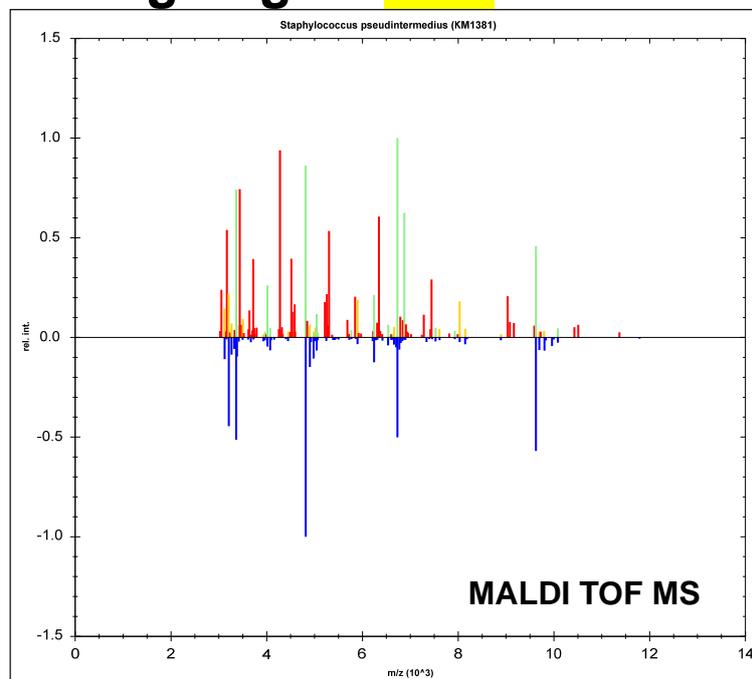


Zentrum für Zoonosen, bakterielle Tierkrankheiten und
Antibiotikaresistenz (ZOBA) am
Institut für Veterinär-Bakteriologie
der Vetsuisse-Fakultät, Universität Bern
Länggassstr. 122, CH-3012 Bern

VADEMECUM

gültig ab **Juni** 2015



NEU ab sofort mit Kurierdienst !
Meier Express 0848 44 44 00

Die aktuell gültige Version finden sie auf unserer Homepage:
<http://www.vbi.vetsuisse.unibe.ch/>

Inhalt

1.	Organisation.....	5
1.1	Adresse	5
1.2	Dienstzeiten	5
1.3	Telefonverzeichnis.....	5
1.4	Rechnungswesen	5
1.5	Qualitätskontrolle	5
2	Allgemeine Richtlinien.....	6
2.1	Entnahme des Untersuchungsmaterials	6
2.2	Untersuchungsantrag und Kennzeichnung	6
2.3	Versandmaterial und Transport	7
2.3.1	Liste des erhältlichen Versandmaterials.....	7
2.4	Annahme von Untersuchungsmaterial.....	7
2.5	Untersuchungstermine.....	8
2.6	Referenzfähigkeit für bakterielle Tierseuchen.....	8
2.7	Machbarkeitsprüfung	8
2.8	Berichterstattung.....	9
2.9	Aufbewahrung von Untersuchungsmaterial und Isolaten.....	9
2.10	Beschwerden.....	9
3	Allgemeine Bakteriologie	10
3.1	Allgemeines	10
3.1.1	Präanalytik	10
3.1.2	Befundinterpretation.....	10
3.1.3	Dauer der Untersuchung.....	11
3.2	Richtlinien bezüglich des klinischen Untersuchungsmaterials	12
3.3	Allgemeine bakteriologische Diagnostik (Analysenliste).....	18
3.3.1	Spezielle Erreger.....	21
3.3.2	Mastitis.....	29
3.3.3	Mikrobiologische Fleischuntersuchung	30
3.3.4	Lehre und Forschung.....	31
4	Tierseuchen	31
4.1	Allgemeines	31
4.2	Laboranerkennung und Referenzfunktion.....	31
4.3	Tierseuchendiagnostik.....	31
4.3.1	Tierseuchen mit Referenzfunktion des IVB	31
4.3.2	Tierseuchen ohne Referenzfunktion des IVB	33
4.4	Zusammenarbeit mit Besamungsstationen.....	33
4.5	Untersuchungen für Import und Export.....	34
5	Serologie.....	34
5.1	Allgemeines	34
5.2	Bewertung der angewandten Methoden	34
5.3	Spezielle Erreger	35
5.4	Befundinterpretation	36

6	Diagnostische Resistenzprüfung.....	37
6.1	Allgemeines	37
6.2	Testverfahren.....	37
6.3	Berichterstattung.....	38
7	Mykologie.....	38
7.1	Allgemeines	38
7.2	Entnahme des Untersuchungsmaterials und Transport.....	39
7.3	Labordiagnose	39
7.4	Erreger.....	39
7.5	Berichterstattung.....	39
8	Molekularbiologische Diagnostik.....	39

1 Organisation

1.1 Adresse

Universität Bern
Tierspital
Institut für Veterinär-Bakteriologie
ZOBA
Postfach 8466, CH-3001 Bern

Lieferadresse für Kurierdienste: Länggassstrasse 122, CH-3012 Bern

1.2 Dienstzeiten

Montag-Freitag 8.00 – 12.00 13.00 – 17.00

Diagnostisches Material, **wird - wenn möglich - noch am Eingangstag weiterbearbeitet**. Am Samstag zwischen 8.30 und 10.30 Uhr ist das Labor für dringende Fälle besetzt und unter der Tel. Nr. 031/631 **24 35** erreichbar. In der Regel werden nur Untersuchungen auf Weidekrankheiten (Rauschbrand/Milzbrand), Salmonellose, CEM sowie Milchproben angesetzt. An Sonn- und Feiertagen wird kein Dienst verrichtet.

1.3 Telefonverzeichnis

	Telefon	Fax
ZOBA Leitung	031 631 24 38	031 631 26 34
Diagnostik	031 631 24 35 oder 25 14	031 631 26 34
Buchhaltung	031 631 24 30	031 631 26 34

1.4 Rechnungswesen

Die Untersuchungspreise sind unter www.vbi.unibe.ch einsehbar. Aus dem Untersuchungsantrag muss klar hervorgehen, an wen die Rechnung zu stellen ist (z.B. Auftraggeber, amtliche Stelle, intern). **Falls der angegebene Rechnungsempfänger nicht bezahlt, wird der Betrag automatisch dem Einsender verrechnet.** Grundsätzlich werden keine Befunde und Rechnungen an den Patienten / Besitzer gestellt. Die Abrechnung erfolgt monatlich.

1.5 Qualitätskontrolle

Das Institut nimmt regelmässig an nationalen und internationalen Ringversuchen zur Qualitätskontrolle teil.

2 Allgemeine Richtlinien

2.1 Entnahme des Untersuchungsmaterials

Das Untersuchungsmaterial muss vor Beginn einer antibiotischen Therapie an der geeigneten anatomischen Lokalisation aseptisch entnommen werden und in seinen qualitativen und quantitativen Eigenschaften den Anforderungen für eine korrekte Analyse entsprechen. Da die bakteriologische Untersuchung und der resultierende Befund sich nur auf das eingesandte Material beziehen können, muss die Probe repräsentativ für den Krankheitsprozess sein. Bei der Verwendung von Tupfern empfehlen wir diese in ein Transportmedium zu verbringen. Geeignetes Tupfermaterial in verschiedenen Ausführungen kann bei uns angefordert werden. Eine Kontamination des Untersuchungsmaterials mit transienter oder residenter Umgebungsflora ist zu vermeiden. Die Entnahme sollte nur von einem Tierarzt oder geschultem Personal vorgenommen werden. Bei Materialentnahme durch den Tierbesitzer muss vorher eine eingehende Information durch den Tierarzt über die Vorgehensweise erfolgen. Weitere Hinweise für die korrekte Entnahme des Untersuchungsmaterials finden Sie in den einzelnen Kapiteln.

2.2 Untersuchungsantrag und Kennzeichnung

Antragsformulare in deutscher und französischer Sprache können schriftlich (per Post, Fax oder E-Mail) oder telefonisch angefordert werden. Sie sind auch **als elektronisch ausfüllbare** PDF-File verfügbar unter <http://www.vbi.unibe.ch/>. Es sollten möglichst die aktuell gültigen Untersuchungsformulare verwendet werden.

Das eingesandte Untersuchungsmaterial muss einwandfrei identifiziert werden können und zu diesem Zweck wasserfest derart beschriftet sein, dass es dem Antragsformular zugeordnet werden kann und eine eindeutige Identifikation des Tieres trägt (z.B.: Name, Ohrmarkennummer).

Das beigefügte Antragsformular muss folgende Angaben enthalten:

- Einsender, Tierarzt (Name, Adresse mit Postleitzahl, Telefonnummer, Fax, Email)
- eindeutige Identifikation des Tieres (Tierart, Alter, Geschlecht, Tier-TVD-Nummer, Mikrochipnummer, Ohrmarke / Name), **sofern vorhanden, sollten TVD-Barcodeetiketten verwendet werden!**
- Besitzer (Name, Adresse mit Postleitzahl, Betriebs-TVD-Nummer, Kanton)
- Standort des Tieres (sofern nicht identisch mit Besitzeradresse)
- Untersuchungsmaterial und Entnahmeort (spez. anatomische Lokalisation)
- Anamnese / Verdachtsdiagnose
- Vorbehandlung
- Entnahmedatum
- Untersuchungsgrund
- Gewünschte Untersuchung
- Rechnungsempfänger (Name, Adresse mit Postleitzahl, Telefonnummer, Fax, Email)

Wir bitten wir darum, dass die Formulare in Druckschrift und vollständig ausgefüllt werden. Beim Fehlen von Angaben kann das Untersuchungsmaterial unter Umständen erst nach weiterer Abklärung verarbeitet oder die Analyse nur beschränkt durchgeführt werden.

2.3 Versandmaterial und Transport

Adäquates Versandmaterial ist während den Dienstzeiten erhältlich und kann auf dem Antragsformular, schriftlich oder telefonisch angefordert werden.

Die Verpackung muss den Anforderungen an den Versand von infektiösem Material **gemäss ADR 2.2.62.1.4.2 (UN3373, Biologischer Stoff, Kategorie B)** genügen; dies aus Gründen der Qualität und der Hygiene, der Sicherheit und zum Schutz der öffentlichen Gesundheit. Untersuchungsmaterial gehört in eine saubere (z.B. Organe, Plazenta, Kot) oder sterile (z.B. Punktate, Eiter, Sekrete, Blut), dicht verschlossene und etikettierte Verpackung **gemäss Packvorschrift P650 (Primärgefäss, Sekundärverpackung, Aussenverpackung)**. Der Untersuchungsantrag **muss** in einem separaten Umschlag mitgesandt werden. Bei verzögerter Einsendung ist i. d. R. eine Lagerung im Kühlschrank unerlässlich.

2.3.1 Liste des erhältlichen Versandmaterials

- Voradressierte, gekennzeichnete, gefütterte Versandumschläge:
 - klein (Innenmass: 150 x 215 mm)
 - gross (Innenmass: 180 x 265 mm)
- Versandschachteln für Bestandesproben (Blut, Milch, Kottupfer)
- Standardtransportmedium mit Tupfer, steril, einzeln verpackt
- Standardtransportmedium mit feinem Tupfer, steril, einzeln verpackt
- Tupfer ohne Medium, steril (für EP-PCR)
- Kohletransportmedium mit Tupfer, steril, einzeln verpackt (für CEM Diagnostik)
- TTE Medium für Spülproben auf *Campylobacter fetus*
- Plastikröhrchen (10 ml), steril für Milch, Punktate, Eiter u.ä.
- Vacutainer Serum (10 ml)
- Vacutainer Urine C&S (kostenpflichtig)
- Sterile Wattetupfer in Röhrchen, für Kotproben im Rahmen von Bestandesuntersuchung
- Probenahmeset für Aborte
- Isolatoren 1.5 ml und 10 ml für Blutkultur (kostenpflichtig)

2.4 Annahme von Untersuchungsmaterial

Einsendungen zur Diagnostik für die Abt. ZOBA (Zentrum für Zoonosen, bakterielle Tierkrankheiten und Antibiotikaresistenz) sind an folgende Adresse zu richten:

Universität Bern
Tierspital
Institut für Veterinär-Bakteriologie
ZOBA
Postfach 8466
CH-3001 Bern

Posteinsendungen, Untersuchungsmaterial aus den Kliniken bzw. Instituten des Tierspitals, sowie persönlich geliefertes Untersuchungsmaterial inkl. dazugehörigem Untersuchungsauftrag werden in den entsprechend gekennzeichneten Kühlschränken des Instituts für Veterinär-Bakteriologie (1. Stock), Länggassstrasse 122 deponiert oder mittels Rohrpost eingeschickt.

