

ZOBA

Institut für Veterinär bakteriologie
Bern

u^b

b
UNIVERSITÄT
BERN

Vetsuisse-Fakultät

Institut für Veterinär bakteriologie der Vetsuisse-Fakultät, Universität Bern

Abteilung ZOBA
(Zentrum für Zoonosen, bakterielle Tierkrankheiten und
Antibiotikaresistenz)
Länggassstr. 122, CH-3012 Bern

VADEMECUM



©VONSCHUBERTPHOTO

Die aktuell gültige Version finden sie auf unserer Homepage:
<https://www.zoba.unibe.ch/>

Inhalt

1	Kontakte	3
1.1	Adresse	3
1.2	Dienstzeiten	3
1.3	Telefon, Email	3
1.4	Annahme von Untersuchungsmaterial und Kurierdienst	3
2	Allgemeine Richtlinien zum Probenversand	4
2.1	Untersuchungsantrag und Kennzeichnung	4
2.2	Versandmaterial und Transport	5
2.3	Liste des erhältlichen Versandmaterials	5
3	Rechnungswesen	5
4	Laboranerkennung und Referenzfunktion	6
5	Allgemeine Richtlinien zur Probenbearbeitung	7
5.1	Machbarkeitsprüfung	7
5.2	Befundinterpretation	8
5.3	Dauer der Untersuchung	8
5.4	Berichterstattung	8
5.5	Archivierung von Untersuchungsmaterial und Isolaten	9
5.6	Lehre und Forschung	9
5.7	Beschwerden	9
6	Bakteriologische Diagnostik	10
7	Diagnostische Resistenzprüfung	14
7.1	Allgemeines	14
7.2	Testverfahren	14
7.3	Berichterstattung	14
8	Mykologische Diagnostik	16
8.1	Allgemeines	16
8.2	Untersuchungsmaterial und Transport	16
8.3	Labordiagnose	16
8.4	Berichterstattung	16
9	Molekularbiologische Diagnostik	17
9.1	Identifizierung und Typisierung	17
9.2	Direkt-Nachweis	17
9.3	Sequenzierung	18
9.4	Untersuchungsmaterial und Transport	18
9.5	Interpretation	18
10	Serologische Diagnostik	19

1 Kontakte

1.1 Adresse

Universität Bern
Tierspital
Institut für Veterinär bakteriologie
ZOBA
Postfach 3350, CH-3001 Bern

Lieferadresse für Kurierdienste: Länggassstrasse 122, CH-3012 Bern

1.2 Dienstzeiten

Montag-Freitag	8:00 – 11:45	13:30 – 17:00
Samstag	8.30 – 10:30	
Sonn- und Feiertage	geschlossen	

Diagnostisches Material, wird - wenn möglich - noch am Eingangstag weiterbearbeitet. Am Samstag zwischen 8.30 und 10.30 Uhr ist das Labor für dringende (Seuchen)Fälle besetzt und unter der Tel. Nr. 031/684 24 35 erreichbar. Regelmässig werden Untersuchungen auf Salmonellose, sowie Milch- und Harnproben angesetzt.

1.3 Telefon, Email

Telefon

ZOBA Leitung 031 684 24 14
Prof. Jörg Jores joerg.jores@unibe.ch

Diagnostik 031 684 24 35
Dr. Sonja Kittl, sonja.kittl@unibe.ch
Residents

Monitoring 031 684 24 38
Dr. G. Overesch gudrun.overesch@unibe.ch

Buchhaltung 031 684 24 30

1.4 Annahme von Untersuchungsmaterial und Kurierdienst

Posteinsendungen werden werktags in der Regel vormittags geliefert, samstags werden nur Briefpost und Kurierdienstproben zugestellt.

An uns adressierte ganze Föten oder Tiere werden im Normalfall an das Institut für Tierpathologie der Universität Bern 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** und fragen Sie an, ob Ihre Praxis bedient werden kann. Falls ja, teilen Sie bitte per E-Mail (dispo@meier-express.ch) mit, wie viele Proben/Gebinde bei Ihnen in der Praxis abzuholen sind. Bitte melden Sie auch weitere Proben nach, die am selben Tag anfallen, damit der Kurier über die korrekte Anzahl Proben informiert ist. Bitte vereinbaren Sie einen für den Kurier zugänglichen Ort, um die Proben zu deponieren. Der Kurierdienst ist für unsere Kunden kostenlos. Für den fachgerechten Transport ist Meier-Express direkt verantwortlich, das ZOBA übernimmt keine Haftung.

2 Allgemeine Richtlinien zum Probenversand

2.1 Untersuchungsantrag und Kennzeichnung

Antragsformulare in deutscher und französischer Sprache sind als PDF-File verfügbar unter <https://www.zoba.unibe.ch>. Es sollen möglichst die aktuell gültigen Untersuchungsformulare verwendet werden.

