Chemisches und
Veterinäruntersuchungsamt
Westfalen

Zur Pathomorphologie der Tularämie beim Hasen im Regierungsbezirk Arnsberg

Dr. Martin Peters

Kaninchen

Feldhase

Biber

Eichhörnchen

Tularämie ist keine auf Hasen begrenzte Erkrankung !!

Mensch

Sonstiges
(Affen/Halbaffen,
Kleintiere, Vögel…)

Ratten/Mäuse

Fuchs und Wildschwein bieten sich für ein serol. epidemiologisches Monitoring an.

(z.B. Al-Dahouk et al. (2005): Seroprävalenz beim Wildschw. in Meck.-Vorpommern 3,1 %, u.a.)

Tularämie:

Syn.: Hasenpest, Nagerpest (cave: Yersiniose/Pseudotuberkulose)

Derzeit werden 4 Subspezies von *F. tularensis* unterschieden:

- *Francisella tularensis tularensis (Jellison Typ A, RG 3)*
- *Francisella tularensis holarctica (Jellison Typ B, RG 2)*
- *Francisella tularensis mediasiatica*
- *Francisella tularensis novicida*

Tularämie in NRW

Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt Westfalen

CVUA WESTFALEN

Zentrale Tierseuchendatenbank

Jahresstatistik | Export | Schließen

Statistik-Optionen | Tabellendarstellung

Aktueller Zeitraum: 01.01.2005 - 31.12.2016

Tierseuche/Tierkrankheit	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	Ges.
Tularämie	.	4	6	12	14	25	11	20	30	70	75	44	311
Bundesland	**2005**	**2006**	**2007**	**2008**	**2009**	**2010**	**2011**	**2012**	**2013**	**2014**	**2015**	**2016**	**Ges.**
Schleswig-Holstein	.	.	.	.	.	.	.	.	.	2	2	.	4
Niedersachsen	.	.	1	2	.	.	.	3	2	11	7	1	27
Nordrhein-Westfalen	.	.	.	.	4	9	8	4	17	28	23	15	108
Hessen	.	2	.	1	1	3	1	1	.	1	14	5	29
Rheinland-Pfalz	.	1	.	.	.	.	.	.	.	1	10	5	17
Baden-Württemberg	.	.	2	5	7	12	.	6	5	4	5	15	61
Bayern	.	.	3	3	.	1	1	3	5	19	12	3	50
Brandenburg	.	.	.	.	1	.	.	3	.	.	2	.	6
Mecklenburg-Vorpommern	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	.	1
Sachsen	.	.	.	.	1	.	.	.	.	1	.	.	2
Sachsen-Anhalt	.	.	.	.	.	.	1	.	.	1	.	.	2
Thüringen	.	1	.	1	.	.	.	.	1	1	.	.	4

Tularämie in NRW

Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt Westfalen

CVUA WESTFALEN

Zentrale Tierseuchendatenbank

Jahresstatistik | Export | Schließen

Statistik-Optionen | Tabellendarstellung

Aktueller Zeitraum: 01.01.2005 - 31.12.2016

Tierseuche/Tierkrankheit	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	Ges.
Tularämie	.	4	6	12	14	25	11	20	30	70	75	44	311
Bundesland	**2005**	**2006**	**2007**	**2008**	**2009**	**2010**	**2011**	**2012**	**2013**	**2014**	**2015**	**2016**	**Ges.**
Schleswig-Holstein	.	.	.	.	.	.	.	.	.	2	2	.	4
Niedersachsen	.	.	1	2	.	.	.	3	2	11	7	1	27
Nordrhein-Westfalen	.	.	.	.	(4) 4	(7) 9	(5) 8	(2) 4	(5) 17	(7) 28	(8) 23	(3) 15	108
Hessen	.	2	.	1	1	3	1	1	.	1	14	5	29
Rheinland-Pfalz	.	1	.	.	.	.	.	.	.	1	10	5	17
Baden-Württemberg	.	.	2	5	7	12	.	6	5	4	5	15	61
Bayern	.	.	3	3	.	1	1	3	5	19	12	3	50
Brandenburg	.	.	.	.	1	.	.	3	.	.	2	.	6
Mecklenburg-Vorpommern	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	.	.	1
Sachsen	.	.	.	.	1	.	.	.	.	1	.	.	2
Sachsen-Anhalt	.	.	.	.	.	.	1	.	.	1	.	.	2
Thüringen	.	1	.	1	.	.	.	.	1	1	.	.	4

ZUGANG ZU DEN SEMINAR- UND KONGRESSBERICHTEN

60 JAHRE BBT - BEITRÄGE ZUM JUBILÄUM

Benutzername

Passwort

Angemeldet bleiben

Anmelden

- Passwort vergessen?
- Benutzername vergessen?

Hier können Sie Ihre Zugangsdaten zurücksetzen.

ZEITSCHRIFT AMTSTIERÄRZTLICHER DIENST (ATD)

ATD 3/2015 - Fragebogenauswertung zur Diagnostik der Tularämie

Zuletzt aktualisiert am Samstag, 17. Oktober 2015 21:28
Geschrieben von Ebert

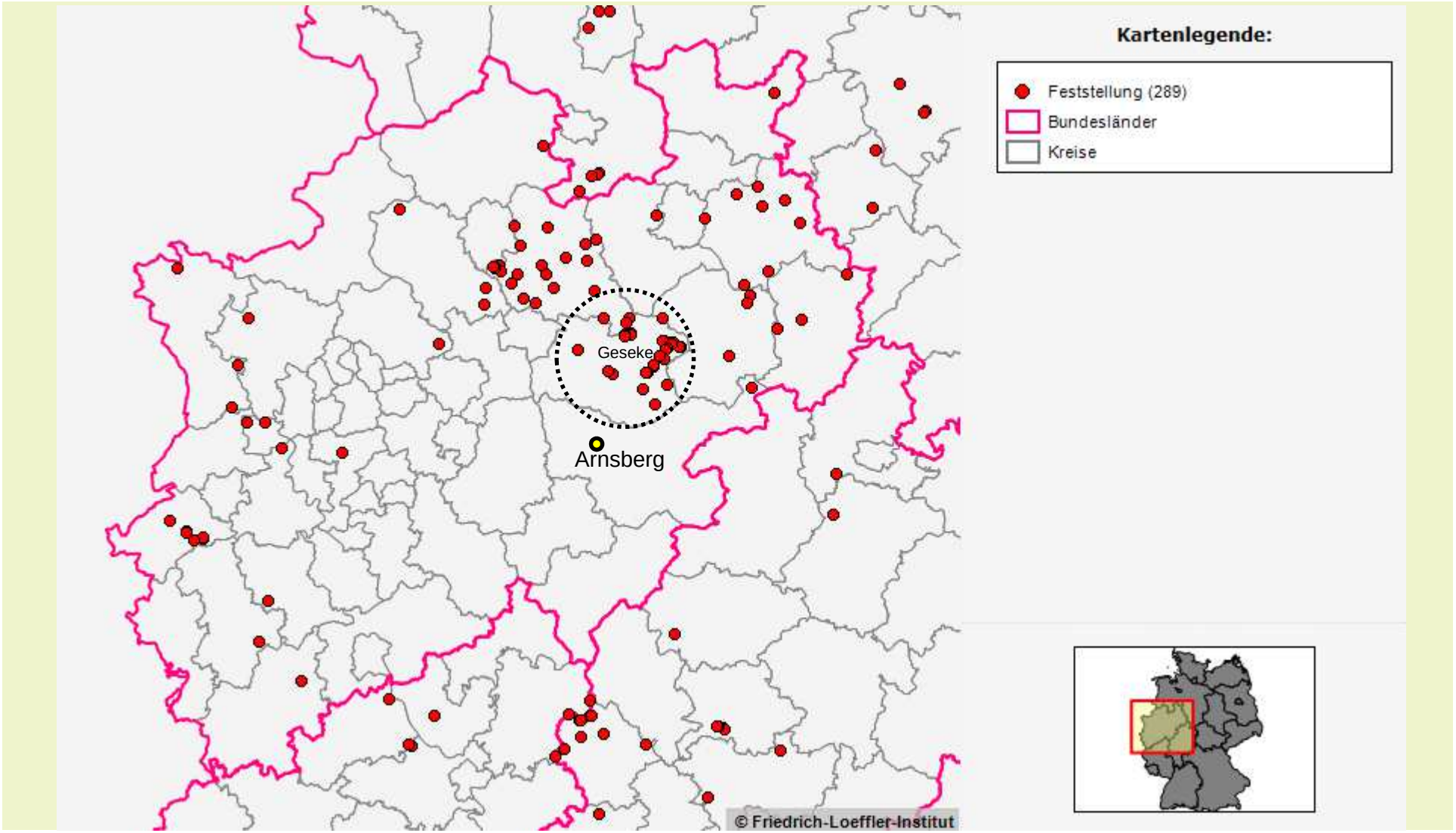
< Zurück Weiter >

Die Zahl der gemeldeten Tularämie-Fälle bei Tieren ist im Jahr 2014 gegenüber den Vorjahren in einigen Bundesländern sprunghaft angestiegen. Insbesondere in Niedersachsen, Nordrhein-Westfalen und Bayern gab es deutlich höhere Fallzahlen als in den Vorjahren. Mit Fragebögen an die Labore sollte geklärt werden, auf welche Ursachen das zurückgeführt werden könnte. Die Auswertung hat ergeben, dass sporadische humane Fälle von Tularämie und Ausbrüche in der Wildtierpopulation zu wesentlich mehr Untersuchungen auf Tularämie und zur Meldung höherer Fallzahlen führte. Die eingesetzten Labormethoden waren insgesamt sehr heterogen. Das Methodenspektrum wurde seit 2013 in manchen Laboren um MALDI-TOF MS und/oder real-time PCR erweitert, wodurch die Diagnostik weiter verbessert wurde. Durch die etablierte Diagnostik der zuständigen Labore ist ein ständiger und ausreichender Überblick über den Umfang und die Entwicklung der Tularämie vorhanden, so dass eine frühzeitige Anwendung geeigneter Bekämpfungsmaßnahmen möglich ist. Das NRL wird auch in Zukunft zum Erfahrungsaustausch und zur Harmonisierung der Methoden regelmäßige Workshops anbieten.

Korrespondierender Autor:
H. Tomaso,
Institut für bakterielle Infektionen und
Zoonosen, Friedrich-Loeffler-Institut,
Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit,
Naumburger Straße 96a,
07743 Jena

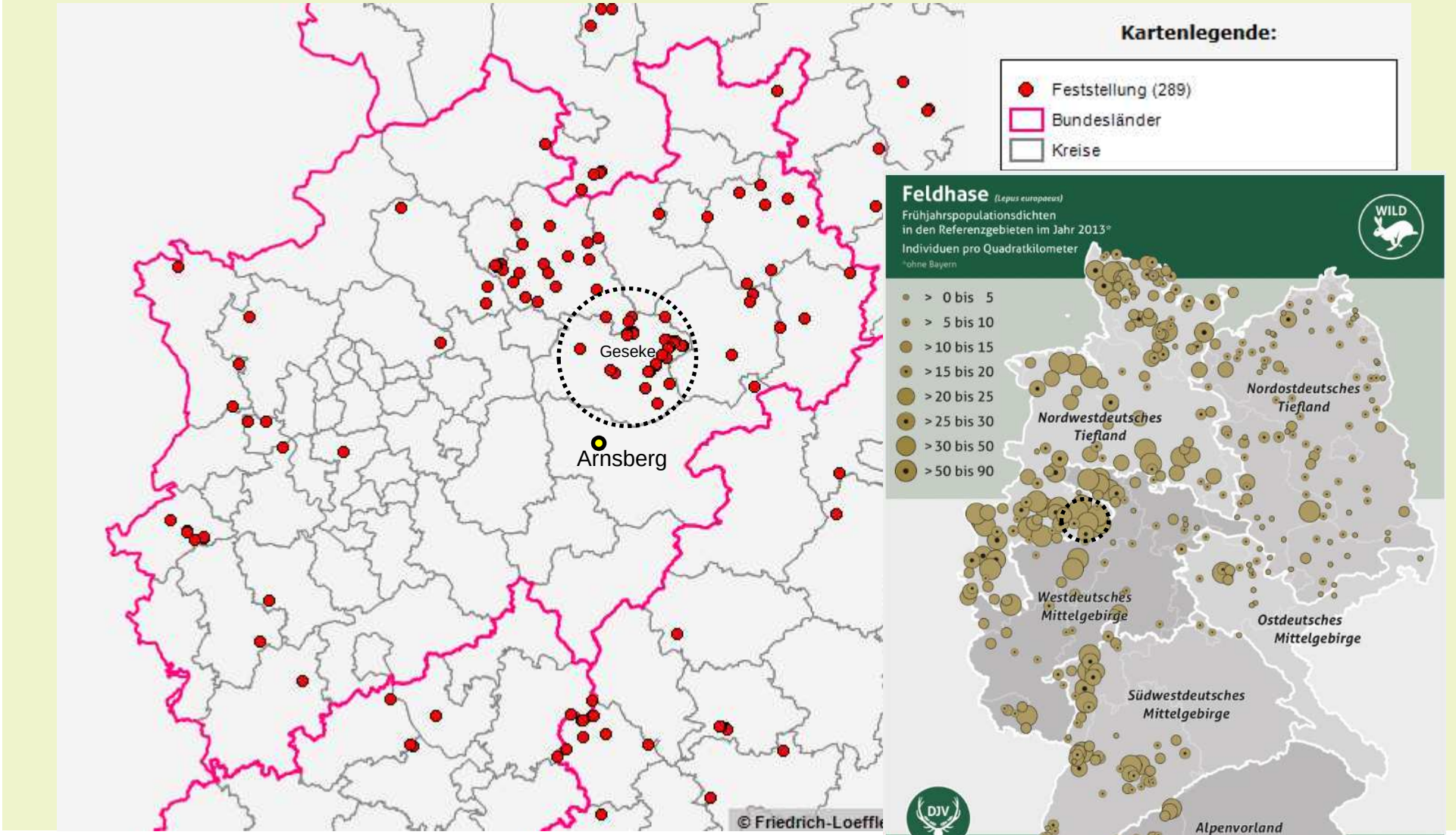
Tularämie in NRW

Chemisches und
Veterinäruntersuchungsamt
Westfalen



Tularämie in NRW

Chemisches und
Veterinäruntersuchungsamt
Westfalen



https://www.jagdverband.de/content/feldhasen-bestand-stabil

RESEARCH ARTICLE Open Access

German *Francisella tularensis* isolates from European brown hares (*Lepus europaeus*) reveal genetic and phenotypic diversity

Wolfgang Müller[1], Helmut Hotzel[1], Peter Otto[1], Axel Karger[2], Barbara Bettin[2], Herbert Bocklisch[3], Silke Braune[4], Ulrich Eskens[5], Stefan Hörmansdorfer[6], Regina Konrad[6], Anne Nesseler[5], Martin Peters[7], Martin Runge[4], Gernot Schmoock[1], Bernd-Andreas Schwarz[8], Reinhard Sting[9], Kerstin Myrtennäs[10], Edvin Karlsson[10], Mats Forsman[10] and Herbert Tomaso[1*]

BMC Microbiology BioMed Central The Open Access Publisher

Abstract

Background: Tularemia is a zoonotic disease caused by *Francisella tularensis* that has been found in many different vertebrates. In Germany most human infections are caused by contact with infected European brown hares (*Lepus europaeus*). The aim of this study was to elucidate the epidemiology of tularemia in hares using phenotypic and genotypic characteristics of *F. tularensis*.

Results: Cultivation of *F. tularensis* subsp. *holarctica* bacteria from organ material was successful in 31 of 52 hares that had a positive PCR result targeting the Ft-M19 locus. 17 isolates were sensitive to erythromycin and 14 were resistant. Analysis of VNTR loci (Ft-M3, Ft-M6 and Ft-M24), INDELs (Ftind33, Ftind38, Ftind49, RD23) and SNPs (B.17, B.18, B.19, and B.20) was shown to be useful to investigate the genetic relatedness of *Francisella* strains in this set of strains. The 14 erythromycin resistant isolates were assigned to clade B.I, and 16 erythromycin sensitive isolates to clade B.IV and one isolate was found to belong to clade B.II. MALDI-TOF mass spectrometry (MS) was useful to discriminate strains to the subspecies level.

Conclusions: *F. tularensis* seems to be a re-emerging pathogen in Germany. The pathogen can easily be identified using PCR assays. Isolates can also be identified within one hour using MALDI-TOF MS in laboratories where specific PCR assays are not established. Further analysis of strains requires genotyping tools. The results from this study indicate a geographical segregation of the phylogenetic clade B.I and B.IV, where B.I strains localize primarily within eastern Germany and B.IV strains within western Germany. This phylogeographical pattern coincides with the distribution of biovar I (erythromycin sensitive) and biovar II (erythromycin resistance) strains. When time and costs are limiting parameters small numbers of isolates can be analysed using PCR assays combined with DNA sequencing with a focus on genetic loci that are most likely discriminatory among strains found in a specific area. In perspective, whole genome data will have to be investigated especially when terrorist attack strains need to be tracked to their genetic and geographical sources.

CVUA WESTFALEN

Phänotyp:
- Erythromycin-Empfindlichkeit

Genotyp:
- Variable tandem repeats (VNTR)Typing
- Insertion/deletion mutations (Indels)
- single nucleotide polymorphism (SNP) analysis
- MALDI-TOF-MS

Hasenjagd in Rüthen Meiste, Kreis Soest (02.11.12)

Ca. 10 Hasen geschossen.

7 Jäger erkrankt, Pulmonale Tularämie bei einem Jäger im Krankenhaus Lippstadt (Isolat aus Pleura),

Hare-to-Human Transmission of *Francisella tularensis* subsp. *holarctica*, Germany

Peter Otto, Rebekka Kohlmann, Wolfgang Müller, Sandra Julich, Gabriele Geis, Sören G. Gatermann, Martin Peters, Peter Johannes Wolf, Edvin Karlsson, Mats Forsman, Kerstin Myrtennäs, and Herbert Tomaso

In November 2012, a group of 7 persons who participated in a hare hunt in North Rhine-Westphalia, Germany, acquired tularemia. Two *F. tularensis* subsp. *holarctica* isolates were cultivated from human and hare biopsy material. Both isolates belonged to the FTN002–00 genetic subclade (derived for single nucleotide polymorphisms B.10 and B.18), thus indicating likely hare-to-human transmission.

Tularemia is a zoonotic disease caused by the gram-negative bacterium *Francisella tularensis* (*1*). Currently, there are 4 validly published subspecies. *F. tularensis* subsp. *tularensis* is the most virulent subspecies and occurs only in North America. *F. tularensis* subsp. *holarctica* is less virulent and occurs throughout the Northern hemisphere. *F. tularensis* subsp. *mediasiatica* was isolated in central Asia, and *F. tularensis* subsp. *novicida*, which has low virulence in humans, seems to be distributed globally (*2*).

Various PCR-based assays have been established for the detection of *F. tularensis* or for the diagnosis of tularemia. An accurate population structure has been defined by using single nucleotide polymorphisms (SNPs) and insertion/deletion mutations (INDELs) with potential canonical properties. Currently, this population is divided into 4 major genetic clades: B.4, B.6, B.12, and B.16 (*3–6*). The taxonomic nomenclature of major clades in *F. tularensis* subsp. *holarctica* is based on clade-specific canonical SNP markers (*3,4*). In Europe, the strains of clades B.12 and B.6 dominate (*6*). The latter is found particularly in large areas in northern, western, and central Europe, including Germany (*5–9*).

The Study

On November 2, 2012, 15 European brown hares (*Lepus europaeus*) were shot during a hunt in Rüthen-Meiste, district Soest in the federal state of North Rhine-Westphalia, Germany (Figure). The animals seemed healthy and showed normal escape behavior. Upon inspection, the animals that had been shot showed no signs of disease. Consequently, all animals were skinned, eviscerated, and dissected. Portioning of the hares was done 2 days later. Within a few days, 7 healthy persons who had contact with the hare carcasses showed varied symptoms of illness. Tularemia was suspected because of the signs and symptoms in combination with exposure in a tularemia-endemic area. Exposure, clinical symptoms, and time of onset of symptoms of all patients (A to G) are described in the Table. All patients were treated successfully with doxycycline.

