

# De diagnostiek van rundertuberculose

## Indirecte diagnostische methoden

### Gamma-interferontest

Gamma-interferon (IFNg) is een molecule die de cellulaire immuunrespons medieert. Deze test die wordt gebruikt in het kader van de diagnostiek van rundertuberculose heeft als doel om de productie van IFNg te kwantificeren wanneer de cellen van een dier in het laboratorium worden gestimuleerd met doelantigenen. Om een zo relevant mogelijke respons te verkrijgen, is stimulatie met verschillende antigenen nodig. De test wordt uitgevoerd op een volledig bloedmonster.

Deze antigenen zijn de volgende:

- PPDB: dit antigeen is een extract van een cultuur van *Mycobacterium bovis*.
- PPDA: dit antigeen is een extract van een cultuur van mycobacteriën van het genus *avium*,
- Aanvullende antigenen ESAT-6 en CFP-10 (Mix EC): deze peptiden, specifiek voor *Mycobacterium bovis*, verhogen de specificiteit van de test.

Zodra de stimulaties met de antigenen en de IFNg-dosering werden uitgevoerd in het laboratorium, zullen de resultaten als volgt worden geïnterpreteerd:

- Er bestaat een verdenking van tuberculose wanneer een productie van PPDB wordt vastgesteld die hoger is dan die van PPDA.
- Er bestaat ook een verdenking van tuberculose als de MIX EC de productie van IFNg veroorzaakt: resultaat van de dosering van IFNg na stimulatie met complementaire peptiden.
- Testen zullen als "niet sluitend" kunnen worden beschouwd. Er is sprake van niet-sluitende testen wanneer de productie van IFNg wordt vastgesteld zelfs bij afwezigheid van antigenen. Dit fenomeen is onafhankelijk van de kwaliteit van het monster.
- Testen kunnen non-conform worden verklaard. Dit betekent dat de monsterneming niet correct werd uitgevoerd of dat het vervoer naar het laboratorium niet optimaal was.

### ELISA-test

De zogenaamde "ELISA"-test heeft tot doel de humorale immuniteit op te sporen, d.w.z. de antilichamen die in het bloed aanwezig zijn en gericht zijn tegen *Mycobacterium bovis*. Omdat het verschijnen van de antilichamen pas laat in de loop van de ziekte optreedt, zal deze test voornamelijk dieren met een oude besmetting detecteren. De test wordt uitgevoerd op een serummonster (gestold bloed).

### ➔ INTERPRETATIE VAN DE RESULTATEN VAN DE ELISA- EN IFNg-TESTEN

Algemeen:

Een positieve Elisa-test is een teken van een "niet-recente" besmetting van het dier.

Een positieve IFNg-test is een teken van een recente infectie.

Het is daarom heel gebruikelijk dat een besmet dier slechts op een van deze tests reageert, afhankelijk van het stadium van de ziekte.

- Een negatief resultaat van een Elisa-test uitgevoerd in een eerstelijnslaboratorium leidt niet tot een verdenking, ongeacht de resultaten van de IFNg-testen (IFNg PPDB en Mix EC). Als de resultaten van de 2 IFNg-testen echter positief blijken te zijn, wordt wel een aanvullende diagnostische test gevraagd om het ongunstige resultaat te valideren.
- Elk positief resultaat van een Elisa-test uitgevoerd in een eerstelijnslaboratorium dat wordt bevestigd door een Enferplex-test, resulteert in een afslachting op bevel, ongeacht het resultaat van de IFNg-testen.
- Elk resultaat van een Elisa-test die in het eerstelijnslaboratorium wordt uitgevoerd, dat als negatief wordt bevestigd door een Enferplex-test, en waarvan de IFNg-testen op hetzelfde rond beide een positief resultaat opleverden, resulteert in een afslachting op bevel.
- Elk positief resultaat van een Elisa-test die in een eerstelijnslaboratorium wordt uitgevoerd, met een negatief resultaat voor de Enferplex-test, vereist een aanvullende diagnostische test om het ongunstige resultaat te valideren wanneer één van de IFNg-testen positief is.
- In het geval van een aanvullende diagnostische test leidt een positief resultaat voor één van de IFNg-testen (IFNg PPDB of Mix EC) tot een afslachting op bevel. De LCE neemt contact op met de veehouder en diens dierenarts om hen op de hoogte te stellen van de procedure die moet worden ingesteld om de aanvullende testen of de afslachting op bevel uit te voeren. Als het resultaat van de testen tot geen enkele maatregel leidt, zal de LCE de veehouder en diens dierenarts in kennis stellen van het herstel van de "ziektevrije" status van het beslag. In alle gevallen baseert het FAVV zich op de volledige resultaten van het beslag voor de uiteindelijke interpretatie van de resultaten.