Eingesandtes Untersuchungsmaterial muss einwandfrei identifiziert werden können. Zu diesem Zweck muss es wasserfest mit einer eindeutigen Identifikation des Tieres beschriftet sein, so dass es dem Antragsformular zugeordnet werden kann (z.B.: Name, Ohrmarkennummer (zwingend bei Tierseuchenabklärungen)).

Das beigefügte Antragsformular muss folgende Angaben enthalten:

- Einsendende Tierärzt*in (Name, Adresse mit Postleitzahl, Telefonnummer, und Email/Fax für Befundzustellung)
- eindeutige Identifikation des Tieres (Tierart, Alter, Geschlecht, Tier-TVD-Nummer, Mikrochipnummer, Ohrmarke / Name),
- bei Rindern ist die Tier-TVD Nummer zwingend notwendig! **Sofern vorhanden, sollten TVD-Barcodeetiketten verwendet werden**
- Besitzer*in (Name, Adresse mit Postleitzahl, Betriebs-TVD-Nummer, Kanton)
- Standort des Tieres (sofern nicht identisch mit Besitzeradresse)
- Untersuchungsmaterial und Entnahmeort (spez. anatomische Lokalisation)
- Entnahmedatum
- Anamnese/Untersuchungsgrund
- Gewünschte Untersuchung
- Rechnungsempfänger*in (Name, Adresse mit Postleitzahl)

Angaben zu Anamnese und Vorbehandlung sind sehr hilfreich, da ggf. die Untersuchungen angepasst werden können.

Wir bitten darum, die Formulare in Druckschrift und vollständig auszufüllen. Fehlen Angaben, kann das Untersuchungsmaterial unter Umständen erst nach weiterer Abklärung verarbeitet oder die Analyse nur eingeschränkt durchgeführt werden.

2.2 Versandmaterial und Transport

Adäquates Versandmaterial kann 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) aus Gründen der Qualität und der Hygiene, der Sicherheit und zum Schutz der öffentlichen Gesundheit genügen. Untersuchungsmaterial muss in ein sauberes (z.B. Organe, Plazenta, Kot) oder steriles (z.B. Milch, Punktate, Eiter, Sekrete, Blut), dicht verschlossenes und etikettiertes Behältnis gemäss Packvorschrift P650 verpackt werden (Primärgefäss), gefolgt von einer stabilen Sekundärverpackung mit Saugeinlage und einer Aussenverpackung. Organe und Föten sollten primär in speziellen Biosicherheitssäcken verpackt werden. Der Untersuchungsantrag muss in einer separaten Schutzfolie mitgesandt werden. Bei verzögerter Einsendung ist i. d. R. eine Lagerung im Kühlschrank unerlässlich.

2.3 Liste des erhältlichen Versandmaterials

- Voradressierte, gekennzeichnete Versandumschläge (nicht frankiert!):
 - klein (Innenmass: 150 x 215 mm)
 - gross (Innenmass: 180 x 265 mm)
- Versandschachteln für Bestandesproben (Blut, Milch, Kottupfer)
- Biosicherheitssäcke für Organe und Föten
- Einfachtupfer mit festem Transportmedium (nur für Kultur), steril, einzeln verpackt
- Standardtupfer mit flüssigem Transportmedium (für Kultur und PCR), steril, einzeln verpackt
- Feiner Tupfer mit flüssigem Transportmedium (für Kultur und PCR), steril, einzeln verpackt
- Tupfer ohne Medium, steril (für 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.
- Sterile Wattetupfer in Röhrchen, für Kotproben im Rahmen von Bestandesuntersuchungen
- Probenahmen-Set für Aborte (Becher plus Blutröhrchen)
- Vacutainer Urin
- Blutkulturflaschen
- Versandetui für Tupfer und Blutröhrchen

Versandmaterial kann nur für Proben zur Verfügung gestellt werden, die zum Versand an unser Labor bestimmt sind.

3 Rechnungswesen

Die Untersuchungspreise der Standarduntersuchungen sind auf unseren Untersuchungsanträgen ersichtlich. In Abhängigkeit des Umfangs der schlussendlich erfolgten Untersuchung sind Abweichungen möglich. Aus dem Untersuchungsantrag muss klar hervorgehen, an wen die Rechnung zu stellen ist (z.B. Auftraggeber, amtliche Stelle). **Falls der angegebene Rechnungsempfänger nicht bezahlt, wird der Betrag automatisch dem Einsender verrechnet.** Grundsätzlich werden keine Befunde und Rechnungen an den Tierbesitzer gestellt.

4 Laboranerkennung und Referenzfunktion

Basierend auf der Tierseuchenverordnung ist das ZOBA durch das Bundesamt für Lebensmittelsicherheit und Veterinärwesen (BLV) als Referenzlabor für untenstehende bakteriellen Tierseuchen anerkannt. Die Analysemethodik richtet sich dabei grundsätzlich nach den im aktuell gültigen WOA-Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines festgelegten Standardverfahren. Weiter richten wir uns nach den Technischen Weisungen des BLV. Tierseuchennachweise werden von uns, gemäss den gesetzlichen Vorgaben, an die zuständigen Behörden gemeldet.

