

Tierärztliche Hochschule Hannover

Vorkommen und Bedeutung von *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* Infektionen in zoologischen Gärten: Literaturübersicht und Untersuchungen im Zoologisch-Botanischen Garten Wilhelma

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
- Doctor medicinae veterinariae -
(Dr. med. vet.)

vorgelegt von
Marco Roller
Nagold

Hannover 2020

Wissenschaftliche Betreuung:

Prof. Dr. Ralph Goethe
Institut für Mikrobiologie
Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
Prof. Dr. Dr. Claus-Peter Czerny (†)
Abteilung Mikrobiologie und Tierhygiene,
Department für Nutztierwissenschaften
Georg-August-Universität Göttingen

1. Gutachterin(nen)/Gutachter:

Prof. Dr. Ralph Goethe
Institut für Mikrobiologie
Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover

2. Gutachterin(nen)/Gutachter:

Prof. Prof. h. c. Dr. Ursula Siebert
Institut für Terrestrische und Aquatische
Wildtierforschung
Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover

Tag der mündlichen Prüfung:

11.11.2020

Diese Studie wurde mitfinanziert durch die Grimminger-Stiftung für
Zoonosenforschung (GSZ).

Meiner Familie

Teile der vorliegenden Dissertation wurden bereits auf folgenden Tagungen und in folgenden Journalen vorgestellt bzw. veröffentlicht:

PUBLIKATIONEN:

Roller, M., Hansen, S., Böhlken-Fascher, S., Knauf-Witzens, T., Czerny, C.-P., Goethe, R., Abd El Wahed, A. (2020)

Molecular and Serological Footprints of *Mycobacterium avium* Subspecies Infections in Zoo Animals

In: Vet Sci, 7(3), 117

<https://doi.org/10.3390/vetsci7030117>

ABSTRACTS:

Roller, M., Hansen, S., Knauf-Witzens, T., Goethe, R., Abd El Wahed, A., Czerny, C.-P.

Mycobacterium avium spp. *paratuberculosis* (MAP) Diagnostik in wenigen Minuten direct vor Ort – Eine neue Studie zur Paratuberkulose Prävalenz in Zoos

In: Proceedings - Oral presentation

37. Arbeitstagung Verband der Zootierärzte (VZT), Innsbruck, Austria, 2nd – 05th November 2017; Page 153-163

Roller, M., Hansen, S., Knauf-Witzens, T., Goethe, R., Czerny, C.-P., Abd El Wahed, A.

Susceptibility of zoo animals to *Mycobacterium avium* spp. *paratuberculosis*: A review of published reports

In: Proceedings - Poster

Joint Leibniz-IZW/EAZWV/ECZM Zoo and Wildlife Health Conference 2019, Kolmarden, Sweden, 12th – 15th June 2019; Page 150

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1. Allgemeine Aspekte von Infektionskrankheiten in zoologischen Gärten.....	2
1.1.1. Bedeutung von Infektionskrankheiten	2
1.1.2. Beschreibung und Dokumentation relevanter Infektionskrankheiten	3
1.1.2.1. EAZWV - Infectious Diseases Working Group.....	4
1.1.2.2. OIE - Working Group on Wildlife Diseases	6
1.1.2.3. Neuauftretende und wiederauftretende Infektionskrankheiten (Emerging and Reemerging Infectious Diseases).....	7
1.1.3. Epidemiologische Probleme	9
1.1.3.1. Diagnostik von Infektionserregern	10
1.1.3.2. Importe und Tiertransporte zwischen zoologischen Einrichtungen	10
1.1.3.3. Vergesellschaftung von Tierarten in Haltungssystemen	11
1.1.3.4. Zoonotische Infektionskrankheiten	11
1.1.4. Prävention und Kontrolle	12
1.1.4.1. Prävention und Eindämmung einer Eintragung	13
1.1.4.2. Prävention und Eindämmung einer Verbreitung	13
1.1.4.3. Balai-Richtlinie (92/65/EWG).....	14
1.2. Mykobakterielle Infektionskrankheiten in zoologischen Gärten.....	17
1.2.1. <i>Mycobacterium tuberculosis</i> Komplex (MTBC).....	19
1.2.2. <i>Mycobacterium avium</i> Komplex (MAC).....	24
1.2.3. Weitere Mykobakterien (Atypische Mykobakterien)	26
1.3. <i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>paratuberculosis</i>	29
2. Material und Methoden.....	31
2.1. Teil 1 – Literaturübersicht.....	31
2.2. Teil 2 – Untersuchungen im Zoologisch-Botanischen Garten Wilhelma.....	31
3. Ergebnisse	33
4. Manuskript A	34
5. Manuskript B	98
6. Diskussion.....	120
6.1. Empfänglichkeit und Epidemiologie.....	120
6.1.1. Wiederkäuer	122
6.1.2. Nicht-Wiederkäuer	123
6.2. Prävention und Kontrolle	124
6.2.1. Hygiene und Desinfektion	125
6.2.2. Bestandsuntersuchungen	126
6.2.3. Transport- und Quarantäneuntersuchungen	128
6.2.4. Maßnahmen bei Verdacht oder positivem Befund	128
6.3. Untersuchungen im Zoologisch-Botanischen Garten Wilhelma	129
6.4. Fazit und Ausblick	132
7. Literaturverzeichnis	133
7.1. Gesetze und Verordnungen	168
8. Anhang.....	170
9. Zusammenfassung.....	176
10. Summary.....	178

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: „EAZWV Fact sheets“ unter Einbeziehung nationaler und internationaler Gesetzgebungen.....	6
--	---

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Infektionen von Zootieren mit <i>Mycobacterium tuberculosis</i> Komplex.....	20
Tabelle 2: Infektionen von Zootieren mit <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	21
Tabelle 3: Infektionen von Zootieren mit <i>Mycobacterium africanum</i>	21
Tabelle 4: Infektionen von Zootieren mit <i>Mycobacterium bovis</i>	22
Tabelle 5: Infektionen von Zootieren mit <i>Mycobacterium microti</i>	23
Tabelle 6: Infektionen von Zootieren mit <i>Mycobacterium caprae</i>	23
Tabelle 7: Infektionen von Zootieren mit <i>Mycobacterium pinnipedii</i>	23
Tabelle 8: Infektionen von Zootieren mit <i>Mycobacterium orygis</i>	23
Tabelle 9: Infektionen von Zootieren mit <i>Mycobacterium avium</i> Komplex.....	24
Tabelle 10: Infektionen von Zootieren mit <i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>avium</i>	25
Tabelle 11: Infektionen von Zootieren mit <i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>hominissuis</i>	25
Tabelle 12: Infektionen von Zootieren mit <i>Mycobacterium intracellulare</i>	25
Tabelle 13: Infektionen von Zootieren mit weiteren Mykobakterien.....	27

Abkürzungsverzeichnis

AAZV	American Association of Zoo Veterinarians
ACZM	American College of Zoological Medicine
AZA	American Association of Zoos & Aquariums
DVG	Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft
DWV	Deutschen Wildgehege Verband
e.V.	eingetragener Verein
EAZA	European Association of Zoos and Aquaria
EAZWV	European Association of Zoo and Wildlife Veterinarians
EEP	EAZA <i>Ex-Situ</i> Programm
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assays
IDWG	Infectious Diseases Working Group
IZW	Institut für Zoo- und Wildtierforschung Berlin
JZWM	Journal of Zoo and Wildlife Medicine
lat.	Lateinisch
MAA	<i>Mycobacterium avium</i> subspecies <i>avium</i>
MAC	<i>Mycobacterium avium</i> Komplex
MAH	<i>Mycobacterium avium</i> subspecies <i>hominissuis</i>
MAP	<i>Mycobacterium avium</i> subspecies <i>paratuberculosis</i>
MAS	<i>Mycobacterium avium</i> subspecies <i>silvaticum</i>
MOTT	Mycobacteria other than Tubercle Bacilli
MTBC	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> Komplex
OIE	Office International des Epizooties
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
RPA	Rekombinase-Polymerase-Amplifikation
SARS	Severe acute respiratory syndrome
TAG	Taxon Advisory Group
VdZ	Verband der Zoologischen Gärten
VZT	Verband der Zootierärzte
WAZA	World Association of Zoos and Aquaria

1. Einleitung

Zoologische Gärten erfüllen durch ihren Beitrag zum Erhalt der biologischen Vielfalt einen wichtigen gesellschaftlichen Auftrag. Durch die Ausstellung und Präsentation von exotischen und heimischen Wildtieren erfolgt einerseits eine Sensibilisierung der Bevölkerung hinsichtlich Fragen des Natur- und Umweltschutzes. Andererseits erfüllen Zoos durch die Zucht und Erhaltung seltener und vom Aussterben bedrohter Tierarten außerhalb ihrer natürlichen Lebensräume eine wesentliche Funktion im *ex-situ* Artenschutz.

Auftretende Infektionskrankheiten in zoologischen Gärten können eine große Gefahr für die Gesundheit und das Wohlbefinden der gehaltenen Tierbestände darstellen. Krankheitserreger gefährden dabei aber nicht nur die Gesundheit einzelner Tiere, sondern können zudem den Fortbestand von Zuchtprogrammen zur Erhaltung seltener Arten beeinträchtigen. Darüber hinaus können sowohl Tierpfleger/innen, Tierärzte/innen, weitere Zoomitarbeiter/innen und Besucher/innen einer potenziellen Gefährdung durch zoonotische Infektionserreger ausgesetzt sein. Vorkommende Infektionskrankheiten können weiterhin eine mögliche Eintragsquelle in Haus- und Nutztierbestände darstellen oder heimische Wildtierpopulationen gefährden.

Von besonderer Bedeutung in der tierärztlichen Bestandsbetreuung zoologischer Gärten sind Infektionserreger, welche sich unbemerkt im Bestand ausbreiten, eine lange Inkubationszeit aufweisen oder für die keine sicheren Untersuchungsmethoden zur Verfügung stehen. Eine solche Infektionskrankheit, die mit großen Problemen in der Diagnose und dem Management verbunden sein kann, ist die Paratuberkulose, eine durch *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) hervorgerufene, chronisch entzündliche Darmerkrankung, welche vorwiegend bei domestizierten und nicht-domestizierten Wiederkäuern auftritt. Die Schwierigkeiten im Zusammenhang mit der Prävention und der Kontrolle dieser bedeutenden Erkrankung in zoologischen Beständen gaben unter anderem den Anlass zur Gründung einer Arbeitsgruppe zu Infektionskrankheiten der europäischen Vereinigung der Zootierärzte.

Die vorliegende Dissertation befasst sich mit dem Vorkommen und der Bedeutung von MAP Infektionen und Erkrankungen in zoologischen Gärten. Sie beinhaltet eine Übersichtsarbeit zum Vorkommen von Paratuberkulose bei Zootieren sowie die Ergebnisse von serologischen und molekularbiologischen Untersuchungen auf MAP und weitere *Mycobacterium avium* Subspezies im Zoologisch-Botanischen Garten Wilhelma in Stuttgart. Im Folgenden ist eine generelle Einführung zum Vorkommen von Infektionskrankheiten und den resultierenden epidemiologischen Problemen in zoologischen Gärten gegeben. In drei Einführungskapiteln werden allgemeine Aspekte von Infektionskrankheiten in zoologischen Gärten, das Vorkommen von mykobakteriellen Infektionskrankheiten in zoologischen Gärten sowie generelle und spezielle Aspekte zur Paratuberkulose behandelt. Die beschriebenen Aspekte sind allgemein gefasst und dienen als Einleitung zu den beiden nachfolgend einbezogenen Manuskripten in Kapitel 4 und 5.

1.1. Allgemeine Aspekte von Infektionskrankheiten in zoologischen Gärten

1.1.1. Bedeutung von Infektionskrankheiten

Nach MAYR (2002) versteht man unter einer Infektion oder Ansteckung das aktive oder passive Eindringen von fakultativ oder obligat pathogenen Erregern in einen Makroorganismus. Sie ist Voraussetzung für das Entstehen einer Infektionskrankheit, das heißt die klinisch manifeste Form einer Infektion. Von einer Infektionskrankheit spricht man dann, wenn es als Folge einer Infektion zu einer abartigen Reaktionsweise im Sinne einer gestörten Leistungsfähigkeit kommt, die sich in klinisch fassbaren Krankheitserscheinungen äußert (KRÜGER 2002). Entscheidend dafür sind sowohl die infektiösen Eigenschaften des Erregers (Widerstandsfähigkeit in der Umwelt (Tenazität), Übertragbarkeit, Ansteckungskraft (Kontagiosität), Haftfähigkeit, Eindringungsvermögen (Invasivität), Inkubationszeit und Virulenz) als auch die hervorgerufene Wirtsreaktion (VALENTIN-WEIGAND 2011a).

Bei Zoo- und Wildtieren bleiben Anzeichen solcher Infektionskrankheiten oft verborgen, sodass ein Krankheitsprozess bis zur klinischen Manifestation schon weit fortgeschritten sein kann (WOBESER 2013). Der angeborene Überlebensinstinkt der Tiere zur Verschleierung von Krankheitssymptomen verhindert das Erkennen von Schwäche durch Fressfeinde beziehungsweise konkurrierende Artgenossen und ist in freier Wildbahn eine unabdingbare Strategie um Gefahrensituationen effektiv entgehen zu können. Die Diagnose von Erkrankungen bei in zoologischen Gärten gehaltenen Tierarten kann daher im Hinblick auf das individuelle Tierwohl, mögliche Behandlungsoptionen, ihrem zoonotischen Potential sowie Zucht- und Erhaltungsbemühungen von gefährdeten und bedrohten Spezies von erheblicher Relevanz sein. Daher stellt das Bestandsmanagement den praktizierenden Tierarzt oftmals vor die Herausforderung Anzeichen rechtzeitig zu erkennen. Für zoologische Gärten ist demzufolge ein regelmäßiges und präventives Gesundheitsmonitoring sowie der Austausch von Wissen über die tiermedizinische Betreuung der gehaltenen Arten von enormer Wichtigkeit.

Wissenschaftlich geleitete zoologische Gärten sind daher in zusammengeschlossenen Verbänden organisiert: weltweit in der World Association of Zoos and Aquaria (WAZA), europaweit in der European Association of Zoos and Aquaria (EAZA), beziehungsweise mit Wirkungsschwerpunkt im deutschsprachigen Raum im Verband der Zoologischen Gärten e.V. (VdZ), sowie im Deutschen Wildgehege Verband e.V. (DWV). Ein wesentlicher Bestandteil des gesellschaftlichen Auftrages dieser Verbände liegt im Erhalt der biologischen Vielfalt. Dieser Auftrag wird durch die Haltung und Zucht gefährdeter Tierarten sowie durch das Engagement im Natur-, Arten-, Umwelt- und Tierschutz, der Bildung für nachhaltige Entwicklung, der Forschung, der Wissenschaft und der Schaffung von naturnahen Erholungsräumen erfüllt (Leitbild - Verband der Zoologischen Gärten e.V.). Um ihre erklärten Ziele als moderne Natur- und Artenschutzorganisationen zu erreichen, stehen Zoos und Aquarien in der Verantwortung die Tiere nach den neuesten Erkenntnissen der Tiergartenbiologie zu halten und eine optimale Versorgung zu gewährleisten.

Um diese Ziele aus tiermedizinischer Sicht zu erreichen und deren Umsetzung zu gewährleisten, sind Zoo- und Wildtierärzte zudem in nationalen (Verband der Zootierärzte; VZT) und internationalen (European Association of Zoo and Wildlife Veterinarians; EAZWV) Verbänden organisiert. Die Europäische Vereinigung der Zootierärzte verfolgt die Zielsetzung, die Verbreitung von veterinärmedizinischem Wissen sowie die praktischen Fähigkeiten im Zusammenhang mit dem Management von Zoo- und Wildtieren zu fördern und dadurch die Gesundheit, das Wohlergehen, die Haltung und den Schutz dieser Tiere voranzutreiben. Prävention und Kontrolle von Infektionskrankheiten bedingen somit einen wesentlichen Anteil in der kurativen und veterinärmedizinischen Arbeit in zoologischen Gärten, um den aufgeführten Aufgaben gerecht zu werden und dem Wohlergehen und der Gesundheit der Tiere jederzeit höchste Priorität einzuräumen.

1.1.2. Beschreibung und Dokumentation relevanter Infektionskrankheiten

In zoologischen Gärten werden wertvolle Tiere verschiedenster Arten aus der ganzen Welt gehalten. Diese Breite an biologischer Vielfalt bedingt auch das Vorkommen einer Vielzahl an potenziell auftretenden Infektionskrankheiten im Tierbestand. Infektionskrankheiten, wie beispielsweise die Tuberkulose, besitzen bis heute große Relevanz in der Haltung exotischer Tiere und haben in der Vergangenheit zu zahlreichen Verlusten innerhalb der Zootierbestände geführt (MONTALI et al. 2001).

Die Kenntnis über die Pathogenese und klinische Symptomatik dieser Infektionskrankheiten ist in der tiermedizinischen Betreuung der Zootierbestände von enormer Wichtigkeit. Zu den wichtigsten Standardwerken, die sich speziesübergreifend mit den Erkrankungen der Zoo- und Wildtiere befassen, zählen allen voran: „Zoo and Wild Animal Medicine: Current Therapy“ (FOWLER 1978), „Zootierkrankheiten“ (KLÖS u. LANG 1976) und „Krankheiten der Zoo- und Wildtiere“ (GÖLTENBOTH u. KLÖS 1995). Seit 1970 gibt die Vereinigung Amerikanischer Zootierärzte (American Association of Zoo Veterinarians; AAZV) zudem vierteljährlich das „Journal of Zoo Animal Medicine“ heraus. Seit 1988 wird das Journal unter dem Namen „Journal of Zoo and Wildlife Medicine“ (JZWM) veröffentlicht. Das JZWM ist das offizielle Journal der EAZWV und der AAZV. Es wird von der EAZA, der WAZA, dem American College of Zoological Medicine (ACZM) und der American Association of Zoos & Aquariums (AZA) unterstützt (BERTELSEN u. MILLER 2019).

Weiterhin besteht ein bedeutender Erfahrungsaustausch über Erkrankungen der Zoo- und Wildtiere in Form von Verhandlungsberichten nationaler und internationaler Symposien und Konferenzen. Als in Europa wichtigstes Medium galt das von Prof. Dr. Dr. Johannes Dobberstein, Direktor des Institutes für Vergleichende Pathologie der Deutschen Akademie der Wissenschaften Berlin, 1959 in Zusammenarbeit mit den beiden Berliner zoologischen Gärten ins Leben gerufene „Internationale Symposium über die Erkrankungen der Zootiere“. Prof. Dr. habil. Rudolf Ippen führte nach dem Tod von Prof. Dobberstein diesen wichtigen Erfahrungsaustausch fort (KLÖS u. LANG 1976).

Aktuell wird diese Veranstaltung von der EAZWV als „Zoo and Wildlife Health Conference“ durchgeführt und in regelmäßigen Abständen als gemeinsame Konferenz zusammen mit der AAZV abgehalten, die ansonsten als Pendant die „AAZV Annual Conference“ in Nordamerika veranstaltet. Weiterhin findet im deutschsprachigen Raum seit 1981 jährlich die „Arbeitstagung der Zootierärzte“ statt, welche ebenfalls einen Verhandlungsbericht veröffentlicht. Zudem finden weitere Veranstaltungen im Bereich der Zoo- und Wildtiermedizin statt, beispielsweise sei hier auf die von der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft (DVG) Fachgruppe "Wild-, Zoo- und Gehegetiere" und dem Leibniz Institut für Zoo- und Wildtierforschung Berlin (IZW) organisierten Tagungen hingewiesen. Auch wenn die Beschreibung und Dokumentation von Infektionserregern in zoologischen Gärten in den letzten Jahrzehnten stetig zugenommen hat, fehlt bei den verschiedenen gehaltenen Tierarten und den bei ihnen vorkommenden Infektionskrankheiten oftmals eine genaue Datengrundlage über Empfänglichkeit, Diagnostik, Verlauf, Therapie und Prävention sowie über den Infektionsstatus der zoologischen Einrichtungen. Nachfolgend sind Instanzen der Dokumentation und Überwachung von Infektionskrankheiten der Zoo- und Wildtiere aufgeführt.

1.1.2.1. EAZWV - Infectious Diseases Working Group

Die EAZWV gründete im Jahr 2000 eine Arbeitsgruppe zu Infektionskrankheiten von Zoo- und Wildtieren (Infectious Diseases Working Group; IDWG), um Verfahren und Empfehlungen im Umgang mit übertragbaren Krankheiten exotischer Tiere vorzuschlagen (KAANDORP 2015). In Nordamerika hatte die AAZV bereits Anfang der neunziger Jahre ein Komitee für Infektionskrankheiten begründet. Den Anlass zur Gründung einer solchen Arbeitsgruppe in Europa war eine Diskussion über Probleme bei der Diagnose und Handhabung der Paratuberkulose in zoologischen Beständen. Allgemein vereinbarte Empfehlungen waren dringend erforderlich, um Infektionskrankheiten besser kontrollieren und bekämpfen zu können. Die unterschiedlichen Tierhaltungsvorgaben, in Kombination mit verschiedenen Einstellungen und Standpunkten in den einzelnen Mitgliedstaaten der Europäischen Union, bedingen unterschiedliche epidemiologische Situationen und unterschiedliche Ansätze im Umgang mit relevanten Infektionskrankheiten, wie etwa der bovinen Tuberkulose (GORDEJO u. VERMEERSCH 2006). Beispielhaft sei hier zudem auf verschiedene Impfstrategien beziehungsweise Impfverbote gegen Maul- und Klauenseuche oder aviäre Influenza verwiesen. Ein wesentlicher Aspekt der Bestrebungen der Arbeitsgruppe besteht daher in der Intensivierung von internationaler Zusammenarbeit, bedingt durch die Etablierung beziehungsweise Novellierung nationaler sowie europäischer Gesetzgebungen (DOLLINGER 2008). In den Folgejahren nach ihrer Gründung wurde die Wichtigkeit einer solchen Arbeitsgruppe durch Ausbrüche und Verbreitung von Maul- und Klauenseuche, klassischer Schweinepest, Blauzungenkrankheit, West-Nil Virus, Afrikanischer Pferdepest, hochpathogener Aviärer Influenza, Affenpocken und dem SARS-Coronavirus (severe acute respiratory syndrome) bekräftigt.

Der Ausbruch des Blauzungenvirus in Europa (2006-2009, sowie seit 2019) hatte dabei nicht nur Auswirkungen auf die Morbidität und Mortalität immunologisch naiver Wiederkäuerspezies in zoologischen Gärten, sondern beeinflusste darüber hinaus durch Transportverbote und -restriktionen Programme zur Erhaltungszucht gefährdeter Arten (SANDERSON 2012). Aufgrund dieser Entwicklungen veröffentlichte die EAZWV-IDWG ein Referenzhandbuch der wichtigsten Infektionskrankheiten der Zoo- und Wildtiere (Transmissible Diseases Handbook 5th Edition (KAANDORP et al. 2019); https://www.eazwv.org/page/inf_handbook). Dieses Handbuch wird kontinuierlich aktualisiert und fasst Informationen zu verschiedenen Infektionskrankheiten in „Fact sheets“, einschließlich anfälliger Tiergruppen, zoonotischem Potenzial, Vorkommen und Verteilung, möglichen Übertragungswegen, klinischen Symptomen, makroskopischer und histologischer Pathologie, Diagnostik- und Behandlungsmöglichkeiten, Prävention und Kontrolle sowie weiterführender Literatur zusammen (KAANDORP 2015). Weiterhin werden im Handbuch die gesetzlichen Anforderungen der nationalen und insbesondere der europäischen Gesetzgebungen aufgeführt. Eine Liste der relevanten diagnostischen Laboratorien auf nationaler und internationaler Ebene, inklusive der Referenzlabore, ist ebenfalls enthalten. Es bleibt abzuwarten, welche Auswirkungen der Tiergesundheitsrechtsakt der EU (Verordnung (EU) 2016/429) auf dieses Werk haben wird. Das Infectious Disease Committee der AAZV veröffentlicht ebenfalls ein Referenzhandbuch (Infectious Disease Manual (BROCK et al. 2020); https://cdn.ymaws.com/www.aazv.org/resource/resmgr/idm/idm_updated_april_2020.pdf) unter Verwendung des europäischen Layouts.

In Abbildung 1 sind die im Transmissible Diseases Handbook aufgeführten „Fact sheets“ nach den jeweiligen Infektionserreger-Klassen (Viren [n=84], Bakterien [n=42], Parasiten [n=32], Pilze [n=7], Prionen [n=2]) unter Einbeziehung der geltenden nationalen und internationalen Rechtsvorschriften zusammengefasst. Wie aus dieser Darstellung ersichtlich wird, sind vor allem unter den viralen und bakteriellen Infektionserregern, unter Berücksichtigung der Verordnung über anzeigepflichtige Tierseuchen sowie der Verordnung über meldepflichtige Tierkrankheiten, eine große Anzahl von Krankheiten, welche im Rahmen von nationalen Gesetzgebungen tierseuchenrechtlich erfasst sind. Weiterhin sind viele Erreger dieser Klassen ebenfalls in der Liste bedeutender Krankheiten aquatischer und terrestrischer Tiere der World Organisation for Animal Health (Office International des Epizooties; OIE; <https://www.oie.int/animal-health-in-the-world/oie-listed-diseases-2020>), als anzeigepflichtige Krankheiten im Anhang A der Richtlinie 92/65/EWG sowie als Tierseuchen im Anhang II der Verordnung (EU) 2016/429 aufgeführt. Durch die Beachtung dieser Erkrankungen und der jeweils anzuwendenden Rechtsvorschriften wird ersichtlich, welche herausragende Bedeutung die Überwachung und Prävention von Infektionskrankheiten in der tiermedizinischen Betreuung von Tierbeständen in zoologischen Gärten einnimmt.

Eine Zusammenstellung von bedeutenden Infektionskrankheiten in zoologischen Gärten, unter Berücksichtigung ihrer Auflistung im Transmissible Diseases Handbook der EAZWV, ist im Anhang in den Tabellen 1 a-e aufgeführt.

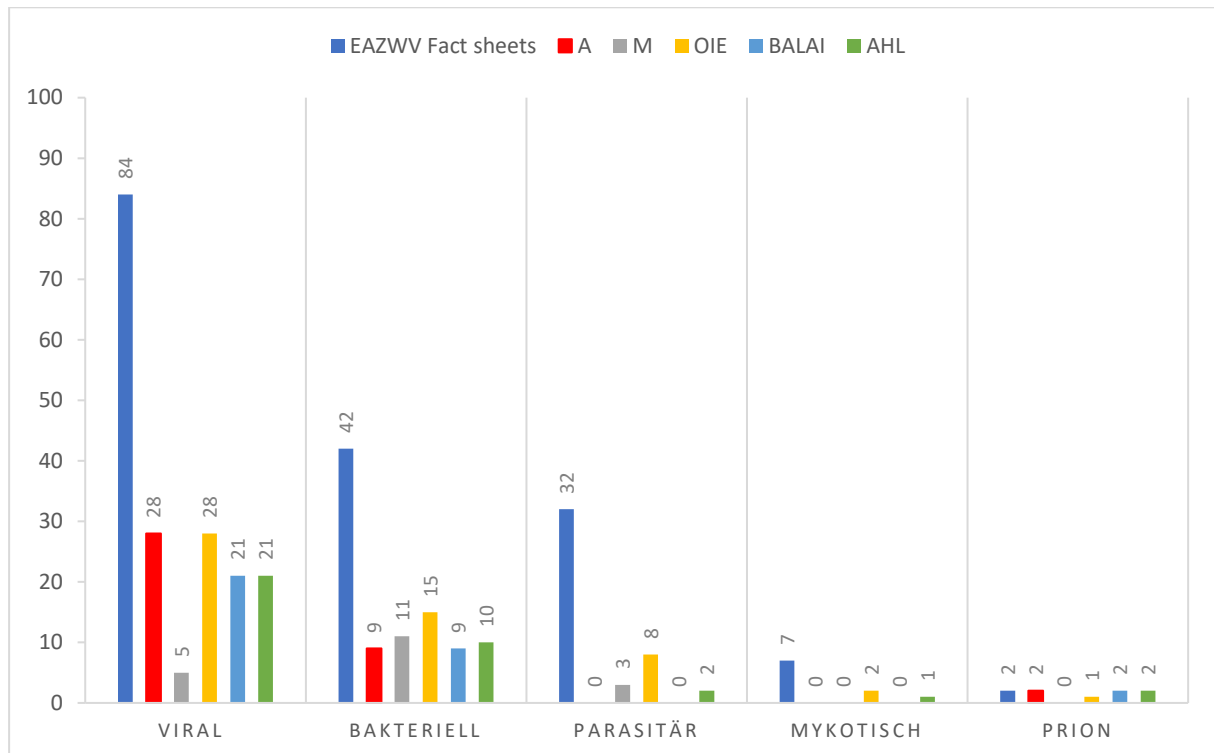


Abbildung 1: „EAZWV Fact sheets“ unter Einbeziehung nationaler und internationaler Gesetzgebungen

EAZWV Fact sheet: Gesamtzahl der im Handbuch aufgeführten Datenblätter über relevante Infektionskrankheiten bei Zoo- und Wildtieren; A: Anzahl anzeigepflichtiger Tierseuchen: "Verordnung über anzeigepflichtige Tierseuchen in der Fassung der Bekanntmachung vom 19. Juli 2011 (Bundesgesetzblatt I S. 1404), die zuletzt durch Artikel 4 der Verordnung vom 31. März 2020 (Bundesgesetzblatt I S. 752) geändert worden ist"; M: Anzahl meldepflichtiger Tiererkrankungen: „Aufgrund der Verordnung über meldepflichtige Tierkrankheiten in der Fassung der Bekanntmachung vom 11. Februar 2011 (Bundesgesetzblatt I S. 522)“; OIE: Anzahl an Krankheiten, die in der Liste bedeutender Krankheiten aquatischer und terrestrischer Tiere der World Organisation for Animal Health (OIE) von 2019 aufgeführt werden; BALAI: Anzahl an Krankheiten, die den zuständigen Behörden jedes Mitgliedsstaats gemäß der Richtlinie 92/65/EWG des Rates (Balai-Richtlinie) gemeldet werden müssen; AHL: Anzahl an Krankheiten, die den zuständigen Behörden jedes Mitgliedsstaats gemäß der Verordnung (EU) 2016/429 des Europäischen Parlaments und des Rates (Animal Health Law; EU-Tiergesundheitsrecht) gemeldet werden müssen

1.1.2.2. OIE - Working Group on Wildlife Diseases

Die World Organisation for Animal Health hat sich zum Ziel gesetzt, das Wissen über Krankheiten der Zoo- und Wildtiere weltweit nach dem „One Health Approach“ zu verbessern. Der „One Health Approach“ beschreibt die gegenseitige Abhängigkeit der Gesundheit und des Wohlbefindens von Menschen, Nutz- und Wildtieren sowie den Ökosystemen, in denen sie koexistieren (ZINSSTAG et al. 2011). Die 1994 von der OIE gegründete Arbeitsgruppe für Wildtierkrankheiten (Working Group on Wildlife Diseases) erarbeitet Empfehlungen und Richtlinien zur Überwachung und Kontrolle der wichtigsten spezifischen Wildtierkrankheiten.

Die Arbeitsgruppe informiert die OIE über alle gesundheitlichen Probleme im Zusammenhang mit Wildtieren und berät bei Fragen zur Bedrohung von Wildtierpopulationen und die dadurch resultierende Gefährdung der biologischen Vielfalt. Wildtiere im Sinne der OIE-Arbeitsgruppe sind:

- Verwilderte Tiere einer domestizierten Art, welche jetzt ohne direkten menschlichen Bezug oder Kontrolle leben.
- In menschlicher Obhut gehaltene Wildtiere, deren Phänotyp von der menschlichen Selektion nicht wesentlich beeinflusst ist, die jedoch in Obhut gehalten werden oder auf andere Weise unter direkter menschlicher Aufsicht oder Kontrolle leben, einschließlich Zoo- und Haustiere.
- Wildtiere, deren Phänotyp von der menschlichen Selektion nicht beeinflusst ist und die unabhängig von direktem menschlichem Bezug oder Kontrolle leben.

Die OIE, als unabhängige und weltweit agierende Organisation, gewährleistet durch die Übermittlung von Informationen über die Situation relevanter Tiererkrankungen und Infektionen sowie potenziell vorhandenen Zoonosen, einen transparenten und effizienten Weg der Erfassung und Koordination weltweiter Tiergesundheitsinformationen. Hierzu führt und aktualisiert die OIE eine Liste bedeutender Krankheiten aquatischer und terrestrischer Tiere im World Animal Health Information System (WAHIS; https://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php). Das Portal umfasst derzeit 117 OIE-gelisteten Krankheiten und Infektionen (Stand 2020, früher in Liste A und Liste B unterteilt). WAHIS ist ein internetbasiertes Frühwarn- und Überwachungssystem, das Daten zu diesen Tierseuchen in Echtzeit verarbeitet und anschließend die internationale Gemeinschaft über relevante epidemiologische Ereignisse informiert. Für nicht OIE-gelistete Wildtierkrankheiten wurde das Überwachungssystem erweitert (WAHIS-Wild; https://www.oie.int/wahis_2/public/wahidwild.php). Dieses Meldesystem bezieht sich auf derzeit 53 infektiöse und nicht-infektiöse Wildtierkrankheiten, die nicht in der OIE-Liste aufgeführt sind. Die Krankheiten wurden aufgrund ihrer Bedeutung für die Gesundheit von Wildtierbeständen ausgewählt. Sie können schwerwiegende Auswirkungen auf die Gesundheit von Nutztieren sowie die öffentliche Gesundheit haben und den Naturschutz beeinträchtigen.

1.1.2.3. Neuauftretende und wiederauftretende Infektionskrankheiten (Emerging and Reemerging Infectious Diseases)

Neue beziehungsweise wiederauftretende Infektionskrankheiten werden als „Emerging“ beziehungsweise „Reemerging Infectious Diseases“ bezeichnet. Viele Wildtierarten werden als Reservoir dieser Krankheitserreger angesehen. Sie können die Gesundheit von Haus- und Nutztieren sowie Menschen bedrohen und eine erhebliche Gefährdung für den Erhalt der globalen Artenvielfalt darstellen (MCCALLUM u. DOBSON 1995; KUIKEN et al. 2005; CHOMEL et al. 2007).

Diese Krankheiten können auch die Bestände der zoologischen Gärten betreffen, beziehungsweise von ihnen ausgehen. Bei „Emerging Infectious Diseases“ handelt es sich um Krankheiten, deren Inzidenz in einer Population in letzter Zeit zugenommen hat oder in naher Zukunft zuzunehmen droht. Sie werden im Allgemeinen als Krankheiten definiert, die auf folgende Gründe zurückzuführen sind (DASZAK et al. 2000):

- 1) Ein neuer Erreger, der aus der Entwicklung oder Veränderung eines vorhandenen Erregers resultiert, oder
- 2) ein bekannter Krankheitserreger, der sich in einem neuen geografischen Gebiet oder einer neuen Population ausbreitet oder dessen Prävalenz zunimmt, oder
- 3) ein zuvor nicht erkannter Erreger oder eine Krankheit, die zum ersten Mal diagnostiziert wurde und erhebliche Auswirkungen auf die Gesundheit von Mensch und Tier hat.

Eine Studie von Woodhouse et al. (2005) ergab, dass 58% von 1.407 bekannten, humanpathogenen Erregern als Zoonosen eingestuft werden können. 177 dieser Erreger werden zu den „Emerging“ und „Reemerging Infectious Diseases“ gezählt. Zoonotische Krankheitserreger gehören dabei doppelt so häufig zu dieser Kategorie wie nicht-zoonotische Krankheitserreger.

Diese neu- beziehungsweise wiederauftretenden Infektionserreger können auch hinsichtlich des Arten- und Tierschutzes teilweise erhebliche Bedenken verursachen und verheerende Auswirkungen nach sich ziehen (CLEAVELAND et al. 2001). Beispiele sind die Ausbreitung von *Batrachochytrium dendrobatidis*, einem Chytridpilz bei Amphibien (LONGCORE et al. 1999), oder *Pseudogymnoascus destructans*, dem Auslöser der Weißnasenkrankheit bei Fledermäusen (BLEHERT et al. 2009). Zoo- und Wildtiere können sowohl Endwirte sein als auch ein Reservoir für diese Krankheitserreger darstellen.

Die Identifizierung solcher Krankheitserreger hängt häufig mit verbesserten Diagnostikmöglichkeiten zusammen und die Hauptursachen für ihre Ausbreitung sind anthropogene Einflüsse und Veränderungen von natürlichen Lebensräumen (JONES et al. 2008). Das Aufkommen solcher Infektionskrankheiten kann mit einer fortschreitenden Urbanisierung, dem allgemeinen Bevölkerungswachstum, veränderten landwirtschaftlichen Praktiken, Eingriffen in die Lebensräume von Wildtieren, der Globalisierung des Handels, einer geschwächten öffentlichen Gesundheitsinfrastruktur oder dem weltweiten Klimawandel verbunden sein (CHOMEL et al. 2007). Weitere Faktoren sind der Handel und die Translokation von Wildtieren sowie Märkte für lebende exotische Tiere und den aus ihnen gewonnenen Lebensmitteln und Konsumgüter (KARESH et al. 2005). Durch diese anthropogenen Aktivitäten werden zunehmend die natürlichen ökologischen Hindernisse für eine Übertragung von Krankheitserregern überwunden. Dadurch entstehen Möglichkeiten für eine Etablierung von Wildtierkrankheiten in immunologisch naiven Wirtsspezies.

Neu auftretende Infektionskrankheiten bei Wildtiere können dabei auf der Grundlage der wichtigsten epizootiologischen Kriterien in drei Hauptgruppen eingeteilt werden: Krankheiten, die mit einem Übergreifen von Haustieren auf in der Nähe lebende Wildtierpopulationen verbunden sind; Krankheiten, die über Wirts- oder Pathogentranslokationen in direktem Zusammenhang mit menschlichen Eingriffen stehen; und Krankheiten ohne offensichtliche Beteiligung von Menschen oder Haustieren (DASZAK et al. 2000).

Die Identifizierung und Überwachung neuer und potenziell zoonotischer Krankheitserreger in Wildtierpopulationen ist daher eine entscheidende Komponente und Notwendigkeit zum Schutz der öffentlichen Gesundheit sowie der Gesundheit von Haus- und Nutztieren (JONES et al. 2008).

Durch eine Vergesellschaftung von verschiedenen Arten, welche in natürlichen Ökosystemen größtenteils nicht in Kontakt kommen können, besteht in Zoos und Aquarien durch eine Haltung dieser Tiere in räumlicher Nähe zueinander eine potenzielle Gefahr der Übertragung und Ausbreitung solcher Krankheitserreger, sowohl zwischen Zootieren, als auch auf einheimische Wildtiere (GREENWOOD et al. 2012). Als Naturschutzorganisationen sind zoologische Gärten verpflichtet, diese Risiken ernst zu nehmen und Maßnahmen zur Überwachung, Prävention und Bekämpfung festzulegen (RIDEOUT u. HADFIELD 2019). Zoo- und Wildtierärzte sind dabei in einen multidisziplinären Ansatz eingebunden, welcher nötig ist, um die Komplexität dieser Krankheitserreger besser verstehen zu können (COOK u. KARESH 2012; DEEM 2015).

Gerade im Jahr der Fertigstellung dieser Doktorarbeit gewinnt die Bedeutung neu auftretender Infektionskrankheiten durch die globale Verbreitung des SARS-Coronavirus-2 und der daraus resultierenden Lungenerkrankung COVID-19 zunehmend an Bedeutung. Als Ausgangspunkt dieses Infektionsgeschehens wird ein Wildtiermarkt in Wuhan, China, als wahrscheinlich erachtet (CONTINI et al. 2020).

1.1.3. Epidemiologische Probleme

Tierarten, die in Gehegen zoologischer Gärten gehalten werden, sind ähnlichen epidemiologischen Gegebenheiten ausgesetzt wie Haus- und landwirtschaftliche Nutztiere. Darunter fallen zum Beispiel die Haltung und Versorgung auf einem begrenzten Gebiet mit resultierend höheren Tierdichten im Vergleich zu wildlebenden Artgenossen, sowie die Exposition gegenüber einer vergleichsweise hohen Konzentration an Infektionserregern innerhalb einer Population. Dies kann zu einem erhöhten Infektionsdruck und Populationsstress im Vergleich zu freilebenden Arten führen (MANNING 2011).

Im „Mikrokosmos Zoo“ sind dabei die folgenden Bereiche von besonderem epidemiologischem Interesse:

- Diagnostik von Infektionserregern
- Importe und Tiertransporte zwischen zoologischen Einrichtungen
- Vergesellschaftung von Tierarten in Haltungssystemen
- Zoonotische Infektionskrankheiten

1.1.3.1. Diagnostik von Infektionserregern

Systematische epidemiologische Studien zum Vorkommen und zur Verbreitung von Infektionskrankheiten in zoologischen Gärten sind in vielen Fällen aufgrund der eingeschränkten Möglichkeit zur Handhabung der Tiere und der Entnahme von Probenmaterial nicht vorhanden.

Anderes als bei den meisten Nutztieren muss die Notwendigkeit einer Probenentnahme genau abgewogen werden, da aufgrund der erschwerten Zugänglichkeit zu den verschiedenen im Zoo gehaltenen Tierarten oftmals ein Gesundheitsrisiko durch eine nötige Fixierung oder Immobilisierung besteht sowie aufwendige Managementmaßnahmen damit verbunden sein können.

Weiterhin ist die Diagnostik bei vielen Infektionskrankheiten an lebenden Zoo- und Wildtieren mit den zur Verfügung stehenden Testverfahren nicht immer zuverlässig (GARDNER et al. 1996), da diese ausschließlich für den Menschen beziehungsweise Haus- oder Nutztiere validiert sind. Die oftmals mangelhafte Sensitivität diagnostischer Tests führt in der tierärztlichen Bestandsbetreuung immer wieder zu Schwierigkeiten bei der Detektion von infizierten und erkrankten Individuen.

1.1.3.2. Importe und Tiertransporte zwischen zoologischen Einrichtungen

Zwischen zoologischen Gärten findet ein reger Austausch von Zuchttieren und deren Nachzuchten statt. Diese Transfers dienen hauptsächlich der Aufrechterhaltung von koordinierten Zuchtprogrammen zur Arterhaltung. Diese Zuchtprogramme sichern den Erhalt von seltenen Tierarten und haben das Ziel den Genpool der Zootierpopulationen über Generationen hinweg aufrecht zu erhalten, während sie gleichzeitig versuchen einen niedrigen Inzuchtkoeffizienten zu gewährleisten.

Auch wenn hierzu heutzutage selten Importtiere aus dem Ursprungshabitat der entsprechenden Art genutzt werden, so stellen Import und Austausch von Tieren zwischen zoologischen Gärten im Hinblick auf das Risiko einer Einschleppung und Ausbreitung von Infektionskrankheiten eine erhebliche Gefährdung dar (SMITH et al. 2017).

1.1.3.3. Vergesellschaftung von Tierarten in Haltungssystemen

In der direkten oder indirekten Gemeinschaftshaltung unterschiedlicher Arten, welche in zoologischen Gärten zunehmend an Bedeutung gewinnt, spielen zwischen verschiedenen Tierarten übertragbare Infektionserreger, neben Traumata und fütterungsbedingten Problemen, eine besonders große Rolle (LOWENSTINE 1999; KAANDORP 2012). Unterschieden werden muss dabei zwischen spezialisierten Pathogenen, die auf eine Art beschränkt sind, und generalisierten Pathogenen, welche mehr als eine Spezies betreffen können.

Untersuchungen zur Prävalenz relevanter Infektionserreger unter Berücksichtigung verschiedener Haltungsbedingungen (Vergesellschaftung, Gehegegröße und Populationsdichte) wurden von PROBST et al. (2011) in elf zoologischen Gärten mit einer großen Anzahl an Gemeinschaftsanlagen durchgeführt. Die Ergebnisse ließen die Verfasser der Studie schließen, dass die Gefahr der Interspezies-Übertragung in einer Gemeinschaftsanlage nicht höher ist, als zwischen Tierarten auf unterschiedlichen Anlagen innerhalb einer Einrichtung. Demnach sollte jeder zoologische Garten als eigenständige epidemiologische Einheit betrachtet und entsprechend behandelt werden.

Vor allem bei Tierarten, welche jedoch häufig in Multispezies-Anlagen mit anderen Huf- beziehungsweise Klauentieren gezeigt werden (z.B. Nashörner, Tapire, Equiden, sowie afrikanische und asiatische Paarhufer) kann das Auftreten eines Infektionserregers ein deutlich gesteigertes Infektionsrisiko darstellen und sollte ein umfassendes Screening der Kontakttiere, inklusive der Nachkommen, zur Folge haben (KAANDORP 2012).

Ein weiterer Punkt ist der unfreiwillige und unerwünschte, direkte oder indirekte Kontakt zu Haus- und Wildtieren (z. B. Katzen, Hunde, Füchse, Nagetiere, Vögel, Insekten), von denen ebenfalls eine enorme Infektionsgefährdung ausgehen kann (SPELMAN 1999).

1.1.3.4. Zoonotische Infektionskrankheiten

Die Übertragung von Infektionserregern von Zootieren auf den Menschen und umgekehrt ist vielfach dokumentiert. Hauptsächlich sind hierbei Berichte über die zooanthroponotische Übertragung der Tuberkulose veröffentlicht (HABERLE 1974; MICHALAK et al. 1998; OH et al. 2002; KIERS et al. 2008; MURPHREE et al. 2011). Eine besondere Gefährdung für die Verbreitung von zoonotischen Erkrankungen stellen vor allem Bereiche mit direktem oder indirektem Tierkontakt dar, wie beispielsweise Zooschulen, Streichelzoos und andere begehbare Tieranlagen (JAMES 2012). Besonders von asymptomatischen Tieren und intermittierenden Ausscheidern, bei denen eine Infektion beziehungsweise eine Infektiosität nicht unbedingt festgestellt werden kann, können dabei zoonotische Erreger übertragen werden (LEJEUNE u. DAVIS 2004).

Aus diesem Grund wird die Durchführung eines systematischen Managements im Umgang mit Zoonosen in zoologischen Gärten empfohlen, welches dabei hilft, auftretende Fälle konsequent und professionell bewältigen zu können (LEJEUNE u. DAVIS 2004). Solche Richtlinien beinhalten die Identifizierung des Auslösers, die Benachrichtigung und Aufklärung der potentiell betroffenen Personen, die Kontrolle der Infektion (einschließlich der Isolierung des betroffenen Tieres beziehungsweise der betroffenen Tiergruppe und der Unterbrechung einer durch Kontaminationen verursachten Infektionsgefährdung), die unverzügliche Weiterleitung der Informationen an die zuständigen Gesundheits- und Veterinärbehörden sowie dem medizinischen Management der Tiererkrankung (JANSSEN 2012, 2015).

Dazu sei jedoch auch gezielt auf die Gefährdung von Zootieren durch von Menschen eingeschleppte Erkrankungen verwiesen. Hierunter fallen nicht nur die Infektionserreger, welche beispielsweise bei der Versorgung der Tiere und Säuberung der Anlagen zwischen einzelnen Tierhaltungen übertragen werden können, sondern auch Erkrankungen, die von infektiösen Mitarbeitern und Besuchern auf empfängliche Tiergruppen übertragen werden können. Dieser anthroozoonotischer Infektionsweg kann in vielen Fällen jedoch nur vermutet werden (MESSENGER et al. 2014). Beispielsweise können Elefanten (MICHALAK et al. 1998) und Primaten (DUNAY et al. 2018) einem erhöhten Infektionsrisiko ausgesetzt sein, welches durch strikte Hygiene- und Kontaktvorschriften in der Haltung dieser Tierarten eingedämmt werden sollte.

1.1.4. Prävention und Kontrolle

Diagnose-, Management- und Bekämpfungsstrategien in zoologischen Gärten berücksichtigen das Risiko der Übertragung von Infektionserregern von verdächtigen oder infizierten Individuen auf andere Tiere des Bestandes sowie die potenzielle zoonotische Gefahr der Krankheitserreger. Eine kontinuierliche Risikoanalyse unter Beachtung bedenklicher Krankheitserreger und spezifischer Übertragungswege ist hierbei essenziell (TRAVIS u. SMITH 2019). Die veterinärmedizinische Betreuung sollte dabei auch stets auf das Auftreten von anzeigepflichtigen Tierseuchen und meldepflichtigen Tiererkrankungen vorbereitet sein (LLOYD 2012; NADLER 2019).

In der Prävention und Kontrolle wird zwischen zwei Szenarien unterschieden:

- Der Prävention und Eindämmung einer Eintragung von Infektionserregern durch Importe, Tiertransporte, Zoobesucher und -mitarbeiter, Wildtiere oder verwilderte Haustiere
- Der Prävention und Eindämmung einer Verbreitung von Infektionserregern innerhalb des zoologischen Gartens

1.1.4.1. Prävention und Eindämmung einer Eintragung

Um ein Verbringen von Infektionserregern zwischen Einrichtungen zu vermeiden, gelten, abhängig von Art und Herkunft der Tiere, gesetzliche Regelungen, Transportbestimmungen und Quarantänebedingungen (DOLLINGER 2008). Der verantwortliche Zootierarzt legt in der Regel neben diesen gesetzlich vorgeschriebenen Verfahrensweisen zur Isolierung der Tiere weitere tierärztliche Anforderungen an einen Transport und die darauffolgende Quarantänisierung fest. Darunter fallen Untersuchungen auf bedeutsame Erkrankungen der betreffenden Tierart. Vor allem bei größeren Säugetieren, bei denen eine geeignete Quarantäne nicht ohne weiteres durchgeführt werden kann, sind Voruntersuchungen und ausführliche Protokolle zur Abklärung des Gesundheitszustandes von besonderer Bedeutung. MARKOWSKI (2013) hat durch die Auswertung von Untersuchungsbefunden bei acht nordamerikanischen Tierarten, ergänzt durch entsprechende Literaturstudien, die wichtigsten bakteriologischen, parasitologischen und virologischen Infektionserreger bestimmt, um entsprechende tiermedizinische Überwachungs- und Kontrollprogramme zu optimieren. Ähnliche Anforderungen und Bestimmungen an Quarantäne- und Gesundheitsüberwachungsprotokolle existieren für die Wiederansiedelung von Wildtieren im Freiland (WOODFORD 2001). Solche Dokumente können im Bedarfsfall für die Erstellung von entsprechenden Veterinäranforderungen für den Import von Zootieren herangezogen werden.

Tierpfleger/innen und Tierärzte/innen, die in zoologischen Gärten arbeiten, sind wegen ihrer beruflichen Exposition gegenüber einer Vielzahl von potenziell zoonotischen Infektionserregern einem beruflichen Risiko ausgesetzt (JUNCKER-VOSS et al. 2004). Um einer Eintragung und Verbreitung von Zoonosen vorzubeugen und um einen Überblick über die Gesundheit der Personen mit Kontakt zu besonders empfänglichen Tieren zu erhalten, können Untersuchungen der entsprechenden Mitarbeiter/innen im Rahmen arbeitsmedizinischer Vorsorgeuntersuchungen beziehungsweise Routine-Screenings stattfinden (FORSYTH et al. 2012).

Insekten, Nagetiere, Hasenartige, Fledermäuse, Füchse, Waschbären, verwilderte Haustiere sowie Wildvögel können Vektoren und Reservoirs von Krankheitserregern sein, welche zu Infektionen bei Zootieren führen können (SPELMAN 1999). Eine effektive und sichere Schädlings- und Ungezieferkontrolle durch indirekte und direkte Bekämpfung ist daher ein weiterer wichtiger Bestandteil in der Prävention und Kontrolle von Infektionskrankheiten in zoologischen Gärten (LANGAN 2012).

1.1.4.2. Prävention und Eindämmung einer Verbreitung

Überlegungen und Empfehlungen zu den Anforderungen an Prophylaxebeziehungsweise Quarantäne- und Isolationsmaßnahmen innerhalb eines zoologischen Gartens wurden schon früh aufgeführt und zusammengefasst, um durch tägliche und vielfältige Hygienemaßnahmen Infektionen und Seuchenausbrüche unter den Zootieren nach Möglichkeit vorzubeugen (ROBERTS 1993; MILLER 1996, 1999).

Die vorbeugende Gesundheitsversorgung besteht aus mehreren Komponenten von gleichrangiger Bedeutung, einschließlich Lagerung, Zubereitung, Handhabung und Verteilung von Futtermitteln, Bekämpfung von Schädlingen, sowie der Reinigung und Desinfektion von Arbeitsmitteln und Tieranlagen (FOWLER 1978). Vor allem die Hygienemaßnahmen sind dabei ein wesentlicher Bestandteil in der Prävention und Bekämpfung der direkten und indirekten Übertragung von Infektionskrankheiten, welche in Richtlinien für die Reinigung und Desinfektion in zoologischen Gärten aufgeführt sind (HEUSCHELE 1995; KIUPEL et al. 2004).

Ein weiterer Bestandteil der präventiven Vorkehrungen, die getroffen werden können um eine Ausbreitung von Infektionskrankheiten einzudämmen, sind Impfungen empfänglicher Tierbestände. In einem vorbeugenden Regime können Impfungen gegen eine Vielzahl von viralen Infektionskrankheiten, wie z.B. Blauzungenvirus, Elefantenpocken, Aviärer Influenza, Staupe, Parvovirus, Tollwut, Katzenschnupfen und dem Feline Leukämie-Virus, angewendet werden. Impfungen gegen Dermatophytosen und bakterielle Krankheitserreger, wie z.B. Pseudotuberkulose, Q-Fieber, Chlamydiose, Pasteurellose, Bordetellose, Leptospirose, Tetanus und Infektionen durch andere Clostridien werden ebenfalls in zoologischen Gärten eingesetzt (SCHAFTENAAR 2002; PHILIPPA 2004; PHILIPPA et al. 2005). Die rechtlichen Voraussetzungen zur Impfung der Tierbestände müssen dabei selbstverständlich beachtet werden.

Im Falle des Ausbruchs einer Infektionskrankheit bei Zootieren ist auch die Keulung der betroffenen Tiere beziehungsweise der infizierten Bestände eine Möglichkeit zur Eindämmung der Verbreitung. Im Gegensatz zu Ausbrüchen von Infektionskrankheiten in Nutztierbeständen ist dieses Verfahren allerdings in vielen Fällen aus Sicht des Artenschutzes keine akzeptable Option. Bei der Tötung von Zootieren kann neben dem genetischen Verlust auch die Reaktion der Öffentlichkeit ein weiterer, oftmals sehr komplexer und komplizierender Faktor sein (BERTELSEN 2019).

1.1.4.3. Balai-Richtlinie (92/65/EWG)

Um eine Prävention und Kontrolle von Infektionskrankheiten zu erreichen existieren internationale und nationale Gesetzgebungen, welche sowohl für Haus- und Nutztierbestände als auch Tierbestände in zoologischen Gärten gelten. Am 13. Juli 1992 verabschiedete der Rat der Europäischen Union die Richtlinie 92/65/EWG über die tierseuchenrechtlichen Bedingungen für den Handel mit Tieren, Samen, Eizellen und Embryonen in der Gemeinschaft sowie für ihre Einfuhr in die Gemeinschaft, soweit sie diesbezüglich nicht den spezifischen Gemeinschaftsregelungen nach Anhang A Abschnitt I der Richtlinie 90/425/EWG unterliegen. Diese Richtlinie wird allgemein als „Balai-Richtlinie“ bezeichnet und wurde durch verschiedene EU-Verordnungen (z.B. Verordnung (EG) Nr. 1282/2002 und 1398/2003) geändert und erweitert.

In Deutschland ist die Richtlinie durch die Verordnung über das innergemeinschaftliche Verbringen sowie die Einfuhr und Durchfuhr von Tieren und Waren (Binnenmarkt-Tierseuchenschutzverordnung [BmTierSSchV] in der Fassung der Bekanntmachung vom 6. April 2005 (BGBl. I S. 997), die zuletzt durch Artikel 139 des Gesetzes vom 29. März 2017 (BGBl. I S. 626) geändert worden ist) umgesetzt.

Die EAZWV hatte in Zusammenarbeit mit der EU-Kommission und nationalen Veterinärbehörden Empfehlungen erarbeitet, die dazu beitragen sollen, eine einheitliche Anwendung und Umsetzung der Richtlinie zu erreichen, um dadurch den Austausch von Tieren zwischen im Rahmen der Richtlinie für den „Handel“ zugelassenen Einrichtungen einfach und ohne größere Gesundheitsrisiken zu ermöglichen. Diese Empfehlungen wurden von der EU-Kommission an die Veterinärdienste der Mitgliedstaaten verbreitet, was impliziert, dass sie einen offiziellen Status erhalten haben. Insbesondere im Hinblick auf den Austausch gefährdeter Tierarten ist es wichtig, wie in der Richtlinie gefordert, Überwachungsprogramme für Infektionskrankheiten auch in zoologischen Gärten zu implementieren.