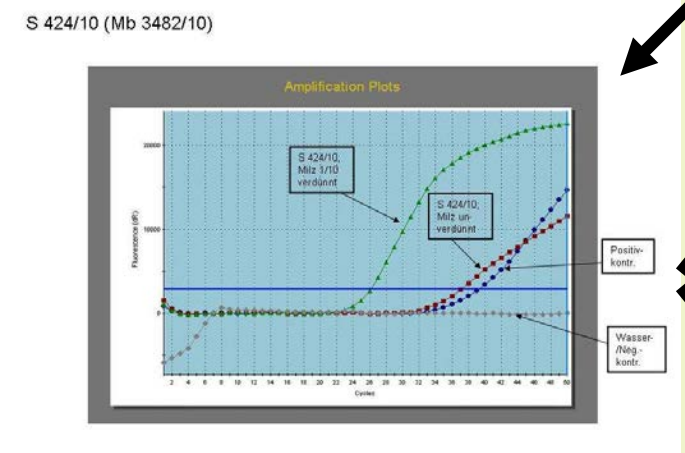
Human serum samples were collected about 5 weeks after infection from patients C and E and pleural fluid was obtained from patient E. On day 2 of incubation, the human isolate (12T0062) showed small pale-white to gray colonies on Columbia blood agar and chocolate agar, whereas no growth occurred on MacConkey agar plates. Ten organ specimens (from aorta, back and thigh muscles, lymph nodes, spinal cord) from 4 of the hares handled by the patients were tested for *Francisella* spp. in the National Reference Laboratory for Tularemia at the Friedrich-Loeffler-Institut in Jena, Germany. From all hare organs, only a single *Francisella* sp. was isolated from a spinal cord sample (13T0009) on cysteine heart agar Becton Dickinson GmbH, Heidelberg, Germany), which contains antibiotics. The strains were susceptible to erythromycin with inhibition zones between 22 and 24 mm corresponding to biovar I. Details of further methods that have been applied in the study are shown in the online Technical Appendix (http://wwwnc.cdc.gov/EID/article/21/1/13-1837-Techapp1.pdf).

Chemisches und
Veterinäruntersuchungsamt
Westfalen

Sektionsbefunde an Feldhasen

Innerer Sektionsraum
Mundschutz, Gesichtsschutz, Schürze, Handschuhe

Minimalinvasive Entnahme einer Milzprobe



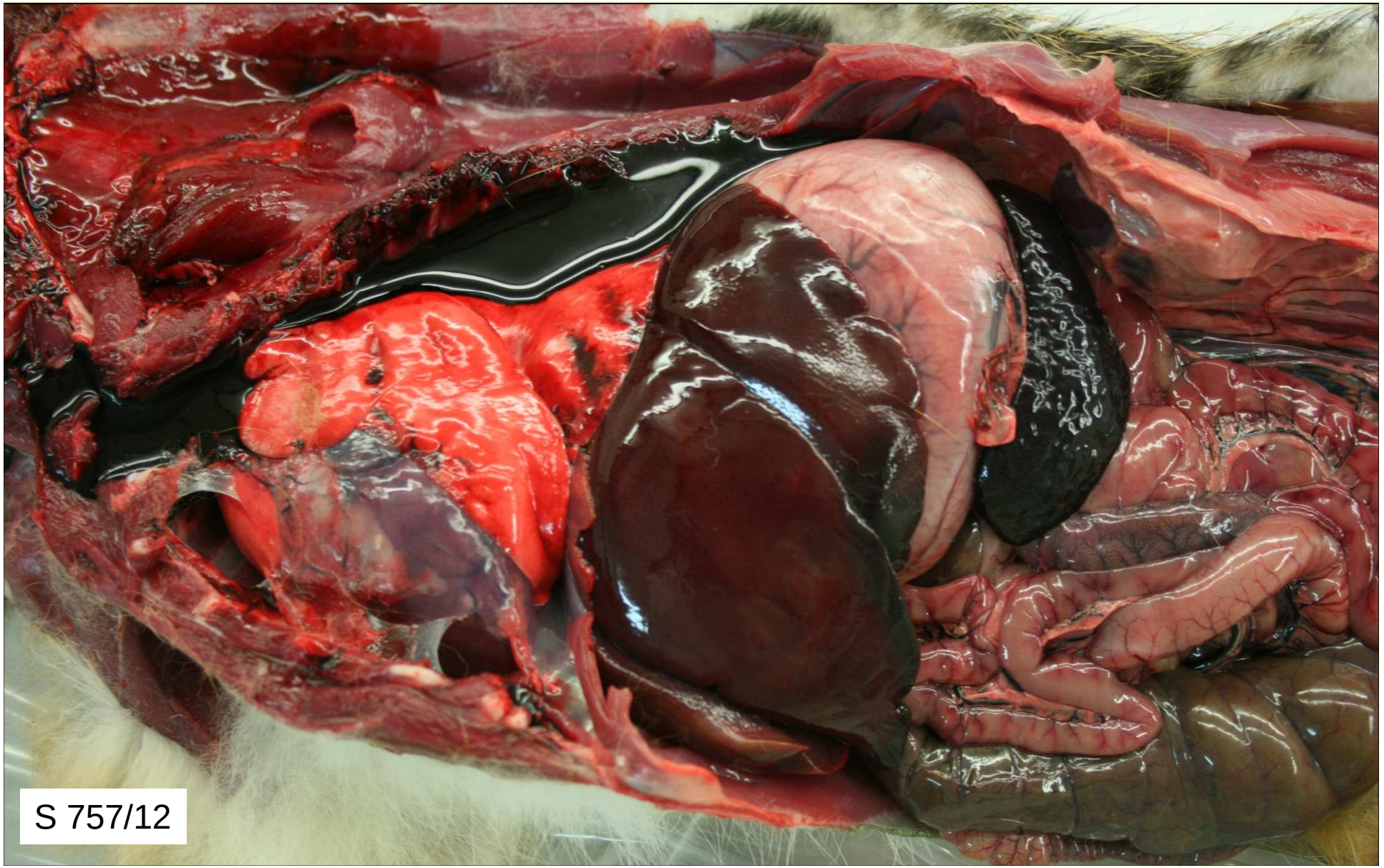
PCR auf Francisella

\- Normale weitere Sektion

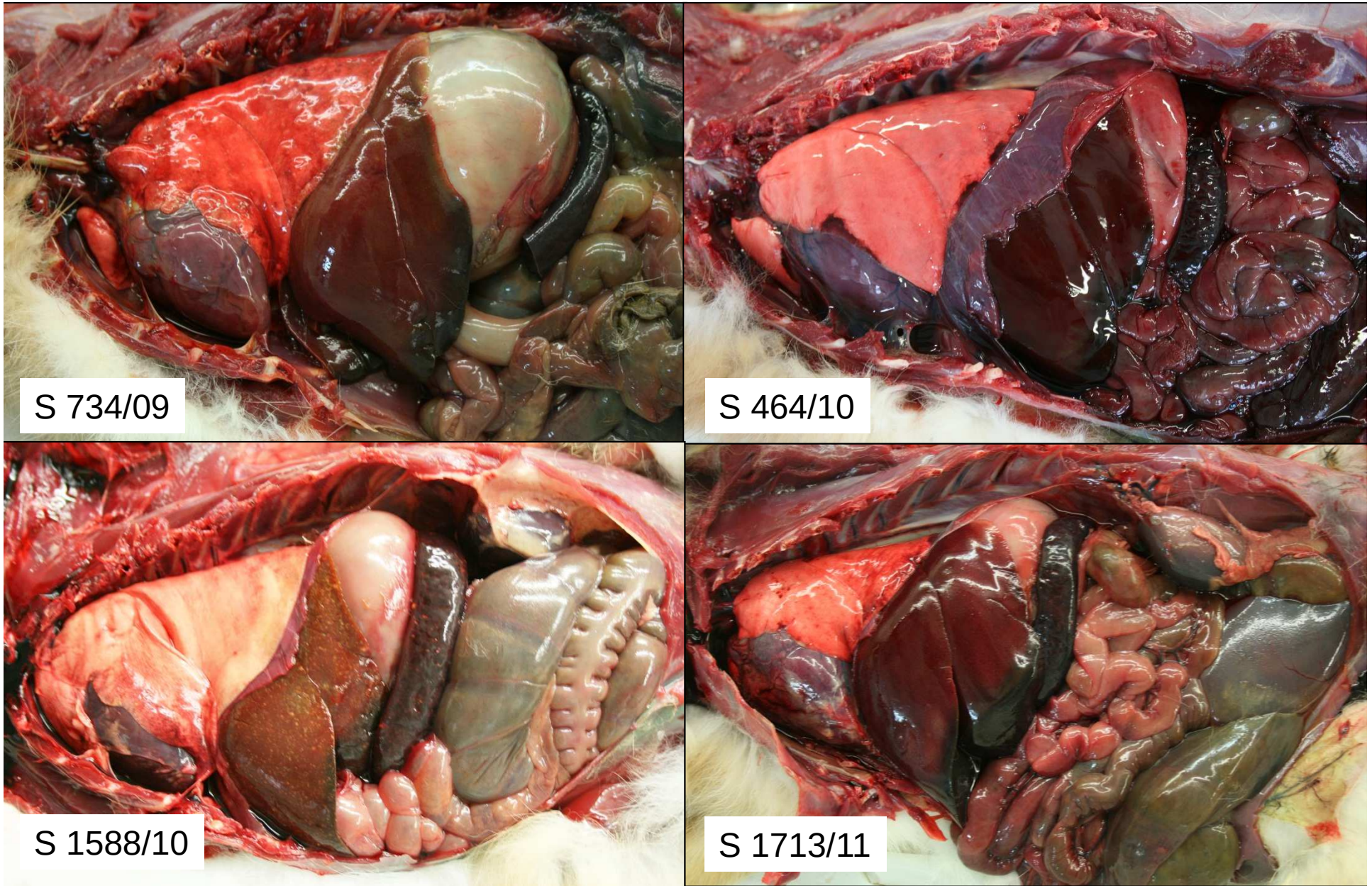
\+ Asservierung von Organen und ggf. Versand an das NRL Tularämie FLI Standort Jena zur Typisierung der Francisellen und Erregeranzucht

Chemisches und
Veterinäruntersuchungsamt
Westfalen

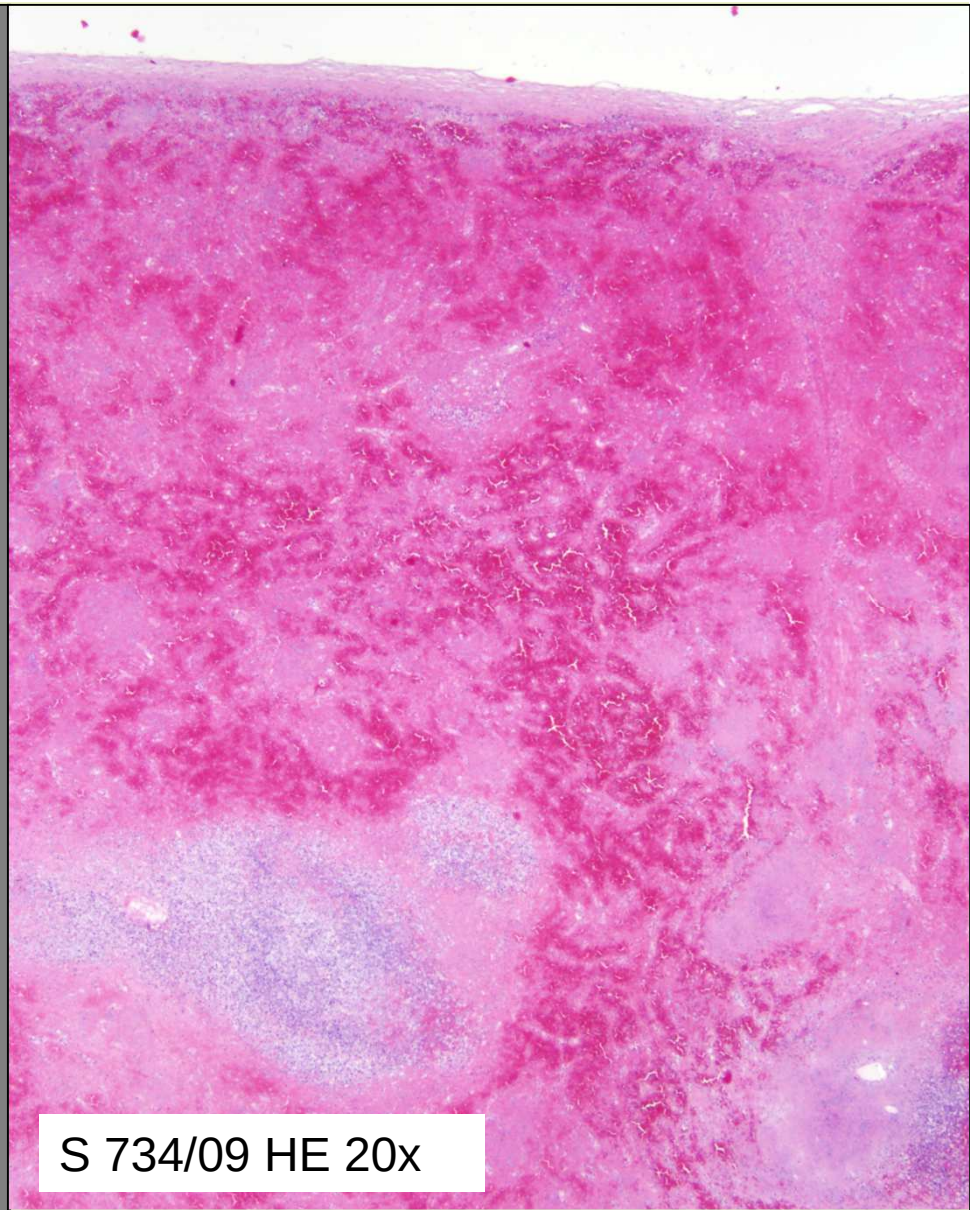
CVUA WESTFALEN



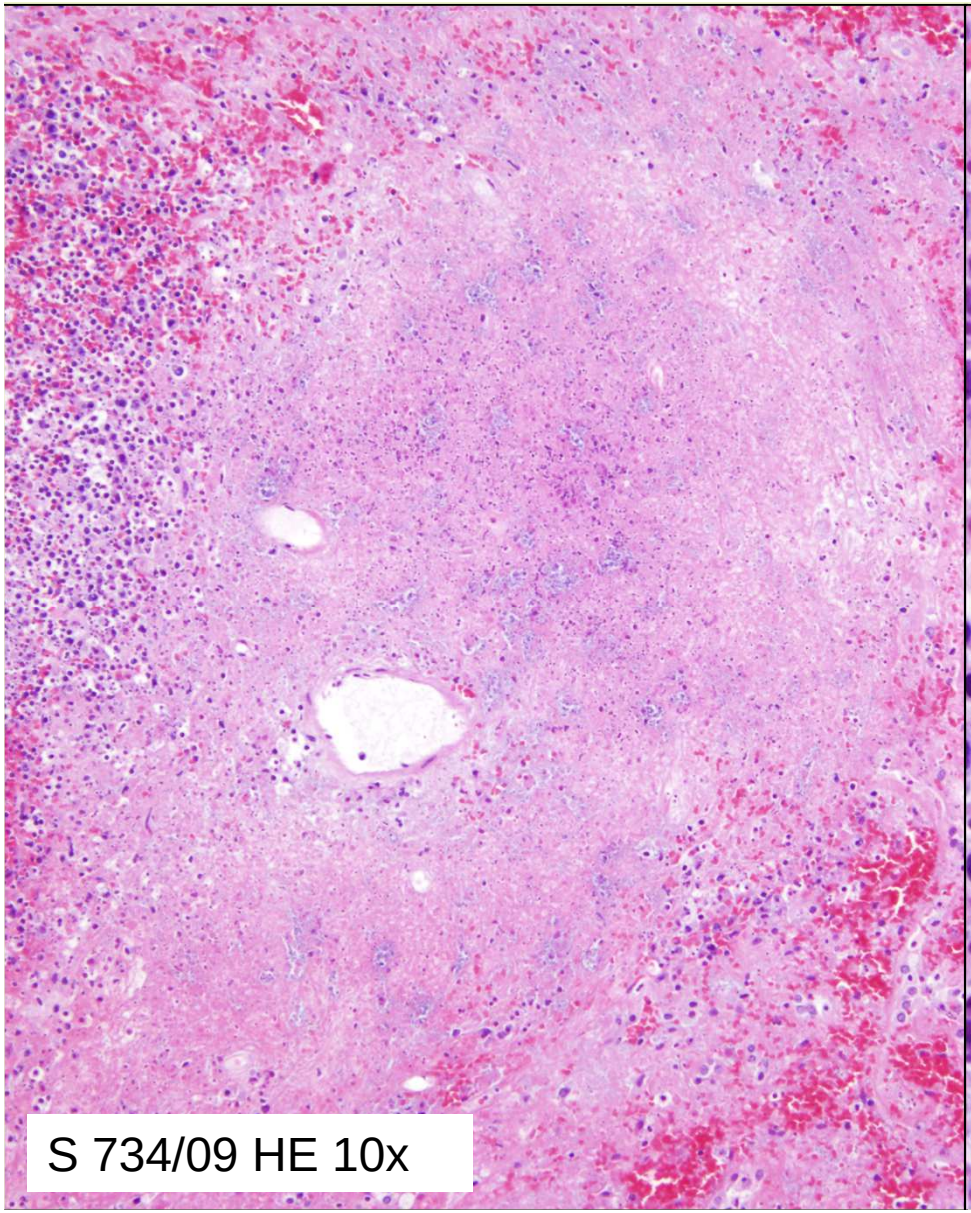
Chemisches und
Veterinäruntersuchungsamt
Westfalen



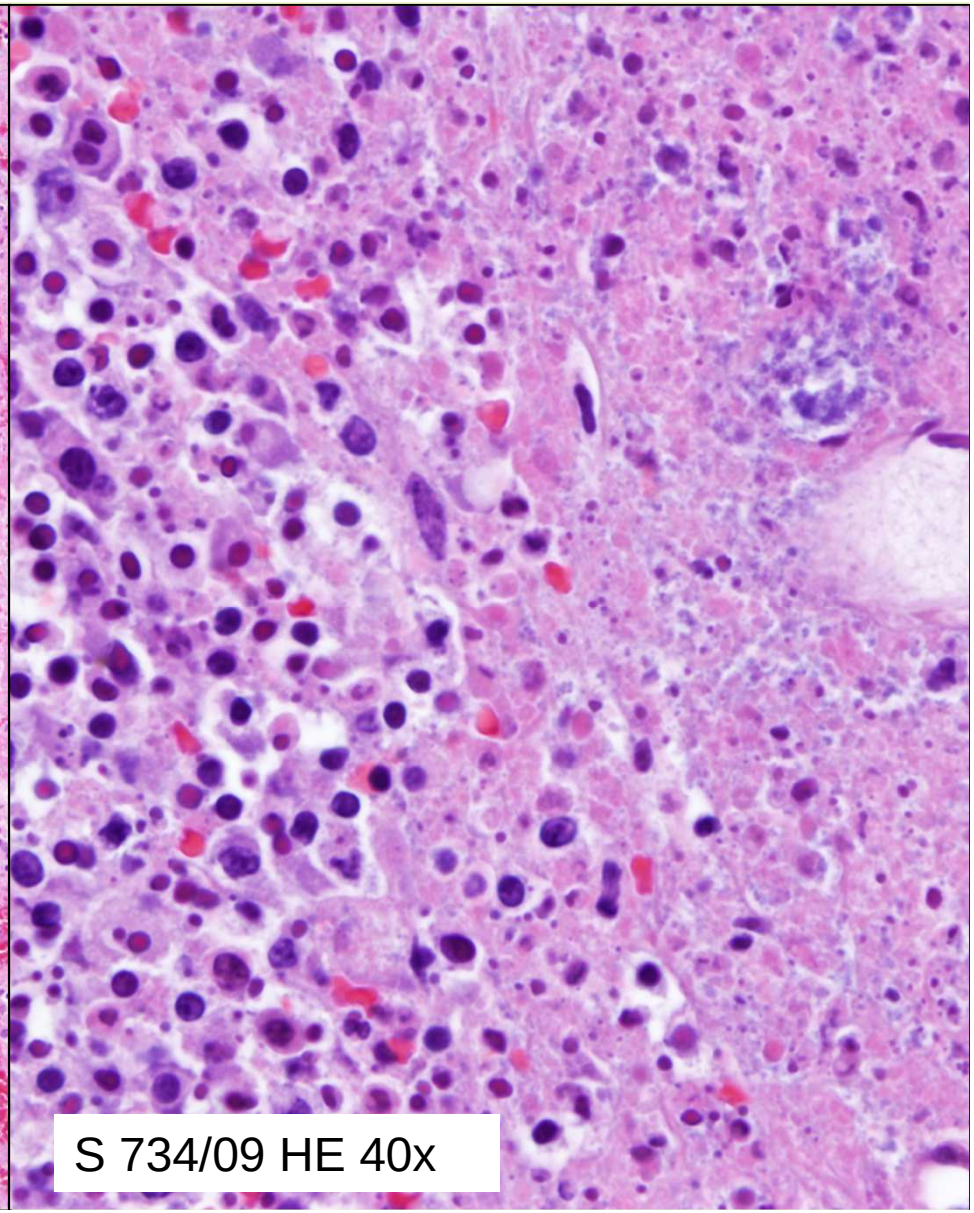
Chemisches und
Veterinäruntersuchungsamt
Westfalen