Für folgende Tierseuchen sind wir Nationales Referenzlabor:

Tierseuche, Erreger	Methodenspektrum
Actinobacillose (Schwein, APP) <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	Kultur, Erregeridentifizierung; Typisierung: Toxingen-Profil mittels PCR ELISA
Ansteckende Pferdemetritis <i>Taylorella equigenitalis</i>	Kultur, Erregeridentifizierung: MALDI-TOF MS, PCR, Direkt-PCR
Brucellose der Schafe u. Ziegen <i>Brucella melitensis</i>	Direktausstrich nach Stamp mod. Ziehl-Neelsen gefärbt, Kultur; Erregeridentifizierung: PCR, ELISA, RBT, KBR
Brucellose der Rinder <i>Brucella abortus</i>	Direktausstrich nach Stamp mod. Ziehl-Neelsen gefärbt, Kultur; Erregeridentifizierung: PCR, ELISA, RBT, KBR
Brucellose der Schweine <i>Brucella suis</i>	Direktausstrich nach Stamp mod. Ziehl-Neelsen gefärbt, Kultur; Erregeridentifizierung: PCR, ELISA, RBT, KBR
Brucellose der Hunde <i>Brucella canis</i>	Direktausstrich nach Stamp mod. Ziehl-Neelsen gefärbt, Kultur; Direkt-PCR, Immunoassay
Brucellose der Widder <i>Brucella ovis</i>	Direktausstrich nach Stamp mod. Ziehl-Neelsen gefärbt, Kultur; Erregeridentifizierung: PCR, ELISA
Campylobacteriose <i>Campylobacter</i> spp.	Kultur; Erregeridentifizierung: MALDI TOF MS
Coxiellose <i>Coxiella burnetii</i>	Direktausstrich nach Stamp mod. Ziehl-Neelsen gefärbt, Direkt-PCR, ELISA
Deckinfektion der Rinder <i>Campylobacter fetus</i> subsp. <i>venerealis</i>	Kultur oder PCR nach Anreicherung; Erregeridentifizierung: MALDI TOF MS, PCR
Enzootische Pneumonie der Schweine (EP) <i>Mycoplasma hyopneumoniae</i>	Direkt-PCR, ELISA, MLST
Infektiöse Agalaktie <i>Mycoplasma agalactiae</i>	Kultur, Erregeridentifizierung, PCR
Leptospirose der Rinder und Schweine <i>Leptospira</i> spp.	Mikroagglutinationstest, Direkt-PCR
Listeriose <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Listeria ivanovii</i>	Kultur; Erregeridentifizierung: MALDI TOF MS, Phänotypie
Lungenseuche der Rinder <i>Mycoplasma mycoides</i> subsp. <i>mycoides</i>	Kultur; Erregeridentifizierung: PCR, ELISA
Lungenseuche der Schafe und Ziegen <i>Mycoplasma capricolum</i> subsp. <i>capripneumoniae</i>	Kultur; Erregeridentifizierung: PCR
Milzbrand (Anthrax) <i>Bacillus anthracis</i>	Direktausstrich, Kultur; Erregeridentifizierung: Phagentypisierung und PCR

Tierseuche, Erreger	Methodenspektrum
Rotz <i>Burkholderia mallei</i>	Kultur; Erregeridentifizierung: PCR, KBR
Salmonellose <i>Salmonella</i> spp.	Kultur, Erregeridentifizierung: MALDI TOF MS, Phänotypisierung, Serotypisierung
Tularämie <i>Francisella tularensis</i>	Kultur; Erregeridentifizierung: MALDI TOF MS, PCR
Moderhinke (<i>Dichelobacter nodosus</i> , virulente Stämme)	Real-time PCR (Unterscheidung benigne und virulente Stämme), Kultur (zu Forschungszwecken)

Im Rahmen der Referenz t ätigkeit 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, bzw. *Taylorella* spp. in Amiestransportmedium mit Kohle. Wir behalten uns vor, bei eingesandten Mischkulturen oder Zusendung von Agarplatten die Untersuchung abzulehnen.

5 Allgemeine Richtlinien zur Probenbearbeitung

5.1 Machbarkeitsprüfung

In folgenden Fällen kann eine Untersuchung zurückgewiesen werden:

- Proben mit ungenauer oder fehlender Kennzeichnung (inklusive Angaben über Tierärzt*in)
- 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 (Weiterleitung an entsprechende Stelle falls möglich nach Absprache)

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

Terminvorgaben von Kund*innen werden vor der Analyse auf ihre Machbarkeit geprüft. Während der Analyse auftretende Abweichungen, die einen Einfluss auf den Termin haben, werden den Kund*innen umgehend mitgeteilt.

