Region.

Schlüsselwörter

Paratuberkulose, *Mycobacterium avium* subspezies *paratuberculosis*, Rind, Sockentupfer, Bekämpfung

Since 2013 dairy herds located in the Austrian federal province of Tyrol are examined for *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* (MAP) by environmental samples on a voluntary basis. This control program is initiated and organised by the Tyrolean Veterinary Health Service, no costs arise for the participating farmers. Objectives of this program are to reduce further spread of paratuberculosis, to promote certification of herds not suspect of MAP and to ensure sales markets for animals and animal products. Participating farms are tested for MAP every second year by solid culture and PCR from sampling socks or pooled fecal

samples from herds with five or less animals. Farmers with positive tested herds have the opportunity to get all animals older than two years examined for MAP individually.

From 4503 participating farms in the campaign of the years 2018/2019, the investigation of sampling socks or pooled fecal samples from 23 (0.5%) herds showed positive results. Individual tests on 1194 cattle from 70 herds revealed 28 positive animals (2.4%) on 18 farms (25.7%). The calculated median value of the respective proportions of positive animals per tested animals in a farm decreased from 12.4 to 4.9% within five years. So far approximately 86% of the Tyrolean dairy herds have been certified not suspect of MAP.

Data indicate that herd-level investigations of farms not suspect of MAP and individual testing in combination with management and hygienic measures in MAP positive tested herds can make an important contribution to control paratuberculosis. For interpretation of the results the low average herd size of twelve dairy cows in this region has to be taken into account.

Keywords

paratuberculosis, *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*, cattle, sampling socks, control

Einleitung

Die Paratuberkulose, hervorgerufen durch *Mycobacterium avium* subspezies *paratuberculosis* (MAP), ist eine chronische, unheilbare Darminfektion von Haus- und Wildwiederkäuern. Diese auf allen Kontinenten vorkommende Erkrankung (Barkema et al. 2010) sollte nicht nur aus Gründen des Tierwohls und der wirtschaftlichen Auswirkungen, sondern auch im Hinblick auf die öffentliche Gesundheit bekämpft werden (Whittington et al. 2019).

Aufgrund fehlender internationaler Regelungen wird die Paratuberkulose in vielen Staaten auf nationaler und regionaler Ebene bekämpft, wobei der Großteil der Programme auf Freiwilligkeit basiert und auch die Herangehensweise bezüglich der Wahl diagnostischer Tests und des Untersuchungsmaterials variiert (Whittington et al. 2019).

In Österreich sind von der Paratuberkulose hauptsächlich Rinder betroffen, der Erreger konnte jedoch auch beim kleinen Wiederkäuer und Wildwiederkäuer nachgewiesen werden (Sodoma et al. 2018). Seit dem Jahr 2006 besteht auf nationaler Ebene Anzeigepflicht für die klinische Form der Paratuberkulose bei Rindern, Schafen, Ziegen und Wildwiederkäuern in Gatterhaltung (Farmwild). Ziel dieses per Verordnung geregelten Überwachungsprogramms ist es, klinisch an Paratuberkulose erkrankte Tiere zu erfassen und aus den Beständen zu entfernen. Überdies erfolgen nach der labordiagnostischen Bestätigung gezielte Hygiene- und Managementmaßnahmen zur Senkung des Infektionsdrucks in den betroffenen Beständen (Khol et al. 2007). Im Jahr 2013 wurde im österreichischen Bundesland Tirol zusätzlich ein freiwilliges, für den Tierhalter kostenloses MAP-Überwachungs- und Bekämpfungsprogramm initiiert. Die teilnehmenden Milchviehbetriebe werden im Zwei-Jahres-Abstand mittels Sockentupfer und in Betrieben mit bis zu fünf Kühen mittels Sammelkot auf das Vorhandensein von MAP untersucht und erhalten mit zwei aufeinanderfolgenden negativen Ergebnissen den MAP-Status „unverdächtig“. Betriebe mit positivem MAP-Nachweis haben die Möglichkeit, mit der Untersuchung von Kot- bzw. Blutproben auf MAP bzw. MAP-

spezifische Antikörper (Ak) auf Einzeltierebene getestet zu werden.

Die Verringerung der weiteren Ausbreitung der Paratuberkulose, die Zertifizierung MAP-unverdächtigter Bestände sowie die Sicherung der Absatzmärkte für lebende Tiere und tierische Produkte werden als Ziele dieses Programms formuliert (Khol et al. 2019). Der letzte Punkt sei nochmals hervorgehoben, da die Tiroler Viehwirtschaft stark exportorientiert ist und der Handel mit Lebendtieren und tierischen Produkten besonders mit dem Nachbarland Italien zu sichern ist.

Tirol, im Westen Österreichs gelegen (Abb. 1), ist gekennzeichnet durch kleinbäuerliche Strukturen mit einer durchschnittlichen Anzahl von zwölf Milchkühen pro Betrieb. Knapp 8.200 Bestände mit rund 176.000 Rindern sind in Tirol angesiedelt, wobei rund zwei Drittel Milchvieh halten (<https://gruenerbericht.at/cm4/jdownload/download/14-gr-bericht-tirol/2165-tirol-gb-2019>). Weiteres Charakteristikum ist die Alpengang der Rinder. Knapp die Hälfte der Milchkühe verbringen die Sommermonate auf Gemeinschaftsalmen, die Abkalbung erfolgt danach saisonal in den Herbst- und Wintermonaten.

Ziel dieser Arbeit ist die Darstellung der Untersuchungsergebnisse des Tiroler MAP-Überwachungs- und Bekämpfungsprogramms sowohl auf Betriebs- als auch



ABBILDUNG 1: Übersichtskarte Österreich mit Nachbarländern, Bundesland Tirol ist farblich hervorgehoben (Grafik: AGES Tiergesundheit)

TABELLE 1: Darstellung der im TGD-Programm zum Schutz und zur Überwachung der Paratuberkulose in Milchviehbetrieben vorgegebenen Hygienemaßnahmen für Betriebe mit dem Status „verdächtig“

Abkalbehigiene	saubere und separate Abkalbeplätze von MAP-positiven Kühen Abkalbeplätze sauber halten und desinfizieren schnellstmögliche Trennung von Kuh und Kalb nach der Geburt
Haltungshigiene	bestmögliche räumliche Trennung des Kälberbereichs vom Kuhbereich hohe Personalhygiene der Kälberbetreuer kein Kuhkot an Arbeitsgeräten im Kälberstall Kälber einzeln aufstellen, keinen gegenseitigen Berührungskontakt ermöglichen
Tränke- und Fütterungshigiene	Kälber mit sauber gewonnenem Erstkolostrom von MAP-negativen Kühen trinken Milch von MAP-positiven Tieren nicht an Kälber von negativen Tieren verfüttern Aufzucht mit Milchaustauscher vorteilhaft, keine Tankmilch verfüttern

auf Einzeltierebene. Die Ergebnisse der angewandten Untersuchungsmethoden werden verglichen und der Infektionsverlauf einzelner Betriebe über mehrere Jahre wird dargestellt.

