Durchführung von Antibiogrammen
Anforderung und Grenzen

Ein Praxisleitfaden

BfT Bundesverband für Tiergesundheit e.V.

Bundesverband für Tiergesundheit e.V.
(Dezember 2018 – Überarbeitet Juli 2019)

Durchführung von Antibiogrammen – Anforderung und Grenzen

Inhaltsverzeichnis:

1. Einleitung 3
2. Methodenübersicht 3
3. Probennahme 5
4. Erregeridentifikation 6
5. Durchführung der Empfindlichkeitsprüfung 9
6. Interpretation 10
7. Dokumentation 12
8. Ausblick 13
9. Quellenverzeichnis 14
10. Anhang 15

Korrespondenzadresse
Bundesverband für Tiergesundheit e.V., Schwertbergerstr. 14, 53177 Bonn,
bft@bft-online.de

1. Einleitung

Die aktuellen Neuerungen der TÄHAV[1] regeln vornehmlich die Anforderungen an die Durchführung von Antibiogrammen und machen verbindliche Aussagen, wann diese durchzuführen sind. Insgesamt wird dies zu einer vermehrten Durchführung von Antibiogrammen führen. Grundsätzlich bietet die In–vitro–Testung der Empfindlichkeit von Mikroorganismen gegen antimikrobielle Substanzen einen direkten klinischen Nutzen, denn für Patienten mit normaler Immunabwehr und einem Erreger, der als empfindlich gegen das eingesetzte Antibiotikum eingestuft wird, bestehen gute Chancen auf eine vollständige Heilung. Im Falle von als vermindert bzw. intermediär empfindlich eingestufter Erreger, geschwächter Abwehr, bei Vorerkrankungen oder bei enorm hoher Bakterienlast reduziert sich die Wahrscheinlichkeit der Heilung jedoch deutlich (Johnson, 1996)[2].

In den folgenden Kapiteln soll dem interessierten Praktiker ein kurzer Überblick zu den Methoden zur Empfindlichkeitsbestimmung, den Anforderungen an die Probennahme, die Erregeridentifikation und die Durchführung der Tests sowie deren Interpretation gegeben werden. Für eine intensivere Auseinandersetzung mit der Thematik wird jeweils auf weiterführende Literatur verwiesen.

2. Methoden zur Empfindlichkeitsprüfung tierpathogener bakterieller Infektionserreger

Die Empfindlichkeitsprüfung anspruchsloser, schnell wachsender Bakterien gegenüber antibakteriellen Wirkstoffen kann nach verschiedenen national oder international anerkannten Verfahren wie der Agardiffusion, der Agar- oder Bouillondilution oder mittels Epsilometer Test durchgeführt werden.

Diffusionsverfahren

. Bei der Empfindlichkeitstestung mittels Agardiffusion erfolgt die Diffusion des zu testenden Antibiotikums aus einem Testblättchen in den Nährboden, wodurch um das Blättchen herum ein Wirkstoffgradient entsteht. Je nach Grad der Empfindlichkeit des zu untersuchenden bakteriellen Erregers erfolgt eine Unterdrückung des Bakterienwachstums in einem unterschiedlich großen Bereich um das Blättchen. Dieser Bereich wird als Hemmhof bezeichnet. Die quantitative Erfassung des Hemmhofdurchmessers, gemessen in mm, gilt als Maß für die qualitative Beurteilung der Bakterien als „resistent“, „intermediär“ oder „empfindlich“ (Schwarz et al., 2014)[3]. Die Methode des Agardiffusionstests und die Interpretationskriterien orientieren sich am Standard für antimikrobielle Empfindlichkeitstestung für Bakterien des Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).

[1] Tierärztliche Hausapothekenverordnung geändert durch Zweite Änderungsverordnung der Tierärztlichen Hausapothekenverordnung, Bundesgesetzblatt Jahrgang 2018 Teil I Nr. 7, 28. Februar 2018

[2] Johnson, C. C. (1996): In vitro testing: correlations of bacterial susceptibility, body fluid levels and effectiveness of antibacterial therapy. Antibiotics in Laboratory Medicine. W. Wilkins.Maryland, USA, Lorian V. 4th edn.: 813-834.

[3] Schwarz S, Feßler A T, Kaspar H, Werckenthin C, Wallmann J (2014). Empfindlichkeitsprüfung von Bakterien im diagnostischen Labor. Der Praktische Tierarzt, 95 (Suppl. 5), 18–22.