An uns adressierte ganze Feten oder Tiere werden an das Institut für Tierpathologie der Universität Bern weitergeleitet. Organe für die EP-, APP-Diagnostik, Abortuntersuchungen, mikrobiologische Fleischuntersuchungen, Analysen auf Rauschbrand und Milzbrand werden direkt analysiert. Andere Organe werden unter Umständen an die Pathologie weitergeleitet.

Tierarztpraxen können Proben auch per Kurier schicken, sofern Ihre Praxis im Einzugsgebiet des Anbieters liegt. Melden Sie sich direkt bei Meier Express unter der Telefonnummer **0848 44 44 00**, per Fax (0848 44 45 00), oder per E-Mail (info@meier-express.ch) und fragen an, ob Ihre Praxis bedient werden kann. Falls ja, teilen Sie bitte mit, wie viele Proben/Gebinde bei Ihnen in der Praxis abzuholen sind. Bitte melden Sie auch weitere Proben die am selben Tag anfallen nach, damit der Kurier über die korrekte Anzahl Proben informiert ist. Bitte vereinbaren Sie einen für den Kurier zugänglichen Ort um die Proben zu deponieren.

2.5 Untersuchungstermine

Für umfangreiche Sammelproben oder Proben welche innerhalb einer vorgegebenen Zeit analysiert werden müssen - wie Bestandesuntersuchungen, Reihenuntersuchungen, Untersuchungen für Import / Export, KB-Stationen etc. - ist eine telefonische Voranmeldung unter 031 631 24 35 für die Terminvereinbarung unerlässlich.

2.6 Referenztätigkeit für bakterielle Tierseuchen

Im Rahmen der Referenztätigkeit für das BLV erhält unser Institut Seren anerkannter Laboratorien zur Überprüfung fraglicher oder positiver Ergebnisse. Hierzu kann es notwendig sein, Rohdaten der Erstuntersuchung des einsendenden Labors anzufordern. Für die Typisierung / Identifikation von bakteriellen Tierseuchenerregern werden nur **Reinkulturen** der verdächtigen Isolate untersucht. Die Stämme sollten prinzipiell in Standardtransportmedium mit Tupfer eingesandt werden. Wir behalten uns vor, bei eingesandten Mischkulturen oder Zusendung von Agarplatten die Untersuchung abzulehnen. Bei Verdacht auf Rauschbrand sollte aufgrund der Empfindlichkeit des Erregers ein Stück der veränderten Muskulatur eingesandt werden.

2.7 Machbarkeitsprüfung

Bei Eingang der Probe wird eine Machbarkeitsprüfung durchgeführt, aufgrund derer eine Untersuchung ggf. abgelehnt werden kann.

In folgenden Fällen kann Untersuchungsmaterial zurückgewiesen werden:

- Proben mit ungenauer oder fehlender Kennzeichnung (inklusive Angaben über Tierarzt)
- ausgelaufene Materialien in undichten oder zerbrochenen Gefässen
- eingetrocknetes oder ungünstigen Transportbedingungen ausgesetztes Material
- Proben mit offensichtlicher Kontamination
- kein klarer Untersuchungsauftrag (u.U. telefonische Abklärung)
- die gewünschte Untersuchung ist nicht im Untersuchungsspektrum unseres Instituts

Die Meldung über die Rückweisung erfolgt unverzüglich an den Einsender der entsprechenden Probe.

Terminvorgaben des Kunden werden vor der Analyse auf ihre Machbarkeit geprüft. Während der Analyse auftretende Abweichungen, die einen Einfluss auf den Termin haben, werden dem Kunden umgehend mitgeteilt.

Ergebnisse von Bestätigungsuntersuchungen im Rahmen der Referenztätigkeit sowie weitergehende Typisierungen von Isolaten anderer Labore (z. B. *Cl. perfringens* Toxingenbestimmungen) werden den Laboren direkt mitgeteilt. Hingegen werden Primäruntersuchungen für andere Labore nicht im Unterauftrag durchgeführt.

2.8 Berichterstattung

Die Berichterstattung diagnostischer Befunde erfolgt i.d.R. an den behandelnden Tierarzt und / oder die amtlichen Veterinärbehörden. Der definitive Prüfbericht mit elektronischer Kennzeichnung des verantwortlichen Mitarbeiters wird gemäss Kundenwunsch per email, per Fax und/oder schriftlich via A-Post (oder interne Post Tierspital) übermittelt. Auf Wunsch oder wenn tierseuchenrechtlich relevante Ergebnisse vorhanden sind, wird ein vorläufiger Prüfbericht via Telefon, per mail oder Fax übermittelt. Für die vertrauliche Handhabung der versandten Prüfberichte übernimmt der Kunde die Verantwortung.

Prüfberichts kopien können für Drittpersonen erstellt werden, sofern diese im Untersuchungsauftrag angefordert werden.

Änderungen des Prüfberichts erfolgen als Korrekturen und Ergänzungen erfolgen in Form eines Nachtrages.

Wichtige Befunde der Tierseuchendiagnostik gemäss Tierseuchenverordnung und andere wissenschaftlich interessante Resultate können bei Bedarf nationalen oder internationalen Referenzlaboratorien zur Überprüfung und Bestätigung weitergeleitet werden. Auf diesen Umstand wird auf dem Prüfbericht hingewiesen. Ein Nachtrag über diese Ergebnisse erfolgt nur, wenn sich Abweichungen vom ursprünglichen definitiven Prüfbericht ergeben oder wenn wichtige zusätzliche klinische oder epidemiologische Informationen gewonnen wurden. In diesem Fall ist der definitive Prüfbericht unter Angabe des Befundes der Referenzstelle als Nachtrag gekennzeichnet.

Alle Mitarbeiter des Instituts unterstehen der medizinischen Schweigepflicht.

Sämtliche Prüfberichte werden 10 Jahre aufbewahrt.

2.9 Aufbewahrung von Untersuchungsmaterial und Isolaten

Untersuchungsmaterial wird nach Abschluss der Analyse entsorgt. Untersuchungsproben und Erregerisolate von epidemiologischer Relevanz oder wissenschaftlichem Interesse werden entsprechend der jeweiligen Situation mehrere Jahre in einer Sammlung aufbewahrt.

2.10 Beschwerden

Bei Unstimmigkeit sind die Kunden gebeten, Rückfragen zu stellen. Für die ständige Qualitätsverbesserung sind wir dankbar, wenn sich die Kunden in schwerwiegenden Fällen direkt bei der Abteilungsleitung melden.

3 Allgemeine Bakteriologie

3.1 Allgemeines

Eine bakteriologische Untersuchung ist sinnvoll

- bei begründetem Verdacht einer bakteriellen Infektion
 - zur Stellung einer ätiologischen Diagnose
 - zur Abklärung epidemiologischer Folgen
 - zur Aufstellung einer gezielten Therapie
 - zur Stellung einer Prognose
- bei chronischen Infektionen
- nach Versagen einer Antibiotikatherapie
- bei epidemiologisch wichtigen Krankheiten

3.1.1 Präanalytik

In bakteriologischem Untersuchungsmaterial werden entsprechend unserem Untersuchungsspektrum, der Tierart, der Materialbezeichnung sowie der Anamnese bzw. Verdachtsdiagnose diejenigen Erreger gesucht, die als Infektionserreger in Frage kommen können.

Alle Laborresultate werden hinsichtlich ihrer klinischen Relevanz berichtet und sind letztlich zusammen mit dem klinischen Bild zu interpretieren.

Je mehr Untersuchungsmaterial zur Verfügung gestellt wird, desto grösser ist die Wahrscheinlichkeit einer Keimisolation.

Die folgenden Kapitel stellen die in unserem Institut durchgeführten Untersuchungen dar und sind als Analysenliste des Instituts zu betrachten.

Die Vorgehensweise bei den verschiedenen Infektionskrankheiten können Sie den Kapiteln 3.2 und 3.3 entnehmen. Bei Fragen bitte Kontakt mit der Diagnostikleitung aufnehmen.

3.1.2 Befundinterpretation

Wir beschränken uns auf die Angabe der jeweiligen, für eine Infektion in Frage kommenden Erreger (klinische Relevanz) und weisen darauf hin, dass in vielen Fällen eine Interpretation des Ergebnisses lediglich unter Berücksichtigung des klinischen Bildes stattfinden kann.

Berichtet werden die Ergebnisse semiquantitativ nach folgendem Schema:

geringgradiger Gehalt oder	+	< 30	Kolonien / Platte
mittelgradiger Gehalt oder	++	30-100	Kolonien / Platte
hochgradiger Gehalt oder	+++	> 100	Kolonien / Platte

oder quantitativ in Keimzahl pro ml für Harnuntersuchungen (Hund, Katze)

Der Befund **steril** bedeutet, dass bei **den von uns** durchgeführten Kulturansätzen kein Keimwachstum stattgefunden hat. Der Befund **negativ** bedeutet, dass im Untersuchungsmaterial keine zur Anamnese bekannten und passenden pathogenen Erreger gefunden werden konnten. Der Befund **Mischflora** bedeutet, dass aufgrund starken Wachstums mehrerer Keimarten keine zur Anamnese bekannten und passenden pathogenen Erreger isoliert werden konnten, es jedoch möglich ist, dass sich solche in der

Mischung befinden. Für Ergebnisbesprechungen und Beratung stehen wir gerne zur Verfügung.

3.1.3 Dauer der Untersuchung

Bakteriologische Untersuchungen sind in der Regel innert ein bis drei Arbeitstagen abgeschlossen. In den verbleibenden Fällen teilen wir, falls erforderlich, einen Zwischenbefund mit. Einige Analysen erfordern längere Untersuchungszeiten, welche in den entsprechenden Kapiteln gesondert vermerkt sind.

3.2 Richtlinien bezüglich des klinischen Untersuchungsmaterials

Infektionen des oberen Respirationstraktes

Die physiologische Keimbeseidlung des oberen Respirationstraktes mit apathogenen und auch fakultativ pathogenen Keimen erschwert die Entnahme von Untersuchungsmaterial sowie die Interpretation des Befundes. Hingegen gelten die Nasennebenhöhlen als keimfrei.

Sinus

Untersuchungsmaterial:

Am besten eignet sich eine durch Punktion des infizierten Sinus gewonnene Probe.

Das Material dient dem Nachweis von aeroben und anaeroben Keimen. Für letztere ist jedoch noch zusätzlich zu beachten, dass bei der Entnahme der Kontakt mit Sauerstoff möglichst vermieden wird, das heisst die Spritze vor Entnahme keine Luft enthält, die Nadel belassen wird und Spülungen mit sterilen Lösungen vermieden werden.

Eine Materialentnahme aus dem Rhinopharynx oder der Nase ist häufig nicht repräsentativ, da die Gefahr einer Kontamination mit der in den oberen Luftwegen residenten Flora zu hoch ist.

Transport:

Ist ausreichend Material vorhanden (d.h. mehr als 2 ml Eiter oder Flüssigkeit), kann es in einem sterilen Gefäss dem Labor zugesandt werden (nicht in der Spritze!).

Nur kleinere Mengen sollten in Transportmedium verschickt werden, um eine Austrocknung zu verhindern, sowie im Fall von Anaerobiern einen ausreichenden Schutz vor dem Kontakt mit Sauerstoff zu gewährleisten.