Material und Methode

MAP-Überwachungs- und Bekämpfungsprogramm

Die Organisation des Tiroler MAP-Überwachungs- und Bekämpfungsprogramms obliegt dem Tiroler Tiergesundheitsdienst (T-TGD). Die teilnehmenden Milchviehbetriebe werden im Zwei-Jahres-Intervall mittels kultureller und molekularbiologischer Untersuchung von Sockentupfern bzw. Sammelkotproben auf das Vorhandensein von MAP-Ausscheidern im Bestand getestet. Bei Betrieben mit einer Zahl von bis zu fünf Kühen erfolgt die Einsendung einer Sammelkotprobe aller Rinder über 24 Monate. Betriebe mit positivem Sockentupfer- bzw. Sammelkotergebnis (Betriebsstatus verdächtig) haben die Möglichkeit, mit der Unterzeichnung einer Verpflichtungserklärung am T-TGD-

Programms zum Schutz und zur Überwachung der Paratuberkulose in Milchviehbetrieben teilzunehmen (Khol et al. 2019). Sie verpflichten sich damit, alle Rinder über 24 Monate im Abstand von einem Jahr auf Einzeltierebene auf MAP untersuchen zu lassen, positive Tiere innerhalb einer gewissen Frist zu schlachten und vorgegebene Management- und Hygienemaßnahmen umzusetzen (<https://www.t-tgd.at/images/ParaTbc/t-tgd-a5-paratuberkulose-sanierung018.6.2015.pdf>) (Tab. 1). Nach drei negativen Untersuchungsdurchgängen aller adulten Einzeltiere über 24 Monate im Jahresabstand erhält der Betrieb den Status MAP-unverdächtig und kann mittels Sockentupfer bzw. Sammelkot weiter untersucht werden. Der detaillierte Ablauf des Programms ist in Abbildung 2 dargestellt.



ABBILDUNG 3: Probennahmeset der Fa. SodiBox, bestehend aus je einem Paar Kunststoffüberziehtiefeln, Gaze Tupfer, Einweghandschuhe und einem Kunststoffbeutel (Foto: AGES Tiergesundheit)

Probenentnahme

Die Entnahme der Sockentupfer- und Sammelkotproben erfolgte während der Stallhaltungsperiode im Herbst/Winter laut den Empfehlungen von Eisenberg et al. (2013) und Donat et al. (2016) durch eigens geschulte Betreuungstierärzte. Diese wurden vom Tiroler Tiergesundheitsdienst mit Probennahmesets der Firma Sodi-Box (Nevez, Frankreich), bestehend aus Kunststoff-Einwegüberziehtiefel, Gaze-Sockentupfer, Kunststoffbeutel, Kunststoffbecher sowie einem Probenbegleitschein und Barcodeetiketten mit den Betriebs- und Tierdaten, ausgestattet (Abb. 3).

Sockentupfer: Mit übergezogenen Einwegstiefeln sowie sterilen Sockentupfern aus Gazematerial wurden die vielfrequentierte Bereiche im Stall mäanderförmig mit einem Richtwert von 100–200 Schritten abgegangen, bis das Gazematerial ausreichend mit Kot durchtränkt war (Abb. 4). In Betrieben mit Anbindehaltung erfolgte die Probenentnahme durch zweimaliges Abschreiten des Kotgangs (Abb. 5). Die beiden mit Kot durchtränkten Sockentupfer wurden in einen Plastikbeutel verbracht, mit einem Barcode zur Betriebskennzeichnung (Land- und forstwirtschaftliche Betriebsinformationssystem [LFBIS]-Nummer) versehen und an die Untersuchungsstelle gesendet.

Sammelkot: Ab dem Durchgang 2016/2017 wurde in Betrieben mit bis zu fünf Kühen Sammelkot entnommen. Die Probenentnahme erfolgte rektal, im Anschluss wurden maximal fünf Proben gepoolt und in einem mit LFBIS-Barcodeetikett beklebten Kunststoffbecher an die Untersuchungsstelle gesendet.

Einzeltierproben: Die Entnahme der Blutproben erfolgte über die Vena coccygea media mittels Serum Vacuette® System (Greiner Bio-One, Kremsmünster, Österreich). Kotproben wurden rektal entnommen und in einen verschließbaren Kunststoffbecher überführt. Blut- und

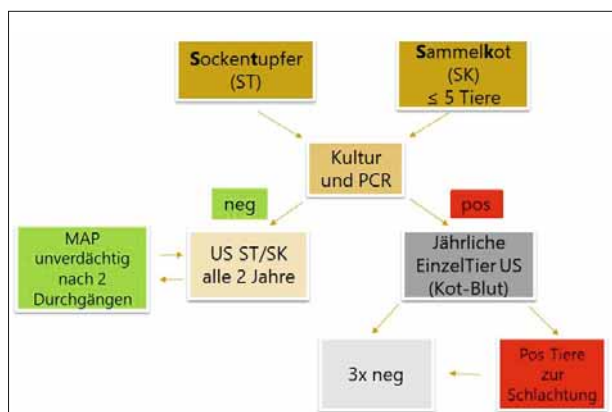


ABBILDUNG 2: Diagramm zum Ablauf der Untersuchungen (US) im Rahmen des Tiroler MAP-Bekämpfungsprogramms (Grafik: AGES Tiergesundheit)



ABBILDUNG 4: Mit Kot durchtränkter Sockentupfer
(Foto: AGES Tiergesundheit)



ABBILDUNG 5: Probenentnahme entlang der
Kotrinne hinter den Kühen in Ställen mit Anbindehal-
tung (Foto: T-TGD)

Kotproben wurden mit Barcodeetiketten zur Einzeltieridentifizierung (Ohrmarke) beklebt und anschließend an die Untersuchungsstelle gesendet.

Die Untersuchungen im Rahmen des ersten Sockentupfer-Durchgangs 2013/2014 (Köchler et al. 2017) mittels kombiniert kulturellem und molekularbiologischem MAP-Nachweis und den ersten Einzeltieruntersuchungen (2015) wurden am Institut für Mikrobiologie der Veterinärmedizinischen Universität Wien, Österreich, durchgeführt.