S 734/09 HE 20x

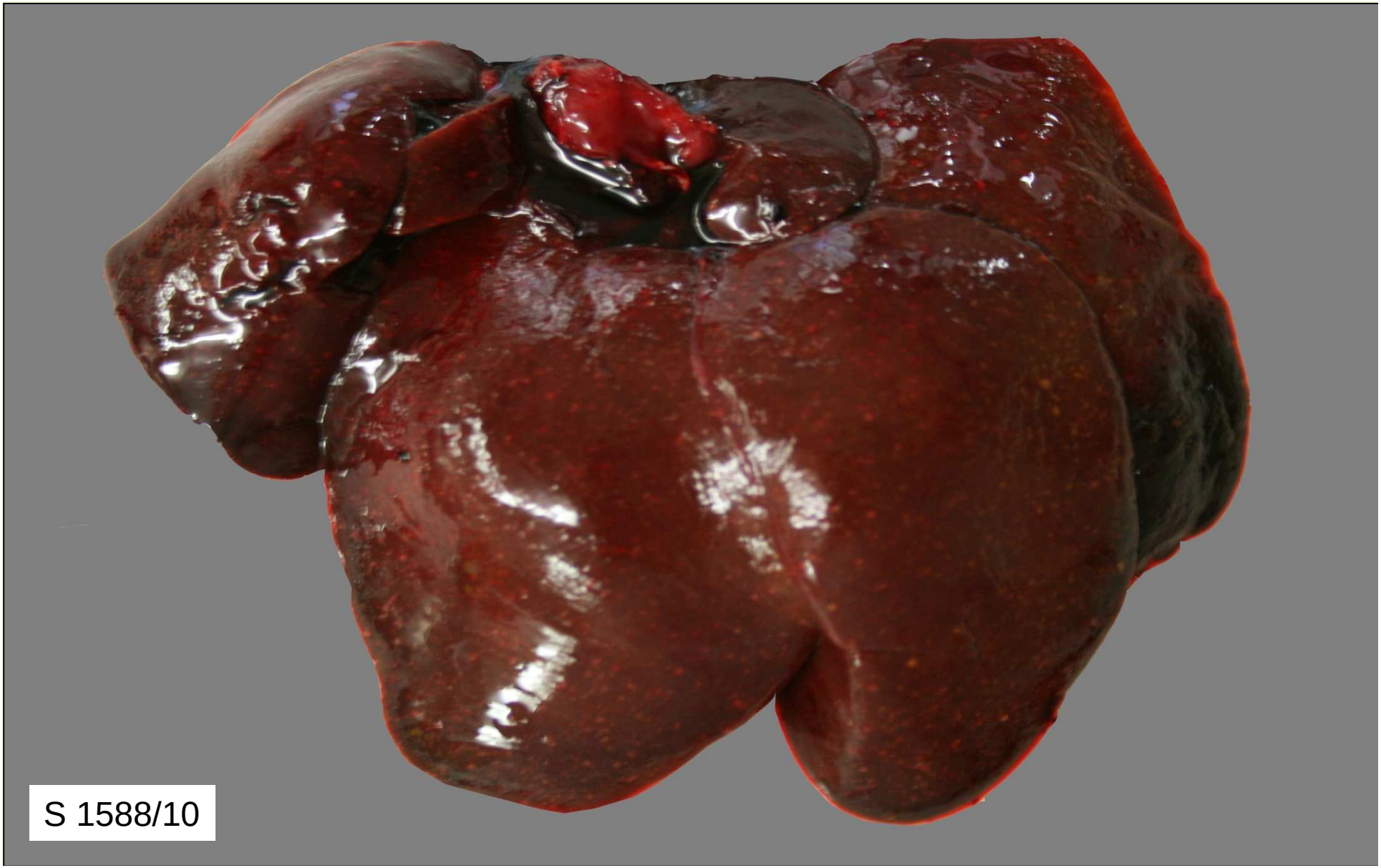


S 734/09 HE 10x

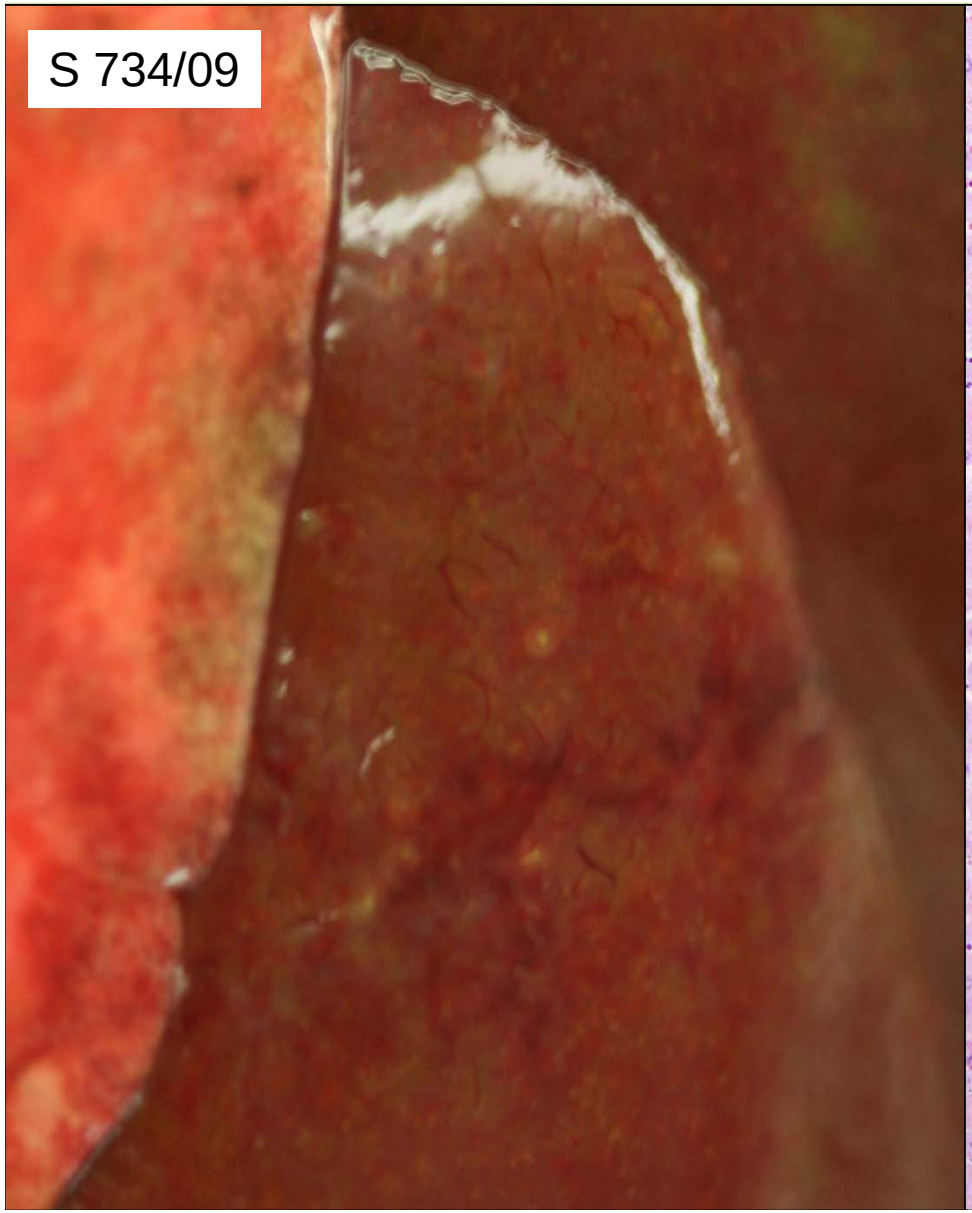


S 734/09 HE 40x

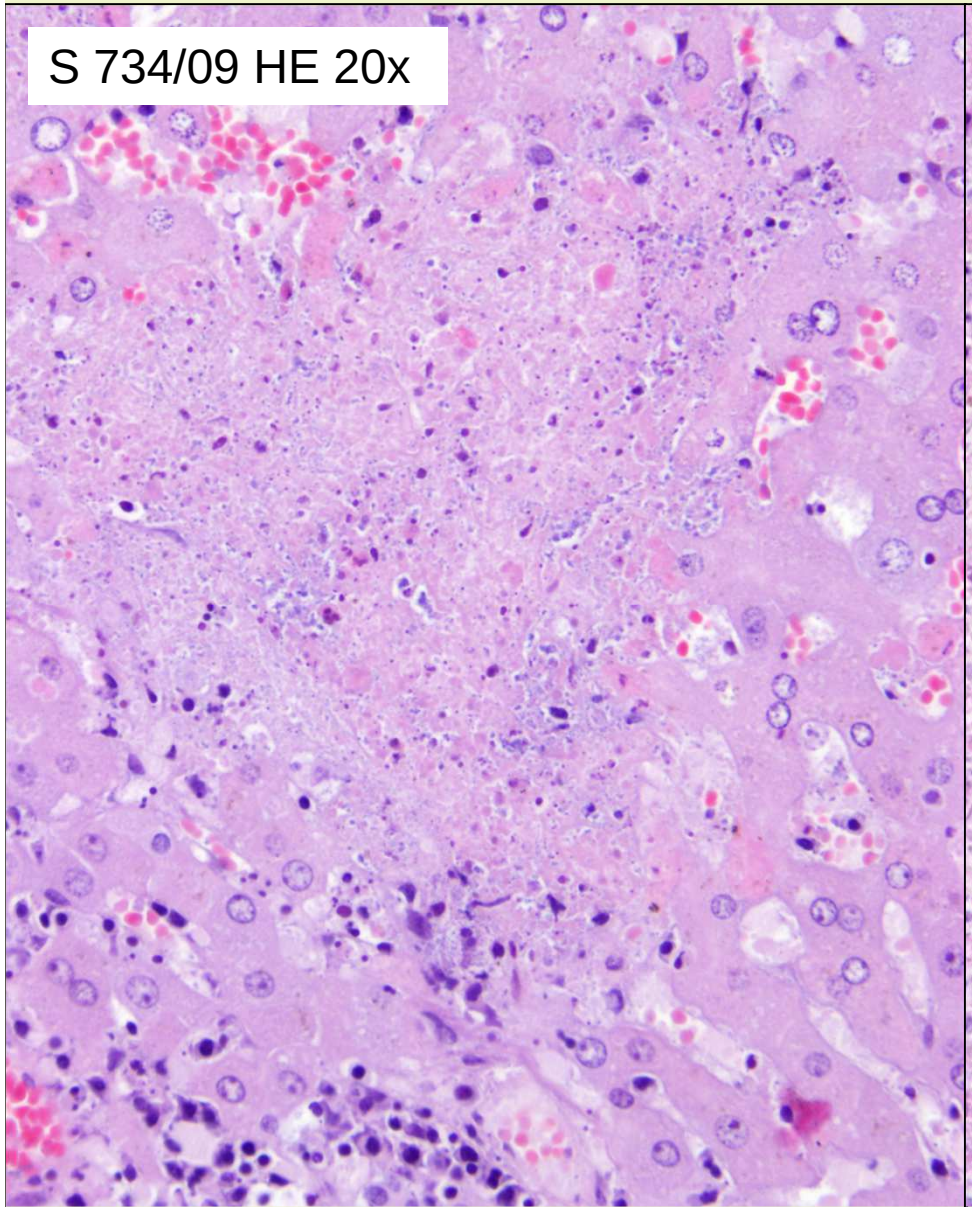
Chemisches und
Veterinäruntersuchungsamt
Westfalen

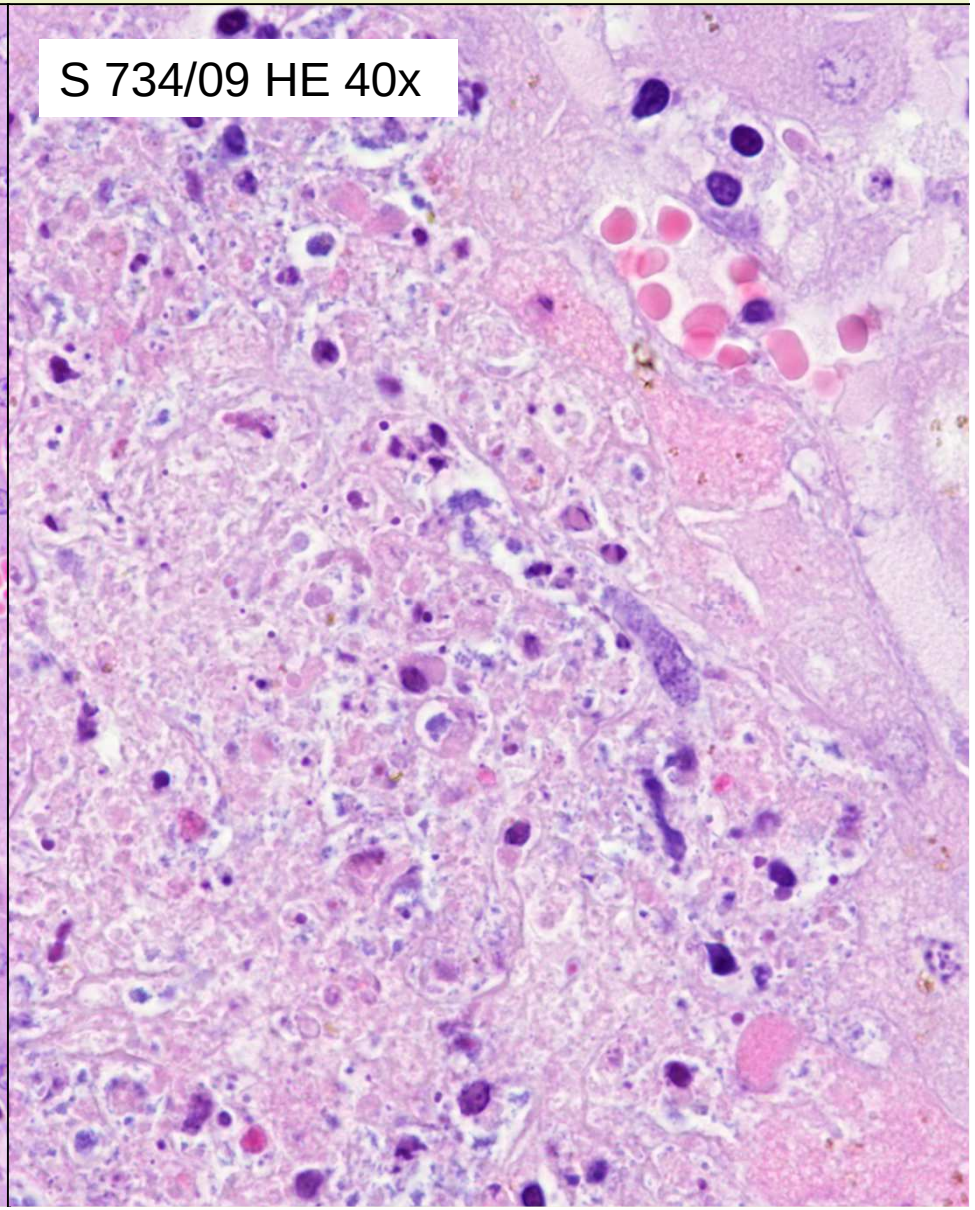


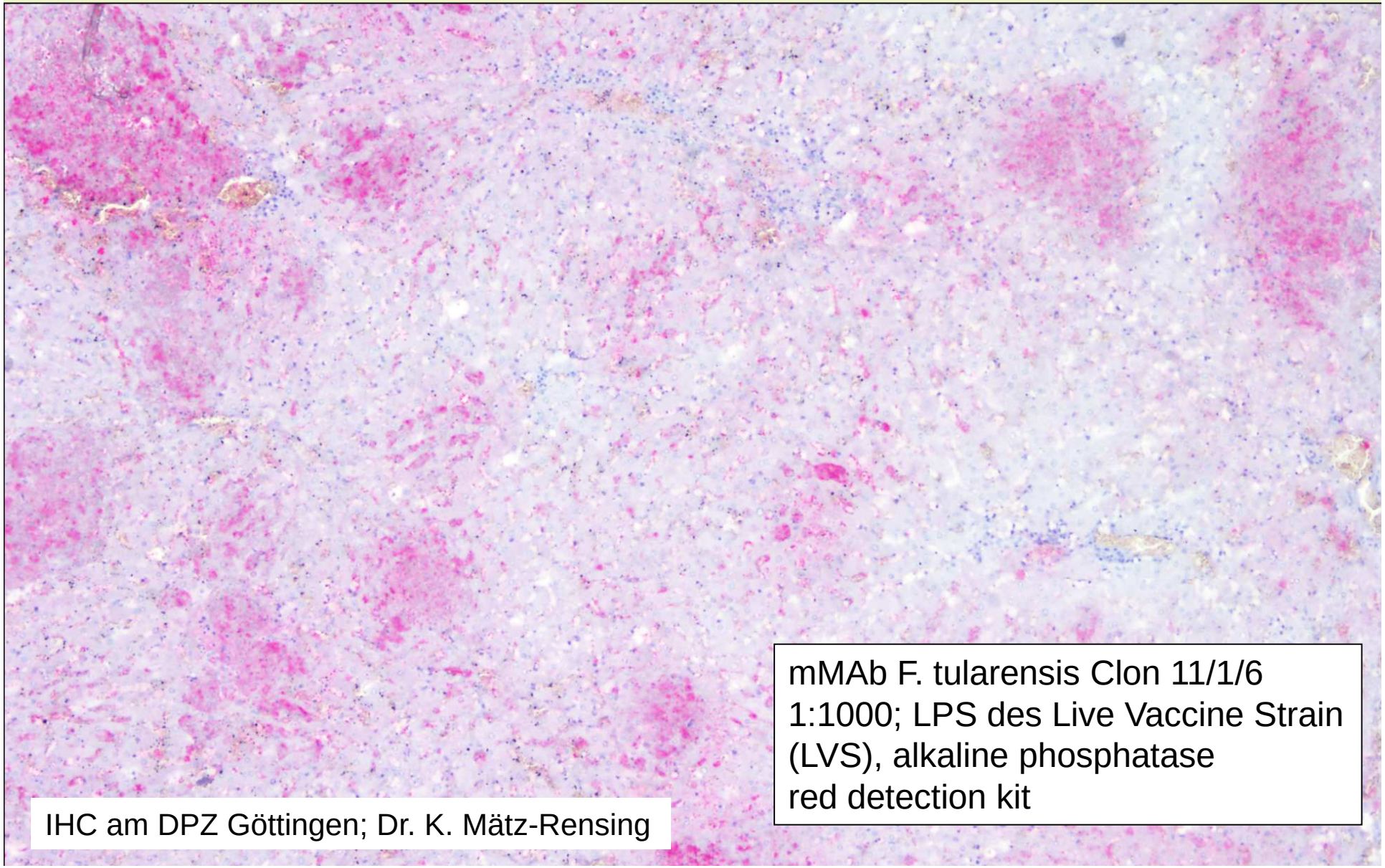
Chemisches und
Veterinäruntersuchungsamt
Westfalen