Nase, Rachen

Untersuchungsmaterial:

Die Durchführung eines Nasenabstrichs ist nur dann sinnvoll, wenn es sich um die Abklärung eines spezifischen Infektes der oberen Atemwege handelt (z.B. Bordetellose, Aspergillose, Spezialfall: EP-Diagnostik) oder wenn massiver eitriger Nasenausfluss vorliegt. Die Analyse spiegelt in keinem Fall das Geschehen im unteren Respirationstrakt wieder und kann daher eine bronchoalveoläre Lavage oder transtracheale Aspiration nicht ersetzen. Auch bei Verdacht einer Sinusitis oder einer Otitis media sind Nasen- oder Rachenabstriche nicht angezeigt.

Rachenabstriche sind lediglich im Fall von eitrigen oder ulzerösen Prozessen von Bedeutung. Eine Tupferentnahme ist gerechtfertigt; sie sollte jedoch beim Vorliegen von pseudomembranösen Belägen nach dem Entfernen letzterer erfolgen. Zufriedenstellend sind geschützte Tupfer, die es ermöglichen, kontaminationsarme Proben aus der Tiefe der Nase sowie dem Rachen zu entnehmen. Bei Verdacht auf mykotische Rhinitis empfiehlt es sich, zusätzlich zum Tupfer, Nasensekret in einem sterilen Gefäss einzusenden, um einen mikroskopischen Direktnachweis durchzuführen.

Transport:

Nasen- und Rachenabstriche müssen in Transportmedium verschickt werden. Für den Transport gelten die Angaben im Kapitel "Allgemeine Richtlinien".

Infektionen des unteren Respirationstraktes

Im unteren Respirationstrakt (Bronchialbaum ab bifurcatio) findet man beim gesunden Tier wenig bis gar keine bakterielle Flora vor. Ist dies dennoch der Fall, handelt es sich oft um transiente Keime und es muss bei der Analyse zwischen Kolonisation und Infektion unterschieden werden.

Untersuchungsmaterial:

Um eine Kontamination durch die oropharyngeale Flora zu vermeiden, stellt die transtracheale Spülung das Mittel der Wahl dar. Dieser invasive Eingriff kann jedoch durch eine bronchoskopische Materialgewinnung mit geschütztem Schlauch umgangen werden. Dabei verringert das Ausspülen der Mundhöhle eine eventuelle Kontamination der Probe. Das Sekret kann unverdünnt aspiriert werden. Alternativ kann eine bronchoalveoläre Lavage unter endoskopischer Kontrolle durchgeführt werden.

Transport:

Das native Material ist dem Labor so schnell wie möglich zuzusenden. Wenn bei kleineren Mengen und längerem Transport die Gefahr der Austrocknung besteht, sollte die jeweilige Probe mit wenig sterilem Puffer oder steriler, isotonischer Kochsalzlösung angefeuchtet und dies auf dem Untersuchungsformular vermerkt werden. Es ist zu vermeiden, Tupfer zu verwenden.

Lungenbiopsien und Pleuralexsudate können im Einzelfall zur Diagnosestellung erforderlich sein.

Infektionen von Ohr und Auge

Ohr

Die Keimbesiedlung des äusseren Ohrs entspricht weitgehend der Haut, während Mittel- und Innenohr keimfrei sind.

Untersuchungsmaterial:

In der Regel erlauben Ohrtupfer in gewöhnlichem Transportmedium eine korrekte Analyse. Sind die Läsionen trocken, ist der Tupfer vor der Entnahme anzufeuchten. Bei einer Infektion des Mittel- und / oder Innenohrs ist eine Punktion von Vorteil. Ist das Trommelfell bereits ruptiert, kann die ausfliessende Flüssigkeit mit einem flexiblen Tupfer entnommen werden.

Transport:

Für den Transport gelten die in Kapitel 2.3 aufgeführten allgemeinen Bestimmungen.

Auge

Auf der Binde- und Hornhaut befindet sich eine transiente Flora, die von den für eine Konjunktivitis verantwortlichen Keimen unterschieden werden muss. Zu beachten ist die antimikrobielle Aktivität der Tränenflüssigkeit (Ausnahme Rind!).

Untersuchungsmaterial:

Es genügt in den meisten Fällen ein Abstrich, der bei trockenem Auge mit einem angefeuchteten Tupfer (mit steriler physiologischer NaCl) durchgeführt werden sollte. Bei einseitiger Erkrankung ist es von Vorteil, beide Augen zu testen. Das gesunde Auge kann als Negativkontrolle bzw. zur Bestimmung der transienten Flora dienen. Abstriche von ulzerativen Kornealäsionen können nach Lokalanästhesie erfolgen.

Transport:

Für den Transport gelten die in Kapitel 2.3 genannten allgemeinen Bedingungen.

Wundinfektionen, Abszesse

Es ist hierbei zu unterscheiden zwischen Material aus geschlossenen pathologischen Prozessen und Exsudaten aus offenen oberflächlichen Wunden, Ulzera und Fisteln, wobei letztere häufig zusätzlich mit Haut- und / oder Schleimhautkeimen besetzt sind. Die Sicherheit der Diagnose ist abhängig vom Probenvolumen.

Untersuchungsmaterial aus geschlossenen pathologischen Prozessen:

Die Entnahme erfolgt durch Punktion nach gründlicher Desinfektion der Einstichstelle und sollte vor einer chirurgischen Behandlung vorgenommen werden.

Untersuchungsmaterial aus Wunden, Ulzera und Fisteln:

Nach Entfernen oberflächlicher Sekrete und Beläge mit steriler physiologischer NaCl sollte Material vom Wundrand/-grund durch Abkratzen oder Gewebsexzision entnommen werden. Zur Entnahme aus Fisteln ist die Fistelöffnung zu desinfizieren und das Material mittels steriler Kanüle oder Katheter zu aspirieren oder nach chirurgischer Eröffnung zu entnehmen.

Transport:

Das Material ist nativ in einem sterilen Gefäss unverzüglich einzusenden (nicht in der Spritze!). Bei sehr kleinen Probenvolumina ist das Material vor Austrocknung zu schützen. Biopsiematerial oder Flüssigkeit ist einem Tupfer immer vorzuziehen. Ist jedoch die Verwendung eines Tupfers unvermeidlich, ist dieser sofort in ein Transportmedium einzubringen.

Infektionen des Genitalapparates

Der distale Abschnitt der Urethra sowie der Vagina ist normalerweise mit einer Vielzahl von Keimen besiedelt. Die übrigen Bereiche des Genitalapparates sind beim gesunden Tier keimarm bis keimfrei, Sekrete und Exsudate werden aber im Verlauf der Probengewinnung beim Passieren der besiedelten Schleimhäute leicht kontaminiert, was bei der Interpretation mikrobiologischer Befunde berücksichtigt werden muss.

Urethra, Vagina, Zervix, Uterus und Prostata

Untersuchungsmaterial:

Das Material aus dem distalen Bereich des Genitalapparates wird überwiegend als Tupferabstrich gewonnen.

Vaginal- und Zervixabstriche sollten unter Sichtkontrolle am makroskopisch veränderten Ort entnommen werden. Bei Verdacht einer Endometritis sind sie jedoch nicht aussagekräftig. Das Einführen des Spekulum sollte, wenn möglich, ohne die Verwendung von Gleitmittel erfolgen, da diese oft antibakterielle Substanzen enthalten. Eitriger Vaginalausfluss kann auch in einem sterilen Gefäss aufgefangen und eingesandt werden. Uterusproben sind mit dafür vorgesehenen geschützten Tupfern zu entnehmen.

Prostatasekret wird nach Reinigung der Harnröhrenöffnung durch rektale Massage der Drüse entnommen. Ausfliessendes Sekret wird in einem sterilen Gefäss aufgefangen, bei ausreichender Menge kann der erste Tropfen verworfen werden. Es besteht auch die Möglichkeit einer Punktion oder Biopsie.

Transport:

Für den Transport gelten die Angaben im Kapitel "Allgemeine Richtlinien".

Präputialspülprobe

Untersuchungsmaterial und Transport:

Campylobacter fetus subsp. *venerealis*:

Zur Erfassung von Deckinfektionen durch *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis* wird eine Spülung des Präputiums mit einer sterilen isotonischen Flüssigkeit (z. B. isotonische Kochsalzlösung) durchgeführt. Anschliessend werden 5 ml in 45 ml TTE-Medium (beim Institut erhältlich) gegeben (siehe Kapitel *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis* Seite 24/48).

Tritrichomonas fetus:

Das angewandte Transportmedium für *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis* darf nicht für *Tritrichomonas fetus* verwendet werden. Für das Vorgehen bei diesen Proben und betreffend des Transports wenden Sie sich bitte an die Leitung Diagnostik des Institutes für Parasitologie am Tierspital Bern Tel. 031 631 2475)

Urin

Eine einwandfreie Urinentnahme sowie die Vermeidung einer Keimvermehrung vor der Probenverarbeitung sind unerlässlich für die Verwertbarkeit einer bakteriologischen Harnuntersuchung. Die Besiedlung von Harnröhre und Genitalöffnung mit Schleimhautkeimen und zum Teil auch Keimen aus der Darmflora erschwert eine sterile Harnentnahme. Durch quantitative Analyse kann in der Regel zwischen Infektion und Kontamination unterschieden werden, jedoch nur unter der Voraussetzung, dass ausgewählte Transportbedingungen eine Keimvermehrung verhindern, die meist zugunsten des Kontaminanten stattfindet. Bei der Interpretation der quantitativen Kultur muss eine Messunsicherheit von einer Logarithmusstufe berücksichtigt werden. Zur

Feststellung von Antibiotika oder anderen Hemmstoffen im Harn wird bei jeder Harnuntersuchung ein Hemmstoffnachweis durchgeführt.

Untersuchungsmaterial:

Die Keimzahl ist wesentlich von der Zeit seit der letzten Miktion bestimmt. Für eine mikrobiologische Untersuchung ist es daher von Vorteil, Urin nach längerer Kontinenz, zum Beispiel am Morgen zu entnehmen.

Die Entnahme von mindestens 3 ml Urin erfolgt mit sterilem Einwegmaterial.

Es kann zwischen drei Methoden gewählt werden:

a) Mittelstrahlurin: Die Methode ist relativ einfach aber bedingt geeignet für eine genaue quantitative bakteriologische Untersuchung.

b) Katheterurin: Es besteht das Risiko iatrogenen Infektionen. Eine Kontamination der Probe durch die Harnröhre besiedelnde Keime kann nicht ausgeschlossen werden. Bei Patienten mit Verweilkathetern darf der Urin nicht direkt aus dem Beutel entnommen werden, sondern sollte bei geschlossenem System aus dem Anschlussstück mit steriler Spritze aspiriert werden. Eine bakterielle Kultur der Katheterspitze ist nicht sinnvoll, da die Analyse nicht quantitativ durchgeführt werden kann und sie nicht unbedingt das Keimspektrum in der Harnblase widerspiegelt. Sie kann in seltenen Fällen der Bestätigung einer nosokomialen Infektion dienen.

c) Blasenpunktion: Sie stellt das Mittel der Wahl für eine bakteriologische Untersuchung dar.

Die Wahl der Methode wird von der zu behandelnden Tierart und anderen Rahmenbedingungen beeinflusst, die Entnahme sollte jedoch stets unter höchstmöglichster sterilen Kautelen erfolgen.

Transport:

Der Transport muss so schnell wie möglich in sterilen Probengefässen erfolgen. Diese müssen dicht verschlossen und gut gekennzeichnet sein. Urinproben in sterilen Röhrchen ohne Konservierungsmittel und ohne Kühlung erfordern eine sofortige Untersuchung (maximale Transportdauer von 2 Stunden).

Ausnahme: *C. renale*, *Actinobaculum (Eubacterium) suis*.

Ist dies nicht möglich, empfehlen wir die Einsendung von Urin mit Urinbehälter mit chemischen Konservierungsmitteln (z. B. Vacutainer *Urine C&S*, bei uns erhältlich), die keine Kühlung erfordern und eine gute Konservierung der Erreger gewährleisten. Tupfer sind nicht geeignet!

Liquor, Synovia und Punktate aus normalerweise sterilen Körperhöhlen

Bei steriler Entnahme sind nachgewiesene Keime fast ausnahmslos für die Ätiologie einer Infektion verantwortlich.