Die in dieser Arbeit dargestellten Ergebnisse der Sockentupfer- bzw. Sammelkotdurchgänge 2016/2017 und 2018/2019 sowie die jährlichen Einzeltieruntersuchungen 2016/2017, 2017/2018, 2018/2019 und 2019/2020 wurden am AGES Institut für Veterinärmedizinische Untersuchungen Linz folgendermaßen durchgeführt:

Probenvorbereitung Sockentupfer

Nach Zugabe von 50 ml sterilem Aqua bidestillata wurde der zuvor in einen Stomacherbeutel verbrachte Sockentupfer für 1 min mittels Stomacher (Laboratory Blender Stomacher 400; Seward LTD, Worthing, UK) homogenisiert. Der abgeschwemmte Kot wurde in ein 50-ml-Zentrifugenröhrchen (Greiner Bio-One, Kremsmünster, Österreich) überführt, zentrifugiert (15 min bei 3.800 U/min) und der Überstand verworfen.

Kotkultur und PCR: Sockentupfer und Sammelkot

Kotkultur: Drei Gramm Kot wurden 30 ml 0,75 % Hexadecylpyridiniumchlorid Monohydrat (HPC) (Sigma-Aldrich Inc., St. Louis, USA) zugegeben, am

Horizontalschüttler (HS 501 digital; IKA Labortechnik, Staufen, Deutschland) durchmischt und anschließend für die Sedimentation grober Bestandteile 5 min stehengelassen. Danach wurden 15 ml vom gewonnenen Überstand in ein neues Zentrifugenröhrchen verbracht und 48 h bei Raumtemperatur im Dunkeln inkubiert.

Als nächster Arbeitsschritt erfolgte eine 15-minütige Zentrifugation (3.800 U/min), anschließend wurde das Sediment mit 1 ml HPC-Lösung resuspendiert und vier Schrägagarröhrchen (Herrold's Egg Yolk Medium mit Mycobactin J, Becton, Dickinson and Company, Franklin Lakes, USA) mit 200 µl beimpft und bei 37 °C inkubiert. Bei drei Röhrchen erfolgte eine zwölfwöchige Inkubation, eines wurde nach vier Wochen mit 400 µl sterilem Aqua bidestillata abgeschwemmt und die Abschwemmung mittels Realtime-PCR auf MAP untersucht. Alle vier Herrold's Egg Yolk (HEYM) Schrägagarröhrchen wurden während der Inkubationszeit regelmäßig auf Pilzkontaminationen und Keimwachstum kontrolliert.

Nach Ablauf von zwölf Wochen erfolgte die visuelle Beurteilung der drei HEYM-Röhrchen unter Angabe der Kolonienanzahl inklusive Einstufung in geringgradiges (ggr., 1–20 Kolonien), mittelgradiges (mgr., 21–50 Kolonien) und hochgradiges (hgr., > 50 Kolonien) Wachstum (Abb. 6). Verdächtige Kolonien wurden mittels PCR (Englund et al. 1999) überprüft und bestätigt.

PCR: Die DNA-Extraktion aus der Abschwemmung erfolgte mittels IndiMag® Pathogen Kit (Indical Bioscience GmbH, Leipzig, Deutschland) automatisiert am KingFisher Extraktionsroboter™ (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA) laut Gebrauchsanweisung des Herstellers. Im Anschluss wurde die Realtime-PCR mit dem bactotype® MAP-PCR-Kit (Qiagen GmbH, Hilden, Deutschland) durchgeführt. Für eine übersichtlichere Darstellung in Tabelle 6 wurden die in der Realtime-PCR ermittelten Ct-Werte in drei Gruppen eingeteilt (Ct < 20, 20–30, > 30).

Kotkultur auf Einzeltierebene

Drei Gramm Kot wurden 30 ml 0,75 % Hexadecylpyridiniumchlorid Monohydrat (HPC) (Sigma-Aldrich Inc., St. Louis, USA) zugegeben, am Horizontalschüttler (HS 501 digital; IKA Labortechnik, Staufen, Deutsch-



ABBILDUNG 6: Hochgradiges MAP-Wachstum auf
allen drei HEYM-Röhrchen nach einer Bebrütungsdauer
von zwölf Wochen (Foto: AGES Tiergesundheit)

TABELLE 2: Anzahl der im jeweiligen Durchgang teilnehmenden und auf Bestandsebene MAP-positiv getesteten Tiroler Milchviehbetriebe. Die Untersuchung erfolgte mittels kultureller und molekularbiologischer Untersuchung von Sockentupfern bzw. Sammelkotproben.

Durchgang	Teilnehmende Betriebe			Positive Betriebe
	Gesamt	Sockentupfer	Sammelkot	Gesamt
2013/2014 ¹	4.680	4.680		363 (7,8 %)
2016/2017	4.394	3.841	553	41 (0,9 %)
2018/2019	4.503	3.927	576	23 (0,5 %)

¹ Für eine übersichtliche Darstellung der Ergebnisse aller Durchgänge wurden auch Resultate von 2013/2014 tabellarisch dargestellt.

TABELLE 3: Anzahl der Betriebe, die nach positiver Bestandsuntersuchung im jeweiligen Jahr Einzeltieruntersuchungen vorgenommen haben, und Anzahl der Betriebe mit mittels Kotkultur MAP-positiv getesteten Einzeltieren

Durchgang	Positive Betriebe	Anzahl Betriebe	
		Einzeltieruntersuchung durchgeführt	Mind. 1 positives Einzeltier
2013/2014 ¹	363	276 (76 %)	81 (22 %)
2016/2017	41	25 (61 %)	16 (64 %)
2018/2019	23	17 (74 %)	10 (59 %)

¹ Für eine übersichtliche Darstellung der Ergebnisse aller Durchgänge wurden auch Resultate von 2013/2014 tabellarisch dargestellt.

land) durchmischt, anschließend für die Sedimentation grober Bestandteile 5 min stehengelassen. Danach wurden 15 ml vom gewonnen Überstand in ein neues Zentrifugenröhrchen verbracht und 48 h bei Raumtemperatur im Dunkeln inkubiert.

Als nächste Arbeitsschritte erfolgten eine 15-minütige Zentrifugation (3.800 U/min), anschließend wurden das Sediment mit 1 ml HPC-Lösung resuspendiert, drei HEYM-Schrägagar-Röhrchen mit 200 µl beimpft und bei 37 °C für zwölf Wochen inkubiert. Alle drei Röhrchen wurden während der Inkubationszeit regelmäßig auf Pilzkontaminationen und Keimwachstum kontrolliert.

Nach Ablauf von zwölf Wochen erfolgte die visuelle Beurteilung der drei HEYM-Röhrchen unter Angabe der Kolonienanzahl inklusive Einstufung in ggr., mgr. und hgr. Wachstum. Verdächtige Kolonien wurden mittels PCR (Englund et al. 1999) überprüft und bestätigt.