Im Rahmen der Richtlinie ist der zugelassene Tierarzt einer zoologischen Einrichtung angewiesen, einen jährlichen Krankheitsüberwachungsplan zu erstellen und umsetzen (ANNEX C §1 g (ii)). Es soll somit sichergestellt werden, dass der Hygienelevel aller zugelassenen Zoos den gleichen hohen Standards entspricht und Tierbewegungen zwischen europäischen Zoos bei gleichzeitiger Gewährleistung eines guten Gesundheitszustands des Bestandes ermöglicht werden (DOLLINGER 2008). Der Überwachungsplan unterliegt jährlichen Prüfungen durch die zuständige Veterinärbehörde (ANNEX C §2 a (ii)) und muss die in Anhang A (und gegebenenfalls B) aufgeführten Krankheiten abdecken. Gegebenenfalls kann er auch andere allgemeine und spezifische Maßnahmen für die Haltung von verschiedenen taxonomischen Gruppen in Zoos enthalten (z.B. gemäß der Richtlinie 1999/22/EG des Rates vom 29. März 1999 über die Haltung von Wildtieren in Zoos). Spezifische Haltungsempfehlungen für verschiedene Taxa werden zudem von Taxon Advisory Groups (TAG), der EAZWV-IDWG, den Europäischen Erhaltungszuchtprogrammen (EAZA *Ex-Situ* Programme; EEP) und der EAZA (Best Practice Guidelines; Husbandry Guidelines) ausgearbeitet, herausgegeben und gegebenenfalls in die Überwachungspläne integriert.

Tiere im Sinne der Richtlinie 92/65/EWG, für die ein Überwachungsplan notwendig ist, sind alle Säugetiere, alle Vögel, Lachsfische und Honigbienen. Ausgenommen sind Reptilien, Amphibien, Fische außer Lachsfische und Invertebraten außer Honigbienen.

Der jährliche, amtlich geprüfte Krankheitsüberwachungsplan und die damit verbundenen Maßnahmen müssen Folgendes umfassen (DOLLINGER 2008):

- 1) Sofortige Benachrichtigung der zuständigen Veterinärbehörde, wenn der Verdacht besteht, dass Tiere von einer Erkrankung betroffen sind, die nach EU-Recht oder nationalem Recht anzeigepflichtig ist, einschließlich Zoonosen.

- 2) Genaue, mindestens einmal tägliche Beobachtung jedes Tieres durch qualifiziertes Personal unter Anleitung des zugelassenen Tierarztes. Bei Arten in großen Gruppen, wie zum Beispiel Fischen in einem Aquarium, kann der Tierarzt entscheiden, dass die Beobachtung der Gruppe ausreichend ist.
- 3) Sofortige Benachrichtigung des zugelassenen Tierarztes durch das Zoopersonal, sofern ein Tier krank zu sein scheint oder stirbt. Bei Tierarten in großen Gruppen kann eine Meldung der Sterblichkeit erfolgen, sobald sie über einem vereinbarten und zu erwartenden Niveau liegt.
- 4) Durchführung von Laboruntersuchung zur Feststellung des Infektionserregers bei lebenden Tieren, die an einer Infektionskrankheit erkrankt zu sein scheinen. Bei Tierarten in großen Gruppen kann der Tierarzt entscheiden, dass eine Probe ausreichend ist. Bei Verdacht auf eine Krankheit, die in den Anhängen A und B aufgeführt oder nach nationalem Recht anzeige- oder meldepflichtig ist, muss die zuständigen Veterinärbehörde unverzüglich informiert werden.
- 5) Verfahrensabläufe für neu angekommene und erkrankte Tiere unter Berücksichtigung der relevanten Risikofaktoren.
- 6) Regelmäßige parasitologische Untersuchung von Kotproben, insbesondere auf zoonotische Parasiten. Alle relevanten Tiergruppen sollten mindestens einmal jährlich überprüft werden. Die Häufigkeit der Untersuchung sollte mit der Parasitenprävalenz zusammenhängen.
- 7) Opportunistische Untersuchung sowie Entnahme von geeigneten Proben von immobilisierten oder anderweitig kontrollierten beziehungsweise fixierten Tieren. Serumproben sollten bei -18°C oder niedriger aufbewahrt und gelagert werden.
- 8) Weiterführende Richtlinien für die systematische Untersuchung bestimmter Tierarten können von der IDWG der EAZWV entwickelt und empfohlen werden.
- 9) Unverzügliche Sektion verstorbener beziehungsweise euthanasierter Tiere, um eine kennzeichnende Pathologie und nach Möglichkeit die Todesursache bei jedem Tier oder abortiertem Fötus festzustellen. Ausgenommen sind Fälle, bei denen eindeutig kein Verdacht auf eine Infektionskrankheit besteht.
- 10) Impfungen sollten auf der Verfügbarkeit sicherer Impfstoffe beruhen. Empfängliche Arten und die Wahrscheinlichkeit eines Auftretens der jeweiligen Erkrankung im Zoo sollten berücksichtigt werden. Es können auch andere Zoonosekrankheiten als die in Anhang A oder B genannten abdeckt werden. Die Impfungen müssen den geltenden Rechtsvorschriften entsprechen.
- 11) Aufzeichnungen müssen in leicht zugänglicher Form mindestens 10 Jahre aufbewahrt werden, um bei Überprüfungen im Bedarfsfall verfügbar zu sein. In den Empfehlungen wird detailliert festgelegt, welche Informationen die Datensätze enthalten müssen: Krankheitsfälle und entsprechende Therapie; Präventionsmaßnahmen wie beispielsweise Impfungen; Ergebnisse von Blutuntersuchungen und anderen diagnostischen Tests; Ergebnisse von *Post-mortem* Untersuchungen einschließlich Totgeburten; Beobachtungen während eines Zeitraums vorsorglicher Isolierung; Berichte der Veterinärbehörden.

Die Balai-Richtlinie gibt zudem vor, welche Bedingungen eingehalten werden müssen, um Tiere in einen Tierbestand aufzunehmen. Dabei werden offizielle Anforderung an eine Quarantäne sowie an das Ausstellen eines Gesundheitszeugnisses behandelt. Wichtige Unterschiede existieren hierbei für den Transport und Austausch von Tieren zwischen Balai-zertifizierten Betrieben im selben Herkunftsland beziehungsweise zwischen Betrieben in unterschiedlichen europäischen Ländern. Abhängig von der Gesundheitssituation können zusätzliche Anforderungen an die Einfuhr durch EU- oder nationale Rechtsvorschriften gestellt werden.

Für Tiere aus im Rahmen dieser Richtlinie nicht zugelassenen Einrichtungen desselben Mitgliedstaates sind mindestens 30 Tage in einem festgelegten Isolationsbereich vorgeschrieben. Während der Isolierung müssen die Tiere möglicherweise auf Infektionskrankheiten untersucht werden, die unter Anhang A der Balai-Richtlinie fallen und die der zugelassene Tierarzt und die zuständige Behörde für angemessen halten. Die zuständige Behörde hat sich vom Gesundheitszustand der Tiere zu überzeugen. Die Mitgliedstaaten können zudem als Ausnahme die Verbringung von Tieren aus nicht zugelassenen Betrieben in einen anderen Mitgliedstaat gestatten. Tiere, die aus Drittländern in die Gemeinschaft eingeführt werden, müssen die in der Richtlinie 92/65/EWG festgelegten Tiergesundheitsbedingungen erfüllen. Die im Vorfeld angesprochenen Quarantäne- und Isolationsanforderungen werden ebenfalls in der Richtlinie behandelt. Zoos müssen hierbei über ausreichende Möglichkeiten verfügen um die existierenden Vorgaben für Vögel und Säugetiere, und im speziellen für Primaten, zu erfüllen. Die Richtlinie enthält zudem Leitlinien zu den strukturellen Anforderungen von Isolationsquartieren und den Verfahren zum Betrieb dieser Einrichtungen (DOLLINGER 2008).

1.2. Mykobakterielle Infektionskrankheiten in zoologischen Gärten

Mykobakterien gehören zur Ordnung Actinomycetales, Familie Mycobacteriaceae und Gattung *Mycobacterium* (M.). Sie sind grampositive, nicht sporenbildende, aerobe, säurefeste, stäbchenförmige Bakterien. Eine lipidreiche, wachsartige Zellwand führt zu Schwierigkeiten in der Diagnose und Behandlung von Mykobakterienerkrankungen und erklärt die ausgeprägte Resistenz und Persistenz, sowohl außerhalb als auch innerhalb eines Organismus (RASTOGI et al. 2001). Die wichtigsten Mykobakterien lassen sich taxonomisch wie folgt unterteilen (VALENTIN-WEIGAND 2011b):

- *Mycobacterium tuberculosis* Komplex (MTBC)
- *Mycobacterium avium* Komplex (MAC)
- *Mycobacterium intracellulare*
- *Mycobacterium leprae*
- *Mycobacterium ulcerans*
- Weitere atypische Mykobakterien

Mykobakterien werden seit Jahrtausenden mit Erkrankungen von Menschen und Tieren in Verbindung gebracht. So gibt es beispielsweise Hinweise auf das Vorkommen von Tuberkulose im alten Ägypten (CAVE u. DEMONSTRATOR 1939) und den Verdacht, dass pandemische Verläufe dieser Erkrankung, als einer von mehreren wahrscheinlichen Faktoren, zum Aussterben des Mastodons (*Mammut americanum*) beigetragen haben (ROTHSCHILD u. LAUB 2006).

Die meisten der beschriebenen Arten kommen jedoch ubiquitär vor und sind apathogen oder nur sehr selten krankheitserregend. Andere sind fakultativ pathogen und damit nur unter bestimmten Umständen, besonders für Individuen mit vorhandenen Vorerkrankungen oder geschwächtem Immunsystem, gefährlich (MUKUNDAN et al. 2015). Einige Mykobakterien sind jedoch gefährliche Krankheitserreger und können sowohl für die öffentliche Gesundheit als auch in der Tierhaltung große Probleme verursachen. Solche mykobakteriellen Erkrankungen sind von besonderer Bedeutung, da nur wenige andere Infektionskrankheiten das Potenzial besitzen, bei einem einzelnen Tier schwere klinische Erkrankungen zu verursachen, einen chronischen Verlauf in einer betroffenen Population zu haben sowie eine große Gefährdung für landwirtschaftliche Nutztiere und die öffentliche Gesundheit darzustellen (ISAZA 2003). Die tiermedizinisch wichtigsten Vertreter dieser Gattung sind *Mycobacterium bovis* und *Mycobacterium avium*.

Der Nachweis von Mykobakterien sowie mykobakterien-assoziierten Krankheitsbildern in zoologischen Gärten wurde bereits vielfach publiziert (MILLER u. LYASHCHENKO 2015). Die Empfänglichkeit der verschiedenen Tierarten variiert dabei für die verschiedenen Mykobakterienspezies, was sowohl zu diagnostischen als auch zu epidemiologischen Herausforderungen führt. Die einzelnen Mykobakterien unterscheiden sich teilweise stark in Epidemiologie, Pathogenität, Krankheitsbild, resultierender Immunantwort und Resistenzverhalten (MUKUNDAN et al. 2015).

An dieser Stelle sei auf weiterführende Literatur zu mykobakteriellen Infektionskrankheiten in zoologischen Gärten und bei Wildtieren im Ursprungshabitat (THOEN 1993; DE LISLE et al. 2001; MONTALI et al. 2001; ISAZA 2003; BACKUES 2008; MILLER u. LYASHCHENKO 2015; MUKUNDAN et al. 2015) sowie bei Vögeln (LAMBERSKI 1999), Reptilien (SOLDATI et al. 2004; EBANI et al. 2012; M. A. MITCHELL 2012), Amphibien (CHAI 2011) und Fischen (GAUTHIER u. RHODES 2009) verwiesen.

1.2.1. *Mycobacterium tuberculosis* Komplex (MTBC)

Der Begriff „Tuberkulose“ wird klassisch für durch wirtsangepasste, pathogene Mykobakterien verursachte Erkrankungen verwendet. Bei Säugetieren wird der Begriff verwendet, um Krankheiten zu definieren, die durch an Menschen und Tiere angepasste, obligat pathogene und langsam wachsende Mykobakterien des *Mycobacterium tuberculosis* Komplex, einer Gruppe von genetisch eng verwandten Spezies, verursacht werden (RODRIGUEZ-CAMPOS et al. 2014). Davon unterschieden werden die sogenannten nicht-tuberkulösen Mykobakterien (MOTT; *Mycobacteria other than Tubercle Bacilli*). Folgende Mykobakterien, benannt nach ihrem Wirt der ersten beziehungsweise häufigsten Isolation, werden dem MTBC zugeordnet (GORDON u. BEHR 2015):

- *M. tuberculosis* (Mensch)
- *M. africanum* Subtyp I und II (Mensch)
- *M. bovis* (Wiederkäuer)
- *M. microti* (Nagetiere, Katzen, Neuweltkameliden)
- *M. caprae* (Ziegen)
- *M. pinnipedii* (Hunds- und Ohrenrobben)
- *M. orygis* (Oryx- und andere Antilopenspezies)
- *M. mungi* (Zeboramangusten)

Das als Dassie-Bazillus bekannte Mykobakterium wird ebenfalls zum MTBC gezählt und wurde erstmals in den 1950er Jahren aus der Lunge eines freilebenden Klippschliefer (*Procavia capensis*) isoliert (WAGNER et al. 1958).

Infektionen und Erkrankungen durch Erreger des MTBC waren im vergangenen Jahrhundert eine häufige Todesursache von Tieren in zoologischen Gärten (DE LISLE et al. 2001; MONTALI et al. 2001; MILLER u. LYASHCHENKO 2015). Das Risiko einer Infektion von Zootieren und Menschen ist nach wie vor ein sehr ernstzunehmendes Thema, welches vor allem durch eingeschränkte Möglichkeiten zur sicheren *ante-mortem* Diagnose und Nachverfolgung verstärkt wird (MILLER 2008; LÉCU u. BALL 2015).

Berichte zu Infektionen und resultierenden Erkrankungen durch Mykobakterien des *Mycobacterium tuberculosis* Komplex bei Zootieren sind nach Taxonomie gegliedert nachfolgend in Tabelle 1 bis 8 aufgeführt:

Tabelle 1: Infektionen von Zootieren mit *Mycobacterium tuberculosis* Komplex

<i>Mycobacterium tuberculosis</i> Komplex (ohne Differenzierung)			
Hyracoidea			
Procaviidae	Klippschliefer	<i>Proavia capensis</i>	(COUSINS et al. 1994)
Primates			
Cebidae	Haubenkapuziner	<i>Cebus apella</i>	(LEATHERS u. HAMM 1976)
	Gewöhnlicher Totenkopffaffe	<i>Saimiri sciureus</i>	(LEATHERS u. HAMM 1976)
Cercopithecidae	Rhesusaffe	<i>Macaca mulatta</i>	(LEATHERS u. HAMM 1976)
Carnivora			
Otariidae	Neuseeländische Seebär	<i>Arctocephalus forsteri</i>	(FORSHAW u. PHELPS 1991)
	Südafrikanische Seebär	<i>Arctocephalus pusillus</i>	(FORSHAW u. PHELPS 1991)
	Australische Seelöwe	<i>Neophoca cinerea</i>	(FORSHAW u. PHELPS 1991)
Perissodactyla			
Rhinocerotidae	Sumatra Nashorn	<i>Dicerorhinus sumatrensis</i>	(MILLER et al. 2017)
	Spitzmaulnashorn	<i>Diceros bicornis</i>	(MILLER et al. 2017)
	Panzernashorn	<i>Rhinoceros unicornis</i>	(MILLER et al. 2017)
Tapiridae	Flachlandtapir	<i>Tapirus terrestris</i>	(PEREIRA et al. 2018)
Artiodactyla			
Bovidae	Beisa-Oryx	<i>Oryx beisa</i>	(LOMME et al. 1976)

Tabelle 2: Infektionen von Zootieren mit *Mycobacterium tuberculosis*

<i>Mycobacterium tuberculosis</i>			(MONTALI et al. 2001)
Proboscidea			(BACKUES 2019); (MIKOTA et al. 2015)
Elephantidae	Asiatischer Elefant	<i>Elephas maximus</i>	(OH et al. 2002) (MIKOTA et al. 2001) (LEWERIN et al. 2005) (FELDMAN et al. 2013) (VOGELNEST et al. 2015) (SIMPSON et al. 2017) (MILLER et al. 2018) (STEPHENS et al. 2013)
	Afrikanischer Elefant	<i>Loxodonta africana</i>	(MIKOTA et al. 2001) (FELDMAN et al. 2013)
Primates			
Atelidae	Rotgesichtklammeraffe	<i>Ateles paniscus</i>	(ROCHA et al. 2011)
Cercopithecidae	Bärenpavian	<i>Papio ursinus</i>	(MICHEL et al. 2003)
	Bengalischer Hanumanlangur	<i>Semnopithecus entellus</i>	(MICHEL et al. 2003)
Hylobatidae	Weißhandgibbon	<i>Hylobates lar</i>	(KÄLLENIUS et al. 1993)
Hominidae	Gemeiner Schimpanse	<i>Pan troglodytes</i>	(MICHEL et al. 2003) (STEPHENS et al. 2013)
	Borneo-Orang-Utan	<i>Pongo pygmaeus</i>	(KILBOURN et al. 2001)
	Orang-Utan	<i>Pongo spp.</i>	(HABERLE 1970)
Perissodactyla			
Rhinocerotidae	Breitmaulnashorn	<i>Ceratotherium simum</i>	(MILLER et al. 2017) (KARLSTAM et al. 2015)
	Spitzmaulnashorn	<i>Diceros bicornis</i>	(OH et al. 2002) (DUNCAN et al. 2009) (MILLER et al. 2017)
Tapiridae	Schabrackentapir	<i>Tapirus indicus</i>	(MICHEL et al. 2003) (KAEWAMATAWONG 2010)
	Flachlandtapir	<i>Tapirus terrestris</i>	(STERNBERG et al. 2002) (MICHEL et al. 2003) (KÄLLENIUS et al. 1993) (MURAKAMI et al. 2012b)
Artiodactyla			
Giraffidae	Giraffe	<i>Giraffa spp.</i>	(LEWERIN et al. 2005)
Bovidae	Addax	<i>Addax nasomaculatus</i>	(MICHEL et al. 2003)
	Schneeziege	<i>Oreamnos americanus</i>	(OH et al. 2002)
	Bergriedbock	<i>Redunca fulvorufula</i>	(MICHEL et al. 2003)
	Kleiner Kudu	<i>Tragelaphus imberbis</i>	(MICHEL et al. 2003)

Tabelle 3: Infektionen von Zootieren mit *Mycobacterium africanum*

<i>Mycobacterium africanum</i>			
Hyracoidea			
Procaviidae	Klippschliefer	<i>Provacia capensis</i>	(GUDAN et al. 2008)
Primates			
Cercopithecidae	Mandrill	<i>Mandrillus sphinx</i>	(AMADO et al. 2006)
Hominidae	Gemeiner Schimpanse	<i>Pan troglodytes</i>	(THOREL 1980)

Tabelle 4: Infektionen von Zootieren mit *Mycobacterium bovis*

<i>Mycobacterium bovis</i>		(DE LISLE et al. 2001)	
Proboscidea			
Elephantidae	Afrikanischer Elefant	<i>Loxodonta africana</i>	(FELDMAN et al. 2013)
Primates			
Lemuridae	Brauner Maki	<i>Eulemur fulvus</i>	(WILSON et al. 1984)
Cercopithecidae	Schwarz-weißer Stummelaffe	<i>Colobus spp.</i>	(STETTER et al. 1995)
	Husarenaffe	<i>Erythrocebus patas</i>	(WILSON et al. 1984)
	Stummelschwanzmakak	<i>Macaca arctoides</i>	(RENNER 1974)
	Rhesusaffe	<i>Macaca mulatta</i>	(RENNER 1974)
	Wanderu	<i>Macaca silenus</i>	(WILSON et al. 1984)
	Anubispavian*	<i>Papio anubis</i>	(TARARA et al. 1985)
	Mantelpavian	<i>Papio hamadryas</i>	(THOREL et al. 1998)
	Guinea-Pavian	<i>Papio papio</i>	(THOEN et al. 1977a)
	Südliche Brillenlangur	<i>Trachypithecus obscurus</i>	(HIMES et al. 1982)
Hylobatidae	Siamang	<i>Symphalangus syndactylus</i>	(WILSON et al. 1984)
Hominidae	Gemeiner Schimpanse	<i>Pan troglodytes</i>	(RENNER 1974)
Carnivora			
Procyonidae	Südamerikanischer Nasenbär*	<i>Nasua nasua</i>	(MURAKAMI et al. 2012a)
Canidae	Fennek	<i>Vulpes zerda</i>	(HIMES et al. 1980)
Otariidae	Mähnenrobbe	<i>Otaria flavescens</i>	(THOREL et al. 1998)
Felidae	Europäischer Luchs	<i>Lynx lynx</i>	(SCHMIDBAUER et al. 2007)
	Löwe	<i>Panthera leo</i>	(MORRIS et al. 1996)
	Leopard	<i>Panthera pardus</i>	(THOREL et al. 1998)
	Tiger	<i>Panthera tigris</i>	(LUMEIJ et al. 1987)
			(LANTOS et al. 2003)
			(VAN WATERING et al. 1972)
	Schneeleopard	<i>Panthera uncia</i>	(HELMAN et al. 1998)
			(THOREL et al. 1998)
Perissodactyla			
Rhinocerotidae	Breitmaulnashorn	<i>Ceratotherium simum</i>	(STETTER et al. 1995)
			(DALOVISIO et al. 1992)
			(MILLER et al. 2017)
	Spitzmaulnashorn	<i>Diceros bicornis</i>	(MANN et al. 1981)
			(ESPIE et al. 2009)
			(MILLER et al. 2017)
Equidae	Onager	<i>Equus hemionus onager</i>	(SCHAFTENAAR et al. 2013)
Artiodactyla			
Suidae	Hängebauchschwein	<i>Sus scrofa vittatus</i>	(SCHMIDBAUER et al. 2007)
Cervidae	Axishirsch	<i>Axis axis</i>	(JONES et al. 1976)
	Rothirsch	<i>Cervus elaphus</i>	(SCHMIDBAUER et al. 2007)
Bovidae	Wisent	<i>Bison bonasus</i>	(SCHMIDBAUER et al. 2007)
	Spießbock	<i>Oryx gazelle gazelle</i>	(SCHMIDBAUER et al. 2007)
	Arabische Oryx	<i>Oryx leucoryx</i>	(FLAMAND et al. 1994)
			(GRETH et al. 1994)
	Großer Kudu	<i>Tragelaphus strepsiceros</i>	(HIMES et al. 1976)
Camelidae	Trampeltier	<i>Camelus bactrianus</i>	(BUSH et al. 1990)

*Wildtier

Tabelle 5: Infektionen von Zootieren mit *Mycobacterium microti*

<i>Mycobacterium microti</i>			
Hyracoidea			
Procaviidae	Klippschliefer	<i>Provacia capensis</i>	(LUTZE-WALLACE et al. 2006)
Primates			
Cebidae	Gewöhnlicher Totenkopffaffe	<i>Saimiri sciureus</i>	(HENRICH et al. 2007)
Carnivora			
Herpestidae	Erdmännchen	<i>Suricata suricatta</i>	(PALGRAVE et al. 2012)

Tabelle 6: Infektionen von Zootieren mit *Mycobacterium caprae*

<i>Mycobacterium caprae</i>			
Proboscidea			
Elephantidae	Asiatischer Elefant	<i>Elephas maximus</i>	(YOSHIDA et al. 2018)
Artiodactyla			
Bovidae	Bison	<i>Bison bison</i>	(PATE et al. 2006)
Camelidae	Dromedar	<i>Camelus dromedarius</i>	(PATE et al. 2006)

Tabelle 7: Infektionen von Zootieren mit *Mycobacterium pinnipedii*

<i>Mycobacterium pinnipedii</i>			
			(LÉCU 2019)
Rodentia			
Hystricidae	Gewöhnliche Stachelschwein	<i>Hystrix cristata</i>	(JURCZYNSKI et al. 2011)
Carnivora			(COUSINS et al. 2003)
Otariidae	Mähnenrobbe	<i>Otaria flavescens</i>	(MOSER et al. 2008)
	Kalifornische Seelöwe	<i>Zalophus californianus</i>	(KRIZ et al. 2011)
			(KIERS et al. 2008)
Perissodactyla			
Tapiridae	Schabrakentapir	<i>Tapirus indicus</i>	(JURCZYNSKI et al. 2011)
			(MOSER et al. 2008)
Artiodactyla			
Camelidae	Trampeltier	<i>Camelus bactrianus</i>	(JURCZYNSKI et al. 2011)
			(MOSER et al. 2008)

Tabelle 8: Infektionen von Zootieren mit *Mycobacterium orygis*

<i>Mycobacterium orygis</i>			
Perissodactyla			
Rhinocerotidae	Panzernashorn*	<i>Rhinoceros unicornis</i>	(THAPA et al. 2016)
Artiodactyla			
Cervidae	Axishirsch*	<i>Axis axis</i>	(THAPA et al. 2016)
Bovidae	Nilgauantilope*	<i>Boselaphus tragocamelus</i>	(THAPA et al. 2016)

*Wildtier

1.2.2. *Mycobacterium avium* Komplex (MAC)

Neben den Mykobakterien des MTBC stellt der *Mycobacterium avium* Komplex (MAC) eine weitere bedeutende Gruppe der Mykobakterien in der Human- und Veterinärmedizin dar. Zum MAC werden neben *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP), die Subspezies *Mycobacterium avium* subsp. *avium* (MAA), *Mycobacterium avium* subsp. *hominissuis* (MAH) und *Mycobacterium avium* subsp. *silvaticum* (MAS) gezählt (THOREL et al. 1990; MIJS et al. 2002). Die Unterarten unterscheiden sich stark in Pathogenität und Wirtsspezifität und sind durch das Vorhandensein oder Fehlen spezifischer Genom-Polymorphismen gekennzeichnet (PAUSTIAN et al. 2008). Mykobakterien des MAC stellen ebenfalls ein erhebliches Risiko für zoologische Sammlungen dar (LAMBERSKI 1999; ISAZA 2003; RIGGS 2012).

Das Vorkommen und die Bedeutung von MAP in zoologischen Gärten wird in Kapitel 4 ausführlich behandelt. Einige Berichte zu Infektionen und resultierenden Erkrankungen durch die weiteren Mykobakterien des *Mycobacterium avium* Komplex bei Zootieren sind nach Taxonomie gegliedert nachfolgend in Tabelle 9 bis 11 aufgeführt:

Tabelle 9: Infektionen von Zootieren mit *Mycobacterium avium* Komplex

<i>Mycobacterium avium</i> Komplex (ohne Differenzierung)				
Aves				(MONTALI et al. 1976); (KEYMER et al. 1982); (WITTE et al. 2008); (WITTE et al. 2010)
Sphenisciformes				
Spheniscidae	Humboldtpinguin	<i>Spheniscus humboldti</i>		(JURCZYNSKI et al. 2013)
Struthioniformes				
Struthionidae	Blauhalsstrauß	<i>Struthio camelus australis</i>		(SCHEIBE et al. 2012)
Mammalia				
Diprotodontia				
Macropodidae	Matschie-Baumkänguru	<i>Dendrolagus matschiei</i>		(MANN et al. 1982) (MONTALI et al. 1998) (JOSLIN 1990)
	Parmawallaby	<i>Macropus parma</i>		(MANN et al. 1982)
	Langschn. Kaninchenkänguru	<i>Potorous tridactylus</i>		(MANN et al. 1982)
Primates				
Cercopithecidae	Rotschenkliger Kleideraffe	<i>Pygathrix nemaeus</i>		(PLESKER et al. 2010)
Lagomorpha				
Leporidae	Zwergkaninchen	<i>Brachylagus idahoensis</i>		(HARRENTIEN et al. 2006)
Artiodactyla				
Camelidae	Trampeltier	<i>Camelus bactrianus</i>		(BUSH et al. 1990)
Bovidae	Mähnspringer	<i>Ammotragus lervia</i>		(PORTAS et al. 2009)

Tabelle 10: Infektionen von Zootieren mit *Mycobacterium avium* subsp. *avium*

<i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>avium</i>			
Aves			(SCHRENZEL et al. 2008)
Mammalia			
Proboscidea			
Elephantidae	Asiatischer Elefant	<i>Elephas maximus</i>	(YONG et al. 2011)
Carnivora			
Phocidae	Seehund*	<i>Phoca vitulina</i>	(FOSTER et al. 2013)
Carnivora			
Felidae	Tiger	<i>Panthera tigris</i>	(CHO et al. 2006)

Tabelle 11: Infektionen von Zootieren mit *Mycobacterium avium* subsp. *hominissuis*

<i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>hominissuis</i>			
Mammalia			
Proboscidea			
Elephantidae	Afrikanischer Elefanten	<i>Loxodonta africana</i>	(WENKER et al. 2018)
Artiodactyla			
Bovidae	Bongo	<i>Tragelaphus eurycerus</i>	(MORAVKOVA et al. 2013)

Mycobacterium intracellulare wird teilweise auch zum MAC gerechnet, dann als *Mycobacterium avium-intracellulare* Komplex. Aufgrund von deutlichen phylogenetischen Unterschieden erscheint dies aus taxonomischer Sicht jedoch nicht mehr gerechtfertigt (VALENTIN-WEIGAND 2011b). Neben MAA ist *Mycobacterium intracellulare* einer der Hauptverursacher von Mykobakteriosen bei gehaltenen Vögeln (SCHRENZEL et al. 2008). Infektionen sind jedoch auch bei anderen Zootieren beschrieben und nach Taxonomie gegliedert nachfolgend in Tabelle 12 aufgeführt:

Tabelle 12: Infektionen von Zootieren mit *Mycobacterium intracellulare*

<i>Mycobacterium intracellulare</i>			
Aves			(SCHRENZEL et al. 2008)
Sphenisciformes			
Spheniscidae	Zwergpinguin	<i>Eudyptula minor</i>	(NAPIER et al. 2009)
Mammalia			
Primates			
Pitheciidae	Weißkopfsaki	<i>Pithecia pithecia</i>	(KING 1993) (HEARD et al. 1997)
Artiodactyla			
Bovidae	Mähnspringer	<i>Ammotragus lervia</i>	(PORTAS et al. 2009)

1.2.3. Weitere Mykobakterien (Atypische Mykobakterien)

Neben den Mykobakterien des MTBC und des MAC stellen schnell wachsende, atypische Mykobakterien eine weitere Gruppe dar, die meist saprophytär leben, ubiquitär in der Umwelt vorkommen und nur unter bestimmten Bedingungen als opportunistische Infektionserreger auftreten. Ausnahmen unter diesen atypischen Mykobakterien stellen beispielsweise die obligat pathogene Spezies *Mycobacterium ulcerans* und die *in vitro* nicht kultivierbare, humanpathogene Spezies *Mycobacterium leprae* dar (VALENTIN-WEIGAND 2011b).

Infektionen mit Mykobakterien dieser Gruppe kommen sowohl bei domestizierten Tieren als auch bei Wildtieren vor (BERCOVIER u. VINCENT 2001). Die Bedeutung dieser Gruppe für zoologische Gärten wurde in der Vergangenheit oftmals übersehen (THOEN 1993). Neue Untersuchungen zur Ausscheidung in Rachensekret und Kot von Zootieren zeigen, dass von klinisch unauffälligen Individuen häufig nicht-tuberkulöse Mykobakterien ausgeschieden werden (SALCHOW 2018). In Anbetracht ihrer spezifischen Biologie und Ernährungsgewohnheiten sind „Grazer“ (Grasfresser, Abweider) im Gegensatz zu „Browsern“ (Konzentrat-Selektierer) wahrscheinlich regelmäßiger umweltassoziierten Mykobakterien ausgesetzt. Insbesondere Arten wie beispielsweise Breitmaulnashörner (*Ceratotherium simum*) haben ihre Mund- und Nasenhöhle in häufigem Kontakt mit dem Bodengrund und kommen dadurch in Kontakt mit Umweltmykobakterien (insbesondere nicht-tuberkulösen Mykobakterien) (HERMES et al. 2018).

Wie in verschiedenen Fallberichten publiziert, können diese Mykobakterien jedoch bei einzelnen Tieren oder Tiergruppen mitunter auch schwere Krankheitsverläufe verursachen sowie bei der Diagnostik von Mykobakterien des MTBC zu Kreuzreaktionen führen. Einige Berichte zu Infektionen und resultierenden Erkrankungen durch diese Mykobakterien bei Zootieren sind nach Taxonomie gegliedert nachfolgend in Tabelle 13 aufgeführt:

Tabelle 13: Infektionen von Zootieren mit weiteren Mykobakterien

<i>Mycobacterium abscessus</i>				
Cetacea				
Delphinidae	Große Tümmler	<i>Tursiops truncatus</i>		(CLAYTON et al. 2012)
Monodontidae	Beluga	<i>Delphinapterus leucas</i>		(CALLE et al. 2007)
<i>Mycobacterium chelonae</i>				
Cetacea				
Delphinidae	Große Tümmler	<i>Tursiops truncatus</i>		(WÜNSCHMANN et al. 2008)
<i>Mycobacterium elephantis</i>				
Proboscidea				
Elephantidae	Afrikanischer Elefanten	<i>Loxodonta africana</i>		(SHOJAEI et al. 2000)
<i>Mycobacterium fortuitum</i>				
Psittaciformes				(LEDWON et al. 2008)
Artiodactyla				
Bovidae	Spießbock	<i>Oryx gazelle gazelle</i>		(SCHAFTENAAR et al. 2013)
Carnivora				
Felidae	Nebelparder	<i>Neofelis nebulosa</i>		(CERVENY et al. 2013)
<i>Mycobacterium gastri</i>				
Artiodactyla				
Bovidae	Schneeziege	<i>Oreamnos americanus</i>		(RIETSCHER 2004)
<i>Mycobacterium genavense</i>				
Coraciiformes, Piciformes, Galliformes, Psittaciformes, Passeriformes				(PORTAELS et al. 1996)
Rodentia				
Sciuridae	Sri-Lanka-Riesenhörnchen	<i>Ratufa macroura</i>		(THEUSS et al. 2010)
<i>Mycobacterium kansasii</i>				
Primates				
Cebidae	Totenkopffaffe	<i>Saimiri sciureus sciureus</i>		(BRAMMER et al. 1995)
Hylobatidae	Siamang	<i>Hylobates syndactylus</i>		(THOMPSON et al. 2016)
Artiodactyla				
Bovidae	Schneeziege	<i>Oreamnos americanus</i>		(RIETSCHER 2004)
	Buntbock	<i>Damaliscus pygargus</i>		(MILLER et al. 2011)
	Sichuan-Takin	<i>Budorcas taxicolor tibetana</i>		(THOMPSON et al. 2016)
<i>Mycobacterium leprae</i> / <i>Mycobacterium lepraemurium</i>				
Primates				
Hominidae	Gemeiner Schimpanse	<i>Pan troglodytes</i>		(ROJAS-ESPINOSA 2001)
Cercopithecidae	Rußmangabe	<i>Cercocebus atys</i>		(ROJAS-ESPINOSA 2001)
	Javaneraffe	<i>Macaca fascicularis</i>		(ROJAS-ESPINOSA 2001)
<i>Mycobacterium marinum</i>				
Cetacea				
Monodontidae	Beluga	<i>Delphinapterus leucas</i>		(BOWENKAMP et al. 2001)
Sirenia				
Trichechidae	Karibik-Manati	<i>Trichechus manatus</i>		(SATO et al. 2003)
<i>Mycobacterium nebraskense</i>				
Perissodactyla				
Rhinocerotidae	Panzernashorn	<i>Rhinoceros unicornis</i>		(WENKER et al. 2018)

<i>Mycobacterium parafortuitum</i>			
Artiodactyla Bovidae	Mähnspringer	<i>Ammotragus lervia</i>	(PORTAS et al. 2009)
<i>Mycobacterium peregrinum</i>			
Primates Hominidae	Sumatra-Orang-Utan	<i>Pongo abelii</i>	(RIETSCHER 2004)
<i>Mycobacterium scrofulaceum</i>			
Artiodactyla Bovidae	Bison	<i>Bison bison</i>	(PATE et al. 2006)
<i>Mycobacterium simiae</i>			
Coraciiformes Alcedinidae	Zimtkopfliege	<i>Todiramphus cinnamominus</i>	(TRAVIS et al. 2007)
<i>Mycobacterium smegmatis</i>			
Carnivora Otariidae	Kalifornischer Seelöwe	<i>Zalophus californicus</i>	(GUTTER et al. 1987)
<i>Mycobacterium szulgai</i>			
Proboscidea Elephantidae	Afrikanischer Elefant	<i>Loxodonta africana</i>	(LACASSE et al. 2007)
<i>Mycobacterium ulcerans</i>			
Diprotodontia Phascolarctidae	Koala*	<i>Phascolarctos cinereus</i>	(PORTAELS et al. 2001) (MITCHELL et al. 1984) (MCORIST et al. 1985) (MITCHELL et al. 1987)

*Wildtier

1.3. *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*

Die Paratuberkulose ist eine durch *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* hervorgerufene chronisch-progressive, nicht therapierbare Darmerkrankung, die vorwiegend bei domestizierten und nicht-domestizierten Wiederkäuern und Kameliden auftritt. Das Krankheitsbild wurde bereits 1895 von Dr. Johne, einem deutschen Tierarzt und Pathologen, beschrieben (JOHNE u. FROTHINGHAM 1895), weshalb sie auch als „Johne’s disease“ bekannt ist. Erst einige Jahre später konnte MAP dem Krankheitsbild durch die Erfüllung der Henle-Koch’schen Postulate zugeordnet werden (TWORT u. INGRAM 1912). Paratuberkulose kommt weltweit vor und ist auch in Deutschland flächendeckend verbreitet. In der Nutztierhaltung führt sie teilweise zu erheblichen direkten und indirekten wirtschaftlichen Verlusten. Empfänglich für eine Infektion sind primär Jungtiere in den ersten Lebenswochen und -monaten, auch wenn Infektionen adulter Tiere beschrieben sind. Die fäkal-orale Route stellt dabei den Übertragungsweg für die meisten Infektionsgeschehen dar. Klinische Symptome wie Abmagerung, Kachexie, Unterhautödeme und Entkräftung entwickeln sich meist erst in der letzten Phase der Erkrankung nach einer bis zu mehreren Jahren andauernden Inkubationszeit (STABEL et al. 2015). Chronischer, therapieresistenter Durchfall wird vor allem bei Rindern beobachtet, während die klinische Symptomatik bei Schafen und Ziegen vorwiegend durch fortschreitende Abmagerung charakterisiert ist. Eine wirtschaftlich vertretbare und klinisch erfolgreiche therapeutische Behandlung der Paratuberkulose existiert nicht (ST-JEAN 1996). Die Erkrankung endet infolge von Malabsorption und Proteinmangel tödlich. Bereits vor dem Auftreten klinischer Symptome wird der Erreger intermittierend über den Kot ausgeschieden. Infizierte Tiere können bedingt durch den chronischen Verlauf der Erkrankung mit den zur Verfügung stehenden Nachweismethoden über lange Zeit nicht diagnostiziert werden. Asymptomatische Ausscheider, die aufgrund eines fehlenden klinischen Verdachtes unentdeckt in der Herde verweilen, führen daher zu einer unbemerkten Ausbreitung innerhalb des Bestandes.

In Deutschland gehört die Paratuberkulose zu den meldepflichtigen Tierkrankheiten (Verordnung über meldepflichtige Tierkrankheiten in der Fassung der Bekanntmachung vom 11. Februar 2011 (BGBl. I S. 252), die zuletzt durch Artikel 5 der Verordnung vom 31. März 2020 (BGBl. I S. 752) geändert worden ist). Das Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft hat 2014 die „Empfehlungen für Hygienemaßnahmen bei der Haltung von Wiederkäuern“ veröffentlicht. In einem besonderen Teil dieser Empfehlungen wird die Paratuberkulose gesondert behandelt und folgende Ziele festgelegt: Senkung der Prävalenz der MAP-Infektionen in den Beständen, Verminderung der wirtschaftlichen Schäden in den Betrieben, Eindämmung der Ausbreitung in andere Rinderbestände und Schaffung und Schutz von Paratuberkulose-unverdächtigen Rinderbeständen.

Über die Verbreitung von MAP in zoologischen Gärten sind bislang nur wenige Studien durchgeführt worden, welche sich darüber hinaus auf verschiedene Arten von Wiederkäuern beschränkten. Es ist bisher wenig darüber bekannt, wie der Erreger der Paratuberkulose in zoologischen Gärten verbreitet ist und inwieweit Zootiere das klinische Bild der Paratuberkulose ausbilden können.

Es ist weitgehend unbekannt, wie sich die Infektionswege in zoologischen Gärten darstellen, ob Zootiere ein Reservoir für MAP sein können und ob zoologische Gärten somit eine potenzielle Infektionsquelle für Haus- und Nutztierhaltungen bilden. Weiterhin ist unbekannt, ob Mitarbeiter zoologischer Gärten einer beruflichen Exposition ausgesetzt sind und somit eine Risikogruppe für MAP-Infektionen darstellen. Vor diesem Hintergrund stellen Zoo- und Wildtiere in zoologischen Gärten eine gute Möglichkeit dar, um die Erregervirulenz und Epidemiologie besser verstehen zu können.

Die vorliegende Dissertation befasst sich daher mit dem Vorkommen und der Bedeutung von MAP Infektionen und Erkrankungen in zoologischen Gärten. Sie beinhaltet eine Literaturübersicht zum Vorkommen und der Epidemiologie von Paratuberkulose bei Zootieren. Ziel dieser Arbeit war es zudem, das Vorkommen von MAP im Zoologisch-Botanischen Garten Wilhelma in Stuttgart mittels serologischer und molekularbiologischer Methoden zu ermitteln, um Rückschlüsse auf eine entsprechende Exposition und Infektionsgefährdung des Tierbestandes ziehen zu können.

2. Material und Methoden

Im Folgenden sind Material und Methoden für die Erstellung der Literaturübersicht sowie für die Untersuchungen im Zoologisch-Botanischen Garten Wilhelma zusammengefasst und aufgeführt. Für eine ausführliche Beschreibung der jeweiligen Materialien und Methoden sei auf die entsprechenden Kapitel in den Manuskripten in Kapitel 4 und 5 verwiesen.

2.1. Teil 1 – Literaturübersicht

Für die vorliegende Übersichtsarbeit wurde die Literaturrecherche unter Verwendung von Kombinationen der Schlüsselwörter „Paratuberkulose“ ODER „Johne's Disease“ UND „Zoo“ in Online-Datenbanken (z.B. über VetSearch [Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover]) durchgeführt. Weiterhin wurde auf Konferenzberichte der AAZV und der EAZWV sowie auf Verhandlungsberichte der Internationalen Symposien über die Erkrankungen der Zoo- und Wildtiere zurückgegriffen. Das letzte Datum, an dem die Literatursuche durchgeführt wurde, war der 31. Dezember 2019.

Veröffentlichte Berichte über den aktuellen Wissenstand zu MAP Exposition und Infektion sowie dem Auftreten und der Epidemiologie der resultierenden Erkrankung bei in zoologischen Gärten gehaltenen Tierarten wurden unter Berücksichtigung der klinischen Symptome, pathologischer und histopathologischer Befunde sowie der verwendeten diagnostischen Ansätze neu bewertet und anhand von bereits publizierten Falldefinitionen nach WHITTINGTON et al. (2017) eingeteilt. Die Implementierung einer konzeptionellen Rangfolge von diagnostischen Ergebnissen für eine Falldefinition ermöglicht dabei die Klassifizierung und den Vergleich der veröffentlichten Berichte. Dadurch ist es möglich die Empfänglichkeit einzelner Tierarten und taxonomischen Gruppen aufzuzeigen.

2.2. Teil 2 – Untersuchungen im Zoologisch-Botanischen Garten Wilhelma

Alle Proben, welche im Rahmen dieser Arbeit verwendet wurden, wurden gemäß den Regeln zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis entnommen. Die Studie wurde der zuständigen Behörde in Stuttgart (Regierungspräsidium Stuttgart, Abteilung 3 - Landwirtschaft, Ländlicher Raum, Veterinär- und Lebensmittelwesen) unter der Aktenzeichennummer 35-9185.82 / 0347 gemeldet.

Im Rahmen der zootierärztlichen Bestandsbetreuung wird, sofern ein Tier für eine notwendige tierärztliche Behandlung fixiert oder immobilisiert wird, standardmäßig versucht Serum zu gewinnen und zu untersuchen. Der überschüssige Anteil der entnommenen Serumproben wird in einer Serumbank im Zoologisch-Botanischen Garten gelagert.

Für die serologischen Untersuchungen im Rahmen dieser Arbeit wurde ein Teil dieser Proben zur Verfügung gestellt. Die Probenentnahmevolumina blieben von den geplanten Untersuchungen unbeeinflusst. Kein Tier wurde durch die Untersuchungen für diese Arbeit einer zusätzlichen Beeinträchtigung oder Belastung ausgesetzt. Es fand keine invasive Probenentnahme ausschließlich für die Probengewinnung im Rahmen dieser Studie statt.

Die molekularbiologischen Analysen beinhalteten zum einen Untersuchungen von Sammelkotproben ausgewählter Tierarten und zum anderen eine einmalige Untersuchung der jeweiligen Innen- und Außenanlagen der entsprechenden Tiergruppen. Fokustierarten dieser Untersuchungen waren Paarhufer und Primaten. Zusätzliche Proben wurden von Klippschliefern (*Procavia capensis*) und Schabrackentapiren (*Tapirus indicus*) entnommen. Die Probennahme wurde in Absprache mit Zootierpflegerinnen und Zootierpflegern während der Säuberungs- und Reinigungsarbeiten der Anlagen durchgeführt. Kein Tier wurde durch diese Untersuchungen einer zusätzlichen Beeinträchtigung oder Belastung ausgesetzt.

Während der Sektion von verstorbenen beziehungsweise euthanasierten Paarhufern und Primaten wurden der Ileozökal-Lymphknoten, ein Teil des Ileums, sowie Dünndarminhalt entnommen und untersucht. Eine Euthanasie stand dabei in keinem Zusammenhang mit den durchgeführten Untersuchungen in dieser Studie und fand nur nach fachgerechter Beurteilung des Gesundheitszustandes und tierärztlicher Indikation statt.

Die gewonnenen Kot- und Umweltproben wurden in einem von der Arbeitsgruppe Czerny entwickelten molekularbiologischen Diagnostiksystem auf der Basis der „Rekombinase-Polymerase-Amplifikationstechnik“ (RPA) (HANSEN et al. 2016; HANSEN et al. 2019) direkt vor Ort in der Wilhelma untersucht. Das verwendete Diagnoseverfahren wurde bereits für diverse pathogene Infektionserreger, vor allem tropischen Infektionskrankheiten, etabliert (ABD EL WAHED et al. 2015; MONDAL et al. 2016) und bereits erfolgreich für Point-of-need Untersuchungen eingesetzt. Es wird daran gearbeitet, praktischen Tierärzten ein Diagnostiksystem zur Verfügung zu stellen, das unmittelbar im Stall, im Gehege oder im Freiland angewendet werden kann, um schnell eine hochspezifische und sensitive Diagnose stellen zu können.

Neben diesem Diagnostikverfahren vor Ort wurden die Proben zusammen mit den Sektions- und Serumproben in der Abteilung Mikrobiologie und Tierhygiene am Department für Nutztierwissenschaften der Georg-August-Universität Göttingen untersucht. Die Proben wurden in verschiedenen real-time PCR-Untersuchungen (Polymerase-Kettenreaktion; Polymerase chain reaction) zur Detektion von mykobakterieller RNA, beziehungsweise MAP, MAA und MAH-DNA eingesetzt. Serumproben wurden auf Antikörper gegen MAC und MAP untersucht.

3. Ergebnisse

Vorwort zu den Manuskripten

Die vorliegende Dissertation befasst sich mit dem Vorkommen und der Bedeutung von *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* Infektionen in zoologischen Gärten.

Die Zielsetzung dieser Studie war einerseits in einer ausführlichen Literaturrecherche beschriebene Infektions- und Erkrankungsfälle bei Zootieren zusammenzufassen und zum anderen eine potentielle MAP-Präsenz mittels serologischer und molekularbiologischer Methoden zu untersuchen um Rückschlüsse auf die entsprechende Infektionsgefährdung der gehaltenen Tierarten im Zoologisch-Botanischen Garten Wilhelma in Stuttgart ziehen zu können.

Die Ergebnisse der Literaturrecherche zum aktuellen Wissensstand über MAP Infektionen und Erkrankungen bei in zoologischen Gärten gehaltenen Tierarten sind Gegenstand des ersten Manuskriptes (Kapitel 4).

Die Ergebnisse der labordiagnostischen Untersuchungen sind neben der Etablierung der RPA-Technik im Zoologisch-Botanischen Garten Wilhelma in Stuttgart Gegenstand des zweiten Manuskriptes (Kapitel 5).

4. Manuskript A

***Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* infection in zoo animals: a review of susceptibility and disease process**

Marco Roller^{1,2,4}, Sören Hansen², Tobias Knauf-Witzens¹, Walter M. R. Oelemann^{3,4}, Claus-Peter Czerny^{2†}, Ahmed Abd El Wahed^{2,5,‡}, Ralph Goethe^{3,*,‡}

¹ Wilhelma Zoological-Botanical Gardens Stuttgart, Wilhelma 13, D-70376 Stuttgart, Germany; marco.roller@tiho-hannover.de (M.R.); Tobias.Knauf-Witzens@wilhelma.de (T.K.-W.)

² Department of Animal Sciences, Division of Microbiology and Animal Hygiene, Faculty of Agricultural Science, Georg-August-University, Burckhardtweg 2, D-37077 Göttingen, Germany; hansensoer@gmail.com (S.H.); cczerny@gwdg.de (C.-P.C.); abdelwahed@gwdg.de (A.A.E.W.)

³ Department of Immunology, Institute of Microbiology, Federal University of Rio de Janeiro, Avenida Carlos Chagas Filho 373, 21941-902 Rio de Janeiro, Brazil; oelemann@micro.ufrj.br (W.M.R.O.)

⁴ Institute for Microbiology, University of Veterinary Medicine Hannover, Foundation, Bischofsholer Damm 15, D-30173 Hannover, Germany; Ralph.Goethe@tiho-hannover.de (R.G.)

⁵ Institute of Animal Hygiene and Veterinary Public Health, University of Leipzig, An den Tierkliniken 43, D-04103 Leipzig, Germany

* Correspondence: Ralph.Goethe@tiho-hannover.de; Tel.: +49 511 856-7625

† Deceased

‡ Senior authorship

Status: Submitted

Abstract: *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* (MAP) is the causative agent of paratuberculosis (ParaTB or Johne's disease), a contagious, chronic and typically fatal enteric disease of domestic and non-domestic ruminants. Clinically affected animals present wasting and emaciation. However, MAP can also infect non-ruminant animal species with less specific signs.

Zoological gardens harbor various populations of diverse animal species, which are managed on limited space at higher than natural densities. Hence, they are predisposed to endemic trans-species pathogen distribution. Information about the incidence and prevalence of MAP infections in zoological gardens and the resulting potential threat to exotic and endangered species are rare. Due to unclear pathogenesis, chronicity of disease as well as the unknown cross-species accuracy of diagnostic tests, diagnosis and surveillance of MAP and ParaTB is challenging. Differentiation between uninfected shedders of ingested bacteria; subclinically infected individuals; and preclinically diseased animals, which may subsequently develop clinical symptoms after long incubation periods, is crucial for the interpretation of positive test results in animals and the resulting consequences in their management.

This review summarizes published data from the current literature on occurrence of MAP infection and disease in susceptible and affected zoo animal species as well as the applied diagnostic methods and measures. Clinical signs indicative for ParaTB, pathological findings and reports on detection, transmission and epidemiology in zoo animals are included. Furthermore, case reports were re-evaluated for incorporation into accepted consistent terminologies and case definitions.

Keywords: *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*, MAP, paratuberculosis, Johne's disease, zoo animals, ruminants, non-ruminants

1 Introduction

Mycobacterial infections in zoo animals can be of significant relevance in terms of animal welfare and conservation efforts. Diagnosis and management strategies need to consider the risk of transmission of *Mycobacteria* from infected or suspicious animals to the zoological collection, as well as the potential zoonotic hazard of the pathogens. This review focuses on the occurrence and epidemiology of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* (MAP) in animals managed in zoological gardens. The susceptibility to MAP of free-ranging and farmed wildlife is only partially addressed as it has already been extensively reviewed (1-5).

Exotic species housed in a zoo environment face epidemiological situations similar to those in livestock herds (e.g. high animal density and exposure to high concentration of infectious agents in the population). This may lead to an increased infection pressure and population stress compared to free-ranging animals, where paratuberculosis (ParaTB) does not appear to be extensive on herd level nor geographically widely distributed (6). However, results of a recent review by Whittington et al. ((7); Supplementary Table 5. Free living wildlife species with MAP infection) showed MAP infection in wildlife in 18 (38%) of 48 examined countries but in 26 countries the situation was unknown. Infection in wildlife may therefore be much more extensive and geographically widespread than we are aware.

Several publications and review articles comment on diagnosis, prevention, and control of ParaTB in zoological gardens, where the disease threatened the valuable animal collections of exotic and endangered species. To date, systematic surveys on MAP infection in zoo animals are unavailable for many species and most studies are limited to various ruminant species. In addition, differences in diagnostic methods together with limited final pathogen confirmation make it difficult to compare these reports.

The aim of this review is to re-evaluate recent literature on susceptible and affected zoo animal species and taxonomic groups considering applied diagnostic approaches and varying case definitions. Whenever possible, the reports were incorporated into defined case definitions according to Whittington et al. (8). Thereby, the implementation of conceptual ranking of evidence for case definition enables the classification of individual animals or herds in terms of pathogenesis and allows illustrating susceptible families.

1.1 ParaTB: General remarks

The etiological agent of ParaTB, a chronic and slowly progressive granulomatous enteritis of small and large domestic ruminants, is *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* (9). MAP is a small, acid-fast, rod-shaped, aerobic and facultative intracellular bacterium of the *Mycobacterium avium* complex (10). ParaTB is reportable in some countries; occurs worldwide; and progressively spreads in global livestock industry, leading to significant economic losses and considerable impact on animal husbandry and welfare (11, 12).

1.2 Epidemiology, Host range and Susceptibility

Clinical ParaTB has been diagnosed in a wide diversity of free-ranging and captive exotic ruminants (13-15). However, MAP infections of non-ruminants such as odd-toed ungulates, lagomorphs, rodents, macropods, carnivores, non-human primates and birds have also been reported (6, 16).

MAP is classified into two major strain types; type S (Sheep type with subtypes I and III) and type C (Cattle type or Type II; including type B: USA and Indian Bison Type). Type S strains are predominantly found in sheep and goats but are uncommon in wildlife (17). In contrast, the common type B strain in cattle has a broad host range, including both ruminants and non-ruminants (2). Cross-species infection and sharing of specific strains between wild and domesticated animals have been shown in several studies (18, 19).

1.3 Pathogenesis, Transmission and Zoonotic potential of MAP

Characteristics of MAP infection and disease depend on the host species and are best known for ruminants. Whitlock and Buergelt (20) defined four stages for ruminant ParaTB; STAGE I: Silent infection of calves, young livestock and adults; STAGE II: Subclinical disease of carrier adults; STAGE III: Clinical disease; STAGE IV: Advanced clinical disease in few animals. Infection is commonly latent and asymptomatic. Shedding animals in stages II and III spread the pathogen intermittently or chronically and represent an often-unrecognized reservoir for MAP. Therefore, these animals are of major epidemiological significance (21, 22). Co-housed individuals and offspring are at highest risk of infection (23, 24), which occurs after fecal-oral pathogen contact, mostly during the first weeks to months of life (25). Transmission to a susceptible livestock host occurs mainly by vertical infection in neonates or animals in the postnatal period, either through sucking the manure-contaminated teats or, later on, by the uptake of feed contaminated with feces (26). Vertical and pseudo-vertical transmission from clinically diseased and infectious dam (e.g. *in utero* infection), or by colostrum and milk has been described (27-29), and the possibility of venereal transmission by semen from domestic bulls was reported (30).

Establishment and course of infection depend on the amount of ingested pathogen, the route of infection as well as age, immune status and physical and genetic resistance of the affected animal. Furthermore, bacterial and environmental factors, strain variations and a variety of other stressors seem to be involved (31). It is largely accepted that M-cells of the Peyer's patches in the ileum mediate MAP uptake from the intestinal lumen. Once in the subepithelial mucosa, MAP is engulfed by intestinal phagocytic cells. Bacteria are able to grow in phagocytes and can disseminate within the jejunal and ileal mucosa and spread to regional lymph nodes (32). Infected animals develop an initial Th1 cell-mediated immune response, which might control bacterial spread and results in either bacterial clearance or subclinical infection. However, stress and other unknown triggers in the chronic phase lead to a Th2 humoral immune response, which fails to contain the infection (33).