Untersuchungsmaterial:

Vor der Punktion ist die Einstichstelle gründlich zu desinfizieren. Da Anaerobier-Infektionen stets in Frage kommen, muss bei der Entnahme der Kontakt mit Sauerstoff möglichst vermieden werden, das heisst, die Spritze sollte keine Luft mehr enthalten.

Bei Verdacht einer bakteriellen Meningitis sollte neben einer Liquorprobe zusätzlich eine Blutkultur angesetzt werden.

Transport:

Der Transport sollte in einem sterilen Röhrchen innert 24 Stunden erfolgen (nicht in der Spritze!).

Blut

Für den Ansatz einer Blutkultur bestehen in der Veterinärmedizin folgende Indikationen:

- Sepsis
- Endokarditis und andere intravaskuläre Infektionen
- Diskospondylitis
- Meningitis
- Zyklische Infektionen, Fieberschübe

Die dabei auftretenden Erreger können transient, intermittierend oder kontinuierlich im Blut nachweisbar sein. Neben primär pathogenen Erregern sind häufig auch solche aus der normalen Mikroflora des Patienten und der Umgebung nachweisbar und es ist daher zwischen Kontamination und Infektion zu unterscheiden. Zeitpunkt und Technik der Entnahme sind entscheidend für eine korrekte Analyse.

Der günstigste Entnahmezeitpunkt liegt kurz vor oder bei Beginn einer Fieberphase.

Wichtig ist es, darauf zu achten, dass noch keine antibiotische Therapie eingeleitet worden ist. Ist dies dennoch der Fall, sollte die Entnahme den kinetischen Eigenschaften des Antibiotikums angepasst werden.

Zur sicheren Abklärung der Ätiologie sind meist mehrere Proben erforderlich.

Der Entnahme geht eine sorgfältige Desinfektion der Einstichstelle voraus, wobei weniger das Desinfektionsmittel als die Technik entscheidend ist. Bei der Palpation darf die Einstichstelle nicht berührt werden. Weiterhin sollte das Blut für eine Blutkultur nicht aus einem Verweilkatheter entnommen werden.

Da die Keimzahl im Blut von bakteriämischen Tieren niedrig sein kann und eine direkte Korrelation besteht zwischen Volumen der Probe und positivem Resultat, ist es wichtig, möglichst grössere Mengen (bis zu 10 ml) zu entnehmen und eventuell mehrere Kulturen anzusetzen.

Beimpfung der Isolatoren:

Für die Blutkultur stehen sog. Isolatorensysteme für kleine (0.5 - 1 ml) oder grössere Mengen (6-10 ml) Blut zur Verfügung. Diese können beim Labor bestellt werden, ein mitgeliefertes Merkblatt informiert über den sachgerechten Gebrauch.

Das Blut muss unverzüglich aus der Entnahmespritze in die Isolatoren injiziert werden. Diese sind vorher gründlich zu desinfizieren und mit einem frischen, alkoholgetränkten

Tupfer bis zur Verwendung abzudecken. Die Isolatoren dürfen nicht gekühlt werden und sollten so schnell wie möglich ins Labor gesandt werden.

Kot

Untersuchungsmaterial:

Kot sollte stets rektal und ohne Urinbeimengungen entnommen und nicht aufgesammelt werden. Es kann Kot direkt oder Tupfer mit Transportmedium eingesandt werden. Bei der Entnahme muss darauf geachtet werden, dass der Tupfer mindestens 5 cm hinter den Analsphinkter eingeführt wird und nach der Entnahme Kot am Tupfer sichtbar ist. Bei Verdacht auf Paratuberkulose sollte das vorgängig das Labor kontaktiert werden, um das geeignete Untersuchungsverfahren (Serologie, PCR, Kultur) auszuwählen.

Transport:

Der Transport erfolgt in sauberen, trockenen und gut verschlossenen Behältern. Es gelten die in Kapitel 2.3 aufgeführten allgemeinen Bedingungen. Bei Bestandesuntersuchungen ist eine vorherige Anmeldung unerlässlich.

Organproben und Biopsien

Untersuchungsmaterial:

Zur Erfassung von Aborterregern ist die Untersuchung des Fetus optimal. Ferner sind veränderte Kotyledonen oder Organe eines totgeborenen Tieres geeignet. Zusätzlich wird zur serologischen Abklärung eines Abortes auch Serum des Muttertieres dringend empfohlen. (siehe auch Vorgaben der Technischen Weisungen über die Entnahme von Proben und deren Untersuchung auf Brucellose.)

Transport:

Feten bzw. fetale Organe können in gut verschlossenen Plastikbeuteln, Plazenta-Gewebe in sauberen, trockenen und dicht verschlossenen Behältern versandt werden. Am Institut sind dafür vorgesehene Probenahmesets für Aborte erhältlich.

Biopsien können nativ oder bei Transport per Post in steriler, physiologischer Kochsalzlösung in einem sterilen Gefäss dem Labor zugesandt werden. Formalinfixiertes Gewebe, bzw. Paraffinschnitte sind für eine kulturelle bakteriologische Untersuchung unbrauchbar, allerdings kann in Einzelfällen mittels PCR eine bakteriologische Analyse durchgeführt werden.

3.3 Allgemeine bakteriologische Diagnostik (Analysenliste)

Wir führen eine allgemeine bakteriologische Diagnostik gemäss international anerkannten Prüfverfahren oder publizierten Methoden durch.

Unsere Routinediagnostik erfasst ein breites Spektrum von bakteriellen Erregern. Die häufigsten/wichtigsten Erreger sind in untenstehender Analysenliste dargestellt.

Material / Lokalisation der Infektion	Wichtigste Erreger	Untersuchungs-material	Transport Gefäss/Zeit/Temp.	Bemerkungen
Abszesse, Fisteln, Wunden, Panaritien	<i>Actinobacillus</i> spp. <i>Actinomyces</i> spp. <i>Trueperella pyogenes</i> Anaerobier + Mycobakterien <i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i> (Schaf und Ziege) <i>Nocardia</i> spp. <i>Pasteurellaceae</i> Staphylokokken Streptokokken	geschlossen: - Aspirat offen: - Geschabsel - Abstrich - Eiter	-steriles Röhrchen -Standardtransportmedium	bei Aspiration vorherige Hautdesinfektion Gewebe oder Flüssigkeit besser als Tupfer
Auge	Bordetellen Chlamydien <i>Moraxella</i> spp. Mykoplasmen <i>Pasteurellaceae</i> Pseudomonaden Staphylokokken Streptokokken	Tupferabstrich (angefeuchtet)	-Standardtransportmedium	gesundes Auge zur Bestimmung der endogenen Flora testen
Blut	<i>Enterobacteriaceae</i> <i>Erysipelothrix</i> spp. <i>Listeria</i> spp. Staphylokokken Streptokokken <i>Brucella</i> spp.	mind. 0.5 ml Blut	spezielle Isolatoren, nicht kühlen!	Entnahme bis 3 x täglich (optimal kurz vor oder bei Beginn einer Fieberphase)
Haut	<i>Actinomyces</i> spp. <i>D. congolensis</i> + verwandte Erreger Mykobakterien Nocardien Staphylokokken Streptokokken Hefen, Pilze	Geschabsel, Biopsien, evtl. Abstriche	-nativ oder in phys. NaCl -Standardtransportmedium	
Körperhöhlenflüssigkeiten: • Peritoneal-, Perikard-, Thorakalflüssigkeit • Liquor • Synovia	Anaerobier Chlamydien <i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i> <i>Listeria</i> spp. Mykoplasmen <i>Nocardia</i> spp. <i>Pasteurellaceae</i> Staphylokokken Streptokokken	Punktat (2-5 ml)	-nativ in sterilem Röhrchen	in Punktat eingetauchte Tupfer sind ungeeignet
Darm/Kot	<i>Campylobacter</i> spp. Clostridien enteropathogene <i>E. coli</i> (Schwein, Kalb) Salmonellen Shigellen (Affe) <i>Yersinia</i> spp. <i>E. fergusonii</i> , Brachyspiren	Rektalabstrich, evtl. Kot nativ	-Tupfer mit Standardtransportmedium -sauberes Gefäss - Brachyspiren-Puffer	

Material / Lokalisation der Infektion	Wichtigste Erreger	Untersuchungsmaterial	Transport Gefäss/Zeit/Temp.	Bemerkungen
Luftsack (Pferd)	Anaerobier Aspergillen Streptokokken <i>Pasteurellaceae</i>	Spülung, Punktat	-steriles Röhrchen -Tupfer mit Standardtransportmedium	
Lunge	<i>Actinomyces hyo-intestinalis</i> <i>Trueperella pyogenes</i> Anaerobier Bordetellen Mykobakterien Mykoplasmen <i>Pasteurellaceae</i> <i>Rhodococcus equi</i> Staphylokokken Streptokokken	<ul style="list-style-type: none"> • transtracheales Aspirat • bronchoalveoläre Lavage • bronchoskopisches Aspirat • Organmaterial 	-steriles Röhrchen -Tupfer mit Standardtransportmedium	
Nasennebenhöhlen	<i>Actinomyces</i> spp. <i>Trueperella pyogenes</i> Anaerobier Staphylokokken Streptokokken Aspergillen	Punktat	-steriles Röhrchen -Tupfer mit Standardtransportmedium	einziges zuverlässiges Material bei Sinusitis
Nase / Rachen	Bordetellen <i>Pasteurellaceae</i> Mykoplasmen Staphylokokken Streptokokken Aspergillen	Abstrich, Eiter	-Tupfer mit Standardtransportmedium -steriles Röhrchen	ungeeignet für Diagnose einer Pneumonie oder Sinusitis
Ohr ausser innen	<i>Malassezia</i> spp. <i>Pasteurellaceae</i> Pseudomonaden Staphylokokken Streptokokken u.a. Anaerobier	Abstrich Punktat (Tympanocentesis)	-Tupfer mit Standardtransportmedium -steriles Röhrchen -Tupfer mit Standardtransportmedium	mikroskopischer und kultureller Nachweis von <i>Malassezia</i> spp.
Leber, Milz, Niere	<i>Listeria</i> spp. <i>Enterobacteriaceae</i> <i>Pasteurellaceae</i> <i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i> Staphylokokken Streptokokken	Organe	Versand in Plastikbeuteln, jedes Organ einzeln verpackt	Organ/Organstück nicht anschneiden
Prostata	Mykoplasmen Staphylokokken Streptokokken	Abstrich bzw. Prostata-Exprimat, Punktat via Rektum	-Tupfer mit Standardtransportmedium	

Material / Lokalisation der Infektion	Wichtigste Erreger	Untersuchungsmaterial	Transport Gefäss/Zeit/Temp.	Bemerkungen
Niere, Nierenbecken, Harnblase	<i>Enterobacteriaceae</i> Pseudomonaden Staphylokokken Streptokokken Leptospiren (PCR)* <i>Corynebacterium renale</i> -Komplex (Rind) <i>Actinobaculum (Eubacterium) suis</i> (Schwein)	Urin Organe Urin Organe	-Vacutainer Urine C&S, -Uricult -steriles Röhrchen* -Versand in Plastikbeuteln -steriles Röhrchen (muss innert 2 h im Labor sein) -Versand in Plastikbeuteln	Quantitativer Kulturansatz. (Ausnahme: <i>C. renale</i> , <i>E. suis</i>)
Uterus	<i>Trueperella pyogenes</i> <i>A. hippocoleae</i> (Pferd) Anaerobier Klebsiellen (Pferd) <i>Pasteurellaceae</i> Staphylokokken Streptokokken Pilze Coxiellen, Chlamydien (PCR)	Abstrich mit geschütztem Tupfer, Eiter Abortmaterial	-Standardtransportmedium -Plastikbeutel, Becher	
Vagina Präputium Hund	<i>Haemophilus haemoglobinophilus</i> Staphylokokken Streptokokken <i>Pasteurellaceae</i>	Abstrich via Spekulum, Eiter	-Tupfer mit Standardtransportmedium	ungeeignet für Diagnose einer Endometritis
Milch	Streptokokken Staphylokokken <i>Enterobacteriaceae</i> Hefen <i>Trueperella pyogenes</i> Mycoplasmen säurefeste Erreger <i>Bacillus</i> spp.	Milch	-steriles Röhrchen	

3.3.1 Spezielle Erreger

Actinobacillus pleuropneumoniae

Untersuchungsmaterial:

Der Erreger der Actinobacillose der Schweine kann aus infiziertem Lungengewebe isoliert werden.