Serologie

Ab dem Einzeltierdurchgang 2017/2018 wurde zusätzlich zur Kotkultur ein Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) zum Nachweis von MAP-Antikörpern (Ak) durchgeführt. Diese Untersuchungen sind derzeit nicht Teil des T-TGD-Programms.

Die Blutproben wurden zentrifugiert, der Blutkuchen entfernt und das Serum mittels ID Screen® Paratuberculosis Indirect ELISA (ID vet, Grabels, Frankreich) laut Gebrauchsanweisung des Herstellers untersucht.

TABELLE 4: Anzahl und Ergebnisse der durchgeführten Einzeltieruntersuchungen mittels Kotkultur aller teilnehmenden Betriebe pro Untersuchungsdurchgang sowie der Medianwert (%) der jeweiligen Anteile positiv getesteter Rinder pro Gesamtheit untersuchter Rinder (> 24 Monate) im Bestand

Durchgang	Anzahl Tiere	Anzahl Betriebe	Positive Tiere	Positive Betriebe	Medianwert der jeweiligen Anteile an MAP-positiv getesteten Einzeltieren pro Bestand (%)
2016/2017	2.150	142	50	16	12,4
2017/2018	1.910	126	26	11	10
2018/2019	2.072	128	45	16	10,9
2019/2020	1.194	70	28	18	4,9

Ergebnisse

Im ersten Untersuchungsdurchgang auf Bestandsebene (2013/2014, durchgeführt an der Veterinärmedizinischen Universität Wien) waren von 4.680 teilnehmenden Beständen 363 (7,8 %) MAP-positiv. Die Anzahl sank bis zum dritten Durchgang bei 4.503 teilnehmenden Beständen auf 23 (0,5 %) MAP-positiv Bestände (Tab. 2).

Je nach Durchgang ließen zwischen 61 und 76 % der auf Bestandsebene MAP-positiv getesteten Betriebe anschließend erstmalig Einzeltieruntersuchungen durchführen, wobei zwischen 22 und 64 % der Betriebe mindestens ein positives Einzeltierergebnis zu verzeichnen hatten (Tab. 3). In Tabelle 4 sind die Resultate aller jährlichen Einzeltieruntersuchungen mittels Kotkultur dargestellt. Im Verlauf von vier Durchgängen ging der Medianwert der jeweiligen Anteile an MAP-positiv getesteten Einzeltieren pro Bestand von 12,4 auf 4,9 % zurück.

Im Durchgang 2016/2017 wiesen in der Kotkultur auf Einzeltierebene 126 Betriebe ausschließlich negative Ergebnisse auf, in 16 Betrieben war zumindest ein MAP-positives Rind. Ak-ELISA-Untersuchungen wurden bei diesem Durchgang noch nicht durchgeführt.

Die Folgeuntersuchungen der 126 negativ getesteten Bestände sind in Abbildung 7 dargestellt. Davon waren 91 im nächsten Durchgang ein zweites Mal negativ. Achtzehn Betriebe zeigten jedoch positive Einzeltierergebnisse in Kotkultur und/oder Ak-ELISA. Ein Jahr später (2018/2019) wies nur einer von diesen 18 Betrieben positive Ergebnisse im Ak-ELISA auf, im letzten Durchgang waren zwei andere Betriebe positiv in Kotkultur und/oder Ak-ELISA.

Von den 16 Betrieben mit positiven Einzeltierergebnissen im Durchgang 2016/2017 zeigten insgesamt zehn Herden im Verlauf der nächsten drei Untersuchungen im Jahresabstand auch Durchgänge mit ausschließlich negativen Einzeltierergebnissen (Abb. 8).

Achtzehn Betriebe nahmen an allen vier Einzeltieruntersuchungsdurchgängen teil und hatten mindestens einmal positive Ergebnisse zu verzeichnen (Tab. 5).

Wie bereits erwähnt, erfolgte eine kombinierte kulturelle und molekularbiologische Untersuchung von Sockentupfern. Tabelle 6 stellt vergleichend die Ergebnisse beider Methoden für den Durchgang 2018/2019 dar. Es wurden Proben aus 4.514 Betrieben untersucht und in insgesamt 23 Beständen konnte MAP nachgewiesen werden. Elf Bestände waren in Kotkultur und PCR positiv, in neun Betrieben konnte ausschließlich

Herde	Kühe (n) ¹	KK pos. (n) ²	Kühe (n)	KK pos. (n)	Kühe (n)	KK pos. (n)	Kühe (n)	KK pos. (n)	Anmerkungen
	Durchgang 1 ³		Durchgang 2 ³		Durchgang 3 ³		Durchgang 4 ³		
1	7	1	12	0	10	0	7	0	mind. 1 MAP-positives Tier in 1 DG ⁴ , in 3 DG ausschließlich MAP-negative Tiere
2	3	2	5	0	3	0	3	0	
3	18	0	17	1	20	0	21	0	
4	25	0	23	3	24	0	22	0	
5	5	0	3	1	4	0	4	0	
6	10	2	10	1	9	0	10	0	mind. 1 MAP-positives Tier in 2 DG, in 2 DG ausschließlich MAP-negative Tiere
7	25	9	25	8	22	0	22	0	
8	18	2	12	0	15	1	16	0	
9	18	1	15	0	18	4	15	0	
10	25	0	23	2	23	0	28	1	
11	7	0	7	1	6	0	6	1	
12	14	2	17	0	19	0	19	1	
13	9	6	7	0	9	0	8	1	mind. 1 MAP-positives Tier in allen 4 DG, 2.–4. DG weniger positive Tiere als im 1. DG
14	53	5	56	2	61	1	62	1	
15	73	10	57	2	48	1	50	1	
16	25	4	20	1	22	3	21	1	mind. 1 MAP-positives Tier in 1 oder 2 DG, im 2. und 3. DG mindestens 1 Ak-positives Tier
17	22	1	20	0	18	0	19	0	
18	38	1	34	0	35	0	34	2	

TABELLE 5: Ergebnisse der Einzeltieruntersuchungen mittels Kotkultur von 18 Betrieben im Verlauf von vier Durchgängen. Die dargestellten Herden haben an allen Untersuchungen teilgenommen und mindestens ein positives Untersuchungsergebnis zu verzeichnen.

¹ Anzahl der getesteten Kühe
² Anzahl der mittels Kotkultur (KK) positiv getesteten Kühe
³ Durchgang 1: 2016/2017; Durchgang 2: 2017/2018; Durchgang 3: 2018/2019; Durchgang 4: 2019/2020
⁴ DG: Durchgang

mittels Kotkultur MAP detektiert werden und drei Herden waren nur mittels PCR positiv.