Whether MAP can be regarded as a potential public health issue and pathogenic in humans is inconclusive and cannot be definitively answered (34, 35). Higher prevalence of MAP in humans with Crohn's disease suggest a zoonotic risk (36). A causative relationship is still not confirmed but should be considered in discussions about hygiene concepts for "petting zoos" and long-term exposure of zoo animal keepers.

1.4 Clinical signs of ParaTB

Clinical signs of ParaTB, primarily observed in adults, can considerably differ among different ruminant species and are usually absent until advanced stages of the disease. The clinical manifestation usually follows situations of increased stress. Transportation, malnutrition, overcrowding, parasitic infestations, mineral deficiencies, calving, lactation period or concentration and reorganization of animal groups may influence and enhance the disease course and represent contributing factors (37-39).

The bacteria appear to populate intestinal macrophages and to wait for the best opportunity to multiply, spread and elude immunologic control (40). Subsequently, the pathogen multiplies in the macrophages and causes progressive granulomatous inflammation in the intestinal tissues and associated lymph nodes, and the amount of fecal shedding continues to increase.

Classic clinical ParaTB is characterized by an extended granulomatous and incurable enteritis with or without diarrhea, leading to wasting and gradual emaciation despite an uninfluenced feed uptake (9). While profuse diarrhea and intermandibular edema are usually characteristics of late stages in cattle, clinical signs in sheep and goats are limited to chronic weight loss, an unkempt appearance and deteriorated condition and lethargy. Softer feces or diarrhea are rarely seen and may only display in the terminal stages (41). Clinical signs of the disease are mostly inapparent, but once clinical manifestations are evident, the animal rapidly deteriorates and the disease is regularly fatal.

However, as stated above, the presentation of the disease in domestic and non-domestic ruminants as well as in other species can be markedly different (2).

1.5 Pathology

Pathological findings are also often nonspecific and can differ in affected individuals. In addition, not all species develop gross pathology (42). Gross *post-mortem* findings may include cachexia; atrophy of fat tissue; and macroscopic thickening, hyperemia, erosion, and corrugation of the intestinal mucosa, predominantly in the terminal ileum. Associated mesenterial and ileocecal lymph nodes and the ileocecal valve may be enlarged, edematous and the afferent lymphatic vessels are possibly blocked and corded (20). Caseation and calcification of lesions are rare but might occur in small ruminants, cervids, and the South American camelids (41). This leads to difficulties in distinguishing the lesion from tuberculosis and other mycobacterial diseases.

Histological lesions vary from mild to severe and paucibacillary to multibacillary and present histiocytic granulomatous inflammation which may cause diffuse mucosal thickening and atrophy of intestinal villi and glands, accompanied by decreased absorptive capacity and functional loss (25). Although acid-fast bacteria (AFB) typically reside in epithelioid macrophages and multinucleated giant cells forming nests in the intestinal mucosa and mesenteric lymph nodes, the infection can generalize in advanced stages (43) and granulomatous lesion may also be found in the distal jejunum, caecum and colon as well as in associated lymph nodes and other vital organs (e.g. liver, lung).

1.6 Diagnosis

Diagnosis of ParaTB is influenced by the course of infection and immune response of the affected animal. Chronicity and low incidence of disease limit *ante-mortem* diagnosis, the classification of infected individuals, and the characterization at each stage (44). Intermittent excretion, heterogeneous distribution and potentially low numbers of MAP within a fecal sample reduce the significance of pathogen detection, which requires a repeated and regular sampling and testing to increase the probability of detecting shedding individuals. Course of disease, clinical symptoms in individual animals, unresponsiveness to treatment and acid-fast positive lesions during *post-mortem* examination allow reasonable diagnostic clues. However, in some cases, especially in wild and farmed deer, pathological lesions of ParaTB may not be distinguishable from lesions caused by *Mycobacterium bovis* and other *Mycobacterium avium* subspecies (4).

Various *ante-mortem* and *post-mortem* tests, either direct for pathogen detection, as well as indirect for humoral immune response can support or confirm the suspicion (45). All diagnostic methods available to date tend to underestimate true infection and disease prevalence and lack reliability, especially during early and preclinical stages. Variation between the results of different tests are common and false-positive or -negative test results reflect the difficult disease confirmation (46). For reliable and convincing *ante-mortem* diagnosis in individual animals, tests should always be combined with objective historical evidence and epidemiological disease assessment (8).

Cultivation of the pathogen from intestinal tissues is commonly used in diagnosis but should always be confirmed by PCR. Culture requires incubation for weeks to months on appropriate, mycobactin-supplemented culture media before small, fastidious, round and whitish colonies can be observed (47). The efficiency of MAP isolation differs between strain types. Type S strains typically grow more slowly and are more difficult to cultivate (48).

Molecular biology methods for diagnosis, species identification and typing offer a sensitive, specific and rapid detection with reduced diagnostic time and a potentially higher sensitivity (49).

MAP is identified by amplification of specific DNA sequences such as IS900 (15-17 copies per MAP cell), HspX (one copy per MAP cell), ISMap02 (6 copies per MAP cell), F57 (one copy per MAP cell) and genomic locus 251. ISMav02 (3 copies per MAP cell) is another target that is used but no longer considered MAP-specific (50-52).

MAP-specific cell-mediated immune response can be detected by the intradermal skin test, using Johnin or avian purified protein derivative (PPD), or the gamma interferon assay (IFN- γ test). The skin test was used more frequently in the past, but its current use is limited (53).

Antibody-detection-based tests include enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA), agar gel immunodiffusion and complement fixation. Clinical specificity is usually high, while clinical sensitivity depends on the stage of ParaTB and tends to be low in the subclinical stage with lower bacterial load prior to the appearance of clinical signs (46). Commercial ELISAs intended for use in domestic ruminants are generally not validated for non-domestic animals and therefore may be either limited or not suitable to detect antibodies in these species. Hence, it is difficult to critically appraise results of many serological surveys that have previously been performed for MAP detection in wildlife (54). Vansnick et al. (55) used an indirect ELISA (HerdCheck *M. paratuberculosis* ELISA; IDEXX Laboratories, Inc., Westbrook, Maine; from here on referred to as HerdCheck ELISA) based on a non-species-specific binding conjugate (protein G) in zoo animals as an alternative to species-specific secondary antibodies. Obtained positive results might therefore indicate exposure to MAP. However, similar to pathogen detection assays negative results in immunodiagnostic tests are not reliable for diagnosis. They must be evaluated with caution considering availability, applicability and particularly the accuracy of the implemented method as measured by diagnostic sensitivity and specificity in different disease stages (44).

According to the classification of Whittington and coworkers (Table 1, (8)), which was also applied for the case definitions in this review, in terms of efficient prevention and control of ParaTB, it is essential to differentiate between exposed, infected and infectious animals, as well as between subclinically and clinically diseased individuals. If possible, detection of MAP should be incorporated in the definition of an identified case. Accordingly, animals are susceptible when they develop infection and disease (clinical or subclinical) after natural or experimental exposure to a sufficiently high number of infectious bacteria.

An animal is considered infected, if either culture or PCR from a tissue sample demonstrate a positive result. Culture or PCR from feces provide strong evidence of exposure but do not confirm infection, since a fecal 'pass-through' phenomenon and therefore a passive shedding without infection may occur subsequently to an oral ingestion of MAP in a heavily contaminated environment. Thus, a positive fecal culture or PCR should be presumptive of ParaTB unless there is a history of multiple infected animals at the institution. Direct fecal or tissue microscopy and ELISA-positive results are as well not sufficient to define infection. Positive results on more than one occasion increase the confidence about infection and may be suggestive and diagnostically persuasive.

The animal is considered diseased when histopathological lesions consistent with ParaTB are demonstrated and AFB in the lesions are confirmed to be MAP. Diseased individuals may come down with associated clinical signs or remain in a subclinical stage with no attributable clinical signs.

1.7 Treatment and Vaccination

Treatment of ParaTB is usually not attempted or indicated because of the low likelihood of eliminating infection, leading to remission rather than cure, and the high costs of antimycobacterial drugs (56). Vaccination may reduce the risk of transmission, the number of clinical disease cases and the level of shedding (57). Implementation is limited as vaccinated animals interfere with serological testing for MAP as well as surveillance programs for tuberculosis due to the non-specific response to tuberculin skin tests. Both, vaccines and palliative treatment protocols might be considered for breeding purposes in individuals of exceptional genetic value or endangered species.

2 MAP infection and ParaTB in ruminant and non-ruminant zoo animals

Literature concerning zoo animals focusses almost exclusively on emergence of cases of suspicion or detection of MAP infection and ParaTB in zoos. Some studies also report on the measures initiated to reduce spread of MAP.

For the present review, literature search was realized using combinations of the key words “paratuberculosis” OR “Johne’s disease” AND “zoo” in admitted scientific online databases (e.g. via VetSearch [University of Veterinary Medicine Hannover, Foundation] a combined literature research in PubMed, Web of Science, MEDLINE, CAB Abstracts, AGRIS, Academic OneFile, Base, SciELO, Wiley, ScienceDirect, SpringerLink, local catalogues). Manual literature search techniques were employed to access reports of conference proceedings of the AAZV (American Association of Zoo Veterinarians) and EAZWV (European Association of Zoo and Wildlife Veterinarians) and their predecessor organizations. The last date on which the literature search was realized was December 31, 2019. Duplicative references were deleted.

The presence of clinical signs, pathological and histopathological findings as well as associated diagnostics (serology, culture or molecular biology techniques using feces or tissue samples) were reevaluated according to Whittington et al. (8). Cases are summarized by order and family of the animal and presented in Figure 1.

A detailed and extensive register of the cases and their classification is listed in the supplementary data (Table 1). This table can be used to access the diagnostic methods used for each individual report, provides a comprehensive overview of susceptible animals and, if possible, enables a classification according to the case definitions mentioned.

CLASS	Order	Family	Number of affected species (in X publications and/or reports)	Clinical signs consistent with Johne's disease	Pathology / Histopathology / AFB	Culture (feces) / Culture (tissue)	MAP genom (feces) / MAP genom (tissue)	Antibodies	Definition according to Whittington et al., 2017
MAMMALIA	Artiodactyla	Bovidae 	52 (33)	+	+ / + / +	+ / +	+ / +	+	D
		Giraffidae 	2 (3)	-	- / - / -	+ / -	+ / +	+	I
		Cervidae 	18 (16)	+	+ / + / +	+ / +	+ / +	+	D
		Moschidae 	1 (1)	-	- / - / -	- / -	- / -	+	E
		Camelidae 	4 (8)	+	+ / + / +	+ / +	+ / +	+	D
		Suidae 	1 (1)	-	- / - / +	- / +	+ / +	-	I
	Perissodactyla	Equidae 	2 (2)	+	- / + / +	- / +	+ / -	-	D
		Rhinocerotidae 	2 (2)	+	- / - / -	+ / -	- / -	-	E
		Tapiridae 	2 (2)	-	- / - / -	- / -	- / +	+	I
	Rodentia	Capromyidae 	1 (1)	-	- / - / -	- / -	+ / -	-	E
		Caviidae 	1 (1)	-	- / - / -	- / -	+ / -	-	E

Primates	Callitrichidae		2 (2)	-	-/-/-	-/-	+/+	-	I
	Cercopithecidae		3 (4)	+	+/+/+	+/+	+/-	+	D
	Lemuridae		1 (1)	-	-/-/-	-/-	+/-	-	E
Hyracoida	Procaviidae		1 (1)	+	-/-/-	-/+	+/+	-	I
Diprotodontia	Macropodidae		1 (1)	-	-/-/-	-/-	+/-	-	E
AVES	Casuariiformes	Dromaiidae	1 (1)	-	-/-/-	-/-	+/-	-	E
	Galliformes	Numididae	1 (1)	-	-/-/-	-/-	+/-	-	E
	Psittaciformes	Psittacidae	1 (1)	-	-/-/-	-/-	+/-	-	E
	Strigiformes	Strigidae	1 (1)	-	-/-/-	-/-	+/-	-	E

Figure 1: Summarized cases in zoo animals by order and family

“+”: described for / detected in the respective family, “-”: not described for / not detected in the respective family; “D” diseased, “I” infected, “E” exposed

Appropriate permissions for the animal images have been obtained from the copyright holder of this work

(Illustrations: J. Sailer-Paysan, Stuttgart, www.grafik-sailer-paysan.de)

2.1 Ruminant zoo animals

Ruminants represent the largest group of zoo animals identified with MAP infection and ParaTB. Like in studies on free-ranging animals, infection and clinical disease in zoos is described primarily in bovids and cervids, which represent the two predominant artiodactyl families kept in zoos. A limited number of reports describe the detection of MAP in giraffidae and moschidae. No reports for other taxonomic groups of ruminants (antilocapridae and tragulidae) were found either in managed care or in free-ranging populations.

2.1.1. Artiodactyla

2.1.1.1 Bovidae

Clinical signs and pathological lesions in non-domestic bovids correspond to descriptions in domesticated species and have been documented for many genera. As mentioned above, differences in the appearance of ParaTB in cattle, sheep and goats are possibly related to infection by different strain types. Such differences are also found in exotic species of this family, but nevertheless one must acknowledge that data are incomplete to define conclusive species-specific differences.

ParaTB in captive wild animals was firstly reviewed by Katic (58). Jármay (59) described evidence of ParaTB in a common wildebeest (*Connochaetes taurinus albojubatus*) with chronic diarrhea, hypertrophic enteritis, as well as AFB and caseation in mesenteric lymph nodes and liver. Dobberstein (60) reported the disease in an African buffalo (*Syncerus caffer*). Subsequently, early reports from German zoos also included clinical cases with typical lesions in domesticated West African dwarf goats (61). In 1972, Brahm et al. (62) described a granulomatous enteritis and lymphadenitis with extra- and intracytoplasmic acid-fast organisms and a remarkable involvement of spleen and liver, but minor gross lesions in the intestines, in enzootic cases in a large herd of blackbuck (*Antilope cervicapra*) in a German zoo. Such mycobacterial dissemination has been described before by Pallaske (43) in one animal of the same group, indicating that this type of propagation is not uncommon for blackbuck. Clinical signs in this species included severe persistent diarrhea, restricted motion, emaciation and a rapid decline in clinical condition.

ParaTB was histologically confirmed in smaller zoo ruminant species [Nubian ibex (*Capra nubiana*), bezoar goat (*Capra aegagrus*), blackbuck (*Antilope cervicapra*) and cervids] in Germany, where the disease appeared to be frequent and the contaminated environment was suggested as a potential source of infection (63).

In a zoo in Missouri, USA, gradual weight loss, rough hair coat and persistent, odorless diarrhea were observed in Barbary sheep (*Ammotragus lervia*) and mouflon (*Ovis orientalis*) kept in adjacent enclosures with a rapid disease course and early death (64). After disease confirmation by pathohistological examination, complement fixation titers and fecal culture, preventive control measures were initiated and both herds were culled to decrease the infection pressure on rarer and more valuable species.

A similar control regime was implemented after confirmation by fecal culture, necropsy and histopathologic evaluation in a Jimela topi (*Damaliscus lunatus jimela*), a subspecies of the African antelope species topi. This animal, kept in a zoo in California, USA, presented weight loss in the presence of good appetite, abdominal distention, hypoproteinemia and intermittent soft feces (65). It was euthanized to avoid the risk of potential transmission. However, in this case infection could not be confirmed in herd mates via serological assays and intradermal skin tests. An enormous threat of exposure and transmission of MAP in this zoological garden was confirmed by high numbers of positive individual fecal or tissue cultures obtained from different animal species of the same zoo (66). Some of these animals were kept in common enclosures. In addition, MAP was also isolated from pond water on display. A ParaTB surveillance and management program was subsequently established for this zoo and animals were defined as infected whenever MAP was isolated from feces or tissue by culture, or AFB were identified in the lamina propria of the small intestines during *post-mortem* histology (67).

The intrinsic problems of zoological gardens with MAP and ParaTB are emphasized by a report of Dukes et al. (68) on MAP dissemination in a herd of Saiga antelopes (*Saiga tatarica*; an antelope of the plains of central Asia) and their first- and second-generation offspring with mycobacterial enteritis in two zoos in Manitoba, Canada. Severe pathologic lesions consisted of varying degrees of ileal mucosal thickening, granulomatous enteritis, enlarged mesenteric lymph nodes and hepatic granulomas. Although numerous AFB were observed by histology and in direct fecal and tissue smears, only small numbers of MAP could be cultured from tissues. The frequently expressed clinical disease in young animals indicated that besides vertical transmission from infected dams, horizontal transmission from other animals was important. Not all animals with confirmed ParaTB were serologically positive in *ante-mortem* diagnosis using agar gel immunodiffusion or complement fixation (68). Most probably this outbreak based on potentially inadequate pre-shipment investigations before these animals were shipped from a not further specified German zoo and moved to the Canadian zoo. In Europe, the same clinical signs and pathological findings (cachexia, enlarged mesenteric lymph nodes, corrugation of the mucosa, AFB clustered in clumps in the intestinal mucosa and mesenteric lymph nodes) had already been reported before in several animals of this species with an enzootic course of the disease in Germany (69). More recently, Orynbayev et al. (70) reported one seropositive saiga antelope in the Volga-Ural region, Kazakhstan, where they collected blood-samples from 286 free-ranging animals, indicating that ParaTB also exists in the species in the natural population.

Outbreaks of ParaTB in Mishmi takin (*Budorcas taxicolor taxicolor*; a goat antelope found in the eastern Himalaya), yak (*Bos grunniens*), European bison (*Bison bonasus*) and markhor (*Capra falconeri*; a Himalayan goat) at a wildlife park in Scotland, UK, resulted in a rigorous cull and vaccination policy (71). Highest susceptibility for ParaTB and clustered disease expression was found in Mishmi takin. The animals showed pronounced weight loss, followed by an acute deterioration (72). Interestingly, due to their different birth locations and the clustered expression of disease, neonatal infection was unlikely and adult infection with rapid development of the course of the

disease was suspected in this case. Signs included self-isolation, reduced appetite, malaise and abdominal pain, indicated by arching of the back and tensing of the abdomen. Infrequent and intermittent diarrhea, occurring late in disease course, and stunted growth were reported in several other cases. *Ante-mortem* fecal culture on both, herd and individual level, as well as Ziehl-Neelsen staining of fecal smears failed to detect MAP shedding. Positive results in an indirect ELISA using an unspecified anti-ruminant conjugate (ID SCREEN Paratuberculosis Indirect; ID. Vet, Grabels, France) were obtained for animals with clinical disease and in animals that developed clinical disease subsequently, indicating the advantage of multiple diagnostic tests for zoo animal testing. At necropsy, examination revealed poor body condition, granulomatous mesenteric lymphadenopathy with focal necrosis and mineralization, lymphocytic-plasmocytic periportal hepatitis and multibacillary, granulomatous and histiocytic enteritis with expansion of the lamina propria and high numbers of AFB. Positive cultures were obtained from ileum and mesenteric lymph node samples. Confirmed MAP infection in culled wild rabbits on the site was suggested as likely source of infection between enclosures of different single-species exhibits (72).

A similar infection pattern was observed in other zoos for other species. An addax (*Addax nasomaculatus*) was tested positive in a single fecal culture, in Florida, USA. However, all attempts to confirm infection with additional *ante-mortem* tests failed (73). MAP was subsequently isolated from different tissues of this animal. In addition, MAP infection was also confirmed in roan antelopes (*Hippotragus* spp.) and a springbok (*Antidorcas marsupialis*) kept in adjacent enclosures (73, 74). A culture-positive testicle of the latter may indicate that transmission via semen is a possible risk in this species and should be considered in other exotic ruminants. Observations in a mixed species exhibit of exotic hoofstock at the same zoo also revealed higher prevalence of fecal and tissue culture-positive animals in nyala (*Tragelaphus angasi*) and impala antelopes (*Aepyceros melampus*), both showing hypocalcemia, than in Thomson's gazelle (*Eudorcas thomsonii*), suggesting that different types of nutrition could play a role for susceptibility to infection (75). Positive fecal cultures were also found in young animals.

Without providing a more detailed investigation, several studies used fecal culture testing of zoo animals to prove exposure to MAP and support the potential risk of infection (76, 77). Results of the study by Weber et al. (77) confirmed that MAP is frequent in small zoo ruminants and fecal cultures proved to be a better method for detecting shedders than serological investigations by means of complement fixation.

Beside the cases listed above where clinical signs and disease due to MAP were confirmed or could be deduced from the findings, other reports refer the verification of infection after suspicion by tissue sample examination, culture and molecular biological techniques (78, 79). To confirm infection, Erume et al. (79) tested a nested PCR using IS900 as target for the rapid detection of MAP in cattle and zoo animals which were suspected to have ParaTB. The authors concluded an improved sensitivity of detection compared to bacteriological culture and single PCR. However, as stated above analog to PCR of fecal samples, negative results may be obtained depending on sample size and time of collection, and therefore do not mean absence of MAP or ParaTB.

IS900 semi-nested and quantitative real-time PCR positive fecal samples of animals without clinical signs and fecal consistency representative for healthy animals of the respective species were documented in a German zoo with known history of ParaTB (80). In another zoo in Germany, the detection of MAP DNA was also reported in samples taken from the environment as well as in feces of snow goats (*Oreamnos americanus*) and pygmy goats (81).

Probst et al. (82) tested serum samples from different zoo animals in Germany with the Chekit M.pt ELISA using monoclonal anti-ruminant IgG conjugate (IDEXX) and reported positive and/or suggestive results. In a study from Belgium, Vansnick et al. (2005) tested zoo animals by the HerdCheck ELISA and confirmed MAP infection during *post-mortem* examination by nested IS900 PCR in tissue samples collected from the rectum of a single culled European bison (*Bison bonasus*) and in the ileum of a single banteng (*Bibos javanicus*, a species of ox found in Southeast Asia) with a skinny body condition. The risk of interspecies transmission between co-housed animals is also reported from a zoo in Turkey. Here, seropositive animals were detected by complement fixation and HerdCheck ELISA in subclinically infected goats, kept together with seropositive and clinically diseased cervids (83).

2.1.1.2 Cervidae

ParaTB occurs in free-ranging and captive populations of cervids and has already been reviewed extensively (4). Deer appear to be highly susceptible to MAP infection, although strong age-related resistance against disease seemed apparent (84, 85). In addition to sporadic cases in adult or mixed-age deer, outbreaks with a more acute course of disease and rapid progression to emaciation and death can occur at a younger age (e.g. fawns and yearlings) (86). Whereas deer seem to be susceptible to both type B and S strains, cattle type strains appear to be more common and virulent than sheep type strains.

Early reports on suspicion of ParaTB in captive wild cervids have been reviewed by Katic (58). However, they describe typical pathological and histopathological findings without confirmation by culture. Bourgeois (87) reported cases of ParaTB in Sika deer (*Cervus nippon*) and a red deer (*Cervus elaphus*). The latter case showed characteristic lesions and AFB were observed in smears of the colonic mucosa. Another potential case has been reported in Ontario, Canada, in a young, hand-reared moose (*Alces alces*). The animal presented chronic weight loss, intermittent liquid feces and suspicious necropsy results. Diagnosis was based on serological findings, the presence of acid-fast organisms in feces and AFB-positive *post-mortem* impression smears of lymph nodes and intestinal contents (88). Such early reports without identification of the acid-fast bacilli (AFB) by PCR for MAP-specific genetic targets must be interpreted with caution. The same caution in interpretation of results applies to the detection of extra- and intra-cytoplasmic acid-fast organisms in the intestinal mucosa, mesenteric lymph nodes and hepatic granulomas of a roe deer (*Capreolus capreolus*) and a white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) in Germany (63) as well as to clinically diseased and seropositive red deer (*Cervus elaphus*) with typical histological lesions in Turkey (83).

A ParaTB-like disease caused by AFB was also documented in a Belgian zoo in a captive herd of thin and emaciated pudu (*Pudu puda*), a South American deer, with terminal diarrhea and dull hair coat in infected individuals (89). Pathological findings included enteritis with thickening of the intestinal mucosa, enlarged and caseated lymph nodes and tuberculous nodules in lung and liver. Histological lesions were infiltrated with epithelioid cells and giant cells and acid-fast organisms were found in smears of intestinal content and tissues. However, only the isolates from the mesenteric lymph node of one animal were identified as MAP-positive, whereas strains isolated from other animals on media without mycobactin were identified as rough colony type *Mycobacterium avium*. These results exemplify that suspicious histopathological lesions, either paucibacillary or multibacillary, can be indistinguishable from other mycobacterial diseases. Lesions and histopathology assessment of ParaTB have also been described in free-ranging pudu in Chile (90), which are known to shed the bacterium in feces (confirmed by triplex nested PCR using IS900 and ISMap02 as targets) and appear to be a true animal spillover host (91). In addition, MAP was also detected by culture in fecal pellet samples of wild huemul (*Hippocamelus bisulcus*) inhabiting the same remote and supposedly pristine areas in Chilean coastal Patagonia (92). This case reveals the impact of the disease on free-ranging endangered populations, which exist in low population densities with limited contact to domestic animals.

Necrotic and mineralized lung lesions, similar to those reported for *Mycobacterium bovis* infection in other wild and domestic ruminants, were described in a single tundra reindeer (*Rangifer tarandus*) of a zoological garden in Scotland, UK. This animal showed fecal soiling, chronic weight loss and subcutaneous edema (93). Besides this unusual presentation of MAP infection, granulomatous lesions in the ileum, mesenteric lymph node and liver were consistent with typical ParaTB and MAP was confirmed by PCR using IS900 and *Hsp65* as targets. ParaTB was also reported in reindeer and red deer (*Cervus elaphus*) with positive fecal samples, clinical signs and evidence of calcification in mesenteric lymph nodes in a wildlife park in Scotland, UK (71). Infections with MAP in deer may therefore cause significant problems, not least because of tuberculosis-like caseous lesions in affected organs and interference with diagnosis of tuberculosis.

The diagnosis of infection based on the isolation from fecal or tissue cultures or the detection of acid-fast organisms during postmortem histology was reported for many different cervid species in a zoo with a known history of ParaTB in California, USA (66, 67). Culture-positive fecal samples have also been reported in another study (76), although such results are insensitive, do not confirm infection and therefore should not be used alone to make ultimate decisions.

Positive serological tests in exotic cervids in zoos were obtained using the HerdCheck ELISA (55, 82).

2.1.1.3 Giraffidae

Only two reports describe the presence of MAP in zoo giraffes (*Giraffa camelopardalis*). In one study showing the molecular diversity of MAP isolates, a strain (C5) from an unspecified sample obtained from a captive giraffe was analyzed by restriction fragment length polymorphism (RFLP) (19). A second report mentions the intensive investigation of a reticulated giraffe in Florida, USA (*Giraffa camelopardalis reticulata*), which was kept in isolation after a single positive fecal culture. However, subsequent testing revealed no further positive evidence (94).

MAP infection was also confirmed in a Belgian zoo during *post-mortem* examination in one okapi (*Okapia johnstoni*) with diagnosed colitis by nested PCR of a tissue sample of the mesenteric lymph node. The animal had developed diarrhea after transportation and was positive in one fecal culture. One out of 22 fecal samples tested positive by IS900 PCR (55). A suspicious antibody ELISA result (HerdCheck ELISA) for an okapi was reported in one out of 25 serum samples in the same study.

One explanation for the low incidence of MAP in browsing herbivorous animals, which include the giraffidae, might be that in the wild they feed predominantly or exclusively on dicotyledonous plant material, including the leaves and twigs of trees and shrubs, herbs and forbs, but also on wild fruits (95). Since the fecal-oral route is the main source of MAP transmission, browsing species specialized on foliage (leaf-eaters) could therefore be less exposed to a potential contamination of the ground.

2.1.1.4 Moschidae

Two serum samples of musk deer (*Moschus moschiferus*) from a German zoo reacted positive in the HerdCheck ELISA (82).

2.2 Non-ruminant zoo animals

The known host range for MAP infection and disease in non-ruminant wildlife has been reviewed by Hutchings et al. (96). The data raise the possibility that non-ruminant species could play an active role in the current epidemiology of the disease in livestock and can present a significant challenge to control efforts. Identical MAP genotypes found in animal species cohabiting the same property demonstrate the possibility of interspecies transmission and wildlife reservoirs of infection (19).

The pathology of MAP infections in non-ruminants is usually subtle, suggesting that most species may be dead-end hosts for the organism and will not act as self-sustaining reservoirs of infection for sympatric animals. Macroscopic lesions are extremely rare and clinical cases with histopathological findings in the intestines are sparsely recorded. Little has been published specifically on the occurrence of clinical signs, the pathogenesis and the course of infection among these species in zoos. Hence, the significance of MAP infections in non-ruminant wildlife, either free-ranging or managed in zoos, is still unknown.

While this review focuses on reported cases in zoological gardens, cases of non-ruminant free-ranging animals are also covered in the corresponding chapters.

2.2.1 Artiodactyla

2.2.1.1 Camelidae

Although limited information is available regarding the epidemiology of ParaTB in camelids, several cases of infection or disease have been previously reported in wild and domestic populations of camelids (97-102). Clinical signs and pathomorphological changes are similar to those seen in cattle, which was already evident in early publications and was reviewed by Katic (58). Accordingly, this suborder occupies a special position among the non-ruminant species. Clinical signs in camelids seem to occur also in young animals and the course of disease is possibly more rapid (4). Diarrhea, weight loss and hypoproteinemia are accompanied with typical pathological lesions, that may also include lymph node necrosis and mineralization as well as multiorgan dissemination (41).

Although occurrence of ParaTB seems not to be rare or unique in tylopods, only a few reports of cases from zoos are reported. Appleby and Head (103) described a case of suspected ParaTB in a llama (*Lama glama*) with lesions in the jejunum and mesenteric lymph nodes. These features of the progressive chronic disease were also illustrated in a report of clinical signs and *post-mortem* lesions in a dromedary camel (*Camelus dromedaries*), euthanized because of presumptive ParaTB diagnosis (104). Although MAP was cultured from a fecal sample, complement fixation test and intradermal skin test with johnin and tuberculin showed negative results.

Granulomatous enteritis in llamas (*Lama glama*) (105) and alpaca (*Vicugna pacos*) (106) can also be caused by *Mycobacterium avium* subspecies *avium*, hence, AFB in ParaTB-like lesions of camelids must be confirmed by further testing.

Münster et al. (107) reported an alpaca (*Vicugna pacos*) in a German zoo, which showed normal appetite and had no signs of diarrhea despite its cachectic body condition, chronic weight loss and ill thrift with dullness, poor coat and pale mucous membranes. A biopsy revealed ileocecal and mesenteric lymphadenopathy and thickened intestines. Further tests by IS900 real-time PCR and culture were positive for MAP in feces and in the extirpated ileocecal lymph node. Pooled fecal samples of Bactrian camels (*Camelus bactrianus*) and many other species were found to be positive by IS900 PCR in the same zoo of which a known clinical ParaTB history had previously been reported (80).

Mycobacterial culture isolates attributed to MAP were found in water samples and fecal samples of Bactrian camels (*Camelus bactrianus*) and llamas (*Lama glama*) in an Ukrainian zoo (76). Rabbits experimentally infected with these isolates developed clinical signs and intestinal lesions consistent with ParaTB, highlighting the potential threat of interspecies transmission.

Considering ParaTB diagnosis in camelids, similar to cattle, serological assays can be used for rapid presumptive diagnoses in advanced cases, i.e. when showing diarrhea and weight loss, and as a screening tool for herds known to be exposed to infection (108). Furthermore, the refinement of camelid-specific ELISAs may also be a beneficial tool (109). However, seropositive results should be confirmed by direct tests for pathogen detection.

2.2.1.2 Suidae

Although MAP infections have sporadically been reported in studies on free-ranging suids from Spain, Korea and the Czech Republic (110-113) or in experimentally infected domestic pigs (*Sus scrofa domesticus*) (114) and MAP was found in ParaTB-like granulomatous lesions (115), clinical signs in swine are dubious. Natural transmission of MAP from a goat to a Vietnamese pot-bellied pig with progressive inappetence, lethargy, diarrhea and consistent gross pathology and histopathology was reported by Hancock et al. (116).

In a zoo setting in which ruminants also tested positive, MAP was detected by culture and IS900 PCR analysis of fecal and tissue samples from a suspicious, but unspecified 'wild swine' (79).

2.2.2 Perissodactyla

2.2.2.1 Equidae

Clinical ParaTB or presumptive diagnosis of the disease have been previously reported in equines with typical clinical signs and pathomorphological changes with numerous histiocytes and giant cells, containing AFB (117-119). Smith (120) reported the isolation of MAP (resp. *Mycobacterium johnei*) from the mesenteric lymph node in one of 100 apparently healthy domestic horses (*Equus caballus*). Identification was based on growth characteristics and animal inoculation studies in different species (121). Experimental intravenous and oral infection in domestic horses induced weight loss and the infected foals developed gross lesions in the ileum and granulomatous lesions throughout the gastrointestinal tract, where MAP was recovered from the intestinal mucosa (122). The described lesions resemble those of idiopathic granulomatous enteritis, an equine enteric disease characterized by chronic weight loss, hypoproteinemia and granulomatous, often transmural inflammation of the intestines, for which an association with mycobacterial infections is conceivable (123).

Naturally acquired ParaTB with typical histological lesions and MAP-positive tissue cultures was diagnosed in pygmy goats and in an emaciated pygmy ass (*Equus asinus form. dom.*) in a zoo in the Netherlands with a previous history of paratuberculosis in ruminants (124). Such indications of interspecies transmission between ruminants and equines have also previously been reported in a study by Eveleth et al. (125). They found positive reactions to intradermic Johnin in horses and mules kept together with diseased ruminants.

Only one report of the detection of MAP is documented in non-domestic equines. Münster et al. (80) reported positive IS900 semi-nested PCR and real-time PCR results of pooled fecal samples from Chapman's zebras (*Equus quagga chapmani*) in a zoological garden in Germany with known ParaTB history in bovines and camelids.

2.2.2.2 Rhinocerotidae

A questionable diagnosis was reported by Bryant et al. (126) where MAP was cultured from one fecal sample of a Southern black rhinoceros (*Diceros bicornis minor*) caught in Zimbabwe and transported to an Australian open-range zoo. Upon translocation the animal showed progressive loss of body condition and recurrent episodes of soft, poorly formed and malodorous feces over a period of four months. The culture isolate was identified by RFLP as cattle type strain. Normalization of feces consistency and body condition was observed after antimycobacterial therapy with rifampin and pyrazinamide and administration of an oral anti-diarrhea suspension. Follow-up cultures remained negative. A false-positive result or the passive excretion of MAP in the absence of infection seems likely in this case. Otherwise, ingestion of contaminated forage or water could potentially result in a transient infection in rhinoceroses.

Positive culture (fecal or tissue specimen, not specified) was documented in a Southern white rhinoceros (*Ceratotherium simum simum*) during a survey for MAP in a zoo in California, USA, where multiple species and contaminated pond water tested positive (66).

2.2.2.3 Tapiridae

Antibodies against MAP were detected in a Malayan tapir (*Tapirus indicus*) from a zoo in Belgium, by HerdCheck ELISA (55). In addition, infection was confirmed by IS900 PCR in a tissue sample of another tapir (*Tapirus sp.*) suggestive of having ParaTB (79).

2.2.3 Rodentia and Lagomorpha (Glires)

Positive MAP detection in pooled fecal samples of Desmarest's hutias (*Capromys pilorides*) and Patagonian maras (*Dolichotis patagonum*) in a zoological garden in Germany are the only reports for rodents kept at a zoo (80).

Cases of infection in free-ranging rodents have been reported in species of Cricetidae and Muridae (22, 112, 127-130), many of which appeared sympatric to diseased ruminants. In addition, numerous species of laboratory animals, including mice, rats, hamsters, guinea pigs and rabbits have been experimentally infected to test their suitability for studying ParaTB (reviewed by Begg and Whittington (131)).

Reports on free-ranging lagomorphs describe infection and histopathological lesions in European rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) (132-136), as well as the isolation of MAP from tissues and feces of European brown hares (*Lepus europaeus*) (127, 137, 138), mountain hares (*Lepus timidus*) (129).

The increasing evidence assessed by IS900 PCR and culture that European wild rabbits pose a wildlife reservoir for MAP and the high prevalence in several populations may contribute to the persistence of infection in sympatric animals (139).

2.2.4 Non-human Primates

The occurrence of MAP in non-human primates was sporadically reported in Callitrichidae, Cercopithecidae and Lemuridae. MAP DNA has been detected in a German zoo by semi-nested and quantitative IS900 PCR in pooled fecal samples of cotton-top tamarins (*Saguinus oedipus*), gelada baboons (*Theropithecus gelada*) and black-and-white ruffed lemurs (*Varecia variegata*) (80). MAP excretion by black-and-white ruffed lemurs was highest in comparison to other animal species examined in this study, including ruminants. No clinical signs suggestive of ParaTB were evident at the time of sampling and the fecal consistency was representative for healthy animals of the respective species. Therefore, the presence of estimated MAP genome numbers in the feces of these non-human primates provide only indirect evidence of infection, as presence can be due to mere pass-through of the ingested pathogen. Nevertheless, even shedding animals must be considered as potentially infectious.

Fechner et al. (140) assumed asymptomatic infection after detection of MAP DNA by semi-nested and real-time IS900 PCR in the ileum of a cotton-top tamarin in a German zoological garden and in the bone marrow of a common marmoset (*Callithrix jacchus*) in a German primate center. However, MAP detection by cultivation failed. Also, in this case the animals did not display indicative clinical symptoms and showed no gross pathological changes. Hence although mild, mainly plasma cellular duodenitis and ileitis and activated mesenteric lymph nodes were found in the cotton-top tamarin, the causes of death were probably unrelated to MAP infections.

To date, only few cases of infections capable of causing typical granulomatous enteritis and clinical signs in non-human primates have been described in the literature. Naturally occurring ParaTB, confirmed by culture of fecal samples and different tissues, serology and restriction endonuclease polymorphism typing of ribosomal DNA, was documented in a colony of stump-tailed macaques (*Macaca arctoides*) in a primate research center in Georgia, USA. Here, the predominant clinical signs included recurrent chronic diarrhea and progressive weight loss (141). Juvenile and adult individuals were affected by the outbreak and shed the organisms with the feces. Some animals developed clinical signs and died after an average clinical course of five months, from the development of clinical signs to death. Serological tests indicated a high infection rate in this animal population. However, no antibodies could be detected either before the onset of the disease nor during the clinical stage. Pathological and histopathological findings in individual animals consisted of mesenteric lymphadenopathy and severe granulomatous enteritis extending from the upper jejunum to the ileum. Acid-fast organisms were found in histiocytes infiltrating the lamina propria and distending into the intestinal mucosa, as well as in mesenteric lymph nodes, focal hepatic granulomas, granulomas of the renal pelvis, bone-marrow and spleen. Clinically diseased stump-tailed macaques improved upon treatment with rifabutin. Similar histologic lesions were documented in a single mandrill (*Mandrillus*

sphinx) held in a zoo in Illinois, USA (142, 143). Prior to death, the animal suffered from recurrent watery diarrhea, a distended abdomen and progressive weight loss. Necropsy and histologic evaluation revealed a severely distended abdomen, firm and enlarged lymph nodes, as well as granulomatous inflammation throughout the intestine. The intestinal lamina propria was diffusely expanded by massive numbers of Ziehl-Neelsen positive, rod shaped bacteria, accumulating within macrophages. MAP infection was confirmed by radiometric culture and IS900 PCR. Even though the number of reported cases is still low, confirmed MAP infection and active disease in stump-tailed macaques and a mandrill reveal that Cercopithecidae are susceptible to MAP infections.

Furthermore, MAP was detected by microscopic examination or direct IS900 and IS1311 PCR in fecal samples originating from six colonies of free-living rhesus macaques (*Macaca mulatta*) in India presenting coughing and loose feces (144). The presence of MAP in fecal samples was most probably a simple pass through phenomenon. However, genotyped as “Indian Bison type”, these results also confirm interspecies sharing between domestic livestock and non-human primates in India. An earlier report of presumptive histological lesions in rhesus monkeys could not be substantiated by culture (145). Although clinical history, gross appearances and histopathologic features were suggestive of ParaTB, the importance of molecular biological methods in diagnosis was emphasized. Other mycobacterial infections (e.g. by *Mycobacterium avium* subspecies *avium*) may cause a similar gastrointestinal disease, indistinguishable by post-mortem examination or immunohistochemistry (146).

Overall, MAP infection should be considered as a differential diagnosis in primates with intestinal disease, when they develop symptoms similar to those of other animal species suffering from ParaTB. Indicative are chronic wasting and concomitant negative test results for other potential pathogens that affect the gastrointestinal tract.

2.2.5 Hyracoidea

2.2.5.1 Procaviidae

Recently, a first report described MAP occurrence and infection in captive, wild-born rock hyraxes (*Procavia capensis*) and their captive-born offspring (147). Wild-born animals showed episodes of mild irregular diarrhea, but all routine parasitological and bacteriologic tests performed were negative. MAP DNA was detected by semi-nested IS900 PCR in individual and pooled fecal samples as well as in tissue samples of the gastrointestinal tract, urogenital tract, cardiovascular system and respiratory system. Sequence analysis of the DNA amplified from fecal samples showed identity to the IS900 reference sequence of the MAP-K10 genome. No MAP-specific *post-mortem* lesions were observed by gross pathology and histology and no antibody response was detected in individual serum samples. Culture was positive only from few tissue samples of the gastrointestinal tract and no positive fecal culture was obtained. Nevertheless, this species might be a possible source of MAP infections for valuable animal stock in zoological gardens and for domestic livestock in its range.

2.2.6 Diprotodontia

2.2.6.1 Macropodidae

The only report of MAP detection in macropods from a zoo was documented by Münster et al. (80) in a survey of pooled fecal samples from red-necked wallabies (*Macropus rufogriseus*) in Germany. The prevalence of ParaTB in free-ranging macropods seems to be very low and it is unlikely that these animals play any significant part in the epidemiology of the disease (148). Isolates of positive radiometric cultures from ileum and the associated lymphatic tissue of Western grey kangaroos (*Macropus fuliginosus fuliginosus*) and Tammar wallabies (*Macropus eugenii decres*) on Kangaroo Island in South Australia were confirmed to belong to the sheep strain of MAP (149). Despite variable gross lesions, enlargement of the ileocecal and mesenteric lymph nodes, thickened ileum and corded mesenteric lymphatics, only one culture positive animal of each species had microscopic lesions indicative of ParaTB. Indicative lesions in other animals were presumably due to infection with other fastidious non-paratuberculosis mycobacteria. Negative fecal cultures indicated that excretion of large numbers of viable MAP is rare in macropods, but they might become infected or passively excrete MAP that survive passage through the intestinal tract. Pass-through but not active infection was also concluded in a single Eastern grey kangaroo (*Macropus giganteus*) in New South Wales, Australia, where acid-fast material had been detected in a fecal smear and radiometric culture was positive for MAP. Histopathological examination of ileum and mesenteric lymph node revealed no evidence of ParaTB (150). Nevertheless, the reported cases imply a potential risk of disease transmission by infected macropods. The same applies to the frequent detection of infection in brushtail possums (*Trichosurus vulpecula*; Family: Phalangeridae) on deer farms with a history of ParaTB in New Zealand (136).

2.2.7 Carnivora

No reports of MAP detection in carnivores from zoological gardens were found. However, studies in free-ranging animals suggest that the consumption of infected prey or carrion may turn them into passive carriers. In Scotland, UK, MAP was cultured from tissues of red foxes (*Vulpes vulpes*), stoats (*Mustela erminea*), weasels (*Mustela nivalis*) and European badgers (*Meles meles*) with acid-fast positive lesions (127, 151). Anderson et al. (152) detected MAP-specific DNA by PCR targeting IS900 and HspX in intestinal tissues of scavenging mammals in Wisconsin, USA (red fox, coyote (*Canis latrans*), raccoon (*Procyon lotor*), skunk (*Mephitis mephitis*) and feral cat (*Felis catus*)). Viable MAP was cultured from the ileum and lymph node of one coyote.

Tissue cultures of Eurasian otters (*Lutra lutra*) with unspecific chronic lymphadenitis of the retropharyngeal and mesenteric lymph nodes and acid-fast rods in imprint-cytology were positive by IS900 and F57 PCR (153). Further investigations reported infection in more free-living species in Portugal (red foxes, European badger, Eurasian otters, beech martens (*Martes foina*) and Egyptian mongooses (*Herpestes ichneumon*) (154). Gross pathology was only observed in mesenteric lymph nodes of foxes and mongooses, while the majority of infected animals developed no visible lesions.

Kopečna et al. (155) reported MAP positive cultures from the intestinal mucosa of free-living brown bears (*Ursus arctos*) from the central European Carpathians in Slovakia. The isolates were classified as a cattle type, which had been detected in domestic ruminants in the same area. However, examination of the animals did not reveal any lesions in the gastrointestinal tract that are pathognomonic for ParaTB. Infections in previously listed species have also been described in studies by de Lisle et al. (156), Corn et al. (22), Deutz et al. (129), Palmer et al. (130), Florou et al. (128), Pedersen et al. (157) and Nugent et al. (136). Miller et al. (158) reported positive culture results and clinical disease in a domestic dog in South Africa with enlarged mesenteric lymph nodes and granulomatous inflammation. The absence of visible and microscopic lesions in addition to the absence of MAP detection by culture and PCR let Sobrino et al. (159) suggest that free-ranging wolves and foxes in Spain play no relevant role in the epidemiology of ParaTB, although few ELISA-positive tests on fox sera for MAP-specific antibodies indicate contact with mycobacteria.

Carnivores can therefore act as spillover hosts and scavengers appear to be most at risk of becoming exposed and infected. Feeding of high-quality eviscerated meat in zoos may be breaking the cycle of infection seen in free-ranging carnivores.

2.2.8 Other mammalian species

Furthermore, MAP infection in wildlife was reported in opossums (Order: Didelphimorphia; Family: Didelphidae) (22, 152) and armadillos (Order: Cingulata; Family: Dasypodidae) (22), as well as shrews (Order: Eulipotyphla; Family: Soricidae) (22, 112) and hedgehogs (Order: Eulipotyphla; Family: Erinaceidae) (136).

2.2.9 Aves

Münster et al. (80) reported a wide dissemination of MAP in a zoo in Germany. In this study, beside positive results in artiodactyls, perissodactyls, rodents, marsupials and primates, positive IS900 semi-nested PCR and real-time PCR results were obtained also from pooled fecal samples of birds (emus (*Dromaius novaehollandiae*), parrots (*Ara* spp.), snowy owls (*Bubo scandiacus*), vulturine guineafowls (*Acryllium vulturinum*)). Another case report of an ostrich (*Struthio camelus*) kept outdoors in Florida, USA, described positive serological diagnosis with a commercially available agar gel immunodiffusion (AGID) test for MAP antibodies, and detection of acid-fast organisms in granulomatous lesions during *post-mortem* examination. Bacteria were isolated on Herrold's egg yolk medium with and without mycobactin and were afterwards identified as *Mycobacterium avium* (160). Although avian mycobacteriosis is mostly caused by *Mycobacterium avium* subspecies *avium* and *Mycobacterium genavense* (161), in rare cases there is also evidence for MAP infection in free-ranging and domestic birds (Anseriformes (Anatidae); Charadriiformes (Laridae, Scolopacidae); Cuculiformes (Cuculidae); Galliformes (Phasianidae); Passeriformes (Corvidae, Estrildidae, Locustellidae, Passeridae)) (22, 127, 129, 136, 162, 163). In contrast to the experimental infection of young chicken, where focal granulomatous lesions with AFB could be demonstrated (164), such histopathological changes are only documented in one carrion crow (*Corvus corone*) (127).

3 Perspective

As the review highlights, a relatively small number of zoos have actually published clinical cases. However, the reports demonstrate that MAP may represent a significant threat to animals in zoological gardens, especially if considering the high likelihood of unrecognized cases and that cases may go unreported. Furthermore, published data should be handled with caution. An incorporation into the defined case definitions by Whittington et al. (8), Table 1, was only possible in about one third of the reported cases. Data to separate infection from disease were not available in the majority of cases. Classification was not possible due to an unimplemented or undocumented pathological and histopathological examination and/or confirmation of the causative agent to be MAP by PCR for specific genetic targets. For this reason, case definitions should also be considered for zoo animal cases and the informative value of diagnostic tests should be consistently assessed when dealing with the management of suspicious individuals or populations.

3.1 Susceptibility and Epidemiology

A better understanding of the epidemiology of MAP in wildlife can help closing the knowledge gaps that hamper the prevention and control of ParaTB (165). Since distribution of MAP in wildlife is not yet clear, animals kept in zoological gardens might provide a good opportunity to assess virulence, transmission pathways, and epidemiology of MAP, as well as the susceptibility of different animal species to ParaTB and their clinical appearance.

A variety of clinical cases with associated matching pathological findings were clearly described in ruminant species and camelids. It is important to point out that not all exposed animals become infected and not all infected animals develop clinical disease.

However, MAP infection resulting in inflammatory gastrointestinal disease seems not to be restricted to ruminants (16), although ruminants represent the main reservoir. The majority of infections diagnosed by cultural and molecular analysis in non-ruminant species were asymptomatic without characteristic histopathologic lesions or matching clinical signs. In some cases, either MAP was detected in fecal samples or antibodies against MAP were detected by serological analyses, but infection or disease could not be confirmed by *post-mortem* examination of these species. These results prove exposure to the bacterium but are only suggestive of infection. Since infected animals can host and excrete the bacteria, non-ruminants might play a role in direct or indirect transmission of the pathogen. Therefore, the ability of species to carry the organism and infect a susceptible host, as well as the potential risk of contracting a disease for sympatric ruminants needs to be further evaluated. Identification of additional potential host species and transmission pathways are important to contain the unrecognized spread of MAP. In several discussions from the reported literature, likely critical disease transmission pathways in zoos are frequent movement in and out of the collection for the purposes of maintaining captive populations, as well as mixed-species exhibits exposing animals of varying susceptibility.

The general epidemiologic features and the immune response of non-domestic animals are probably similar to those studied in domestic ruminants (15, 31). Transmission seems to follow the pattern described in cattle (166). Differences in clinical and pathological manifestation of different host species seem to exist, but confirmation by additional studies is required. Consistent with studies in domesticated species, the evaluation of long-term surveillance data in zoo animals identified a likely role of perinatal dam-to-offspring transmission (intrauterine, fecal-oral, or trans-mammary) in captive ruminant species (67). Furthermore, early-life contact with infected animals in shared enclosures during the first week of life is an important predictor of infection risk, although the effect size is smaller than that described for maternal infection status (167). Therefore, both, vertical transmission from infected dam and horizontal transmission by a contaminated environment, should be evaluated and considered as source of an infection in zoos. However, to investigate the pathogenesis in zoo animal species, more information is needed on infection rates and disease in these species. It should be determined in which species and at which age an increased risk of infection exists, to which extent infectious animals excrete the pathogen and which infectious dose represents a risk of transmission.

The potential impact on health and welfare of artificially managed populations of different endangered species, ruminant and non-ruminant, should therefore be evaluated in further research. With regard to this, it is also important to identify predisposed species and to assess the situation in free-ranging populations.

3.2 Diagnostics and Case definitions

Because of the lack of validated tests for zoological species and the documented instances of other mycobacteria causing diseases resembling ParaTB, diagnosis of MAP infection is challenging and difficult. For the interpretation and evaluation of clinical signs and diagnostic tests in zoo animals, we therefore recommend the case definition approach of Whittington et al. (8). The diagnostic value of corresponding findings and their limitations are listed in table 1.

Table 2 lists the proposed classification criteria and recommended case definitions for zoo animal cases based on the results of diagnostic findings.

Clinical signs, gross pathology and histopathology in zoo animals are, as in domesticated species, non-specific and depend on age, species, and the stage of the infection or disease. Microscopic indication must be confirmed by PCR for appropriate genetic targets because AFB other than MAP may be present.

Culture methods are slow, laborious, expensive, and require experienced technicians. Cultivation is not complete until the isolate has been verified to be MAP by PCR for appropriate genetic targets. Given the vagaries of diagnostics for MAP, only a combination of MAP detection and histopathology (assuming an appropriate number and type of tissues are thoroughly examined) can be used for a definitive diagnosis.

PCR methods continue evolving and may differ considerably in DNA extraction methods (with or without magnetic beads to capture DNA), genetic target, and method of “read-out”, with real-time PCR being the most common today. In general, real-time PCR methods have replaced culture-based methods in most major diagnostic laboratories. Specifying the genetic target is particularly important when citing any PCR diagnostic results (52). IS900 remains a favorite target sequence for amplification of MAP specific loci. Furthermore, the use of lesser-used genetic targets (e.g. ISMav2) should be reconsidered, as a revision is required (168). ParaTB surveillance in exotic species should therefore be based on the use of verified MAP-specific targets and would benefit from the use of multiple genetic targets for a more reliable and validated diagnosis.

In most zoo animals, ELISAs are at best screening assays of unknown but probably very low sensitivity and varying specificity. Moreover, ELISAs vary widely in their design, i.e. coating antigens that differ in composition and conjugates that differ in reactivity with immunoglobulins of different animal species. ELISAs are not sufficient to define infection. For these reasons, ELISAs should not be recommended as a sole testing strategy but may be a useful adjunct test.

The compilation of the described cases shows that in many studies negative results are obtained although there are strong indications of infection or disease. A reliable *ante-mortem* diagnosis and early detection at individual level, particularly in valuable and endangered species, should therefore be based on a combination of different diagnostic methods that should be interpreted in series rather than in parallel, in order to enhance the accuracy of disease classification. Repeated sampling ensures a more likely identification of asymptomatic shedders and allows to monitor and prevent the spread of the bacterium (166). Reliance on confirmation in direct PCR assays of fecal samples in the absence of proof of the living organism is not recommended in culling decisions, especially when endangered species are affected. Confirmed culture-positive results or the presence of other indicators of infection are needed to avoid erroneous euthanasia (1).

Another critical aspect of MAP infection is the interference with diagnosis of other mycobacterial diseases (2). Both, the manifestation of the disease and the diagnostic challenges can cause confusion with tuberculosis. A precise distinction and diagnosis are therefore of enormous importance to maintain MAP-free status, which might ease the basic requirements for the implementation of animal transports between zoos.

Table 1: Value of diagnostic findings; according to Whittington et al. (2017)

FINDINGS	DIAGNOSTIC VALUE	LIMITATION
Clinical signs [Cs]	<u>Suspicious</u>	Nonspecific, may be absent (depending on age, species, and the stage of the infection/disease)
Gross pathology [Gp]	<u>Suspicious</u>	Nonspecific, may be absent (depending on age, species, and the stage of the infection/disease)
Histopathology [Hp]	<u>Suspicious</u>	Nonspecific, may be absent (depend on age, species, and the stage of the infection/disease) Paucibacillary vs. multibacillary lesions
Acid-fast bacteria [AFB]	<u>Suspicious</u>	Confirmation by PCR for appropriate genetic targets is needed because AFB other than MAP may be present
Culture of feces [C-f] (confirmed)	<u>Exposed</u>	Confirmation by PCR for appropriate genetic targets is needed Can provide indirect evidence of infection CAVE: Passive shedding (Pass-through) In the case of positive follow-up diagnostics suggestive of infection
Culture of tissue [C-t] (confirmed)	<u>Infected</u>	Confirmation by PCR for appropriate genetic targets is needed
Genome in feces [G-f]	<u>Exposed</u>	Can provide indirect evidence of infection CAVE: Passive shedding (Pass-through) In the case of positive follow-up diagnostics suggestive of infection
Genome in tissue [G-t]	<u>Infected</u>	
Serology [Se]	<u>Suspicious</u>	Alone not sufficient to define infection ELISA tests are not validated for most non-domesticated species False-positive immunological reactions are possible

Table 2: Recommended case definition terminology for ParaTB in zoo animals; adapted from Whittington et al. (2017)

CASE DEFINITION	FINDING AND INTERPRETATION	
Suspicious	AFB Se	Not sufficient to define infection Not sufficient to define infection Positive outcomes on more than one occasion increase the confidence about infection, but are not definitive
Exposed	C-f or G-f History	Culture (confirmed) or PCR from feces: Strong evidence for exposure, not infection Direct or indirect contact with known-infected animals or contaminated environment Positive outcomes on more than one occasion increase the confidence about infection, but are not definitive
Infected	C-t or G-t	Culture (confirmed) or PCR from tissue (<i>post-mortem</i> or biopsy)
Infectious (Potentially)	C-f or (G-f)	Positive (and confirmed) culture results in excretes (e.g. feces) or secretes (e.g. milk) Infectious dose is not accurately known for non-domestic species
Diseased -clinical -subclinical	Hp + C-t ± G-t	Demonstrable histopathological lesions consistent with MAP infection, with or without gross pathology or AFB Culture (confirmed) or PCR from tissue (<i>post-mortem</i> or biopsy) With clinical signs consistent with ParaTB in domestic species Without clinical signs consistent with ParaTB in domestic species

AFB = Acid-fast bacteria; Se = Serology; C-f = Culture of feces; G-f = Genome in feces; C-t = Culture of tissue; G-t = Genome in tissue; Hp = Histopathology

3.3 Prevention and Control

Many reports suggest that fecal-oral transmission of MAP occurs in zoo animals. Transmission and infection may be intensified when fecal contamination of the environment is not reduced by strict and standard hygiene measures. A regular cleanup of indoor and outdoor enclosures improves husbandry and leads to reduced infection pressure and prevention of infection not only in young animals. Furthermore, infection of susceptible zoo animals through contaminated feed should also be considered and excluded. It has been demonstrated that ingestion of feed contaminated by wildlife feces represented a significant potential route and source of diseases such as ParaTB to livestock (169). Therefore, implementing a strong zoo-wide pest control program is advised.