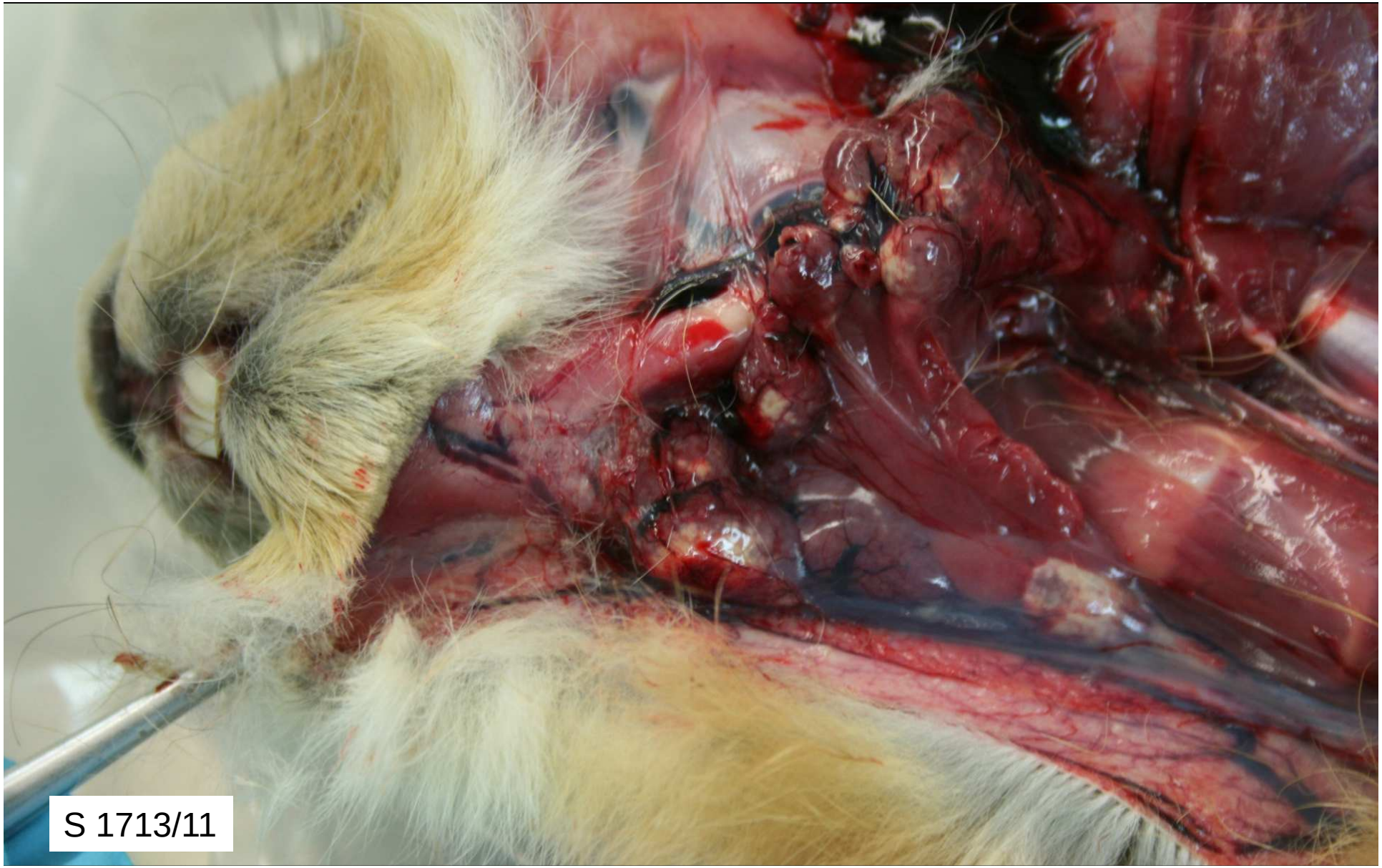
Chemisches und
Veterinäruntersuchungsamt
Westfalen

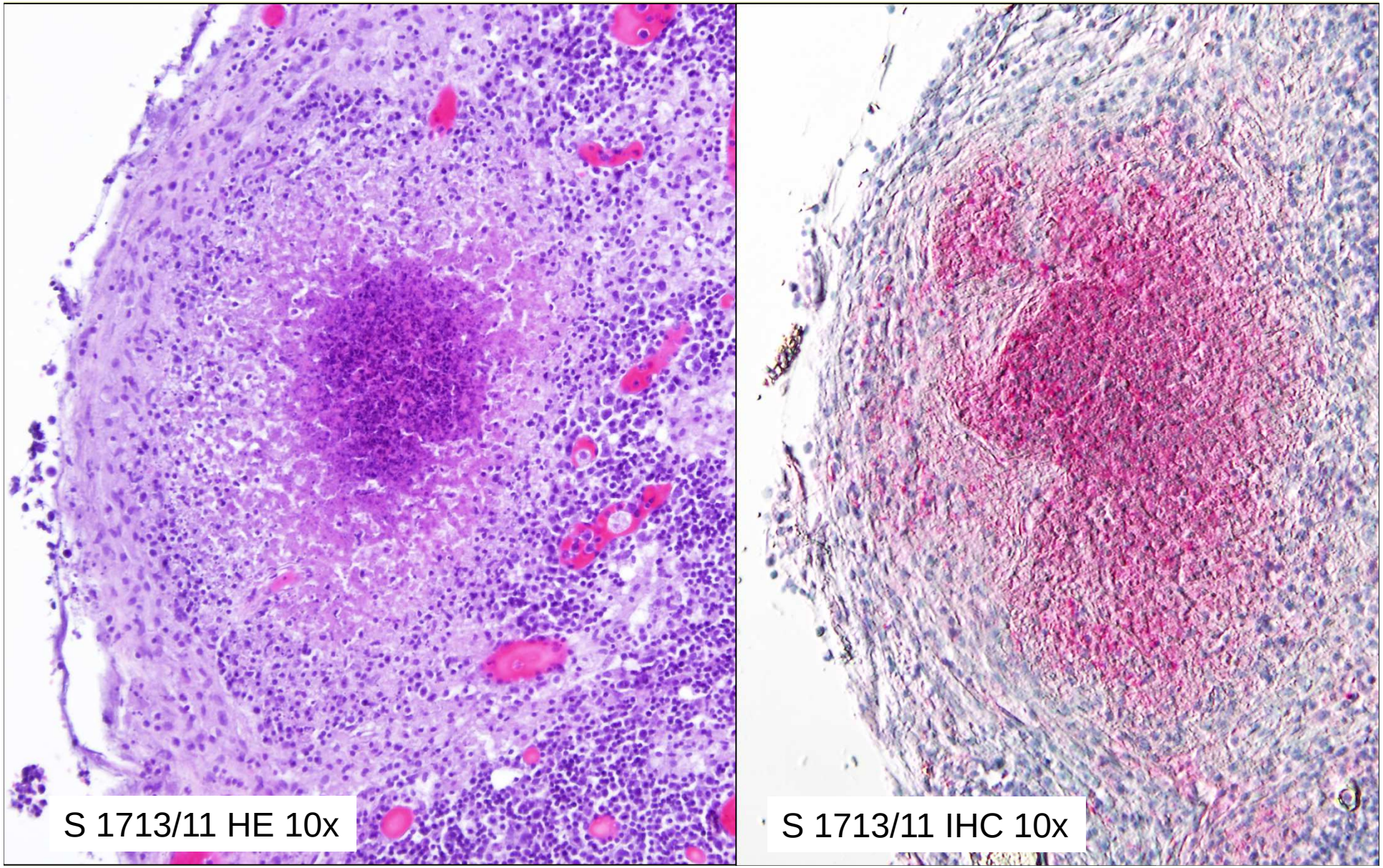


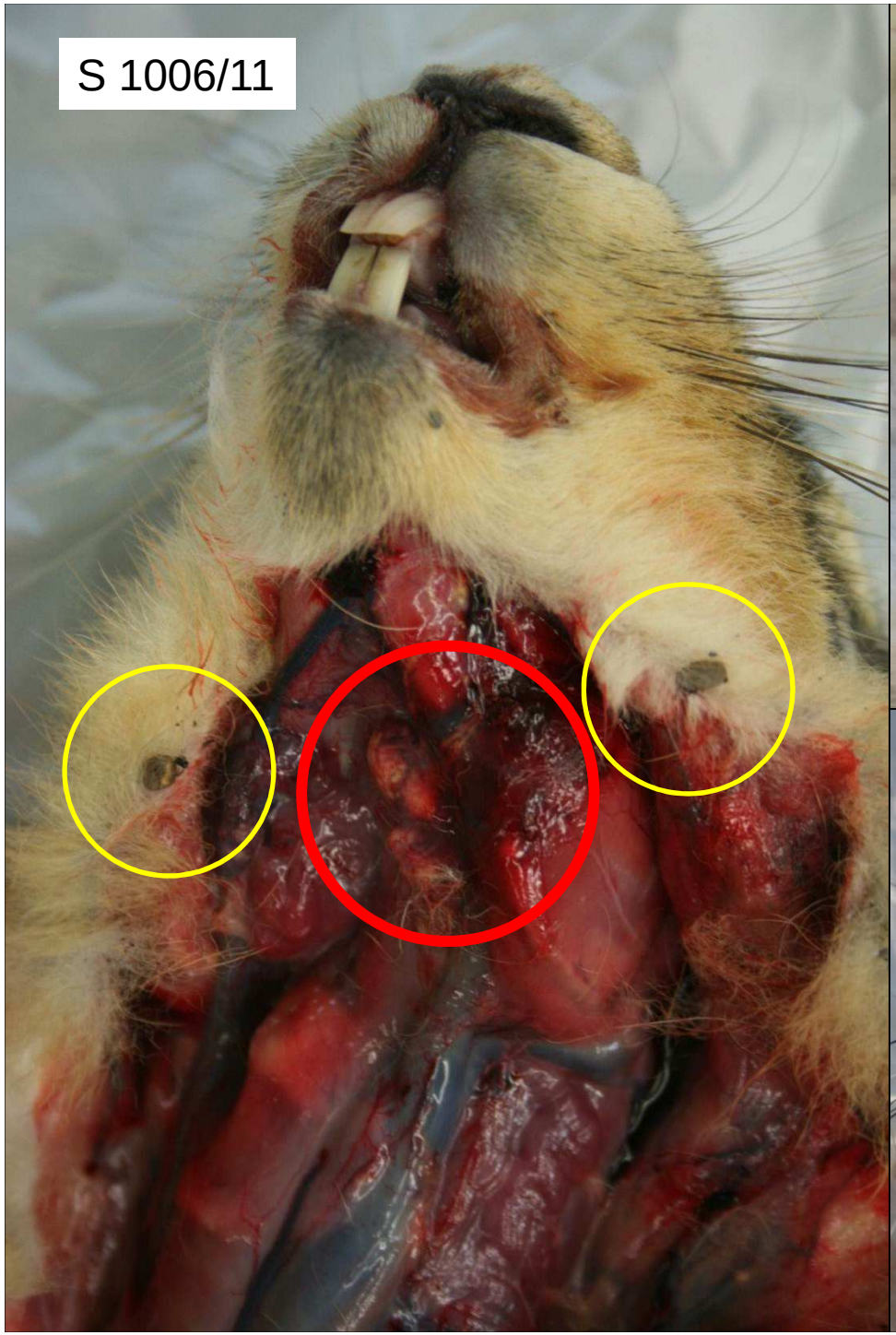



mMAb F. tularensis Clon 11/1/6
1:1000; LPS des Live Vaccine Strain
(LVS), alkaline phosphatase
red detection kit
IHC am DPZ Göttingen; Dr. K. Mätz-Rensing