Im Durchgang 2016/2017 waren 240 Sockentupfer und drei Sammelkotproben in der Kotkultur aufgrund von hochgradiger Pilzkontamination (Abb. 9) nicht auswertbar, 2018/2019 waren 178 Sockentupfer und neun Sammelkotproben betroffen. Diese Betriebe wurden daher ausschließlich mittels PCR-Ergebnis beurteilt.

In Tabelle 7 werden die Einzeltieruntersuchungen inklusive Ak-Nachweis aus dem Durchgang 2018/2019 im Detail dargestellt. Insgesamt wurden 2.072 Einzeltierproben aus 128 Betrieben untersucht. 40 Tiere aus 21 Betrieben zeigten positive Ak-ELISA-Ergebnisse. 45 Rinder aus 16 Beständen waren in der Kotkultur positiv. Bei 61 Tieren (24 Milchviehbetriebe) waren Kotkultur und/oder Ak-ELISA positiv und 24 Rinder aus 13 Betrieben zeigten mit beiden Untersuchungsmethoden positive Resultate.

Mit Abschluss des zweiten Durchgangs (2016/2017) wurden 3.413 Tiroler Betriebe als unverdächtig eingestuft, im Mai 2020 stieg diese Anzahl auf 4.622 Bestände (persönliche Mitteilung Dr. Christian Mader, T-TGD).

Diskussion

Dieses auf Freiwilligkeit beruhende Bekämpfungsprogramm genießt eine hohe Akzeptanz bei den Tiroler Landwirten und Tierärzten. So nahmen im Durchgang 2018/2019 rund 85 % der Tiroler Milchviehhalter an den Untersuchungen teil. Vergleichend dazu wurden im deutschen Bundesland Hessen mit 100 Beständen rund 2,9 % der Milchviehbetriebe im Rahmen des freiwilligen MAP-Zertifizierungsprogramms getestet, während das Thüringer Paratuberkulose-Bekämpfungsprogramm mit

77 Milchviehbetrieben und 33.000 Milchkühen rund 30 % der Milchkuhpopulation miteinbezieht (Khol et al. 2019).

Gründe für die rege Teilnahme sind sicher, dass die Kosten vom Tiroler Tierseuchenfond getragen werden und somit für den Landwirt kein finanzieller Aufwand damit verbunden ist (Khol et al. 2019). Weiterhin entstehen durch die Zertifizierung der unverdächtigen Betriebe Wettbewerbsvorteile für den jeweiligen Tierhalter. So werden etwa bei den lokalen Kälbermärkten Tiere aus MAP-unverdächtigen Betrieben entsprechend gekennzeichnet. Mit Mai 2020 wurden 4.622 Tiroler Milchviehbetriebe gemäß den Bestimmungen des Bekämpfungsprogramms als MAP-unverdächtig eingestuft. 176 Rinderhalter haben eine Verpflichtungserklärung zur MAP-Sanierung ihrer Bestände unterschrieben, wobei 97 Betriebe bereits wieder als unverdächtig gelten, da sie drei Untersuchungsdurchgänge auf Einzeltierebene mit ausschließlich negativen Kotkultur-Ergebnissen durchgeführt haben. Im Vergleich dazu fallen im Jahr 2017 von den 100 Milchviehbetrieben, die am hessischen Zertifizierungsprogramm teilnehmen, 60 Bestände in den Status A, der Betriebe mit negativen Sockentupfer-Untersuchungen umfasst. In Thüringen waren im selben Jahr von insgesamt 50 ursprünglich MAP-positiv getesteten Milchviehbetrieben sechs als anerkannt unverdächtig eingestuft, von den 27 negativ getesteten Herden bei Einstieg des Programms waren 21 Milchviehbetriebe im Jahr 2017 als anerkannt unverdächtig bzw. in die Anerkennungphase eingestuft (Khol et al. 2019). Ein direkter Vergleich der Programmfortschritte in diesen Regionen erweist sich aufgrund der sehr unterschiedlichen Programmstrukturen und Betriebsgrößen als problematisch.

Wie man anhand der Ergebnisse und Erfahrungen aus Tirol sehen kann, sind Bestandsuntersuchungen mittels

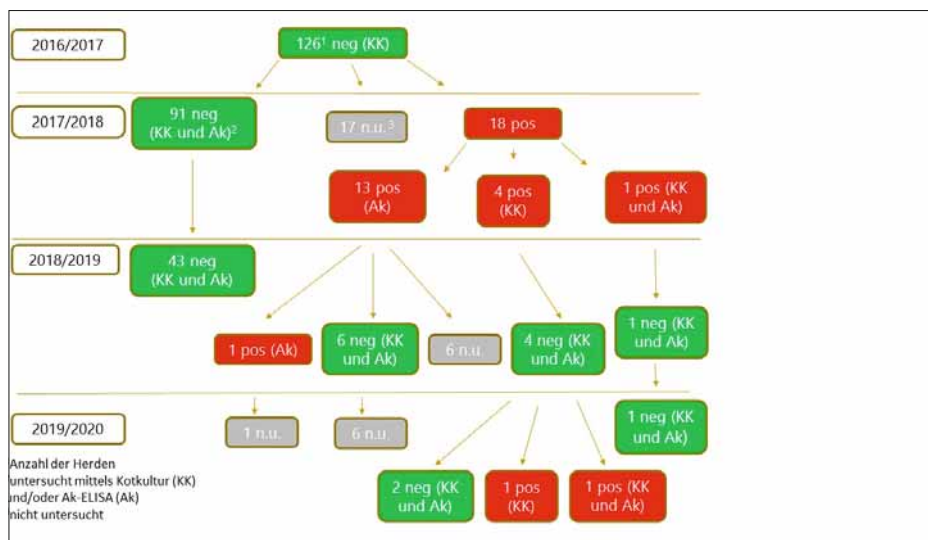


ABBILDUNG 7: Folgeuntersuchungen der 2016/2017 auf Einzeltierebene negativ getesteten 126 Herden im Verlauf über drei weitere Durchgänge (Grafik: AGES Tiergesundheit)