Since ParaTB is spread in herds, MAP diagnostic measures should focus on herd-mates and offspring, as well as socialized ruminant and non-ruminant species and the environment. In accordance with programs applied to domesticated species, measures in zoos must aim to examine and reduce the prevalence of infections and to prevent spread to other susceptible animals. A regular and continued survey in defined routine control and prevention programs is advisable to evaluate the infection status and to remove or isolate infected animals.

The introduction of individuals with unknown infection status or of subclinically infected animals into an existing paratuberculosis-free group represents a significant risk of transmission. A risk-based animal- and institution-specific approach for pre-shipment testing and quarantine period in zoos, based on historical prevalence of transmissible diseases, using comprehensive pathology and preventive medicine data was suggested by Marinkovich et al. (170). The combined effects of surveillance programs for different infectious diseases diminish the serious risk for animals of substantial individual value and the integrity of captive endangered species conservation programs.

Guidelines for general preventive measures, animal transfers, monitoring programs for units with negative test status, initial surveillance programs for low risk or unknown status collections and control programs for infected units can be found in the proceedings of the workshop on diagnosis, prevention, and control of ParaTB in non-domestic hoofstock, which was held in 1998 at the White Oak Conservation Center in Yulee, Florida. The establishment of appropriate ParaTB Management Units (animals, species, enclosures, geographic areas, or institutions of concern) for the purpose of diagnostic testing, surveillance, control and animal movement have been proposed and might be useful in management schemes.

Further examinations and prevention measures should consider the spread of infection within and between zoological gardens and focus on existing transmission pathways to ensure and improve effective and comprehensive ParaTB surveillance and control programs. Zoo veterinarians would benefit from explicit and specific recommendations on testing frequency and sample pooling in individuals or herds using and amending to the White Oak document. These recommendations should also include guidelines for control programs as well as for the monitoring and management of individual animals in single-species exhibits or multiple species in one enclosure. The use of a consistent classification for the obtained results in these investigations, as applied and suggested in this review, will allow a better assessment of incidence and frequency distribution of infections, diseases and clinical cases.

Author Contributions: Review conception, M.R., T.K.-W., A.A.E.W., C.-P.C., R.G.; research design, M.R., T.K.-W., A.A.E.W., C.-P.C., R.G.; data collection and analyses, M.R.; methodological advice and contribution to the writing of the manuscript: S.H., T.K.-W., W.M.R.O., A.A.E.W., R.G.; writing of the manuscript, M.R., W.M.R.O.

Funding: We are grateful to the Grimminger Stiftung für Zoonoseforschung (GSZ) for granting a scholarship to MR. WMRO participated in writing/original draft preparation during a leave of absence, which was granted to him by the Federal University of Rio de Janeiro (UFRJ), between November 2019 and March 2020 (Process 23079.208944/2019-33). The publication was supported by DFG and University of Veterinary Medicine Hannover, Foundation within the funding program Open Access Publishing. The funders had no role in the preparation of the manuscript, or decision to publish.

Acknowledgments: We are very grateful to Jutta Sailer-Paysan for permitting the use of the illustrations in Figure 1. Illustrations: J. Sailer-Paysan, Stuttgart, www.grafik-sailer-paysan.de

Conflict of Interest: The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

References

1. Manning EJ, Sleeman JM. Johne's disease and free-ranging wildlife. In: Fowler ME, Miller RE, editors. *Fowler's zoo and wild animal medicine: Current therapy*. 7: Elsevier; 2012. p. 628-35.
2. Carta T, Alvarez J, Perez de la Lastra JM, Gortazar C. Wildlife and paratuberculosis: a review. *Res Vet Sci*. 2013;94(2):191-7.
3. Coelho AC, de Lurdes Pinto M, Matos AC, Matos M, dos Anjos Pires M. *Mycobacterium avium* complex in domestic and wild animals. In: Payan-Carreira R, editor. *Insights from veterinary medicine*: IntechOpen; 2013. p. 92-128.
4. Mackintosh CG, Griffin JF. Paratuberculosis in Deer, Camelids and Other Ruminants. In: Behr MA, Collins DM, editors. *Paratuberculosis; Organism, Disease, Control*: CAB International; 2010. p. 179-87.
5. Buerge CD, Layton AW, Ginn PE, Taylor M, King JM, Habecker PL, et al. The pathology of spontaneous paratuberculosis in the North American bison (*Bison bison*). *Vet Pathol*. 2000;37(5):428-38.
6. Manning EJ. Paratuberculosis in captive and free-ranging wildlife. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*. 2011;27(3):621-30.
7. Whittington R, Donat K, Weber MF, Kelton DF, Nielsen SS, Eisenberg S, et al. Control of paratuberculosis: who, why and how. A review of 48 countries. *BMC Vet Res*. 2019;15(1):198.
8. Whittington RJ, Begg DJ, de Silva K, Purdie AC, Dhand NK, Plain KM. Case definition terminology for paratuberculosis (Johne's disease). *BMC Vet Res*. 2017;13(1):328.
9. Harris NB, Barletta RG. *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in veterinary medicine. *Clin Microbiol Rev*. 2001;14(3):489-512.
10. Thorel MF, Krichevsky M, Lévy-Frébault VV. Numerical taxonomy of mycobactin-dependent mycobacteria, emended description of *Mycobacterium avium*, and description of *Mycobacterium avium* subsp. *avium* subsp. nov., *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* subsp. nov., and *Mycobacterium avium* subsp. *silvaticum* subsp. nov. *Int J Syst Bacteriol*. 1990;40(3):254-60.
11. Benedictus G, Dijkhuizen AA, Stelwagen J. Economic losses due to paratuberculosis in dairy cattle. *Vet Rec*. 1987;121(7):142-6.
12. Hutchinson LJ. Economic impact of paratuberculosis. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*. 1996;12(2):373-81.

13. Chiodini RJ, Van Kruiningen HJ, Merkal RS. Ruminant paratuberculosis (Johne's disease): the current status and future prospects. *Cornell Vet.* 1984;74(3):218-62.
14. Cocito C, Gilot P, Coene M, de Kesel M, Poupart P, Vannuffel P. Paratuberculosis. *Clin Microbiol Rev.* 1994;7(3):328-45.
15. Williams ES. Paratuberculosis and other mycobacterial diseases. In: Williams ES, Barker IK, editors. *Infectious diseases of wild mammals*: Iowa State University Press; 2001. p. 361-71.
16. Manning EJ. *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*: a review of current knowledge. *J Zoo Wildl Med.* 2001;32(3):293-304.
17. Stevenson K. Genetic diversity of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* and the influence of strain type on infection and pathogenesis: a review. *Vet Res.* 2015;46(1):64.
18. Motiwala AS, Amonsin A, Strother M, Manning EJ, Kapur V, Sreevatsan S. Molecular epidemiology of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* isolates recovered from wild animal species. *J Clin Microbiol.* 2004;42(4):1703-12.
19. Stevenson K, Alvarez J, Bakker D, Biet FM, de Juan L, Denham S, et al. Occurrence of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* across host species and European countries with evidence for transmission between wildlife and domestic ruminants. *BMC Microbiol.* 2009;9(1):212.
20. Whitlock RH, Buergelt C. Preclinical and clinical manifestations of paratuberculosis (including pathology). *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 1996;12(2):345-56.
21. Münster P, Völkel I, Wemheuer W, Schwarz D, Döring S, Czerny CP. A Longitudinal Study to Characterize the Distribution Patterns of *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* in Semen, Blood and Faeces of a Naturally Infected Bull by IS 900 Semi-Nested and Quantitative Real-Time PCR. *Transbound Emerg Dis.* 2013;60(2):175-87.
22. Corn JL, Manning EJ, Sreevatsan S, Fischer JR. Isolation of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* from free-ranging birds and mammals on livestock premises. *Appl Environ Microbiol.* 2005;71(11):6963-7.
23. Larsen AB, Merkal RS, Cutlip RC. Age of cattle as related to resistance to infection with *Mycobacterium paratuberculosis*. *Am J Vet Res.* 1975;36(3):255-7.
24. Windsor PA, Whittington RJ. Evidence for age susceptibility of cattle to Johne's disease. *Vet J.* 2010;184(1):37-44.

25. Clarke CJ. The pathology and pathogenesis of paratuberculosis in ruminants and other species. *J Comp Pathol.* 1997;116(3):217-61.
26. Sweeney RW. Transmission of paratuberculosis. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 1996;12(2):305-12.
27. Sweeney RW, Whitlock RH, Rosenberger AE. *Mycobacterium paratuberculosis* isolated from fetuses of infected cows not manifesting signs of the disease. *Am J Vet Res.* 1992;53(4):477-80.
28. Sweeney RW, Whitlock RH, Rosenberger AE. *Mycobacterium paratuberculosis* cultured from milk and supramammary lymph nodes of infected asymptomatic cows. *J Clin Microbiol.* 1992;30(1):166-71.
29. Whittington RJ, Windsor PA. In utero infection of cattle with *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*: a critical review and meta-analysis. *Vet J.* 2009;179(1):60-9.
30. Larsen AB, Stalheim OH, Hughes DE, Appell LH, Richards WD, Himes EM. *Mycobacterium paratuberculosis* in the semen and genital organs of a semen-donor bull. *J Am Vet Med Assoc.* 1981;179(2):169-71.
31. Chiodini RJ. Immunology: resistance to paratuberculosis. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 1996;12(2):313-43.
32. Momotani E, Whipple DL, Thiermann AB, Cheville NF. Role of M cells and macrophages in the entrance of *Mycobacterium paratuberculosis* into domes of ileal Peyer's patches in calves. *Vet Pathol.* 1988;25(2):131-7.
33. Stabel JR. Immunology of Paratuberculosis Infection and Disease. In: Behr MA, Collins DM, editors. *Paratuberculosis; Organism, Disease, Control*: CAB International; 2010. p. 230-8.
34. Thomson DE. The role of mycobacteriosis in Crohn's disease. *J Med Microbiol.* 1994;41:74-94.
35. Atreya R, Bulte M, Gerlach GF, Goethe R, Hornef MW, Kohler H, et al. Facts, myths and hypotheses on the zoonotic nature of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*. *Int J Med Microbiol.* 2014;304(7):858-67.
36. Waddell LA, Rajić A, Stärk KDC, McEwen SA. The zoonotic potential of *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis*: a systematic review and meta-analyses of the evidence. *Epidemiol Infect.* 2015;143(15):3135-57.
37. Cetinkaya B, Erdogan HM, Morgan KL. Relationships between the presence of Johne's disease and farm and management factors in dairy cattle in England. *Prev Vet Med.* 1997;32(3-4):253-66.

38. McKenna SLB, Keefe GP, Tiwari A, VanLeeuwen J, Barkema HW. Johne's disease in Canada part II: disease impacts, risk factors, and control programs for dairy producers. *Can Vet J.* 2006;47(11):1089.
39. Kennedy DJ, Benedictus G. Control of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infection in agricultural species. *Rev Sci Tech Off Int Epizoot.* 2001;20(1):151-79.
40. Valentin-Weigand P, Goethe R. Pathogenesis of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* infections in ruminants: still more questions than answers. *Microbes Infect.* 1999;1(13):1121-7.
41. Stehman SM. Paratuberculosis in small ruminants, deer, and South American camelids. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 1996;12(2):441-55.
42. Manning EJ, Collins MT. *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*: pathogen, pathogenesis and diagnosis. *Rev Sci Tech Off Int Epizoot.* 2001;20(1):133-50.
43. Pallaske G. Zur generalisierten Paratuberkulose (Johne's Disease). *Wien Tierarztl Monatsschr.* 1965;52:403-15.
44. Whittington RJ, Sergeant ES. Progress towards understanding the spread, detection and control of *Mycobacterium avium* subsp *paratuberculosis* in animal populations. *Aust Vet J.* 2001;79(4):267-78.
45. Collins MT. Diagnosis of paratuberculosis. *The Veterinary clinics of North America Food animal practice.* 1996;12(2):357-71.
46. Nielsen SS, Toft N. Ante mortem diagnosis of paratuberculosis: a review of accuracies of ELISA, interferon-gamma assay and faecal culture techniques. *Vet Microbiol.* 2008;129(3-4):217-35.
47. Whittington RJ. Cultivation of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. In: Behr MA, Collins DM, editors. *Paratuberculosis; Organism, Disease, Control*: CAB International; 2010. p. 244.
48. Juste RA, Marco JC, Saez de Ocariz C, Aduriz JJ. Comparison of different media for the isolation of small ruminant strains of *Mycobacterium paratuberculosis*. *Vet Microbiol.* 1991;28(4):385-90.
49. Collins DM, Gabric DM, De Lisle GW. Identification of a repetitive DNA sequence specific to *Mycobacterium paratuberculosis*. *FEMS Microbiol Lett.* 1989;51(1):175-8.

50. Vary PH, Andersen PR, Green E, Hermon-Taylor J, McFadden JJ. Use of highly specific DNA probes and the polymerase chain reaction to detect *Mycobacterium paratuberculosis* in Johne's disease. J Clin Microbiol. 1990;28(5):933-7.
51. Bauerfeind R, Benazzi S, Weiss R, Schliesser T, Willems H, Baljer G. Molecular characterization of *Mycobacterium paratuberculosis* isolates from sheep, goats, and cattle by hybridization with a DNA probe to insertion element IS900. J Clin Microbiol. 1996;34(7):1617-21.
52. Rajeev S, Zhang Y, Sreevatsan S, Motiwala AS, Byrum B. Evaluation of multiple genomic targets for identification and confirmation of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* isolates using real-time PCR. Vet Microbiol. 2005;105:215-221.
53. Kalis CHJ, Collins MT, Hesselink JW, Barkema HW. Specificity of two tests for the early diagnosis of bovine paratuberculosis based on cell-mediated immunity: the Johnin skin test and the gamma interferon assay. Vet Microbiol. 2003;97(1-2):73-86.
54. Pruvot M, Forde TL, Steele J, Kutz SJ, De Buck J, van der Meer F, et al. The modification and evaluation of an ELISA test for the surveillance of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infection in wild ruminants. BMC Vet Res. 2013;9(1):5.
55. Vansnick E, Vercammen F, Bauwens L, D'Haese E, Nelis H, Geysen D. A survey for *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in the Royal Zoological Society of Antwerp. Vet J. 2005;170(2):249-56.
56. St-Jean G, Jernigan AD. Treatment of *Mycobacterium paratuberculosis* infection in ruminants. Vet Clin North Am Food Anim Pract. 1991;7(3):793-804.
57. Bastida F, Juste RA. Paratuberculosis control: a review with a focus on vaccination. J Immune Based Ther Vaccines. 2011;9(1):8.
58. Katic I. Paratuberculosis (Johne's disease) with special reference to captive wild animals. Nord Vet Med. 1961;13:205-14.
59. Jármai K. Gekröselymphknoten und Lebernekrose bei Enteritis paratuberculosa. Dtsch Tierarztl Wochenschr. 1922;30:257.
60. Dobberstein J. Über Sektionsbefunde bei den in zoologischen Gärten gehaltenen Tieren. Berl Tierarztl Wochenschr. 1936;52:389.
61. Seffner W, editor Paratuberkulose (Johne'sche Krankheit) bei Afrikanischen Zwergziegen. Erkrankungen der Zootiere: Verhandlungsbericht des VI Internationalen Symposiums über die Erkrankungen der Zoo- und Wildtiere; 1964; Vienna, Austria.

62. Brahm E, Frese K, Simanowski W, editors. Paratuberkulose bei Hirschziegentantilopen (*Antilope cervicapra* Linné 1758). Erkrankungen der Zootiere: Verhandlungsbericht des XIV Internationalen Symposiums über die Erkrankungen der Zoo- und Wildtiere; 1972; Wrocław, Poland.
63. Geisel O, Hänichen T, editors. Paratuberkulose bei Zoo-Wiederkäuern. Erkrankungen der Zootiere: Verhandlungsbericht des XIII Internationalen Symposiums über die Erkrankungen der Zoo- und Wildtiere; 1971; Helsinki, Finland.
64. Boever WJ. Johne's disease in aoudads and mouflon. J Zoo Anim Med. 1976;7(1):19-23.
65. Steinberg H. Johne's disease (*Mycobacterium paratuberculosis*) in a Jimela topi (*Damaliscus lunatus jimela*). J Zoo Anim Med. 1988:33-41.
66. Collins MT, Oosterhuis JE, editors. Diagnosis and control of paratuberculosis in exotic hoofed stock. Proc Am Assoc Zoo Vet; 1993.
67. Witte CL, Hungerford LL, Rideout BA. Association between *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infection among offspring and their dams in nondomestic ruminant species housed in a zoo. J Vet Diagn Invest. 2009;21(1):40-7.
68. Dukes TW, Glover GJ, Brooks BW, Duncan JR, Swendrowski M. Paratuberculosis in saiga antelope (*Saiga tatarica*) and experimental transmission to domestic sheep. J Wildl Dis. 1992;28(2):161-70.
69. Schröder HD, editor Zu den bakteriellen Erkrankungen der Boviden. Erkrankungen der Zootiere: Verhandlungsbericht des 30 Internationalen Symposiums über die Erkrankungen der Zoo- und Wildtiere; 1988; Sofia, Bulgaria.
70. Orynbayev MB, Beauvais W, Sansyzbay AR, Rystaeva RA, Sultankulova KT, Kerimbaev AA, et al. Seroprevalence of infectious diseases in saiga antelope (*Saiga tatarica tatarica*) in Kazakhstan 2012–2014. Prev Vet Med. 2016;127:100-4.
71. Girling SJ, Pizzi R, Harley J, Richardson D, Philbey AW. Diagnosis and management of an outbreak of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in a wildlife park in Scotland. Proc Am Assoc Zoo Vet; 2011.
72. Naylor AD, Richardson D, Sellar M, Harley J, Philbey AW, Girling SJ. Clinical Signs, Antemortem Diagnostics, and Pathological Findings Associated with *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* Infection in Mishmi Takin (*Budorcas taxicolor taxicolor*). J Zoo Wildl Med. 2018;49(2):412-9.
73. Burton MS, Olsen JH, Ball RL, Dumonceaux GA. *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infection in an addax (*Addax nasomaculatus*). J Zoo Wildl Med. 2001;32(2):242-4.

74. Burton MS, Ball RL, Dumonceaux GA, Olsen JH, editors. Johne's disease management concerns for exotic animal collections: Case examples. Proc Am Assoc Zoo Vet; 2000.
75. Burton MS, Ball RL, Dumonceaux GA, Olsen JH, editors. Observation from a mixed species display of exotic hoofstock at Busch Garden Tampa with *Mycobacterium avium* ss. *paratuberculosis*. Proc Am Assoc Zoo Vet; 2006.
76. Zavgorodniy AI, Pozmogova SA, Girka MA, Goncharova NV. Isolation of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* from zoo animals. J Vet Med Biotech Bios. 2015(1, Iss. 3):17-9.
77. Weber A, Gurke R, Bauer K, Schreyer K. Bakteriologische Untersuchungen zum Vorkommen von *Mycobacterium paratuberculosis* in Kotproben von Zoowiederkäuern. Berl Munch Tierarztl Wochenschr. 1992;105(5):161-4.
78. Thoen CO, Richards WD, Jarnagin JL. Mycobacteria isolated from exotic animals. J Am Vet Med Assoc. 1977;170(9):987-90.
79. Erume J, Spargser J, Rosengarten R. Rapid detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* from cattle and zoo animals by nested PCR. Afr Health Sci. 2001;1(2):83-9.
80. Münster P, Fechner K, Volkel I, von Buchholz A, Czerny CP. Distribution of *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* in a German zoological garden determined by IS900 semi-nested and quantitative real-time PCR. Vet Microbiol. 2013;163(1-2):116-23.
81. Godin M, Gohl C, Fell S, Straubinger RK, editors. Vergleich zweier Methoden zur Detektion von *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* DNA in Kot- und Umweltproben. 37 Arbeitstagung - Verband der Zootierärzte (VZT) 2017 2-5 November; Innsbruck, Austria.
82. Probst C, Speck S, Hofer H. Serosurvey of zoo ungulates in central Europe. Int Zoo Yearb. 2011;45(1):168-82.
83. Cihan H, Aytug N, Ozyigit MO, Akcay E, editors. Paratuberculosis in deer and small ruminants in a zoo in Turkey. Proc Eur Assoc Zoo Wildl Vet; 2006; Budapest, Hungary.
84. Mackintosh CG, Clark RG, Thompson B, Tolentino B, Griffin JF, de Lisle GW. Age susceptibility of red deer (*Cervus elaphus*) to paratuberculosis. Vet Microbiol. 2010;143(2-4):255-61.

85. Mackintosh CG, Clark RG, Tolentino B, de Lisle GW, Liggett S, Griffin JF. Immunological and pathological responses of red deer resistant or susceptible genotypes, to experimental challenge with *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. Vet Immunol Immunopathol. 2011;143(1-2):131-42.
86. Mackintosh CG, de Lisle GW, Collins DM, Griffin JF. Mycobacterial diseases of deer. N Z Vet J. 2004;52(4):163-74.
87. Bourgeois E. Ein Fall von paratuberkulöser Darmentzündung bei einem Edelhirsch. Schweiz Arch Tierheilk 1940;82:514-5.
88. Soltys MA, Andress GE, Fletch AL. Johne's disease in a moose (*Alces alces*). Bull Wildlife Dis Assoc. 1967;3(4):183-4.
89. De Meurichy W, Portaels F, Hoorens J, Bauwens L, editors. Outbreak of a paratuberculosis-like disease in a captive pudu herd (*Pudu pudu*). Erkrankungen der Zootiere: Verhandlungsbericht des 27 Internationalen Symposiums über die Erkrankungen der Zoo- und Wildtiere; 1985; St. Vincent/Torino, Italy.
90. González-Acuña D, Neira-Ramírez V, Moreno-Salas L, Quezada M. First report of paratuberculosis in Southern Pudu deer (*Artiodactyla: Cervidae*). Arq Bras Med Vet Zootec. 2011;63(4):1025-7.
91. Salgado M, Aleuy OA, Sevilla IA, Troncoso E. Detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in a cattle/pudu interface. Arq Bras Med Vet Zootec. 2015;67(5):1205-9.
92. Salgado M, Corti P, Verdugo C, Tomckowiack C, Moreira R, Durán K, et al. Evidence of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) infection in huemul deer (*Hippocamelus bisulcus*) in patagonian fjords. Austral J Vet Sci. 2017;49(2):135-7.
93. Del-Pozo J, Girling S, McLuckie J, Abbondati E, Stevenson K. An unusual presentation of *Mycobacterium avium* spp. *paratuberculosis* infection in a captive tundra reindeer (*Rangifer tarandus tarandus*). J Comp Pathol. 2013;149(1):126-31.
94. Ball RL, Kearney C, Burton MS, Dumoneux G, Olsen JH, editors. Morbidity and mortality related to hypoglycemia and chronic energy malnutrition in captive giraffe. Proc Am Assoc Zoo Vet; 2002.
95. Clauss M, Dierenfeld ES. The nutrition of browsers. In: Fowler ME, Miller RE, editors. Fowler's zoo and wild animal medicine: Current therapy. 6: Elsevier; 2008. p. 444-54.

96. Hutchings MR, Stevenson K, Greig A, Davidson RS, Marion G, Judge J. Infection of non-ruminant wildlife by *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. In: Behr MA, Collins DM, editors. Paratuberculosis; Organism, Disease, Control: CAB International; 2010. p. 188-200.
97. Fecteau ME, Ross J, Tennent-Brown BS, Habecker PL, Sreevatsan S, Sweeney RW, et al. *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* high shedding in an adult female alpaca, and its implications for the rest of the herd. J Vet Intern Med. 2009;23(6):1311-4.
98. Ridge SE, Harkin JT, Badman RT, Mellor AM, Larsen JW. Johne's disease in alpacas (*Lama pacos*) in Australia. Aust Vet J. 1995;72(4):150-3.
99. Salgado M, Sevilla I, Rios C, Crossley J, Tejeda C, Manning E. Presence of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in Alpacas (*Lama pacos*) Inhabiting the Chilean Altiplano. Journal of zoo and wildlife medicine : official publication of the American Association of Zoo Veterinarians. 2016;47(1):12-6.
100. Tharwat M, Al-Sobayil F, Ali A, Hashad M, Buczinski S. Clinical, ultrasonographic, and pathologic findings in 70 camels (*Camelus dromedarius*) with Johne's disease. Can Vet J. 2012;53(5):543-8.
101. Salgado M, Herthnek D, Bölske G, Leiva S, Kruze J. First isolation of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* from wild guanacos (*Lama guanicoe*) on Tierra del Fuego Island. J Wildl Dis. 2009;45(2):295-301.
102. Belknap EB, Getzy DM, Johnson LW, Ellis RP, Thompson GL, Shulaw WP. *Mycobacterium paratuberculosis* infection in two llamas. J Am Vet Med Assoc. 1994;204(11):1805-8.
103. Appleby E, Head K. A case of suspected Johne's disease in a llama (*L. glama*). J Comp Pathol. 1954;64:52-3.
104. Amand WB, editor Paratuberculosis in a dromedary camel. Proc Am Assoc Zoo Vet; 1974.
105. Jorge MC, Traversa MJ, Schettino DM, Giordano A, Etchechoury I, Sanz H, et al. *Lama glama* con signología y lesiones compatibles con paratuberculosis causadas por *Mycobacterium avium* subespecie *avium*. In Vet. 2008;10(1):59-64.
106. Lucas JN, Cousins DV, Mills AJ, Van Wijk JGA. Identification of *Mycobacterium avium* subsp *avium* in an alpaca with lesions resembling para-tuberculosis. Aust Vet J. 2003;81(9):567-9.

107. Münster P, Völkel I, von Buchholz A, Czerny CP. Detection of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* by is 900-based PCR assays from an alpaca (*Vicugna pacos*) kept in a German Zoological Garden. J Zoo Wildl Med. 2013;44(1):176-80.
108. Miller DS, Collins MT, Smith BB, Anderson PR, Kramsky J, Wilder G, et al. Specificity of four serologic assays for *Mycobacterium avium* ss *paratuberculosis* in llamas and alpacas: a single herd study. J Vet Diagn Invest. 2000;12(4):345-53.
109. Kramsky JA, Miller DS, Hope A, Collins MT. Modification of a bovine ELISA to detect camelid antibodies to *Mycobacterium paratuberculosis*. Vet Microbiol. 2000;77(3-4):333-7.
110. Machackova M, Svastova P, Lamka J, Parmova I, Liska V, Smolik J, et al. Paratuberculosis in farmed and free-living wild ruminants in the Czech Republic (1999–2001). Vet Microbiol. 2004;101(4):225-34.
111. Alvarez J, De Juan L, Briones V, Romero B, Aranaz A, Fernandez-Garayzabal JF, et al. *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in fallow deer and wild boar in Spain. Vet Rec. 2005;156(7):212-3.
112. Kopečna M, Trčka I, Lamka J, Moravkova M, Koubek P, Heroldova M, et al. The wildlife hosts of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in the Czech Republic during the years 2002–2007. Vet Med (Praha). 2008;53(8):420-6.
113. Kim JM, Ku BK, Lee H, Hwang IY, Jang YB, Kim J, et al. *Mycobacterium avium paratuberculosis* in Wild Boars in Korea. J Wildl Dis. 2013;49(2):413-7.
114. Larsen AB, Moon HW, Merkal RS. Susceptibility of swine to *Mycobacterium paratuberculosis*. Am J Vet Res. 1971;32(4):589-95.
115. Runnels RA. Paratuberculosis in a pig. J Am Vet Med Assoc. 1955;127:523-4.
116. Hancock LR, Ward C, Dykstra J, Collins JE, Talaat AM, Collins MT, editors. Natural transmission of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* from a mixed breed Boer goat to a Vietnamese Pot-Bellied Pig. 14th International Colloquium on Paratuberculosis; 2018 4-8 June; Riviera Maya, Mexico.
117. Lienaux E. Un cas d'enterite hypertrophique chez le cheval. Ann Med Vet. 1913;62:197-200.
118. Dierckins MS, Sherman DM, Gendron-Fitzpatrick A. Probable paratuberculosis in a Sicilian ass. J Am Vet Med Assoc. 1990;196(3):459-61.
119. Stief B, Möbius P, Türk H, Hörügel U, Arnold C, Pöhle D. Paratuberkulose bei einem Zwergesel (*Equus asinus f. asinus*). Berl Munch Tierarztl Wochenschr. 2012;125(1-2):38-44.

120. Smith HW. The isolation of *Mycobacteria* from the mesenteric lymph nodes of domestic animals. J Pathol Bacteriol. 1954;68(2):367-72.
121. Rankin JD. Identification of a strain of *Mycobacterium johnei* recovered from a horse. J Pathol Bacteriol. 1956;72(2):689-90.
122. Larsen AB, Moon HW, Merkal RS. Susceptibility of horses to *Mycobacterium paratuberculosis*. Am J Vet Res. 1972;33(11):2185-9.
123. Schumacher J, Edwards JF, Cohen ND. Chronic idiopathic inflammatory bowel diseases of the horse. J Vet Intern Med. 2000;14(3):258-65.
124. Van Ulsen FW. Paratuberkulose bij een dwergezel (*Equus asinus form. dom.*). Tijdschr Diergeneeskd. 1970;95:446-8.
125. Eveleth DF, Gifford R, Anthony CH. Johne's Disease of Sheep. Vet Med 1942;37:241-7.
126. Bryant B, Blyde D, Eamens G, Whittington R. *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* cultured from the feces of a Southern black rhinoceros (*Diceros bicornis minor*) with diarrhea and weight loss. J Zoo Wildl Med. 2012;43(2):391-3.
127. Beard PM, Daniels MJ, Henderson D, Pirie A, Rudge K, Buxton D, et al. Paratuberculosis infection of nonruminant wildlife in Scotland. J Clin Microbiol. 2001;39(4):1517-21.
128. Florou M, Leontides L, Kostoulas P, Billinis C, Sofia M, Kyriazakis I, et al. Isolation of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* from non-ruminant wildlife living in the sheds and on the pastures of Greek sheep and goats. Epidemiol Infect. 2008;136(5):644-52.
129. Deutz A, Spargser J, Wagner P, Rosengarten R, Köfer J. *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in wild animal species and cattle in Styria/Austria. Berl Munch Tierarztl Wochenschr. 2005;118(7-8):314-20.
130. Palmer MV, Stoffregen WC, Carpenter JG, Stabel JR. Isolation of *Mycobacterium avium* subsp *paratuberculosis* (Map) from feral cats on a dairy farm with Map-infected cattle. J Wildl Dis. 2005;41(3):629-35.
131. Begg DJ, Whittington RJ. Experimental animal infection models for Johne's disease, an infectious enteropathy caused by *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. Vet J. 2008;176(2):129-45.
132. Angus KW. Intestinal lesions resembling paratuberculosis in a wild rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). J Comp Pathol. 1990;103(1):101-5.

133. Greig A, Stevenson K, Perez V, Pirie AA, Grant JM, Sharp JM. Paratuberculosis in wild rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). Vet Rec. 1997;140(6):141-3.
134. Beard PM, Rhind SM, Buxton D, Daniels MJ, Henderson D, Pirie A, et al. Natural paratuberculosis infection in rabbits in Scotland. J Comp Pathol. 2001;124(4):290-9.
135. Maio E, Carta T, Balseiro A, Sevilla IA, Romano A, Ortiz JA, et al. Paratuberculosis in European wild rabbits from the Iberian Peninsula. Res Vet Sci. 2011;91(2):212-8.
136. Nugent G, Whitford EJ, Hunnam JC, Wilson PR, Cross ML, de Lisle GW. *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infection in wildlife on three deer farms with a history of Johne's disease. N Z Vet J. 2011;59(6):293-8.
137. Matthews PRJ, Sargent A. The isolation of mycobacteria from the brown hare (*Lepus europaeus*). Br Vet J. 1977;133(4):399-404.
138. Salgado M, Manning EJB, Monti G, Bólske G, Soderlund R, Ruiz M, et al. European hares in Chile: a different lagomorph reservoir for *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*? J Wildl Dis. 2011;47(3):734-8.
139. Shaughnessy LJ, Smith LA, Evans J, Anderson DC, Caldwell G, Marion G, et al. High prevalence of paratuberculosis in rabbits is associated with difficulties in controlling the disease in cattle. Vet J. 2013;198(1):267-70.
140. Fechner K, Matz-Rensing K, Lampe K, Kaup FJ, Czerny CP, Schafer J. Detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in non-human primates. J Med Primatol. 2017;46(5):211-7.
141. McClure HM, Chiodini RJ, Anderson DC, Swenson RB, Thayer WR, Coutu JA. *Mycobacterium paratuberculosis* infection in a colony of stump-tail macaques (*Macaca arctoides*). J Infect Dis. 1987;155(5):1011-9.
142. Zwick LS, Walsh TF, Barbiere R, Collins MT, Kinsel MJ, Murnane RD. Paratuberculosis in a mandrill (*Papio sphinx*). J Vet Diagn Invest. 2002;14(4):326-8.
143. Walsh TF, Murnane RD, Barbiere R, Collins MT, editors. Enteric *Mycobacterium paratuberculosis* in a mandrill (*Papio sphinx*). Proc Am Assoc Zoo Vet; 1995.
144. Singh SV, Singh AV, Singh PK, Kumar A, Singh B. Molecular identification and characterization of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in free living non-human primate (*Rhesus macaques*) from North India. Comp Immunol Microbiol Infect Dis. 2011;34(3):267-71.
145. Pitcock JA, Gisler DB. Paratuberculosis (Johne's disease) in the monkey (*Macaca mulatta*). Brooks Air Force Base, Texas; School of aerospace medicine, USAF Aerospace Medical Center; 1961.

146. Didier A, Mätz-Rensing K, Kuhn EM, Richter E, Kaup FJ. A case of intestinal *Mycobacterium simiae* infection in an SIV-infected immunosuppressed rhesus monkey. Vet Pathol. 1999;36(3):249-52.
147. Fechner K, Schafer J, Munster P, Ternes K, Doring S, Volkel I, et al. Detection of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in Rock Hyraxes (*Procavia capensis*) Imported from South Africa. J Zoo Wildl Med. 2017;48(4):1086-94.
148. Kluver P. A survey of potential wildlife reservoirs for *Mycobacterium paratuberculosis*. Meat & Livestock Australia Ltd2005.
149. Cleland PC, Lehmann DR, Phillips PH, Cousins DV, Reddacliff LA, Whittington RJ. A survey to detect the presence of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in Kangaroo Island macropods. Vet Microbiol. 2010;145(3-4):339-46.
150. Abbott KA. Prevalence of Johne's disease in rabbits and kangaroos. Meat and Livestock Australia Ltd2002.
151. Beard PM, Henderson D, Daniels MJ, Pirie A, Buxton D, Greig A, et al. Evidence of paratuberculosis in fox (*Vulpes vulpes*) and stoat (*Mustela erminea*). Vet Rec. 1999;145:612-3.
152. Anderson JL, Meece JK, Koziczkowski JJ, Clark DL, Radcliff RP, Nolden CA, et al. *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in scavenging mammals in Wisconsin. J Wild Dis. 2007;43(2):302-8.
153. Matos AC, Figueira L, Martins MH, Matos M, Alvares S, Pinto ML, et al. Disseminated *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infection in two wild Eurasian otters (*Lutra lutra* L.) from Portugal. J Zoo Wildl Med. 2013;44(1):193-5.
154. Matos AC, Figueira L, Martins MH, Loureiro F, Pinto ML, Matos M, et al. Survey of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in road-killed wild carnivores in Portugal. J Zoo Wildl Med. 2014;45(4):775-81.
155. Kopečna M, Ondrus S, Literák I, Klimes J, Horvathová A, Moravková M, et al. Detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in two brown bears in the Central European Carpathians. J Wildl Dis. 2006;42(3):691-5.
156. De Lisle GW, Yates GF, Cavaignac SM, Collins DM, Paterson BM, Montgomery RH, editors. *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in feral ferrets—a potential reservoir of Johne's disease. Proceedings of the 7th International Colloquium on Paratuberculosis; 2002; Bilboa, Spain.
157. Pedersen K, Manning EJ, Corn JL. Distribution of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in the Lower Florida Keys. J Wildl Dis. 2008;44(3):578-84.

158. Miller MA, Davey SC, van Helden LS, Kettner F, Weltan SM, Last R, et al. Paratuberculosis in a domestic dog in South Africa. J S Afr Vet Assoc. 2017;88(1):1-5.
159. Sobrino R, Aurtenetxe O, Carta T, Mamian L, Gerrikagoitia X, Balseiro A, et al. Lack of evidence of paratuberculosis in wild canids from Southwestern Europe. Eur J Wildl Res. 2011;57(3):683-8.
160. García A, LeClear CT, Gaskin JM. *Mycobacterium avium* Infection in an Ostrich (*Struthio camelus*). J Zoo Wildl Med. 2001;32(1):96-100.
161. Tell LA, Woods L, Cromie RL. Mycobacteriosis in birds. Rev Sci Tech Off Int Epizoot. 2001;20(1):180-203.
162. Gronesova P, Ficova M, Mizakova A, Kabat P, Trnka A, Betakova T. Prevalence of avian influenza viruses, *Borrelia garinii*, *Mycobacterium avium*, and *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in waterfowl and terrestrial birds in Slovakia, 2006. Avian Pathol 2008;37(5):537-43.
163. Miranda A, Pires MA, Pinto ML, Sousa L, Sargo R, Rodrigues J, et al. *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in a diamond sparrow. Vet Rec. 2009;165(6):184.
164. Van Kruiningen HJ, Ruiz B, Gumprecht L. Experimental disease in young chickens induced by a *Mycobacterium paratuberculosis* isolate from a patient with Crohn's disease. Can J Vet Res. 1991;55(2):199-202.
165. Barkema HW, Orsel K, Nielsen SS, Koets AP, Rutten VPMG, Bannantine JP, et al. Knowledge gaps that hamper prevention and control of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* infection. Transbound Emerg Dis. 2017:1-24.
166. Manning EJ, Collins MT. Paratuberculosis in zoo animals. In: Fowler ME, Miller RE, editors. Fowler's zoo and wild animal medicine: Current therapy. 4: Elsevier; 1999. p. 612-6.
167. Burgess TL, Witte CL, Rideout BA. Early-life exposures and Johne's disease risk in zoo ruminants. J Vet Diagn Invest. 2018;30(1):78-85.
168. Möbius P, Hotzel H, Raßbach A, Köhler H. Comparison of 13 single-round and nested PCR assays targeting IS900, ISMav2, f57 and locus 255 for detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. Vet Microbiol. 2008;126(4):324-33.
169. Daniels MJ, Hutchings MR, Greig A. The risk of disease transmission to livestock posed by contamination of farm stored feed by wildlife excreta. Epidemiol Infect. 2003;130(3):561-8.

170. Marinkovich M, Wallace C, Morris PJ, Rideout B, Pye GW. Lessons from a Retrospective Analysis of a 5-Yr Period of Preshipment Testing at San Diego Zoo: A Risk-Based Approach to Preshipment Testing May Benefit Animal Welfare. *J Zoo Wildl Med.* 2016;47(1):297-300.
171. Anonymous. Proceedings of the Workshop on Diagnosis, Prevention, and Control of Johne's Disease in Non-Domestic Hoofstock 1998 June 26-28; White Oak Conservation Center, Yulee, Florida.

Supplementary Tables (1-1 – 1-12).: Detailed and extensive register of zoo animal cases and their classification according to consistent terminologies and case definitions by Whittington et al., 2017

The presence of clinical symptoms, pathological and histopathological findings as well as associated diagnostics (serology, culture or molecular biology techniques using feces or tissue samples) were reevaluated for each report. Cases are listed in the following tables, arranged according to the taxonomic classification of the host.

The tables are shown on double pages.

St	study design
No	number of affected individuals
Cl. signs	clinical signs consistent with Johne's disease
P	pathology
HP	histopathology
AFB	acid-fast bacteria detection in tissue
Serol	serology / antibody-detection
I	report in an individual animal
M	report in multiple animals
S	survey
+	positive
-	negative
q	questionable / suspect
±	at least one of the tests was positive
n.s.	not specified
n.d.	not determined / not documented
*	case definition according to Whittington et al. (2017)
♦	classification not possible
RED	case is only mentioned in reference (Mx)

Supplementary table 1-1: Bovidae

Order	Family	Scientific name	Animal species	Reference	Country	St	No
Artiodactyla	Bovidae	<i>Boselaphus tragocamelus</i>	Nilgai	Vansnick et al. (2005)	Belgium	S	n.s.
Artiodactyla	Bovidae	<i>Tragelaphus angasii</i>	Nyala	Collins et al. (1993)	USA, California	S	1
Artiodactyla	Bovidae	<i>Tragelaphus angasii</i>	Nyala	Burton et al. (2006)	USA, Florida	S	29 / 76
Artiodactyla	Bovidae	<i>Tragelaphus angasii</i>	Nyala	Ball et al. (2003)	USA, Florida	Mx	27 / 83
Artiodactyla	Bovidae	<i>Tragelaphus eurycerus</i>	Bongo	Witte et al. (2009)	USA, California	S	1 / 26
Artiodactyla	Bovidae	<i>Tragelaphus spekii</i>	Sitatunga	Münster et al. (2013) a	Germany	S	n.s.
Artiodactyla	Bovidae	<i>Tragelaphus strepsiceros</i>	Greater kudu	Probst et al. (2011)	Germany	S	1 / 9
Artiodactyla	Bovidae	<i>Taurotragus oryx</i>	Common eland	Vansnick et al. (2005)	Belgium	S	n.s.
Artiodactyla	Bovidae	<i>Bos frontalis</i>	Gayal	Vansnick et al. (2005)	Belgium	S	n.s.
Artiodactyla	Bovidae	<i>Bos frontalis</i>	Gayal	Vansnick et al. (2005)	Belgium	Mx	1
Artiodactyla	Bovidae	<i>Bos frontalis</i>	Gaur; Gayal	Zavgorodniy et al. (2015)	Ukraine	S	n.s.
Artiodactyla	Bovidae	<i>Bos frontalis</i>	Gaur	Probst et al. (2011)	Germany	S	1 / 7
Artiodactyla	Bovidae	<i>Bos grunniens</i>	Domestic yak	Girling et al. (2011)	United Kindom, Scotland	M	1
Artiodactyla	Bovidae	<i>Bos grunniens</i>	Domestic yak	Vansnick et al. (2005)	Belgium	S	n.s.
Artiodactyla	Bovidae	<i>Bos javanicus</i>	Banteng	Vansnick et al. (2005)	Belgium	S	1 / 1
Artiodactyla	Bovidae	<i>Bos taurus</i>	Domestic cattle	Erume et al. (2001)	n.s.	S	n.s.
Artiodactyla	Bovidae	<i>Bos taurus</i>	Domestic cattle	Vansnick et al. (2005)	Belgium	S	n.s.
Artiodactyla	Bovidae	<i>Bos taurus</i>	Domestic cattle	Probst et al. (2011)	Germany	S	3 / 27
Artiodactyla	Bovidae	<i>Bubalus bubalis</i>	Domestic water buffalo	Witte et al. (2009)	USA, California	S	1 / 3
Artiodactyla	Bovidae	<i>Syncerus caffer</i>	African buffalo	Dobberstein (1936)	n.s.	I	1
Artiodactyla	Bovidae	<i>Bison bison</i>	American bison	Vansnick et al. (2005)	Belgium	S	n.s.
Artiodactyla	Bovidae	<i>Bison bonasus</i>	European bison	Vansnick et al. (2005)	Belgium	S	n.s.
Artiodactyla	Bovidae	<i>Bison bonasus</i>	European bison	Vansnick et al. (2005)	Belgium	S	1 / 2
Artiodactyla	Bovidae	<i>Bison bonasus</i>	European bison	Girling et al. (2011)	United Kindom, Scotland	M	4
Artiodactyla	Bovidae	<i>Damaliscus lunatus</i>	Topi	Steinberg (1988)	USA, California	I	1
Artiodactyla	Bovidae	<i>Damaliscus pygargus</i>	Blesbok	Vansnick et al. (2005)	Belgium	S	n.s.
Artiodactyla	Bovidae	<i>Damaliscus pygargus</i>	Blesbok; Bontebok	Witte et al. (2009)	USA, California	S	2 / 12

>

Clinical signs	P	HP	AFB	Culture (feces)	Culture (tissue)	Genom (feces)	Genom (tissue)	Serol	Diagnosis in Reference	Case definition *
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+ / q	n.s.	♦
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	±	±	n.d.	n.d.	n.d.	Infected	♦
n.d.	n.d.	n.d.	+	+	+	-	n.d.	n.d.	n.s.	Infected
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	±	±	n.d.	n.d.	n.d.	(Diseased)	-
n.d.	n.d.	n.d.	±	±	±	n.d.	n.d.	n.d.	Infected	♦
-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.d.	n.d.	n.s.	Exposed
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.s.	♦
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+ / q	n.s.	♦
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.s.	♦
n.d.	+	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	(Diseased)	-
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.s.	Exposed
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.s.	♦
+	+	+	n.d.	±	n.d.	±	n.d.	+	n.s.	♦
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+ / q	n.s.	♦
q	n.d.	n.d.	n.d.	-	-	-	+	n.d.	n.s.	Infected
n.s.	n.d.	n.d.	+	-	+	+	+	n.d.	n.s.	Infected
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	q	n.s.	♦
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.s.	♦
n.d.	n.d.	n.d.	±	±	±	n.d.	n.d.	n.d.	Infected	♦
n.s.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	Diseased	♦
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+ / q	n.s.	♦
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+ / q	n.s.	♦
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	-	-	-	+	n.d.	n.s.	Infected
+	+	+	n.d.	±	n.d.	±	n.d.	+	n.s.	♦
+	+	+	+	+	n.d.	n.d.	n.d.	-	Diseased	♦
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.s.	♦
n.d.	n.d.	n.d.	±	±	±	n.d.	n.d.	n.d.	Infected	♦

Supplementary table 1-1: Bovidae (continuation)

Order	Family	Scientific name	Animal species	Reference	Country	St	No
Artiodactyla	Bovidae	<i>Damaliscus pygargus</i>	Blesbok	Collins et al. (1993)	USA, California	S	5
Artiodactyla	Bovidae	<i>Damaliscus pygargus</i>	Blesbok	Collins et al. (1993)	USA, California	Mx	2
Artiodactyla	Bovidae	<i>Connochaetes taurinus</i>	Blue wildebeest	Jarmai (1922)	n.s.	I	1
Artiodactyla	Bovidae	<i>Addax nasomaculatus</i>	Addax	Burton et al. (2001)	USA, Florida	I	1
Artiodactyla	Bovidae	<i>Addax nasomaculatus</i>	Addax	Burton et al. (2000)	USA, Florida	I	1
Artiodactyla	Bovidae	<i>Oryx gazella</i>	Gemsbok	Collins et al. (1993)	USA, California	S	1
Artiodactyla	Bovidae	<i>Oryx leucoryx</i>	Arabian oyrx	Collins et al. (1993)	USA, California	S	2
Artiodactyla	Bovidae	<i>Hippotragus equinus</i>	Roan antelope	Burton et al. (2001)	USA, Florida	Mx	n.s.
Artiodactyla	Bovidae	<i>Hippotragus equinus</i>	Roan antelope	Probst et al. (2011)	Germany	Mx	n.s.
Artiodactyla	Bovidae	<i>Hippotragus niger</i>	Sable antelope	Burton et al. (2001)	USA, Florida	Mx	n.s.
Artiodactyla	Bovidae	<i>Kobus ellipsiprymnus</i>	Waterbuck	Witte et al. (2009)	USA, California	S	8 / 117
Artiodactyla	Bovidae	<i>Kobus leche</i>	Red lechwe	Collins et al. (1993)	USA, California	S	1
Artiodactyla	Bovidae	<i>Aepyceros melampus</i>	Impala	Burton et al. (2006)	USA, Florida	S	32 / 95
Artiodactyla	Bovidae	<i>Eudorcas thomsonii</i>	Thomson's gazelle	Burton et al. (2006)	USA, Florida	S	12 / 106
Artiodactyla	Bovidae	<i>Gazella cuvieri</i>	Cuvier's gazelle	Witte et al. (2009)	USA, California	S	1 / 57
Artiodactyla	Bovidae	<i>Gazella leptoceros</i>	Slender-horned gazelle	Witte et al. (2009)	USA, California	S	2 / 53
Artiodactyla	Bovidae	<i>Gazella subgutturosa</i>	Goitered gazelle	Witte et al. (2009)	USA, California	S	1 / 105
Artiodactyla	Bovidae	<i>Nanger dama</i>	Dama gazelle	Witte et al. (2009)	USA, California	S	2 / 60
Artiodactyla	Bovidae	<i>Nanger dama</i>	Dama gazelle	Collins et al. (1993)	USA, California	S	1
Artiodactyla	Bovidae	<i>Antidorcas marsupialis</i>	Springbok	Witte et al. (2009)	USA, California	S	9 / 19
Artiodactyla	Bovidae	<i>Antidorcas marsupialis</i>	Springbok	Collins et al. (1993)	USA, California	S	4
Artiodactyla	Bovidae	<i>Antidorcas marsupialis</i>	Springbok	Burton et al. (2001)	USA, Florida	Mx	1
Artiodactyla	Bovidae	<i>Antidorcas marsupialis</i>	Springbok	Burton et al. (2000)	USA, Florida	I	1
Artiodactyla	Bovidae	<i>Antidorcas marsupialis</i>	Springbok	Probst et al. (2011)	Germany	S	1 / 11
Artiodactyla	Bovidae	<i>Antilope cervicapra</i>	Blackbuck	Witte et al. (2009)	USA, California	S	1 / 38
Artiodactyla	Bovidae	<i>Antilope cervicapra</i>	Blackbuck	Geisel & Hänichen (1971)	Germany	M	1
Artiodactyla	Bovidae	<i>Antilope cervicapra</i>	Blackbuck	Brahm et al. (1972)	Germany	M	48 / 100

[illegible]

Supplementary table 1-1: Bovidae (continuation)

Order	Family	Scientific name	Animal species	Reference	Country	St	No
Artiodactyla	Bovidae	<i>Antilope cervicapra</i>	Blackbuck	Pallaske (1965)	Germany	I	1
Artiodactyla	Bovidae	<i>Saiga tatarica</i>	Saiga	Dukes et al. (1992)	Canada, Manitoba	M	15 / 26
Artiodactyla	Bovidae	<i>Saiga tatarica</i>	Saiga	Schröder (1988)	Germany	M	14
Artiodactyla	Bovidae	<i>Naemorhedus griseus</i>	Chinese goral	Collins et al. (1993)	USA, California	S	1
Artiodactyla	Bovidae	<i>Capricornis crispus</i>	Japanese serow	Witte et al. (2009)	USA, California	S	1 / 10
Artiodactyla	Bovidae	<i>Capricornis crispus</i>	Japanese serow	Collins et al. (1993)	USA, California	S	1
Artiodactyla	Bovidae	<i>Oreamnos americanus</i>	Mountain goat	Probst et al. (2011)	Germany	S	2 / 12
Artiodactyla	Bovidae	<i>Oreamnos americanus</i>	Mountain goat	Godin et al. (2017)	Germany	S	n.s.
Artiodactyla	Bovidae	<i>Budorcas taxicolor</i>	Takin	Naylor et al. (2018)	United Kindom, Scotland	M	6 / 9
Artiodactyla	Bovidae	<i>Budorcas taxicolor</i>	Takin	Girling et al. (2011)	United Kindom, Scotland	M	8
Artiodactyla	Bovidae	<i>Ovibos moschatus</i>	Muskox	Vansnick et al. (2005)	Belgium	S	n.s.
Artiodactyla	Bovidae	<i>Ovis aries</i>	Domestic sheep	Erume et al. (2001)	n.s.	S	n.s.
Artiodactyla	Bovidae	<i>Ovis aries</i>	Domestic sheep	Vansnick et al. (2005)	Belgium	S	n.s.
Artiodactyla	Bovidae	<i>Ovis aries</i>	Domestic sheep	Probst et al. (2011)	Germany	S	1 / 17
Artiodactyla	Bovidae	<i>Ovis aries</i>	Domestic sheep	Probst et al. (2011)	Germany	Mx	n.s.
Artiodactyla	Bovidae	<i>Ovis aries</i>	Domestic sheep	Weber et al. (1992)	Germany	S	5 / 35
Artiodactyla	Bovidae	<i>Ovis aries</i>	Domestic sheep; Mouflon; Urial	Witte et al. (2009)	USA, California	S	10 / 204
Artiodactyla	Bovidae	<i>Ovis aries</i>	Mouflon	Boever (1976)	USA, Missouri	M	n.s.
Artiodactyla	Bovidae	<i>Ovis aries</i>	Mouflon	Weber et al. (1992)	Germany	S	3 / 14
Artiodactyla	Bovidae	<i>Ovis aries</i>	Mouflon	Thoen et al. (1977)	USA	S	3
Artiodactyla	Bovidae	<i>Ovis canadensis</i>	Bighorn sheep	Vansnick et al. (2005)	Belgium	S	n.s.
Artiodactyla	Bovidae	<i>Ovis canadensis</i>	Bighorn sheep	Thoen et al. (1977)	USA	S	1
Artiodactyla	Bovidae	<i>Ovis dalli</i>	Dall's sheep	Probst et al. (2011)	Germany	S	2 / 6
Artiodactyla	Bovidae	<i>Ammotragus lervia</i>	Barbary sheep	Vansnick et al. (2005)	Belgium	S	n.s.
Artiodactyla	Bovidae	<i>Ammotragus lervia</i>	Barbary sheep	Zavgorodniy et al. (2015)	Ukraine	S	n.s.
Artiodactyla	Bovidae	<i>Ammotragus lervia</i>	Barbary sheep	Boever (1976)	USA, Missouri	M	n.s.
Artiodactyla	Bovidae	<i>Ammotragus lervia</i>	Barbary sheep	Thoen et al. (1977)	USA	S	6

>

Clinical signs	P	HP	AFB	Culture (feces)	Culture (tissue)	Genom (feces)	Genom (tissue)	Serol	Diagnosis in Reference	Case definition *
+	+	+	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	Diseased	♦
+	+	+	+	-	+	n.d.	n.d.	+	Diseased	Diseased
+	+	+	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	Diseased	♦
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	±	±	n.d.	n.d.	n.d.	Infected	♦
n.d.	n.d.	n.d.	±	±	±	n.d.	n.d.	n.d.	Infected	♦
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	±	±	n.d.	n.d.	n.d.	Infected	♦
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.s.	♦
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.d.	n.d.	n.s.	Exposed
+	+	+	+	-	+	n.d.	n.d.	+	Diseased	Diseased
+	+	+	n.d.	±	n.d.	±	n.d.	+	n.s.	♦
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	q	n.s.	♦
n.s.	n.d.	n.d.	-	n.d.	+	n.d.	+	n.d.	n.s.	Infected
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.s.	♦
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.s.	♦
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	(Infected)	-
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.d.	n.d.	n.d.	-	n.s.	Exposed
n.d.	n.d.	n.d.	±	±	±	n.d.	n.d.	n.d.	Infected	♦
+	+	+	+	+	n.d.	n.d.	n.d.	+	Diseased	♦
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.d.	n.d.	n.d.	-	n.s.	Exposed
n.s.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.s.	Infected
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	q	n.s.	♦
n.s.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.s.	Infected
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.s.	♦
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.s.	♦
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.s.	Exposed
+	+	+	+	+	n.d.	n.d.	n.d.	+	Diseased	♦
n.s.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.s.	Infected

Supplementary table 1-1: Bovidae (continuation)