Chemisches und
Veterinäruntersuchungsamt
Westfalen



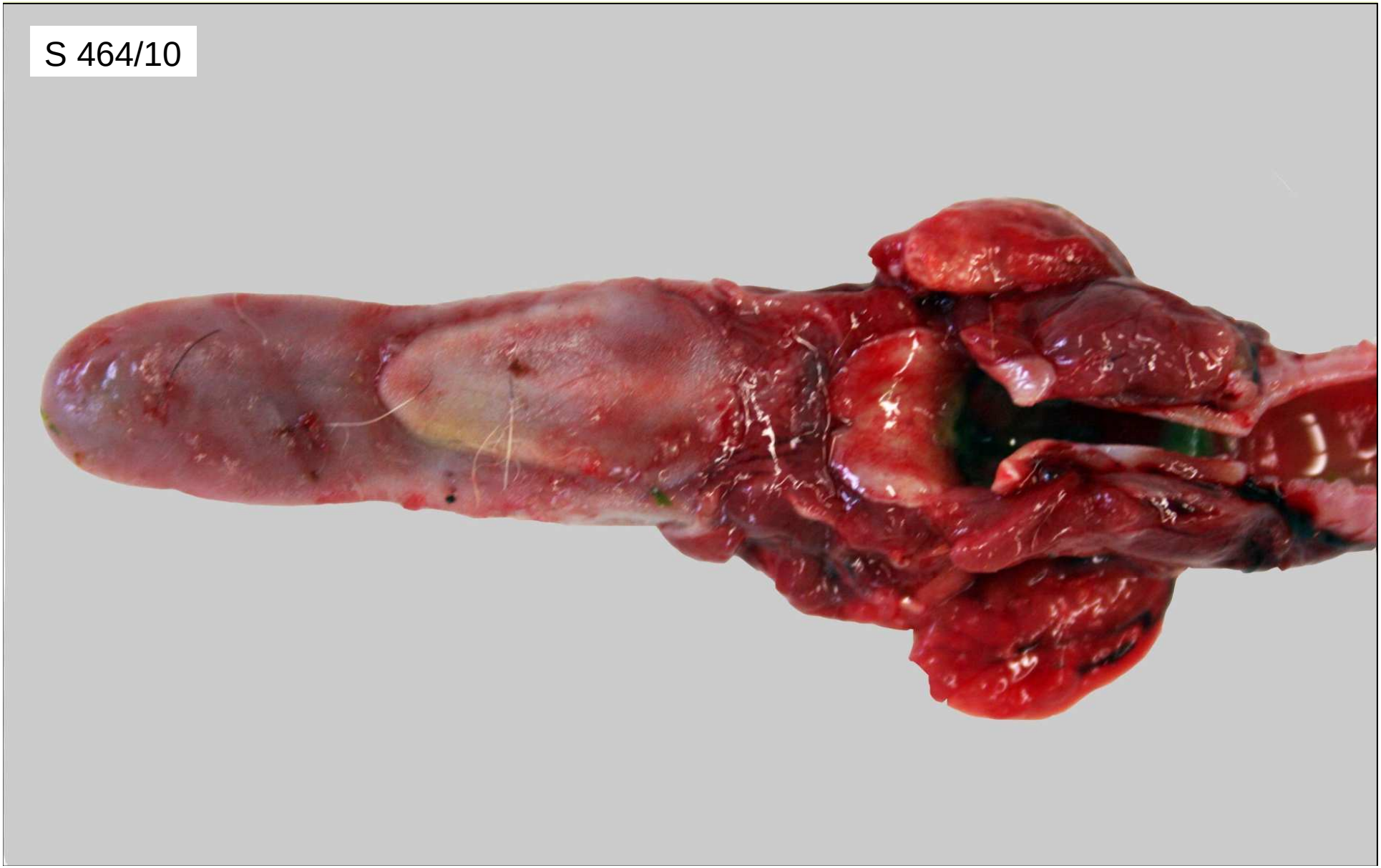

S 1713/11 HE 10x
S 1713/11 IHC 10x


S 1006/11

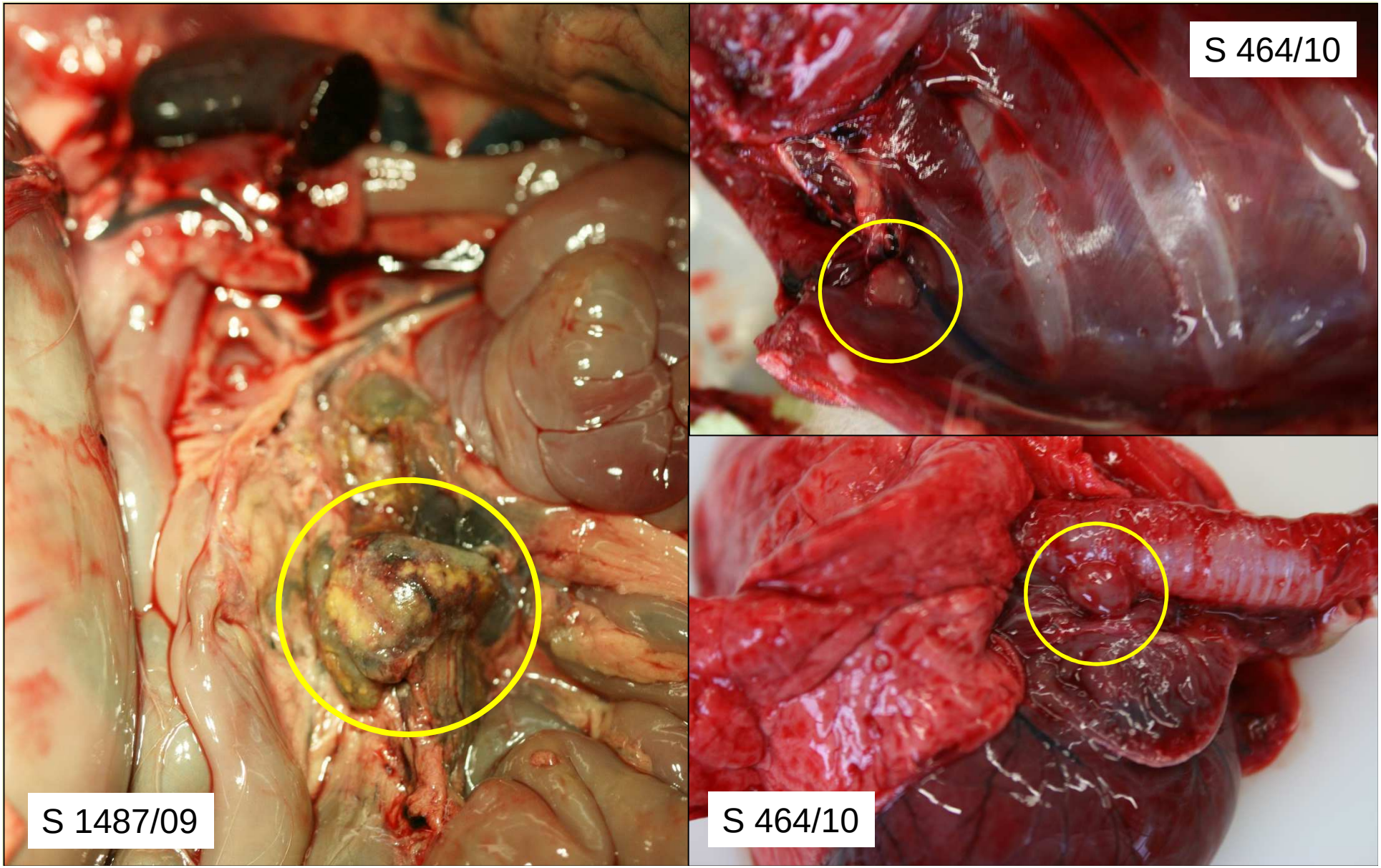
S 464/10

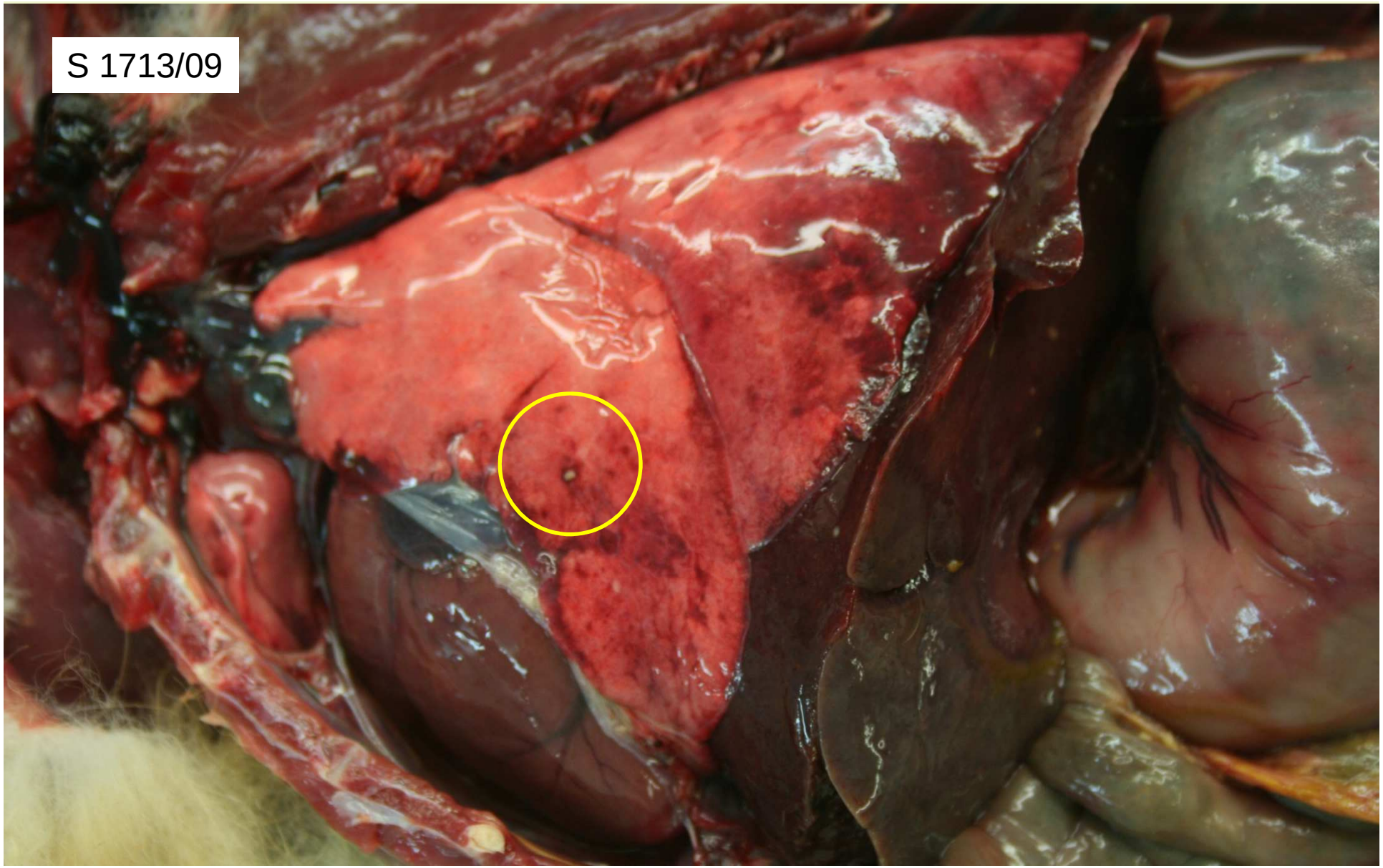
S 464/10

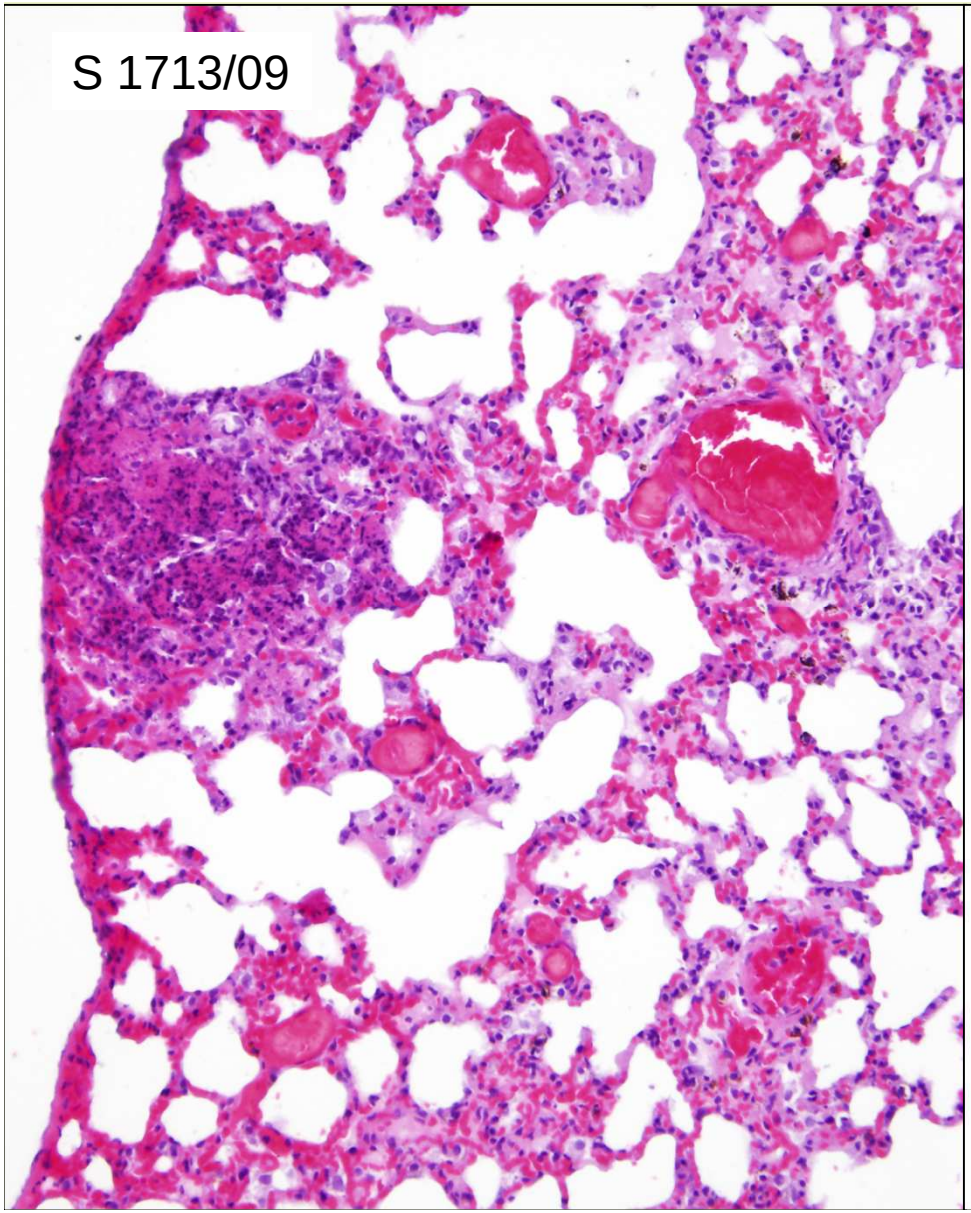
S 464/10

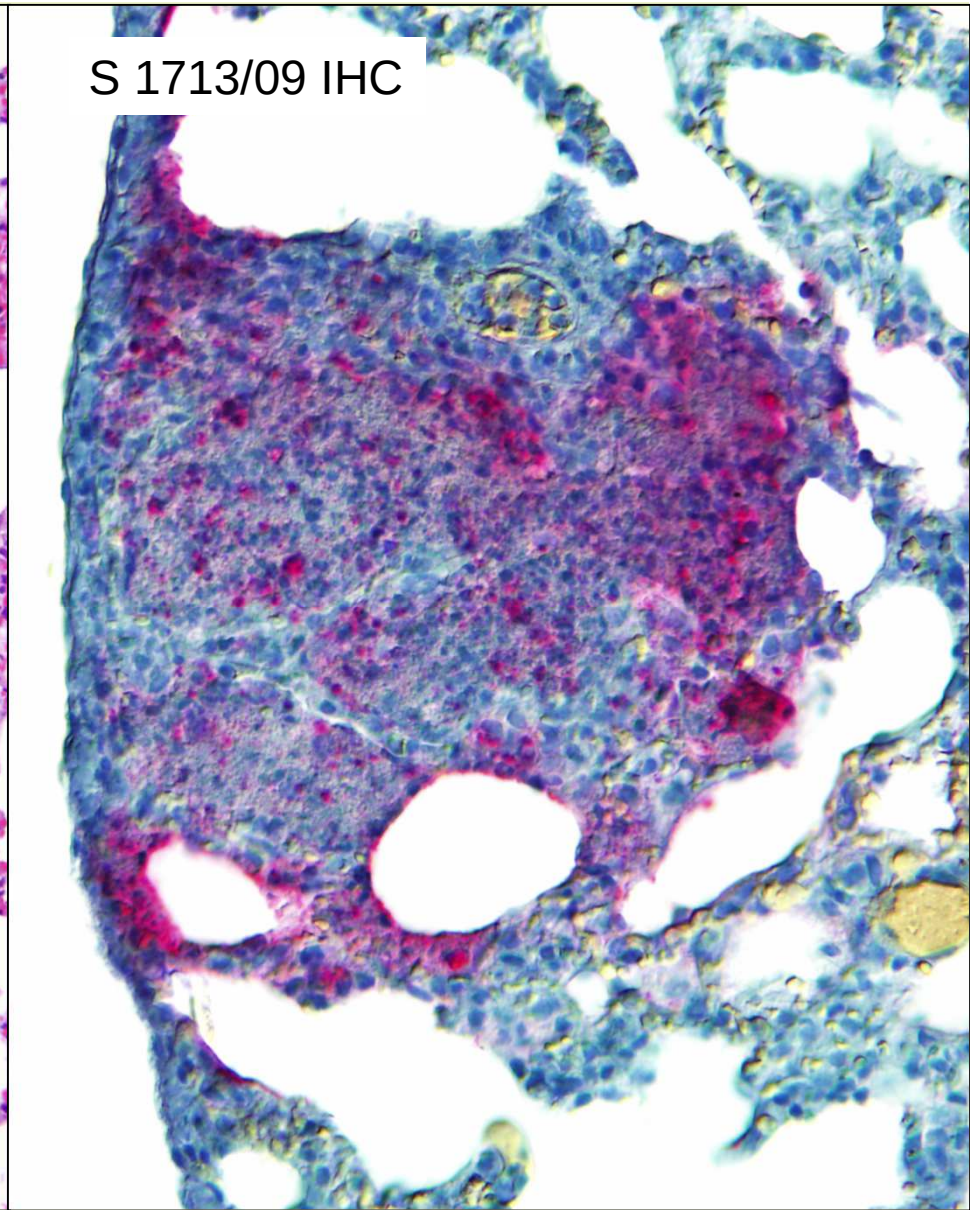


S 757/12

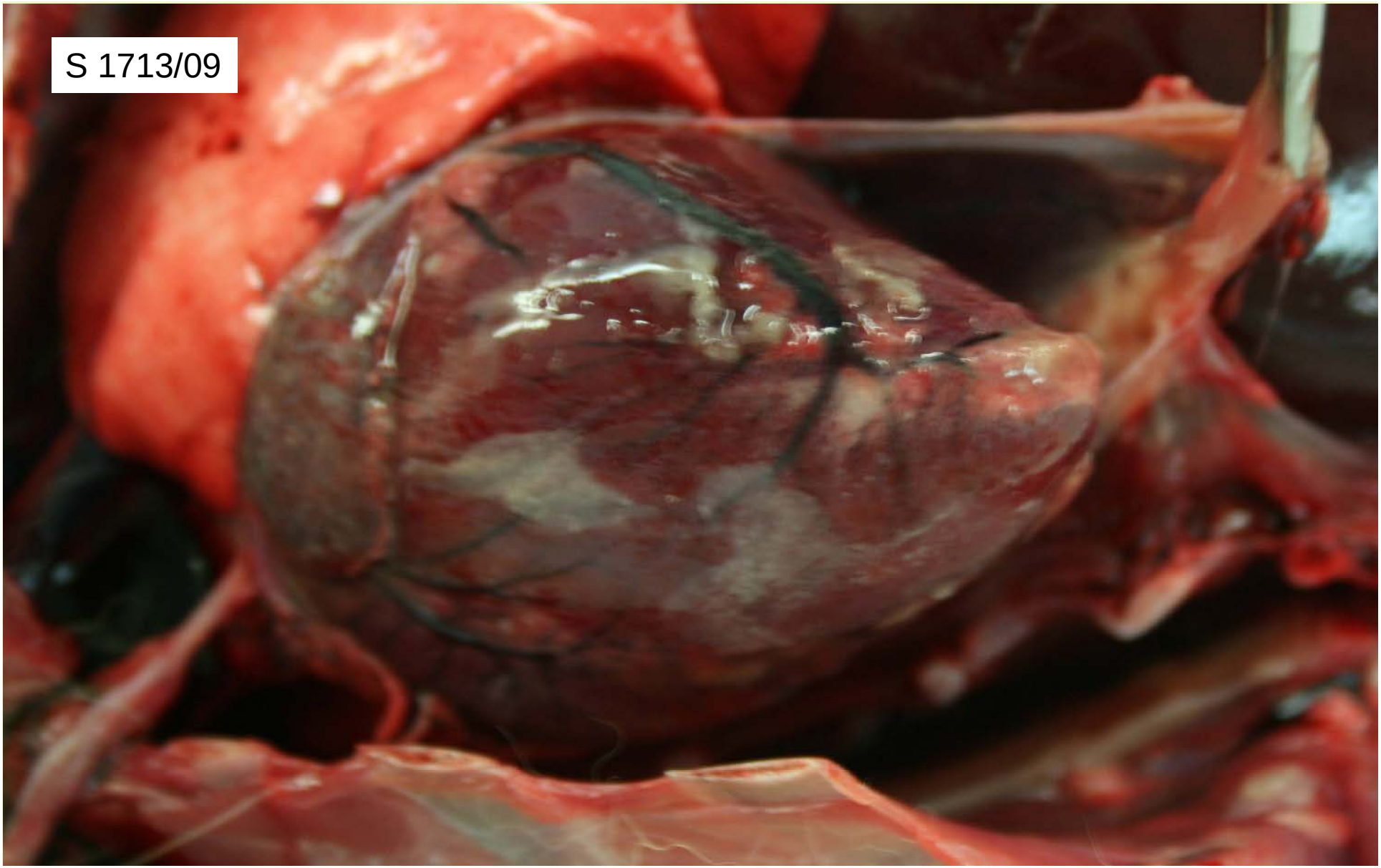

S 464/10
S 1487/09
S 464/10

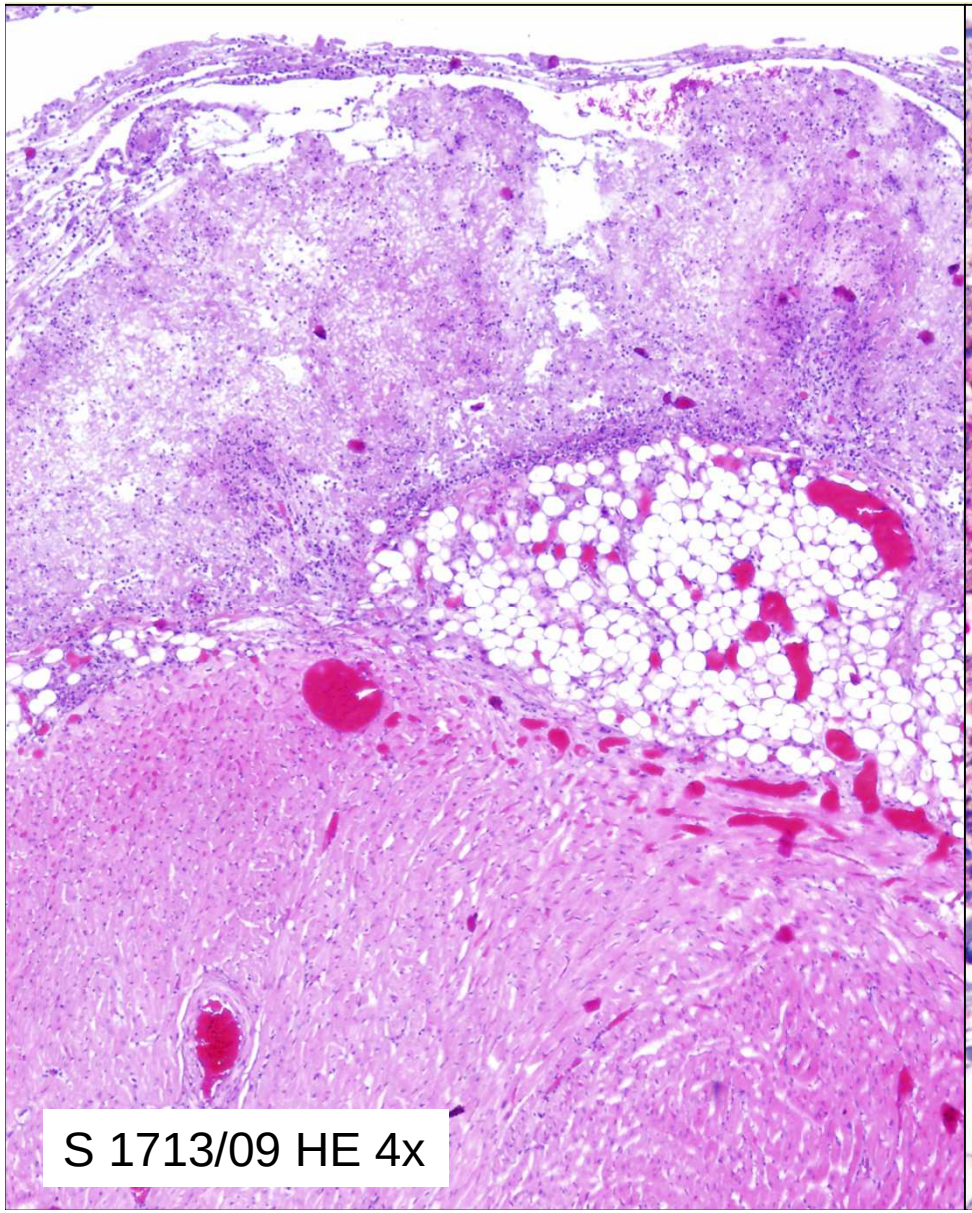