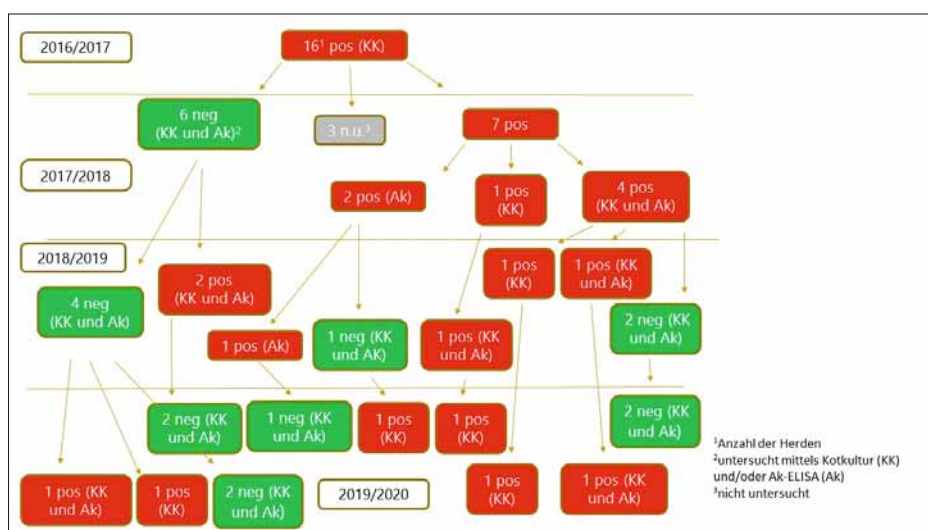


ABBILDUNG 8: Folgeuntersuchungen der 2016/2017 auf Einzeltierebene positiv getesteten 16 Herden im Verlauf über drei weitere Durchgänge (Grafik: AGES Tiergesundheit)

Sockentupfer und Sammelkot geeignet, auch eine große Anzahl an Betrieben zu testen. So konnten im letzten Durchgang insgesamt 4.631 Betriebe auf Bestands- bzw. Einzeltierebene beprobt und untersucht werden. Die Probennahmen erfolgen überwiegend in den Monaten September bis Dezember nach Rückkehr der Kühe von der Alpung. Dies bedeutet für das Untersuchungslabor eine erhebliche logistische und personelle Herausforderung. So mussten in diesem Zeitraum neben der Routinediagnostik rund 20.000 HEYM-Röhrchen beimpft, inkubiert, über einen Zeitraum von zwölf Wochen kontrolliert und ausgewertet sowie über 4.600 PCR-Untersuchungen durchgeführt werden.

Ein Umstieg auf alleinige molekularbiologische Untersuchung der Proben würde zwar eine Arbeitserleichterung im Labor bedeuten, da die MAP-Kotkultur als zeitaufwendig gilt und die Gefahr der mikrobiellen Kontamination besteht (Whittington 2010). Die dargestellten Ergebnisse weisen jedoch darauf hin, dass durch die Kombination aus Kotkultur und PCR eine höhere Anzahl an MAP-infizierten Betrieben erfasst wird. So zeigt die vergleichende Darstellung der kulturellen und molekularbiologischen Ergebnisse von Sockentupfer und Sammelkot (Tab. 6), dass insbesondere bei geringgradigem MAP-Wachstum in der Kotkultur die PCR in

neun Fällen negative Ergebnisse erzielte. Im Gegensatz dazu konnte bei drei PCR-positiven Proben MAP mittels Kotkultur nicht nachgewiesen werden.

Das heißt, bei Proben mit geringer Erregerausgangskonzentration wurde durch die Kombination beider Tests die Nachweiswahrscheinlichkeit erhöht. Noll et al. (2017) geben bei der kombiniert kulturellen und molekularbiologischen Untersuchung eine 95%ige Übereinstimmung der Untersuchungsergebnisse an, bei zehn von 224 Betrieben waren die Resultate von Kotkultur und PCR jedoch auch divergierend.

Laut Donat et al. (2016) können betroffene Herden mittels einer kulturellen und molekularbiologischen Untersuchung ab einer Intraherdenprävalenz von 6 % mit 90%iger Nachweiswahrscheinlichkeit als MAP-positiv erkannt werden. Durch wiederholte Untersuchungen kann diese erhöht werden.

Ein weiterer Vorteil der kombinierten Untersuchung zeigt sich bei der Problematik von nicht auswertbaren Kotkultur-Ergebnissen aufgrund von Pilzkontaminationen. Bei 4,5 % der Sockentupfer im Durchgang 2018/2019 (6,3 % im Durchgang 2016/2017) wurde für die Erhebung des MAP-Status des jeweiligen Betriebes das PCR-Ergebnis herangezogen. Dieser Anteil an kontaminierten Sockentupfern deckt sich in etwa mit Ergeb-



ABBILDUNG 9: Hochgradige Pilzkontamination bei allen drei Kulturröhrchen nach einer Bebrütungsdauer von zwölf Wochen (Foto: AGES Tiergesundheit)

nissen von Noll et al. (2017) mit 13 kontaminierten Proben von einer Gesamtanzahl von 237 Sockentupfern (5,5 %), liegt aber deutlich höher als bei Hahn et al. (2017) mit 0–1,3 %. In der aktuellen Studie und bei Noll et al. (2017) erfolgte nach der Dekontamination mit HPC ein Zentrifugationsschritt, der von Hahn et al. (2017) nicht durchgeführt wurde. Ob dieser eine Anreicherung der Pilzsporen bewirkt oder ob Unterschiede in Probenahme/Probenlagerung zu den unterschiedlich hohen Anteilen an pilzkontaminierten Proben führen, lässt sich aus den aktuellen Daten nicht sicher beantworten.

Im ersten Untersuchungsdurchgang (2013/2014, durchgeführt an der Veterinärmedizinischen Universität Wien) zeigten 363 (7,8 %) der 4.680 untersuchten Betriebe MAP-positive Sockentupfer. 76 % (n = 276) der betroffenen Tierhalter entschieden sich, Einzeltieruntersuchungen aller Tiere über 24 Monate durchführen zu lassen. Bei 248 Rindern aus 81 Betrieben (29 %) konnte MAP nachgewiesen werden (persönliche Mitteilung Dr. Christian Mader, T-TGD). Im zweiten und dritten Durchgang lag die Rate der im Sockentupfer bzw. Sammelkot positiv getesteten Betriebe nur mehr bei 0,9 bzw. 0,5 %. Dies kann dadurch erklärt werden, dass in den Folgedurchgängen einmal positiv getestete Betriebe

nicht mehr auf Bestandsebene, sondern über Einzeltieruntersuchungen getestet wurden.

Die Ergebnisse zeigen aber auch, dass die mehrmalige Untersuchung von Betrieben unbedingt notwendig ist. So waren bei den an der AGES durchgeführten Testungen 16 Betriebe in der ersten Untersuchung negativ und im nächsten Durchgang positiv. Ebenso konnten Donat et al. (2016) in ihren Untersuchungen feststellen, dass durch wiederholte Testungen die Nachweiswahrscheinlichkeit erhöht wird.

