

Zentrum für Zoonosen, bakterielle Tierkrankheiten und Antibiotikaresistenz (ZOBA)

am

Institut für Veterinärbakteriologie
der Vetsuisse-Fakultät, Universität Bern
Länggassstr. 122, CH-3012 Bern

VADEMECUM 2018 **Version 2**



©VONSCHUBERTPHOTO

Inhalt

1	Kontakte	3
1.1	Adresse	3
1.2	Dienstzeiten	3
1.3	Telefon, Telefax, 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.....	15
8	Mikrobiologische Fleischuntersuchung.....	16
9	Mykologische Diagnostik.....	17
9.1	Allgemeines	17
9.2	Untersuchungsmaterial und Transport.....	17
9.3	Labordiagnose	17
9.4	Berichterstattung.....	17
10	Molekularbiologische Diagnostik	18
10.1	Identifizierung und Typisierung.....	18
10.2	Direkt-Nachweis	18
10.3	Sequenzierung	19
10.4	Untersuchungsmaterial und Transport.....	19
10.5	Interpretation	19
11	Serologische Diagnostik	20

1 Kontakte

1.1 Adresse

Universität Bern
Tierspital
Institut für Veterinärbakteriologie
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. 031/631 24 35 oder 25 14 erreichbar. Regelmässig werden Untersuchungen auf Weidekrankheiten (Rauschbrand/Milzbrand), Salmonellose, CEM sowie Milch- und Harnproben angesetzt.

1.3 Telefon, Email

Telefon

ZOBA Leitung (Dr. G. Overesch)	031 631 24 38 gudrun.overesch@vetsuisse.unibe.ch
Diagnostik (Dr. S. Gobeli Brawand) (Dr. S. Kittl) (Dr. L. Schönecker)	031 631 24 35 oder 25 14 stefanie.gobeli@vetsuisse.unibe.ch sonja.kittl@vetsuisse.unibe.ch lutz.schoenecker@vetsuisse.unibe.ch (Resident)
Buchhaltung	031 631 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 an das Institut für Tierpathologie der Universität Bern weitergeleitet. Organe für die EP-, APP-Diagnostik, Abortuntersuchungen, mikrobiologische Fleischuntersuchungen und Analysen auf Rauschbrand und Milzbrand

werden direkt analysiert. Andere Organe werden falls erforderlich 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 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, 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 Allgemeine Richtlinien zum Probenversand

2.1 Untersuchungsantrag und Kennzeichnung

Antragsformulare in deutscher und französischer Sprache sind als elektronisch ausfüllbare PDF-File verfügbar unter <http://www.vbi.unibe.ch/>. Es sollten möglichst die aktuell gültigen Untersuchungsformulare verwendet werden.

Es werden individuelle Antragsformulare für Schweine, Wiederkäuer und Heimtiere/Pferde angeboten.

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

Das beigegefügte Antragsformular muss folgende Angaben enthalten:

- Einsender, Tierarzt (Name, Adresse mit Postleitzahl, Telefonnummer, , oder Email)
- 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 (Name, Adresse mit Postleitzahl, Betriebs-TVD-Nummer, Kanton)
- Standort des Tieres (sofern nicht identisch mit Besitzeradresse)
- Untersuchungsmaterial und Entnahmeort (spez. anatomische Lokalisation)
- Entnahmedatum
- Untersuchungsgrund
- Gewünschte Untersuchung
- Rechnungsempfänger (Name, Adresse mit Postleitzahl)

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

Wir bitten 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.

2.2 Versandmaterial und Transport

Adäquates Versandmaterial 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. Milch, Punktate, Eiter, Sekrete, Blut), dicht verschlossene und etikettierte Verpackung gemäss Packvorschrift P650 (Primärgefäss, Sekundärverpackung mit Saugeinlage, Aussenverpackung). 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:
 - klein (Innenmass: 150 x 215 mm)
 - gross (Innenmass: 180 x 265 mm)
- Versandschachteln für Bestandesproben (Blut, Milch, Kottupfer)
- Eintupfer 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
- Spezialtransportmedium für Mycoplasmen mit 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)
- Sterile Wattetupfer in Röhrchen, für Kotproben im Rahmen von Bestandesuntersuchung
- Probenahmeset für Aborte (Becher plus Blutröhrchen)
- Vacutainer Urine C&S
- Versandetui für Tupfer und Blutröhrchen

3 Rechnungswesen

Die Untersuchungspreise sind auf unseren Untersuchungsanträgen ersichtlich. 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 Tierbesitzer gestellt. Die Abrechnung erfolgt monatlich.