Ergebnisse von Bestätigungsuntersuchungen im Rahmen der Referenz t ätigkeit sowie weitergehende Typisierungen von Isolaten anderer Labore (z. B. *Cl. perfringens* Toxingenbestimmungen) werden den Laboren direkt mitgeteilt.

5.2 Befundinterpretation

Wir beschränken uns auf die Angabe jener Erreger, die für eine Infektion in Frage kommen (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 mit nachfolgendem Schema:

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

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

Der Befund **kein Wachstum** bedeutet, dass bei **den von uns** durchgeführten Kulturansätzen kein Keimwachstum stattgefunden hat.

Der Befund **negativ** bedeutet, dass im Untersuchungsmaterial keine zur Anamnese (falls angegeben) passenden oder bekannten pathogenen Erreger gefunden werden konnten.

Der Befund **Mischflora** bedeutet, dass aufgrund starken Wachstums mehrerer Keimarten keine 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.

5.3 Dauer der Untersuchung

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

5.4 Berichterstattung

Die Berichterstattung diagnostischer Befunde erfolgt i.d.R. an den/die behandelnde Tierärzt*in. Im Fall von Tierseuchen-Untersuchungen werden die Ergebnisse zusätzlich gemäss den Vorgaben der Tierseuchenverordnung automatisch an die zuständigen amtlichen Veterinärbehörden in Kopie versandt. Zudem werden diese Datensätze an die bundeseigene Tierseuchendatenbank exportiert. Befundmitteilungen direkt an Tierhalter*innen werden nicht getätigt. Der definitive Prüfbericht mit elektronischer Kennzeichnung der verantwortlichen Person wird per E-Mail übermittelt. Auf Wunsch oder wenn tierseuchenrechtlich relevante Ergebnisse vorhanden sind, wird ein vorläufiger Prüfbericht via Telefon oder per E-Mail übermittelt. Für die vertrauliche Handhabung der versandten Prüfberichte übernimmt der/die Kund*in die Verantwortung.

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

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

Die Prüfberichte dürfen ohne schriftliche Genehmigung des Labors auch nicht auszugsweise vervielfältigt werden.

Wichtige Befunde der Tierseuchendiagnostik gemäss Tierseuchenverordnung und andere wissenschaftlich interessante Resultate können bei Bedarf nationalen oder internationalen

Referenzlaboratorien zur Überprüfung und Bestätigung weitergeleitet werden. Ein Nachtrag über diese Ergebnisse erfolgt nur, wenn sich Abweichungen vom ursprünglichen definitiven Prüfbericht ergeben oder wenn wichtige klinische oder epidemiologische Informationen gewonnen wurden. Alle Mitarbeiter*innen des Instituts unterstehen der Schweigepflicht. Sämtliche Prüfberichte werden 10 Jahre archiviert.

5.5 Archivierung 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.

5.6 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 können spezielle Preisabsprachen gelten.

5.7 Beschwerden

Bei Unstimmigkeit sind die Kunden gebeten, Rückfragen zu stellen.

6 Bakteriologische Diagnostik

Wir führen eine allgemeine bakteriologische Diagnostik gemäss international anerkannten Prüfverfahren oder publizierten Methoden durch. Die häufigsten/wichtigsten Erreger incl. Tierseuchenerreger sind in untenstehender Analysenliste dargestellt.

Material / Lokalisation der Infektion	Wichtigste Erreger	Untersuchungs-material	Transport Gefäss/Zeit/Temp.	Bemerkungen
Abszesse, Fisteln, Wunden, Panaritien	Staphylokokken Streptokokken <i>Pasteurellaceae</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>E. coli</i> , <i>Actinobacillus</i> spp. <i>Actinomyces</i> spp. <i>Trueperella pyogenes</i> Anaerobier <i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i> (Schaf und Ziege)	geschlossen: - Aspirat offen: - Abstrich - Eiter	- steriles Röhrchen für Aspirat - flüssiges/festes Transportmedium für Abstriche	Bei Aspiration vorherige Hautdesinfektion Gewebe oder Flüssigkeit sind meist besser als Abstriche
Aborte	<i>Brucella</i> sp. <i>Coxiella burnetii</i> <i>Chlamydiales</i> <i>Listeria</i> spp. <i>Salmonella</i> sp. <i>Campylobacter fetus</i> <i>Trueperella pyogenes</i> <i>Streptococcus pluranimalium</i> Leptospiren Diverse Pilze	Veränderte Kotyledonen Organe (Leber, Milz, Niere, Lunge) von Feten oder Totgeburten, Mageninhalt	- sterile Becher, Plastikbeutel	Zusätzlich Blut vom Muttertier einsenden für Serologie
Auge	<i>Moraxella</i> spp. Mykoplasmen Staphylokokken Streptokokken	Tupferabstrich (angefeuchtet)	- flüssiges Transportmedium	Eventuell auch gesundes Auge zur Bestimmung der endogenen Flora testen
Blut	Staphylokokken Streptokokken <i>E. coli</i> <i>Bacillus anthracis</i>	mind. 0.5 ml Blut	-Blutkulturflaschen (vorgängig beim Labor anfordern) -Bei Verdacht auf Anthrax: steriles Röhrchen oder Serumröhrchen	Bei Verdacht auf Anthrax Tierkörper nicht öffnen! Blutkultur: Entnahme bis 3 x täglich (optimal kurz vor oder bei Beginn einer Fieberphase)