Laut amtlicher Methodensammlung des Friedrich-Loeffler-Instituts (https://www.openagrar.de/receive/openagrar_mods_00058039) sind serologische Untersuchungen in Verbindung mit direktem Erregernachweis für Bestandsuntersuchungen geeignet. Die empfohlene Spezifität von mindestens 98,5 % ist mit dem ID Screen® Paratuberculosis Indirect ELISA (Spezifität 99,3 % laut FLI, https://www.fli.de/fileadmin/FLI/IMP/Information_NRL_Paratuberkulose.pdf) und Kotkultur (Spezifität 100 % laut Whitlock et al. 2000) gegeben. Die Sensitivität der Nachweismethoden ist abhängig vom Infektionsstadium und steigt mit Fortschreiten der Erkrankung. Klinisch erkrankte Tiere sind in den allermeisten Fällen serologisch und auch in der Kotkultur positiv (Köhler et al. 2008, Whitlock et al. 2000). Tiere in frühen Infektionsstadien können hingegen weder serologisch noch mittels Erregernachweis sicher detektiert werden (Fecteau und Whitlock 2010). Daher sind wiederholte Untersuchungen (Whitlock et al. 2000) und die Einbeziehung aller Tiere über 24 Monate (https://www.openagrar.de/receive/openagrar_mods_00058039) auf jeden Fall angezeigt. Dies wird auch aus den aktuellen Untersuchungsdaten ersichtlich (Tab. 5). So konnten nach Durchgängen mit ausschließlich negativen Einzeltierergebnissen positive Rinder detektiert werden. Eine dreimalige negative Testung der Einzeltiere im Bestand ist für die Erreichung eines unverdächtigen Herdenstatus daher unbedingt erforderlich.

Wie in Tabelle 7 dargestellt, können durch die Kombination von ELISA und Kotkultur mehr infizierte Tiere identifiziert werden. Neun in der Kotkultur negative Tiere konnten im ELISA als positiv detektiert werden. Der Umgang mit Antikörper-positiven Tieren ist derzeit noch nicht im TGD-Programm geregelt. Der Landwirt erhält jedoch die Empfehlung seitens des TGD, Antikörper-positive Tiere mit dem Ziel eines schnelleren Sanierungsfortschrittes ebenfalls innerhalb einer gewissen Frist zu schlachten; eine Entschädigung wird zugesprochen.

Bei den Einzeltieruntersuchungen der mittels Sockentupfer bzw. Sammelkot positiv getesteten Betriebe konnte gezeigt werden, dass sich der Medianwert der jeweiligen Anteile positiv getesteter Einzeltiere pro Bestand von 12,4 % im Durchgang 2016/2017 auf 4,9 % 2019/2020 (Tab. 4) gesenkt hat. Die Ergebnisse weisen darauf hin, dass die im Bekämpfungsprogramm vorgesehenen Maßnahmen bei positiven Sockentupfern/Sammelkotproben – wie Einzeltieruntersuchung, Schlachtung der in der Kotkultur positiven Tiere sowie Umsetzung der Empfehlungen wie Zuchtausschluss von Kälbern positiver Kühe, Einhaltung von Hygienemaßnah-

TABELLE 6: Vergleichende Darstellung der Ergebnisse von Kotkultur und PCR von Sockentupfer- und Sammelkotproben aus dem Durchgang 2018/2019. Die Zahlen in Rot zeigen Ergebnispaa-re der beiden Untersuchungen. Die Ct-Werte der PCR sowie die positiven Kultur-ergebnisse wurden für einen besseren Überblick in je drei Gruppen eingeteilt [PCR: < 20, 20–30, > 30; Kotkultur: geringgradig (ggr.) 1–20 Kolonien, mittelgradig (mgr.) 21–50 Kolonien, hochgradig (hgr.) > 50 Kolonien].

			PCR pos. (Ct-Werte)			PCR neg.	Σ	Summe
			< 20	20–30	> 30			
Kultur pos. (Kolonieanzahl)	ggr.	1–20	2	5	1	9	17	20
	mgr.	21–50	1	–	–	–	1	
	hgr.	> 50	2	–	–	–	2	
Kultur neg.			–	–	3	4.491	4.494	
Σ			5	5	4			
Summe			14			4.500		4.514

TABELLE 7: Vergleichende Darstellung von Kotkultur und Ak-ELISA-Untersuchung der Einzelkot- und Blutproben aus dem Durchgang 2018/2019. Die Zahlen in Rot zeigen Ergebnispaaire der beiden Untersuchungen. Die positiven Kulturergebnisse wurden für einen besseren Überblick in je drei Gruppen eingeteilt [Kotkultur: geringgradig (ggr.) 1–20 Kolonien, mittelgradig (mgr.) 21–50 Kolonien, hochgradig (hgr.) > 50 Kolonien].

			Ak-ELISA		Σ	Summe
			Pos.	Neg.		
Kultur pos. (Kolonieanzahl)	ggr.	1–20	14	18	32	45
	mgr.	21–50	3	2	5	
	hgr.	> 50	7	1	8	
Kultur neg.			16	2.011		2.027
Σ			40	2.032		2.072

men und Zukauf aus ausschließlich MAP-unverdächtigen Herden – wirkungsvolle Schritte darstellen, um die MAP-Prävalenz innerhalb der Herden zu senken. So konnte auch in Thüringer Rinderherden, die an einem freiwilligen Paratuberkulose-Bekämpfungsprogramm teilnahmen, in einem Zeitraum von sechs Jahren ein signifikanter Rückgang von MAP-Ausscheidern in positiven Herden verzeichnet werden (Donat 2017).

Die Zertifizierung von auf Bestandsebene zweimal negativ getesteten Herden ohne vorhergehende Einzeluntersuchung ist ein kostengünstiger und massentauglicher Ansatz. Die hier präsentierten Zahlen sprechen auch dafür, dass das Programm so funktioniert, wobei die nächsten Untersuchungsdurchgänge zeigen werden, ob sich diese Entwicklung so fortsetzt. Dies gilt insbesondere für jene Betriebe, die nach positiver Bestandsuntersuchung und drei negativen Resultaten bei den Einzeltierdurchgängen als MAP-unverdächtig zertifiziert wurden.

Zusammenfassend zeigen die Daten des Tiroler MAP-Bekämpfungsprogramms mit zuletzt 23 positiven Sockentupferergebnissen und 18 Herden mit positiven Einzeltierergebnissen bei über 4.500 teilnehmenden Betrieben einen sehr hohen Anteil an MAP-unverdächtigen Beständen. Aktuell sind bereits 86 % der Milchviehbetriebe gemäß den Bestimmungen des Tiroler MAP-Programms als unverdächtig zertifiziert. Die kulturell-molekularbiologische Untersuchung ist zwar zeit- und arbeitsaufwendig, konnte jedoch aufgrund der höheren Sensitivität mehr positive Betriebe detektieren. Ebenso hat sich bei Einzeltieren die kombinierte Untersuchung mittels Ak-ELISA und Kotkultur bewährt, um MAP-infizierte Tiere noch vor der Ergerausscheidung einer Schlachtung zuzuführen. Darüber hinaus zeigen die Ergebnisse, dass die Untersuchungen in Kombination mit Management- und Hygienemaßnahmen zu einer Reduktion von MAP-Ausscheidern in den betroffenen Betrieben führen und daher auch in Zukunft in dieser Form weitergeführt werden sollten.