4 Laboranerkennung und Referenzfunktion

Im Rahmen der Tierseuchenverordnung sind wir als Labor durch das BLV für alle bakteriellen Tierseuchen mit Ausnahme von Paratuberkulose und Tuberkulose und den Seuchen der Fische und Bienen anerkannt. 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.

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: PCR, oder 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; Erregeridentifizierung: 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
Coxiellrose <i>C. burnetti</i>	Direktausstrich nach Stamp mod. Ziehl-Neelsen gefärbt, Erregeridentifizierung: PCR, ELISA
Deckinfektion der Rinder <i>Campylobacter fetus</i> subsp. <i>venerealis</i>	Kultur oder Direkt-PCR; Erregeridentifizierung: MALDI TOF MS, PCR
Enzootische Pneumonie der Schweine (EP) <i>Mycoplasma hyopneumoniae</i>	PCR, ELISA
Infektiöse Agalaktie <i>Mycoplasma agalactiae</i>	Kultur, Erregeridentifizierung, PCR
Leptospirose der Rinder und Schweine <i>Leptospira</i> spp.	Mikroagglutinationstest, Direkt-PCR
Listeriose <i>L. monocytogenes</i> , <i>L. ivanovii</i>	Kultur; Erregeridentifizierung: MALDI TOF MS, Serotypisierung mittels PCR
Lungenseuche der Rinder <i>Mycoplasma mycoides</i> subsp. <i>mycoides</i>	Kultur; Erregeridentifizierung: PCR, ELISA/Immunoblot
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
Rauschbrand <i>Clostridium chauvoei</i>	Immunfluoreszenz, Kultur, PCR

Tierseuche, Erreger	Methodenspektrum
Rotz <i>B. mallei</i>	Kultur; Erregeridentifizierung: PCR, KBR Westernblot
Salmonellose <i>Salmonella</i> spp.	Kultur, Erregeridentifizierung: MALDI TOF MS, Serotypisierung
Tularämie <i>Francisella tularensis</i>	Kultur; Erregeridentifizierung: MALDI TOF MS, PCR
Yersiniose <i>Y. enterocolitica</i>	Kultur; Erregeridentifizierung: MALDI TOF MS, Biovarbestimmung

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, bzw. *Taylorella* spp. in Amiestransportmedium mit Kohle. 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 (Kantenlänge mind. 10 cm, analog Fleischschau) eingesandt werden.

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 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.

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 der Erkrankung 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 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) bekannten und passenden 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 behandelnden Tierarzt und / oder die amtlichen Veterinärbehörden. Befundmitteilungen an den Tierhalter direkt werden nicht getätigt. Der definitive Prüfbericht mit elektronischer Kennzeichnung des verantwortlichen Mitarbeiters wird gemäss Kundenwunsch per Mail, und/oder schriftlich via A-Post 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.

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

Änderungen des Prüfberichts erfolgen als Korrekturen und Ergänzungen erfolgen 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 zusätzliche klinische oder epidemiologische Informationen gewonnen wurden. Alle Mitarbeiter des Instituts unterstehen der medizinischen 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 gelten gesonderte Preisabmachungen.

5.7 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.