Order	Family	Scientific name	Animal species	Reference	Country	St	No
Artiodactyla	Bovidae	<i>Pseudois nayaur</i>	Bharal	Probst et al. (2011)	Germany	S	2 / 7
Artiodactyla	Bovidae	<i>Hemitragus hylocrius</i>	Nilgiri tahr	Witte et al. (2009)	USA, California	S	1 / 13
Artiodactyla	Bovidae	<i>Hemitragus jemlahicus</i>	Himalayan tahr	Probst et al. (2011)	Germany	Mx	n.s.
Artiodactyla	Bovidae	<i>Capra caucasica</i>	Tur	Witte et al. (2009)	USA, California	S	1 / 60
Artiodactyla	Bovidae	<i>Capra caucasica</i>	Tur	Collins et al. (1993)	USA, California	S	1
Artiodactyla	Bovidae	<i>Capra falconeri</i>	Markhor	Erume et al. (2001)	n.s.	S	n.s.
Artiodactyla	Bovidae	<i>Capra falconeri</i>	Markhor	Witte et al. (2009)	USA, California	S	6 / 56
Artiodactyla	Bovidae	<i>Capra falconeri</i>	Markhor	Girling et al. (2011)	United Kindom, Scotland	M	5
Artiodactyla	Bovidae	<i>Capra hircus</i>	Domestic goat	Münster et al. (2013) a	Germany	S	n.s.
Artiodactyla	Bovidae	<i>Capra hircus</i>	Domestic goat	Seffner (1964)	Germany	M	10 / 18
Artiodactyla	Bovidae	<i>Capra hircus</i>	Domestic goat	Probst et al. (2011)	Germany	S	1 / 38
Artiodactyla	Bovidae	<i>Capra hircus</i>	Domestic goat	Probst et al. (2011)	Germany	Mx	n.s.
Artiodactyla	Bovidae	<i>Capra hircus</i>	Domestic goat	Weber et al. (1992)	Germany	S	10 / 49
Artiodactyla	Bovidae	<i>Capra hircus</i>	Domestic goat	Weber et al. (1992)	Germany	S	1
Artiodactyla	Bovidae	<i>Capra hircus</i>	Domestic goat	Cihan et al. (2006)	Turkey	M	6
Artiodactyla	Bovidae	<i>Capra hircus</i>	Domestic goat	Katic (1960)	n.s.	I	1
Artiodactyla	Bovidae	<i>Capra hircus</i>	Domestic goat	Godin et al. (2017)	Germany	S	n.s.
Artiodactyla	Bovidae	<i>Capra hircus</i>	Wild goat	Erume et al. (2001)	n.s.	S	n.s.
Artiodactyla	Bovidae	<i>Capra hircus</i>	Wild goat	Geisel & Hänichen (1971)	Germany	M	2
Artiodactyla	Bovidae	<i>Capra spp.</i>	Ibex	Erume et al. (2001)	n.s.	S	n.s.
Artiodactyla	Bovidae	<i>Capra ibex</i>	Alpine ibex	Vansnick et al. (2005)	Belgium	S	n.s.
Artiodactyla	Bovidae	<i>Capra ibex</i>	Alpine ibex	Weber et al. (1992)	Germany	S	1 / 11
Artiodactyla	Bovidae	<i>Capra nubiana</i>	Nubian ibex	Witte et al. (2009)	USA, California	S	3 / 48
Artiodactyla	Bovidae	<i>Capra nubiana</i>	Nubian ibex	Geisel & Hänichen (1971)	Germany	M	1
Artiodactyla	Bovidae	<i>Capra sibirica</i>	Siberian ibex	Witte et al. (2009)	USA, California	S	1 / 42
Artiodactyla	Bovidae	<i>Capra sibirica</i>	Siberian ibex	Collins et al. (1993)	USA, California	S	1

>

Clinical signs	P	HP	AFB	Culture (feces)	Culture (tissue)	Genom (feces)	Genom (tissue)	Serol	Diagnosis in Reference	Case definition *
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.s.	♦
n.d.	n.d.	n.d.	±	±	±	n.d.	n.d.	n.d.	Infected	♦
-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	(Infected)	-
n.d.	n.d.	n.d.	±	±	±	n.d.	n.d.	n.d.	Infected	♦
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	±	±	n.d.	n.d.	n.d.	Infected	♦
n.s.	n.d.	n.d.	+	n.d.	+	n.d.	+	n.d.	n.s.	Infected
n.d.	n.d.	n.d.	±	±	±	n.d.	n.d.	n.d.	Infected	♦
+	+	+	n.d.	±	n.d.	±	n.d.	+	n.s.	♦
-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.d.	n.d.	n.s.	Exposed
+	+	+	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	Diseased	♦
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.s.	♦
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	(Infected)	-
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.d.	n.d.	n.d.	-	n.s.	Exposed
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.s.	Exposed
-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	Diseased	♦
n.s.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	Diseased	♦
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.d.	n.d.	n.s.	Exposed
n.s.	n.d.	n.d.	+	n.d.	+	n.d.	+	n.d.	n.s.	Infected
n.d.	+	+	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	Diseased	♦
n.s.	n.d.	n.d.	+	n.d.	+	n.d.	+	n.d.	n.s.	Infected
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	q	n.s.	♦
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.d.	n.d.	n.d.	-	n.s.	Exposed
n.d.	n.d.	n.d.	±	±	±	n.d.	n.d.	n.d.	Infected	♦
n.d.	+	+	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	Diseased	♦
n.d.	n.d.	n.d.	±	±	±	n.d.	n.d.	n.d.	Infected	♦
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	±	±	n.d.	n.d.	n.d.	Infected	♦

Supplementary table 1-2: Cervidae

Order	Family	Scientific name	Animal species	Reference	Country	St	No
Artiodactyla	Cervidae	<i>Muntiacus reevesi</i>	Reeve's muntjac	Witte et al. (2009)	USA, California	S	2 / 13
Artiodactyla	Cervidae	<i>Muntiacus reevesi</i>	Reeve's muntjac	Collins et al. (1993)	USA, California	S	6
Artiodactyla	Cervidae	<i>Muntiacus reevesi</i>	Reeve's muntjac	Collins et al. (1993)	USA, California	Mx	1
Artiodactyla	Cervidae	<i>Muntiacus reevesi</i>	Reeve's muntjac	Probst et al. (2011)	Germany	S	1 / 2
Artiodactyla	Cervidae	<i>Elaphodus cephalophus</i>	Tufted deer	Witte et al. (2009)	USA, California	S	2 / 27
Artiodactyla	Cervidae	<i>Capreolus capreolus</i>	European roe deer	Witte et al. (2009)	USA, California	S	1 / 14
Artiodactyla	Cervidae	<i>Capreolus capreolus</i>	European roe deer	Geisel & Hänichen (1971)	Germany	M	1
Artiodactyla	Cervidae	<i>Odocoileus virginianus</i>	White-tailed deer	Geisel & Hänichen (1971)	Germany	M	1
Artiodactyla	Cervidae	<i>Mazama americana</i>	Red brocket	Witte et al. (2009)	USA, California	S	2 / 8
Artiodactyla	Cervidae	<i>Pudu puda</i>	Southern pudu	Vansnick et al. (2005)	Belgium	S	n.s.
Artiodactyla	Cervidae	<i>Pudu puda</i>	Southern pudu	Vansnick et al. (2005)	Belgium	Mx	n.s.
Artiodactyla	Cervidae	<i>Pudu puda</i>	Southern pudu	De Meurichy et al. (1985)	Belgium	M	n.s.
Artiodactyla	Cervidae	<i>Rangifer tarandus</i>	Reindeer	Vansnick et al. (2005)	Belgium	S	n.s.
Artiodactyla	Cervidae	<i>Rangifer tarandus</i>	Reindeer	Del-Pozo et al. (2012)	United Kindom, Scotland	I	1
Artiodactyla	Cervidae	<i>Rangifer tarandus</i>	Reindeer	Girling et al. (2011)	United Kindom, Scotland	M	3
Artiodactyla	Cervidae	<i>Alces alces</i>	Moose	Soltys et al. (1967)	Canada, Ontario	I	1
Artiodactyla	Cervidae	<i>Axis axis</i>	Axis deer	Witte et al. (2009)	USA, California	S	3 / 31
Artiodactyla	Cervidae	<i>Axis axis</i>	Axis deer	Collins et al. (1993)	USA, California	S	1
Artiodactyla	Cervidae	<i>Axis porcinus</i>	Hog deer	Witte et al. (2009)	USA, California	S	2 / 54
Artiodactyla	Cervidae	<i>Cervidae species</i>	Deer	Thoen et al. (1977)	USA	S	11
Artiodactyla	Cervidae	<i>Cervus elaphus</i>	Red deer	Witte et al. (2009)	USA, California	S	1 / 152
Artiodactyla	Cervidae	<i>Cervus elaphus</i>	Red deer	Collins et al. (1993)	USA, California	S	3
Artiodactyla	Cervidae	<i>Cervus elaphus</i>	Red deer	Girling et al. (2011)	United Kindom, Scotland	M	8
Artiodactyla	Cervidae	<i>Cervus elaphus</i>	Red deer	Cihan et al. (2006)	Turkey	M	5
Artiodactyla	Cervidae	<i>Cervus elaphus</i>	Red deer	Bourgeois (1940)	n.s.	I	1
Artiodactyla	Cervidae	<i>Cervus nippon</i>	Sika deer	Witte et al. (2009)	USA, California	S	2 / 116
Artiodactyla	Cervidae	<i>Cervus nippon</i>	Sika deer	Collins et al. (1993)	USA, California	S	1

>

Clinical signs	P	HP	AFB	Culture (feces)	Culture (tissue)	Genom (feces)	Genom (tissue)	Serol	Diagnosis in Reference	Case definition *
n.d.	n.d.	n.d.	±	±	±	n.d.	n.d.	n.d.	Infected	♦
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	±	±	n.d.	n.d.	n.d.	Infected	♦
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	(Diseased)	-
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.s.	♦
n.d.	n.d.	n.d.	±	±	±	n.d.	n.d.	n.d.	Infected	♦
n.d.	n.d.	n.d.	±	±	±	n.d.	n.d.	n.d.	Infected	♦
n.d.	+	+	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	Diseased	♦
n.d.	+	+	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	Diseased	♦
n.d.	n.d.	n.d.	±	±	±	n.d.	n.d.	n.d.	Infected	♦
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.s.	♦
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	(Diseased)	-
+	+	+	+	-	q	n.d.	n.d.	+	Diseased	♦
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	q	n.s.	♦
+	+	+	+	n.d.	n.d.	n.d.	+	-	Diseased	Diseased
+	+	+	n.d.	±	n.d.	±	n.d.	+	n.s.	♦
+	+	+	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	Diseased	♦
n.d.	n.d.	n.d.	±	±	±	n.d.	n.d.	n.d.	Infected	♦
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	±	±	n.d.	n.d.	n.d.	Infected	♦
n.d.	n.d.	n.d.	±	±	±	n.d.	n.d.	n.d.	Infected	♦
n.s.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.s.	Infected
n.d.	n.d.	n.d.	±	±	±	n.d.	n.d.	n.d.	Infected	♦
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	±	±	n.d.	n.d.	n.d.	Infected	♦
+	+	+	n.d.	±	n.d.	±	n.d.	+	n.s.	♦
+	+	+	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	Diseased	♦
n.s.	+	+	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	Diseased	♦
n.d.	n.d.	n.d.	±	±	±	n.d.	n.d.	n.d.	Infected	♦
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	±	±	n.d.	n.d.	n.d.	Infected	♦

Supplementary table 1-2: Cervidae (continuation)

Order	Family	Scientific name	Animal species	Reference	Country	St	No
Artiodactyla	Cervidae	<i>Cervus nippon</i>	Sika deer	Bourgeois (1944)	n.s.	I	1
Artiodactyla	Cervidae	<i>Rucervus duvaucelii</i>	Barasingha	Witte et al. (2009)	USA, California	S	1 / 29
Artiodactyla	Cervidae	<i>Rusa timorensis</i>	Javan rusa	Witte et al. (2009)	USA, California	S	1 / 41
Artiodactyla	Cervidae	<i>Rusa unicolor</i>	Sambar	Witte et al. (2009)	USA, California	S	2 / 88
Artiodactyla	Cervidae	<i>Elaphurus davidianus</i>	Père David's deer	Vansnick et al. (2005)	Belgium	S	n.s.
Artiodactyla	Cervidae	<i>Elaphurus davidianus</i>	Père David's deer	Witte et al. (2009)	USA, California	S	3 / 30
Artiodactyla	Cervidae	<i>Elaphurus davidianus</i>	Père David's deer	Zavgorodniy et al. (2015)	Ukraine	S	n.s.
Artiodactyla	Cervidae	<i>Dama dama</i>	Fallow deer	Witte et al. (2009)	USA, California	S	1 / 21

Supplementary table 1-3: Giraffidae

Order	Family	Scientific name	Animal species	Reference	Country	St	No
Artiodactyla	Giraffidae	<i>Giraffa camelopardalis</i>	Giraffe	Stevenson et al. (2009)	Netherlands	M	1
Artiodactyla	Giraffidae	<i>Giraffa camelopardalis</i>	Giraffe	Ball et al. (2002)	USA, Florida	I	1
Artiodactyla	Giraffidae	<i>Okapia johnstoni</i>	Okapi	Vansnick et al. (2005)	Belgium	S	n.s.
Artiodactyla	Giraffidae	<i>Okapia johnstoni</i>	Okapi	Vansnick et al. (2005)	Belgium	S	1 / 2

Supplementary table 1-4: Moschidae

Order	Family	Scientific name	Animal species	Reference	Country	St	No
Artiodactyla	Moschidae	<i>Moschus moschiferus</i>	Siberian musk deer	Probst et al. (2011)	Germany	S	2 / 9

>

Clinical signs	P	HP	AFB	Culture (feces)	Culture (tissue)	Genom (feces)	Genom (tissue)	Serol	Diagnosis in Reference	Case definition *
+	+	n.d.	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	Diseased	♦
n.d.	n.d.	n.d.	±	±	±	n.d.	n.d.	n.d.	Infected	♦
n.d.	n.d.	n.d.	±	±	±	n.d.	n.d.	n.d.	Infected	♦
n.d.	n.d.	n.d.	±	±	±	n.d.	n.d.	n.d.	Infected	♦
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	q	n.s.	♦
n.d.	n.d.	n.d.	±	±	±	n.d.	n.d.	n.d.	Infected	♦
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.s.	Exposed
n.d.	n.d.	n.d.	±	±	±	n.d.	n.d.	n.d.	Infected	♦

>

Clinical signs	P	HP	AFB	Culture (feces)	Culture (tissue)	Genom (feces)	Genom (tissue)	Serol	Diagnosis in Reference	Case definition *
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	±	±	n.d.	n.s.	♦
q	q	-	n.d.	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.s.	Exposed
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	q	n.s.	♦
q	q	n.d.	n.d.	+	-	+	+	n.d.	n.s.	Infected

>

Clinical signs	P	HP	AFB	Culture (feces)	Culture (tissue)	Genom (feces)	Genom (tissue)	Serol	Diagnosis in Reference	Case definition *
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.s.	♦

Supplementary table 1-5: Camelidae

Order	Family	Scientific name	Animal species	Reference	Country	St	No
Artiodactyla	Camelidae	<i>Camelus ssp.</i>	Camel	Thoen et al. (1977)	USA	S	1
Artiodactyla	Camelidae	<i>Camelus bactrianus</i>	Bactrian camel	Münster et al. (2013) a	Germany	S	n.s.
Artiodactyla	Camelidae	<i>Camelus bactrianus</i>	Bactrian camel	Zavgorodniy et al. (2015)	Ukraine	S	n.s.
Artiodactyla	Camelidae	<i>Camelus bactrianus</i>	Bactrian camel	Probst et al. (2011)	Germany	S	1 / 18
Artiodactyla	Camelidae	<i>Camelus dromedarius</i>	Dromedary camel	Amand et al. (1974)	USA, New York	I	1
Artiodactyla	Camelidae	<i>Lama glama</i>	Llama	Zavgorodniy et al. (2015)	Ukraine	S	n.s.
Artiodactyla	Camelidae	<i>Lama glama</i>	Llama	Appleby and Head (1954)	United Kindom	I	1
Artiodactyla	Camelidae	<i>Vicugna pacos</i>	Alpaca	Münster et al. (2013) a	Germany	Mx	n.s.
Artiodactyla	Camelidae	<i>Vicugna pacos</i>	Alpaca	Münster et al. (2013) b	Germany	I	1

Supplementary table 1-6: Suidae

Order	Family	Scientific name	Animal species	Reference	Country	St	No
Artiodactyla	Suidae	<i>Suidae species</i>	„Wild pig“	Erume et al. (2001)	n.s.	S	n.s.

>

Clinical signs	P	HP	AFB	Culture (feces)	Culture (tissue)	Genom (feces)	Genom (tissue)	Serol	Diagnosis in Reference	Case definition *
n.s.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.s.	Infected
-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.d.	n.d.	n.s.	Exposed
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.s.	Exposed
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.s.	♦
+	+	+	+	+	n.d.	n.d.	n.d.	-	Diseased	♦
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.s.	Exposed
n.s.	+	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	Diseased	♦
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	(Diseased)	-
+	+	n.d.	n.d.	+	+	+	+	n.d.	n.s.	Infected

>

Clinical signs	P	HP	AFB	Culture (feces)	Culture (tissue)	Genom (feces)	Genom (tissue)	Serol	Diagnosis in Reference	Case definition *
n.s.	n.d.	n.d.	+	-	+	+	+	n.d.	n.s.	Infected

Supplementary table 1-7: Perissodactyla

Order	Family	Scientific name	Animal species	Reference	Country	St	No
Perissodactyla	Rhinocerotidae	<i>Diceros bicornis</i>	Black rhinoceros	Bryant et al. (2012)	Australia	I	1
Perissodactyla	Rhinocerotidae	<i>Ceratotherium simum</i>	White rhinoceros	Collins et al. (1993)	USA, California	S	1
Perissodactyla	Tapiridae	<i>Tapirus spp.</i>	Tapir	Erume et al. (2001)	n.s.	S	n.s.
Perissodactyla	Tapiridae	<i>Tapirus indicus</i>	Malayan tapir	Vansnick et al. (2005)	Belgium	S	n.s.
Perissodactyla	Equidae	<i>Equus asinus</i>	Donkey	Van Ulsen et al. (1970)	Netherlands	I	1
Perissodactyla	Equidae	<i>Equus quagga</i>	Plains zebra	Münster et al. (2013) a	Germany	S	n.s.

Supplementary table 1-8: Rodentia

Order	Family	Scientific name	Animal species	Reference	Country	St	No
Rodentia	Caviidae	<i>Dolichotis patagonum</i>	Patagonian mara	Münster et al. (2013) a	Germany	S	n.s.
Rodentia	Capromyidae	<i>Capromys pilorides</i>	Desmarest's hutia	Münster et al. (2013) a	Germany	S	n.s.

Supplementary table 1-9: Non-human Primates

Order	Family	Scientific name	Animal species	Reference	Country	St	No
Primates	Lemuridae	<i>Varecia variegata</i>	Black-and-white ruffed lemur	Münster et al. (2013) a	Germany	S	n.s.
Primates	Callitrichidae	<i>Saguinus oedipus</i>	Cotton-top tamarin	Fechner et al. (2017) a	Germany	S	1 / 1
Primates	Callitrichidae	<i>Saguinus oedipus</i>	Cotton-top tamarin	Münster et al. (2013) a	Germany	S	n.s.
Primates	Callitrichidae	<i>Callithrix jacchus</i>	Common marmoset	Fechner et al. (2017) a	Germany	S	1 / 8
Primates	Cercopithecidae	<i>Macaca arctoides</i>	Stump-tailed macaque	McClure et al. (1987)	USA, Georgia	M	29 / 38
Primates	Cercopithecidae	<i>Mandrillus sphinx</i>	Mandrill	Zwick et al. (2002)	USA, Illinois	I	1
Primates	Cercopithecidae	<i>Mandrillus sphinx</i>	Mandrill	Walsh et al. (1995)	USA, Illinois	I	1
Primates	Cercopithecidae	<i>Theropithecus gelada</i>	Gelada baboon	Münster et al. (2013) a	Germany	S	n.s.

>

Clinical signs	P	HP	AFB	Culture (feces)	Culture (tissue)	Genom (feces)	Genom (tissue)	Serol	Diagnosis in Reference	Case definition *
+	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.s.	Exposed
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	±	±	n.d.	n.d.	n.d.	Infected	♦
n.s.	n.d.	n.d.	-	n.d.	-	n.d.	+	n.d.	n.s.	Infected
n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.s.	♦
+	n.d.	+	+	n.d.	+	n.d.	n.d.	n.d.	Diseased	Diseased
-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.d.	n.d.	n.s.	Exposed

>

Clinical signs	P	HP	AFB	Culture (feces)	Culture (tissue)	Genom (feces)	Genom (tissue)	Serol	Diagnosis in Reference	Case definition *
-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.d.	n.d.	n.s.	Exposed
-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.d.	n.d.	n.s.	Exposed

>

Clinical signs	P	HP	AFB	Culture (feces)	Culture (tissue)	Genom (feces)	Genom (tissue)	Serol	Diagnosis in Reference	Case definition *
-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.d.	n.d.	n.s.	Exposed
-	-	q	-	-	-	-	+	n.d.	Infected	Infected
-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.d.	n.d.	n.s.	Exposed
-	-	-	-	-	-	-	+	n.d.	Infected	Infected
+	+	+	+	+	+	n.d.	n.d.	+	Diseased	Diseased
+	+	+	+	+	+	n.d.	n.d.	n.d.	Diseased	Diseased
+	+	+	+	+	+	n.d.	n.d.	n.d.	Diseased	Diseased
-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.d.	n.d.	n.s.	Exposed

Supplementary table 1-10: Hyracoidea

Order	Family	Scientific name	Animal species	Reference	Country	St	No
Hyracoidea	Procaviidae	<i>Procavia capensis</i>	Rock hyrax	Fechner et al. (2017) b	Germany	M	5 / 7

Supplementary table 1-11: Diprotodontia

Order	Family	Scientific name	Animal species	Reference	Country	St	No
Diprotodontia	Macropodidae	<i>Macropus rufogriseus</i>	Red-necked wallaby	Münster et al. (2013) a	Germany	S	n.s.

Supplementary table 1-12: AVES

Order	Family	Scientific name	Animal species	Reference	Country	St	No
Strigiformes	Strigidae	<i>Bubo scandiacus</i>	Snowy owl	Münster et al. (2013) a	Germany	S	n.s.
Psittaciformes	Psittacidae	<i>Ara chloropterus</i>	Red-and-green macaw	Münster et al. (2013) a	Germany	S	n.s.
Galliformes	Numididae	<i>Acryllium vulturinum</i>	Vulturine guineafowl	Münster et al. (2013) a	Germany	S	n.s.
Casuariiformes	Dromaiidae	<i>Dromaius novaehollandiae</i>	Emu	Münster et al. (2013) a	Germany	S	n.s.

>

Clinical signs	P	HP	AFB	Culture (feces)	Culture (tissue)	Genom (feces)	Genom (tissue)	Serol	Diagnosis in Reference	Case definition *
q	-	-	-	-	+	+	+	-	n.s.	Infected

>

Clinical signs	P	HP	AFB	Culture (feces)	Culture (tissue)	Genom (feces)	Genom (tissue)	Serol	Diagnosis in Reference	Case definition *
-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.d.	n.d.	n.s.	Exposed

>

Clinical signs	P	HP	AFB	Culture (feces)	Culture (tissue)	Genom (feces)	Genom (tissue)	Serol	Diagnosis in Reference	Case definition *
-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.d.	n.d.	n.s.	Exposed
-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.d.	n.d.	n.s.	Exposed
-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.d.	n.d.	n.s.	Exposed
-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.d.	n.d.	n.s.	Exposed

5. Manuskript B

Molecular and Serological Footprints of *Mycobacterium avium* Subspecies Infections in Zoo Animals

Marco Roller^{1,2,3}, Sören Hansen², Susanne Böhlken-Fascher², Tobias Knauf-Witzens¹, Claus-Peter Czerny^{2,†}, Ralph Goethe^{3,‡} and Ahmed Abd El Wahed^{2,4,*,‡}

¹ Wilhelma Zoological-Botanical Gardens Stuttgart, Wilhelma 13, D-70376 Stuttgart, Germany; marco.roller@tiho-hannover.de (M.R.); Tobias.Knauf-Witzens@wilhelma.de (T.K.-W.)

² Department of Animal Sciences, Division of Microbiology and Animal Hygiene, Faculty of Agricultural Science, Georg-August-University, Burckhardtweg 2, D-37077 Göttingen, Germany; hansensoer@gmail.com (S.H.); susanne.boehlken-fascher@agr.uni-goettingen.de (S.B.-F.); cczerny@gwdg.de (C.-P.C.); abdelwahed@gwdg.de (A.A.E.W.)

³ Institute for Microbiology, University of Veterinary Medicine Hannover, Foundation, Bischofsholer Damm 15, D-30173 Hannover, Germany; Ralph.Goethe@tiho-hannover.de (R.G.)

⁴ Institute of Animal Hygiene and Veterinary Public Health, University of Leipzig, An den Tierkliniken 43, D-04103 Leipzig, Germany

* Correspondence: abdelwahed@gwdg.de; Tel.: +49 176 6136-0325

† Deceased

‡ Senior authorship

Status: Published

Received: 22 July 2020; Accepted: 19 August 2020; Published: 23 August 2020



Abstract: Background: Mycobacteria of the *Mycobacterium avium* complex (MAC) pose a significant risk to zoological collections. *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* (MAP) is a member of MAC and the causative agent of Johne's disease. Despite many reports in animals kept in zoological gardens, systemic surveillance has rarely been reported. Methods: In this study, archived serum samples collected from animal species at the Wilhelma Zoological and Botanical Gardens in Stuttgart, Germany, were screened for the presence of antibodies against MAC and MAP. In addition, molecular investigations were performed on necropsy, fecal, and environmental samples. Results: In total, 30/381 serum samples of various mammalian species were positive for MAC antibodies in ELISA, while one sample of a reticulated giraffe (*Giraffa camelopardalis reticulata*) was positive in MAP-specific ELISA. Samples from many species were positive in pan-*Mycobacterium* real-time PCR (40/43 fecal samples, 27/43 environmental samples, and 31/90 necropsy samples). Surprisingly, no sample was positive in the MAP-specific molecular assays. However, two environmental samples from primate enclosures were positive in *Mycobacterium avium* subspecies *hominissuis* (MAH)-specific real-time PCR. Conclusions: The results reveal serological indications of MAC infections in the zoological collection. However, the presence of a MAP-contaminated environment by a high-shedding individual animal or MAP-infected population is unlikely.

Keywords: *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*; Johne's disease; paratuberculosis; *Mycobacterium avium* complex; zoo animals; serological assays; molecular assays; surveillance; monitoring

1 Introduction

The *Mycobacterium avium* complex (MAC) comprises *Mycobacterium avium* subspecies *avium* (MAA), *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* (MAP), *Mycobacterium avium* subspecies *silvaticum* (MAS), and *Mycobacterium avium* subspecies *hominissuis* (MAH) [1–3]. Members of MAC are not species-specific and are frequently associated with animal or human diseases causing tuberculous lesions in lymph nodes and, occasionally, parenchymatous organs [4]. MAC mycobacteria and, in particular, MAP, pose a significant risk to zoological collections [5–7]. MAP is an acid-fast bacterium causing a contagious, chronic, and typically fatal, enteric disease of domestic and nondomestic ruminants named paratuberculosis (Johne's disease (JD)) [8]. Common characteristics of paratuberculosis are latent and asymptomatic infections, while only a few animals of the herd develop clinical symptoms. Affected animals in the advanced stages of the disease suffer from wasting and gradual emaciation [9]. Clinical paratuberculosis has been diagnosed in a wide diversity of captive and free-ranging ruminant and pseudoruminant species, with considerably different clinical and pathological pictures [10,11]. However, MAP can also infect nonruminant animal species, with less clear symptoms [12].

In zoological gardens, various populations of diverse animal species are artificially managed in limited space. They are susceptible to epidemiological situations, similar to livestock herds, such as high animal density and exposure to a high concentration of infectious agents in the population.

Hence, MAC infection in zoo animals may be of significant relevance in terms of animal welfare and conservation efforts. Indeed, paratuberculosis outbreaks and systematic surveys for infection and disease have been reported for several zoos [13–19]. Some of these studies have included investigations in nonruminant species [20–24]. As a result, paratuberculosis has become an essential part of disease prevention and surveillance protocols of many zoological institutions, which include preshipment veterinary test requirements and strict hygiene and quarantine measures (see the workshop on diagnosis, prevention, and control of Johne's disease in nondomestic hoofstock [25]).

In this study, we performed a retrospective survey on frozen-stored mammalian serum samples collected in the Wilhelma Zoological and Botanical Gardens in Stuttgart, Germany, between 2010 and 2019. The screening was performed using an indirect ELISA specific for the antibody of MAC, as well as a second assay targeting the MAP-specific antibody. In order to identify active or subclinical MAP infection, a mobile molecular assay based on a recombinase polymerase amplification (RPA) assay was applied in the zoological garden for onsite molecular detection of MAP in fecal and environmental samples. The results of the field settings were followed by laboratory-based real-time PCR targeting pan-*Mycobacterium* species MAP, MAA, and MAH (Figure 1).

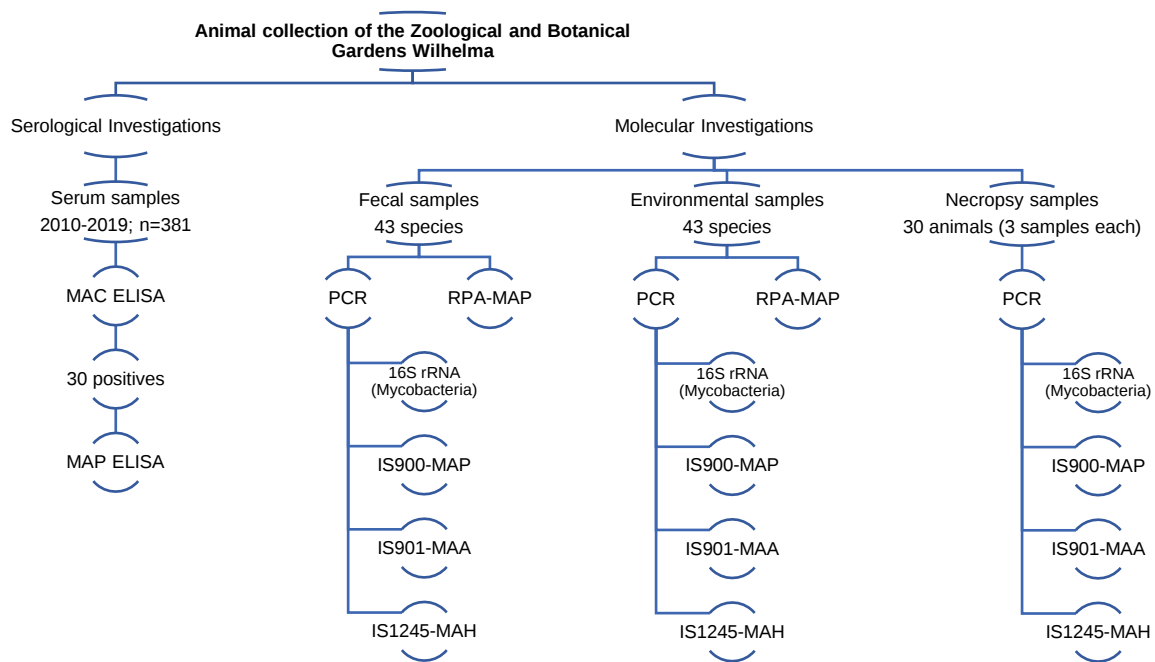


Figure 1. Flow chart of the methods used to screen the collected samples.

2 Materials and Methods

2.1 Sample Collection

Ethical statement: All samples were collected in accordance with the guidelines of good veterinary practice and the law of the Federal Republic of Germany. The regional administrative authority in Stuttgart, Germany (Regierungspräsidium Stuttgart, Abteilung 3-Landwirtschaft, Ländlicher Raum, Veterinär- und Lebensmittelwesen), has been notified of the study under file number 35-9185.82/0347.

2.1.1 Serum Samples

A serologic survey for *Mycobacterium avium* complex antibodies was performed on frozen-stored serum samples from mammalian species, collected between 2010 and 2019. A total of 381 samples from 296 individuals, representing 62 different species in 22 families in 6 orders, were examined (Table 1). The indication for examination, age of the animal, sampling date, and medical history of each individual was saved in records in the zoo database.

Table 1. Results of screening serum samples from different mammalian species using *Mycobacterium avium* complex indirect ELISA.

Order	Family	Species	Common Name	No.	Ind.	No. +	Ind. +
Diprotodontia	Macropodidae	<i>Macropus rufus</i>	Red kangaroo	3	3		
Proboscidea	Elephantidae	<i>Elephas maximus</i>	Asian elephant	5	3		
Primates	Lemuridae	<i>Varecia rubra</i>	Red ruffed lemur	1	1		
	Atelidae	<i>Ateles hybridus</i>	Brown spider monkey	16	10	2	1
		<i>Alouatta caraya</i>	Black howler	6	4	2	1
	Pitheciidae	<i>Pithecia pithecia</i>	White-faced saki	4	2		
	Cercopithecidae	<i>Trachypithecus a. auratus</i>	Eastern Javan langur	11	7	1	1
		<i>Macaca fuscata</i>	Japanese macaque	9	8		
		<i>Mandrillus leucophaeus</i>	Drill	9	3		
		<i>Theropithecus gelada</i>	Gelada baboon	33	32	1	1
	Hylobatidae	<i>Hylobates lar</i>	Lar gibbon	7	5		
	Pongidae	<i>Pongo abelii</i>	Sumatran orangutan	9	6	1	1
		<i>Gorilla g. gorilla</i>	Western lowland gorilla	17	11	2	2
		<i>Pan paniscus</i>	Bonobo	22	12	1	1
Carnivora	Procyonidae	<i>Nasua nasua</i>	South American coati	1	1		
	Ursidae	<i>Ursus arctos syriacus</i>	Syrian brown bear	4	3		
		<i>Ursus maritimus</i>	Polar bear	1	1		
		<i>Tremarctos ornatus</i>	Spectacled bear	2	2		
	Canidae	<i>Speothos venaticus</i>	Bush dog	1	1		
		<i>Chrysocyon brachyurus</i>	Maned wolf	3	3		
	Otariidae	<i>Zalophus californianus</i>	California sea lion	3	3		
	Felidae	<i>Panthera uncia</i>	Snow leopard	5	4		
		<i>Panthera leo persica</i>	Asiatic lion	1	1		
		<i>Panthera onca</i>	Jaguar	1	1		
		<i>Panthera pardus saxicolor</i>	Persian leopard	5	3		
		<i>Panthera tigris sumatrae</i>	Sumatran tiger	2	2		
		<i>Acinonyx jubatus</i>	Cheetah	1	1		
		<i>Rhinoceros unicornis</i>	Indian rhino	4	2		
Perissodactyla	Rhinocerotidae	<i>Rhinoceros unicornis</i>	Indian rhino	4	2		
	Tapiridae	<i>Tapirus indicus</i>	Malayan tapir	1	1		
	Equidae	<i>Equus asinus asinus</i>	Poitou-ass	2	1		
		<i>Equus afr. somaliensis</i>	Somali wild ass	4	3		
		<i>Equus ferus przewalskii</i>	Przewalski's horse	2	2		
		<i>Equus grevyi</i>	Grevy's zebra	8	6		
Artiodactyla	Suidae	<i>Equus hemionus onager</i>	Onager	3	2	3	2
		<i>Sus scrofa f. domestica</i>	Domestic pig	2	2		
		<i>Babirusa babirusa</i>	Buru babirusa	8	7	2	1
		<i>Pecari tajacu</i>	Collared peccary	1	1	1	1
		<i>Hippopotamus amphibius</i>	Common hippopotamus	1	1		
	Hippopotamidae	<i>Choeropsis liberiensis</i>	Pygmy hippopotamus	1	1		
		<i>Camelus bactrianus</i>	Bactrian camel	4	3		
	Camelidae	<i>Lama pacos</i>	Alpaca	16	11	1	1
		<i>Vicugna vicugna</i>	Vicuña	5	5	1	1
	Cervidae	<i>Dama mesopotamica</i>	Persian fallow deer	14	14	3 (2)	3 (2)
	Giraffidae	<i>Giraffa camelopardalis</i>	Reticulated giraffe	2	2	1	1
		<i>Okapia johnstoni</i>	Okapi	8	5		
	Bovidae	<i>Tragelaphus eurycerus</i>	Eastern bongo	5	5	1	1
		<i>Tragelaphus imberbis</i>	Lesser kudu	14	12	1	1
		<i>Bos taurus f. domestica</i>	Domestic cattle	13	9	1	1
		<i>Bubalus depressicornis</i>	Lowland anoa	2	2	1	1
		<i>Bison bison</i>	American bison	3	3		
		<i>Addax nasomaculatus</i>	Addax	1	1		
		<i>Oryx dammah</i>	Scimitar-horned oryx	4	4		
		<i>Kobus ellipsiprymnus</i>	Waterbuck	1	1		
		<i>Gazella dorcas</i>	Dorcas gazelle	7	4		
		<i>Oreamnos americanus</i>	Rocky Mountain goat	4	2		
		<i>Budorcas t. taxicolor</i>	Mishmi takin	5	3	1	1
		<i>Ovis aries f. domestica</i>	Domestic sheep	1	1		
		<i>Ammotragus lervia</i>	Barbary sheep	19	16	1	1
		<i>Capra falconeri</i>	Markhor	24	22		
		<i>Capra aegagrus</i>	Wild goat	5	5		
		<i>Capra hircus f. domestica</i>	Dwarf goat	1	1		
		<i>Capra ibex</i>	Alpine ibex	4	3		
		TOTAL		381	296	28 (2)	24 (2)

No. = number of tests; Ind. = number of individuals; No. (+) = number of positive tests; Ind. (+) = number of positive individuals.

2.1.2 Fecal and Environmental Samples

Fecal samples and environmental samples were taken from 22 artiodactyl and 18 primate species, as well as from Rock hyraxes (*Procavia capensis*) and Malayan tapirs (*Tapirus indicus*) (Table 2). For a better risk assessment of MAP presence, pooled fecal samples of approximately 10–100 g from each species were collected for a period of seven consecutive days. To prevent or minimize contamination by MAP or other mycobacteria distributed in the environment, fresh fecal samples were carefully picked from the compound floors on a daily basis. Since sample collection took place during the daily cleaning routine, no animal was subjected to any additional impairment or stress during the sample collection.

Table 2. Real-time PCR (MAC/16S rRNA, MAH/IS1245) results of collected fecal samples and environmental samples.

Family	Scientific Name	Common Name	Pop.	Fecal Samples		Environ. Samples	
				16S rRNA	16S rRNA	IS 1245	
Primates	Callimiconidae	<i>Callimico goeldii</i>	Goeldi's monkey	1.3	pos	pos	-
		<i>Leontopithecus chrysomelas</i>	Golden-headed lion tamarin	1.1	pos	pos	-
		<i>Saguinus imp. subgriseus</i>	Bearded emperor tamarin	0.2	pos	pos	-
		<i>Cebuella pygmaea</i>	Pygmy marmoset	2.2.1	pos	pos	-
	Atelidae	<i>Ateles hybridus</i>	Brown spider monkey	1.2	-	pos	-
		<i>Alouatta caraya</i>	Black howler	2.2	pos	pos	-
	Cebidae	<i>Saimiri boliviensis boliviensis</i>	Bolivian squirrel monkey	4.5	pos	pos	-
	Pitheciidae	<i>Pithecia pithecia</i>	White-faced saki	1.3	pos	pos	-
	Cercopithecidae	<i>Mandrillus leucophaeus</i>	Drill	1.1	pos	pos	-
		<i>Theropithecus gelada</i>	Gelada baboon	8.28.4	pos	pos	-
		<i>Macaca fuscata</i>	Japanese macaque	2.3	pos	pos	-
		<i>Trachypithecus a. auratus</i>	Eastern Javan langur	3.7	pos	pos	pos
	Hylobatidae	<i>Hylobates lar</i>	Lar gibbon	1.1	pos	-	-
	Lemuridae	<i>Varecia rubra</i>	Red ruffed lemur	0.1	pos	pos	-
	Lorisidae	<i>Nycticebus coucang</i>	Slow loris	0.1	pos	pos	-
	Pongidae	<i>Pan paniscus</i>	Bonobo (Group I)	2.4	pos	pos	-
		<i>Pan paniscus</i>	Bonobo (Group II)	4.6	pos	pos	pos
		<i>Gorilla gorilla gorilla</i>	Western lowland gorilla	5.6	pos	pos	-
		<i>Pongo abelii</i>	Sumatran orangutan	0.2	pos	pos	-
Artiodactyla	Bovidae	<i>Capra hircus f. domestica</i>	Dwarf goat	1.6	pos	pos	-
		<i>Capra ibex</i>	Alpine ibex	1.6	pos	-	-
		<i>Bison bison</i>	American bison	1.2	pos	pos	-
		<i>Tragelaphus eurycerus</i>	Eastern bongo	2.4.1	pos	pos	-
		<i>Gazella dorcas</i>	Dorcas gazelle	2.5	pos	pos	-
		<i>Bos taurus f. domestica</i>	Domestic cattle	0.2.2	-	-	-
		<i>Ovis aries f. domestica</i>	Domestic sheep	1.6	pos	pos	-
		<i>Tragelaphus imberbis</i>	Lesser kudu	0.9	pos	-	-
		<i>Bos taurus f. domestica</i>	Domestic cattle	0.5.1	pos	-	-
		<i>Ammotragus lervia</i>	Barbary sheep	4.8.2	pos	-	-
		<i>Capra falconeri</i>	Markhor	1.7	pos	-	-
		<i>Budorcas taxicolor taxicolor</i>	Mishmi takin	1.1	pos	-	-
		<i>Oryx dammah</i>	Scimitar-horned oryx	0.2.2	pos	-	-
		<i>Oreamnos americanus</i>	Rocky Mountain goat	0.2	pos	-	-
		<i>Capra hircus f. domestica</i>	Black Forest goat	0.2	pos	-	-
		<i>Ovis aries f. domestica</i>	Domestic sheep	1.6	pos	-	-
		<i>Bison bison bonasus</i>	European Bison	1.0	pos	pos	-
	Camelidae	<i>Lama pacos</i>	Alpaca	0.14	pos	-	-
		<i>Camelus bactrianus</i>	Bactrian camel	0.3	pos	pos	-
		<i>Vicugna vicugna</i>	Vicuña	0.1	pos	-	-
	Cervidae	<i>Dama mesopotamica</i>	Persian fallow deer	0.4	pos	-	-
	Giraffidae	<i>Giraffa cam. reticulata</i>	Reticulated giraffe	2.2	pos	pos	-
a	Procaviidae	<i>Procavia capensis</i>	Rock hyrax	0.3.5	-	-	-
b	Tapiridae	<i>Tapirus indicus</i>	Malayan tapir	2.0	pos	pos	-

a = Hyracoidea; b = Perissodactyla; Pop. = population (1.0 - male, 0.1 - female, 0.0.1 - sex unknown); pos = positive; - = negative.

To identify contaminated environments, environmental material from indoor and outdoor enclosures was collected by a one-time sampling with a pair of absorptive boot swabs (HELE GmbH, Heilsbronn, Germany). The sampling method described by Eisenberg et al. [26] for the collection of environmental samples from common locations in dairy herds for MAP detection was adjusted for collection in zoo enclosures. Sampling was conducted, especially in sectors with high animal traffic, by meandering expiration of the main paths of the animals, as well as bedding, feeding, and dunging areas. A minimum of 100 steps was walked, preferably in areas with high numbers of fecal residues and contaminations. Again, no animal was subjected to additional impairment or stress by these examinations. Both fecal and environmental samples were tested onsite in a mobile suitcase laboratory for the rapid detection of MAP in fresh samples. Subsequently, all samples were kept frozen at -20°C for up to six months until further processed in a routine diagnostic laboratory.

2.1.3 Tissue Samples

All deceased or euthanized zoo animals of interest were sampled during routine postmortem examinations at the pathology department of the Chemical and Veterinary Investigation Office in Stuttgart, Germany (CVUA-S), between 2017 and 2019. Tissue samples of the ileum, the ileocecal lymph node, and intestinal contents were collected from 15 primates, 13 artiodactyls, and 2 Rock hyraxes. All samples were stored at -20°C until further investigations.

2.2 Serological Survey

2.2.1 *Mycobacterium avium* Complex (MAC) ELISA

All serum samples were tested with a commercial indirect ELISA (ID Screen *Mycobacterium avium* Indirect Multi-species, ID.vet Innovative Diagnostics, Grabels, France) for immunoglobulin G (IgG) antibodies against *Mycobacterium avium* complex (anti-multispecies IgG-HRP conjugate-concentrated, 10 $\times$) according to the manufacturer's instructions. Each sample was tested individually. The negative and positive controls, provided by the manufacturer, were run in triplicate. Plates were analyzed using an automated ELISA plate reader (SunriseTM, Tecan Trading AG, Switzerland). Results were calculated as the mean sample-to-positive ratio (S/P ratio) = $(\text{OD}_{450} \text{ of sample} - \text{OD}_{450} \text{ of negative control}) / (\text{OD}_{450} \text{ of positive control} - \text{OD}_{450} \text{ of negative control})$. According to the manufacturer's instructions, readings equal to or below 40% of the positive control serum OD (Optical density) were considered as negative, readings equal to or greater than 50% were considered as positive, and readings between 40% and 50% were scored as doubtful. Doubtful and positive results were tested again in duplicate with the same protocol.

2.2.2 *Mycobacterium avium* Subspecies Paratuberculosis (MAP) ELISA

Positive and suspicious serum samples in the ID Screen ELISA (n = 30) were subsequently analyzed for the presence of antibodies against MAP using a commercial indirect ELISA (IDEXX Paratuberculosis Screening Ab Test, IDEXX Laboratories Inc., Westbrook, Maine, USA), following the instructions of the manufacturer. The detection of bound antibodies was based on a horseradish peroxidase (HRPO) protein-G conjugate, which reacts with antibodies of multiple animal species. Positive ELISA results were compared with the medical history of each individual, containing recorded clinical symptoms as well as antemortem diagnostics and routine measurements. If available, the cause of death and postmortem reports were also examined for possible connections.

2.3 Molecular Survey

For the detection of MAP DNA at the zoo premises, a mobile suitcase laboratory operating an isothermal amplification technique (recombinase polymerase amplification (RPA)) was used to test the fecal and environmental samples immediately after sample collection. Considering that MAP form clusters in different sample matrices [27], DNA was extracted from several portions of each pooled sample per animal species and environmental boot swab to compensate for nonhomogeneous bacterial distribution patterns. For RPA, 5 portions (~100 µg) of each fecal sample and 3 portions (~1 × 1 cm) of each boot swab were extracted using SpeedXtract (QIAgen, Hilden, Germany) and RPA, as previously described [28,29]. Thereafter, fecal and environmental samples were stored at -20 °C until shipped for laboratory screening with three real-time PCR assays targeting pan-*Mycobacterium*, MAP, MAA, and MAH.

The pan-*Mycobacterium* assay is based on the amplification of the 16S rRNA gene from *Mycobacterium* species, which amplifies the hypervariable region A [30]. For the detection of MAP DNA, a real-time PCR assay based on IS900 was used [31]. The multiplex real-time PCR assay based on the simultaneous detection of specific insertion sequences, IS901 and IS1245, was used for the detection of MAA and MAH, respectively [32]. In total, 2 portions (~50–120 µg) of each fecal sample and 2 parts (~1 × 1 cm) of each boot swab were extracted, as previously described [33,34]. DNA extracts were examined individually for IS900 detection or pooled for detection of 16S rRNA, IS901, and IS1245.

Amplification and fluorescence detection were performed on the Light Cycler 480 System using 96-well PCR plates (Roche Molecular Diagnostic, Mannheim, Germany). A total reaction volume of 20 µL per well was used, containing 10 µL of Light Cycler 480 Probes Master mix, 0.5 µL of each upstream and downstream primer (10 pmol/µL), 1 µL of the probe (10 pmol/µL) [30–32], as well as 3 µL of molecular biology water, and 5 µL of the extracted DNA template. The amplification process started with an initial preincubation step at 95 °C for 10 min, followed by 40 cycles at 95 °C for 15 s, 60 °C for 30 s, and 72 °C for 35 s, followed by a final cooling step at 40 °C for 30 s. Reference strains (MAP: ATCC 19698; MAA: DSM44156; MAH: ATCC 700898) were used as positive controls, whereas sterile distilled water was used as a negative control.

3 Results

3.1 Serological Survey

Among the 381 serum samples, 28 were positive (24 individuals) and 2 were suspicious in the MAC indirect multispecies ELISA (Table 1). Eight nonhuman primates in seven species harbored MAC antibodies, including one Sumatran orangutan (*Pongo abelii*), one bonobo (*Pan paniscus*), and two Western lowland gorillas (*Gorilla gorilla gorilla*). Antibodies could also be detected in two equids (one species), two suids (two species), two camelids (two species), five cervids (one species; 3 positive and two suspicious results), six bovids (six species), and one reticulated giraffe. Not all animals were positive in the same year, but as indicated in Figure 2, around 4–5 animals tested positive per year, starting in 2013. The screening of all positive and suspicious samples in the MAP antibody-specific ELISA revealed only one positive result in the reticulated giraffe. All other samples gave negative results.

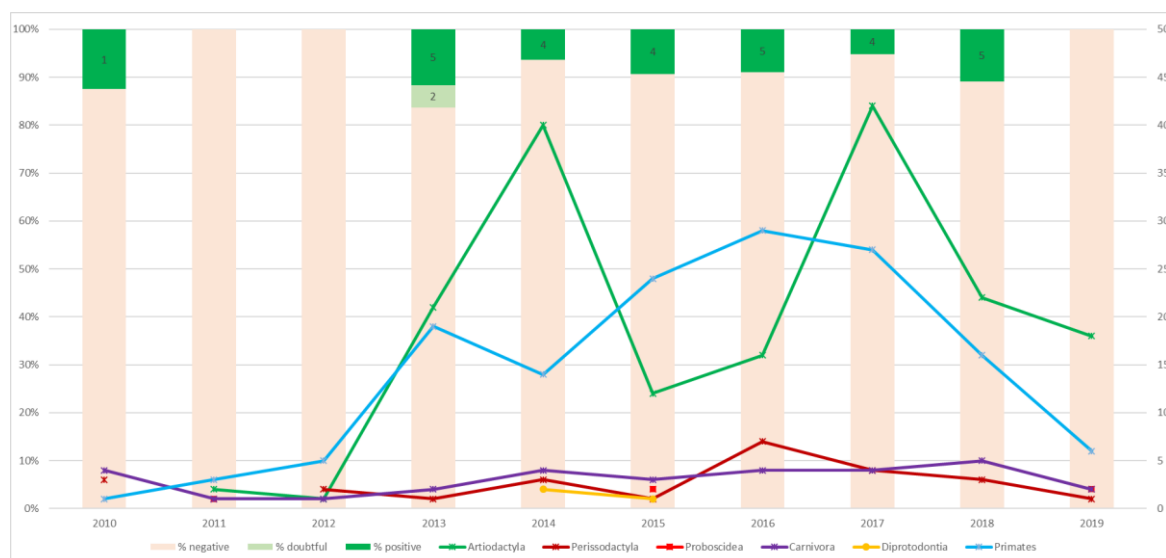


Figure 2. Results of the *Mycobacterium avium* complex antibody ELISA (column). Percentages of negative, positive, and doubtful samples per year were indicated. The colored lines indicate the number of samples tested from the different taxonomic orders. Numbers in green boxes indicate the positive or doubtful samples per year; 2010: Sumatran orangutan; 2013: alpaca, 2 Persian fallow deer, and 2 doubtful samples, namely, Eastern bongo, Mishmi takin; 2014: onager, collared peccary, lowland anoa, bonobo; 2015: western lowland gorilla, Buru babirusa, onager, black howler; 2016: brown spider monkey, western lowland gorilla, onager, Gelada baboon; 2017: domestic cattle, black howler, Barbary sheep, Persian fallow deer; 2018: Eastern Javan langur, lesser kudu, vicuna, reticulated giraffe, Buru babirusa.

3.2 Molecular Survey

All fecal ($n = 43$) and environmental ($n = 43$) samples were negative in the MAP/RPA assay directly performed in the zoological garden. Negative results were also obtained in these samples when tested with MAP/real-time PCR.

Pan-*Mycobacterium*-16S rRNA was detected in 40 of 43 fecal samples and in 27 of 43 samples from the enclosures (Table 2). All artiodactyl and primate samples were negative in the MAA-IS901–real-time PCR. Two environmental samples from the enclosures of the Eastern Javan langurs (*Trachypithecus auratus auratus*) and one of two family groups of bonobos were positive for MAH-IS1245–real-time PCR. It is worth mentioning that at the time of sampling, no clinical case suggestive for paratuberculosis or any other mycobacterial disease was evident at the zoo. Fecal consistency was representative of healthy individuals of the respective species. The population size of the animal species at the time of sampling is given in Table 2.

Samples of the ileum, the ileocecal lymph node, and intestinal contents collected during routine postmortem examinations of deceased or euthanized zoo animals originated from 15 primates, 13 artiodactyls, and 2 Rock hyraxes. Positive results were only obtained in the pan-*Mycobacterium*–16S rRNA real-time PCR (Table 3).

Table 3. MAC/16S rRNA real-time PCR results of tissue samples (ileum, ileocecal lymph node, and intestinal contents) of deceased or euthanized zoo animals.

Scientific Name	Common Name	Sex	Age (year)	Cause of Death	Ileum	ILN	Feces
<i>Leontopithecus chrysomelas</i>	Golden-headed lion tamarin	1.0	1	Deceased/Angiostrongylus			
		1.0	1	Euthanasia/Angiostrongylus	(pos)		
<i>Saguinus imperator subgriseus</i>	Bearded emperor tamarin	1.0	10	Euthanasia/Phlegmon (Thigh)			
<i>Cebuella pygmaea</i>	Pygmy marmoset	1.0	0	Deceased/Lissencephaly		pos	
		0.1	0	Deceased/Trauma			
<i>Callithrix geoffroyi</i>	Geoffroy's tufted ear marmoset	0.1	21	Deceased/Neoplasia (Uterus)			pos
<i>Ateles hybridus</i>	Brown spider monkey	1.0	1	Deceased/Trauma/Enteritis (para.)			(pos)
<i>Alouatta caraya</i>	Black howler	1.0	21	Euthanasia/Colitis, Nephritis (bact.)		(pos)	pos
		0.1	24	Deceased/Age-related/Cardiac Disease	pos		pos
<i>Theropithecus gelada</i>	Gelada baboon	1.0	1	Euthanasia/Trauma			pos
		0.1	2	Euthanasia/Trauma			pos
		0.1	22	Deceased/Cardiomyopathy/Aneurysm			pos
<i>Trachypithecus auratus auratus</i>	Eastern Javan langur	0.1	21	Euthanasia/Abscess (Lung)/Age-related	pos	(pos)	pos
<i>Hylobates lar</i>	Lar gibbon	0.1	34	Deceased/Pleuropneumonia, Septicaemia (bact.)			pos
		1.0	43	Euthanasia/Septicaemia (bact.)			pos
		0.1	7	Euthanasia/Trauma/Cachexia			
<i>Ammotragus lervia</i>	Barbary sheep	1.0	0	Deceased/Premature Birth			
		0.1	4	Culling	(pos)		
		1.0	9	Culling			pos
		0.1	7	Culling			pos
<i>Ovis aries f. domestica</i>	Domestic sheep	0.1	8	Culling	pos		
		0.1	4	Culling			(pos)
		0.1	3	Culling			pos
		0.1	6	Culling	pos		
<i>Oryx dammah</i>	Scimitar-horned oryx	1.0	0	Euthanasia/Enteritis, Meningoencephalitis (bact.)			pos
<i>Budorcas taxicolor taxicolor</i>	Mishmi takin	1.0	21	Euthanasia/Age-related/Arthrosis	pos		pos
<i>Oreamnos americanus</i>	Rocky Mountain goat	0.1	14	Deceased/Septicaemia (bact.)		pos	pos
<i>Dama mesopotamica</i>	Persian fallow deer	0.1	11	Deceased/Age-related/Abomasitis (bact.)			pos
		0.1	7	Deceased/Cachexia/Fatty Liver			pos
<i>Procavia capensis</i>	Rock hyrax	0.1	8	Deceased/Cachexia/Acute Circulatory Collapse	(pos)		

Sex = 1.0 - male and 0.1 - female; age (y) = age in years at time of death; cause of death according to the necropsy report; ILC = Ileocecal lymph node; pos = positive; (pos) = suspicious.

4 Discussion

Several publications and review articles have addressed the importance of prevention and control of paratuberculosis in zoological gardens, where the disease can threaten the animal collection of exotic and often endangered species [13–16,20,35,36]. Nevertheless, systematic surveys of MAP infection are scarce and focus mostly on various ruminant species. The scope of the present study was to investigate the presence of MAC and MAP at the Wilhelma Zoological and Botanical Gardens, Stuttgart, Germany, applying serological and molecular examination techniques.