S 1713/09


S 1713/09

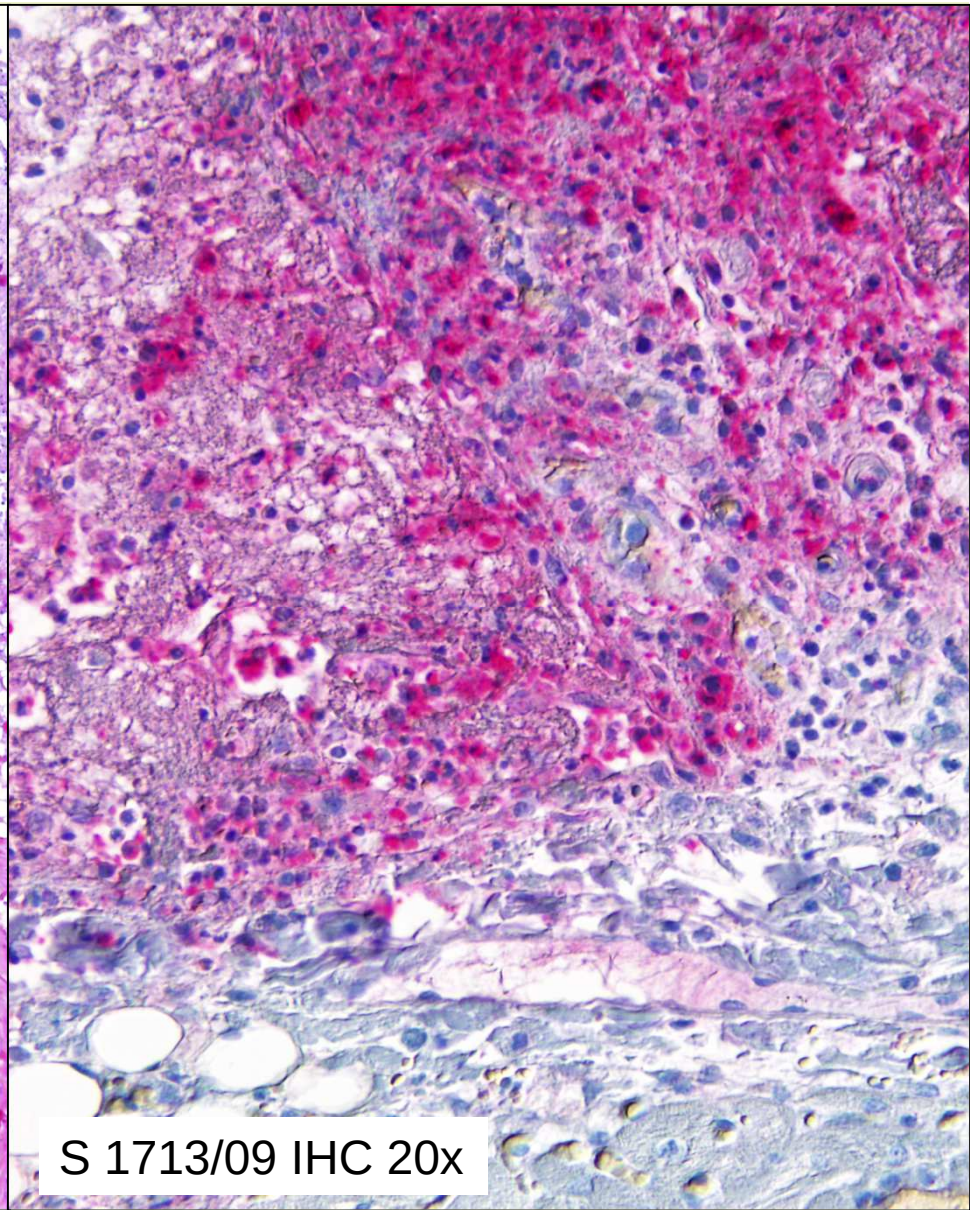

S 1713/09 IHC

Chemisches und
Veterinäruntersuchungsamt
Westfalen

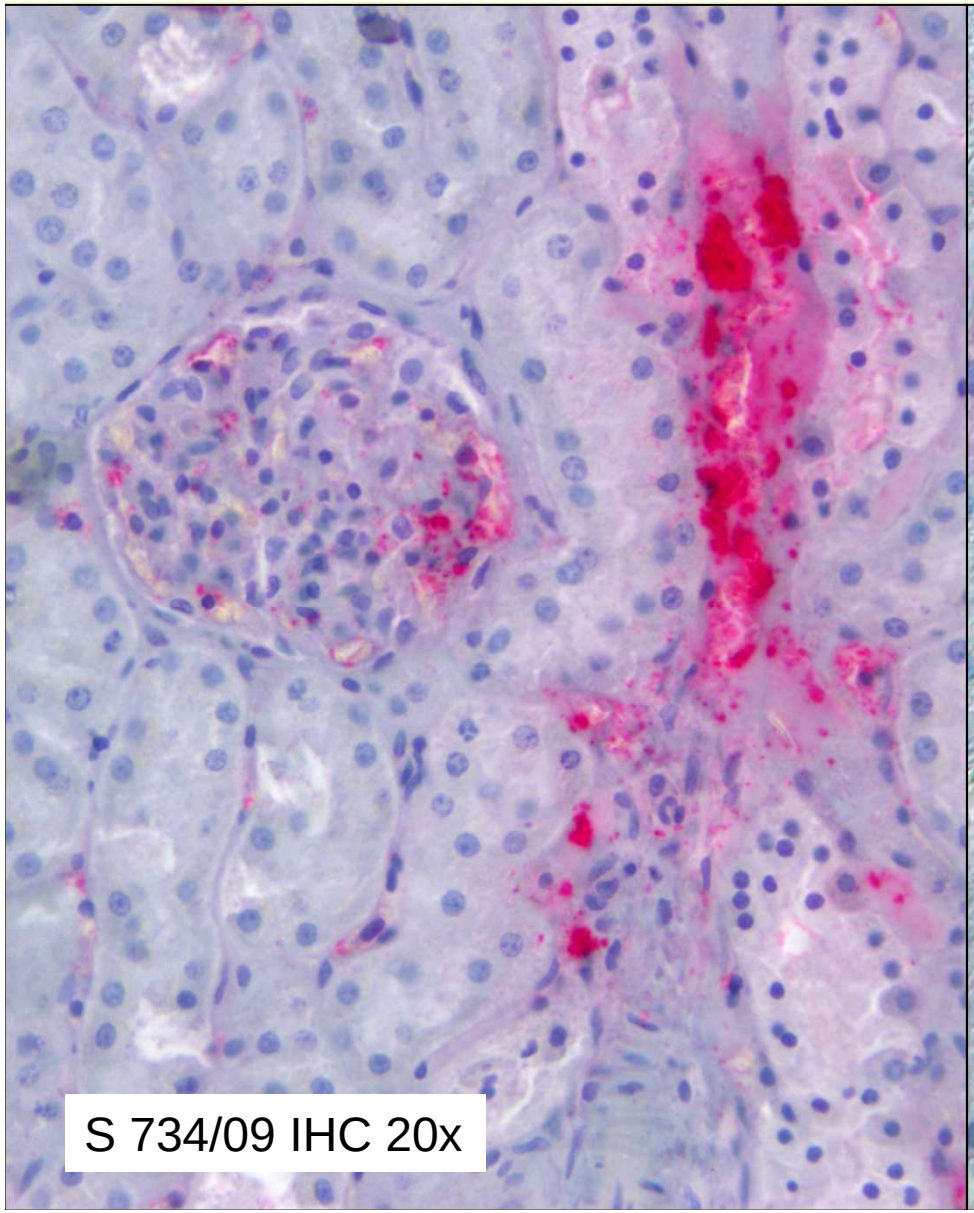


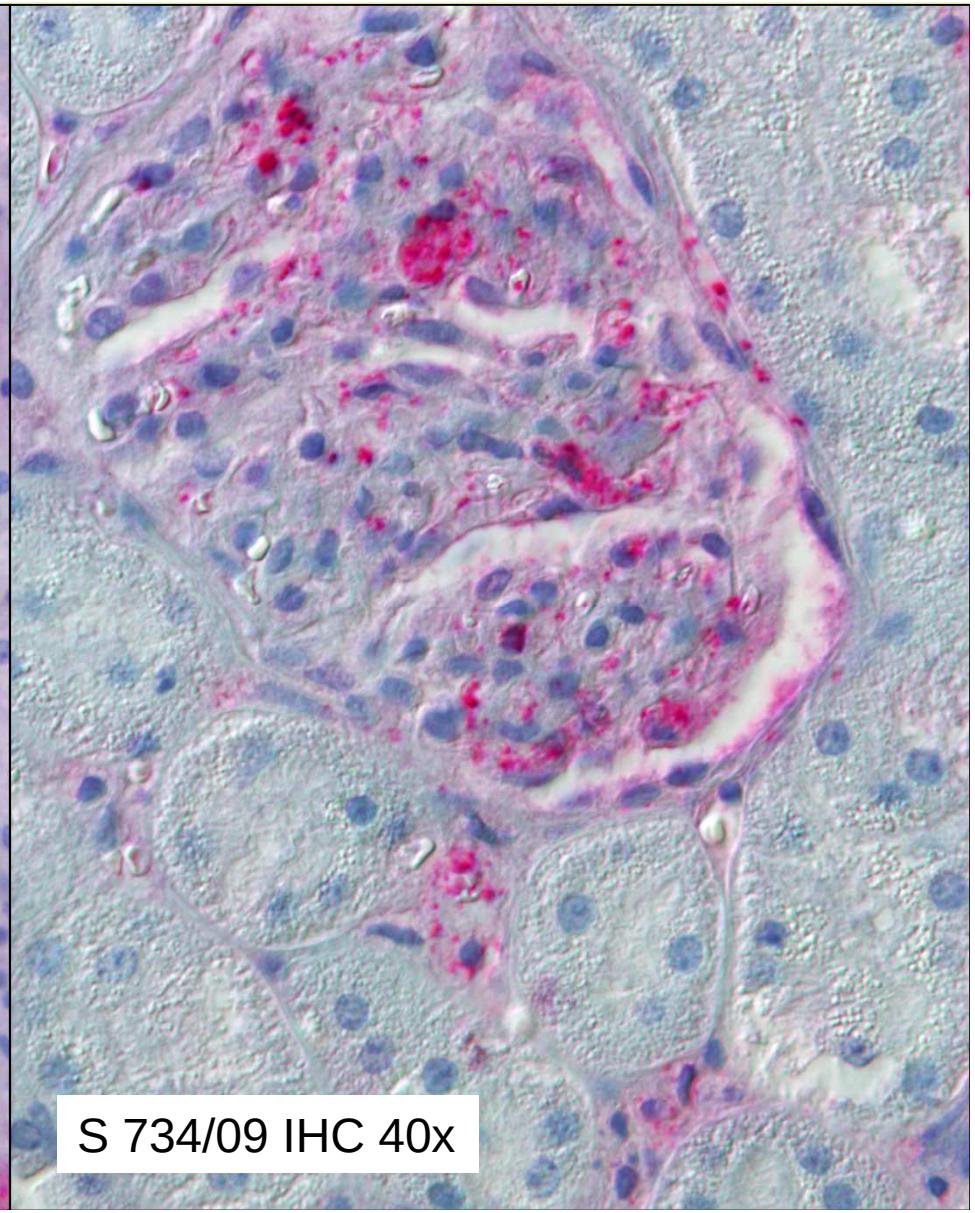


S 1713/09 HE 4x



S 1713/09 IHC 20x

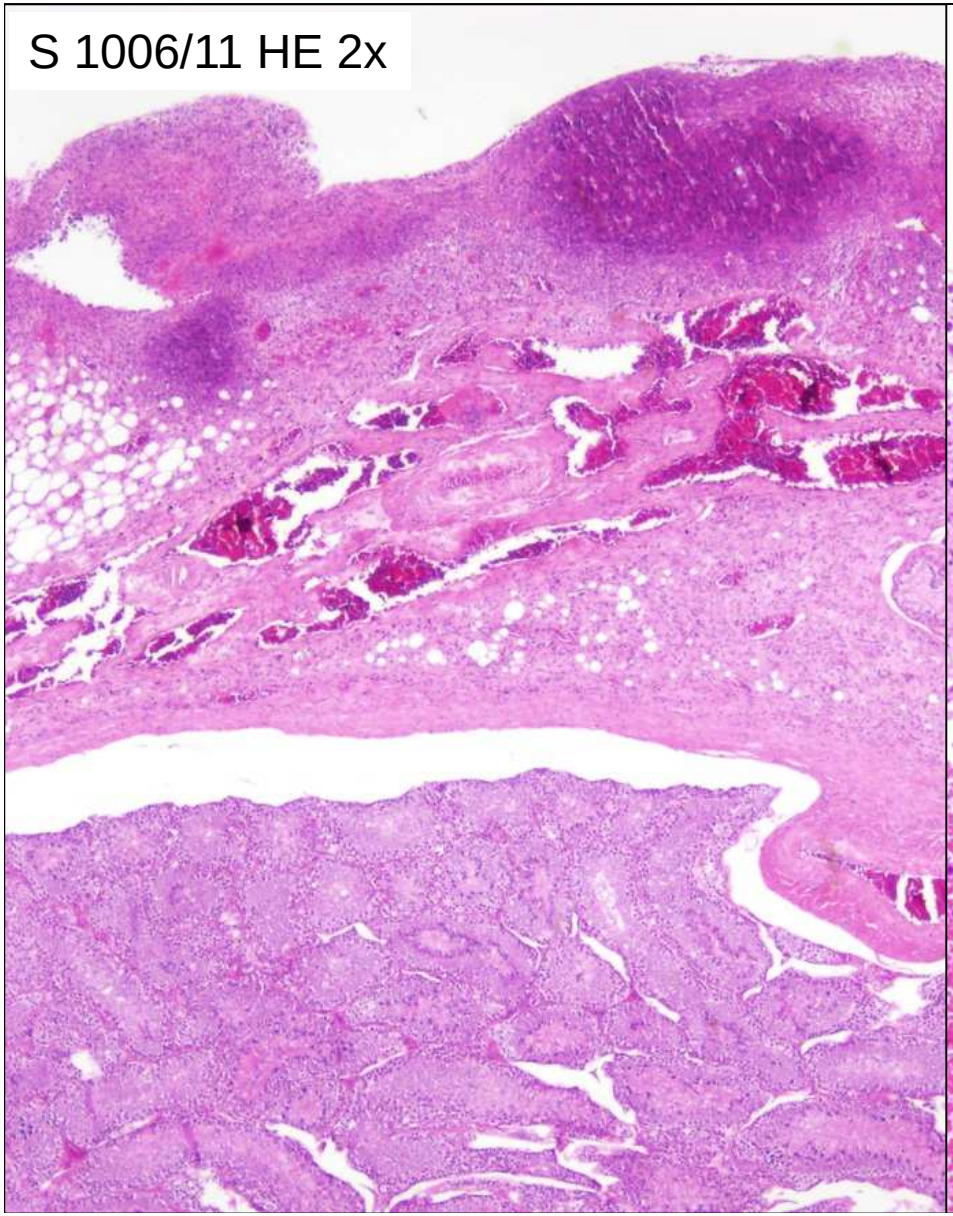

S 734/09 IHC 20x


S 734/09 IHC 40x

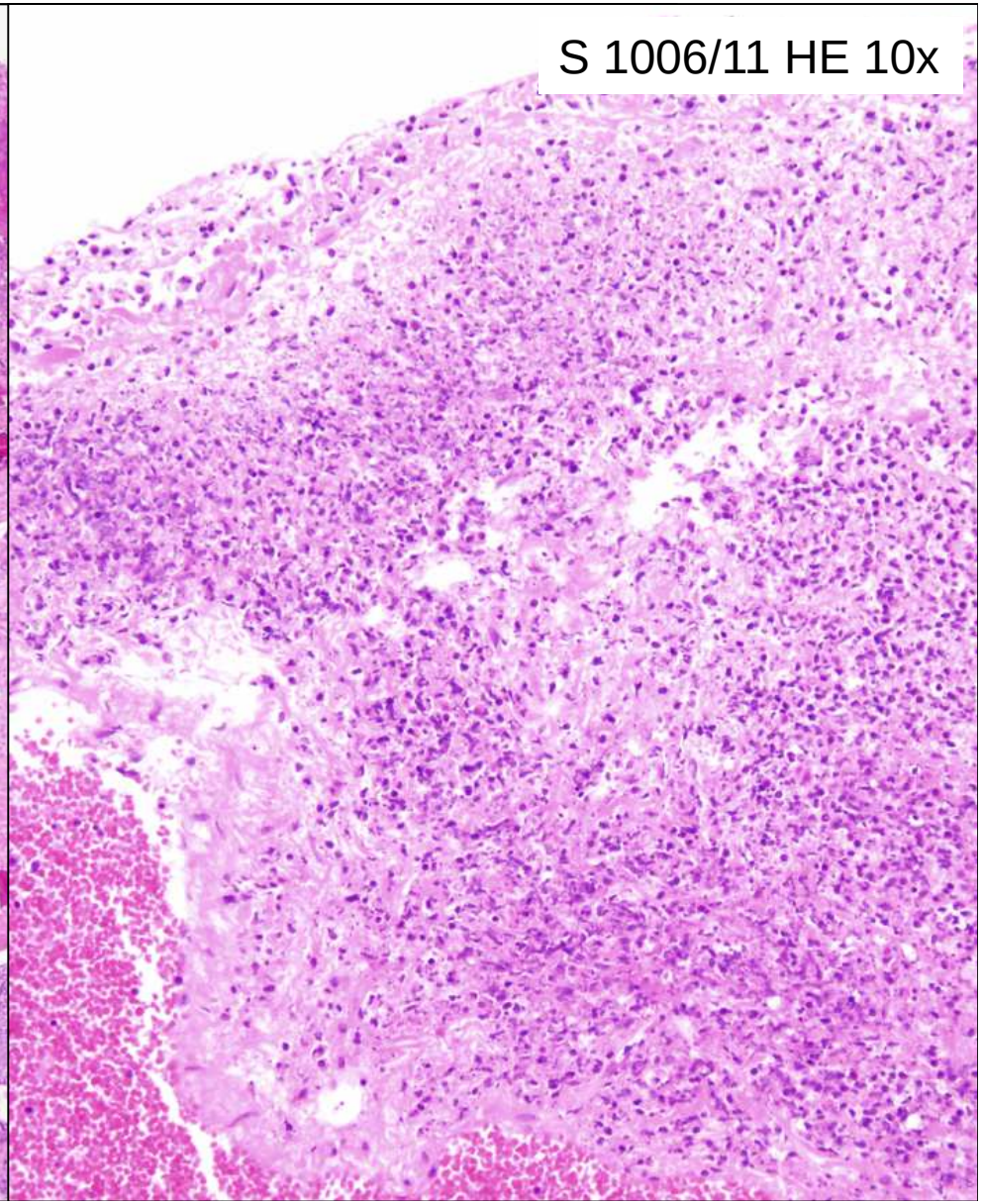
Chemisches und
Veterinäruntersuchungsamt
Westfalen