6 Bakteriologische und mykologische 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	<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 - flüssiges/festes Transportmedium	bei Aspiration vorherige Hautdesinfektion Gewebe oder Flüssigkeit besser als Tupfer
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>E. fergusonii</i> <i>Streptococcus pluranimalium</i> Leptospiren Diverse Pilze	Veränderte Kotyledonen Organe (Leber, Milz, Niere, Lunge) von Feten oder Totgeburten, Mageninhalt	- sterile Becher, Plastikbeutel	Blut vom Muttertier einsenden
Auge	Bordetellen Chlamydien <i>Moraxella</i> spp. Mykoplasmen <i>Pasteurellaceae</i> Pseudomonaden Staphylokokken Streptokokken	Tupferabstrich (angefeuchtet)	- flüssiges Transportmedium	gesundes Auge zur Bestimmung der endogenen Flora testen
Blut	<i>Bacillus anthracis</i> <i>Enterobacteriaceae</i> <i>Erysipelothrix</i> spp. <i>Listeria</i> spp. Staphylokokken Streptokokken <i>Brucella</i> spp.	mind. 0.5 ml Blut	Serumröhrchen spezielle Isolatoren, nicht kühlen!	Bei Verdacht auf Anthrax Tierkörper nicht öffnen! Entnahme bis 3 x täglich (optimal kurz vor oder bei Beginn einer Fieberphase)

Material / Lokalisation der Infektion	Wichtigste Erreger	Untersuchungs-material	Transport Gefäss/Zeit/Temp.	Bemerkungen
Haut	<i>Actinomyces</i> spp. <i>D. congolensis</i> + verwandte Erreger Mykobakterien Nocardien Staphylokokken Streptokokken Hefen, Pilze Dermatophyten <i>Burkholderia mallei</i>	Geschabsel, Biopsien, evtl. Abstriche Hauteiter	- nativ oder in phys. NaCl - flüssiges/festes Transportmedium in sterilem Röhrchen bei Verdacht auf Rotz	
Darm/Kot	<i>Campylobacter</i> spp. <i>Clostridien</i> <i>enteropathogene E. coli</i> (Schwein, Kalb) Salmonellen Shigellen (Affe) <i>Yersinia</i> spp. <i>E. fergusonii</i> , Brachyspiren	Kot nativ, Rektalabstrich	- sauberes Gefäss (empfohlen) - flüssiges/festes Transportmedium - Brachyspiren-Puffer	
Körperhöhlenflüssigkeiten: • Peritoneal-, Perikard-, Thorakalflüssigkeit • Liquor • Synovia	Anaerobier Chlamydien <i>E. 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
Luftsack (Pferd)	Anaerobier Aspergillen Streptokokken <i>Pasteurellaceae</i>	Spülung, Punktat	- steriles Röhrchen - flüssiges/festes Transportmedium	
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>Burkholderia mallei</i> <i>Actinomyces hyo-intestinalis</i> <i>Trueperella pyogenes</i> Anaerobier Bordetellen Mykobakterien Mykoplasmen <i>Pasteurellaceae</i> <i>Rhodococcus equi</i> Staphylokokken Streptokokken	Lunge, infizierte Organe mind. 3 veränderte Lungen Organmaterial Organmaterial Transtracheales Aspirat bronchoalveoläre Lavage bronchoskopisches Aspirat Organmaterial	Transportboxen Transportboxen - steriles Röhrchen (bei Verdacht auf Rotz) - flüssiges Transportmedium	Bestandesdiagnostik

Material / Lokalisation der Infektion	Wichtigste Erreger	Untersuchungs-material	Transport Gefäss/Zeit/Temp.	Bemerkungen
Muskulatur	<i>Clostridium chauvoei</i> <i>Clostridium septicum</i> , <i>Clostridium perfringens</i>	pathologisch verändertes Muskelstück		
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 (bei Verdacht auf Rotz)	Bestandesdiagnostik 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)	- flüssiges/festes Transportmedium - steriles Röhrchen -- flüssiges/festes Transportmedium	mikroskopischer und kultureller Nachweis von <i>Malassezia</i> spp.
Leber, Milz, Niere	<i>Francisella tularensis</i> <i>Listeria</i> spp. <i>Enterobacteriaceae</i> <i>Pasteurellaceae</i> <i>E. 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	- - flüssiges/festes Transportmedium	
Urin 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	- Urinröhrchen mit Borsäure/Na-borat/Na- format - steriles Röhrchen - Versand in Plastik- Beutel, -becher	Quantitativer Kulturansatz (Hd/Ktz) Sediment (alle anderen) <i>C. renale</i> , <i>E. suis</i> (Rd, Schw)
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