Ethische Anerkennung

Die Autoren versichern, während des Entstehens der vorliegenden Arbeit, die allgemeingültigen Regeln Guter Wissenschaftlicher Praxis befolgt zu haben.

Conflict of interest

Die Autoren versichern, dass keine geschützten, beruflichen oder anderweitigen persönlichen Interessen an einem Produkt oder einer Firma bestehen, welche die in dieser Veröffentlichung genannten Inhalte oder Meinungen beeinflussen können.

Finanzierung

Nicht zutreffend.

Autorenbeitrag

Konzeption oder Design der Arbeit: ES, SM, MA, CM, JK, PO, MV, MD.

Datenerhebung, -analyse, -interpretation: ES, SM, MA, CM, JK, PO, MV, MD.

Manuskriptentwurf: ES.

Kritische Revision des Artikels: SM, MA, CM, JK, PO, MV, MD.

Endgültige Zustimmung der für die Veröffentlichung vorgesehenen Version: ES, SM, MA, CM, JK, PO, MV, MD.

Literatur

Barkema HW, Hesselink JW, Mc Kenna SLB, Benedictus G, Groenendaal H (2010): Global Prevalence and Economics of Infection with *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in Ruminants. In: Behr MA, Collins DM (eds.), Paratuberculosis: Organism, Disease, Control. CABI, Oxfordshire, 10–21.

Donat K, Hahn N, Eisenberg T, Schlez K, Köhler H, Wolter W, Rohde M, Pützschel R, Rösler U, Failing K, Zschöck PM (2016): Within-herd prevalence thresholds for the detection of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*-positive dairy herds using boot swabs and liquid manure samples. *Epidemiol Infect* 144: 413–424.

Donat K (2017): The Thuringian bovine paratuberculosis control programme – results and experiences. *Berl Münch Tierärztl Wochenschr* 130: 42–49.

Eisenberg T, Wolter W, Lenz M, Schlez K, Zschöck M (2013): Boot swabs to collect environmental samples from common locations in dairy herds for *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* (MAP) detection. *J Dairy Res* 80: 485–489.

Englund S, Ballagi-Pordány A, Bölske G, Johansson KE (1999): Single PCR and Nested PCR with a Mimic Molecule for Detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 33: 163–171.

Fecteau ME, Whitlock RH (2010): Paratuberculosis in Cattle. In: Behr MA, Collins DM (eds.), Paratuberculosis: Organism, Disease, Control. CABI, Oxfordshire, 144–156.

Hahn N, Failing K, Eisenberg T, Schlez K, Zschöck PM, Donat K, Einax E, Köhler H (2017): Evaluation of different diagnostic methods for the detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in boot swabs and liquid manure samples. *BMC Vet Res* 13: 259.

Khol JL, Damoser J, Duenser M, Baumgartner W (2007): Paratuberculosis, a notifiable disease in Austria-current status, compulsory measures and first experiences. *Prev Vet Med* 82: 302–307.

- Khol JL, Eisenberg S, Noll I, Zschöck M, Eisenberg T, Donat K (2019):** Zweistufige Paratuberkulosebekämpfung in der Praxis: Überwachung auf Herdenebene als Basis für betriebliche Maßnahmen zur Prävalenzsenkung. Tierärztl Prax Ausg G Großtiere Nutztiere 47: 171–183.
- Köchler J, Gschaidner S, Spargser J, Tichy A, Mader C, Vill M, Ortner P, Kössler J, Khol JL (2017):** Reproducibility of negative boot swab samples for paratuberculosis in cattle herds in Tyrol (Austria). Berl Münch Tierärztl Wochenschr 130: 29–33.
- Köhler H, Burkert B, Pavlik I, Diller R, Geue L, Conraths FJ, Martin G (2008):** Evaluation of five ELISA test kits for the measurement of antibodies against *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in bovine serum. Berl Münch Tierärztl Wochenschr 121: 203–210.
- Noll I, Eisenberg T, Failing K, Rohde M, Schlez K, Wolter W, Fawzy A, Zschöck M (2017):** Untersuchung zur Verbreitung von *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* (MAP) in hessischen Milchviehbeständen. Berl Münch Tierärztl Wochenschr 130: 13–20.
- Sodoma E, Altmann M, Mitterhuemer S, Moebius P, Dünser M (2018):** First comprehensive study on molecular diversity of Austrian *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* isolates from domestic and wild ruminants. Berl Münch Tierärztl Wochenschr 131: 2–11.
- Whitlock RH, Wells SJ, Sweeney RW, van Tiem J (2000):** ELISA and fecal culture für paratuberculosis (Johne's disease): sensitivity and specificity of each method. Vet Microbiol 77: 387–398.
- Whittington R (2010):** Cultivation of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. In: Behr MA, Collins DM (eds.), Paratuberculosis: Organism, Disease, Control. CABI, Oxfordshire, 244–266.
- Whittington R, Donat K, Weber MF, Kelton D, Nielsen SS, Eisenberg S, Arrigoni N, Juste R, Sàez JL, Dhand N, Santi A, Michel A, Barkema H, Kralik P, Kostoulas P, Citer L, Griffin F, Barwell R, Moreira MAS, Slana I, Koehler H, Singh SV, Yoo HS, Chávez-Gris G, Goodridge A, Ocepek M, Garrido J, Stevenson K, Collins M, Alonso B, Cirone K, Paolicchi F, Gavey L, Rahman MT, de Marchin E, Praet WV, Bauman C, Fecteau G, McKenna S, Salgado M, Fernández-Silva J, Dziejzinska R, Echeverría G, Seppänen J, Thibault V, Fridriksdóttir V, Derakhshandeh A, Haghkhah M, Ruocco L, Kawaji S, Momotani E, Heuer C, Cadmus S, Agdestein, Kampen A, Szteyn J, Frössling J, Schwan E, Caldwell G, Strain J, Carter M, Wells S, Munyeme M, Wolf R, Gurung R, Verdugo C, Fourichon C, Yamamoto T, Thapaliya S, Di Labio E, ekgatat M, Gil A, Alesandre AN, Piaggio J, Suanes A, de Waard JH (2019):** Control of paratuberculosis: who, why and how. A review of 48 countries. BMC Vet Res 15: 198.

Korrespondenzadresse

Dr. Eva Sodoma
AGES Institut für Veterinärmedizinische Untersuchungen
Linz
Wieningerstr. 8
4020 Linz, Österreich
eva.sodoma@ages.at