Material / Lokalisation der Infektion	Wichtigste Erreger	Untersuchungsmaterial	Transport Gefäss/Zeit/Temp.	Bemerkungen
Haut	Staphylokokken Streptokokken Hefen, Pilze Dermatophyten <i>Actinomyces</i> spp. <i>Dermatophilus congolensis</i> + verwandte Erreger Atypische Mykobakterien Nocardien	Tiefe Prozesse: Biopsien Pyodermie: Abstriche Dermatophyten: Geschabsel (am Rand der Läsion), ausgezupfte Haare, Zahnbürste (McKenzie brush technique) Dermatophilus: Krusten	- in phys. NaCl Lösung - flüssiges/festes Transportmedium - nativ in steilem Röhrchen	
Darm/Kot	<i>Campylobacter</i> spp. <i>Clostridien</i> enteropathogene <i>E. coli</i> (Schwein, Kalb) Salmonellen Shigellen (Primaten) <i>Yersinia</i> spp. Brachyspiren	Kot nativ, Rektalabstrich	- sauberes Gefäss - flüssiges/festes Transportmedium	
Körperhöhlenflüssigkeiten: • Peritoneal-, Perikard-, Thorakalflüssigkeit • Liquor • Synovia	Staphylokokken Streptokokken <i>E. coli</i> Actinomyceten Anaerobier <i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i> Mykoplasmen <i>Nocardia</i> spp. <i>Pasteurellaceae</i>	Punktat	- nativ in sterilem Röhrchen -Option für Synovia: Blutkulturflasche	
Luftsack (Pferd)	Streptokokken Aspergillen <i>Pasteurellaceae</i>	Spülung, Punktat	- steriles Röhrchen - flüssiges/festes Transportmedium	

Material / Lokalisation der Infektion	Wichtigste Erreger	Untersuchungsmaterial	Transport Gefäss/Zeit/Temp.	Bemerkungen
Lunge	<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> <i>Mycoplasma hyopneumoniae</i> <i>Mycoplasma mycoides</i> subsp. <i>mycoides</i> <i>Mycoplasma capricolum</i> subsp. <i>capripneumoniae</i> <i>Pasteurellaceae</i> Bordetellen Mykoplasmen <i>Rhodococcus equi</i> Staphylokokken Streptokokken <i>Trueperella pyogenes</i> <i>Burkholderia mallei</i>	Lunge, infizierte Organe mind. 3 veränderte Lungen Organmaterial Organmaterial Transtracheales Aspirat bronchoalveoläre Lavage bronchoskopisches Aspirat Organmaterial	Transportsäcke für biologisches Material - steriles Röhrchen	Bestandesdiagnostik (ausser Wildschwein)
Muskulatur	<i>Clostridium chauvoei</i> <i>Clostridium septicum</i> , <i>Clostridium perfringens</i>	pathologisch verändertes Muskelstück	- sterile Becher, Plastikbeutel	Rauschbrand /Para-Rauschbrand
Nasennebenhöhlen	<i>Actinomyces</i> spp. <i>Trueperella pyogenes</i> Anaerobier Staphylokokken Streptokokken Aspergillen	Punktat	- steriles Röhrchen - flüssiges/festes Transportmedium	einziges zuverlässiges Material bei Sinusitis
Nase / Rachen	<i>Mycoplasma hyopneumoniae</i> <i>Burkholderia mallei</i> Bordetellen <i>Pasteurellaceae</i> Mykoplasmen Staphylokokken Streptokokken Aspergillen	Nasentupfer von mind. 10 hustenden Schweinen Abstrich, Eiter	- Tupfer ohne Transportmedium - Tupfer mit flüssigem Transportmedium - steriles Röhrchen	Bestandesdiagnostik ungeeignet für Diagnose einer Pneumonie oder Sinusitis
Ohr aussen	<i>Malassezia</i> spp. <i>Pasteurellaceae</i> Pseudomonaden Staphylokokken Streptokokken u.a. Anaerobier	Abstrich	- flüssiges/festes Transportmedium	mikroskopischer und kultureller Nachweis von <i>Malassezia</i> spp.
Ohr innen		Punktat (Tympanocentesis)	- steriles Röhrchen -- flüssiges/festes Transportmedium	
Leber, Milz, Niere	<i>Francisella tularensis</i> <i>Listeria</i> spp. <i>Enterobacteriaceae</i> <i>Pasteurellaceae</i> <i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i> Staphylokokken Streptokokken	Organe	Versand in Plastikbeuteln, jedes Organ einzeln verpackt, sterile Becher	Organ/Organstück nicht anschneiden
Prostata	Mykoplasmen Staphylokokken Streptokokken	Punktat	- flüssiges/festes Transportmedium	