Chemisches und
Veterinäruntersuchungsamt
Westfalen

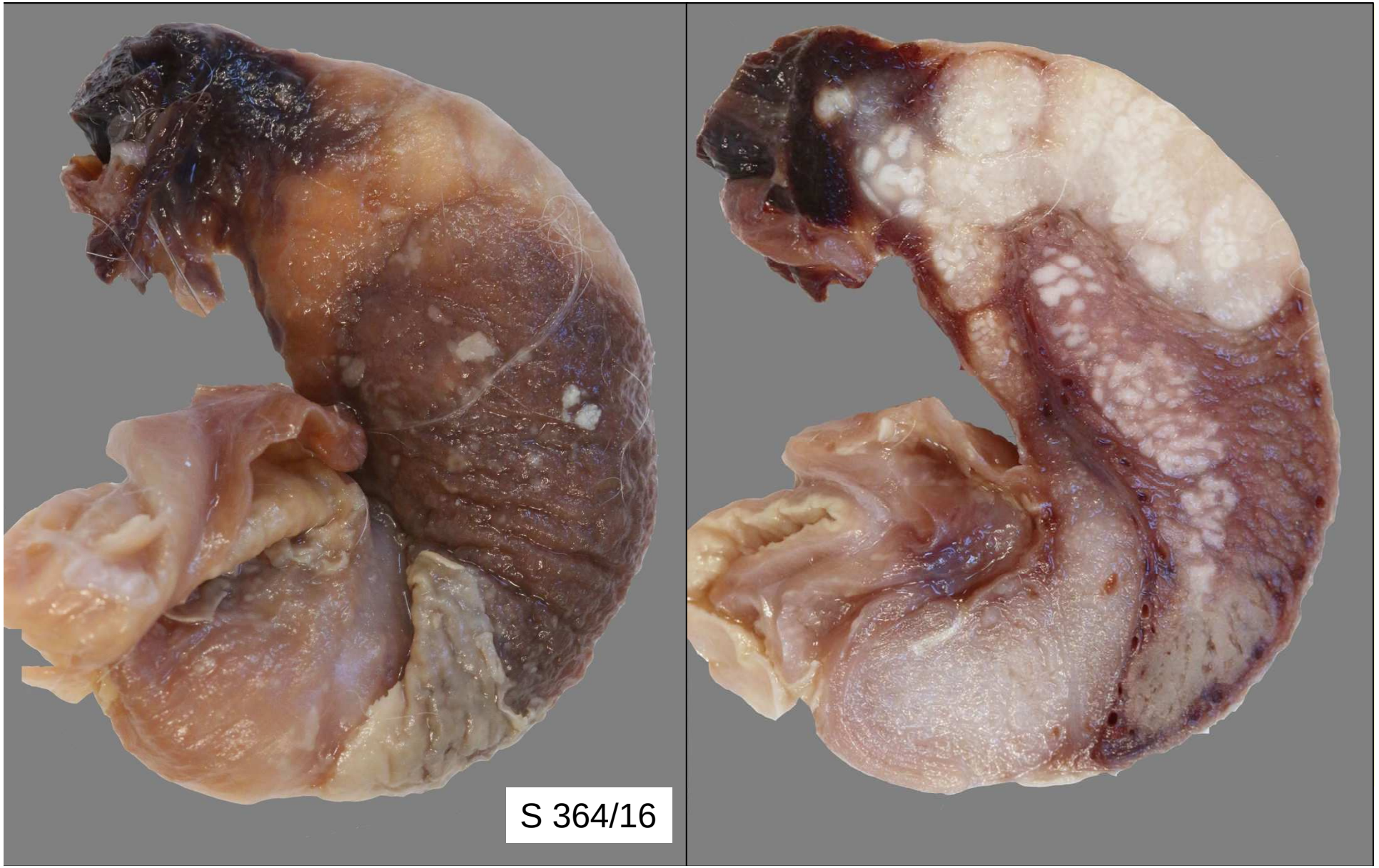
S 1006/11 HE 2x



S 1006/11 HE 10x



Chemisches und
Veterinäruntersuchungsamt
Westfalen



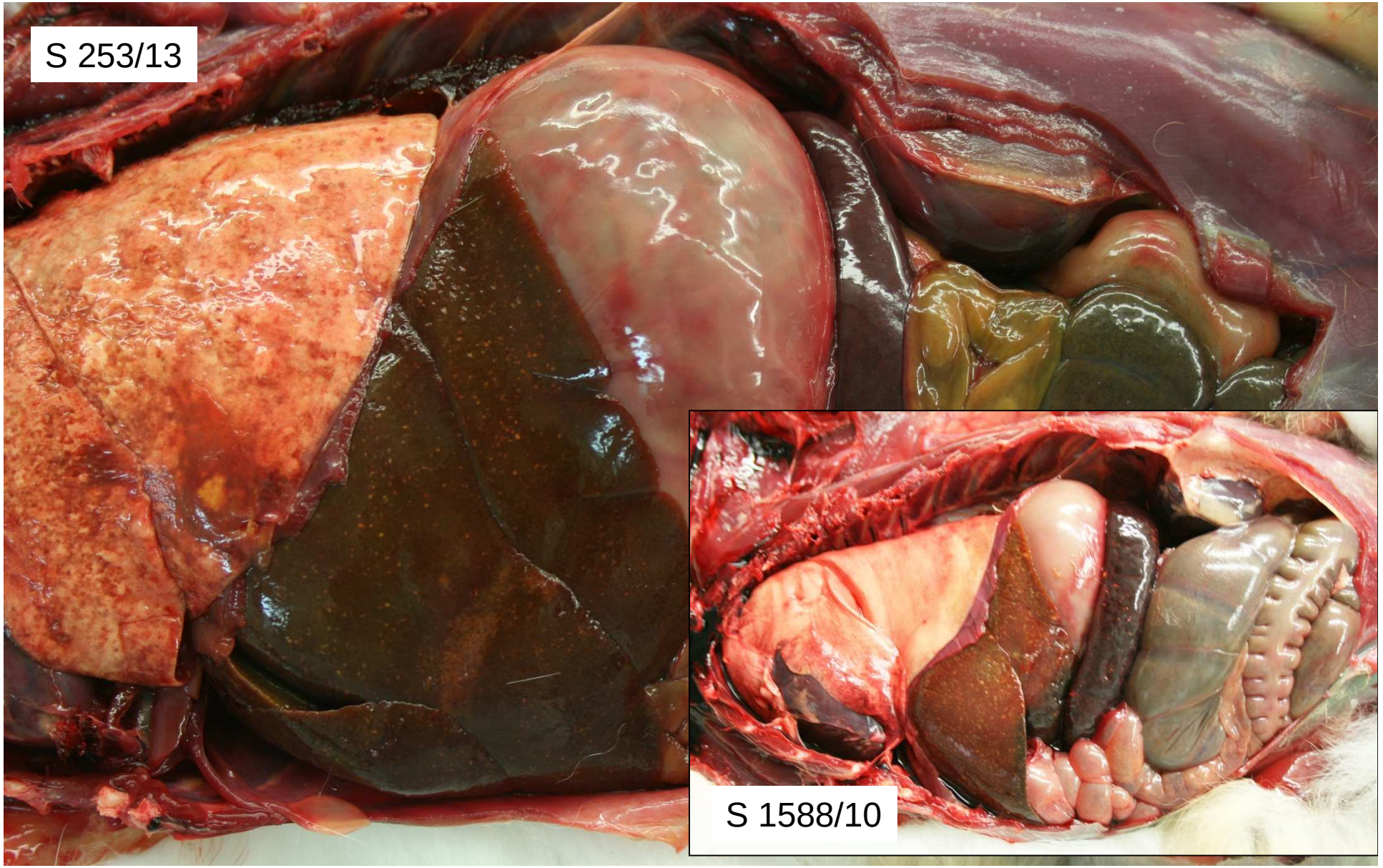
DD Pseudotuberkulose

Chemisches und
Veterinäruntersuchungsamt
Westfalen

DD Pseudotuberkulose

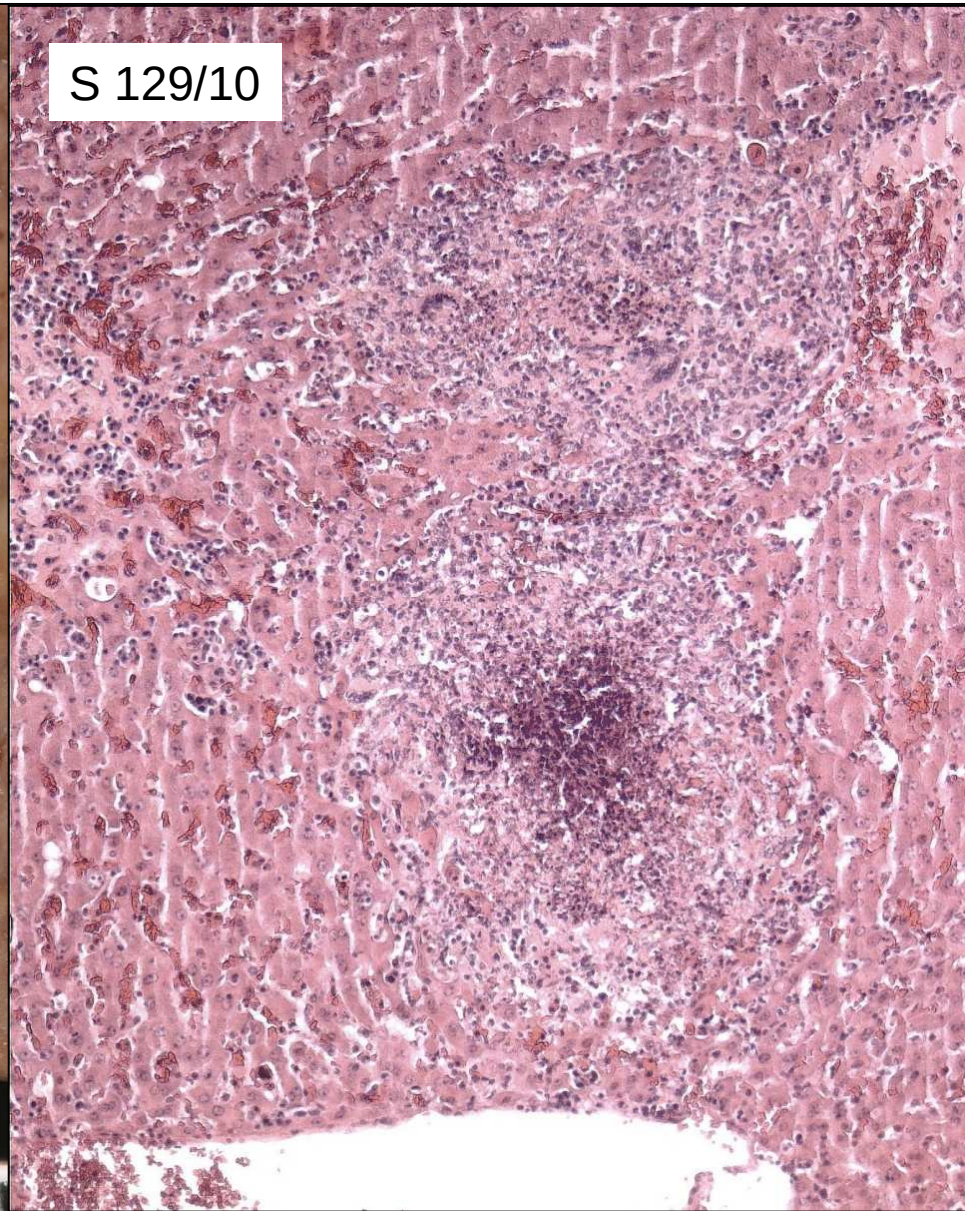
Chemisches und
Veterinäruntersuchungsamt
Westfalen

S 129/10


S 253/13
S 1588/10

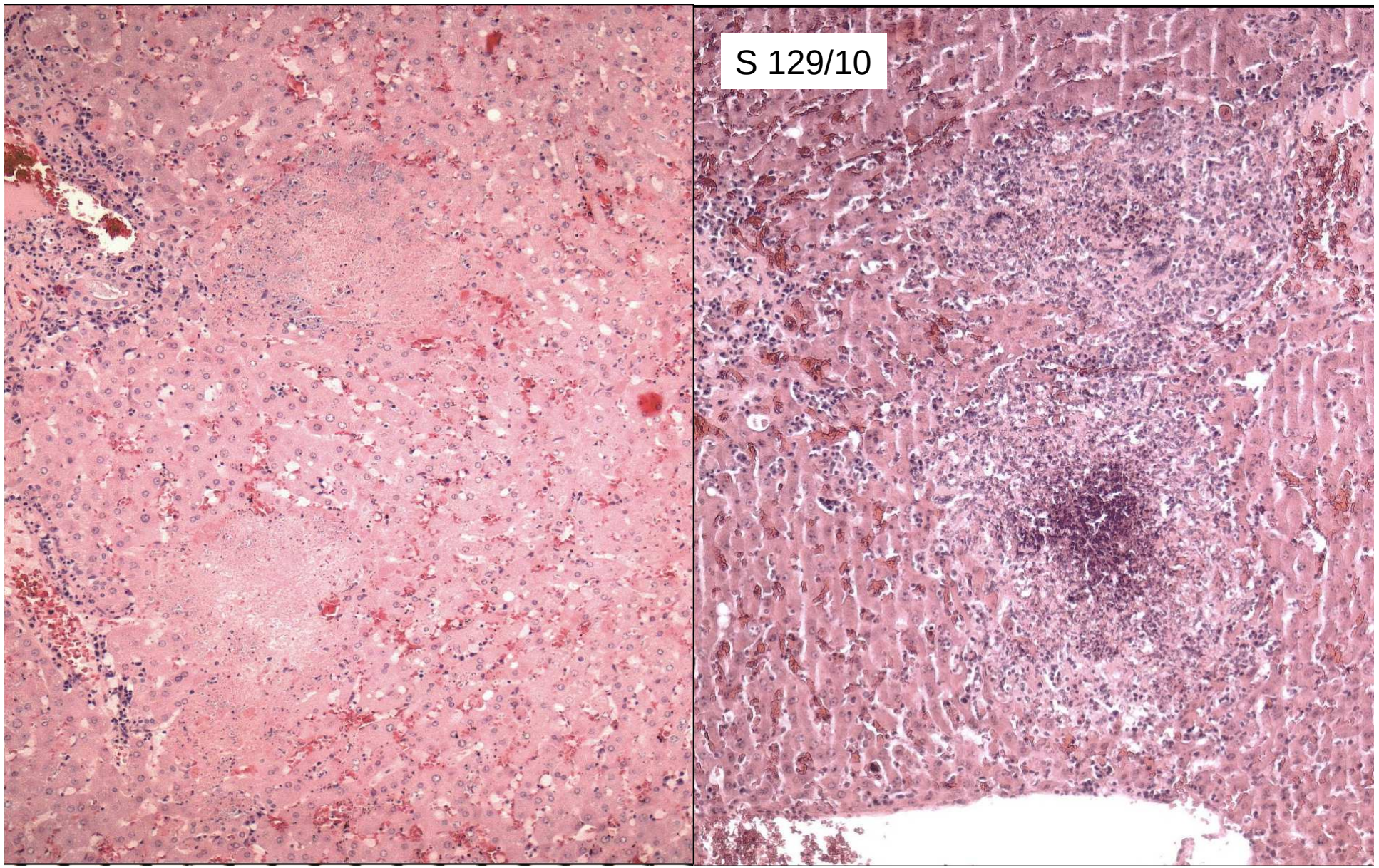
DD Pseudotuberkulose

Chemisches und
Veterinäruntersuchungsamt
Westfalen



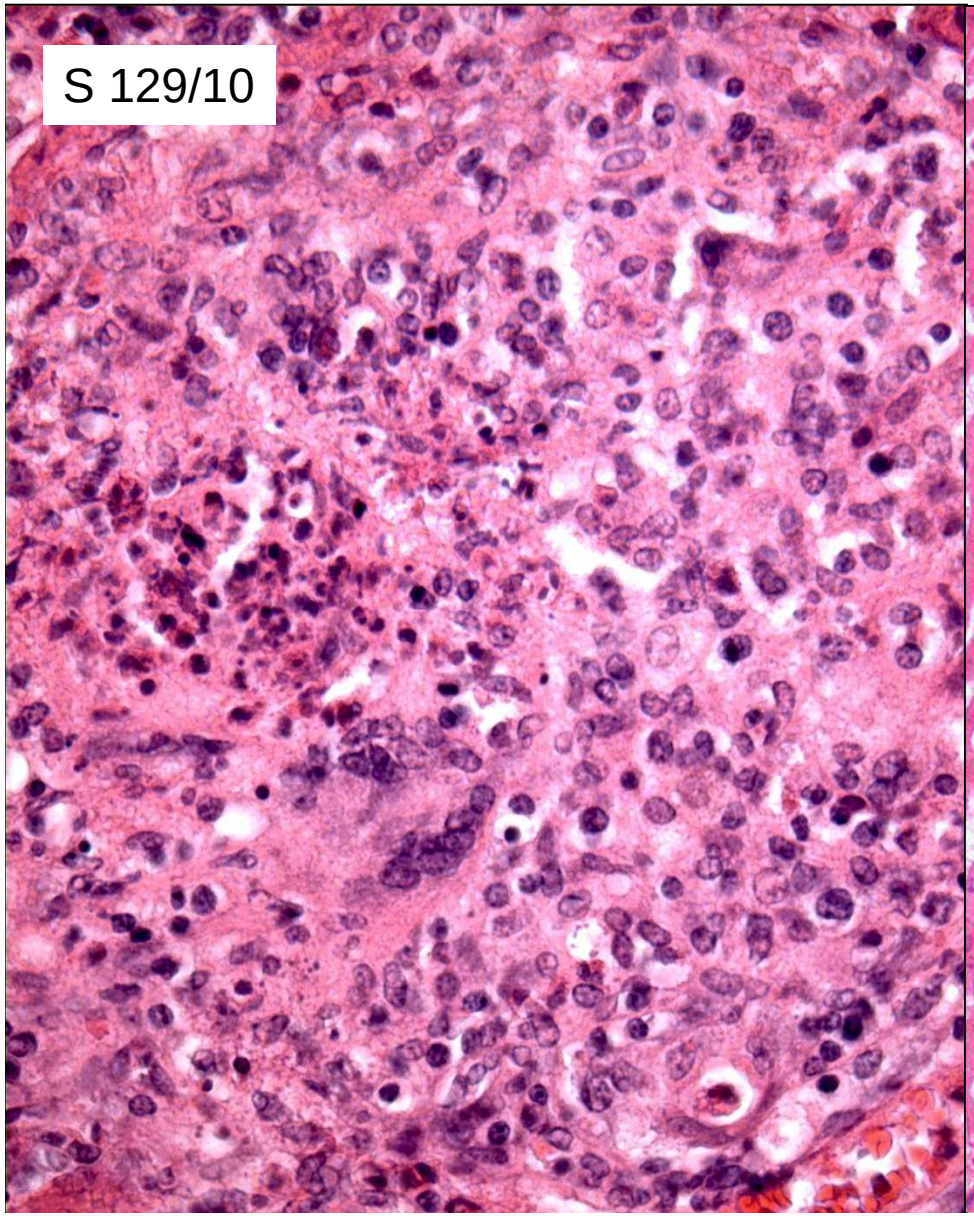
DD Pseudotuberkulose

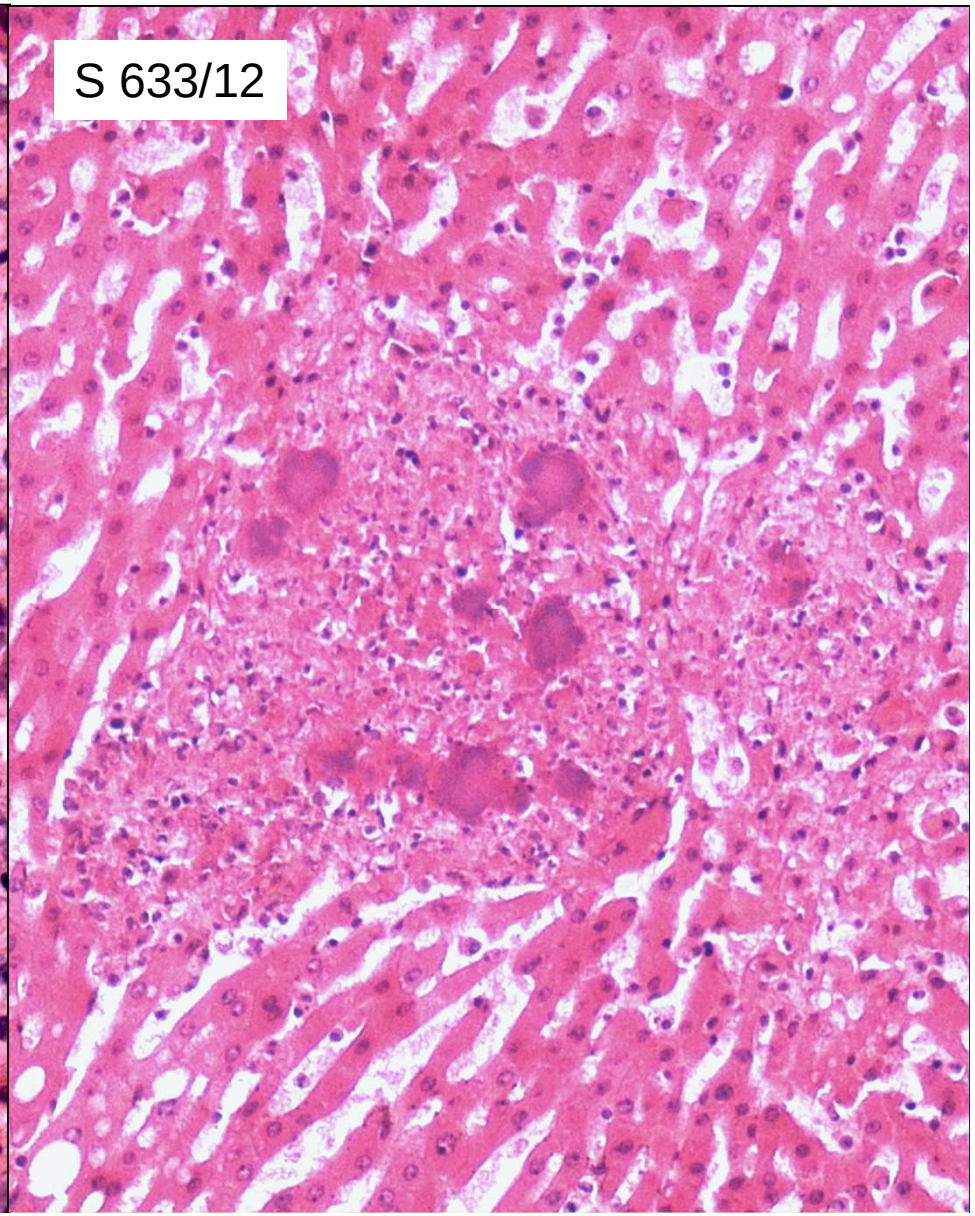
Chemisches und
Veterinäruntersuchungsamt
Westfalen



DD Pseudotuberkulose

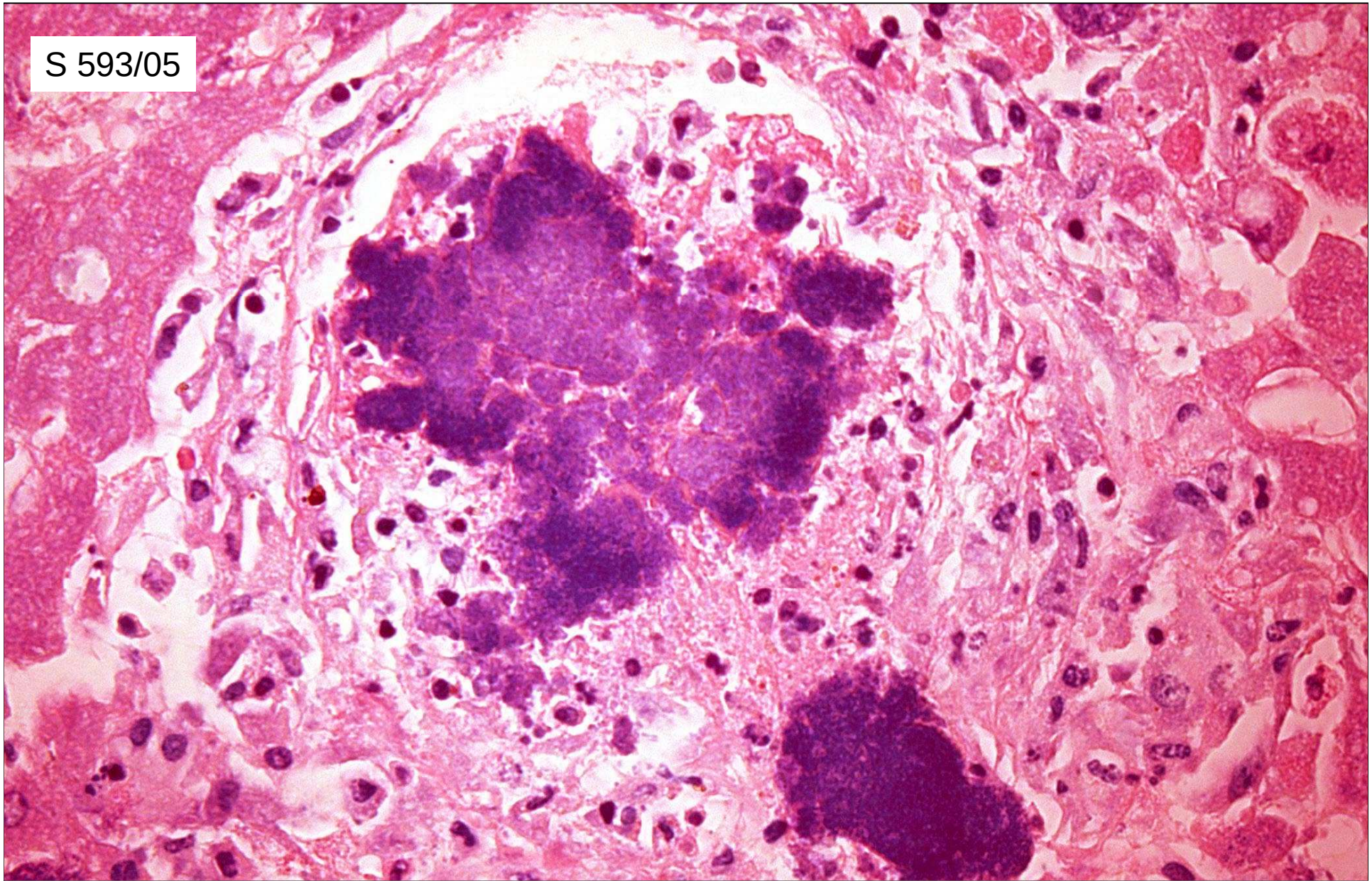
Chemisches und
Veterinäruntersuchungsamt
Westfalen