ELISA	ENFERPLEX	IFNg PPDB-PPDA	IFN Mix EC	Interpretatie
-				Niet verdacht
+	-			Niet verdacht
+	+			Verdacht-slachting
-		-	-	Niet verdacht
-		+	+	Aanvullende test
-		+	-	Niet verdacht
-		-	+	Niet verdacht
+	-	-	-	Niet verdacht
+	+	-	-	Verdacht-slachting
+	-/+/in uitvoering	+	+	Verdacht-slachting
+	+	+	-	Verdacht-slachting
+	+	-	+	Verdacht-slachting
+	-	+	-	Aanvullende test
+	-	-	+	Aanvullende test

Aanvullende IFNg PPDB-PPDA	Aanvullende IFNg Mix EC	Interpretatie
----------------------------	-------------------------	---------------

-	-	Niet verdacht
+	-	Verdacht-slachting
+	+	Verdacht-slachting
-	+	Verdacht-slachting

Opgelet: de "paratuberculose"-resultaten worden ter informatie vermeld en zijn niet relevant voor de "tuberculose"-testresultaten.

### **Tuberculinatie**

De tuberculinatie wordt nog slechts uitzonderlijk toegepast bij runderen in België.

De dierenarts bevoorraadt zich met tuberculine bij zijn geneesmiddelengroothandel.

De intradermale tuberculinatie is gebaseerd op een cellulaire respons. Deze methode kan al binnen enkele weken na een infectie positieve resultaten opleveren. Bij een tuberculinatie wordt een dosis Mycobacterium-antigeen (tuberculine) in de diepere huid ingespoten. De tuberculinatie kan enkelvoudig of vergelijkend worden uitgevoerd. Bij een enkelvoudige tuberculinatie wordt boviene (B) tuberculine intradermaal ingespoten. Bij een vergelijkende tuberculinatie wordt op twee verschillende plaatsen boviene (B) en aviaire (A) tuberculine intradermaal geïnjecteerd. De vergelijkende tuberculinatie is minder gevoelig, maar meer specifiek dan de enkelvoudige. Meestal wordt een dier dat positief reageert op een enkelvoudige tuberculinatie nadien vergelijkend getuberculineerd. Deze tweede tuberculinatie kan ten vroegste 6 weken na de eerste worden uitgevoerd om problemen met desensibilisatie te vermijden.

Meer lezen

Uitvoering van de tuberculinatie

- Het in bedwang houden van de dieren valt onder de verantwoordelijkheid van de rundveehouder,
- De dierenarts gaat na (vraagt aan de veehouder en controleert fysiek) of er geen enkele behandeling, injectie, vaccinatie werd uitgevoerd op de plaats waar de tuberculinatie zal worden uitgevoerd die met deze laatste zou kunnen interfereren;
- De dierenarts gaat na of er geen huidletsel of een gezwel/knobbel aanwezig is in de zone waar de tuberculinatie zal worden uitgevoerd;
- De tuberculinatie moet ter hoogte van de hals in het middenste derde worden uitgevoerd:
- Voor een correcte uitvoering van de tuberculinatie dient de (intacte) huid vooraf gereinigd en geschoren te worden (met een elektrische scheermachine, een scheermes of een schaar). In ieder geval moet deze plaats duidelijk zichtbaar zijn door de afwezigheid van haren en moet de plaats van tuberculinatie kunnen worden gelokaliseerd. Bij het scheren moeten bloedingen worden vermeden;
- Bij een enkelvoudige tuberculinatie wordt 2.000 IE boviene tuberculine (0.1ml) intradermaal ingespoten met een revolverspuit met naald of onder druk met een Dermojet. In beide gevallen zal direct na de injectie, bij palpatie, een lichte zwelling van de huid waargenomen kunnen worden op iedere injectieplaats.

- Indien de intradermale injectie niet correct kan/kon worden uitgevoerd, moet een nieuwe injectieplaats gekozen worden aan de andere zijde van de nek van het dier en moet deze wijziging duidelijk worden genoteerd;

## ➔ INTERPRETATIE VAN DE RESULTATEN

Aflezings van het resultaat van de tuberculatie.

- 72 uur na de tuberculatie moet het resultaat worden afgelezen.

- Concreet wordt de huiddikte van de intacte huid opgemeten op de dag van de aflezing en wordt de huiddikte ter hoogte van de injectieplaats of de zwelling direct hierna opgemeten. De resultaten van beide metingen worden hierbij genoteerd samen met het volledige oormerknummer van het dier;

- De interpretatie van de tuberculatie gebeurt door:

- een kwalitatieve aflezing: vaststelling van pijnlijke reacties, diffuus of uitgebreid oedeem, exsudatie, necrose of ontsteking van de injectieplaats, van de lymfwegen of lymfeknopen;
- een kwantitatieve aflezing: door de huiddikte te meten ter hoogte van de injectieplaats en de toename in huiddikte te berekenen ten opzichte van de eerder opgemeten normale huiddikte.

- De interpretatie van de metingen gebeurt als volgt:

- Voor de enkelvoudige tuberculatie: indien de toename

- < 2mm = negatieve reactie

- 2 – 4mm = twijfelachtige reactie

- > 4mm = positieve reactie

- Voor de vergelijkende tuberculatie

- B negatief = negatieve reactie

- B < A = negatieve reactie

- B 1 – 4mm > A = twijfelachtige reactie

- B 4mm > A = positieve reactie

P.S. : *Mycobacterium avium* en bepaalde andere mycobacteriën kunnen ook aanleiding geven tot positieve reacties bij een enkelvoudige tuberculatie.