Material / Lokalisation der Infektion	Wichtigste Erreger	Untersuchungs-material	Transport Gefäss/Zeit/Temp.	Bemerkungen
Urin Niere, Nierenbecken, Harnblase	<i>Enterobacteriaceae</i> Pseudomonaden Staphylokokken Streptokokken Leptospiren (PCR) <i>Corynebacterium renale</i> -Komplex (Rind) <i>Actinobaculum suis</i> (Schwein)	Urin Organe	- steriles Röhrchen (z.B. Milchröhrchen) oder Urinröhrchen mit Borsäure/Na-borat/Na-format - Versand in sterilen Plastikbeuteln, - bechern	Quantitativer Kulturansatz Sediment (<i>C. renale</i> , <i>A. suis</i> , Mykoplasmen)
Genitaltrakt Rind	<i>Campylobacter fetus</i> subsp. <i>venerealis</i>	m: Präputialspülprobe w: Vaginalausfluss	- Spezialtransport-medium (TTE-Medium)	ungeeignet für <i>Tritrichomonas fetus</i> Im Seuchenfall werden auch weibliche Tiere untersucht
Genitaltrakt Pferd	<i>Taylorella equigenitalis</i> <i>Beta-hämolytische Streptokokken</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>E. coli</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Coxiellen, Chlamydien <i>Brucella</i> spp.	 Abstrich mit geschütztem Tupfer, Eiter Abortmaterial	Kohle-Tupferproben: m: Präputium, Urethra, Fossa urethralis, Vorsekret, Sperma w: Zervix, Uterus, Klitoris - flüssiges/festes Transportmedium - sterile Plastikbeutel, Becher	Für Kultur: Die Kohle-Tupfer dürfen nicht länger als 48 h transportiert werden; gekühlter Versand
Genitaltrakt Hund	Staphylokokken Streptokokken <i>Pasteurellaceae</i>	Abstrich via Spekulum, Eiter	- flüssiges/festes Transportmedium	
Milch	Streptokokken Staphylokokken <i>Enterobacteriaceae</i> Hefen <i>Trueperella pyogenes</i> Mykoplasmen Atypische Mykobakterien Prototheken	Milch	- steriles Röhrchen	

7 Diagnostische Resistenzprüfung

7.1 Allgemeines

Eine Resistenzprüfung wird bei allen 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 Prüfberichts zusendung nachgefordert werden.

Die Auswahl der getesteten Antibiotika ist abhängig vom isolierten Erreger 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.

7.2 Testverfahren

In unserem Labor stehen folgende Methoden zur Verfügung:

1. Vitek Compact 2™ BioMérieux für kulturell nicht anspruchsvolle Erreger

Mit diesem automatisierten System werden auf Basis von Kinetikmessungen Minimale Hemmkonzentrationen (MHKs) ermittelt. Die MHK ist die kleinste Konzentration eines antimikrobiellen Wirkstoffes, die die Keimvermehrung im Kulturansatz verhindert. Je nach Zielkeim, stehen verschiedene Kartenformate mit unterschiedlichen Antibiotikabebiegungen zur Verfügung. Während der Inkubation wird das Wachstum photometrisch bestimmt, die Interpretation als „sensibel“, „intermediär“ oder „resistent“ erfolgt automatisch durch die Herstellersoftware (EUCAST Einstellung).

2. MHK-Bestimmung mittels Mikrodilutionsverfahren für kulturell anspruchsvolle Erreger

Die Bestimmung der MHK erfolgt mit der sogenannten Mikrodilutionsmethode, bei der mit unterschiedlichen Antibiotika- Konzentrationen 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).

3. Zusatzstests

Bei Unklarheiten kann die Methicillinresistenz von Staphylokokken mittels Agglutination oder PCR bestätigt werden. Bei Verdacht auf Carbapenemresistenz kann ein Carbapenemase-Nachweis durchgeführt werden. Bei Verdacht auf Colistinresistenz kann eine phänotypische Bestätigung durchgeführt werden.

7.3 Berichterstattung

Die Stufen der Empfindlichkeit von Bakterien werden i. d. R. entsprechend den jeweils neuesten Standards des „Clinical and Laboratory Standards Institute“ (CLSI) folgendermassen definiert:

„sensibel“

Als sensibel gegen ein bestimmtes Antibiotikum wird ein Bakterienstamm dann bezeichnet, wenn er *in vitro* von einer Konzentration dieses Wirkstoffes inhibiert wird, die mit einer hohen therapeutischen Erfolgswahrscheinlichkeit assoziiert ist.