Frozen-stored serum samples from various mammalian species were screened with an indirect multispecies ELISA for the presence of antibodies against MAC. The retrospective serologic survey revealed several positive-tested individuals over the years. Our results suggest seroprevalence of infection in various mammals within the animal collection, acknowledging that samples for examination were selected at random. The same ELISA has been used before in a retrospective serologic survey by Matos et al. in free-ranging wild mammals in Portugal [37]. They showed evidence for MAC antibodies in Canidae, Mustelidae, and Suidae families, which confirms that MAC can infect animals of multiple taxonomic groups. Based on a calculated sensitivity between 34.5% and 44% and a specificity of 100%, an actual higher prevalence was assumed [37]. This could also apply to this study, acknowledging that the test has not yet been established or reported in a zoological collection. In our study, positive results were obtained from nonhuman primates, Equidae, Suidae, Camelidae, Cervidae, and Bovidae. However, in contrast to the study from Portugal, no positive results were found in carnivores (Canidae, Felidae, Otariidae, Procyonidae, and Ursidae), which might be explained by the lower sample number of this study. The comparison with the medical histories and postmortem reports of MAC antibody-positive animals (available for 13 of 26 individuals) revealed a possible explanation for the positive result in two cases: one female onager, euthanized because of laminitis and tendon rupture, showed a lump in the abdominal wall with questionable Ziehl–Neelson staining. However, MAA, MAH, and *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTC) real-time PCR, as well as MTC culture, were negative in investigations at CVUA-S. Therefore, atypical mycobacteria were considered likely. Clinical symptoms matched in an aged eastern bongo, euthanized because of chronic diarrhea and severe emaciation. Postmortem examination revealed catarrhal enteritis, but MAP could not be detected by real-time PCR. Interestingly, *Mycobacterium avium* DNA was detected by real-time PCR in a fecal sample of another bongo a few years earlier, but again, MAP was excluded by real-time PCR and culture. In all other ELISA-positive cases, the medical history could not be related to the positive test results.

MAC antibody-positive samples were subsequently tested in a MAP-specific ELISA. This test has previously been applied for antibody detection in frozen-stored serum samples of a zoological institution, where positive results were detected in several exotic ruminants and Malayan tapirs [13]. The analysis of all positive and suspicious samples for MAC antibodies in this study revealed only one positive result in a serum sample from a female reticulated giraffe, drawn half a year prior to its death. An additional serum sample from the day before death also tested positive for MAP.

The animal died of a scirrhous hepatocellular adenocarcinoma and a scirrhous bile adenocarcinoma, with metastases in the lungs. Indications for MAP infection or clinical paratuberculosis could not be demonstrated during postmortem and follow-up examination. To our knowledge, the presence of MAP in giraffes has only been reported in two studies. Stevenson et al. [38] mentioned a positive result from a captive giraffe, which was analyzed by restriction fragment length polymorphism (RFLP). Ball et al. [39] reported the intensive screening of a reticulated giraffe that was kept in isolation after a single positive fecal culture.

No MAP-positive results were detected by both RPA and real-time PCR. Since MAP is shed in clusters and only a low DNA copy number of MAP was expected in tested samples, a total of five portions of each pooled fecal sample and three parts of each boot swab were used for molecular assays. Accordingly, based on a sample-collecting strategy and the findings, we conclude that during the time of examination, the presence of a high-shedding animal or a MAP-infected population in the collection must be considered unlikely. Overall, these results are very valuable for the health monitoring and management of the zoological collection, since this is the first extensive MAP screening at this institution. Nevertheless, negative test results do not exclude the presence of MAP, and positive results must be interpreted with caution. Culture- or PCR-positive fecal samples provide very strong evidence of exposure but do not confirm infection as a fecal “pass-through” phenomenon, and therefore, a passive shedding without infection may occur subsequent to oral ingestion of MAP [40]. Additionally, intermittent excretion of the pathogen and shedding of MAP in clusters and nests may lead to negative results in shedding-free intervals [31]. The prolonged subclinical incubation period makes continuous and repeated disease surveillance advisable. The detection of low-level shedders must include the collection and evaluation of different sample matrices at different times and should always include the medical history of individuals and herds. Positive diagnostic results in several different samples increase the confidence about infection, which is important for disease management.

Likewise, a MAP-contaminated environment may be considered unlikely in the present zoo due to the results of intensive sampling of the surroundings of the animals. The pathogen can persist and survive in the environment for more than one year [41]. Negative results can be explained by the regular cleaning of indoor and outdoor enclosures and the daily removal of feces, leading to a pathogen-poor environment and reduced infection pressure at the zoo.

The setup of a mobile suitcase laboratory allows the rapid detection of MAP shedders directly onsite to make a highly specific and sensitive diagnosis [29]. The quick and uncomplicated setup can be easily integrated into existing monitoring protocols and may also provide diagnostic options for other important pathogens in zoological institutions. RPA has been adopted for other emerging and neglected infectious diseases [42–46]. Negative RPA results in our study were confirmed by negative results in real-time IS900 PCR. Bacteriologic cultural investigations were not attempted in this screening study due to long cultivation times. However, cultivation is advisable in justified suspected cases in individual animals.

Positive results in the pan-mycobacterial 16S rRNA real-time PCR assay could be explained with the presence of environmental and atypical mycobacterial species. Nontuberculous mycobacteria (NTM) have a ubiquitous distribution and can be found in the environment of humans [47], as well as in the environment of animals in zoological gardens. In a recent study, pan-mycobacterial 16S rRNA was detected in 26.8% of rectal swabs and 2.5% of oral swabs from mammals (n = 860) and birds (n = 230) kept in six zoological gardens in Germany [48]. The prevalence in this study for the Wilhelma Zoological and Botanical Gardens was 25% for rectal swabs and 2.95% for oral swabs. Clinical symptoms were not observed in the tested animals. The higher number of positive results in our study could be explained by the applied sampling method, where feces were repeatedly collected noninvasively from the compounds for seven consecutive days. Mycobacteria of MTC were considered unlikely as the zoo has been officially free from tuberculosis for more than 25 years, and animals are screened on a regular basis in order to obtain tuberculosis-free status and to ensure a regulated transport of individual animals (Council Directive 92/65/EEC (Balai Directive)).

The multiplex real-time PCR for the simultaneous detection of MAA and MAH was positive for a MAH IS1245 insertion sequence in environmental samples of the enclosures of Eastern Javan langurs and one family group of bonobos. The detection of MAH has also been described in other species: cervids [49,50], cattle [51], horses [52], dogs [53–56], one cat [57], one blue-fronted Amazon parrot (*Amazona aestiva*) [58], and in naturally infected captive water birds [59]. In a zoological garden, MAH infection was diagnosed in bongo antelopes (*Tragelaphus eurycerus*). The animals suffered from emaciation, and postmortem examination revealed acid-fast bacteria and nodular lesions in the lungs of the examined animals. Environmental examination by bacteriologic culture revealed MAH in mulch bark, peat, and soil [60]. *Mycobacterium avium* is commonly isolated from captive elephants and is not generally associated with disease, although a single fatal case of mycobacterial lung infection due to MAH has been reported in an African elephant (*Loxodonta africana*) [61]. A coinfection of MAH and MAP has been reported by Glawischnig et al. [62] in free-ranging red deer (*Cervus elaphus hippelaphus*), with signs of diarrhea, severe weight loss, and emaciation. Postmortem examination revealed lymphadenitis associated with grossly enlarged mesenteric lymph nodes, as well as multiple caseous or purulent nodular lesions in the thickened wall of the intestines. Although no clinical symptoms have been reported within nonhuman primates, the potential pathogenicity of MAH for these animals should be taken into account and needs to be ascertained. Infections and resulting disease caused by MTC and other mycobacteria have been reported for many primate species in zoological gardens [63].

MAA was not detected in our investigations, which can be explained by our focus on the selection of mammalian species. In addition to other mycobacteria, MAA is primarily a causative agent of avian mycobacteriosis [7], although infections in mammals have been described in zoological gardens (Bengal tiger (*Panthera tigris*) [64]; Asian elephant (*Elephas maximus*) [65]).

The characteristics of MAC and MAP infections, as well as the possibilities of their diagnosis and management, depend on the conditions and structure of the affected zoological institutions. The results of this study are, therefore, not representative of zoos in general. A number of tests are available for the surveillance and detection of zoo animals with paratuberculosis [11], but data on specificity and sensitivity of the applied tests are missing or incomplete when screening exotic species. However, the methods applied here could provide a feasible opportunity to investigate the occurrence of infections in the susceptible animal population, especially in zoological institutions, where a higher prevalence is expected.

5 Conclusions

In conclusion, the present study reports the extensive surveillance for MAC and MAP exposure and infection in the animal collection of the Wilhelma Zoological and Botanical Gardens, Stuttgart, Germany.

Based on our results, further studies on the occurrence and epidemiology of MAP are required to prevent the spread and transmission in and between zoological gardens. The inclusion of other mycobacteria of MAC in these studies is an important component for species differentiation and a better understanding of their importance to captive wildlife. Further investigations should consider the use and implementation of point-of-need diagnostic systems for the rapid onsite detection of MAP and other pathogens in disease prevention and control measures.

Author Contributions: Conceptualization, A.A.E.W., C.-P.C., T.K.-W., and R.G.; methodology, A.A.E.W., C.-P.C., and R.G.; validation, A.A.E.W. and S.H.; formal analysis, M.R. and S.H.; investigation, M.R., S.B.-F., and S.H.; resources, A.A.E.W. and C.-P.C.; data curation, A.A.E.W. and M.R.; writing—original draft preparation, M.R.; writing—review and editing, A.A.E.W., S.H., T.K.-W., and R.G.; visualization, M.R.; supervision, A.A.E.W. and R.G.; project administration, A.A.E.W. and C.-P.C.; funding acquisition, C.-P.C. and T.K.-W. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: The position of M.R. was funded by the Grimminger Stiftung für Zoonoseforschung (GSZ). The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript, or in the decision to publish the results.

Acknowledgments: We are grateful to the Grimminger Stiftung für Zoonoseforschung (GSZ) for granting a scholarship to M.R. We would like to thank the Chemical and Veterinary Investigation Office in Stuttgart (CVUA-S) for performing the postmortem examinations and the employees of the Wilhelma Zoological and Botanical Gardens, in particular Martina Balz, for their support during sample collection. We acknowledge the support of the Open Access Publication Funds of the University of Goettingen.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Thorel, M.F.; Krichevsky, M.; Lévy-Frébault, V.V. Numerical taxonomy of mycobactin-dependent mycobacteria, emended description of *Mycobacterium avium*, and description of *Mycobacterium avium* subsp. *avium* subsp. nov., *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* subsp. nov., and *Mycobacterium avium* subsp. *silvaticum* subsp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **1990**, *40*, 254–260, doi:10.1099/00207713-40-3-254.
2. Mijs, W.; de Haas, P.; Rossau, R.; Van Der Laan, T.; Rigouts, L.; Portaels, F.; van Soolingen, D. Molecular evidence to support a proposal to reserve the designation *Mycobacterium avium* subsp. *avium* for bird-type isolates and '*M. avium* subsp. *hominissuis*' for the human/porcine type of *M. avium*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **2002**, *52*, 1505–1518, doi:10.1099/ijs.0.02037-0.
3. Turenne, C.Y.; Alexander, D.C. *Mycobacterium avium* complex. In *Paratuberculosis; Organism, Disease, Control*; Behr, M.A., Collins, D.M., Eds.; CAB International: Wallingford, UK, 2010; pp. 60–72.
4. Inderlied, C.B.; Kemper, C.A.; Bermudez, L.E. The *Mycobacterium avium* complex. *Clin. Microbiol. Rev.* **1993**, *6*, 266–310.
5. Lamberski, N. Nontuberculous mycobacteria: Potential for zoonosis. In *Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine: Current Therapy 4*; Fowler, M.E., Miller, R.E., Eds.; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 1999; pp. 146–150.
6. Isaza, R. Tuberculosis in all taxa. In *Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine: Current Therapy 5*; Fowler, M.E., Miller, R.E., Eds.; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2003; pp. 689–696.
7. Riggs, G. Avian mycobacterial disease. In *Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine 7*; Fowler, M.E., Miller, R.E., Eds.; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2012; pp. 266–274.
8. Harris, N.B.; Barletta, R.G. *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in veterinary medicine. *Clin. Microbiol. Rev.* **2001**, *14*, 489–512.
9. Whitlock, R.H.; Buergelt, C. Preclinical and clinical manifestations of paratuberculosis (including pathology). *Vet. Clin. North. Am. Food Anim. Pract.* **1996**, *12*, 345–356, doi:10.1016/s0749-0720(15)30410-2.
10. Manning, E.J.; Sleeman, J.M. Johne's disease and free-ranging wildlife. In *Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine: Current Therapy*; Fowler, M.E., Miller, R.E., Eds.; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2012; Volume 7, pp. 628–635.

11. Manning, E.J.; Collins, M.T. Paratuberculosis in zoo animals. In *Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine: Current Therapy 4*; Fowler, M.E., Miller, R.E., Eds.; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 1999; pp. 612–616.
12. Hutchings, M.R.; Stevenson, K.; Greig, A.; Davidson, R.S.; Marion, G.; Judge, J. Infection of non-ruminant wildlife by *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. In *Paratuberculosis; Organism, Disease, Control*; Behr, M.A., Collins, D.M., Eds.; CAB International: Wallingford, UK, 2010; pp. 188–200.
13. Vansnick, E.; Vercammen, F.; Bauwens, L.; D'Haese, E.; Nelis, H.; Geysen, D. A survey for *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in the Royal Zoological Society of Antwerp. *Vet. J.* **2005**, *170*, 249–256, doi:10.1016/j.tvjl.2004.07.006.
14. Naylor, A.D.; Richardson, D.; Sellar, M.; Harley, J.; Philbey, A.W.; Girling, S.J. Clinical Signs, antemortem diagnostics, and pathological findings associated with *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* infection in Mishmi Takin (*Budorcas taxicolor taxicolor*). *J. Zoo Wildl. Med.* **2018**, *49*, 412–419, doi:10.1638/2017-0215.1.
15. Erume, J.; Spargser, J.; Rosengarten, R. Rapid detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* from cattle and zoo animals by nested PCR. *Afr. Health Sci.* **2001**, *1*, 83–89.
16. Witte, C.L.; Hungerford, L.L.; Rideout, B.A. Association between *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infection among offspring and their dams in nondomestic ruminant species housed in a zoo. *J. Vet. Diagn. Invest.* **2009**, *21*, 40–47, doi:10.1177/104063870902100106.
17. Burgess, T.L.; Witte, C.L.; Rideout, B.A. Early-life exposures and Johne's disease risk in zoo ruminants. *J. Vet. Diagn. Invest.* **2018**, *30*, 78–85, doi:10.1177/1040638717735350.
18. Probst, C.; Speck, S.; Hofer, H. Serosurvey of zoo ungulates in central Europe. *Int. Zoo Yearb.* **2011**, *45*, 168–182.
19. Burton, M.S.; Olsen, J.H.; Ball, R.L.; Dumonceaux, G.A. *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infection in an addax (*Addax nasomaculatus*). *J. Zoo Wildl. Med.* **2001**, *32*, 242–244, doi:10.1638/1042-7260(2001)032[0242:MASPII]2.0.CO;2.
20. Münster, P.; Fechner, K.; Volkel, I.; von Buchholz, A.; Czerny, C.P. Distribution of *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* in a German zoological garden determined by IS900 semi-nested and quantitative real-time PCR. *Vet. Microbiol.* **2013**, *163*, 116–123, doi:10.1016/j.vetmic.2012.12.009.

21. Fechner, K.; Matz-Rensing, K.; Lampe, K.; Kaup, F.J.; Czerny, C.P.; Schafer, J. Detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in non-human primates. *J. Med. Primatol.* **2017**, *46*, 211–217, doi:10.1111/jmp.12270.
22. Fechner, K.; Schafer, J.; Munster, P.; Ternes, K.; Doring, S.; Volkel, I.; Kaup, F.J.; Czerny, C.P. Detection of *Mycobacterium avium* Subspecies *paratuberculosis* in Rock Hyraxes (*Procavia capensis*) Imported from South Africa. *J. Zoo Wildl. Med.* **2017**, *48*, 1086–1094, doi:10.1638/1042-7260-48.4.1086.
23. Zwick, L.S.; Walsh, T.F.; Barbiers, R.; Collins, M.T.; Kinsel, M.J.; Murnane, R.D. Paratuberculosis in a mandrill (*Papio sphinx*). *J. Vet. Diagn. Invest.* **2002**, *14*, 326–328, doi:10.1177/104063870201400409.
24. Bryant, B.; Blyde, D.; Eamens, G.; Whittington, R. *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* cultured from the feces of a Southern black rhinoceros (*Diceros bicornis minor*) with diarrhea and weight loss. *J. Zoo Wildl. Med.* **2012**, *43*, 391–393, doi:10.1638/2010-0161.1.
25. Anonymous. In Proceedings of the Workshop on Diagnosis, Prevention, and Control of Johne's Disease in Non-Domestic Hoofstock. White Oak Conservation Center: Yulee, FL, USA, 26–28 June **1998**.
26. Eisenberg, T.; Wolter, W.; Lenz, M.; Schlez, K.; Zschöck, M. Boot swabs to collect environmental samples from common locations in dairy herds for *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* (MAP) detection. *J. Dairy Res.* **2013**, *80*, 485–489.
27. Chiodini, R.J.; Van Kruiningen, H.J.; Merkal, R.S. Ruminant paratuberculosis (Johne's disease): The current status and future prospects. *Cornell Vet.* **1984**, *74*, 218–262.
28. Hansen, S.; Roller, M.; Alslim, L.; Böhlken-Fascher, S.; Fechner, K.; Czerny, C.P.; Abd El Wahed, A. Development of rapid extraction method of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* dna from bovine stool samples. *Diagnostics* **2019**, *9*, 36.
29. Hansen, S.; Schafer, J.; Fechner, K.; Czerny, C.P.; Abd El Wahed, A. Development of a recombinase polymerase amplification assay for rapid detection of the *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. *PLoS ONE* **2016**, *11*, e0168733, doi:10.1371/journal.pone.0168733.
30. Rocchetti, T.T.; Silbert, S.; Gostnell, A.; Kubasek, C.; Widen, R. Validation of a multiplex real-time PCR assay for detection of *Mycobacterium* spp., *Mycobacterium tuberculosis* complex, and *Mycobacterium avium* complex directly from clinical samples by use of the BD max open system. *J. Clin. Microbiol.* **2016**, *54*, 1644–1647.

31. Fechner, K.; Schafer, J.; Wiegel, C.; Ludwig, J.; Munster, P.; Sharifi, A.R.; Wemheuer, W.; Czerny, C.P. Distribution of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in a Subclinical Naturally Infected German Fleckvieh Bull. *Transbound. Emerg. Dis.* **2017**, *64*, 916–928, doi:10.1111/tbed.12459.
32. Slana, I.; Kaevska, M.; Kralik, P.; Horvathova, A.; Pavlik, I. Distribution of *Mycobacterium avium* subsp. *avium* and *M. a. hominissuis* in artificially infected pigs studied by culture and IS901 and IS1245 quantitative real time PCR. *Vet. Microbiol.* **2010**, *144*, 437–443.
33. Münster, P.; Völkel, I.; Wemheuer, W.; Petschenka, J.; Wemheuer, W.; Steinbrunn, C.; Campe, A.; Schulz-Schaeffer, W.J.; Kreienbrock, L.; Czerny, C.P. Detection of *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* in ileocaecal lymph nodes collected from elderly slaughter cows using a semi-nested IS900 polymerase chain reaction. *Vet. Microbiol.* **2011**, *154*, 197–201.
34. Münster, P.; Völkel, I.; Wemheuer, W.; Schwarz, D.; Döring, S.; Czerny, C.P. A longitudinal study to characterize the distribution patterns of *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* in Semen, Blood and Faeces of a Naturally Infected Bull by IS 900 Semi-Nested and Quantitative Real-Time PCR. *Transbound. Emerg. Dis.* **2013**, *60*, 175–187.
35. Collins, M.T.; Oosterhuis, J.E. Diagnosis and control of paratuberculosis in exotic hoofed stock. *Proc. Am. Assoc. Zoo Vet.* **1993**, 386–387.
36. Münster, P.; Völkel, I.; von Buchholz, A.; Czerny, C.P. Detection of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* by is 900-based PCR assays from an alpaca (*Vicugna pacos*) kept in a German Zoological Garden. *J. Zoo Wildl. Med.* **2013**, *44*, 176–180.
37. Matos, A.C.; Figueira, L.; Matos, M.; Pinto, M.L.; Coelho, A.C. Seroprevalence of *Mycobacterium avium* complex in wild mammals in the Iberian Peninsula. *J. Hell. Vet. Med. Soc.* **2015**, *66*, 177–184.
38. Stevenson, K.; Alvarez, J.; Bakker, D.; Biet, F.M.; de Juan, L.; Denham, S.; Dimareli, Z.; Dohmann, K.; Gerlach, G.F.; Heron, I. Occurrence of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* across host species and European countries with evidence for transmission between wildlife and domestic ruminants. *BMC Microbiol.* **2009**, *9*, 212, doi:10.1186/1471-2180-9-212.
39. Ball, R.L.; Kearney, C.; Burton, M.S.; Dumoneux, G.; Olsen, J.H. Morbidity and mortality related to hypoglycemia and chronic energy malnutrition in captive giraffe. *Proc. Am. Assoc. Zoo Vet.* **2002**, 181–185.
40. Whittington, R.J.; Begg, D.J.; de Silva, K.; Purdie, A.C.; Dhand, N.K.; Plain, K.M. Case definition terminology for paratuberculosis (Johne's disease). *BMC Vet. Res.* **2017**, *13*, 328.

41. Whittington, R.J.; Marsh, I.B.; Reddacliff, L.A. Survival of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in dam water and sediment. *Appl. Environ. Microbiol.* **2005**, *71*, 5304–5308.
42. Mondal, D.; Ghosh, P.; Khan, M.A.A.; Hossain, F.; Böhlken-Fascher, S.; Matlashewski, G.; Kroeger, A.; Olliaro, P.; El Wahed, A.A. Mobile suitcase laboratory for rapid detection of *Leishmania donovani* using recombinase polymerase amplification assay. *Parasit Vectors* **2016**, *9*, 281.
43. El Wahed, A.A.; Weidmann, M.; Hufert, F.T. Diagnostics-in-a-Suitcase: Development of a portable and rapid assay for the detection of the emerging avian influenza A (H7N9) virus. *J. Clin. Virol.* **2015**, *69*, 16–21.
44. El Wahed, A.A.; Patel, P.; Faye, O.; Thaloengsok, S.; Heidenreich, D.; Matangkasombut, P.; Manopwisedjaroen, K.; Sakuntabhai, A.; Sall, A.A.; Hufert, F.T. Recombinase polymerase amplification assay for rapid diagnostics of dengue infection. *PLoS ONE* **2015**, *10*, e0129682.
45. El Wahed, A.A.; El-Deeb, A.; El-Tholoth, M.; El Kader, H.A.; Ahmed, A.; Hassan, S.; Hoffmann, B.; Haas, B.; Shalaby, M.A.; Hufert, F.T. A portable reverse transcription recombinase polymerase amplification assay for rapid detection of foot-and-mouth disease virus. *PLoS ONE* **2013**, *8*, e71642.
46. Shalaby, M.A.; El-Deeb, A.; El-Tholoth, M.; Hoffmann, D.; Czerny, C.-P.; Hufert, F.T.; Weidmann, M.; El Wahed, A.A. Recombinase polymerase amplification assay for rapid detection of lumpy skin disease virus. *BMC Vet. Res.* **2016**, *12*, 244.
47. Falkinham, J.O. Surrounded by mycobacteria: Nontuberculous mycobacteria in the human environment. *J. Appl. Microbiol.* **2009**, *107*, 356–367.
48. Salchow, A. Untersuchung Zum Vorkommen Und zur Bedeutung Ausgewählter Mykobakterien bei Zootieren. Ph.D. Thesis, Freie Universität Berlin, Berlin, Germany, 23 April 2018.
49. Moser, I.; Schettler, E.; Hotzel, H.; Herzog, S.; Frölich, K. Mycobacterial infections in free-living cervids in Germany (2002–2006). *J. Wildl. D* **2011**, *47*, 999–1004.
50. Moravkova, M.; Trcka, I.; Lamka, J.; Pavlik, I. A mixed infection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* and *M. a. hominissuis* in one red deer (*Cervus elaphus*) studied by IS900 BstEII and IS1245 PvuII RFLP analyses: A case report. *Vet. Med.* **2008**, *53*, 445–451.
51. Möbius, P.; Lentzsch, P.; Moser, I.; Naumann, L.; Martin, G.; Köhler, H. Comparative macrorestriction and RFLP analysis of *Mycobacterium avium* subsp. *avium* and *Mycobacterium avium* subsp. *hominissuis* isolates from man, pig, and cattle. *Vet. Microbiol.* **2006**, *117*, 284–291.

52. Kriz, P.; Jahn, P.; Bezdekova, B.; Blahutkova, M.; Mrlik, V.; Slana, I.; Pavlik, I. *Mycobacterium avium* subsp. *hominissuis* infection in horses. *Emerg. Infect. Dis.* **2010**, *16*, 1328–1329.
53. Haist, V.; Seehusen, F.; Moser, I.; Hotzel, H.; Deschl, U.; Baumgärtner, W.; Wohlsein, P. *Mycobacterium avium* subsp. *hominissuis* infection in 2 pet dogs, Germany. *Emerg. Infect. Dis.* **2008**, *14*, 988–989.
54. Campora, L.; Corazza, M.; Zullino, C.; Ebani, V.V.; Abramo, F. *Mycobacterium avium* subspecies *hominissuis* disseminated infection in a Basset Hound dog. *J. Vet. Diagn. Invest.* **2011**, *23*, 1083–1087.
55. Kim, M.-C.; Kim, J.; Kang, W.; Jang, Y.B.; Kim, Y.-H. Systemic infection of *Mycobacterium avium* subspecies *hominissuis* and fungus in a pet dog. *J. Vet. Med. Sci.* **2016**, *78*, 157–160.
56. Hobi, S.; Bettenay, S.; Majzoub, M.; Mueller, R.; Moser, I. *Mycobacterium avium* subspecies *hominissuis* infection in a dog from Germany with multifocal alopecia, exfoliative dermatitis, hypercalcaemia and subsequent sebaceous atrophy. *Vet. Rec. Case Rep.* **2015**, *3*, e000168.
57. Klang, A.; Staffler, C.; Mascherbauer, C.; Spargser, J.; Rütgen, B.C.; Hinney, B.; Luckschander-Zeller, N.; Kuenzel, F. *Mycobacterium avium* subspecies *hominissuis* infection in a domestic European shorthair cat. *Wien. Tierarztl. Monatsschr.* **2014**, *101*, 74–78.
58. Shitaye, E.J.; Grymova, V.; Grym, M.; Halouzka, R.; Horvathova, A.; Moravkova, M.; Beran, V.; Svobodova, J.; Dvorska-Bartosova, L.; Pavlik, I. *Mycobacterium avium* subsp. *hominissuis* infection in a pet parrot. *Emerg. Infect. Dis.* **2009**, *15*, 617–619.
59. Dvorska, L.; Matlova, L.; Ayele, W.Y.; Fischer, O.A.; Amemori, T.; Weston, R.T.; Alvarez, J.; Beran, V.; Moravkova, M.; Pavlik, I. Avian tuberculosis in naturally infected captive water birds of the Ardeideae and Threskiornithidae families studied by serotyping, IS901 RFLP typing, and virulence for poultry. *Vet. Microbiol.* **2007**, *119*, 366–374.
60. Moravkova, M.; Mrlik, V.; Parmova, I.; Kriz, P.; Pavlik, I. High incidence of *Mycobacterium avium* subspecies *hominissuis* infection in a zoo population of bongo antelopes (*Tragelaphus eurycerus*). *J. Vet. Diagn. Invest.* **2013**, *25*, 531–534.
61. Wenker, C.; Wyss, F.; Hoby, S.; Ghielmetti, G.; Friedel, U.; Gurtner, C.; Posthaus, H. Non-tuberculous mycobacterial lung infection in an African elephant (*Loxodonta africana*) and a greater one-horned rhinoceros (*Rhinoceros unicornis*) caused by *Mycobacterium avium* ssp. *hominissuis* and *Mycobacterium nebraskense* and the reaction to ante- and postmortem tests. *Proc. Europ. Assoc. Zoo Vet.* **2018**, 288–290.

62. Glawischnig, W.; Steineck, T.; Spargser, J. Infections caused by *Mycobacterium avium* subspecies *avium*, *hominissuis*, and *paratuberculosis* in free-ranging red deer (*Cervus elaphus hippelaphus*) in Austria, 2001–2004. *J. Wildl. D* **2006**, *42*, 724–731.
63. Montali, R.J.; Mikota, S.K.; Cheng, L.I. *Mycobacterium tuberculosis* in zoo and wildlife species. *Rev. Sci. Tech.* **2001**, *20*, 291–303.
64. Cho, H.-S.; Kim, Y.-H.; Park, N.-Y. Disseminated mycobacteriosis due to *Mycobacterium avium* in captive Bengal tiger (*Panthera tigris*). *J. Vet. Diagn. Invest.* **2006**, *18*, 312–314.
65. Yong, H.; Choi, G.-E.; Lee, B.S.; Whang, J.; Shin, S.J. Disseminated infection due to *Mycobacterium avium* subsp. *avium* in an Asian elephant (*Elephas maximus*). *J. Zoo Wildl. Med.* **2011**, *42*, 743–746.



© 2020 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

6. Diskussion

Mykobakterielle Infektionen und Erkrankungen bei Zootieren haben in der Vergangenheit zu großen Verlusten innerhalb der Zootierbestände geführt und werden bis heute vergleichsweise häufig diagnostiziert (MONTALI et al. 2001). Von besonderem Interesse sind dabei vor allem Mykobakterien des *Mycobacterium tuberculosis* Komplex (MTBC), auf die zum einen wegen ihres zoonotischen Potenzials und zum anderen aufgrund gesetzlicher Vorgaben im Rahmen von Routineuntersuchungen beziehungsweise Transportvorgaben untersucht werden muss (MILLER u. LYASHCHENKO 2015). Mykobakterien des *Mycobacterium avium* Komplex (MAC) spielen angesichts ihrer Bedeutung als Erreger von aviären Mykobakteriosen (MAA) ebenfalls eine wichtige Rolle in der tiermedizinischen Betreuung zoologischer Gärten (RIGGS 2012).

Eine der potenziell gefährlichsten Erkrankungen für Huftierbestände in zoologischen Gärten ist die Paratuberkulose, eine durch *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) hervorgerufene, chronisch-progressive, nicht therapierbare Darmerkrankung, welche hauptsächlich bei domestizierten und nicht-domestizierten Wiederkäuern auftritt. Infektionen sind jedoch auch bei verschiedenen monogastrischen Tierarten beschrieben. Asymptomatisch infizierte Ausscheider können zu einer unbemerkten Ausbreitung des Erregers im Tierbestand führen. Es ist daher von enormer Bedeutung praktikable Präventions- und Managementmaßnahmen zu etablieren, um eine Einschleppung einer Infektion zu verhindern oder die Ausbreitung einer existierenden Infektion zu limitieren.

In der vorliegenden Arbeit wurde der aktuelle Wissenstand bezüglich MAP Exposition und Infektion sowie dem Auftreten und der Epidemiologie der Paratuberkulose bei Zootieren betrachtet. Weiterhin werden molekularbiologische und serologische Untersuchungen mit besonderem Fokus auf MAP im Zoologisch-Botanischen Garten Wilhelma vorgestellt.

6.1. Empfänglichkeit und Epidemiologie

In zoologischen Gärten gehaltene Tiere bieten eine gute Möglichkeit, die Virulenz und Epidemiologie von MAP sowie die Empfänglichkeit verschiedener Tierarten für Paratuberkulose besser untersuchen und bewerten zu können. Veröffentlichungen und Übersichtsartikel zur Verbreitung, Diagnose, Prävention und Kontrolle der Paratuberkulose in zoologischen Gärten beschränken sich weitgehend auf Untersuchungen bei verschiedenen Arten von Wiederkäuern. Es ist bisher wenig darüber bekannt, wie der Erreger in zoologischen Gärten verbreitet ist, wie die Infektionswege verlaufen oder inwieweit die verschiedenen gehaltenen Tierarten ein klinisches Erscheinungsbild der Paratuberkulose ausbilden. Ob Zootiere ein Reservoir für MAP darstellen und zoologische Gärten somit eine potenzielle Infektionsquelle für Nutz- und Haustierhaltungen bilden, ist besonders im Hinblick auf das Risiko für nationale Eradikations- beziehungsweise Verminderungsprogramme von Bedeutung.

Die hier durchgeführte Literaturübersicht zum Vorkommen und der Bedeutung von MAP Infektionen und den resultierenden Erkrankungen weist auf die enorme Bedeutung dieser schwerwiegenden Infektionskrankheit hin. Die veröffentlichten Fallberichte zeigen auf, dass MAP eine große Bedrohung für die wertvollen Tierbestände in zoologischen Gärten darstellen kann, insbesondere wenn eine hohe Anzahl an nicht erkannten beziehungsweise nicht berichteten Fällen angenommen wird. Wenn MAP nachgewiesen wurde, so finden sich, wie im Review-Artikel aufgezeigt, mehrfach Berichte über eine Verbreitung der Infektion auf mehrere Tiergruppen und Hinweise auf eine lange Persistenz des Erregers im Tierbestand (BURTON et al. 2001; VANSNICK et al. 2005; MÜNSTER et al. 2013a; NAYLOR et al. 2018).

Auch wenn sich anhand der publizierten Berichte schließen lassen kann, dass Paratuberkulose derzeit kein häufiges Problem in zoologischen Gärten darstellt, so stellt der Nachweis der Erkrankung die tierärztliche Bestandsbetreuung vor große Herausforderungen und führt auch im kurativen Management der verschiedenen Arten zu erheblichen Einschränkungen. So wurde beispielsweise ein erfolgreiches Langzeitmanagement eines Paratuberkulose-Ausbruchs bei verschiedenen Huftierarten durch die Implementierung eines Impfprogrammes nach erfolgter Testung und Keulung betroffener und positiv-getesteter Tiere aus einem Wildtierpark in Schottland berichtet (GIRLING et al. 2011). Der Nachweis von MAP oder das Auftreten der Paratuberkulose ist, wie hieraus ersichtlich wird, auch in zoologischen Gärten kein Ereignis, welches auf einzelne Individuen beschränkt ist, sondern ein Geschehen, das als Bestandsproblem angesehen werden muss. Wie die Literaturrecherche aufzeigt, sind Wiederkäuer dabei das primäre Reservoir. Es gibt jedoch auch Berichte über Infektionen bei nicht-wiederkäuenden Tierarten, welche somit ebenfalls bei epidemiologischen Untersuchungen des Tierbestandes in Betracht gezogen werden sollten (BRYANT et al. 2012; FECHNER et al. 2017). Einzeltiererkrankungen sind zwar beschrieben, lassen jedoch die Frage offen, wie intensiv und kontinuierlich der Bestand nach positiver Paratuberkulosedagnostik bei einem Individuum beprobt und untersucht wurde. Ein weiterer Punkt, der an dieser Stelle in Betracht gezogen und angebracht werden sollte, ist die Frage nach der Bereitschaft der einzelnen zoologischen Einrichtungen zur ausführlichen Veröffentlichung von positiven Ergebnissen im Tierbestand.

Bei der für den Review gesammelten Literatur war eine Einteilung in definierte Falldefinitionen nach WHITTINGTON et al. (2017) nur in etwa einem Drittel der publizierten Fälle aus zoologischen Gärten möglich. Unterschiede in den angewendeten Diagnosemethoden erschwerten den Vergleich dieser Berichte. In den meisten Fällen lagen keine ausreichenden Informationen vor, um eine Infektion von einer tatsächlichen Erkrankung unterscheiden zu können. Eine Klassifizierung war dabei aufgrund einer nicht durchgeführten oder nicht dokumentierten pathologischen und histopathologischen Untersuchung, beziehungsweise einer fehlenden Identifizierung nachgewiesener säurefester Bakterien als MAP nicht möglich. Im Folgenden wird die Literaturübersicht hinsichtlich des aktuellen Wissenstandes über die Empfänglichkeit von wiederkäuenden beziehungsweise nicht-wiederkäuenden Spezies diskutiert.

6.1.1. Wiederkäuer

Die Literaturübersicht in Manuskript A zeigt, dass allgemeine epidemiologische Merkmale, die resultierende Immunantwort, die pathologischen und histopathologischen Veränderungen sowie der Verlauf und die Ausprägung einer klinischen Erkrankung bei nicht-domestizierten Wiederkäuern dem bei Hauswiederkäuern beschriebenen Muster zu folgen scheint. Unterschiede in der klinischen und pathologischen Manifestation der Erkrankung können jedoch bei verschiedenen Tierarten bestehen und die Diagnose und Kontrolle der Erkrankung beeinflussen. Die klinischen Symptome nicht-domestizierter Paarhufer können dabei subtil sein und den Krankheitsanzeichen anderer, den Verdauungstrakt betreffenden Erkrankungen sehr ähneln. Beschrieben sind jedoch auch Fälle mit einer ungewöhnlichen Ausbreitung der Läsionen. So berichtet PALLASKE (1965) über eine generalisierte Ausbreitung der Paratuberkulose bei Hirschziegenantilopen (*Antilope cervicapra*) und DEL-POZO et al. (2013) über nekrotische und mineralisierte Lungenveränderungen bei einem erkrankten Rentier (*Rangifer tarandus*), ähnlich der für *Mycobacterium bovis* Infektionen beschriebenen Läsionen. MANNING und SLEEMAN (2012) gehen davon aus, dass jeder MAP-Stamm jeden Wiederkäuerwirt infizieren kann, der Organismus anschließend von einem infizierten Tier verbreitet werden kann und jede Infektion letztendlich zum Tod des Wiederkäuerwirtes führt. Kameliden scheinen sehr resistent gegen viele, auch staatlich regulierte, Wiederkäuerkrankheiten zu sein (FOWLER 2008). Wie auch die Literaturübersicht anhand mehrerer Beispiele aus zoologischen Gärten bestätigt (AMAND 1974; THOEN et al. 1977b; MÜNSTER et al. 2013b), sollten sie jedoch unabhängig ihrer taxonomischen Klassifizierung in Bezug auf MAP Empfänglichkeit und Pathogenese den Wiederkäuern gleichgestellt werden. Bei jedem Paarhufer mit entsprechenden klinischen Symptomen in Form von intermittierender Diarrhoe oder progressivem Gewichtsverlust bei anhaltendem Appetit sollte eine MAP Infektion daher differentialdiagnostisch in Betracht gezogen werden.

Sowohl die vertikale Übertragung durch infizierte Muttertiere (via Kolostrum, Milch, beziehungsweise *in utero*) als auch die horizontale Übertragung durch eine kontaminierte Umgebung (fäkal-orale Übertragung) können dabei als Infektionsquelle bei der Übertragung von MAP in zoologischen Gärten angenommen werden (BURGESS et al. 2018). Die Möglichkeit einer pränatalen Übertragung durch ein erkranktes Muttertier oder infektiöses Sperma wird bei verschiedenen Arten diskutiert und sollte daher auch bei anderen exotischen Wiederkäuern berücksichtigt werden (BURTON et al. 2001; WITTE et al. 2009).

Innerhalb der Wiederkäuer existieren verschiedene Ernährungstypen: Substrat-selektierende Arten („Browser“), welche ein schneller fermentierendes Futter aufnehmen, grasfressende beziehungsweise abweidende Arten („Grazer“), die ein langsamer fermentierendes Futter aufnehmen, sowie intermediäre Ernährungstypen (CLAUSS et al. 2008). Diese Ernährungsspezialisierungen könnten einen Einfluss auf die Infektionsempfänglichkeit haben und bewirken, dass Tierarten, die auf die Aufnahme von Blättern und Zweigen von Bäumen, Sträuchern und Kräutern spezialisiert sind, weniger anfällig sind.

Bei wildlebenden Wiederkäuern wird davon ausgegangen, dass Substrat-selektierende Arten wahrscheinlich hauptsächlich durch die Aufnahme von kontaminiertem Wasser gefährdet sind. „Grazer“ sind sowohl durch die Aufnahme von verunreinigtem Wasser als auch durch kontaminierte Gräser auf intensiv bewirtschafteten Flächen einem erhöhten Infektionsrisiko ausgesetzt (MANNING u. SLEEMAN 2012).

Um die Pathogenese der Erkrankung bei Zootieren besser verstehen zu können, sind weitere Untersuchungen zu Infektionsraten und Erkrankungsfällen bei den in der Literaturübersicht aufgezeigten Tierarten erforderlich. Von besonderem Interesse ist, bei welchen Arten und in welchem Alter ein erhöhtes Infektionsrisiko besteht, inwieweit infektiöse Tiere den Erreger ausscheiden und welche infektiöse Dosis ein erhöhtes Infektionsrisiko für naive Individuen darstellt.

In diesem Zusammenhang ist es ebenfalls wichtig, weitere prädisponierte Arten zu identifizieren und das Vorkommen von Infektionsgeschehen in freilebenden Populationen zu bewerten. Paratuberkulose bei Wildtieren scheint selten vorzukommen (QUIST 1998). Die wenigen beschriebenen endemischen Fälle, wie beispielsweise bei Tule-Wapitis (*Cervus canadensis nannodes*) in Kalifornien und Dickhornschafen (*Ovis canadensis*) in Colorado, werden zumeist dem Kontakt mit infizierten domestizierten Wiederkäuern zugeschrieben (WILLIAMS et al. 1979; JESSUP et al. 1981). Das Vorkommen in betroffenen Populationen kann zu schwerwiegenden Problemen im Management der Tiergruppen führen (JESSUP u. WILLIAMS 1999). Maßnahmen zur Erkennung und Eindämmung in Nutztierbeständen und zoologischen Gärten sind jedoch in freilebenden Populationen kaum praktikabel und nur unter extremen Anstrengungen zu erreichen. Eine Infektionsprävention in Zoopopulationen ist daher auch vor dem Hintergrund einer eventuellen Wiederansiedlung von Individuen aus gehaltenen Tierbeständen in deren ursprünglichen Verbreitungsgebieten äußerst wichtig.

6.1.2. Nicht-Wiederkäuer

MAP ist trotz Wirtspräferenz nicht streng wirtsspezifisch. Infektionen, welche zu entzündlichen Magen-Darm-Erkrankungen führen, scheinen nicht auf Wiederkäuer beschränkt zu sein und wurden bei verschiedenen weiteren Tiergruppen beschrieben, auch wenn Wiederkäuer sicherlich das Hauptreservoir darstellen. Die vorherrschende Meinung dazu ist, dass MAP bei Nicht-Wiederkäuern (ausgenommen Lagomorpha und Tylopoda) keine klassische, klinisch apparente Paratuberkulose verursacht und histopathologische Veränderungen nicht vorhanden oder nur schwach ausgeprägt sind (MANNING u. SLEEMAN 2012). In der Zusammenstellung der Fälle aus zoologischen Gärten war die Mehrzahl der durch kulturelle und molekularbiologische Analysen diagnostizierten Infektionen bei nicht-wiederkäuenden Arten asymptomatisch. Ein Nachweis klinischer Symptome in Zusammenhang mit charakteristischen histopathologischen Veränderungen in Form von histiozytären oder granulomatösen Entzündungen im Verdauungstrakt wurde nicht berichtet.

Da exponierte beziehungsweise infizierte Tiere die Bakterien ausscheiden können, könnten diese Arten jedoch eine Rolle bei der direkten oder indirekten Übertragung von MAP spielen (BEARD et al. 2001; ANDERSON et al. 2007). Sie sollten daher auch bei der Vergesellschaftung von Tiergruppen sowie dem Kontakt mit verwilderten und wilden Tierarten in Betracht gezogen werden. Eine Identifizierung zusätzlicher Wirtsspezies und möglicher Übertragungswege ist wichtig, um eine unerkannte Ausbreitung von MAP in und zwischen Beständen eindämmen zu können. Der Nachweis von MAP Infektionen bei aus Südafrika importierten Klippschliefern in einem deutschen Zoo verdeutlicht die Notwendigkeit, weitere potenziell empfängliche Tierarten zu identifizieren und diese in bestehende Überwachungsprogramme zu integrieren (FECHNER et al. 2017).

6.2. Prävention und Kontrolle

Ein Übersehen oder Nicht-beachten von Hinweisen auf MAP-Infektionen oder Paratuberkuloseerkrankungen in zoologische Gärten kann gravierende Folgen im Hinblick auf die Infektionsverbreitung und auf das individuelle Tierwohl nach sich ziehen. Die Bekämpfung der Infektionskrankheit erfordert daher die Eliminierung oder Isolierung infizierter Tiere und die Entfernung der Mykobakterien aus der Umwelt. Beides ist theoretisch machbar, aber im Umfeld eines zoologischen Gartens oft schwer zu erreichen. Anhand der beschriebenen Fälle ist erkennbar, dass in vielen Untersuchungen auch negative Ergebnisse erzielt wurden, obwohl Hinweise auf eine Infektion oder Erkrankung vorlagen (MÜNSTER et al. 2013b). Daher ist eine regelmäßige Untersuchung anhand definierter Kontroll- und Präventionsprogramme ratsam, um den Infektionsstatus der Bestände kontinuierlich zu bewerten und infizierte Tiere isolieren oder entfernen zu können. Gemäß Verminderungs- beziehungsweise Eradikationsprogrammen bei domestizierten Arten müssen Maßnahmen in zoologischen Gärten darauf abzielen, die Prävalenz von Infektionen zu untersuchen und Infektionsgeschehen durch geeignete Maßnahmen zu verringern. Es ist daher von enormer Bedeutung, in den einzelnen Einrichtungen praktikable Präventions- beziehungsweise Managementmaßnahmen zu etablieren, um die Einschleppung einer Infektion zu verhindern oder die Ausbreitung einer existierenden Infektion auf empfängliche Individuen innerhalb und zwischen Beständen zu limitieren. Richtlinien für Präventionsmaßnahmen und Überwachungsprogramme in Beständen mit geringem Risiko oder unbekanntem Infektionsstatus, für Management- und Kontrollprogramme infizierter Bestände sowie für die Beobachtung von Beständen mit einem negativen Teststatus wurden 1998 in einem „Workshop“ zur Diagnose, Prävention und Kontrolle von Paratuberkulose bei nicht-domestizierten Paarhufern im White Oak Conservation Center in Yulee, Florida, erarbeitet (ANON. 1998). Für die Durchführung der diagnostischen Tests sowie der Überwachungs- und Kontrollprogramme wird empfohlen, für jede Einrichtung Managementeinheiten (Johnes Disease Management Units) in Abhängigkeit des aktuellen Infektionsrisikos festzulegen. Als Einheit kann dabei ein Einzeltier, die betroffene Tierart, das jeweilige Gehege beziehungsweise ein Teilgebiet oder sogar die gesamte Einrichtung definiert werden.

Präventions- und Kontrollprogramme sollten folgende Punkte umfassen:

- Hygiene und Desinfektion
- Bestandsuntersuchungen
- Transport- und Quarantäneuntersuchungen
- Maßnahmen bei Verdacht oder positivem Befund

6.2.1. Hygiene und Desinfektion

Von entscheidender Bedeutung in der Prävention und Kontrolle ist, ähnlich wie in der Nutztierhaltung von Wiederkäuern, die Aufrechterhaltung einer ordnungsgemäßen Hygiene, insbesondere in Bereichen mit hoher Exposition (Kotplätze, Abtrenngehege, Futter- und Tränkplätze). Saubere und gut zu reinigende Futterplätze sollten zudem in regelmäßigen Abständen zur Vermeidung einer Kontamination gewechselt werden und Futterraufen erhöht angebracht werden, um eine Futteraufnahme vom Bodengrund zu reduzieren. Der Zugang zu stehendem Wasser und Suhlen sowie zu ab- und durchfließenden Gewässern aus anderen Bereichen innerhalb und außerhalb des Zoos sollte nach Möglichkeit eingeschränkt werden.

Das Infektionsrisiko für ein empfängliches Tier ist bei geringem Kontakt mit dem Erreger aufgrund einer für eine Infektion notwendigen infektiösen Dosis gering (MANNING u. SLEEMAN 2012). Eine regelmäßige Reinigung von Innen- und Außenanlagen führt zu einer Haltung in einer pathogenarmen Umgebung, welche nicht nur bei jungen Tieren zu einem verringerten Infektionsdruck und einer Verhinderung von Infektionen führt. Bei domestizierten Arten ist bekannt, dass infektiöse Tiere mehr als 10^6 koloniebildende Einheit (KbE; englisch: colony forming unit, CFU) pro Gramm Kot ausscheiden können (SWEENEY 1996). Orale Dosen von nur $1,5 \times 10^6$ KbE führten bei experimentellen Untersuchungen an domestizierten Wiederkäuern zuverlässig zu einer Infektion (SWEENEY et al. 2006). Eine abweichende infektiöse Dosis bei verschiedenen Arten ist neben dem Vorhandensein verschiedener MAP-Stämme eine der möglichen Erklärungen für die unterschiedlichen Anfälligkeiten der einzelnen Tiergruppen und muss daher für diese genauer untersucht beziehungsweise experimentell bestimmt werden (MACKINTOSH et al. 2007).

Ein Problem bei der Kontrolle der Aus- und Verbreitung von MAP hängt mit dem Überleben des Organismus in bestimmten Umgebungen für einen Zeitraum von mehreren Monaten und länger zusammen (MANNING u. COLLINS 2001; WHITTINGTON et al. 2005). Die Gefahr der langen Persistenz des Erregers in der Umwelt macht strenge und standardmäßige Hygienemaßnahmen notwendig. Die Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft (DVG) gibt auf der Grundlage eines standardisierten Prüfungs- und Begutachtungsverfahrens eine Liste von Desinfektionsmitteln heraus, aus der Gebrauchskonzentrationen und Einwirkzeiten ersichtlich sind. Diese Liste ist bei der Auswahl geeigneter Desinfektionsmittel, vor allem in der Tierseuchenbekämpfung, zu beachten.

Für die Desinfektion von kontaminierten Gehegen oder Gegenständen sollten Mittel mit Wirksamkeit gegen Mykobakterien (Tuberkulozidie) ausgewählt werden (Säurestoffabspalter, Kresole, Organische Säuren; jeweils in der entsprechenden Gebrauchskonzentration in Volumen-Prozent bei angegebener Temperatur und Einwirkzeit).

Eine Eintragung von MAP durch Futtermittel beziehungsweise kontaminiertes Kolostrum oder Milchaustauscher für die Handaufzucht von Jungtieren ist ebenfalls möglich. Entsprechende Futtermittel und Produkte müssen untersucht oder aus bekannt negativen Quellen bezogen werden.

Aufgrund dieser angeführten Punkte ist es weiterhin ratsam, Zoomitarbeiterinnen und Zoomitarbeiter kontinuierlich und effektiv für die Gefahren einer möglichen Verschleppung von MAP und anderer Infektionserreger zwischen einzelnen Tierhaltungen durch Gegenstände oder Materialien (Schuhwerk, Kleidung oder Arbeitsmitteln) zu sensibilisieren.

6.2.2. Bestandsuntersuchungen

Die Auswirkungen einer unerkannten Durchseuchung der Populationen in einem zoologischen Garten können enorme Folgen für die tierärztliche Betreuung und das kurative Management nach sich ziehen (BOEVER u. PETERS 1974; BURTON et al. 2001; NAYLOR et al. 2018). Daher spielt vor allem die Früherkennung von infizierten Tieren eine besondere Bedeutung, um eine fortschreitende Kontamination der Umgebung sowie eine Ausbreitung der Infektion im Bestand zu minimieren.

In zoologischen Gärten, in denen bisher keine routinemäßigen Untersuchungen durchgeführt wurden, kann beispielsweise, wie im Rahmen dieser Dissertation gezeigt, die Durchsicht von Sektionsbefunden und Analyse eingelagerter Serumproben in Kombination mit molekularbiologischen Untersuchungen von Proben empfänglicher Arten einen ersten Anhaltspunkt über ein Infektionsgeschehen im Bestand geben. Die Bestätigung einer klinischen Verdachtsdiagnose durch indirekte und direkte Nachweismethoden ist dabei ebenfalls abhängig von den zur Verfügung stehenden Ressourcen, der betroffenen Tierart sowie der medizinischen Vorgeschichte und der vorhandenen Paratuberkuloseprävalenz im Tierbestand (COLLINS 1998). Eine Früherkennung auf individueller Ebene, insbesondere bei wertvollen und gefährdeten Arten, sollte dabei auf einer Kombination verschiedener, aufeinanderfolgender beziehungsweise parallel angewendeter Diagnosemethoden beruhen. Die Auswahl dieser Methoden sollte weiterhin unter Berücksichtigung der jeweiligen analytischen und diagnostischen Sensitivität beziehungsweise Spezifität beruhen. Eine durch molekularbiologische Untersuchungen bestätigte mykobakterielle Kultur von Kot- oder Gewebeproben ist derzeit der empfohlene *ante-mortem* Test zur Diagnose und Überwachung der Erkrankung bei nicht-domestizierten Paarhufern (ANON. 1998).

Da das Auftreten einer Paratuberkuloseerkrankung bei einem Einzeltier oft mit einem Herden- beziehungsweise Bestandsproblem einhergeht, sollten sich die Diagnosemaßnahmen auch auf Herdenmitglieder, Elterntiere und Nachkommen, sowie auf direkt beziehungsweise indirekt vergesellschaftete Wiederkäuer- und Nichtwiederkäuerarten und die Umgebung der Tiere konzentrieren. Genaue Aufzeichnung sind nötig, um festzuhalten, welche Verwandtschaftsbeziehungen vorliegen und für welchen Zeitraum welches Tier mit welchen Kontakttieren auf einer entsprechenden Anlage gehalten wurde. In diesem Zusammenhang ist es jedoch auch wichtig darauf hinzuweisen, dass nicht alle exponierten Tiere infiziert werden und nicht alle infizierten Tiere eine klinische Erkrankung entwickeln. Aufgrund der intermittierenden Ausscheidung des Erregers gewährleistet eine wiederholte Probenahme eine wahrscheinlichere Identifizierung asymptomatischer Ausscheider und ermöglicht die Überwachung und Verhinderung der Ausbreitung des Bakteriums im Bestand. Bei begründetem Verdacht sollten kontinuierlich durchgeführte Untersuchungen von Kot- und/oder Serumproben adulter Wiederkäuer und Kameliden in Betracht gezogen werden, um ein Vorkommen von MAP rasch zu erkennen und letztendlich eliminieren zu können. Aufgrund der begrenzten Zugänglichkeit zu direkt entnommenem, individuellem Probenmaterial sollte im Rahmen der Probengewinnung aus anderweitigen Motiven jede Gelegenheit genutzt werden, um bei älteren Tieren, empfänglichen Arten und in der Vergangenheit exponierten Individuen Untersuchungen durchzuführen (COLLINS 1998).

Serologische Tests sind nicht für eine Verwendung bei den in zoologischen Gärten gehaltenen Paarhufern validiert und können daher nicht als endgültige Diagnose für diese Tierarten herangezogen werden. Speziesspezifische Unterschiede in Bezug auf Zeitpunkt, Art und Menge der Antikörperproduktion als Reaktion auf eine Infektion sind bei diesen Arten nicht untersucht (VANSNICK et al. 2005). Möglicherweise vorhandene biologische Inhibitoren können beispielsweise zu falsch-negativen Ergebnissen führen. Die Interpretation von Ergebnissen dieser Assays sollte daher mit Vorsicht erfolgen. Bei Verwendung zur Bestätigung eines begründeten Verdachts beziehungsweise zur Abklärung des Bestandsstatus können diese Untersuchungen jedoch einen Hinweis hinsichtlich der Wahrscheinlichkeit eines Infektionsvorkommens in der getesteten Population liefern. Anhand dieser Informationen kann nachfolgend entschieden werden, ob weitere, spezifischere Tests erforderlich sind. Bedacht werden sollte jedoch weiterhin, dass Antikörper erst spät im Infektionsverlauf gebildet werden und somit oftmals erst entdeckt werden, wenn der Erreger bereits ausgeschieden und in der Umwelt verteilt wurde.

Ein weiterer bedeutender Punkt ist die Durchführung einer vollständigen pathologischen Untersuchung, inklusive histopathologischer Bewertung intestinaler Proben (Ileum, ileozökale Lymphknoten etc.), bei allen Tieren mit begründetem Verdacht sowie allen Individuen empfänglicher Spezies. Dieses Werkzeug in der Bestandskontrolle ist in zoologischen Gärten aufgrund der beschränkten Zugänglichkeit zu diagnostischen Proben von großer Wichtigkeit und bietet eine Möglichkeit zur Abschätzung des Gesundheitszustandes der gehaltenen Populationen.

6.2.3. Transport- und Quarantäneuntersuchungen

Die Infektionserreger, die es am erfolgreichsten schaffen, einen Quarantäneprozess unentdeckt zu durchlaufen oder die Biosicherheitsbarrieren eines zoologischen Gartens zu durchdringen, sind solche Infektionskrankheiten, die eine lange Inkubationszeit aufweisen oder für die keine sicheren Untersuchungstests zur Verfügung stehen (TRAVIS u. SMITH 2019); Eigenschaften, welche auf MAP zutreffen. Die Einfuhr von Tieren mit unbekanntem Infektionsstatus oder subklinischer Infektion in einen paratuberkulosefreien Bestand stellt ein erhebliches Infektionsrisiko dar und scheint die primäre Infektionsquelle für zoologische Bestände zu sein (MANNING 1998).