Transport:

Sektionsmaterial muss nativ eingesandt werden. Es gelten die Bestimmungen in Kapitel 2.3.

Labordiagnose:

Der kulturelle Nachweis gelingt in der Regel bei frischem Untersuchungsmaterial. Es folgt anschliessend eine Typisierung mittels molekularbiologischen Methoden.

Unterstützend kann im Bestand eine serologische Kontrolle durchgeführt werden (siehe Kapitel 6).

Anaerobier

Untersuchungsmaterial:

Anaerobier sind Bestandteil der physiologischen Flora der Schleimhäute des Verdauungsapparates und rufen meist endogene Infektionen in allen Körpergeweben hervor. Die Entnahme erfolgt im günstigsten Fall durch Punktion oder Gewebsexzision. In Ausnahmefällen sind auch Tupferabstriche möglich. Tupfer von oberflächlichen Wunden und aus Körperöffnungen sowie bronchoskopische Aspireate sind jedoch nicht geeignet. Bei der Entnahme ist eine Kontamination der Probe durch die normale Haut- oder Schleimhautflora zu vermeiden.

Transport:

Für eine optimale Analyse ist ein Transportmedium zu verwenden.

Labordiagnose:

Anaerobier als Eiter- oder Nekrose-Erreger kommen häufig in einer Mischung von verschiedenen Erregern vor und werden als anaerobe Mischflora (u.a. *Fusobacterium* spp., *Bacteroides* spp.) beurteilt. Die Diagnose erfolgt durch mikroskopische Beurteilung und Kultur. Die einzelnen Erreger werden in der Regel nicht separat identifiziert.

Von Bedeutung ist eine direktmikroskopische Beurteilung, die häufig ein vorläufiges Ergebnis zulässt. Die Interpretation der Kultur ist schwierig und ein Resultat erst nach 2-7 Tagen zu erwarten.

Brucellen

Untersuchungsmaterial:

Beim lebenden Tier stellen Abortmaterial (Fetus, Plazenta), Blut, Milch, Sperma und Vaginalausfluss das Untersuchungsmaterial der Wahl dar.

Transport:

Der Transport von potentiell infiziertem Material erfolgt in absolut dichten Plastik- oder Metallbehältern. Körperflüssigkeiten werden in dichten Röhrchen versandt.

Labordiagnose:

Die Diagnose ergibt sich aus dem mikroskopischen Erregernachweis mittels nach Stamp mod. Ziehl-Neelsen Färbung sowie kulturellem Nachweis mit anschliessender Identifikation mittels molekularbiologischen Methoden. Weitere Informationen befinden sich in den Kapiteln Tierseuchen und Serologie.

Campylobacter spp. und verwandte Erreger (*Arcobacter* spp., *Helicobacter* spp.)

Die Identifikation von *Campylobacter* spp. und verwandte Erreger erfolgt mittels Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectroscopy (MALDI TOF MS) und falls notwendig mit genotypischen Methoden. Die Dauer der Analysen beträgt 2 – 3 Tage.

Es werden alle relevanten *Campylobacter* spp. und verwandte Erreger identifiziert:

- Genotypisch mittels PCR: *Campylobacter fetus* subsp. *fetus*
Campylobacter fetus subsp. *venerealis*

Campylobacter fetus subsp. *venerealis*

Untersuchungsmaterial:

Aus epidemiologischen Gründen ist eine Untersuchung von Stieren am sinnvollsten. Diese wird in der Regel mit einer Präputialwaschung mittels physiologischer Kochsalzlösung durchgeführt, sie kann aber auch im Sperma erfolgen.

5 ml Spülflüssigkeit werden anschliessend in 45 ml spezifisches Transport- und Anreicherungs-Medium für *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis* überführt. TTE-Medium kann bei uns angefordert werden. Eine rechtzeitige Bestellung des Mediums und eine Voranmeldung für die Untersuchung sind empfehlenswert. (Achtung: Dieses Transportmedium enthält Hemmstoffe für die Begleitflora und ist nicht geeignet für *Tritrichomonas fetus* Untersuchungen).

Transport:

Der Transport findet direkt nach Beimpfung des Transportmediums mit der Spülflüssigkeit (Verdünnung 1/10) **ungekühlt** statt und ist nicht (mehr) kritisch, da im Transportmedium gleichzeitig eine **Anreicherung** von *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis* stattfindet.

Labordiagnose:

Die Diagnose erfolgt entweder mittels kulturellem Nachweis (bis zu 5 Tage) mit anschliessender Identifikation mit molekularbiologischer Methoden. Trotz des Gebrauchs von Selektivnährmedien, kann eine starke Kontamination der Probe durch andere Keime auftreten und zu einer unschlüssigen Diagnose führen. In diesem Fall wird eine Analyse direkt ab Spülprobe mittels molekularbiologischer Methoden durchgeführt. Es kann auch die Durchführung einer Direkt-PCR angefordert werden. Bei unschlüssiger Diagnose, oder im Falle positiver oder verdächtiger Resultate ist eine zweite Probe empfehlenswert.

Chlamydien bei kleinen Wiederkäuern

Untersuchungsmaterial:

Chlamydien sind verantwortlich für chronische Infektionen von Auge, Gelenk, Gehirn, Respirations- und Fortpflanzungsorganen, bzw. Aborten. Unerlässlich ist, neben der Einsendung von Organen, bzw. Abstrichen, die Einsendung von Blut oder Serum für die serologische Untersuchung.

Transport:

Für Chlamydien kann ein Tupfer in Transportmedium verwendet werden.

Labordiagnose:

Wir führen eine direktmikroskopische (Stampfärbung), eine serologische Untersuchung sowie eine Direkt-PCR im Fall von Organen durch (siehe auch Kapitel Serologie).

Corynebacterium renale-Komplex

Dem *Corynebacterium renale*-Komplex gehören *Corynebacterium renale*, *Corynebacterium cystitidis* und *Corynebacterium pilosum* an. Alle drei Erreger werden beim Rind auf der gesunden Schleimhaut des Urogenitaltrakts gefunden. *Corynebacterium cystitidis* ist am häufigsten an Pyelonephritiden der Kuh beteiligt und zeigt die höchste Virulenz.

Die Infektion ist durch eine Antikörperbildung in der Niere gekennzeichnet, was für die Diagnostik von Bedeutung ist.

Untersuchungsmaterial:

Der Erregernachweis erfolgt aus dem Urin oder post mortem am erfolgreichsten aus dem Nierenbecken.

Transport:

Urinproben können in einem sterilen Röhrchen eingesandt werden. Organproben werden einzeln verpackt versandt.

Labordiagnose:

Der direkte Erregernachweis im Gram-Ausstrich ist in vielen Fällen beweisend für eine Infektion. Bei Unklarheiten (mikroskopisch „andere“ grampositive feine Stäbchen, z.B. *T. pyogenes*) ist der kulturelle Nachweis unerlässlich für die definitive Diagnose.

Kulturell verdächtige Erreger werden phänotypisch identifiziert. Der kulturelle Nachweis wird durch die Gegenwart anderer Bakterien jedoch häufig erschwert.

Die Durchführung der indirekten Immunfluoreszenz im Harn (zum Nachweis von Rinder-IgG) weist bei einem positiven Ergebnis auf eine bakterielle Nierenlokalisation mit zweifelhafter Prognose hin.

Coxiella burnetii bei Wiederkäuern

Untersuchungsmaterial:

Coxiella burnetii wird aus Abortmaterial (Erregernachweis in Fetus, Plazenta) und in Blutserum (Antikörpernachweis) nachgewiesen. Andere *Rickettsiaceae* werden in unserem Institut nicht nachgewiesen.

Transport:

Es gelten die Angaben im Kapitel "Allgemeine Richtlinien".

Labordiagnose:

Die Diagnose der Coxiellose erfolgt direktmikroskopisch mittels Stampfärbung, mittels Direkt-PCR und wird serologisch bestätigt (siehe Kapitel Serologie).

Dermatophilus congolensis und verwandte Erreger

Untersuchungsmaterial:

Abgelöste Krusten bzw. entzündlicher Wundschorf dienen der bakteriologischen Analyse.

Transport:

Der Transport erfolgt in sterilen Röhrchen oder gut verschlossenen Petrischalen ohne Zusatz von Transportmedium oder Ähnlichem.

Labordiagnose:

Der direkte Erregernachweis im Gram-Ausstrich ist in vielen Fällen beweisend für eine Infektion. Die charakteristische Morphologie von *Dermatophilus congolensis* ist kokkoide Zoosporen und verzweigte Filamente in Geldrollenform. *Dermatophilus congolensis* kann auch auf Blutagar angezüchtet werden, bei starker Kontamination ist dies jedoch nicht möglich, weshalb ein Selektivagar bei spezieller Anforderung mitgeführt werden kann.

Atypische Mykobakterien

Untersuchungsmaterial:

Zur Untersuchung gelangen hauptsächlich Proben aus Milch, Hautläsionen und verschiedenen Organproben aus der Sektion.

Transport:

Das Untersuchungsmaterial muss unverzüglich verschickt oder bis zum Versand kühl gestellt werden.

Labordiagnose:

Im Verdachtsfall werden mikroskopische Präparate des Untersuchungsmaterials hergestellt und nach Ziehl-Neelsen und Stamp gefärbt.

Hinweis:

Der Nachweis von tuberkulösen Mykobakterien wird an unserem Institut nicht durchgeführt. Verdächtige Proben können direkt an das nationale Referenzlabor für Tuberkulose, Institut für Veterinär-Bakteriologie, Vetsuisse Fakultät, Universität Zürich gesandt werden.

Mykoplasmen

Wir führen bei Tierseuchenverdachtsfällen und in der Routinediagnostik auf Wunsch des Kunden Untersuchungen auf Mykoplasmen durch. Die Isolation der Mykoplasmen ist sehr zeitaufwändig und erfordert den Einsatz von Spezialmedien. Die endgültige Identifizierung wird mit Hilfe immunologischer oder molekulargenetischer Methoden durchgeführt (Kapitel 9, Molekularbiologische Diagnostik). Die kulturelle Analyse dauert mindestens 5 Tage.

A. Mykoplasmen als Tierseuchenerreger

Die Identifikation auf Speziesebene erfolgt routinemässig.

a) *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* SC (Erreger der Lungenseuche des Rindes)

Untersuchungsmaterial:

Der Erreger wird in infizierten Lungen und Mediastinallymphknoten von Tieren aus dem Schlachthof oder der Autopsie nachgewiesen. Für die serologische Untersuchung werden mindestens 5 ml Nativblut benötigt.

Transport:

Es gelten die Bestimmungen in Kapitel 2.3.

Labordiagnose:

Der Nachweis erfolgt kulturell. Die Identifikation basiert auf einer PCR. Der Nachweis kann auch direkt aus Organmaterial mittels PCR durchgeführt werden.

Der serologische Nachweis erfolgt mittels ELISA, als Konfirmationstest dient ein Immunoblot.

b) *Mycoplasma hyopneumoniae* (Erreger der Enzootischen Pneumonie des Schweines)

Untersuchungsmaterial:

Der Erreger wird entweder in verdächtigen Schlachtlungen oder in Nasentupfern nachgewiesen. Die Untersuchung ist eine Bestandesuntersuchung und erfordert pro Bestand mindestens 3 veränderten Schlachtlungen oder 10 Nasentupfern von hustenden Schweinen, um ein aussagekräftiges Ergebnis auf Bestandesebene zu erhalten.

Transport:

Organmaterial muss nativ eingesandt werden. Für Nasentupfer müssen zwingend Tupfer **ohne Medium** verwendet werden. Es gelten die Bestimmungen in Kapitel 2.3.

Labordiagnose:

Der Erregernachweis erfolgt aus Bronchusabstrichen oder aus Nasentupfern mittels PCR. Der kulturelle Nachweis ist für die Routinediagnostik nicht geeignet.