“intermediär”

Als intermediär gegen ein bestimmtes Antibiotikum wird ein Bakterienstamm dann bezeichnet, wenn er *in vitro* von einer Konzentration dieses Wirkstoffs inhibiert wird, die mit einer therapeutischen Erfolgswahrscheinlichkeit bei erhöhter Exposition/Dosierung des Antibiotikums assoziiert ist.

“resistent”

Als resistent gegen ein bestimmtes Antibiotikum wird ein Bakterienstamm dann bezeichnet, wenn er *in vitro* von einer Konzentration dieses Wirkstoffs inhibiert wird, die mit einer hohen Wahrscheinlichkeit des Therapieversagens assoziiert ist.

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

8 Mykologische Diagnostik

8.1 Allgemeines

Die meisten Pilze sind opportunistische Erreger, deren Nachweis allein kein Beweis für ihre Pathogenität ist. Das klinische Bild und, wenn möglich, die Histologie müssen mit dem Laborbefund in Einklang gebracht werden. Im Rahmen der mykologischen Untersuchung werden folgende Erreger von oberflächlichen und tiefen Mykosen erfasst:

Häufige Krankheitsbilder		Häufigste Erreger
Hefen	Mastitiden, Otitis, (Systemmykosen)	<i>Candida</i> spp., <i>Malassezia</i> spp., (<i>Cryptococcus</i> spp.)
Schimmelpilze	Atemwegs-, Organinfektionen, Abort, Mastitiden	<i>Aspergillus</i> spp., <i>Mucor</i> spp., <i>Lichtheimia</i> spp.
Dermatophyten	Pilzinfektionen der Haut	<i>Trichophyton</i> spp., <i>Microsporum</i> spp.
Prototheken (Algen)	Mastitiden beim Rind	<i>Prototheca</i> spp.

8.2 Untersuchungsmaterial und Transport

Untersuchungsmaterial	Erreger	Zu beachten
Spülflüssigkeit (BAL, Luftsack)	<i>Aspergillus</i> sp.	zum Versand sterile, dicht verschlossene Behälter benutzen
Milch	Hefen, Prototheken	
Hautgeschabsel, Haare, Zahnbürste (McKenzie-Technik)	Dermatophyten	lange Transportzeiten in dicht verschlossenen Behältern wegen Feuchtigkeitsbildung vermeiden
Tupfer (Nase, Ohr)	<i>Aspergillus</i> sp., <i>Malassezia</i> sp.	mit Medium

8.3 Labordiagnose

Die Diagnose erfolgt mittels mikroskopischen und/oder kulturellen Nachweismethoden. Je nach Erreger erfolgt der Befund anhand des mikroskopischen oder kulturellen Nachweises. Gewisse Erreger können mittels biochemischer Methoden, mittels MALDI-TOF MS oder ITS-Sequenzierung identifiziert werden.

8.4 Berichterstattung

Die Berichterstattung erfolgt wie unter 2.8 beschrieben. Es ist zu beachten, dass gewisse Pilze lange Wachstumszeiten haben und die Kultur daher bis zu 3 Wochen dauern kann.

9 Molekularbiologische Diagnostik

Die molekularbiologische Diagnostik hat in den letzten Jahren stark an Bedeutung gewonnen. Sie ermöglicht es schwierig/nicht anzüchtbare und langsam wachsende Erreger nachzuweisen sowie gewisse Virulenzfaktoren abzuklären. Es besteht die Möglichkeit der Anwendung einer klassischen oder Real-time PCR.

9.1 Identifizierung und Typisierung

Ab einer Reinkultur kann ein Erreger mittels molekularbiologischer Methoden identifiziert / typisiert und Toxingene können nachgewiesen werden.

Folgende molekularbiologische Methoden werden zur Identifizierung und Typisierung angeboten:

Identifizierung und Typisierung	PCR-Methode
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> (APP) Toxingene	klassisch
<i>Bacillus anthracis</i> (Risikogruppe 3)	Real-time
<i>Brucella</i> sp. (Risikogruppe 3)	Real-time
<i>Burkholderia mallei</i> (Risikogruppe 3)	Real-time
<i>Campylobacter fetus</i> subsp.	klassisch
<i>Clostridium chauvoei</i>	klassisch
<i>Escherichia coli</i> Virulenzgene Schwein	klassisch
<i>Francisella tularensis</i> subsp. (Risikogruppe 3)	klassisch
<i>Mycoplasma agalactiae</i>	klassisch
<i>Mycoplasma mycoides</i> subsp. <i>mycoides</i> (Risikogruppe 3)	Real-time
<i>Mycoplasma capricolum</i> subsp. <i>capripneumoniae</i> (Risikogruppe 3)	klassisch
<i>Pasteurella multocida</i> Toxingen	klassisch
<i>Taylorella equigenitalis/asinigenitalis</i>	Real-time
<i>Clostridium perfringens</i> Toxingene	Real-time
<i>Staphylococcus aureus</i> CC398	klassisch
<i>Mycoplasma hyopneumoniae</i> MLST	Sequenzierung

9.2 Direkt-Nachweis

Eine Vielzahl von molekularbiologischen Methoden zum Direkt-Nachweis eines Erregers im Untersuchungsmaterial ist am Institut etabliert.