Material / Lokalisation der Infektion	Wichtigste Erreger	Untersuchungs- material	Transport Gefäss/Zeit/Temp.	Bemerkungen
Genitaltrakt Pferd	<i>Taylorella equigenitalis</i> <i>Brucella</i> spp. <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	Kohle-Tupferproben: m: Präputium, Urethra, Fossa urethralis, Vorsekret, Sperma w: Zervix, Uterus, Klitoris - - flüssiges/festes Transportmedium - Plastikbeutel, Becher	Die Kohle-Tupfer dürfen nicht länger als 48 h transportiert werden; gekühlter Versand
Genitaltrakt Hund	<i>Haemophilus haemoglobinophilus</i> Staphylokokken Streptokokken <i>Pasteurellaceae</i>	Abstrich via Spekulum, Eiter	- flüssiges/festes Transportmedium	
Milch	Streptokokken Staphylokokken <i>Enterobacteriaceae</i> Hefen <i>Trueperella pyogenes</i> Mykoplasmen säurefeste Erreger <i>Bacillus</i> spp. 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 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.

7.2 Testverfahren

In unserem Labor stehen folgende Methoden zur Verfügung:

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.

1. Vitek Compact 2™ BioMérieux

Mit diesem automatisierten System werden Bestimmungen der Minimalen Hemmkonzentrationen (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. Während der 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.

4. Etest™ BioMérieux

Etest ist ein kommerziell erhältliches System, welches mit einem Antibiotikagradienten 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.

7.3 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.

8 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.

9 Mykologische Diagnostik

9.1 Allgemeines

Die meisten Pilze sind opportunistische Erreger, deren Nachweis allein kein Beweis für ihre Erregereigenschaft 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> sp., <i>Malassezia</i> sp., <i>Cryptococcus</i> sp.
Schimmelpilze	Atemwegs-, Organinfektionen, Abort, Mastitiden	<i>Aspergillus</i> sp., <i>Mucor</i> sp., <i>Lichtheimia</i> sp.
Dermatophyten	Pilzinfektionen der Haut	<i>Trichophyton</i> sp., <i>Microsporum</i> sp.
Prototheken (Algen)	Mastitiden beim Rind	<i>Prototheca zopfii</i> , <i>Prototheca wickerhamii</i>

9.2 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	Dermatophyten	lange Transportzeiten in dicht verschlossenen Behältern wegen Feuchtigkeitsbildung vermeiden
Tupfer (Nase, Ohr)	<i>Aspergillus</i> sp., <i>Malassezia</i> sp.	mit Medium

9.3 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 biochemischen Methoden sowie mittels MALDI-TOF MS identifiziert werden.

9.4 Berichterstattung

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

10 Molekularbiologische Diagnostik

Die molekularbiologische Diagnostik hat in den letzten Jahren stark an Bedeutung gewonnen. Sie ermöglicht es schwierig/nicht anzüchtbare und langsamwachsende Erreger nachzuweisen und gewisse Virulenzfaktoren abzuklären. Es besteht die Möglichkeit der Anwendung einer klassischen Polymerasekettenreaktion (PCR) oder einer technologisch aufwendigeren, sensitiveren real time PCR.

10.1 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> Toxingene	klassisch
<i>Taylorella equigenitalis</i> /asinigenitalis	Real-time
<i>Clostridium perfringens</i> Toxingene	Real-time
<i>Staphylococcus aureus</i> Typisierung	Sequenzierung

10.2 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

10.3 Sequenzierung

Eine Keimidentifizierung mittels Sequenzierung beruht auf Analyse der Nukleotidsequenz der 16S rDNA. In Ausnahmefällen werden zusätzlich weitere Sequenzen (*rpoB*, *hsp60*, *hsp65*, **ITS**) zur Identifikation herangezogen.

10.4 Untersuchungsmaterial und Transport

Untersuchungsmaterial	Erreger	Zu beachten
Organe	-	Autolyse möglichst vermeiden
Milch	<i>Mycoplasma bovis</i> / <i>S. aureus</i>	-
Tupfer	<i>Mycoplasma</i> spp.	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

10.5 Interpretation

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

11 Serologische Diagnostik

Übersicht über die serologischen Untersuchungsmethoden:

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