Die serologische Untersuchung im Blutserum macht nur auf Bestandesebene Sinn, es wird die Einsendung von mindestens 20 Blutproben empfohlen. In chronischen Fällen ist die Sensitivität sehr gering.

c) *Mycoplasma agalactiae* (Erreger der Kontagiösen Agalaktie der kleinen Wiederkäuer)

Untersuchungsmaterial:

Die Erreger werden vorwiegend in der Milch und in seltenen Fällen aus Gelenkflüssigkeit und Organen nachgewiesen.

Labordiagnose:

Die Diagnose erfolgt mittels Kultur und anschliessender Identifikation mittels PCR (siehe Kapitel 9). Für *Mycoplasma agalactiae* kann auch ein ELISA durchgeführt werden (siehe Kapitel 6).

B. Andere Mykoplasmen (u. a. *M. bovis* und *M. conjunctivae*)

Die Befundgebung erfolgt in anderen Fällen als *M. bovis* und *M. conjunctivae* als *Mycoplasma* sp. Die Spezies-Diagnose wird nur auf Wunsch des Kunden durchgeführt.

Untersuchungsmaterial:

Der Nachweis von Mykoplasmen erfolgt hauptsächlich aus Proben des Respirationstraktes, des Genitaltraktes, der Gelenke, der Augen sowie aus Milch. In septikämischen Fällen erfolgt der Nachweis auch aus den Organen.

Labordiagnose:

Der Nachweis erfolgt in der Regel kulturell. Die Identifikation auf Speziesebene erfolgt mittels Sequenzierung. Für *M. conjunctivae* und *M. bovis* kann auch ein Nachweis mittels Direkt-PCR angefordert werden.

Pasteurellaceae

Alle Pasteurellen werden soweit möglich identifiziert. Zur Bestimmung der Penicillinresistenz kann der β -Lactamase-Test durchgeführt werden.

Salmonellen

Die Identifikation von Salmonellen erfolgt mittels phänotypischen und serotypischen Methoden (O- und H-Antigene). Die Bestimmung des Serovars richtet sich nach dem aktuellen White - Kauffmann – Le Minor Schema.

Alle Salmonellen werden phänotypisch auf Spezies und Subspezies-Ebene identifiziert:

- *Salmonella enterica* subsp. *enterica*
- *Salmonella enterica* subsp. *salamae*
- *Salmonella enterica* subsp. *arizonae*
- *Salmonella enterica* subsp. *diarizonae*
- *Salmonella enterica* subsp. *houtenae*
- *Salmonella enterica* subsp. *indica*

- *Salmonella bongori*

Die Identifikation dauert i.d.R. 3 – 5 Tage. Ggf. wird ein Stamm zur Serotypisierung sehr seltener Serovare (i. d. R: in Fällen von *Salmonella enterica* subsp. *diarizonae*) an das Humane Nationale Referenzzentrum für enteropathogene Bakterien und Listerien, NENT, Zürich) weitergeleitet. Der definitive Prüfbericht erfolgt in diesen Fällen nach Erhalt des NENT Befundes.

Staphylokokken und Streptokokken

Die Bestimmung erfolgt in der Regel bis auf Spezies-Ebene mittels phänotypischer Methoden und MALDI TOF MS.

Im Bereich der Enterokokken werden *E. faecalis* und *E. faecium* identifiziert.

Taylorella equigenitalis/asinigenitalis

Taylorella equigenitalis ist ein exklusiver Erreger des equinen Genitaltraktes und führt bei der Stute zu Endometritiden und beim Hengst zu klinisch inapparenten Infektionen und Trägertum.

Untersuchungsmaterial:

Die Probenentnahme für die bakteriologische Untersuchung erfolgt mittels jeweils separatem Tupfer bei der Stute aus der Klitorisgrube, der Zervix und ggf. dem Uterus, beim Hengst aus dem Präputium, der Fossa urethralis und der Urethra. Zudem kann die Untersuchung von Vorsekret und/oder Sperma vorgeschrieben werden.

Transport:

Aufgrund der hohen Empfindlichkeit des Erregers ist für den Transport die Verwendung von Kohletransportmedien von der OIE vorgeschrieben (Kohletransportmedium mit Tupfer, steril, einzeln verpackt; siehe Kapitel 2.3). Zudem muss der Transport zwingend gekühlt erfolgen und darf nicht länger als 48 Stunden dauern.

Bei unsachgemässen Einsendungen wird der zuständige Tierarzt informiert und es werden neue Proben angefordert. Aus dem Untersuchungsauftrag muss deutlich hervorgehen, ob neben der CEM-Untersuchung auch eine allgemeine bakteriologische Untersuchung verlangt wird.

Labordiagnose:

Die Isolation erfolgt auf Spezialagar, die Mindestinkubationszeit beträgt 7 Tage. Die Identifikation erfolgt mittels PCR. Bei stark kontaminierten Proben ist eine Interpretation des Befundes nicht möglich. Die kulturelle Untersuchung ist bei Exportuntersuchungen zwingend vorgeschrieben, in anderen Fällen kann die Analyse auch mittels Direkt-PCR erfolgen.

Yersinien

Die Bestimmung auf Spezies-Ebene erfolgt mittels MALDI TOF MS: Bei bestimmten Biogruppen von *Yersinia enterocolitica* erfolgt zusätzlich eine Serotypisierung. Die Dauer der Analyse beträgt 2 – 4 Tage.

Folgende Yersinien werden diagnostiziert:

Species	Biogruppe/Biotyp	Serotyp
<i>Y. enterocolitica</i>	BG 1A	
	BG 1B	O 8
	BG 2	O 9; O5,27
	BG 3	O 9; O5,27, O3
	BG 4	O 3
	BG 5	O 3
<i>Y. mollaretti</i>	-	-
<i>Y. bercovieri</i>	-	-
<i>Y. rhodei</i>	-	-
<i>Y. intermedia</i>	-	-
<i>Y. frederiksenii</i>	-	-
<i>Y. kristensenii</i>	-	-
<i>Y. aldovae</i>	-	-
<i>Y. pseudotuberculosis</i>	-	-
<i>Y. pestis</i>	-	-
<i>Y. ruckeri</i> (Fisch)	Biotyp 1	-
<i>Y. ruckeri</i> (Fisch)	Biotyp 2	-

3.3.2 Mastitis

Die Aussagekraft hängt sehr stark von der Sorgfalt der aseptischen Probenentnahme ab. Kontaminationen mit Umweltkeimen können den Untersuchungsbefund unbrauchbar machen oder verfälschen.

Materialentnahme:

Vor der Milchgewinnung sind Zitze und Zitzenkuppe gründlich zu reinigen und zu desinfizieren (70%iger Alkohol). Dabei werden zuerst die abgewandten, dann die zugewandten Zitzen gereinigt. Die Probenentnahme erfolgt dann in umgekehrter Reihenfolge. Nach Abmelken von einigen Millilitern in ein Gefäss, wird die eigentliche Probe in ein steriles, dicht verschliessbares Röhrchen, bei leicht schräg gestelltem Röhrchen, gemolken. Für eine sichere Analyse sollten wenn möglich 10 ml Sekret entnommen werden.

Kennzeichnung und Versand:

Die Proben sind eindeutig zu kennzeichnen mit Name des Tieres sowie Angabe des Viertels.

Der Versand hat unverzüglich in bruch- und drucksicheren Versandbehältern zu erfolgen. Milchröhrchen und gefütterte Schutzumschläge sowie Versandschachteln für Bestandesuntersuchungen sind auf Anfrage an unserem Institut erhältlich.

Jeder Probe sind die entsprechenden Untersuchungsaufträge mit Angaben über Form der Mastitis, Vorbehandlung, Schalmtestergebnis und eventuelle Verdachtsdiagnosen beizulegen.

Untersuchungsmethoden:

Die Milchprobe wird zentrifugiert und das Sediment kulturell untersucht. Bei akuter und chronischer Mastitis sowie bei verändertem Milchsekret wird zusätzlich eine Gram-Färbung durchgeführt. Folgende provisorische Befunde werden aufgrund der mikroskopischen Untersuchung berichtet: gramnegative coliforme Keime, Hefen, grampositive feine Stäbchen (*T. pyogenes*), Nocardien und Prototheken. Eine alleinige direktmikroskopische Untersuchung ist nicht sinnvoll, da die Mikroskopie nicht genügend sensitiv ist.

Bestandesuntersuchungen auf *S. aureus*:

Wir führen eine Anreicherung der Vollmilch durch.

Resistenzprüfung:

Auf Wunsch führen wir Antibiogramme durch, sofern bei den Erregern Grenzwerte zur Interpretation von gemessenen Minimalen Hemmstoffkonzentrationen bekannt sind. Beim Nachweis eines pathogenen Erregers wird die Erstellung eines Antibiogramms dringend empfohlen.

3.3.3 Mikrobiologische Fleischuntersuchung

Eine mikrobiologische Fleischuntersuchung erfolgt gemäss der aktuell gültigen Verordnung über die Hygiene beim Schlachten.

Folgende Proben sind zu erheben:

Tiere der Rinder- und Pferdegattung:

- je ein kompaktes Muskelstück mindestens 10 cm lang mit Faszie aus einem Vorderviertel und dem dazu diagonal gelegenen Hinterviertel
- je ein Lymphknoten aus den beiden anderen Vierteln
- ein handgrosses Stück von der Milz
- eine Niere
- von der Leber der Lobus caudatus oder beim Pferd ein grosses Stück vom scharfen Rand

Tiere der Schaf-, Ziegen- und Schweinegattung:

- je ein kompaktes Muskelstück mit Faszie aus einem Vorderviertel und dem dazu diagonal gelegenen Hinterviertel
- eine Niere
- die Hälfte der Leber

Die Proben müssen gekühlt (nicht tiefgefroren) werden und für den Versand einzeln, dicht und in flüssigkeitsundurchlässigem Material verpackt werden. Es sind isolierte Transportboxen mit Kühlelementen für den Versand zu verwenden. Den Proben ist ein ausgefüllter Untersuchungsantrag beizufügen. Beim Einsenden von drei oder mehr Fleischschauen bitten wir um telefonische Voranmeldung.

Nähere Bestimmungen sind in der Verordnung über das Schlachten und die Fleischkontrolle einzusehen.

Neben der mikrobiologischen Untersuchung wird auch ein Hemmstoffnachweis (“EWG-Vierplattentest”) nach Vorgaben des Schweizerischen Lebensmittelbuches (Kap. 55) durchgeführt.

Die vollständige Untersuchung inkl. Salmonellenanreicherung dauert in der Regel 48 Stunden.

3.3.4 Lehre und Forschung

Eingesandtes Untersuchungsmaterial kann unter Einhaltung der Anonymität für universitäre Lehre und Forschung eingesetzt werden. Auf Anfrage führen wir gerne spezielle Analysen im Rahmen von Projekten gemäss den technischen und fachlichen Kapazitäten des Instituts durch. Dabei gelten gesonderte Preisabmachungen.

4 Tierseuchen

4.1 Allgemeines

Im Rahmen der Tierseuchenverordnung werden von unserem Institut alle bakteriellen Tierseuchen mit Ausnahme von Rotz, Paratuberkulose, Tuberkulose und den Seuchen der Fische und Bienen diagnostiziert. Die Analysemethoden richten sich dabei grundsätzlich nach den im aktuell gültigen OIE-Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines festgelegten Standardverfahren. Weiter richten wir uns nach den Technischen Weisungen des BLV. Die folgenden Abschnitte beschreiben das Analysenspektrum des Instituts im Rahmen der Tierseuchendiagnostik.

4.2 Laboranerkennung und Referenzfunktion

Die Abteilung ZOBA des Instituts für Veterinär-Bakteriologie ist laut Tierseuchenverordnung für die Untersuchung der unten aufgeführten Tierseuchen anerkannt. Verantwortlich ist die Abteilungsleitung.