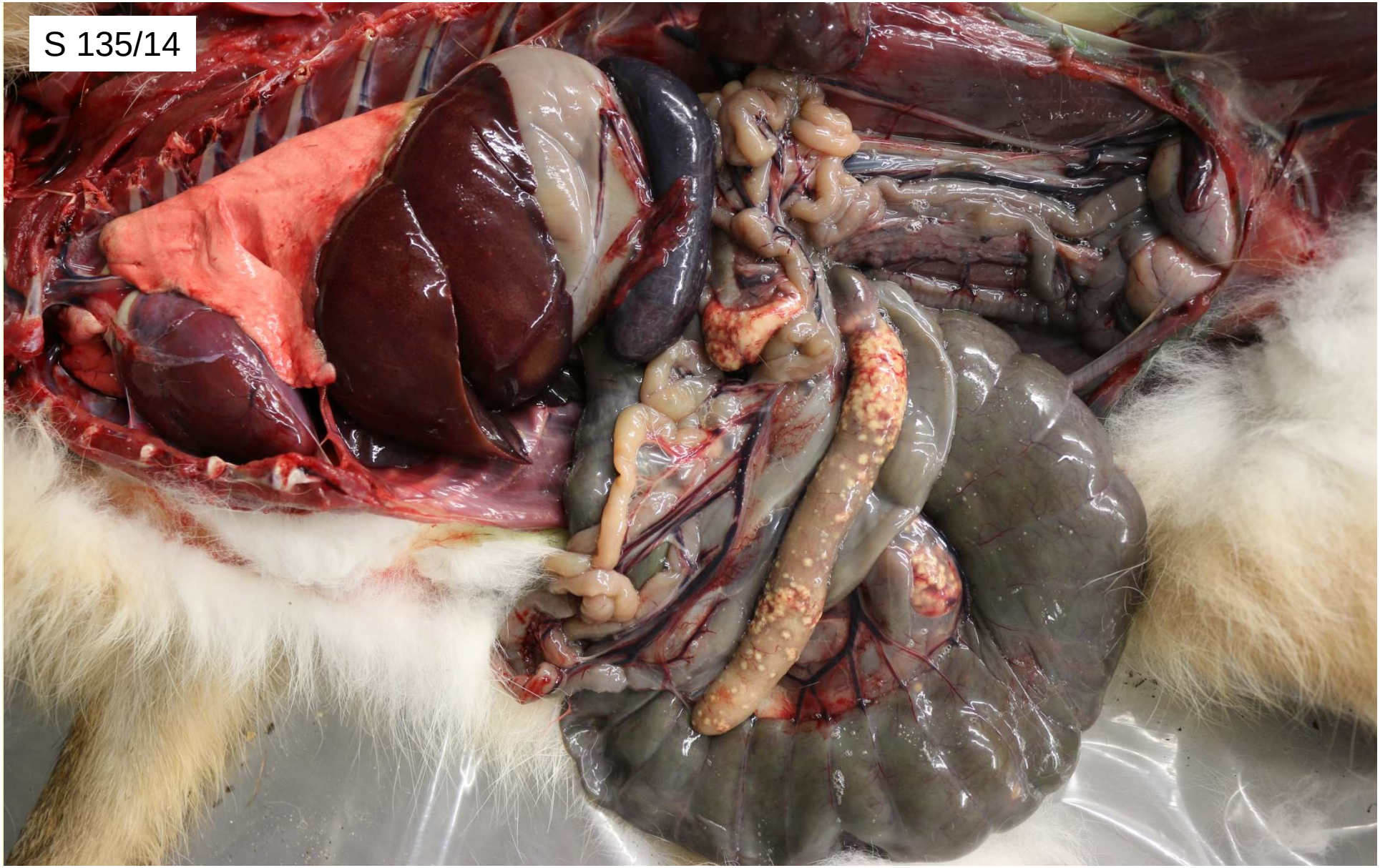
DD Pseudotuberkulose

Chemisches und
Veterinäruntersuchungsamt
Westfalen



DD Pseudotuberkulose

Chemisches und
Veterinäruntersuchungsamt
Westfalen



DD Pseudotuberkulose

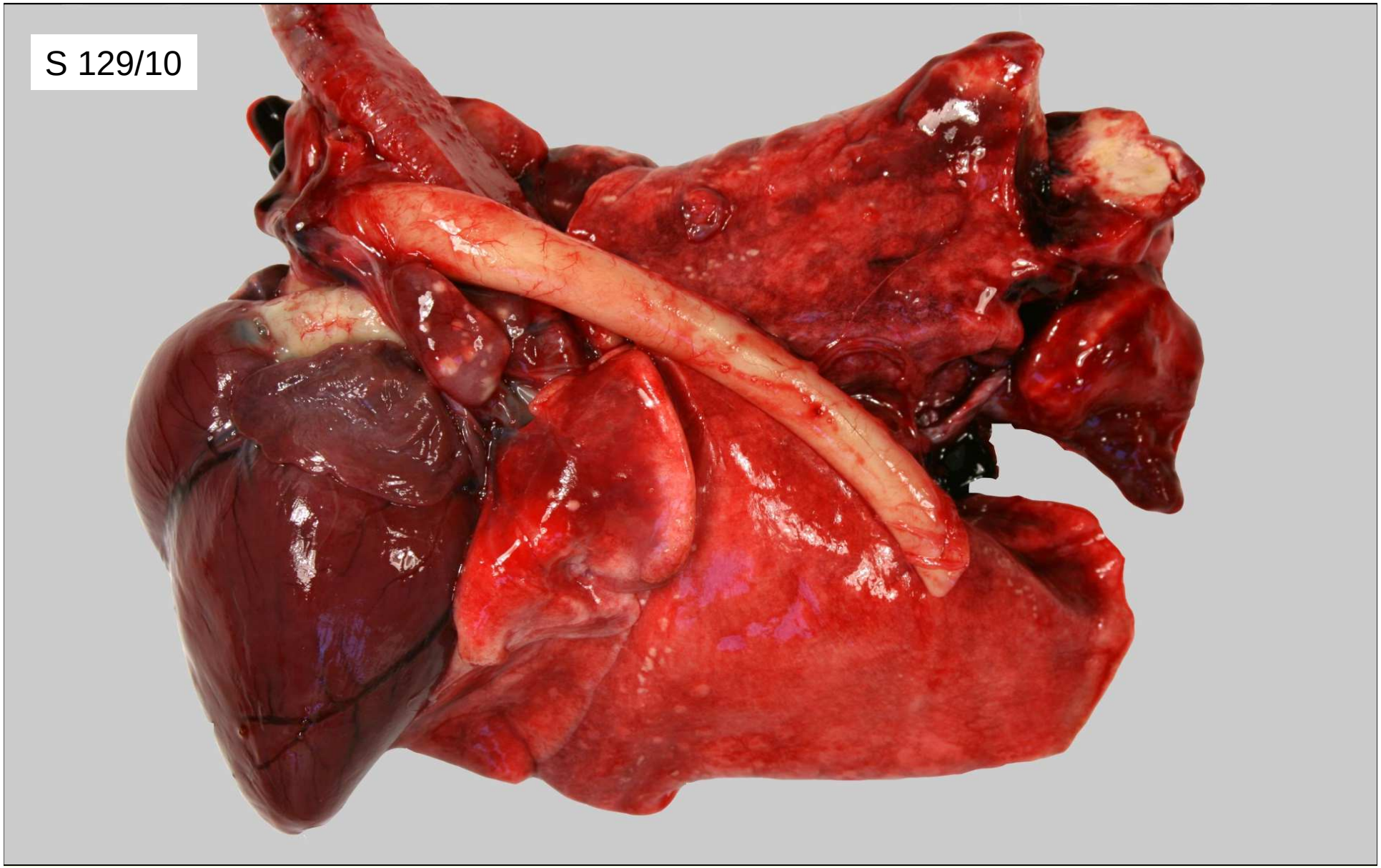
Chemisches und
Veterinäruntersuchungsamt
Westfalen

DD Pseudotuberkulose

Chemisches und
Veterinäruntersuchungsamt
Westfalen

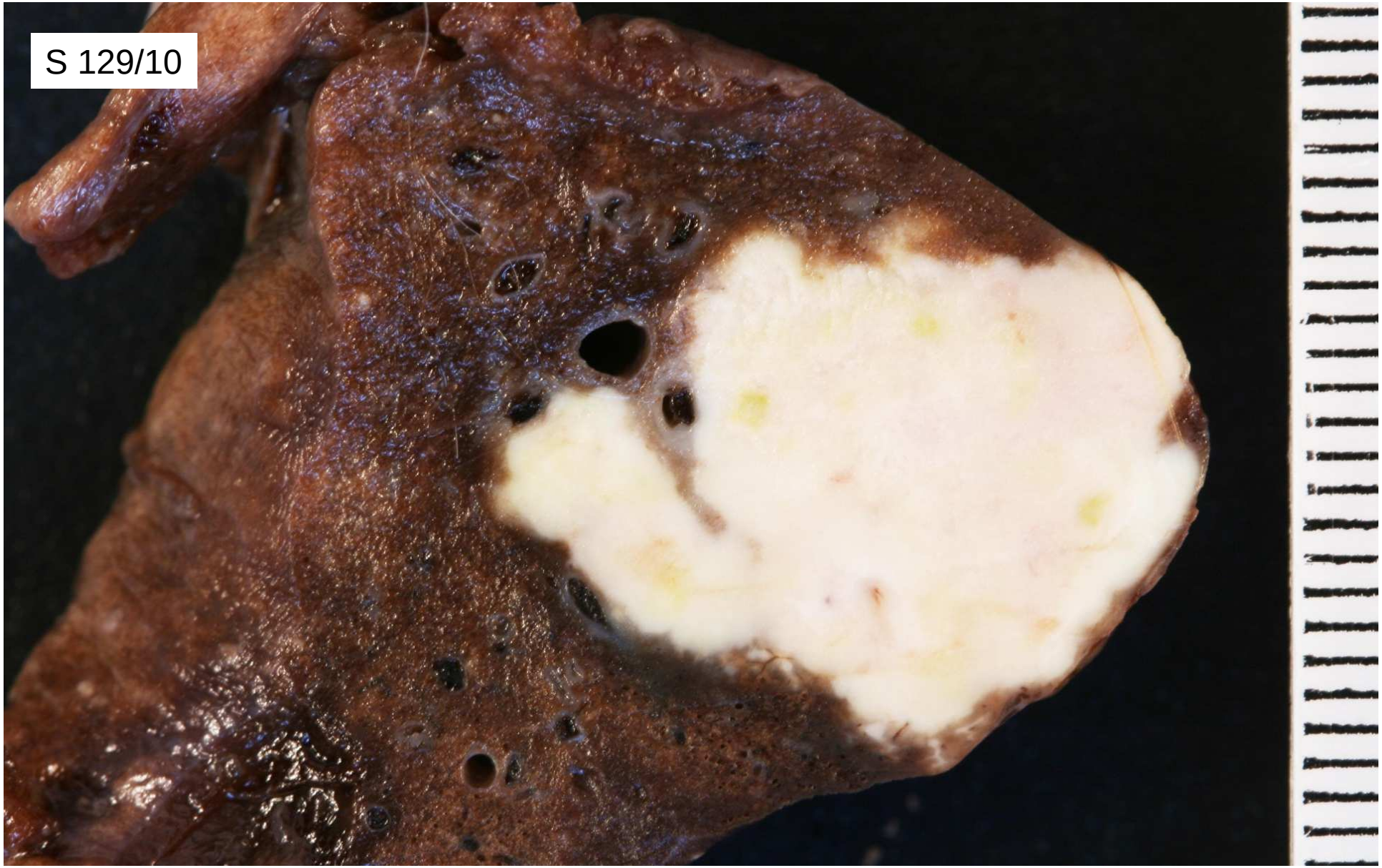
DD Pseudotuberkulose

Chemisches und
Veterinäruntersuchungsamt
Westfalen



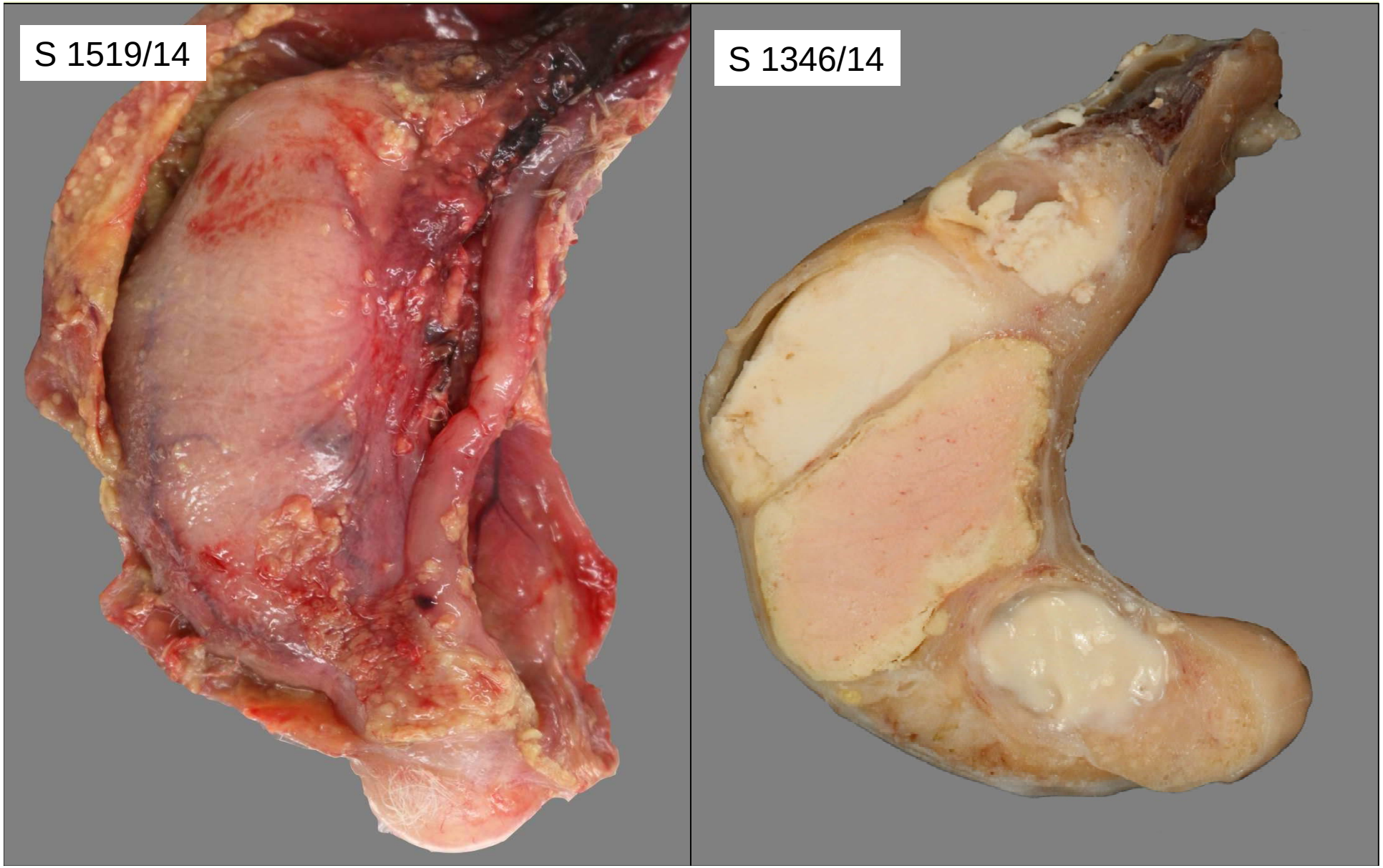
DD Pseudotuberkulose

Chemisches und
Veterinäruntersuchungsamt
Westfalen



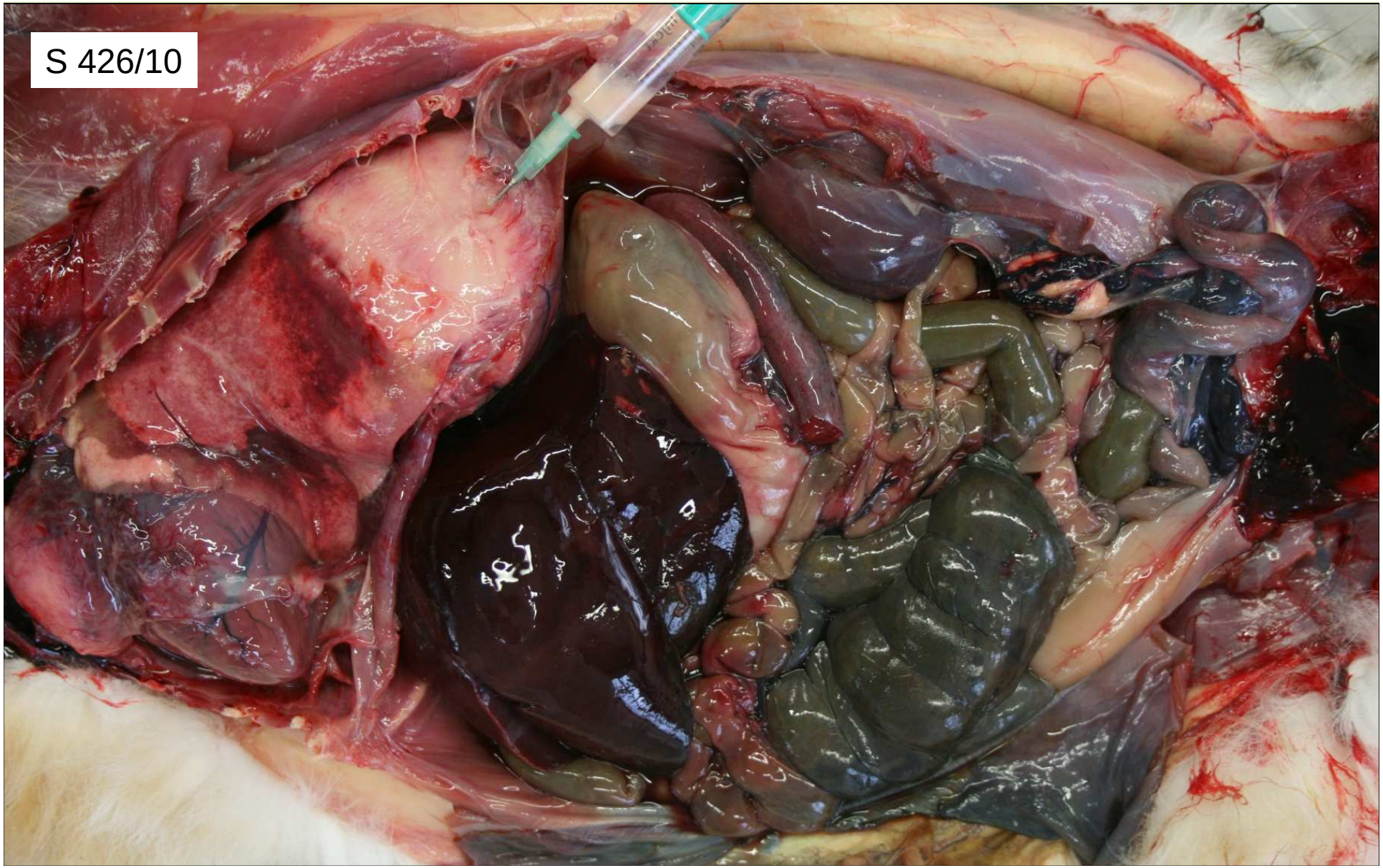
DD Pseudotuberkulose

Chemisches und
Veterinäruntersuchungsamt
Westfalen



DD Pasteurellose

Chemisches und
Veterinäruntersuchungsamt
Westfalen



DD Pasteurellose

Chemisches und
Veterinäruntersuchungsamt
Westfalen

DD Pasteurellose

Chemisches und
Veterinäruntersuchungsamt
Westfalen

S 207/07

DD Bruzellose

Fazit

- **Tularämie** ist in Deutschland eine reemerging disease mit zoonotischem Potenzial

- Kein Aufbrechen von Hasen ohne Handschuhe !!!!

- Leitbefunde bei Tularämie:
  - Milz- und Lymphknotenschwellungen,
  - evt. Herdnekrosen in der Leber ggf. mit Ikterus

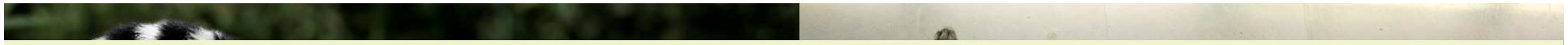
Die pathomorphologischen Befunde sind hinweisend, aber nicht beweisend für eine Tularämie !!

Fazit

- Hasen mit unnatürlichem Verhalten, verendet aufgefundene Hasen sowie Hasen mit verdächtigen Organbefunden sollten immer zur weiteren Diagnostik eingesandt werden.

- Wichtige pathomorphologische Differenzialdiagnosen sind Pseudotuberkulose, Pasteurellose und Bruzellose.

Chemisches und
Veterinäruntersuchungsamt
Westfalen



Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit !

Besonderen Dank an
Dr. K. Mätz-Rensing (DPZ-Göttingen) für die immunhistologischen Untersuchungen
und an
Dr. Peter Wohlsein (Institut für Pathologie,TiHo Hannover) für
histologische Aufnahmen