Tierärztliche Anforderungen vor Transporten beziehungsweise der Einfuhr von Tieren sollten daher negative Ergebnisse einschließlich einer unauffälligen klinischen Untersuchung voraussetzen. Aufgrund der langen Inkubationszeit der Erkrankung, in der eine Infektion nicht oder nur unter großen Bemühungen mit den zur Verfügung stehenden Diagnosemöglichkeiten festgestellt werden kann, ist eine ausführliche Anamnese und Abfrage der Krankengeschichte des Ursprungsbestandes und Herkunftsbetriebes von immenser Wichtigkeit und übertrifft die Aussagekraft negativer Testergebnisse bei Einzeltieren.

6.2.4. Maßnahmen bei Verdacht oder positivem Befund

Bei positivem Befund sollten Risikofaktoren der Übertragung sowie die Prävalenz im jeweiligen Bestand neu bewertet werden. Es empfiehlt sich Tierbewegungen einzustellen, das Management der Jungtieraufzucht anzupassen und eine Intensivierung der Hygiene und Desinfektion durchzuführen. Positive Untersuchungsergebnisse bei Tieren mit klinischen Symptomen sollten eine Euthanasie beziehungsweise strikte Isolation der getesteten Individuen, sowie unter Umständen auch deren Nachkommen beziehungsweise Muttertieren, nach sich ziehen.

Behandlungsversuche sind teuer, unpraktisch, langfristig, nur palliativ und bergen die Gefahr von Resistenzentwicklungen in sich. Sie sollten somit nur bei Tieren mit hohem genetischen Wert eingesetzt werden. Dabei kann es zum Beispiel angezeigt sein, die entkräftenden Auswirkungen einer Infektion lange genug zu unterdrücken, um ein Tier bis zur einer anstehenden Geburt nach den Vorgaben des Tierschutzgesetzes halten zu können, um so die Nachkommen zu retten oder Keimzellen konservieren zu können. Medikamente, die aufgrund ihrer Wirksamkeit gegen intrazelluläre Organismen hierbei eingesetzt werden, sind Isoniazid, Rifampin, Streptomycin, Amikacin, Kanamycin, Clofazimin und Dapsone (ST-JEAN 1996). Impfstoffe sind in Deutschland momentan nicht zugelassen, können jedoch ein wertvolles Instrument sein, um das Risiko einer Kontamination zu verringern und klinische Symptome abzumildern oder zu verzögern, auch wenn eine Infektion dadurch nicht vollständig verhindert wird (BASTIDA u. JUSTE 2011).

Die Entscheidungen zur Euthanasie oder Keulung von Tieren bei denen eine Infektion ohne eine wiederholte Untersuchung von Probenmaterial angenommen wird, ist in vielen Fällen keine akzeptable Option, insbesondere wenn gefährdete Arten betroffen sind. Das trifft vor allem auf positive Ergebnisse in einzelnen Kotuntersuchungen sowie auf Ergebnisse direkter PCR-Untersuchungen ohne den Nachweis des lebenden Organismus oder dem Vorhandensein anderer Infektionsindikatoren (z. B. klinische Erkrankung, positiver serologischer Test, PCR-positive Folgeuntersuchung) zu (MANNING u. SLEEMAN 2012). Neben dem genetischen Verlust kann die Reaktion der Öffentlichkeit auf die Entscheidung zur Euthanasie ein weiterer zu berücksichtigender Faktor sein, der im Entscheidungsprozess berücksichtigt werden muss.

6.3. Untersuchungen im Zoologisch-Botanischen Garten Wilhelma

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, neben der Literaturrecherche zu MAP Infektionen und Paratuberkuloseerkrankungen in zoologischen Gärten die potenzielle MAP Präsenz im Zoologisch-Botanischen Garten Wilhelma in Stuttgart mittels serologischer und molekularbiologischer Analysen zu untersuchen. Die Auswahl der Untersuchungen auf MAP ist abhängig von den zur Verfügung stehenden Ressourcen, den zu untersuchenden Tierarten sowie der medizinischen Vorgeschichte im Tierbestand. Weitere Punkte, die ebenfalls bedacht werden sollten, sind die Invasivität der Probennahme und deren Integration in die tiermedizinische Bestandsbetreuung. Um einen generellen Überblick über ein potenzielles MAP Vorkommen zu erhalten, wurden daher in der vorliegenden Arbeit eingelagerte Serumproben für die geplanten Untersuchungen zur Verfügung gestellt. Um eine möglichst große Anzahl von Tieren untersuchen zu können, wurden Sammelkotproben und Umgebungsproben der jeweiligen Tierarten für molekularbiologische Untersuchungen gesammelt. Aufgrund negativer Ergebnisse in den RPA- und PCR-Untersuchungen auf MAP flossen Untersuchungen zum Vorkommen von weiteren Mykobakterien des MAC ebenfalls in diese Arbeit mit ein.

Serumproben von verschiedenen Säugetierspezies wurden mit einem indirekten ELISA auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen MAC untersucht. Die retrospektiven serologischen Untersuchungen ergaben 28 positive und zwei verdächtige Proben bei Tierarten verschiedener taxonomischer Familien, was das Vorhandensein einer Seroprävalenz und damit eine Exposition der Zootierpopulation mit Mykobakterien bestätigte. Spezifischere serologische Untersuchungen auf MAP Antikörper ergaben nur in einem Fall bei einer weiblichen Netzgiraffe (*Giraffa camelopardalis reticulata*) ein positives Ergebnis. Auch hier sei nochmals darauf hingewiesen, dass, auch wenn beide Test bereits bei Wild- beziehungsweise Zootieren eingesetzt wurden (VANSNICK et al. 2005; MATOS et al. 2015), serologische Test nicht für eine Verwendung bei den in zoologischen Gärten gehaltenen Paarhufern validiert sind und die Interpretation von Ergebnissen daher mit Vorsicht erfolgen sollte.

In die molekularbiologischen Untersuchungen wurden Proben von 22 verschiedenen Paarhufer-Spezies, 18 Primatenarten, Klippschliefern (*Procavia capensis*) und Schabrackentapiren (*Tapirus indicus*) aufgenommen. Weiterhin wurden Sektionsproben von 30 verstorbenen beziehungsweise euthanasierten Zootieren untersucht. Untersucht wurden die Proben unter Verwendung der Rekombinase-Polymerase Amplifikationstechnik in einem vor Ort im zoologischen Garten angewendeten Kofferlabor sowie in einer real-time PCR zur Detektion der MAP-spezifischen Insertionssequenz IS900 im Labor der Abteilung für Mikrobiologie und Tierhygiene der Georg-August-Universität Göttingen. Untersuchungen der Proben in einer real-time PCR zur Detektion von pan-mykobakterieller 16S-rRNA ergaben eine hohe Prävalenz in allen Probenkategorien. Während MAA in keiner der Proben unter Verwendung einer multiplex real-time PCR (IS901 und IS1245) nachgewiesen werden konnte, wurde MAH aus Umgebungsproben von den Anlagen zweier Primatenspezies (Schwarzer Haubenlangur (*Trachypithecus auratus auratus*) und Bonobo (*Pan paniscus*)) isoliert.

MAP konnte in den umfassenden Untersuchungen weder aus Sammelkotproben noch aus Umgebungsproben der jeweiligen Tieranlagen nachgewiesen werden. Negative RPA-Ergebnisse in dieser Studie wurden durch negative Ergebnisse in der MAP-spezifischen real-time PCR bestätigt. Auf Grundlage dieser Ergebnisse und der angewandten Probenentnahmestrategie kann das Vorkommen eines hochausscheidenden Tieres und einer MAP-kontaminierten Umgebung im Zoologisch-Botanischen Garten Wilhelma zum Zeitpunkt der Untersuchungen als unwahrscheinlich angesehen werden. Die negativen Ergebnisse können durch die regelmäßige Reinigung der Innen- und Außenanlagen erklärt werden, was zu einer pathogenarmen Umgebung und einem verringerten Infektionsdruck im Zoo führt. Die Integration von Umgebungsproben sollte auch in Zukunft Bestandteil der Untersuchungen im Rahmen von Überwachungsprogrammen sein.

Der Aufbau des mobilen Kofferlabors ermöglicht eine schnelle, hochspezifische und empfindliche Diagnose von MAP direkt vor Ort (HANSEN et al. 2016; HANSEN et al. 2019). Der unkomplizierte Aufbau kann leicht in bestehende Überwachungsprotokolle integriert werden und bei Maßnahmen zur Vorbeugung und Bekämpfung von Krankheiten zum Einsatz kommen. Weitere Untersuchungen sollten die Verwendung und Implementierung von Point-of-need Diagnosesystemen für den schnellen Nachweis von MAP und anderen wichtigen Krankheitserregern in zoologischen Gärten in Betracht ziehen. Teilweise finden solche Diagnosesysteme bereits Verwendung. Für den Nachweis von Immunglobulin M (IgM) und IgG Antikörpern gegen *M. tuberculosis* und *M. bovis* bei Elefanten, Nashörnern und Tapiren wird beispielsweise ein immunochromatographischer lateral-flow Schnelltest bereits eingesetzt (LÉCU u. BALL 2011).

MAP-negative Testergebnisse schließen das Vorhandensein des Erregers im Bestand nicht aus. Einerseits kann die intermittierende Ausscheidung von MAP in Clustern zu negativen Ergebnissen führen. Andererseits werden Tiere, welche sich in der subklinischen Phase der Erkrankung befinden und keine oder nur sehr wenige Erreger ausscheiden, durch die Untersuchungen nicht zuverlässig nachgewiesen.

Durch diese Einschränkungen wird eine kontinuierliche Beprobung des Tierbestandes zur Überwachung eines möglichen Infektionsgeschehens notwendig (WHITTINGTON et al. 2017). Hierbei sollten die verschiedenen Probenkategorien zu unterschiedlichen Zeitpunkten entnommen und untersucht werden und immer die Krankengeschichte von einzelnen Individuen und der jeweiligen Herde mit einbezogen werden. Positive Ergebnisse müssen dabei ebenfalls mit Vorsicht interpretiert werden. Kultur- oder PCR-positive Ergebnisse aus Untersuchungen von Kotproben der Tiere geben, ähnlich wie positive Ergebnisse aus Umgebungsproben, nur einen Hinweis auf eine Exposition, bestätigen jedoch keine Infektion (WHITTINGTON et al. 2017). Wiederholt positive Testergebnisse erhöhen zwar die Wahrscheinlichkeit einer tatsächlichen Infektion, Bakterien können jedoch auch über kontaminiertes Futter und Wasser aufgenommen und ohne die Tiere zu infizieren wieder ausgeschieden werden. Dieses als „Passing Through“ beschriebene Phänomen sollte vor allem in Beständen in Betracht gezogen werden, in denen durch hoch-ausscheidende Tiere bereits eine Kontamination der Umgebung stattgefunden hat (FECTEAU et al. 2009).

Kulturelle Untersuchungen wurden in dieser Arbeit wegen langer Kultivierungszeiten bis zum endgültigen Resultat nicht durchgeführt. In begründeten Verdachtsfällen bei einzelnen Tieren aus zoologischen Gärten ist eine Kultivierung mit anschließender molekularbiologischer Identifizierung des Erregers jedoch angebracht.

Anhand der Ergebnisse der Untersuchungen auf das Vorkommen von mykobakterieller DNA und Mykobakterien des MAC lassen sich Rückschlüsse auf deren Vorkommen im zoologischen Garten und die resultierende Exposition des Tierbestandes ziehen. Positive Ergebnisse in diesen Untersuchungen können mit dem Vorhandensein von umweltassoziierten, atypischen mykobakteriellen Spezies erklärt werden. Diese Mykobakterien sind ubiquitär verbreitet und kommen sowohl in der Umwelt des Menschen (FALKINHAM 2009) als auch in der Umwelt von Tieren in zoologischen Gärten vor (SALCHOW 2018). Infektionen mit Mykobakterien des MAC konnten nicht festgestellt werden. Die potenzielle Pathogenität für Zootiere sollte jedoch in weiteren Untersuchungen berücksichtigt werden. Die Einbeziehung und Bestimmung dieser Mykobakterien sind wichtige Komponenten, um ihre Bedeutung für in zoologischen Gärten gehaltene Wildtiere besser zu verstehen.

6.4. Fazit und Ausblick

Die Gemeinschaft der zoologischen Gärten als Ganzes würde davon profitieren, wenn das aktuelle Prävalenzniveau von MAP Infektionen in den einzelnen Beständen erfasst und das Bewusstsein für die potenzielle Bedrohung der Tierbestände durch Einschleppung und Verbreitung dieses Gesundheitsrisikos in den Bestand erweitert werden würde. MAP besitzt das Gefährdungspotenzial verschiedenste Arten von Wiederkäuern zu infizieren. Eine Infektion kann für lange Zeiträume klinisch unbemerkt bleiben und sich im Bestand ausbreiten. Die daraus resultierende Erkrankung führt normalerweise unweigerlich zum Tod des betroffenen Tieres. Weiterführende Untersuchungen sind daher in den einzelnen Einrichtungen und im Rahmen von Populationsuntersuchungen auf internationaler Ebene angebracht, um das Vorkommen von Infektionen und Erkrankung sowie die Epidemiologie und Pathogenese bei in zoologischen Gärten gehaltenen Tierarten besser verstehen und bewerten zu können.

7. Literaturverzeichnis

ANON. (1998):

Proceedings of the Workshop on Diagnosis, Prevention, and Control of Johne's Disease in Non-Domestic Hoofstock.

White Oak Conservation Center, Yulee, Florida, 26. – 28. Juni 1998

ABD EL WAHED, A., P. PATEL, O. FAYE, S. THALOENG SOK, D. HEIDENREICH, P. MATANGKASOMBUT, K. MANOPWISEDJAROEN, A. SAKUNTABHAI, A. A. SALL u. F. T. HUFERT (2015):

Recombinase polymerase amplification assay for rapid diagnostics of dengue infection.

PloS One 10, e0129682

AMADO, A., T. ALBUQUERQUE, A. GONÇALVES, E. DUARTE, A. BOTELHO, T. FERNANDES, R. BERNARDINO u. N. LAPÃO (2006):

Tuberculosis in mandrills at the Lisbon zoo.

Vet Rec 159, 643-643

AMAND, W. B. (1974):

Paratuberculosis in a dromedary camel.

In: Proc Am Assoc Zoo Vet, Atlanta, Georgia 1974

Proc, S. 150-153

ANDERSON, J. L., J. K. MEECE, J. J. KOZICZKOWSKI, D. L. CLARK, R. P. RADCLIFF, C. A. NOLDEN, M. D. SAMUEL u. J. L. ELLINGSON (2007):

Mycobacterium avium subsp. *paratuberculosis* in scavenging mammals in Wisconsin. J Wildl Dis 43, 302-308

BACKUES, K. A. (2008):

Mycobacterial Diseases in Carnivores.

In: M. E. FOWLER u. E. R. MILLER (Hrsg.): Zoo and Wild Animal Medicine Current Therapy, Volume 6

Verlag Elsevier, St. Louis, Missouri. S. 294-298

BACKUES, K. A. u. E. WIEDNER (2019):

Elephant Mycobacteriosis: New Diagnostics and Management.

In: E. R. MILLER, N. LAMBERSKI u. P. P. CALLE (Hrsg.): Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine Current Therapy, Volume 9

Verlag Elsevier, St. Louis, Missouri. S. 665-671

BASTIDA, F. u. R. A. JUSTE (2011):

Paratuberculosis control: a review with a focus on vaccination.

J Immune Based Ther Vaccines 9, 8-24

BEARD, P. M., M. J. DANIELS, D. HENDERSON, A. PIRIE, K. RUDGE, D. BUXTON, S. M. RHIND, A. GREIG, M. R. HUTCHINGS u. I. MCKENDRICK (2001):

Paratuberculosis infection of nonruminant wildlife in Scotland.

J Clin Microbiol 39, 1517-1521

BERCOVIER, H. u. V. VINCENT (2001):

Mycobacterial infections in domestic and wild animals due to *Mycobacterium marinum*, *Mycobacterium fortuitum*, *Mycobacterium chelonae*, *Mycobacterium porcinum*, *Mycobacterium farcinogenes*, *Mycobacterium smegmatis*, *Mycobacterium scrofulaceum*, *Mycobacterium xenopi*, *Mycobacterium kansasii*, *Mycobacterium simiae* and *Mycobacterium genavense*.

Rev Sci Tech 20, 265-290

BERTELSEN, M. F. (2019):

Issues Surrounding Surplus Animals in Zoos.

In: E. R. MILLER, N. LAMBERSKI u. P. P. CALLE (Hrsg.): Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine Current Therapy, Volume 9

Verlag Elsevier, St. Louis, Missouri. S. 134-136

BERTELSEN, M. F. u. R. E. MILLER (2019):

Journal of Zoo and Wildlife Medicine 1970–2019.

J Zoo Wildl Med 50, 2-4

BLEHERT, D. S., A. C. HICKS, M. BEHR, C. U. METEYER, B. M. BERLOWSKI-ZIER, E. L. BUCKLES, J. T. H. COLEMAN, S. R. DARLING, A. GARGAS u. R. NIVER (2009):

Bat white-nose syndrome: an emerging fungal pathogen?

Science 323, 227-227

BOEVER, W. J. u. D. PETERS (1974):

Paratuberculosis in two herds of exotic sheep.

J Am Vet Med Assoc 165, 822-822

BOWENKAMP, K. E., S. FRASCA JR, A. DRAGHI, G. J. TSONGALIS, C. KOERTING, L. HINCKLEY, S. DE GUISE, R. J. MONTALI, C. E. C. GOERTZ u. D. J. ST. AUBIN (2001):

Mycobacterium marinum dermatitis and panniculitis with chronic pleuritis in a captive white whale (*Delphinapterus leucas*) with aortic rupture.

J Vet Diagn Invest 13, 524-530

BRAMMER, D. W., C. M. O'ROURKE, L. A. HEATH, C. E. CHRLSP, G. K. PETER u. G. L. HOFING (1995):

Mycobacterium kansasii infection in squirrel monkeys (*Saimiri sciureus sciureus*).

J Med Primatol 24, 231-235

BROOK P., G. COLE u. R. SIM 2020

Infectious Disease Manual: Infectious Diseases of Concern to Captive and Free Ranging Wildlife in North America

An official publication of the American Association of Zoo Veterinarians - Animal Health and Welfare Committee

https://cdn.ymaws.com/www.aazv.org/resource/resmgr/idm/idm_updated_april_2020.pdf

BRYANT, B., D. BLYDE, G. EAMENS u. R. WHITTINGTON (2012):

Mycobacterium avium subspecies *paratuberculosis* cultured from the feces of a Southern black rhinoceros (*Diceros bicornis minor*) with diarrhea and weight loss.

J Zoo Wildl Med 43, 391-393

BURGESS, T. L., C. L. WITTE u. B. A. RIDEOUT (2018):

Early-life exposures and Johne's disease risk in zoo ruminants.

J Vet Diagn Invest 30, 78-85

BURTON, M. S., J. H. OLSEN, R. L. BALL u. G. A. DUMONCEAUX (2001):

Mycobacterium avium subsp. *paratuberculosis* infection in an addax (*Addax nasomaculatus*).

J Zoo Wildl Med 32, 242-244

- BUSH, M., R. J. MONTALI, L. G. PHILLIPS JR u. P. A. HOLOBAUGH (1990):
Bovine tuberculosis in a Bactrian camel herd: clinical, therapeutic, and pathologic findings.
J Zoo Wildl Med 21, 171-179
- CALLE, P., C. MCCLAVE, G. KRAMER, K. LYASHCHENKO, R. GREENWALD, L. HEIFETS, C. PELOQUIN, M. HIATT u. J. WHITE (2007):
Fatal *Mycobacterium abscessus* infection in a beluga whale (*Delphinapterus leucas*).
In: Proc Int Assoc Aquatic Anim Med, Orlando, Florida 2007
Proc, S. 196-198
- CAVE, A. J. E. u. A. DEMONSTRATOR (1939):
The evidence for the incidence of tuberculosis in ancient Egypt.
Br J Tuberc 33, 142-152
- CERVENY, S. N. S., M. E. THOMPSON, S. M. CORNER, A. K. SWINFORD u. R. L. COKE (2013):
Cutaneous atypical mycobacteriosis in a clouded leopard (*Neofelis nebulosa*).
J Zoo Wildl Med 44, 756-760
- CHAI, N. (2012):
Mycobacteriosis in Amphibians.
In: E. R. MILLER u. M. E. FOWLER (Hrsg.): Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine Current Therapy, Volume 7
Verlag Elsevier, St. Louis, Missouri, S. 224-230
- CHO, H.-S., Y.-H. KIM u. N.-Y. PARK (2006):
Disseminated mycobacteriosis due to *Mycobacterium avium* in captive Bengal tiger (*Panthera tigris*).
J Vet Diagn Invest 18, 312-314
- CHOMEL, B. B., A. BELOTTO u. F.-X. MESLIN (2007):
Wildlife, exotic pets, and emerging zoonoses.
Emerg Infect Dis 13, 6-11

CLAUSS, M., T. KAISER u. J. HUMMEL (2008):

The morphophysiological adaptations of browsing and grazing mammals.

In: H. H. T. PRINS u. I. J. GORDON (Hrsg.): The ecology of browsing and grazing
Springer, S. 47-88

CLAYTON, L. A., M. A. STAMPER, B. R. WHITAKER, C. A. HADFIELD, B. SIMONS
u. J. L. MANKOWSKI (2012):

Mycobacterium abscessus pneumonia in an Atlantic bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*).

J Zoo Wildl Med 43, 961

CLEAVELAND, S., M. K. LAURENSEN u. L. H. TAYLOR (2001):

Diseases of humans and their domestic mammals: pathogen characteristics, host range and the risk of emergence.

Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 356, 991-999

COLLINS, M. T. (1998):

Johne's disease diagnostics in non-domestic species.

In: Proceedings of the Workshop on Diagnosis, Prevention, and Control of Johne's Disease in Non-Domestic Hoofstock, White Oak Conservation Center, Yulee, Florida 1998

Proc, S. 27-30

CONTINI, C., M. DI NUZZO, N. BARP, A. BONAZZA, R. DE GIORGIO, M. TOGNON
u. S. RUBINO (2020):

The novel zoonotic COVID-19 pandemic: An expected global health concern.

J Infect Dev Ctries 14, 254-264

COOK, R. A. u. W. B. KARESH (2012):

Emerging Diseases at the Interface of People, Domestic Animals, and Wildlife.

In: E. R. MILLER u. M. E. FOWLER (Hrsg.): Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine Current Therapy, Volume 7

Verlag Elsevier, St. Louis, Missouri, S. 136-146

COUSINS, D. V., R. BASTIDA, A. CATALDI, V. QOUS, S. REDROBE, S. DOW, P. DUIGNAN, A. MURRAY, C. DUPONT u. N. AHMED (2003):

Tuberculosis in seals caused by a novel member of the *Mycobacterium tuberculosis* complex: *Mycobacterium pinnipedii* sp. nov.

Int J Syst Evol Microbiol 53, 1305-1317

COUSINS, D. V., R. L. PEET, W. T. GAYNOR, S. N. WILLIAMS u. B. L. GOW (1994):
Tuberculosis in imported hyrax (*Procavia capensis*) caused by an unusual variant
belonging to the *Mycobacterium tuberculosis* complex.

Vet Microbiol 42, 135-145

DALOVISIO, J. R., M. STETTER u. S. MIKOTA-WELLS (1992):

Rhinoceros' rhinorrhea: cause of an outbreak of infection due to airborne
Mycobacterium bovis in zookeepers.

Clin Infect Dis 15, 598-600

DASZAK, P., A. A. CUNNINGHAM u. A. D. HYATT (2000):

Emerging infectious diseases of wildlife-threats to biodiversity and human health.

Science 287, 443-449

DE LISLE, G. W., C. G. MACKINTOSH u. R. G. BENGIS (2001):

Mycobacterium bovis in free-living and captive wildlife, including farmed deer.

Rev Sci Tech 20, 86-111

DEEM, S. L. (2015):

Conservation medicine to one health: the role of zoologic veterinarians.

In: E. R. MILLER u. M. E. FOWLER (Hrsg.): Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine
Current Therapy, Volume 8

Verlag Elsevier, St. Louis, Missouri, S. 698-703

DEL-POZO, J., S. GIRLING, J. MCLUCKIE, E. ABBONDATI u. K. STEVENSON
(2013):

An unusual presentation of *Mycobacterium avium* spp. *paratuberculosis* infection in a
captive tundra reindeer (*Rangifer tarandus tarandus*).

J Comp Pathol 149, 126-131

DOLLINGER, P. (2008):

"Balai" Directive of the European Union: Difficult Veterinary Legislation.

In: M. E. FOWLER u. E. R. MILLER (Hrsg.): Zoo and Wild Animal Medicine Current
Therapy, Volume 6

Verlag Elsevier, St. Louis, Missouri, S. 68-74

- DUNAY, E., K. APAKUPAKUL, S. LEARD, J. L. PALMER u. S. L. DEEM (2018):
Pathogen transmission from humans to great apes is a growing threat to primate conservation.
EcoHealth 15, 148-162
- DUNCAN, A. E., K. P. LYASHCHENKO, R. GREENWALD, M. A. MILLER u. R. L. BALL (2009):
Application of Elephant TB STAT-PAK assay and MAPIA (multi-antigen print immunoassay) for detection of tuberculosis and monitoring of treatment in black rhinoceros (*Diceros bicornis*).
J Zoo Wildl Med 40, 781-785
- EBANI, V. V., F. FRATINI, F. BERTELLONI, D. CERRI u. E. TORTOLI (2012):
Isolation and identification of mycobacteria from captive reptiles.
Res Vet Sci 93, 1136-1138
- ESPIE, I. W., T. M. HLOKWE, N. C. G. VAN PITTIUS, E. LANE, A. S. W. TORDIFFE, A. L. MICHEL, A. MÜLLER, A. KOTZE u. P. D. VAN HELDEN (2009):
Pulmonary infection due to *Mycobacterium bovis* in a black rhinoceros (*Diceros bicornis minor*) in South Africa.
J Wildl Dis 45, 1187-1193
- FALKINHAM, J. O. (2009):
Surrounded by mycobacteria: nontuberculous mycobacteria in the human environment.
J Appl Microbiol 107, 356-367
- FECHNER, K., J. SCHAFER, P. MUNSTER, K. TERNES, S. DORING, I. VOLKEL, F. J. KAUP u. C. P. CZERNY (2017):
Detection of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in Rock Hyraxes (*Procavia capensis*) Imported from South Africa.
J Zoo Wildl Med 48, 1086-1094
- PECTEAU, M. E., J. ROSS, B. S. TENNENT-BROWN, P. L. HABECKER, S. SREEVATSAN, R. W. SWEENEY u. R. H. WHITLOCK (2009):
Mycobacterium avium ssp. *paratuberculosis* high shedding in an adult female alpaca, and its implications for the rest of the herd.
J Vet Intern Med 23, 1311-1314

- FELDMAN, M., R. ISAZA, C. PRINS u. J. HERNANDEZ (2013):
Point prevalence and incidence of *Mycobacterium tuberculosis* complex in captive elephants in the United States of America.
Vet Q 33, 25-29
- FLAMAND, J. R., A. GRETH, J. HAAGSMA u. F. GRIFFIN (1994):
An outbreak of tuberculosis in a captive herd of Arabian oryx (*Oryx leucoryx*): diagnosis and monitoring.
Vet Rec 134, 115-118
- FORSHAW, D. u. G. R. PHELPS (1991):
Tuberculosis in a captive colony of pinnipeds.
J Wildl Dis 27, 288-295
- FORSYTH, M. B., A. J. MORRIS, D. A. SINCLAIR u. C. P. PRITCHARD (2012):
Investigation of zoonotic infections among Auckland Zoo staff: 1991–2010.
Zoonoses Public Health 59, 561-567
- FOSTER, G., K. STEVENSON, R. J. REID, J. P. BARLEY, J. L. BAILY, R. N. HARRIS u. M. P. DAGLEISH (2013):
Infection due to *Mycobacterium avium* subsp. *avium* in a Free-ranging Common Seal (*Phoca vitulina*) in Scotland.
J Wildl Dis 49, 732-734
- FOWLER, M. E. (1978)
Zoo and Wild Animal Medicine.
Verlag Saunders, Philadelphia, Pennsylvania
- FOWLER, M. E. (1978):
Sanitation and Disinfection.
In: M. E. FOWLER: Zoo and Wild Animal Medicine
Verlag Saunders, Philadelphia, Pennsylvania. S. 23-29
- GARDNER, I. A., S. HIETALA u. W. M. BOYCE (1996):
Validity of using serological tests for diagnosis of diseases in wild animals.
Rev Sci Tech 15, 323-336

GAUTHIER, D. T. u. M. W. RHODES (2009):

Mycobacteriosis in fishes: a review.

Vet J 180, 33-47

GIRLING, S. J., R. PIZZI, J. HARLEY, D. RICHARDSON u. A. W. PHILBEY (2011):

Diagnosis and management of an outbreak of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in a wildlife park in Scotland.

In: Proc Eur Assoc Zoo Wildl Vet, Lissabon, Portugal 2011

Proc, S. 84

GÖLTENBOTH, R. u. H. G. KLÖS (1995):

Krankheiten der Zoo-und Wildtiere.

Verlag Blackwell, Berlin, Deutschland

GORDEJO, F. J. R. u. J. P. VERMEERSCH (2006):

Towards eradication of bovine tuberculosis in the European Union.

Vet Microbiol 112, 101-109

GORDON, S. V. u. M. A. BEHR (2015):

Comparative mycobacteriology of the *Mycobacterium tuberculosis* complex.

In: H. MUKUNDAN, M. CHAMBERS, R. WATERS u. M. LARSEN (Hrsg.):
Tuberculosis, Leprosy and Mycobacterial Diseases of Man and Animals: The Many
Hosts of Mycobacteria

CAB International, Wallingford, United Kingdom, S. 17-29

GREENWOOD, A. D., K. TSANGARAS, S. Y. W. HO, C. A. SZENTIKS, V. M.
NIKOLIN, G. MA, A. DAMIANI, M. L. EAST, A. LAWRENZ u. H. HOFER (2012):

A potentially fatal mix of herpes in zoos.

Curr Biol 22, 1727-1731

GRETH, A., J. R. B. FLAMAND u. A. DELHOMME (1994):

An outbreak of tuberculosis in a captive herd of Arabian oryx (*Oryx leucoryx*):
management.

Vet Rec 134, 165-165

GUDAN, A., B. ARTUKOVIĆ, Ž. CVETNIĆ, S. ŠPIČIĆ, A. BECK, M. HOHŠTETER, T. NAGLIĆ, I. BATA u. Ž. GRABAREVIĆ (2008):

Disseminated tuberculosis in hyrax (*Procavia capensis*) caused by *Mycobacterium africanum*.

J Zoo Wildl Med 39, 386-391

GUTTER, A. E., S. K. WELLS u. T. R. SPRAKER (1987):

Generalized mycobacteriosis in a California sea lion (*Zalophus californicus*).

J Zoo Anim Med 18, 118-120

HABERLE, A. J. (1970):

Tuberculosis in an orangutan.

J Zoo Anim Med 1, 10-15

HABERLE, A. J. (1974):

Human exposure to primate tuberculosis.

J Zoo Anim Med 5, 31-31

HANSEN, S., M. ROLLER, L. ALSLIM, S. BÖHLKEN-FASCHER, K. FECHNER, C. P. CZERNY u. A. ABD EL WAHED (2019):

Development of Rapid Extraction Method of *Mycobacterium avium* Subspecies *paratuberculosis* DNA from Bovine Stool Samples.

MDPI Diagnostics 9, 36

HANSEN, S., J. SCHAFER, K. FECHNER, C. P. CZERNY u. A. ABD EL WAHED (2016):

Development of a Recombinase Polymerase Amplification Assay for Rapid Detection of the *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*.

PLoS One 11, e0168733

HARRENTIEN, L. A., M. V. FINNEGAN, N. L. WOODFORD, K. G. MANSFIELD, W. R. WATERS, J. P. BANNANTINE, M. L. PAUSTIAN, M. M. GARNER, A. C. BAKKE u. C. A. PELOQUIN (2006):

Mycobacterium avium in pygmy rabbits (*Brachylagus idahoensis*): 28 cases.

J Zoo Wildl Med 37, 498-512

HEARD, D. J., P. E. GINN u. L. NEUWIRTH (1997):

Mycobacterium avium-intracellulare infection in a white-faced saki (*Pithecia pithecia*).

J Zoo Wildl Med 28, 185-188

HELMAN, R. G., W. C. RUSSELL, A. JENNY, J. M. MILLER u. J. PAYEUR (1998):
Diagnosis of tuberculosis in two snow leopards using polymerase chain reaction.
J Vet Diagn Invest 10, 89-92

HENRICH, M., I. MOSER, A. WEISS u. M. REINACHER (2007):
Multiple granulomas in three squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*) caused by
Mycobacterium microti.
J Comp Pathol 137, 245-248

HERMES, R., J. SARAGUSTY, I. MOSER, S. A. BARTH, S. HOLTZE, A. LECU, J.
CRACKNELL, D. WILLIAMS, F. GÖRITZ u. T. B. HILDEBRANDT (2018):
Differential detection of tuberculous and non-tuberculous mycobacteria by qPCR in
lavage fluids of tuberculosis-suspicious white rhinoceros.
PloS One 13, e0207365

HEUSCHELE, W. P. (1995):
Use of disinfectants in zoos and game parks.
Rev Sci Tech 14, 447-447

HIMES, E. M., D. W. LUCHSINGER, J. L. JARNAGIN, C. O. THOEN, H. B. HOOD u.
D. A. FERRIN (1980):
Tuberculosis in fennec foxes.
J Am Vet Med Assoc 177, 825-826

HIMES, E. M., D. B. LYVERE, C. O. THOEN, M. A. ESSEY, J. L. LEBEL u. C. F.
FREIHEIT (1976):
Tuberculosis in greater kudu.
J Am Vet Med Assoc 169, 930-931

HIMES, E. M., W. A. WENDT, D. W. LUCHSINGER u. J. L. JARNAGIN (1982):
Mycobacterium bovis isolated from a dusky langur with granulomas in the intestine.
J Am Vet Med Assoc 181, 1355-1357

ISAZA, R. (2003):
Tuberculosis in All Taxa.
In: M. E. FOWLER u. E. R. MILLER (Hrsg.): Zoo and Wild Animal Medicine, Fifth Editon
Verlag Saunders, St. Louis, Missouri, S. 689-696

JAMES, S. B. (2012):

Children's Zoo Medicine: Zoonoses.

In: E. R. MILLER u. M. E. FOWLER (Hrsg.): Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine Current Therapy, Volume 7

Verlag Elsevier, St. Louis, Missouri, S. 115-124

JANSSEN, D. L. (2012):

Guidelines for the Management of Zoonotic Diseases.

In: E. R. MILLER u. M. E. FOWLER (Hrsg.): Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine Current Therapy, Volume 7

Verlag Elsevier, St. Louis, Missouri, S. 47-50

JANSSEN, D. L. (2015):

Guidelines for the Management of Zoonotic Diseases.

In: E. R. MILLER u. M. E. FOWLER (Hrsg.): Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine Current Therapy, Volume 8

Verlag Elsevier, St. Louis, Missouri, S. 733-734

JESSUP, D. A., B. ABBAS u. D. BEHYMER (1981):

Paratuberculosis in tule elk in California.

J Am Vet Med Assoc 179, 1252-1254

JESSUP, D. A. u. E. S. WILLIAMS (1999):

Paratuberculosis in free-ranging wildlife in North America.

In: M. E. FOWLER u. E. R. MILLER (Hrsg.): Zoo and Wild Animal Medicine Current Therapy 4

Verlag Saunders, Philadelphia, Pennsylvania, S. 616-620

JOHNE, H. A. u. L. FROTHINGHAM (1895):

Ein eigenthuemlicher fall von tuberculose beim rind.

Dtsch Z Tiermed Pathol 21, 438-454

JONES, D. M., V. J. A. MANTON u. P. CAVANAGH (1976):

Tuberculosis in a herd of Axis deer (*Axis axis*) at Whipsnade Park.

Vet Rec 98, 525-526

JONES, K. E., N. G. PATEL, M. A. LEVY, A. STOREYGARD, D. BALK, J. L. GITTLEMAN u. P. DASZAK (2008):

Global trends in emerging infectious diseases.

Nature 451, 990-993

JOSLIN, J. O. (1990):

Mycobacterial infections in tree kangaroos.

In: Proc Am Assoc Zoo Vet, South Padre Island, Texas 1990

Proc, S. 145-153

JUNCKER-VOSS, M., H. PROSL, H. LUSSY, U. ENZENBERG, H. AUER, H. LASSNIG, M. MÜLLER u. N. NOWOTNY (2004):

Screening for antibodies against zoonotic agents among employees of the Zoological Garden of Vienna, Schönbrunn, Austria.

Berl Munch Tierarztl Wochenschr 117, 404-409

JURCZYNSKI, K., K. P. LYASHCHENKO, D. GOMIS, I. MOSER, R. GREENWALD u. P. MOISSON (2011):

Pinniped tuberculosis in Malayan tapirs (*Tapirus indicus*) and its transmission to other terrestrial mammals.

J Zoo Wildl Med 42, 222-227

JURCZYNSKI, K., D. WIDMER, S. LANGER, H. KEMPF, K. BAUMGARTNER, M. FLUEGGER u. A. PAHL (2013):

Aviäre Tuberkulose bei Humboldtpinguinen (*Spheniscus humboldti*) - Grenzen der Diagnostik.

In: 32. Arbeitstagung der Zootierärzte im deutschsprachigen Raum, Landau, Deutschland 2012

Verh.ber., S. 196-198

KAANDORP, J. (2012):

Veterinary Challenges of Mixed Species Exhibits.

In: E. R. MILLER u. M. E. FOWLER (Hrsg.): Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine Current Therapy, Volume 7

Verlag Elsevier, St. Louis, Missouri, S. 24-31

KAANDORP, J. (2015):

The EAZWV and AAZV Infectious Diseases Notebooks.

In: E. R. MILLER u. M. E. FOWLER (Hrsg.): Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine Current Therapy, Volume 8

Verlag Elsevier, St. Louis, Missouri, S. 670-673

KAANDORP J., A. LÉCU u. R. FUIZA 2019

Transmissible Diseases Handbook, 5th Edition

European Association of Zoo and Wildlife Veterinarians

https://www.eazwv.org/page/inf_handbook

KAEWAMATAWONG, T., W. BANLUNARA, A. RUNGSIPIPAT, N. PIRARAT, S. PURANAVEJA u. A. SOMMANUSTWEECHAI (2010):

Disseminated tuberculosis in captive Malayan tapir (*Tapirus indicus*).

Thai J Vet Med 40, 427-431

KÄLLENIUS, G., G. BÖLSKE, A. INNERSTEDT, M. RAMBERG, B. O. RÖKEN u. S. B. SVENSON (1993):

Did the tapir infect the ape of vice versa? A new technique for tracing tuberculosis.

Lakartidningen 90, 4658

KARESH, W. B., R. A. COOK, E. L. BENNETT u. J. NEWCOMB (2005):

Wildlife trade and global disease emergence.

Emerg Infect Dis 11, 1000

KARLSTAM, E., E. ÅGREN, T. MÖLLER, G. RAMIS, G. BÖLSKE, B. RÖKEN, K. P. LYASHCHENKO u. D. GAVIER-WIDÉN (2015):

Mycobacterium tuberculosis infection in captive white rhinoceroses (*Ceratotherium simum simum*).

J Comp Pathol 1, 54

KEYMER, I. F., D. M. JONES, S. L. PUGSLEY u. P. F. WADSWORTH (1982):

A survey of tuberculosis in birds in the Regent's Park gardens of the Zoological Society of London.

Avian Pathol 11, 563-569

KIERS, A., A. KLARENBECK, B. MENDELTS, D. VAN SOOLINGEN u. G. KOËTER (2008):

Transmission of *Mycobacterium pinnipedii* to humans in a zoo with marine mammals.
Int J Tuberc Lung Dis 12, 1469-1473

KILBOURN, A. M., H. P. GODFREY, R. A. COOK, P. P. CALLE, E. J. BOSI, S. I. BENTLEY-HIBBERT, K. HUYGEN, M. ANDAU, M. ZICCARDI u. W. B. KARESH (2001):

Serum antigen 85 levels in adjunct testing for active mycobacterial infections in orangutans.

J Wildl Dis 37, 65-71

KING, N. W. (1993):

Mycobacterium avium-intracellulare Infection.

In: T. C. JONES, U. MOHR u. R. D. HUNT (Hrsg.): Nonhuman Primates I
Springer-Verlag, Berlin, Deutschland. S. 57-63

KIUPEL, M., R. MECKLEM, B. HUNSINGER u. R. E. MARSCHANG (2004):

Guidlines for Cleaning and Disinfection in Zoological Gardens.

In: J. KAANDORP (Hrsg.): Transmissible diseases handbook
Verlag Van Setten Kwadraat, Houten, Niederlande. S. 155-172

KLÖS, H.-G. u. E. M. LANG (1976):

Zootierkrankheiten: Krankheiten von Wildtieren im Zoo, Wildpark, Zirkus und in Privathand sowie ihre Therapie.

Verlag Paul Parey, Berlin, Deutschland

KRIZ, P., P. KRALIK, M. SLANY, I. SLANA, J. SVOBODOVA, I. PARMOVA, V. BARNET, V. JUREK u. I. PAVLIK (2011):

Mycobacterium pinnipedii in a captive Southern sea lion (*Otaria flavescens*): a case report.

Vet Med (Praha) 6, 307-313

KRÜGER, M. (2002):

Allgemeine Bakteriologie.

In: M. ROLLE u. A. MAYR (Hrsg.): Medizinische Mikrobiologie, Infektions-und Seuchenlehre

Enke Verlag, Stuttgart, Deutschland. S. 377-416

KUIKEN, T., F. A. LEIGHTON, R. A. M. FOUCHIER, J. W. LEDUC, J. S. M. PEIRIS, A. SCHUDEL, K. STÖHR u. A. D. M. E. OSTERHAUS (2005):

Pathogen surveillance in animals.

Science 309, 1680-1681

LACASSE, C., K. TERIO, M. J. KINSEL, L. L. FARINA, D. A. TRAVIS, R. GREENWALD, K. P. LYASHCHENKO, M. A. MILLER u. K. C. GAMBLE (2007):

Two cases of atypical mycobacteriosis caused by *Mycobacterium szulgai* associated with mortality in captive African elephants (*Loxodonta africana*).

J Zoo Wildl Med 38, 101-107

LAMBERSKI, N. (1999):

Nontuberculous Mycobacteria: Potential for Zoonosis.

In: M. E. FOWLER u. E. R. MILLER (Hrsg.): Zoo and Wild Animal Medicine Current Therapy 4

Verlag Saunders, Philadelphia, Pennsylvania, S. 146-150

LANGAN, J. N. (2012):

Integrated Pest Management.

In: E. R. MILLER u. M. E. FOWLER (Hrsg.): Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine Current Therapy, Volume 7

Verlag Elsevier, St. Louis, Missouri, S. 51-59

LANTOS, Á., S. NIEMANN, L. MEZŐSI, E. SÓS, K. ERDÉLYI, S. DÁVID, L. M. PARSONS, T. KUBICA, S. RÜSCH-GERDES u. Á. SOMOSKÖVI (2003):

Pulmonary tuberculosis due to *Mycobacterium bovis* in Captive Siberian Tiger.

Emerg Infect Dis 9, 1462

LEATHERS, C. W. u. J. T. E. HAMM (1976):

Naturally occurring tuberculosis in a squirrel monkey and a cebus monkey.

J Am Vet Med Assoc 169, 909-911

LÉCU, A. (2019):

Mycobacterium pinnipedii.

In: E. R. MILLER, N. LAMBERSKI u. P. P. CALLE (Hrsg.): Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine Current Therapy, Volume 9

Verlag Elsevier, St. Louis, Missouri, S. 603-609

LÉCU, A. u. R. L. BALL (2011):

Mycobacterial infections in zoo animals: relevance, diagnosis and management.

Int Zoo Yearb 45, 183-202

LÉCU, A. u. R. L. BALL (2015):

Recent updates for antemortem tuberculosis diagnostics in zoo animals.

In: E. R. MILLER u. M. E. FOWLER (Hrsg.): Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine Current Therapy, Volume 8

Verlag Elsevier, St. Louis, Missouri, S. 703-710

LEDWON, A., P. SZELESZCZUK, Z. ZWOLSKA, E. AUGUSTYNOWICZ-KOPEC u. M. KOZAK (2008):

Occurrence of *Mycobacterium* in the faeces of parrots kept in zoological gardens and private aviaries in Poland.

Bull Vet Inst Pulawy 52, 341-346

LEJEUNE, J. T. u. M. A. DAVIS (2004):

Outbreaks of zoonotic enteric disease associated with animal exhibits.

J Am Vet Med Assoc 224, 1440-1445

LEWERIN, S. S., K. ELD, G. BÖLSKE, S. L. OLSSON, B. RÖKEN, S. GHEBREMICHAEL, T. KOIVULA u. G. KÄLLENIUS (2005):

Outbreak of *Mycobacterium tuberculosis* infection among captive Asian elephants in a Swedish zoo.

Vet Rec 156, 171-175

LLOYD, M. L. (2012):

Disaster Preparation for Captive Wildlife Veterinarians.

In: E. R. MILLER u. M. E. FOWLER (Hrsg.): Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine Current Therapy, Volume 7

Verlag Elsevier, St. Louis, Missouri, S. 38-46

LOMME, J. R., C. O. THOEN, E. M. HIMES, J. W. VINSON u. R. E. KING (1976):

Mycobacterium tuberculosis infection in two East African oryxes.

J Am Vet Med Assoc 169, 912-914

LONGCORE, J. E., A. P. PESSIER u. D. K. NICHOLS (1999):

Batrachochytrium dendrobatidis gen. et sp. nov., a chytrid pathogenic to amphibians.

Mycologia 91, 219-227

LOWENSTINE, L. J. (1999):

Health Problems in Mixed-Species Exhibits.

In: M. E. FOWLER u. E. R. MILLER (Hrsg.): Zoo and Wild Animal Medicine Current Therapy 4

Verlag Saunders, Philadelphia, Pennsylvania. S. 26-29

LUMEIJ, J. T., R. HAJER, K. J. DIK, G. M. DORRESTEIN u. H. W. ENGEL (1987):

Diagnosis of pulmonary *Mycobacterium bovis* infection in a tiger.

Vet Rec 120, 302-304

LUTZE-WALLACE, C., C. TURCOTTE, G. J. GLOVER, D. V. COUSINS, J. BELL, G. BERLIE-SURUJBALLI, Y. BARBEAU u. G. RANDALL (2006):

Isolation of a *Mycobacterium microti*-like organism from a rock hyrax (*Procavia capensis*) in a Canadian zoo.

Can Vet J 47, 1011

MACKINTOSH, C. G., R. E. LABES, R. G. CLARK, G. W. DE LISLE u. J. F. GRIFFIN (2007):

Experimental infections in young red deer (*Cervus elaphus*) with a bovine and an ovine strain of *Mycobacterium avium* subsp *paratuberculosis*.

N Z Vet J 55, 23-29

MANN, P. C., R. M. BUSH, D. L. JANSSEN, E. S. FRANK u. R. J. MONTALI (1981):

Clinicopathologic correlations of tuberculosis in large zoo mammals.

J Am Vet Med Assoc 179, 1123-1129

MANN, P. C., R. J. MONTALI u. M. BUSH (1982):

Mycobacterial osteomyelitis in captive marsupials.

J Am Vet Med Assoc 181, 1331-1333

MANNING, E. (1998):

Johne's Disease in Non-domestic Hoofstock: Issues and Overview.

In: Proceedings of the Workshop on Diagnosis, Prevention, and Control of Johne's Disease in Non-Domestic Hoofstock, White Oak Conservation Center, Yulee, Florida 1998

Proc, S. 7-11

MANNING, E. J. (2011):

Paratuberculosis in captive and free-ranging wildlife.

Vet Clin North Am Food Anim Pract 27, 621-630

MANNING, E. J. u. M. T. COLLINS (2001):

Mycobacterium avium subsp. *paratuberculosis*: pathogen, pathogenesis and diagnosis.

Rev Sci Tech 20, 133-150

MANNING, E. J. u. J. M. SLEEMAN (2012):

Johne's Disease and Free-Ranging Wildlife.

In: E. R. MILLER u. M. E. FOWLER (Hrsg.): Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine Current Therapy, Volume 7

Verlag Elsevier, St. Louis, Missouri, S. 628-635

MARKOWSKI, S. (2013)

Tierart- und erregerspezifische Maßnahmen zur Optimierung des Gesundheitsmanagements für nordamerikanische Säugetiere in Zoologischen Gärten.

Hannover, tierärztl Hoschsch, Diss.

MATOS, A. C., L. FIGUEIRA, M. MATOS, M. L. PINTO u. A. C. COELHO (2015):

Seroprevalence of *Mycobacterium avium* Complex in Wild Mammals in the Iberian Peninsula.

J Hell Vet Med Soc 66, 177-184

MAYR, A. (2002):

Grundlagen der allgemeinen medizinischen Mikrobiologie, Infektions-und Seuchenlehre.

In: M. ROLLE u. A. MAYR (Hrsg.): Medizinische Mikrobiologie, Infektions-und Seuchenlehre

Enke Verlag, Stuttgart, Deutschland. S. 1-62

MCCALLUM, H. u. A. DOBSON (1995):

Detecting disease and parasite threats to endangered species and ecosystems.

Trends Ecol Evol 10, 190-194

- MCORIST, S., I. V. JERRETT, M. ANDERSON u. J. A. HAYMAN (1985):
Cutaneous and Respiratory Tract Infection with *Mycobacterium ulcerans* in Two Koalas (*Phascolarctos cinereus*).
J Wildl Dis 21, 171-173
- MESSENGER, A. M., A. N. BARNES u. G. C. GRAY (2014):
Reverse Zoonotic Disease Transmission (Zooanthroponosis): A Systematic Review of Seldom-Documented Human Biological Threats to Animals.
PloS One 9, e89055
- MICHALAK, K., C. AUSTIN, S. DIESEL, M. J. BACON, P. ZIMMERMAN u. J. N. MASLOW (1998):
Mycobacterium tuberculosis Infection as a Zoonotic Disease: Transmission between Humans and Elephants.
Emerg Infect Dis 4, 283
- MICHEL, A. L., L. VENTER, I. W. ESPIE u. M. L. COETZEE (2003):
Mycobacterium tuberculosis Infections in Eight Species at the National Zoological Gardens of South Africa, 1991–2001.
J Zoo Wildl Med 34, 364-370
- MIJS, W., P. DE HAAS, R. ROSSAU, T. VAN DER LAAN, L. RIGOUTS, F. PORTAELS u. D. VAN SOOLINGEN (2002):
Molecular evidence to support a proposal to reserve the designation *Mycobacterium avium* subsp. *avium* for bird-type isolates and '*M. avium* subsp. *hominissuis*' for the human/porcine type of *M. avium*.
Int J Syst Evol Microbiol 52, 1505-1518
- MIKOTA, S. K., K. P. LYASHCHENKO, L. LOWENSTINE, D. AGNEW u. J. N. MASLOW (2015):
Mycobacterial Infections in Elephants.
In: H. MUKUNDAN, M. CHAMBERS, R. WATERS u. M. LARSEN (Hrsg.):
Tuberculosis, Leprosy and Mycobacterial Diseases of Man and Animals: The Many Hosts of Mycobacteria
CAB International, Wallingford, United Kingdom, S. 259-276

MIKOTA, S. K., L. PEDDIE, J. PEDDIE, R. ISAZA, F. DUNKER, G. WEST, W. LINDSAY u. R. S. LARSEN (2001):

Epidemiology and Diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* in Captive Asian Elephants (*Elephas maximus*).

J Zoo Wildl Med 32, 1-16

MILLER, M. A. (2008):

Current Diagnostic Methods for Tuberculosis in Zoo Animals.

In: M. E. FOWLER u. E. R. MILLER (Hrsg.): Zoo and Wild Animal Medicine Current Therapy, Volume 6

Verlag Elsevier, St. Louis, Missouri, S. 10-19

MILLER, M. A., M. V. FINNEGAN, T. STORMS, M. GARNER u. K. P. LYASHCHENKO (2018):

Outbreak of *Mycobacterium tuberculosis* in a herd of captive Asian elephants (*Elephas maximus*): Antemortem diagnosis, treatment, and lessons learned.

J Zoo Wildl Med 49, 748-754

MILLER, M. A. u. K. P. LYASHCHENKO (2015):

Mycobacterial Infections in Other Zoo Animals.

In: H. MUKUNDAN, M. CHAMBERS, R. WATERS u. M. LARSEN (Hrsg.): Tuberculosis, Leprosy and Mycobacterial Diseases of Man and Animals: The Many Hosts of Mycobacteria

CAB International, Wallingford, United Kingdom, S. 277-295

MILLER, M. A., A. L. MICHEL, P. D. VAN HELDEN u. P. BUSS (2017):

Tuberculosis in Rhinoceros: An Underrecognized Threat?

Transbound Emerg Dis 64, 1071-1078

MILLER, M. A., S. P. TERRELL, K. P. LYASHCHENKO, R. GREENWALD, B. HARRIS, B. V. THOMSEN, D. FONTENOT, M. D. STETTER, D. NEIFFER u. G. FLEMING (2011):

Mycobacterium kansasii Infection in a Bontebok (*Damaliscus pygargus dorcus*) Herd: Diagnostic Challenges in Differentiating from the *Mycobacterium tuberculosis* Complex.

J Zoo Wildl Med 42, 468-472

MILLER, R. E. (1996):

Quarantine protocols and preventive medicine procedures for reptiles, birds and mammals in zoos.

Rev Sci Tech 15, 183-189

MILLER, R. E. (1999):

Quarantine: A Necessity for Zoo and Aquarium Animals.

In: M. E. FOWLER u. E. R. MILLER (Hrsg.): Zoo and Wild Animal Medicine Current Therapy 4

Verlag Saunders, Philadelphia, Pennsylvania, S. 13-17

MITCHELL, M. A. (2012):

Mycobacterial infections in reptiles.

Vet Clin North Am Exot Anim Pract 15, 101-111

MITCHELL, P. J., I. V. JERRETT u. K. J. SLEE (1984):

Skin ulcers caused by *Mycobacterium ulcerans* in koalas near Bairnsdale, Australia.

Pathology 16, 256-260

MITCHELL, P. J., S. MCORIST u. R. BILNEY (1987):

Epidemiology of *Mycobacterium ulcerans* infection in koalas (*Phascolarctos cinereus*) on Raymond Island, southeastern Australia.

J Wildl Dis 23, 386-390

MONDAL, D., P. GHOSH, M. A. A. KHAN, F. HOSSAIN, S. BÖHLKEN-FASCHER, G. MATLASHEWSKI, A. KROEGER, P. OLLIARO u. A. A. EL WAHED (2016):

Mobile suitcase laboratory for rapid detection of *Leishmania donovani* using recombinase polymerase amplification assay.

Parasit Vectors 9, 281

MONTALI, R. J., M. BUSH, R. L. CROMIE, S. M. HOLLAND, J. N. MASLOW, M. WORLEY, F. G. WITEBSKY u. T. M. PHILLIPS (1998):

Primary *Mycobacterium avium* Complex Infections Correlate with Lowered Cellular Immune Reactivity in Matschie's Tree Kangaroos (*Dendrolagus matschiei*).

J Infect Dis 178, 1719-1725

MONTALI, R. J., M. BUSH, C. O. THOEN u. E. SMITH (1976):

Tuberculosis in captive exotic birds.

J Am Vet Med Assoc 169, 920-927

MONTALI, R. J., S. K. MIKOTA u. L. I. CHENG (2001):

Mycobacterium tuberculosis in zoo and wildlife species.

Rev Sci Tech 20, 291-303

MORAVKOVA, M., V. MRLIK, I. PARMOVA, P. KRIZ u. I. PAVLIK (2013):

High incidence of *Mycobacterium avium* subspecies *hominissuis* infection in a zoo population of bongo antelopes (*Tragelaphus eurycerus*).

J Vet Diagn Invest 25, 531-534

MORRIS, P. J., C. O. THOEN u. A. M. LEGENDRE (1996):

Pulmonary Tuberculosis in an African Lion (*Panthera leo*).

J Zoo Wildl Med 27, 392-396

MOSER, I., W. M. PRODINGER, H. HOTZEL, R. GREENWALD, K. P. LYASHCHENKO, D. BAKKER, D. GOMIS, T. SEIDLER, C. ELLENBERGER u. U. HETZEL (2008):

Mycobacterium pinnipedii: Transmission from South American sea lion (*Otaria byronia*) to Bactrian camel (*Camelus bactrianus bactrianus*) and Malayan tapirs (*Tapirus indicus*).

Vet Microbiol 127, 399-406

MUKUNDAN, H., M. CHAMBERS, R. WATERS u. M. LARSEN (2015):

Tuberculosis, Leprosy and Mycobacterial Diseases of Man and Animals: The Many Hosts of Mycobacteria.

CAB International, Wallingford, United Kingdom

MÜNSTER, P., K. FECHNER, I. VOLKEL, A. VON BUCHHOLZ u. C. P. CZERNY (2013a):

Distribution of *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* in a German zoological garden determined by IS900 semi-nested and quantitative real-time PCR.