Direkt-PCR	PCR-Methode
<i>Brachyspira hyodysenteriae</i>	Real-time
<i>Brachyspira pilosicoli</i>	Real-time
<i>Chlamydia psittaci</i>	Real-time
<i>Chlamydia abortus</i>	Real-time
<i>Chlamydia felis</i>	klassisch

Direkt-PCR	PCR-Methode
<i>Campylobacter fetus</i> nach Anreicherung in TTE-Medium	klassisch
<i>Coxiella burnetii</i>	Real-time
<i>Francisella tularensis</i>	Real-time
<i>Leptospira</i> spp. (pathogene Spezies)	Real-time
<i>Listeria monocytogenes</i>	Real-time
<i>Mycoplasma bovis</i>	Real-time
<i>Mycoplasma conjunctivae</i>	Real-time
<i>Mycoplasma hyopneumoniae</i>	Real-time
<i>Mycoplasma leachii</i>	Real-time
<i>Mycoplasma mycoides</i>	Real-time
<i>Staphylococcus aureus</i> (Milch nach Anreicherung)	klassisch
<i>Dichelobacter nodosus</i> (Unterscheidung benigne und virulente Stämme)	Real-time

9.3 Sequenzierung

Eine Keimidentifizierung mittels Sequenzierung beruht auf Analyse der 16S rRNA oder anderen Markergenen (*rpoB*, *hsp60*, *hsp65*, ITS). Zusätzlich bieten wir für *Mycoplasma hyopneumoniae* die Typisierung mittels MLST (Multi locus sequence typing) an. Bei speziellen Fragestellungen können weitere Abklärungen, z. B. Typisierungen mittels whole genome sequencing erfolgen.

9.4 Untersuchungsmaterial und Transport

Untersuchungsmaterial	Erreger	Zu beachten
Organe	-	Autolyse möglichst vermeiden
Milch	<i>Mycoplasma bovis</i> / <i>S. aureus</i>	-
Tupfer	<i>Mycoplasma conjunctivae</i>	ohne Medium
Nasentupfer, Lungen, Trachealbürsten	<i>Mycoplasma hyopneumoniae</i> (EP)	
Klauptupfer	<i>Dichelobacter nodosus</i>	ohne Medium
Kot	<i>Brachyspira hyodysenteriae</i> und <i>Brachyspira pilosicoli</i>	ohne Medium
Urin	<i>Leptospira</i> spp. (pathogene Spezies)	Transportzeit < 24 h, gekühlt, nicht tiefgefroren, mind. 2 ml
Spülproben	<i>Campylobacter fetus</i>	In TTE Medium, ungekühlt
Bakterienstamm	Sequenzierung	Reinkultur

9.5 Interpretation

Ein negatives PCR-Ergebnis bedeutet, dass der Erreger nicht oder in unterhalb der Nachweisgrenze liegender Konzentration vorkommt. Die Nachweisgrenze ist für jede Methode unterschiedlich.

10 Serologische Diagnostik

Übersicht über die serologischen Untersuchungsmethoden:

Antigen	Material	Methode
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	Serum (Plasma)	ELISA
<i>Burkholderia mallei</i>	Serum	KBR (WOAH Manual)
<i>Brucella abortus</i>	Serum	ELISA
	Serum	KBR (WOAH Manual)
	Serum	Rose Bengal Test (WOAH Manual)
<i>Brucella melitensis</i>	Serum	ELISA
	Serum	KBR (WOAH Manual)
	Serum	Rose Bengal Test (WOAH Manual)
<i>Brucella canis</i>	Serum, Plasma oder Vollblut	Immunoassay
<i>Brucella ovis</i>	Serum	ELISA
<i>Brucella suis</i>	Serum	KBR (WOAH Manual)
	Serum	Rose Bengal Test (WOAH Manual)
	Serum (Plasma)	ELISA
<i>Chlamydia abortus</i>	Serum (Plasma)	ELISA
<i>Coxiella burnetii</i>	Serum	ELISA
<i>Leptospira</i> spp. Serovare: Grippotyphosa, Australis, Pomona, Tarassovi (syn. hyos), Canicola, Icterohaemorrhagiae, Hardjo, Bataviae, Bratislava, Autumnalis Sejroe, Pyrogenes, Ballum	Serum	MAT (WOAH Manual)
<i>Mycoplasma hyopneumoniae</i> (EP)	Serum (Plasma)	ELISA
<i>Mycoplasma mycoides</i> subsp. <i>mycoides</i>	Serum	ELISA