4.3 Tierseuchendiagnostik

4.3.1 Tierseuchen mit Referenzfunktion des IVB

Tierseuche, Erreger	Untersuchungsmaterial	Labordiagnose	Bemerkungen
Actinobacillose (Schwein, APP) <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	Lunge, infizierte Organe Blutserum	Kultur, Erregeridentifizierung und Typisierung: Toxingen-Profil mittels PCR ELISA	
Ansteckende Pferdemetritis <i>Taylorella equigenitalis</i>	Tupferproben: m: Präputium, Urethra, Fossa urethralis, Vorsekret, Sperma w: Zervix, Uterus, Klitoris	Kultur, Erregeridentifizierung: PCR, oder Direkt-PCR	

Tierseuche, Erreger	Untersuchungsmaterial	Labordiagnose	Bemerkungen
Brucellose der Schafe u. Ziegen <i>Brucella melitensis</i>	Genitaltrakt, Abortmaterial, infizierte Organe, Milch, Sperma Blutserum	Direktausstrich nach Stamp mod. Ziehl-Neelsen gefärbt, Kultur, Erregeridentifizierung: PCR ELISA, RBT, KBR	
Brucellose der Rinder <i>Brucella abortus</i>	Genitaltrakt, Abortmaterial, infizierte Organe, Milch, Sperma Blutserum	Direktausstrich nach Stamp mod. Ziehl-Neelsen gefärbt, Kultur, Erregeridentifizierung: PCR ELISA, RBT, KBR	
Brucellose der Schweine <i>Brucella suis</i>	Genitaltrakt, Abortmaterial, infizierte Organe, Milch, Sperma Blutserum	Direktausstrich nach Stamp mod. Ziehl-Neelsen gefärbt, Kultur, Erregeridentifizierung: PCR RBT, KBR	
Brucellose der Widder <i>Brucella ovis</i>	Genitaltrakt, Abortmaterial, Nebenhoden, infizierte Organe, Milch, Sperma Blutserum	Direktausstrich nach Stamp mod. Ziehl-Neelsen gefärbt, Kultur, Erregeridentifizierung: PCR ELISA	
Campylobacteriose <i>Campylobacter</i> spp.	Kot in Transportmedium, Darminhalt	Kultur, Erregeridentifizierung: MALDI TOF MS	
Deckinfektion der Rinder <i>Campylobacter fetus</i> subsp. <i>venerealis</i>	m: Präputialspülprobe w: Vaginaausfluss	Kultur, Erregeridentifizierung: PCR oder Direkt-PCR	Im Seuchenfall werden auch weibliche Tiere untersucht
Enzootische Pneumonie der Schweine (EP) <i>Mycoplasma hyopneumoniae</i>	3 veränderte Lungen 10 Nasentupfer von hustenden Schweinen Blutserum von mind. 20 Tieren	PCR PCR ELISA	Bestandesdiagnose
Infektiöse Agalaktie <i>Mycoplasma agalactiae</i>	Milch, Synovia, Organe Blutserum	Kultur, Erregeridentifizierung: PCR ELISA	
Listeriose <i>L. monocytogenes</i> , <i>L. ivanovii</i>	Innere Organe, Hirnstamm, Blut, Liquor, Milch, Abortmaterial	Kultur, Erregeridentifizierung und Serotypisierung : PCR	
Lungenseuche der Rinder <i>Mycoplasma mycoides</i> subsp. <i>mycoides</i> SC	Sektionsmaterial (Lunge, Lymphknoten, Thoraxerguss) Blutserum	Kultur, Erregeridentifizierung: PCR ELISA/Immunoblot	
Lungenseuche der Schafe und Ziegen <i>Mycoplasma capricolum</i> subsp. <i>capripneumoniae</i>	Sektionsmaterial (Lunge, Lymphknoten, Thoraxerguss)	Kultur, Erregeridentifizierung: PCR	
Milzbrand (Anthrax) <i>Bacillus anthracis</i>	Blut, innere Organe, Muskulatur	Direktausstrich nach Giemsa gefärbt, Kultur, Erregeridentifizierung: Phagentypisierung und PCR	Nativblut im sterilen Röhrchen

Tierseuche, Erreger	Untersuchungsmaterial	Labordiagnose	Bemerkungen
Rauschbrand <i>Clostridium chauvoei</i>	pathologisch verändertes Muskelstück	Immunfluoreszenz, Kultur	
Salmonellose <i>Salmonella</i> spp.	Organmaterial, Darminhalt, Kot	Kultur, Erregeridentifizierung und Serotypisierung	
Yersiniose <i>Y. pseudotuberculosis</i> , <i>Y. enterocolitica</i>	Kot, Darminhalt, infizierte Organe	Kultur, Erregeridentifizierung: MALDI TOF MS, Biovarbestimmung phänotypisch	
Leptospirose der Rinder und Schweine <i>Leptospira</i> spp.	Blutserum Urin	Mikroagglutinationstest Direkt-PCR	
Tularämie <i>Francisella tularensis</i>	Organe	Kultur, Erregeridentifizierung: PCR	

4.3.2 Tierseuchen ohne Referenzfunktion des IVB

Tierseuche, Erreger	Untersuchungsmaterial	Labordiagnose	Nationales Referenzlabor
Chlamydienabort der Schafe u. Ziegen Chlamydien	Abortmaterial, infizierte Organe Blutserum	Direktausstrich nach Stamp gefärbt Direkt-PCR ELISA	Institut für Veterinärpathologie, Vetsuisse Fakultät Zürich
Chlamydiose der Vögel Chlamydien	Organe	Direktausstrich nach Stamp gefärbt Direkt-PCR	Institut für Veterinärbakteriologie, Vetsuisse Fakultät Zürich
Coxiellose <i>Coxiella burnetii</i>	Plazenta, abortierter Fetus Blutserum	Direktausstrich nach Stamp gefärbt Direkt-PCR ELISA	Institut für Veterinärbakteriologie, Vetsuisse Fakultät Zürich
Pseudotuberkulose der Schafe und Ziegen <i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i>	infizierte Organe, Lymphknoten, Eiter	Kultur, Erregeridentifizierung	Institut für Veterinärbakteriologie, Vetsuisse Fakultät Zürich
Tuberkulose Nachweis säurefester Stäbchen		bitte Ref.-Labor Zürich kontaktieren	Institut für Veterinärbakteriologie, Vetsuisse Fakultät Zürich
Rotz <i>Burkholderia mallei</i>		bitte Ref.-Labor Zürich kontaktieren	Institut für Veterinärbakteriologie, Vetsuisse Fakultät Zürich

4.1 Zusammenarbeit mit Besamungsstationen

Für die nationalen Besamungsstationen führen wir bakteriologische (*Campylobacter fetus* subsp. *venerealis*) und serologische (Brucellose, Coxiellose, Leptospirose) Untersuchungen im Rahmen der Überwachung von Deckinfektionen durch.

Die Anforderungen an das Untersuchungsmaterial sind den Kapiteln 3.2 und 3.3 zu entnehmen. Für Masseneinsendungen sind bei uns spezielle Versandschachteln für Bestandesproben erhältlich. Die Interpretation der Serologie ist in Kapitel 6 beschrieben. Die Untersuchung von Deckebern auf Brucellose erfolgt serologisch mittels RBT. Vorgaben sind den entsprechenden Technischen Weisungen zu entnehmen.

4.2 Untersuchungen für Import und Export

Im Rahmen der von unserem Institut angebotenen Analysen führen wir bakteriologische und serologische Untersuchungen für den Import und Export von Tieren durch.

Um die nach einschlägigen Reglementen erforderlichen Analysen präzise und zeitgemäss durchzuführen, sind wir auf folgende, obligatorische Untersuchungsangaben angewiesen:

- eindeutige Identifikation des Tieres
- Nachzuweisender Erreger mit geforderter Untersuchungsmethode
- Für serologische Untersuchungen genaue Bezeichnung der Methode

5 Serologie

5.1 Allgemeines

Diagnostische Immunreaktionen ermöglichen die Diagnose von Infektionen mit schwer anzüchtbaren Erregern, sowie die Absicherung eines kulturellen Erregernachweises. Weiterhin dienen sie der Bestimmung des Durchseuchungsgrades einer Tierpopulation und der Überwachung von Tierseuchen.

Für die Mehrzahl der serologischen Tests benötigen wir mindestens 1 ml Serum. Hämolytische Seren können die Interpretation vor allem von Komplementbindungsreaktionen (KBR) und Agglutination erschweren.

5.2 Bewertung der angewandten Methoden

Agglutination

Agglutinationsreaktionen (RBT) weisen im Vergleich zu anderen Verfahren in der Regel eine geringere Spezifität aber eine höhere Sensitivität auf.

ELISA

Der ELISA zeichnet sich im Allgemeinen durch eine hohe analytische Sensitivität aus (Nachweis geringer Antikörpermengen). Der Variationskoeffizient der gemessenen Extinktionswerte liegt bei 20%. Bei Befundangaben in % eines Standardserums entspricht dies der Messunsicherheit. In allen übrigen Fällen werden die Ergebnisse qualitativ beurteilt und als positiv, grenzwertig bzw. negativ berichtet. Die Durchführung und die Beurteilung des ELISA erfolgt gemäss Herstellerangaben.

KBR

Die KBR eignet sich besonders zur Erkennung von Infektionen mit hohen Titern erregerspezifischer Antikörper im Frühstadium. Die Sensitivität ist im Vergleich zu anderen Methoden gering, aber die Spezifität sehr gut. Die Methode ist mit einer Messunsicherheit

von zwei Serumverdünnungsstufen behaftet. Somit ist lediglich ein vierfacher Titeranstieg signifikant für eine akute Infektion.

5.3 Spezielle Erreger

Brucella spp.

Im Laufe der humoralen Immunantwort werden Antikörper der Klassen IgM, IgG1, IgG2 und IgA gebildet, deren Nachweis abhängig vom Material und von den angewandten serologischen Testmethoden erfolgt.

Brucella abortus, B. suis und B. melitensis

Nachweis von:

IgM	<u>Agglutination</u> , KBR
IgG1	KBR, ELISA
IgG2	Agglutination, ELISA
IgA	Agglutination

Das Antigen wird in allen Fällen aus *Brucella abortus* gewonnen.

Kreuzreaktionen mit *Y. enterocolitica* O9, Leptospiren und *Pasteurella multocida* treten bei der im Allgemeinen spezifischeren KBR weniger auf.

Die Entwicklung von ELISA-Tests (kommerzielle Kits) mit hoher Sensitivität und Spezifität hat die Brucellose-Serologie verbessert.

Wir führen alle oben erwähnten Testmethoden durch. Die Durchführung der Analysen sowie die Interpretation der Resultate erfolgen gemäss aktuell gültigem Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines der OIE. Es werden grundsätzlich Antigene von international anerkannten Referenz- und Kontrollsammlungen benützt.

Leptospira spp.

Da für den kulturellen Nachweis von Leptospiren bisher keine zuverlässige Methode existiert, ist die Serologie sehr wichtig für eine labordiagnostische Absicherung einer klinischen Verdachtsdiagnose. Als klassischer Test wird der Mikroagglutinationstest (siehe OIE Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines) mit lebendem Antigen (KIT Biomedical Research, Amsterdam, Holland) durchgeführt. Für einen sicheren Nachweis wird die Einsendung gepaarter Serumproben empfohlen. Dabei können Kreuzreaktionen zwischen den einzelnen Serotypen sowie Impferotypen auftreten, der Infektionsserotyp hat jedoch in der Regel den höchsten Titer. Zu Beginn einer Infektion kann jedoch auch ein heterologer Titer höher sein. Folgende Serovare werden in unserem Labor routinemässig getestet:

Grippotyphosa	Tarassovi (syn. hyos)	Hardjo	Autumnalis
Australis	Canicola	Bataviae	Sejroe
Pomona	Icterohaemorrhagiae	Bratislava	Ballum
Pyrogenes	Copenhageni		

Neben der serologischen Untersuchung hat auch die Untersuchung von Urin mittels Direkt-PCR Bedeutung erlangt. Hierfür sind mindestens 1 ml Nativurin – nicht im Vacutainer Urine C&S – notwendig.