Vet Microbiol 163, 116-123

MÜNSTER, P., I. VÖLKEL, A. VON BUCHHOLZ u. C. P. CZERNY (2013b):

Detection of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* by IS900-based PCR assays from an alpaca (*Vicugna pacos*) kept in a German Zoological Garden.

J Zoo Wildl Med 44, 176-180

MURAKAMI, P. S., F. MONEGO, J. L. HO, A. GIBSON, R. G. D. DE CASTRO, G. C. G. SORESINI, S. R. BROCKELT, S. M. BIESDORF, R. B. N. FUVERKI u. S. M. NAKATANI (2012a):

An outbreak of tuberculosis by *Mycobacterium bovis* in coatis (*Nasua nasua*).

J Zoo Wildl Med 43, 338-341

MURAKAMI, P. S., F. MONEGO, J. L. HO, A. GIBSON, M. L. JAVOROUSKI, M. BONAT, O. LACERDA, S. R. BROCKELT, S. M. BIESDORF u. S. M. NAKATANI (2012b):

Detection of RD RIO strain of *Mycobacterium tuberculosis* in tapirs (*Tapirus terrestris*) from a zoo in Brazil.

J Zoo Wildl Med 43, 872-875

MURPHREE, R., J. V. WARKENTIN, J. R. DUNN, W. SCHAFFNER u. T. F. JONES (2011):

Elephant-to-Human Transmission of Tuberculosis, 2009.

Emerg Infect Dis 17, 366-371

NADLER, Y. (2019):

Contingency Planning for All Hazards and Foreign Animal Disease.

In: E. R. MILLER, N. LAMBERSKI u. P. P. CALLE (Hrsg.): Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine Current Therapy, Volume 9

Verlag Elsevier, St. Louis, Missouri. S. 45-52

NAPIER, J. E., S. H. HINRICHS, F. LAMPEN, P. C. IWEN, R. S. WICKERT, J. L. GARRETT, T. A. ADEN, E. RESTIS, T. G. CURRO u. L. G. SIMMONS (2009):

An Outbreak of Avian Mycobacteriosis Caused by *Mycobacterium intracellulare* in Little Blue Penguins (*Eudyptula minor*).

J Zoo Wildl Med 40, 680-686

NAYLOR, A. D., D. RICHARDSON, M. SELLAR, J. HARLEY, A. W. PHILBEY u. S. J. GIRLING (2018):

Clinical Signs, Antemortem Diagnostics, and Pathological Findings Associated with *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* Infection in Mishmi Takin (*Budorcas taxicolor taxicolor*).

J Zoo Wildl Med 49, 412-419

OH, P., R. GRANICH, J. SCOTT, B. SUN, M. JOSEPH, C. STRINGFIELD, S. THISDELL, J. STALEY, D. WORKMAN-MALCOLM u. L. BORENSTEIN (2002):

Human Exposure following *Mycobacterium tuberculosis* Infection of Multiple Animal Species in a Metropolitan Zoo.

Emerg Infect Dis 8, 1290-1293

PALGRAVE, C. J., L. BENATO, K. EATWELL, I. F. LAURENSEN u. N. H. SMITH (2012):

Mycobacterium microti Infection in Two Meerkats (*Suricata suricatta*).

J Comp Pathol 146, 278-282

PALLASKE, G. (1965):

Zur generalisierten Paratuberkulose (Johne's Disease).

Wien Tierarztl Monatsschr 52, 403-415

PATE, M., T. ŠVARA, M. GOMBAČ, T. PALLER, M. ŽOLNIR-DOVČ, I. EMERŠIČ, W. M. PRODINGER, M. BARTOŠ, I. ZDOVC u. B. KRT (2006):

Outbreak of Tuberculosis Caused by *Mycobacterium caprae* in a Zoological Garden.

J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health 53, 387-392

PAUSTIAN, M. L., X. ZHU, S. SREEVATSAN, S. ROBBE-AUSTERMAN, V. KAPUR u. J. P. BANNANTINE (2008):

Comparative genomic analysis of *Mycobacterium avium* subspecies obtained from multiple host species.

BMC genomics 9, 135-149

PEREIRA, W. L. A., M. K. M. BERNAL, C. E. D. CAMPOS, J. DE ARIMATÉIA FREITAS, Y. C. RODRIGUES, K. V. B. LIMA, A. D. A. CECIM u. A. J. S. DE SOUZA (2018):

Tuberculosis Caused by *Mycobacterium tuberculosis* Complex in a Captive Tapir (*Tapirus terrestris*).

Acta Sci Vet 46, 321-323

PHILIPPA, J. D. W. (2004):

Vaccination of non-domestic carnivores: a review.

In: J. KAANDORP (Hrsg.): Transmissible diseases handbook

Verlag Van Setten Kwadraat, Houten, Niederlande. S. 173-202

PHILIPPA, J. D. W., V. J. MUNSTER, H. VAN BOLHUIS, T. M. BESTEBROER, W. SCHAFTENAAR, W. E. P. BEYER, R. A. M. FOUCHIER, T. KUIKEN u. A. D. M. E. OSTERHAUS (2005):

Highly pathogenic avian influenza (H7N7): vaccination of zoo birds and transmission to non-poultry species.

Vaccine 23, 5743-5750

PLESKER, R., K. TESCHNER, O. BEHLERT, E. PRENGER-BERNINGHOFF u. D. HILLEMANN (2010):

Airborne *Mycobacterium avium* infection in a group of red-shanked douc langurs (*Pygathrix nemaeus nemaeus*).

J Med Primatol 39, 129-135

PORTAELS, F., K. CHEMLAL, P. ELSSEN, P. D. R. JOHNSON, J. A. HAYMAN, J. HIBBLE, R. KIRKWOOD u. W. M. MEYERS (2001):

Mycobacterium ulcerans in wild animals.

Rev Sci Tech 20, 252-264

PORTAELS, F., L. REALINI, L. BAUWENS, B. HIRSCHHEL, W. M. MEYERS u. W. DE MEURICHY (1996):

Mycobacteriosis Caused by *Mycobacterium genavense* in Birds Kept in a zoo: 11-Year Survey.

J Clin Microbiol 34, 319-323

PORTAS, T. J., B. R. BRYANT, S. L. JONES, K. HUMPHREYS, C. M. GILPIN u. K. A. ROSE (2009):

Investigation and diagnosis of nontuberculous mycobacteriosis in a captive herd of aoudad (*Ammotragus lervia*).

J Zoo Wildl Med 40, 306-315

PROBST, C., S. SPECK u. H. HOFER (2011):

Serosurvey of zoo ungulates in central Europe.

Int Zoo Yearb 45, 168-182

QUIST, C. F. (1998):

Paratuberculosis in Free-Ranging Wildlife.

In: Proceedings of the Workshop on Diagnosis, Prevention, and Control of Johne's Disease in Non-Domestic Hoofstock, White Oak Conservation Center, Yulee, Florida 1998

Proc, S. 31-36

RASTOGI, N., E. LEGRAND u. C. SOLA (2001):

The mycobacteria: an introduction to nomenclature and pathogenesis.

Rev Sci Tech 20, 21-54

RENNER, M. u. W. R. BARTHOLOMEW (1974):

Mycobacteriologic data from two outbreaks of bovine tuberculosis in nonhuman primates.

Am Rev Respir Dis 109, 11-16

RIDEOUT, B. u. C. HADFIELD (2019):

Disease Risks to Native Wildlife From Zoos and Aquariums.

In: E. R. MILLER, N. LAMBERSKI u. P. P. CALLE (Hrsg.): Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine Current Therapy, Volume 9

Verlag Elsevier, St. Louis, Missouri, S. 99-103

RIETSCHEL, W. (2004):

Tb or not Tb (nicht von Shakespeare).

Zool Garten 74, 289-298

RIGGS, G. (2012):

Avian Mycobacterial Disease.

In: E. R. MILLER u. M. E. FOWLER (Hrsg.): Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine Current Therapy, Volume 7

Verlag Elsevier, St. Louis, Missouri, S. 266-274

ROBERTS, J. A. (1993):

Quarantine.

In: M. E. FOWLER (Hrsg.): Zoo and Wild Animal Medicine Current Therapy 3

Verlag Saunders, Philadelphia, Pennsylvania, S. 326-331

ROCHA, V. C. M., C. Y. IKUTA, M. S. GOMES, F. QUAGLIA, E. R. MATUSHIMA u. J. S. F. NETO (2011):

Isolation of *Mycobacterium tuberculosis* from captive Ateles paniscus.

Vector Borne Zoonotic Dis 11, 593-594

RODRIGUEZ-CAMPOS, S., N. H. SMITH, M. B. BONIOTTI u. A. ARANAZ (2014):
Overview and phylogeny of *Mycobacterium tuberculosis* complex organisms:
implications for diagnostics and legislation of bovine tuberculosis.

Res Vet Sci 97, 5-19

ROJAS-ESPINOSA, O. (2001):

Mycobacterial infections in domestic and wild animals: *Mycobacterium leprae* and
Mycobacterium lepraemurium.

Rev Sci Tech 20, 219-251

ROTHSCHILD, B. M. u. R. LAUB (2006):

Hyperdisease in the late Pleistocene: validation of an early 20th century hypothesis.

Naturwissenschaften 93, 557-564

SALCHOW, A. (2018)

Untersuchung zum Vorkommen und zur Bedeutung ausgewählter Mykobakterien bei
Zootieren.

Berlin, Freie Univ, Fachber Veterinärmed, Diss.

SANDERSON, S. (2012):

Bluetongue: Lessons from the European Outbreak 2006-2009.

In: E. R. MILLER u. M. E. FOWLER (Hrsg.): Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine
Current Therapy, Volume 7

Verlag Elsevier, St. Louis, Missouri, S. 573-580

SATO, T., H. SHIBUYA, S. OHBA, T. NOJIRI u. W. SHIRAI (2003):

Mycobacteriosis in two captive Florida manatees (*Trichechus manatus latirostris*).

J Zoo Wildl Med 34, 184-188

SCHAFTENAAR, W. (2002):

Use of vaccination against foot and mouth disease in zoo animals, endangered species
and exceptionally valuable animals.

Rev Sci Tech 21, 613-619

SCHAFTENAAR, W., A. LÉCU, R. GREENWALD u. K. P. LYASHCHENKO (2013):

Retrospective serological investigation of bovine tuberculosis in two gemsbok (*Oryx
gazelle gazelle*) and an onager (*Equus hemionus onager*).

J Zoo Wildl Med 44, 1036-1042

- SCHEIBE, T., S. KLOMBURG, W. BAUMGÄRTNER u. S. ZIEGLER (2012):
"Vogeltuberkulose" - (*Mycobacterium avium* spp.-Infektionen) bei Blauhalsstraußen.
In: 31. Arbeitstagung der Zootierärzte im deutschsprachigen Raum, Dresden,
Deutschland 2011
Verh.ber., S. 136-143
- SCHMIDBAUER, S. M., P. WOHLSEIN, G. KIRPAL, A. BEINEKE, G. MÜLLER, H.
MÜLLER, I. MOSER u. W. BAUMGARTNER (2007):
Outbreak of *Mycobacterium bovis* infection in a wild animal park.
Vet Rec 161, 304-307
- SCHRENZEL, M., M. NICOLAS, C. L. WITTE, R. PAPENDICK, T. TUCKER, L.
KEENER, M. SUTHERLAND-SMITH, N. LAMBERSKI, D. ORNDORFF u. D.
HECKARD (2008):
Molecular epidemiology of *Mycobacterium avium* subsp. *avium* and *Mycobacterium*
intracellulare in captive birds.
Vet Microbiol 126, 122-131
- SHOJAEI, H., J. G. MAGEE, R. FREEMAN, M. YATES, N. U. HORADAGODA u. M.
GOODFELLOW (2000):
Mycobacterium elephantis sp. nov., a rapidly growing non-chromogenic
Mycobacterium isolated from an elephant.
Int J Syst Evol Microbiol 50, 1817-1820
- SIMPSON, G., R. ZIMMERMAN, E. SHASHKINA, L. CHEN, M. RICHARD, C. M.
BRADFORD, G. A. DRAGOO, R. L. SAIERS, C. A. PELOQUIN u. C. L. DALEY (2017):
Mycobacterium tuberculosis Infection among Asian Elephants in Captivity.
Emerg Infect Dis 23, 513-516
- SMITH, K. M., C. ZAMBRANA-TORRELIO, A. WHITE, M. ASMUSSEN, C.
MACHALABA, S. KENNEDY, K. LOPEZ, T. M. WOLF, P. DASZAK u. D. A. TRAVIS
(2017):
Summarizing US Wildlife Trade with an Eye Toward Assessing the Risk of Infectious
Disease Introduction.
EcoHealth 14, 29-39

SOLDATI, G., Z. H. LU, L. VAUGHAN, A. POLKINGHORNE, D. R. ZIMMERMANN, J. B. HUDER u. A. POSPISCHIL (2004):

Detection of Mycobacteria and Chlamydiae in Granulomatous Inflammation of Reptiles: A Retrospective Study.

Vet Pathol 41, 388-397

SPELMAN, L. H. (1999):

Vermin Control.

In: M. E. FOWLER u. E. R. MILLER (Hrsg.): Zoo and Wild Animal Medicine Current Therapy 4

Verlag Saunders, Philadelphia, Pennsylvania, S. 114-120

ST-JEAN, G. (1996):

Treatment of clinical paratuberculosis in cattle.

Vet Clin North Am Food Anim Pract 12, 417-430

STABEL, J. R., J. P. BANNANTINE u. J. HOSTETTER (2015):

Mycobacterium avium subsp. *paratuberculosis* infection, immunology and pathology of livestock.

In: H. MUKUNDAN, M. CHAMBERS, R. WATERS u. M. LARSEN (Hrsg.): Tuberculosis, Leprosy and Mycobacterial Diseases of Man and Animals: The Many Hosts of Mycobacteria

CAB International, Wallingford, United Kingdom. S. 512-537

STEPHENS, N., L. VOGELNEST, C. LOWBRIDGE, A. CHRISTENSEN, G. B. MARKS, V. SINTCHENKO u. J. MCANULTY (2013):

Transmission of *Mycobacterium tuberculosis* from an Asian elephant (*Elephas maximus*) to a chimpanzee (*Pan troglodytes*) and humans in an Australian zoo.

Epidemiol Infect 141, 1488-1497

STERNBERG, S., K. BERNODT, A. HOLMSTRÖM u. B. RÖKEN (2002):

Survey of tuberculin testing in Swedish zoos.

J Zoo Wildl Med 33, 378-380

STETTER, M. D., S. K. MIKOTA, A. F. GUTTER, E. R. MONTERROSO, J. R. DALOVISIO, C. DEGRAW u. T. FARLEY (1995):

Epizootic of *Mycobacterium bovis* in a zoologic park.

J Am Vet Med Assoc 207, 1618-1621

SWEENEY, R. W. (1996):

Transmission of paratuberculosis.

Vet Clin North Am Food Anim Pract 12, 305-312

SWEENEY, R. W., J. UZONNA, R. H. WHITLOCK, P. L. HABECKER, P. CHILTON u. P. SCOTT (2006):

Tissue predilection sites and effect of dose on *Mycobacterium avium* subs. *paratuberculosis* organism recovery in a short-term bovine experimental oral infection model.

Res Vet Sci 80, 253-259

TARARA, R., M. A. SULEMAN, R. SAPOLSKY, M. J. WABOMBA u. J. G. ELSE (1985):

Tuberculosis in wild olive baboons, *Papio cynocephalus anubis* (Lesson), in Kenya.

J Wildl Dis 21, 137-140

THAPA, J., S. PAUDEL, A. SADAULA, Y. SHAH, B. MAHARJAN, G. E. KAUFMAN, D. MCCAULEY, K. P. GAIRHE, T. TSUBOTA u. Y. SUZUKI (2016):

Mycobacterium orygis–Associated Tuberculosis in Free-Ranging Rhinoceros, Nepal, 2015.

Emerg Infect Dis 22, 570-572

THEUSS, T., H. AUPPERLE, K. EULENBERGER, H.-A. SCHOON u. E. RICHTER (2010):

Disseminated Infection with *Mycobacterium genavense* in a Grizzled Giant Squirrel (*Ratufa macroura*) Associated with the Isolation of an Unknown Mycobacterium.

J Comp Pathol 143, 195-198

THOEN, C. O. (1993):

Tuberculosis and other Mycobacterial Diseases in Captive Wild Animals.

In: M. E. FOWLER (Hrsg.): Zoo and Wild Animal Medicine Current Therapy 3

Verlag Saunders, Philadelphia, Pennsylvania, S. 45-49

THOEN, C. O., F. Z. BELUHAN, E. M. HIMES, V. CAPEK u. T. BENNETT (1977a):

Mycobacterium bovis infection in baboons (*Papio papio*).

Arch Pathol Lab Med 101, 291-293

THOEN, C. O., W. D. RICHARDS u. J. L. JARNAGIN (1977b):

Mycobacteria isolated from exotic animals.

J Am Vet Med Assoc 170, 987-990

THOMPSON, K. A., M. CAMPBELL, G. LEVENS, A. LIM u. S. BOLIN (2016):

Mycobacterium kansasii infection in a captive Sichuan takin (*Budorcas taxicolor tibetana*) and a siamang (*Hylobates syndactylus*) at a zoological facility.

Vet Rec Case Rep 4, e000280

THOREL, M. F. (1980):

Isolation of *Mycobacterium africanum* from monkeys.

Tubercle 61, 101-104

THOREL, M. F., C. KAROUI, A. VARNEROT, C. FLEURY u. V. VINCENT (1998):

Isolation of *Mycobacterium bovis* from baboons, leopards and a sea-lion.

Vet Res 29, 207-212

THOREL, M. F., M. KRICHEVSKY u. V. V. LÉVY-FRÉBAULT (1990):

Numerical taxonomy of mycobactin-dependent mycobacteria, emended description of *Mycobacterium avium*, and description of *Mycobacterium avium* subsp. *avium* subsp. nov., *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* subsp. nov., and *Mycobacterium avium* subsp. *silvaticum* subsp. nov.

Int J Syst Bacteriol 40, 254-260

TRAVIS, D. A. u. K. SMITH (2019):

Risk Analysis Framework Guidance for Wildlife Health Professionals.

In: E. R. MILLER, N. LAMBERSKI u. P. P. CALLE (Hrsg.): Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine Current Therapy, Volume 9

Verlag Elsevier, St. Louis, Missouri, S. 4-10

TRAVIS, E. K., R. E. JUNGE u. S. P. TERRELL (2007):

Infection with *Mycobacterium simiae* complex in four captive Micronesian kingfishers.

J Am Vet Med Assoc 230, 1524-1529

TWORT, F. W. u. G. L. Y. INGRAM (1912):

A method for isolating and cultivating the *Mycobacterium enteritidis chronicae pseudotuberculosis bovis*, Johne, and some experiments on the preparation of a diagnostic vaccine for pseudo-tuberculous enteritis of bovines.

Proc R Soc Lond B Bio 84, 517-542

VALENTIN-WEIGAND, P. (2011a):

Allgemeine Infektions- und Seuchenlehre.

In: H.J. SELBITZ, U. TRUYEN u. P. VALENTIN-WEIGAND (Hrsg.): Tiermedizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre

Enke-Verlag, Stuttgart, Deutschland. S. 3-13

VALENTIN-WEIGAND, P. (2011b):

Gattung *Mycobacterium*.

In: H.J. SELBITZ, U. TRUYEN u. P. VALENTIN-WEIGAND (Hrsg.): Tiermedizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre

Enke-Verlag, Stuttgart, Deutschland. S. 308-318

VAN DE WATERING, C. C., P. ZWART u. J. BARKER (1972):

Cavernous tuberculosis of the lungs and secondary hypertrophic osteo-arthritis in a Siberian tiger (*Panthera tigrus*)

J Small Anim Pract 13, 321-327

VANSNICK, E., F. VERCAMMEN, L. BAUWENS, E. D'HAESE, H. NELIS u. D. GEYSEN (2005):

A survey for *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in the Royal Zoological Society of Antwerp.

Vet J 170, 249-256

VOGELNEST, L., F. HULST, P. THOMPSON, K. P. LYASHCHENKO u. K. A. V. HERRIN (2015):

Diagnosis and management of tuberculosis (*Mycobacterium tuberculosis*) in an Asian elephant (*Elephas maximus*) with a newborn calf.

J Zoo Wildl Med 46, 77-85

WAGNER, J. C., G. BUCHANAN, V. BOKKENHEUSER u. S. LEVISEUR (1958):

An acid-fast bacillus isolated from the lungs of the Cape hyrax, *Procavia capensis* (Pallas).

Nature 181, 284-285

WENKER, C., F. WYSS, S. HOBY, G. GHIEMMETTI, U. FRIEDEL, C. GURTNER u. H. POSTHAUS (2018):

Non-tuberculous mycobacterial lung infection in an African elephant (*Loxodonta africana*) and a greater one-horned rhinoceros (*Rhinoceros unicornis*) caused by *Mycobacterium avium* ssp. *hominissuis* and *Mycobacterium nebraskense* and the reaction to ante- and postmortem tests.

In: Proc Eur Assoc Zoo Wildl Vet, Prag, Tschechien 2018

Proc, S. 288-290

WHITTINGTON, R. J., D. J. BEGG, K. DE SILVA, A. C. PURDIE, N. K. DHAND u. K. M. PLAIN (2017):

Case definition terminology for paratuberculosis (Johne's disease).

BMC Vet Res 13, 328-340

WHITTINGTON, R. J., I. B. MARSH u. L. A. REDDACLIFF (2005):

Survival of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in Dam Water and Sediment.

Appl Environ Microbiol 71, 5304-5308

WILLIAMS, E. S., T. R. SPRAKER u. G. G. SCHOONVELD (1979):

Paratuberculosis (Johne's disease) in bighorn sheep and a Rocky Mountain goat in Colorado.

J Wildl Dis 15, 221-227

WILSON, P., E. WEAVERS, B. WEST, M. TAYLOR, J. KAVANAGH u. P. JONES (1984):

Mycobacterium bovis infection in primates in Dublin Zoo: epidemiological aspects and implications for management.

Lab Anim 18, 383-387

WITTE, C. L., L. HUNGERFORD, R. PAPENDICK, I. STALIS u. B. RIDEOUT (2008):

Investigation of characteristics and factors associated with avian mycobacteriosis in zoo birds.

J Vet Diagn Invest 20, 186-196

WITTE, C. L., L. L. HUNGERFORD, R. PAPENDICK, I. H. STALIS u. B. A. RIDEOUT (2010):

Investigation of factors predicting disease among zoo birds exposed to avian mycobacteriosis.

J Am Vet Med Assoc 236, 211-218

WITTE, C. L., L. L. HUNGERFORD u. B. A. RIDEOUT (2009):

Association between *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infection among offspring and their dams in nondomestic ruminant species housed in a zoo.

J Vet Diagn Invest 21, 40-47

WOBESER, G. A. (2013):

Essentials of disease in wild animals.

Verlag John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey

WOODFORD, M. H. (2001):

Quarantine and health screening protocols for wildlife prior to translocation and release in to the wild.

Office International des Epizooties, Paris, France

WOOLHOUSE, M. E. J. u. S. GOWTAGE-SEQUERIA (2005):

Host Range and Emerging and Reemerging Pathogens.

Emerg Infect Dis 11, 1842-1847

WÜNSCHMANN, A., A. ARMIEN, N. B. HARRIS, B. A. BROWN-ELLIOTT, R. J. WALLACE JR, J. RASMUSSEN, M. WILLETTE u. T. WOLF (2008):

Disseminated Panniculitis in a Bottlenose Dolphin (*Tursiops truncatus*) due to *Mycobacterium chelonae* Infection.

J Zoo Wildl Med 39, 412-420

YONG, H., G.-E. CHOI, B. S. LEE, J. WHANG u. S. J. SHIN (2011):

Disseminated infection due to *Mycobacterium avium* subsp. *avium* in an Asian elephant (*Elephas maximus*).

J Zoo Wildl Med 42, 743-746

YOSHIDA, S., S. SUGA, S. ISHIKAWA, Y. MUKAI, K. TSUYUGUCHI, Y. INOUE, T. YAMAMOTO u. T. WADA (2018):

Mycobacterium caprae Infection in Captive Borneo Elephant, Japan.

Emerg Infect Dis 24, 1937

ZINSSTAG, J., E. SCHELLING, D. WALTNER-TOEWS u. M. TANNER (2011):

From “one medicine” to “one health” and systemic approaches to health and well-being.

Prev Vet Med 101, 148-156

7.1. Gesetze und Verordnungen

1992

RICHTLINIE 92/65/EWG DES RATES

Vom 13. Juli 1992

über die tierseuchenrechtlichen Bedingungen für den Handel mit Tieren, Samen, Eizellen und Embryonen in der Gemeinschaft sowie für ihre Einfuhr in die Gemeinschaft, soweit sie diesbezüglich nicht den spezifischen Gemeinschaftsregelungen nach Anhang A Abschnitt I der Richtlinie 90/425/EWG unterliegen

ABl. L 268 vom 14.09.1992, S. 54

1999

RICHTLINIE 1999/22/EG DES RATES

Vom 29. März 1999

über die Haltung von Wildtieren in Zoos („EU-Zoorichtlinie“)

ABl. L 94/24 vom 09.04.1999, S. 24-26

2002

VERORDNUNG (EG) Nr. 1282/2002 DER KOMMISSION

Vom 15. Juli 2002

zur Änderung der Anhänge der Richtlinie 92/65/EWG des Rates über die tierseuchenrechtlichen Bedingungen für den Handel mit Tieren, Samen, Eizellen und Embryonen in der Gemeinschaft sowie für ihre Einfuhr in die Gemeinschaft, soweit sie diesbezüglich nicht den spezifischen Gemeinschaftsregelungen nach Anhang A Abschnitt I der Richtlinie 90/425/EWG unterliegen

ABl. L 187/3 vom 16.07.2003, S. 3-12

2003

VERORDNUNG (EG) Nr. 1398/2003 DER KOMMISSION

vom 5. August 2003

zur Änderung von Anhang A der Richtlinie 92/65/EWG des Rates zwecks Aufnahme des kleinen Bienenstockkäfers (*Aethina tumida*), der Tropilaelapsmilbe (*Tropilaelaps* spp.), der Ebola und der Affenpocken

ABl. L 198/3 vom 06.08.2003, S. 3-6

2005

Binnenmarkt-Tierseuchenschutzverordnung, die zuletzt durch Artikel 139 des Gesetzes vom 29. März 2017 (BGBl. I S. 626) geändert worden ist

Vom 6. April 2005, BGBl. I. 2005, S. 997

2011

Verordnung über meldepflichtige Tierkrankheiten

Vom 11. Februar 2011, BGBl. I. 2011, S. 522

2011

Verordnung über anzeigepflichtige Tierseuchen, die zuletzt durch Artikel 4 der Verordnung vom 31. März 2020 (BGBl. I S. 752) geändert worden ist

Vom 19. Juli 2011, BGBl. I. 2011, S. 1404

2014

Bekanntmachung von Empfehlungen für hygienische Anforderungen an das Halten von Wiederkäuern

Vom 7. Juli 2014, BAnz. AT 01.08.2014 B1, S. 1-17

2016

VERORDNUNG (EU) 2016/429 DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES

Vom 9. März 2016

zu Tierseuchen und zur Änderung und Aufhebung einiger Rechtsakte im Bereich der Tiergesundheit („Tiergesundheitsrecht“)

ABl. L 84 vom 31.03.2016, S. 1–208

8. Anhang

Tabelle 1 a-e:

Infektionskrankheiten auf Grundlage ihrer Auflistung im Infectious Diseases Handbook der EAZWV-IDWG.

A: Anzeigepflichtige Tierseuche in Deutschland: "Verordnung über anzeigepflichtige Tierseuchen in der Fassung der Bekanntmachung vom 19. Juli 2011 (Bundesgesetzblatt I S. 1404), die zuletzt durch Artikel 4 der Verordnung vom 31. März 2020 (Bundesgesetzblatt I S. 752) geändert worden ist";

M: Meldepflichtige Tiererkrankung in Deutschland: „Verordnung über meldepflichtige Tierkrankheiten in der Fassung der Bekanntmachung vom 11. Februar 2011 (Bundesgesetzblatt I S. 522)“;

OIE: Krankheit, die in der Liste bedeutender Krankheiten aquatischer und terrestrischer Tiere der World Organisation for Animal Health (OIE) von 2019 aufgeführt wird;

BAL: Krankheit, die den zuständigen Behörden jedes Mitgliedstaats gemäß der Richtlinie 92/65/EWG des Rates (Balai-Richtlinie) gemeldet werden muss; B“ = Krankheit, für die nationale Programme gemäß dieser Richtlinie anerkannt werden kann

AHL: Krankheit, die den zuständigen Behörden jedes Mitgliedstaats gemäß der Verordnung (EU) 2016/429 des Europäischen Parlaments und des Rates (Animal Health Law; EU-Tiergesundheitsrecht) gemeldet werden muss

*a Rind; *Mycobacterium bovis* und *Mycobacterium caprae*; *b Tuberkulose, ausgenommen *Mycobacterium bovis* inklusive deren Subspezies-Infektionen, soweit die Anzeigepflicht nach § 1 Nr. 36 der Verordnung über anzeigepflichtige Tierseuchen besteht; *c Rind; *d Salmonellose/ *Salmonella* spp., ausgenommen Salmonelleninfektionen, für die eine Mitteilungspflicht nach § 4 der Hühner-Salmonellen-Verordnung besteht, sowie Salmonellen und ihre Erreger des Rindes, soweit die Anzeigepflicht nach § 1 Nr. 28 der Verordnung über anzeigepflichtige Tierseuchen besteht; *e Rind, Vibrionenseuche; *f Thermophile *Campylobacter*; *g Pferd, Vogel; *h Hausrind, Hausschwein; *i Alle BHV1 Formen; *j + Niedrigpathogene aviäre Influenza bei einem gehaltenen Vogel; *k Niedrigpathogene aviäre Influenza der Wildvögel; *l Säugerpocken

Tabelle 1-a: Bedeutende bakterielle Infektionskrankheiten in zoologischen Gärten

Disease	Causative agent	A	M	OIE	BAL	AHL
BACTERIAL DISEASES						
Atypical Mycobacteriosis	<i>Mycobacterium</i> spp.					
Avian Mycobacteriosis	<i>Mycobacterium avium</i> complex (MAC)					
Avian Mycobacteriosis in Mammals	<i>Mycobacterium avium</i> complex (MAC)					
Leprosy	<i>Mycobacterium leprae</i>					
Mycobacteriosis in Fish	<i>Mycobacterium</i> spp.					
Mycobacteriosis in Marine Mammals	<i>Mycobacterium marinum</i>					
Paratuberculosis, Johne's Disease	<i>Mycobacterium avium paratuberculosis</i> (MAP)		X	X		
Tuberculosis in Primates	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> , <i>M. bovis</i>		X ^{*b}	X	X	X
Tuberculosis in Ungulates	<i>Mycobacterium bovis</i>	X ^{*a}	X ^{*b}	X	X	X
Caseous Lymphadenitis	<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i>					
Devriesea agamarum in Lizards	<i>Devriesea agamarum</i>					
Avian Chlamydiosis, Psittacosis, Ornithosis	<i>Chlamydomphila psittaci</i>		X	X	X	
Enzootic Abortion, Ovine Chlamydiosis	<i>Chlamydomphila abortus</i>		X	X		
Anthrax	<i>Bacillus anthracis</i>	X		X	X	X
Erysipelas	<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>					X
Listeriosis	<i>Listeria monocytogenes</i>		X			X
Methicilin-Resistant Staphylococcus Aureus (MRSA)	<i>Staphylococcus aureus</i>					
Pneumococcosis	<i>Streptococcus pneumoniae</i>					
Streptococcus Group C	<i>Streptococcus</i> Group C					
Botulism	<i>Clostridium botulinum</i>					
Tetanus	<i>Clostridium tetani</i>					
Bovine Brucellosis	<i>Brucella abortus</i>	X		X	X	X
Brucellosis in Marine Mammals	<i>Brucella ceti</i> and <i>B. pinnipedialis</i>					
Ovine and Caprine Brucellosis	<i>Brucella melitensis</i>	X		X	X	X
Porcine Brucellosis	<i>Brucella suis</i>	X		X	X	
Edwardsiellosis	<i>Edwardsiella</i>					
Klebsiellosis	<i>Klebsiella</i> spp.					
Salmonellosis	<i>Salmonella</i> spp.	X ^{*c}	X ^{*d}			X
Shigellosis	<i>Shigella</i> spp.					
Yersiniosis	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i> , <i>Y. enterocolitica</i>					
Bovine Anaplasmosis	<i>Anaplasma</i> spp., <i>Rickettsiales</i>			X		
Heartwater	<i>Ehrlichia ruminantium</i>			X		
Bordetellosis	<i>Bordetella</i> spp.					
Campylobacteriosis	<i>Campylobacter</i> spp.	X ^{*e}	X ^{*f}			X
Coxiellosis, Q-Fever	<i>Coxiella burnetii</i>		X	X		
Glanders	<i>Burkholderia mallei</i>	X		X		
Melioidosis	<i>Burkholderia pseudomallei</i>					
Tularemia	<i>Francisella tularensis</i>		X	X	B	
Contagious Bovine Pleuropneumonia (CBPP)	<i>Mycoplasma mycoides mycoides</i>	X		X	X	X
Mycoplasma in Testudines	<i>Mycoplasma agassizii</i> , <i>M. testudineum</i>					
Leptospirosis	<i>Leptospira</i> spp.		X			
Leptospirosis in Primates	<i>Leptospira</i> spp.		X			

Tabelle 1-b: Bedeutende virale Infektionskrankheiten in zoologischen Gärten

Disease	Causative agent	A	M	OIE	BALAI	AHL
VIRAL DISEASES						
Adenovirus in Primates	Adenoviridae					
Adenovirus in Reptiles	Adenoviridae					
Canine Adenovirus	CAV1 and CAV2, Adenoviridae					
Lymphocytic Choriomeningitis, Callitrichid Hepatitis	LCMV, Arenaviridae					
Simian Hemorrhagic Fever (SHF)	SHFV, Arterivirus, Arteriviridae					
African Swine Fever	ASFV, Asfivirus, Asfarviridae	X		X	X	X
Avian Bornavirus, Proventricular Dilation Disease (PDD)	ABV, Bornaviridae					
Vesicular Exanthema of Swine	VESV, Vesivirus, Caliciviridae					
Middle East Respiratory Syndrome	MERS-CoV, Betacoronavirus, Coronaviridae					
Ebola Viruses	Ebolavirus, Filoviridae	X			X	
Marburg Hemorrhagic Fever	Marburg virus, Filoviridae					
Border Disease	BDV, Pestivirus, Flaviviridae					
Bovine Viral Diarrhea	BVDV, Pestivirus, Flaviviridae	X		X		
Classical Swine Fever	CSFV, Pestivirus, Flaviviridae	X		X	X	X
Kyasanur Forest Disease	KFDV, Flaviviridae					
Usutu Virus	USUV, Flavivirus, Flaviviridae					
West Nile Virus	WNV, Flavivirus, Flaviviridae	X ^{*g}		X		
Yellow Fever	YFV, Flavivirus, Flaviiridae					
Hepatitis B	HBV, Orthohepadnavirus, Hepadnaviridae					
Aujeszki's Disease, Pseudorabies	Suid herpesvirus 1, Herpesviridae	X ^{*h}		X		
Cytomegalovirus	CMV, Betaherpesvirinae, Herpesviridae					
Endotheliotropic Elephant Herpesvirus	EEHV, Proboscivirus, Herpesviridae					
Epstein barr virus (EBV) and EBV-related Simian viruses	EBV or HHV4 and others, Herpesviridae					
Equine Herpesvirus	EHV, Equid alphaherpesvirus, Herpesviridae			X		
Fibropapillomatosis of Sea Turtles	CFPHV, Alphaherpesvirus, Herpesviridae					
Gray Patch Disease of Sea Turtles	GPDV, Chelonid herpesvirus 1, Herpesviridae					
Herpes Hominis Virus, Herpes Simplex Virus	HHV or HSV 1 and 2, Herpesviridae					
Herpesvirus in Water Turtles	Herpesviridae					
Herpesvirus Tamarinus	Herpesvirus tamarinus, Alphaherpesvirus					
Infectious Bovine Rhinotracheitis (IBR)	BHV1, Bovine herpesvirus 1, Alphaherpesvirus	X ^{*i}		X		
Loggerhead Genital-Respiratory Herpesvirus	LGRV, Alphaherpesvirus, Herpesviridae					
Loggerhead Orocutaneous Herpesvirus	LOCV, Alphaherpesvirus, Herpesviridae					
Lung-Eye-Trachea Disease	LETV, Chelonid herpesvirus 1, Herpesviridae					
Malignant Catarrhal Fever	Gammaherpesvirus, Herpesviridae					
Simian Agent 8 (SA 8)	Cercopithecine herpesvirus 2 (outdated?)					
Simian Varicella Virus, Varicella-Zoster Virus	Cercopithecine herpesvirus 6, 7 and 9, Human alphaherpesvirus 3					
Testudinid Herpesvirus, Herpesvirus in Tortoises	TeV, Testudinid herpesvirus, Herpesviridae					
Epizootic Haematopoietic Necrosis in Fish (EHN)	EHN, Ranavirus, Iridoviridae	X		X		X
Ranavirus	Ranavirus, Iridoviridae			X		
Highly Pathogenic Avian Influenza	Influenza A, Orthomyxoviridae	X ^{*j}	X ^{*k}	X	X	X
Infectious Salmon Anaemia (ISA)	Salmon isavirus, Isavirus, Orthomyxoviridae	X		X		X
Canine Distemper	CDV, Morbillivirus, Paramyxoviridae					
Measles	Measles morbillivirus, Paramyxoviridae					
Newcastle Disease	Avian avulavirus 1, Paramyxoviridae	X		X	X	X

Anhang

Ophidian Paramyxovirus	OPMV, Paramyxoviridae					
Peste des Petits Ruminants, Goat Plague	PPRV, Morbillivirus, Paramyxoviridae	X		X	X	X
Rinderpest, Cattle Plague	RPV, Morbillivirus, Paramyxoviridae	X		X	X	X
Seal Morbillivirus, Phocid Distemper	PDV, Morbillivirus, Paramyxoviridae					
Aleutian Disease, Mink Plasmacytosis	ADV, Amdoparvovirus, Parvoviridae				B	
Canine Parvovirus (Carnivore Parvovirus?)	CPV, Carnivore protoparvovirus 1, Parvoviridae					
Feline Panleukopenia, Feline Parvovirus	FPLV, Carnivore protoparvovirus 1, Parvoviridae					
Parvovirus - General, Carnivore?	Carnivore protoparvovirus 1, Parvoviridae					
Rift Valley Fever	RVFV, Phlebovirus, Bunyavirales	X		X	X	X
Encephalomyocarditis Virus	EMCV, Cardiovirus, Picornavirus					
Foot and Mouth Disease	FMDV, Picornaviridae	X		X	X	X
Hepatitis A	HAV, Hepatovirus, Picornaviridae					
Poliomyelitis	Poliovirus, Enterovirus, Picornaviridae					
Swine Vesicular Disease	SVDV, Enterovirus, Picornaviridae	X			X	X
Teschen Disease, Porcine Enterovirus	PTV, Teschovirus, Picornaviridae				X	X
Encephalomyelitis						
Human Metapneumovirus	HMPV, Metapneumovirus, Pneumoviridae					
Respiratory Syncytial Virus, Chimpanzee Coryza Agent	RSV, Orthopneumovirus, Pneumoviridae					
Avian Pox	Avipoxvirus, Poxviridae		X			
Contagious Ecthyma, Contagious Pustular Dermatitis, Orf	Orf virus, Parapoxvirus, Poxviridae					
Cowpox	Orthopoxvirus, Poxviridae		X ^{*1}			
Lumpy Skin Disease	LSDV, Capripoxvirus, Poxviridae	X		X	X	X
Monkeypox	Monkeypoxvirus, Orthopoxvirus, Poxviridae	X			X	
Myxomatosis	Myxoma virus, Poxviridae			X	B	
Sheep and Goat Pox	Sheep/Goat poxvirus, Capripoxvirus, Poxviridae	X		X	X	X
Tanapox	Tanapox virus, Yatapoxvirus, Poxviridae		X ^{*1}			
Yabapox, Yaba Virus, Yaba Monkey Tumor Virus	Yatapoxvirus, Poxviridae		X ^{*1}			
African Horse Sickness	AHSV, Orbivirus, Reoviridae	X		X	X	X
Bluetongue	BTV, Orbivirus, Reoviridae	X		X	X	X
Epizootic Haemorrhagic Disease	EHDV, Orbivirus, Reoviridae	X		X		X
Equine Infectious Anaemia	EIAV, Lentivirus, Retroviridae	X		X		
Exogenous Simian Type D Retroviruses (SRV1 and 2)	SRV1 and SRV2, Retroviridae					
Inclusion Body Disease	Reptarenaviruses, Arenaviridae					
Simian Immunodeficiency Virus (SIV)	Several SIV, Lentivirus, Retroviridae					
Simian T-cell Lymphotropic Virus (STLV), Simian T-cell Leukemia Virus	STLV, Deltaretrovirus, Retroviridae					
Infectious Hematopoietic Necrosis	IHNV, Novirhabdovirus, Rhabdoviridae	X		X	X	X
Rabies	Rabies lyssavirus, Rhabdoviridae	X		X	X	X
Spring Viremia of Carp	Carp sprivivirus or Rhabdovirus carpio, Rhabdoviridae			X		
Vesicular Stomatitis	VSV or Indiana vesiculovirus, Rhabdoviridae	X			X	X
Eastern Equine Encephalomyelitis (EEE)	EEEV, Alphavirus, Togaviridae	X		X		
Venezuelan Equine Encephalomyelitis (VEE)	VEEV, Alphavirus, Togaviridae	X		X		X

Tabelle 1-c: Bedeutende Prionenkrankheiten in zoologischen Gärten

Disease	Causative agent	A	M	OIE	BALAI	AHL
PRION DISEASES						
Chronic Wasting Disease (CWD)	TSE Prion	X			X	X
Scrapie	TSE Prion	X		X	X	X

Tabelle 1-d: Bedeutende parasitäre Infektionskrankheiten in zoologischen Gärten

Disease	Causative agent	A	M	OIE	BALAI	AHL
PARASITIC DISEASES						
Acanthamoebiasis	<i>Acanthamoeba</i> spp.					
Amoebiasis, Amoebic Dysentery	<i>Entamoeba</i> spp.					
Bovine Babesiosis	<i>Babesia</i> spp., <i>Apicomplexa</i>			X		
Bovine Theileriosis	<i>Theileria</i> spp., <i>Apicomplexa</i>			X		
Cryptosporidiosis	<i>Cryptosporidium</i> spp., <i>Apicomplexa</i>					
Equine Piroplasmiasis	<i>Babesia caballi</i> , <i>Theileria equi</i> , others			X		
Malaria	<i>Plasmodium knowlesi</i>					
Toxoplasmosis	<i>Toxoplasma gondii</i>		X			
Toxoplasmosis in Primates	<i>Toxoplasma gondii</i>		X			
Chagas' Disease, American Trypanosomiasis	<i>Trypanosoma cruzi</i>					
Visceral Leishmaniasis	<i>Leishmania infantum</i> , <i>L. chagasi</i>			X		
Helminthiasis in Ungulates	Helminths					
Acanthocephalosis	<i>Acanthocephala</i> (phylum)					
Anatrichosomiasis	<i>Anatrichosoma</i>					
Ancylostomiasis, Hookworm Disease	<i>Ancylostoma duodenale</i> , <i>Necator americanus</i>					
Angiostrongylosis	<i>Angiostrongylus</i> spp.					
Baylisascariasis	<i>Baylisascaris</i> spp.					
Capillariasis	<i>Capillariidae</i>					
Heartworm Disease	<i>Dirofilaria immitis</i>					
Oesophagostomiasis	<i>Oesophagostomum</i> spp.					
Oxyuriasis	Several					
Spiruroidosis	Several Spirurids					
Strongyloidiasis	<i>Strongyloides</i> spp.					
Trichinellosis	<i>Trichinella</i> spp.			X		X
Trichostrongylosis	<i>Trichostrongylus</i> spp.					
Trichuriasis	<i>Trichuris</i> spp.					
Bertiellosis, Bertielliasis	<i>Bertiella</i> spp.					
Echinococcosis	<i>Echinococcus granulosus</i> e <i>E. multiloculares</i>		X	X		X
Schistosomiasis	<i>Schistosoma</i> spp.					
Lung Mites	Several					
New World Screwworm	<i>Cochliomyia hominivorax</i>			X		
Old World Screwworm	<i>Chrysomya bezziana</i>			X		

Tabelle 1-e: Bedeutende mykotische Infektionskrankheiten in zoologischen Gärten

Disease	Causative agent	A	M	OIE	BALAI	AHL
FUNGAL DISEASES						
Ophidiomyces in Snakes	<i>Ophidiomyces ophiodiicola</i>					
Pneumocystosis	<i>Pneumocystis jirovecii</i>					
Yellow Fungus Disease, CANV	<i>Chrysosporium anamorph</i> of <i>Nannizziopsis vriesii</i>					
Cryptococcosis	<i>Cryptococcus neoformans</i>					
Chytridiomycosis	<i>Batrachochytrium dendrobatidis</i> and <i>B. salamandrivorans</i>			X		
Microsporidiosis, Encephalitozoonosis	<i>Encephalitozoon cuniculi</i> and <i>Enterocytozoon</i> spp.					
Epizootic Ulcerative Syndrome in Fish (EUS)	<i>Aphanomyces invadans</i>			X		X

9. Zusammenfassung

Marco Roller

Vorkommen und Bedeutung von *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* Infektionen in zoologischen Gärten: Literaturübersicht und Untersuchungen im Zoologisch-Botanischen Garten Wilhelma

Mycobacterium avium subspecies *paratuberculosis* (MAP) ist der Erreger der Paratuberkulose, einer ansteckenden, chronischen und typischerweise tödlich verlaufenden enterischen Erkrankung, welche bevorzugt Wiederkäuer betrifft, aber auch bei nicht-wiederkäuenden Arten beschrieben wurde.

Diese Arbeit fasst in einer Literaturstudie Informationen über den Zusammenhang von MAP-Infektionen und den resultierenden Erkrankungen bei Zootieren zusammen. Veröffentlichte Berichte über den Nachweis von MAP sowie über die Übertragung und Epidemiologie in zoologischen Gärten wurden überprüft. Basierend auf dem Vorhandensein klinischer Symptome und den angewendeten diagnostischen Methoden (pathologische und histopathologische Untersuchungen, Serologie, Kultivierung oder Molekularbiologie von Kotproben oder Geweben) konnten die Fälle nach einheitlichen Terminologien und Falldefinitionen (exponiert, infiziert, erkrankt) kategorisiert und somit anfällige Familien identifiziert werden.

Infektionen und daraus resultierende Erkrankungen mit den typischen granulomatösen und Ziehl-Neelsen-positiven Läsionen im Darm werden häufig bei Boviden, Cerviden und Kameliden berichtet, obwohl die Diagnose in frühen Stadien der Pathogenese schwierig sein kann. Einzelberichte über eine klinische Paratuberkulose sind auch in Equidae und Cercopithecidae dokumentiert. Die Diagnose einer MAP-Infektion durch kulturelle Untersuchung oder PCR aus Gewebeproben ist in wenigen Berichten für Giraffidae, Suidae, Tapiridae, Callitrichidae und Procaviidae beschrieben. Positive serologische Tests oder der Nachweis von MAP aus Kotproben mehrerer anderer Arten deuten auf eine Exposition dieser Tiere hin, sollten jedoch immer mit Vorsicht interpretiert werden, da keine der beiden Methoden zur Bestätigung einer Infektion ausreicht. Die Einbeziehung dieser Zusammenstellung in die Überprüfung von Paratuberkulose als Differentialdiagnose, sobald chronische Abmagerung oder Durchfall in einem Bestand beobachtet werden, kann für die Interpretation und Klassifizierung positiv getesteter Tiere und die daraus resultierenden Konsequenzen für das Krankheitsmanagement von entscheidender Bedeutung sein.

In einem zweiten Teil der Arbeit wurde das Vorkommen von MAP im Zoologisch-Botanischen Garten Wilhelma in Stuttgart mittels serologischer und molekularbiologischer Methoden untersucht, um Rückschlüsse auf Exposition und Infektionsrisiko der Tierpopulation ziehen zu können.

Insgesamt wurden 30 von 381 eingelagerte serologischen Proben von Säugetierspezies, die während der routinemäßigen Bestandsbetreuung gesammelt wurden, in einem indirekten multi-species ELISA (ID-Vet) positiv für *Mycobacterium avium* Komplex Antikörper getestet. Positive Proben wurden anschließend in einem indirekten ELISA (IDEXX) auf spezifische Antikörper gegen MAP getestet und ergaben ein positives Ergebnis bei einer Netzgiraffe (*Giraffa camelopardalis reticulata*).

Gepoolte Kotproben und Sockentupferproben aus den Gehegen wurden von 22 Paarhufer- und 18 Primatenarten sowie von Klippschliefern (*Procavia capensis*) und Schabrackentapiren (*Tapirus indicus*) gesammelt. Alle Proben wurden mit negativen Testergebnissen in einem vor Ort eingesetzten mobilen Kofferlabor zum schnellen Nachweis von MAP, basierend auf der Rekombinase-Polymerase Amplifikationstechnologie (RPA) und mittels IS900 real-time Polymerase-Kettenreaktion (PCR) in einem Routinelabor untersucht. Zusätzlich wurden *post-mortem* Proben des Ileums, des Ileozökal-Lymphknotens und des Darminhaltes von 30 verstorbenen oder eingeschläferten Tieren in der MAP-PCR negativ getestet. Darüber hinaus wurden alle extrahierten Proben auf das 16S rRNA-Gen von *Mycobacterium* Spezies und durch eine multiplex PCR zum Nachweis der spezifischen Insertionssequenzen IS901 und IS1245, welche zur Unterscheidung von *Mycobacterium avium* subspezies *avium* (MAA) und *Mycobacterium avium* subspezies *hominissuis* (MAH) verwendet wurden, getestet.

Die Ergebnisse legen nahe, dass trotz der Hinweise auf eine MAC und MAP Exposition des Bestandes das Vorhandensein von hochausscheidenden Tieren und einer kontaminierten Umgebung derzeit als unwahrscheinlich angesehen werden kann. Aufgrund der intermittierenden Ausscheidung von MAP und einer möglicherweise langen und subklinischen Inkubationszeit mit einer geringen Anzahl ausgeschiedener Bakterien ist eine kontinuierliche Krankheitsüberwachung jedoch ratsam.

10. Summary

Marco Roller

Occurrence and relevance of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infections in zoological gardens: literature review and investigations at the Zoological and Botanical Gardens Wilhelma

Mycobacterium avium subspecies *paratuberculosis* (MAP) is the causative agent of paratuberculosis, a contagious, chronic and typically fatal enteric disease that preferentially affects ruminants, but has also been described in several non-ruminant species.

This study reviews information on the association of MAP infection and induced disease in zoo animals. Published reports concerning the detection of MAP and the transmission and epidemiology in zoological gardens were included. Based on the presence of clinical signs and associated diagnostic methods (pathological and histopathological examinations, serology, cultivation or molecular biology of feces or tissues), cases could be categorized by consistent terminologies and case definitions (exposed, infected, diseased) and susceptible families were identified.

Infection and disease with typical granulomatous and Ziehl-Neelsen positive lesions in the intestines are commonly reported in bovids, cervids and camelids, although diagnosis can be difficult in early stages of pathogenesis. Single reports of clinical paratuberculosis were also documented in Equidae and Cercopithecidae. The diagnosis of MAP infection by culture or PCR from tissue samples was described in few reports for Giraffidae, Suidae, Tapiridae, Callitrichidae and Procaviidae. Positive serological tests or detection of MAP from fecal samples of several other species suggest exposure but should always be interpreted with caution, as both methods are insufficient to confirm infection. The review suggests that the verification of paratuberculosis as a differential diagnosis, once chronic emaciation or diarrhea are observed within a collection, can be crucial for the interpretation and classification of positive-tested animals and the resulting consequences in disease management.

In a second part of the thesis, we determined the occurrence of MAP in the Zoological and Botanical Gardens Wilhelma in Stuttgart using serological and molecular biological methods, in order to draw conclusions about exposure and risk of infection of the animal population. Overall, 30 out of 381 frozen-stored serological samples of mammalian species, which were collected during routine health measures, tested positive for *Mycobacterium avium* complex antibodies in an indirect multi-species ELISA (ID-Vet). Positive-tested samples were subsequently examined for specific antibodies against MAP in an indirect ELISA (IDEXX) and gave one positive result in a reticulated giraffe (*Giraffa camelopardalis reticulata*).

Pooled fecal samples and boot swab samples from the enclosures were collected from 22 artiodactyl and 18 primate species, as well as from Rock hyraxes (*Procavia capensis*) and Malayan tapirs (*Tapirus indicus*). All samples were investigated with negative test results on-site in a mobile suitcase laboratory for the rapid detection of MAP, based on the recombinase polymerase amplification (RPA) technology, and by IS900 real-time polymerase chain reaction (PCR) in a routine diagnostic laboratory. In addition, *post-mortem* samples of the ileum, ileocecal lymph node and intestinal content of 30 deceased or euthanized animals were tested negative by MAP PCR. Furthermore, all extracted sample matrices were tested for the 16S rRNA gene of *Mycobacterium* species and by a multiplex PCR to simultaneously detect the specific insertion sequences IS901 and IS1245, used for detection of *Mycobacterium avium* subspecies *avium* (MAA) and *Mycobacterium avium* subspecies *hominissuis* (MAH).

The results suggest that despite the indications of MAC and MAP exposure of the collection, the presence of high-shedding animals and a contaminated environment can currently be considered unlikely. However, due to the intermittent excretion of MAP and a possibly long and subclinical incubation period with small numbers of excreted bacteria, a continuous disease surveillance is advisable.

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich abschließend herzlich bei denjenigen Personen bedanken, die maßgeblich zum Erfolg dieser Arbeit beigetragen haben.

Herrn Prof. Dr. Ralph Goethe gilt mein besonderer Dank für seine Bereitschaft zur wissenschaftlichen Betreuung dieser externen Doktorarbeit sowie für seine kontinuierliche Unterstützung und seinen stets wertvollen Rat.

Ein weiterer besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Dr. Claus-Peter Czerny, der leider während der Anfertigung dieser Dissertation verstorben ist, für die Möglichkeit, dieses interessante wissenschaftliche Thema bearbeiten zu können.

Bei meinem wissenschaftlichen Betreuer aus Göttingen, Ahmed Abd El Wahed, PhD, bedanke ich mich vielmals für seine wegweisende Unterstützung und fachliche Betreuung, gerade in der Zeit nach Prof. Czernys Tod. Mein spezieller und herzlicher Dank gilt an dieser Stelle auch Dr. Sören Hansen und Susanne Böhlken-Fascher für ihre Einarbeitung und wertvolle Unterstützung während der Laborarbeiten.

Prof. Dr. Walter Oelemann danke ich vielmals für seine Unterstützung bei der Erstellung und der Überarbeitung des Review-Artikels.

Der Grimminger-Stiftung für Zoonosenforschung danke ich herzlich für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit.

Mein spezieller Dank gilt meinem Mentor Dr. Tobias Knauf-Witzens, dem ich überaus dankbar bin, für die Möglichkeit, dass ich im Rahmen dieser Doktorarbeit im Zoologisch-Botanischen Garten Wilhelma forschen, lernen und arbeiten durfte. Für diese wertvolle Chance und für das mir entgegengebrachte Vertrauen möchte ich mich ebenfalls bei Dr. Thomas Kölpin, Dr. Marianne Holtkötter, Dr. Günther Schleussner, Dr. Ulrike Rademacher und Isabell Koch herzlich bedanken. Bei allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern, und im speziellen bei Martina Balz, Dr. Annika Weigold und den Tierpflegerinnen und Tierpflegern der Krankenstation bedanke ich mich vielmals für all die unvergesslichen Erfahrungen und für eine wunderschöne und vor allem prägende Zeit in „Meiner Wilhelma“.

Den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Pathologie des Chemischen und Veterinäruntersuchungsamtes Stuttgart danke ich herzlich für die kollegiale Zusammenarbeit und ihre Bereitschaft zur Entnahme der Sektionsproben.

Auch bei meinen Studienfreunden möchte ich mich an dieser Stelle für unsere gemeinsame Zeit in Hannover bedanken. Ich bin stolz und glücklich diesen wunderbaren Weg mit euch gemeinsam gegangen zu sein und freue mich auf das was kommt.

Der größte Dank aber gilt meinen Eltern, meinen Geschwistern und Jenny. Ihr seid mein Rückhalt, der als wichtigster Teil zum Erfolg dieser Arbeit beigetragen hat. Ohne euch wäre diese Promotion nicht möglich gewesen. Ich danke euch von ganzem Herzen, dass ihr immer für mich da seid und für eure bedingungslose Unterstützung. Ihr seid mir das Wichtigste!