## **Bacteriologische testen**

### **PCR**

De PCR-techniek kan worden gebruikt voor de directe detectie van mycobacteriën op verdacht of normaal weefselmateriaal dat besmet is met rundertuberculose of op een cultuur (vroegtijdige diagnose bij snelle groei op een cultuur van 2 weken of laattijdige diagnose op een cultuur van 2

maanden).

### **Cultuur**

De onderzoeken via cultuur worden uitgevoerd in het nationaal referentielaboratorium (Sciensano). De diagnose van rundertuberculose kan pas definitief worden gesteld na een post-mortemonderzoek waarbij een bacterie van *M. tuberculosis complex* na cultuur of een PCR-test wordt aangetoond. Van een aangetast, een verdacht aangetast of een verdacht besmet rund worden monsters van de lymfeklieren, longen of van verdachte letsels genomen om deze in cultuur te brengen. De groei van de kiem op cultuur kan lang duren (tot 2 maanden voor *M. bovis* vooraleer een zeker resultaat wordt bekomen). Bij sommige culturen begint de groei van de kiem op het selectief milieu pas verschillende weken na de opstart. Bij andere culturen kan de aanwezigheid van een mycobacterie reeds na 2 weken worden bevestigd via PCR, wanneer de groei snel verloopt.

Op verdachte letsels wordt een kleuring (zuurvaste kiemen) uitgevoerd. Deze methode is indicatief en moet worden bevestigd met een cultuur van de kiem. Bij afwezigheid van macroscopische letsels bij het post-mortemonderzoek in geval van een afslachting op bevel van verdacht aangetaste, verdacht besmette of aangetaste dieren, wordt toch een cultuur en/of een PCR-test uitgevoerd op een pool van weefsels of organen om een mogelijke besmetting aan te tonen die met het blote oog nog niet zichtbaar is.

### **Moleculaire typering van de isolaten**

Sinds 1995 worden alle veldisolaten van *M. bovis* genetisch getypeerd. Het nationaal referentielaboratorium (Sciensano) gebruikt hiervoor de spoligotypering- en RFLP-methoden en sinds enkele jaren als aanvulling de MIRU-VNTR-techniek. Het meest voorkomende spoligotype in België is SB-0162 dat voorkomt bij 40% van de veldisolaten. Deze typering maken deel uit van het epidemiologisch onderzoek en kunnen helpen om verbanden aan te tonen tussen verschillende gevallen of haarden en dit soms over vele jaren heen.

## **CONTACTGEGEVENS VOOR MEER INFORMATIE**

### **Wettelijke aspecten**

FAVV: Reden voor de monsterneming, impact van de analyseresultaten op de statussen, enz.

Neem contact op met de LCE van het FAVV die bevoegd is voor het (de) betrokken beslag(en)

LCE Waals-Brabant - Namen	De provincies Waals-Brabant en Namen, met uitzondering van de gemeenten Beauraing, Gedinne, Bièvre en Vresse-sur-Semois	Tel. 081/20 62 00 <a href="mailto:Info.BNA@AFSCA.be">Info.BNA@AFSCA.be</a>
LCE Henegouwen	Provincie Henegouwen	Tel. 065/40 62 11 <a href="mailto:Info.HAI@AFSCA.be">Info.HAI@AFSCA.be</a>
LCE Luik	Provincie Luik	Tel. 04/224 59 11 <a href="mailto:Info.LIE@AFSCA.be">Info.LIE@AFSCA.be</a>

LCE Luxemburg-Namen	Provincie Luxemburg en de gemeenten Beauraing, Gedinne, Bièvre en Vresse-sur-Semois	Tel. 061/21 00 60 <a href="mailto:Info.LUN@AFSCA.be">Info.LUN@AFSCA.be</a>
LCE Antwerpen	Provincie Antwerpen	Tel: 03/202.27.11 <a href="mailto:Info.ANT@favv.be">Info.ANT@favv.be</a>
LCE Oost-Vlaanderen - Vlaams-Brabant	Provincie Oost-Vlaanderen en een deel van Vlaams-Brabant	Tel.: 09/210.13.00 <a href="mailto:Info.OVB@favv.be">Info.OVB@favv.be</a>
LCE Vlaams-Brabant-Limburg	Provincie Limburg en een deel van Vlaams-Brabant	Tel: 016/39.01.11 <a href="mailto:Info.VLI@favv.be">Info.VLI@favv.be</a>
LCE West-Vlaanderen	Provincie West-Vlaanderen	Tel.: 050/30.37.10 <a href="mailto:Info.WVL@favv.be">Info.WVL@favv.be</a>

**Praktische aspecten - eerstelijnslaboratoria:**

ARSIA: op 083/23.05.15

Vóór de bemonsteringen Bemonsteringsformulieren Optie 4

Maak een afspraak Optie 1

Na de bemonsteringen Conformiteit van de monsters Optie 5

DGZ: via de helpdesk op 078/ 05 05 23

LAVETAN: Via het secretariaat op 014/44.34.74