Übersicht über die serologischen Untersuchungsmethoden:

Antigen	Methode	Interpretation
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	ELISA	gemäss Herstellervorschriften
<i>Brucella abortus</i>	ELISA KBR (OIE Manual) Rose Bengal Test (OIE Manual)	gemäss Herstellervorschriften ≥ 20 IE: positiv Agglutination: positiv
<i>Brucella melitensis</i>	ELISA KBR (OIE Manual) Rose Bengal Test (OIE Manual)	gemäss Herstellervorschriften ≥ 20 IE: positiv Agglutination: positiv
<i>Brucella ovis</i>	ELISA	gemäss Herstellervorschriften
<i>Brucella suis</i>	KBR (OIE Manual) Rose Bengal Test (OIE Manual)	≥ 20 IE: positiv Agglutination: positiv
<i>Chlamydophila abortus</i> (syn. <i>Chlamydia psittaci</i> serovar 1)	ELISA	gemäss Herstellervorschriften
<i>Coxiella burnetii</i>	ELISA	gemäss Herstellervorschriften
<i>Leptospira</i> spp.	MAT (OIE Manual)	Gemäss Prüfbericht
<i>Mycoplasma hyopneumoniae</i> (EP)	ELISA	gemäss Herstellervorschriften
<i>Mycoplasma agalactiae</i>	ELISA	gemäss Herstellervorschriften
<i>Mycoplasma mycoides</i> subsp. <i>mycoides</i> SC	ELISA	gemäss Herstellervorschriften

5.4 Befundinterpretation

Einzeltiter sind bei serologischen Untersuchungen je nach angewandtem Test wenig aussagekräftig und ein negatives Ergebnis kann eine akute Infektion nicht ausschliessen. Bei fraglichen (grenzwertigen und positiven) Titern kann daher eine zweite, im Abstand von 10 - 14 Tagen entnommene Probe zur Beurteilung des Titerverlaufs von Nutzen sein.

6 Diagnostische Resistenzprüfung

6.1 Allgemeines

Eine Resistenzprüfung wird bei allen nachgewiesenen, klinisch relevanten Erregern empfohlen. Die Durchführung erfolgt automatisch, sofern auf dem Untersuchungsantrag das Feld „Antibiogramm erwünscht, wenn sinnvoll“ angekreuzt wurde. In allen anderen Fällen kann ein Antibiogramm telefonisch bis zu 48 Stunden nach Prüfberichtszusendung nachgefordert werden.

Die Auswahl der getesteten Antibiotika ist abhängig von der isolierten Erregerart sowie von den für diesen Erreger zur Verfügung stehenden kommerziellen Testsystemen. Mit einem breiten Spektrum an zur Verfügung stehenden Methoden können wir auf Anfrage im Einzelfall auch für Erreger ausserhalb der Routine Resistenzprüfungen durchführen.

6.2 Testverfahren

In unserem Labor stehen folgende Methoden zur Verfügung:

1. Vitek Compact 2™ BioMérieux

Mit diesem automatisierten System werden Bestimmungen der Minimalen Hemmstoffkonzentrationen (MHKs) durchgeführt. Die MHK ist die kleinste Konzentration eines antimikrobiellen Wirkstoffes, die die Keimvermehrung im Kulturansatz noch verhindert. Je nach Zielkeim stehen verschiedene Kartenformate mit unterschiedlichen Antibiotikabelegungen zur Verfügung. Nach Inkubation wird das Wachstum photometrisch bestimmt, die Interpretation als „sensibel“, „intermediär“ oder „resistent“ erfolgt automatisch mit der institutseigenen Laborsoftware, dadurch kann gewährleistet werden, dass diese auf den jeweils neuesten Standards des European Committee of Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST), bzw. des „Clinical and Laboratory Standards Institute“ (CLSI) basiert.

2. API ATB™ BioMérieux

Mit den API-ATB-Streifen wurde eine Resistenzprüfung mit Hilfe eines halbfesten Mediums entwickelt. Der API-Streifen enthält Vertiefungen mit Konzentrationen verschiedener Antibiotika. Der zu testende Erreger wird in einem Kulturmedium suspendiert und in den Streifen überimpft. Dieses System wird für die Resistenzbestimmung von Anaerobiern (z. B. *Cl. perfringens*) eingesetzt. Nach Inkubation wird das Wachstum visuell bestimmt, die Interpretation als „sensibel“, „intermediär“ oder „resistent“ erfolgt gemäss Herstellerangaben.

3. MHK-Bestimmung mittels Mikrodilutionsverfahren

Die Bestimmung der MHK erfolgt mit der sogenannten Mikrodilutionsmethode, bei der vorbeschichtete 96-well Mikrotiterplatten mit einer standardisierten Keimsuspension beimpft werden. Nach Inkubation erfolgt die Bestimmung der MHK sowie deren Interpretation gemäss den jeweils neuesten Standards des European Committee of Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST), bzw. des „Clinical and Laboratory Standards Institute“ (CLSI). Auf Anfrage werden im Einzelfall spezielle Fragestellungen mit diesem Testsystem analysiert.

4. Etest™ BioMérieux

Etest ist ein kommerziell erhältliches System, welches mit einem Antibiotikagradient über 15 Verdünnungsstufen auf einem Kunststoffträgermaterial arbeitet. Durch diese

Technologie ermöglicht Etest anhand der Skalierung die direkte Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration (MHK) von Antibiotika. Auf Anfrage werden im Einzelfall spezielle Fragestellungen mit diesem Testsystem analysiert.

6.3 Berichterstattung

Die Stufen der Empfindlichkeit von Bakterien werden i. d. R. entsprechend den jeweils neuesten Standards des European Committee of Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST), bzw. des "Clinical and Laboratory Standards Institute" (CLSI) folgendermassen definiert:

"sensibel"

Die minimale Hemmkonzentration (MHK) für das Chemotherapeutikum ist so gering, dass eine Therapie mit Regeldosierung im Allgemeinen zum Erfolg führt.

"intermediär"

Ohne Berücksichtigung weiterer Kriterien ist die Beurteilung des zu erwartenden Erfolges nicht möglich. Das Antibiotikum ist unter Umständen für eine lokale Behandlung einsetzbar oder wenn hohe Konzentrationen (z.B. in Harnwegen) erreicht werden.

"resistent"

Auch bei Höchstdosierung ist kein therapeutischer Erfolg zu erwarten.

Ergebnisse für Reserveantibiotika mit besonderer Bedeutung für die Behandlung von schweren Fällen in der Humanmedizin werden nicht mitgeteilt. Beim Nachweis von multi- bzw. panresistenten Erregern leisten wir gerne Unterstützung hinsichtlich einer Therapieempfehlung im Einzelfall.

7 Mykologie

7.1 Allgemeines

Im Rahmen der mykologischen Untersuchung werden folgende Erreger von oberflächlichen und tiefen Mykosen erfasst:

<i>Hefen</i>	Opportunistische Erreger von Systemmykosen und Mastitiden. Hefen können unter Umständen oberflächliche Mykosen verursachen, z.B. Otitis bei Hund und Katze (<i>Malassezia pachydermatis</i>)
<i>Schimmelpilze</i>	Opportunistische Erreger von Infektionen der Unterhaut und Organe, Aborterreger, Mastitiserreger (z. B. <i>Aspergillus</i> spp., <i>Mucor</i> spp.)
<i>Prototheken (Algen)</i>	Erreger von Mastitiden beim Rind

Die blosse kulturelle Isolierung vor allem von Hefen und *Aspergillus* spp. aus klinischem Material ist noch kein Beweis für ihre Erregereigenschaft. Klinisches Bild, Befund im Nativpräparat, Kultur und wenn möglich Histologie müssen miteinander in Einklang gebracht werden. Um bei unsachgemäss entnommenem oder eingesandtem Untersuchungsmaterial zwischen Infektion und Kontamination unterscheiden zu können, ist eine wiederholte Entnahme des Untersuchungsmaterials erforderlich.

7.2 Entnahme des Untersuchungsmaterials und Transport

Untersuchungsmaterial:

Abszessaspirate, Biopsien, Spülflüssigkeiten und Wundmaterial und Milch möglichst steril entnehmen. Tupferproben sind zu vermeiden.

Transport:

Das Material sollte so schnell wie möglich in sterilen, dicht verschlossenen Röhrchen ins Labor gesandt werden. Biopsiematerial kann in physiologischer Kochsalzlösung vor Austrocknung geschützt werden.

7.3 Labordiagnose

Die Diagnose erfolgt mittels mikroskopischen und kulturellen Nachweismethoden. Je nach Erreger erfolgt der Befund anhand des mikroskopischen oder kulturellen Nachweises. Gewisse Erreger können mittels phänotypischen und biochemischen Methoden sowie mittels MALDI TOF MS weiter identifiziert werden.

7.4 Erreger

Hefen

Die hauptsächlich von *Candida* spp. hervorgerufenen Infektionen betreffen in erster Linie ulzerative Läsionen im Digestions- und Urogenitaltrakt, Aborte und Mastitiden. Eine definitive Diagnose stützt sich auf eine Synthese aus klinischem Bild und Mikroskopie / Kultur. *Malassezia pachydermatis* als Erreger von Dermatitiden und Otitiden wird im mikroskopischen Präparat und kulturell nachgewiesen.

Aspergillus spp.

Aspergillen rufen pulmonale und disseminierte Infektionen unter Beteiligung von Niere und ZNS hervor. Bei Pferd und Hund sind die oberen Atemwege (Luftsackinfektion bzw. Rhinitis) häufig betroffen. *Aspergillus fumigatus* wird zudem als opportunistischer Aborterreger nachgewiesen.

Prototheken (Algen)

Prototheken können sowohl akute, chronische als auch subklinische Mastitiden beim Rind verursachen. Die Diagnosestellung wird erschwert, da Prototheken mit Hefen verwechselt werden können. Gemäss Literatur handelt es sich primär um *Prototheca zopfii*. Eine Identifikation kann mit neusten phänotypischen Methoden erfolgen. Wir identifizieren *P. wickerhamii* und *P. zopfii*.

7.5 Berichterstattung

Die Berichterstattung erfolgt wie unter 2.8 beschrieben.

8 Molekularbiologische Diagnostik

Die Anwendung molekularbiologischer Methoden erfolgt einerseits ab Kultur und erlaubt die Identifizierung / Typisierung eines Erregers oder von Toxingenen. Im anderen Fall ist eine Vielzahl von molekularbiologischen Methoden zum Direkt-Nachweis eines Erregers im Untersuchungsmaterial am Institut etabliert.

Folgende molekularbiologische Methoden werden aktuell angeboten:

Direkt-PCR - klassische PCR
<i>Coxiella burnetti</i>
<i>Chlamydia/Chlamydophila</i> spp.
<i>Campylobacter fetus</i> nach Anreicherung in TTE-Medium
Direkt-PCR – Real-time PCR
Abort (<i>Brucella</i> spp, <i>Coxiella burnetti</i> , <i>Chlamydia/Chlamydophila</i> spp.)
<i>Brachyspira hyodysenteriae</i>
<i>Brachyspira pilosicoli</i>
<i>Francisella tularensis</i>
<i>Mycoplasma bovis</i>
<i>Mycoplasma conjunctivae</i>
<i>Mycoplasma hyopneumoniae</i>
<i>Mycoplasma mycoides/leachii</i>
pathogene Leptospiren
<i>Listeria monocytogenes</i>
<i>Taylorella</i> sp. (kommerzielles Kit)
Identifikation und Typisierung - klassische PCR
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> (APP) Toxingene
<i>Actinobacillus porcitonisillarum</i>
<i>Bacillus anthracis</i> (Risikogruppe 3)
<i>Brucella</i> sp.(Risikogruppe 3)
<i>Campylobacter fetus</i> subsp.
<i>Clostridium chauvoei</i>
<i>Francisella tularensis</i> subsp. (Risikogruppe 3)
<i>L. monocytogenes</i> Serovarbestimmung
<i>Mycoplasma agalactiae</i>
<i>Mycoplasma mycoides</i> subsp. <i>mycoides</i> (hochansteckende Tierseuche)
Identifikation und Typisierung – Real-time PCR
<i>Taylorella equigenitalis/asinigenitalis</i>
<i>Clostridium perfringens</i> Toxingene