Dilutionsverfahren

Der In–vitro–Empfindlichkeitsgrad pathogener Mikroorganismen gegenüber einer antimikrobiellen Substanz wird durch die Ermittlung der minimalen Hemmkonzentration (MHK) bestimmt. Die MHK ist die niedrigste Konzentration eines Antibiotikums, die das Wachstum von Bakterien hemmt. Zu diesem Zweck werden eine definierte Anzahl von Bakterien, in vielen Fällen sind das 10^5 koloniebildende Einheiten/ml (KbE), auf definierten Medien, in vorgeschriebener Atmosphäre, Temperatur und Dauer inkubiert. Methoden, mit denen die MHK bestimmt wird, sind der Reihen- (als Makro- oder Mikrodilutionsverfahren) und der Agarverdünnungstest.

Epsilometertest

Der Epsilometertest (auch Epsilontest oder E-Test) ist eine Variante des Agardiffusionstests und dient ebenfalls der Ermittlung der MHK eines ausgewählten Antibiotikums für ein zu untersuchendes Bakterium.

Der Test besteht aus einem Kunststoffstreifen, der auf einer Seite mit einem Antibiotikum versehen ist. Die Konzentration dieses Antibiotikums steigt vom unteren zum oberen Ende des Streifens hin exponentiell in Stufen an, was auf dem Streifen mit Graduierungen gekennzeichnet ist.

Grenzen der Tests

Es ist davon auszugehen, dass die In–vitro–Ergebnisse nicht unbedingt zu 100% in vivo realisiert werden können. Sowohl in vitro sensible getestete Stämme können sich in vivo als therapieresistent erweisen, als auch vermeintlich resistente Keime können eliminiert werden , möglicherweise, weil das Immunsystem eine entscheidende Komponente der Heilung darstellt. Zudem werden für die Empfindlichkeitsprüfung nur einige wenige Kolonien, oder auch nur ein Klon getestet, der nicht unbedingt repräsentativ für die Infektionsverursacher sein muß. .

Die Methodik der Testverfahren beziehen sich häufig auf schnellwachsende aerobe Bakterien wie beispielsweise *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp., *P. multocida, M. haemolytica*, Erreger der Familie Enterobacteriaceen (z. B. *Salmonella spp*., *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., etc.) sowie auf *Pseudomonas aeruginosa*. Diese Methoden sind deshalb nicht ohne Weiteres auf anspruchsvolle oder anaerob wachsende Bakterien anwendbar. Ebenso liegen nicht für alle Pathogene sowie nur für wenige, meist modernere Wirkstoffe, tierartspezifische oder organspezifische Beurteilungskriterien vor, so dass die Ergebnisse der Empfindlichkeitsprüfung oftmals nicht valide interpretiert werden können und lediglich einen orientierenden Charakter haben (siehe Tabelle 1).

3. Probennahme

Im Rahmen der Diagnostik klinisch erkrankter Tiere sind die Auswahl des geeigneten Probenmaterials, die sachgerechte Gewinnung der Proben und ihr sachgerechter Versand für die Isolierung des für das Krankheitsgeschehen relevanten Erregers von entscheidender Bedeutung. Aus diesem Grund wurden vom Arbeitskreis Antibiotikaresistenz Empfehlungen zur Gewinnung geeigneter Proben erarbeitet und publiziert (Waldmann et al., 2018)[4]. Die Empfehlungen beschränken sich auf die Probennahme bei landwirtschaftlichen Nutztieren (Schweine, Rinder, Geflügel und Fisch).

In Ergänzung einschlägiger Lehrbücher enthalten sie u.a. Hinweise zur sachgerechten Gewinnung geeigneten Probenmaterials sowie zum sachgerechten Versand der Proben.

Im Nachfolgenden soll nur kurz auf die wichtigsten Aspekte der Probennahme eingegangen werden. Eine detaillierte Übersicht zur Probennahme bei Kleintier, Schwein und Rind ist in den Tabellen 2 - 4 als Anlage beigefügt.

Wahl eines adäquaten, zertifizierten Labors

Das Leistungsspektrum von Laboratorien im Hinblick auf die bakteriologische Diagnostik kann sehr unterschiedlich sein und insbesondere bei der Isolierung seltener oder besonders schwierig zu kultivierender Bakterien sollte das Labor unbedingt im Vorfeld kontaktiert werden.

Entnahme von geeigneten Substraten

Das Einhalten hygienischer Maßnahmen bei der Probennahme ist unbedingt zu beachten. Es sind stets hygienisch einwandfreie Instrumente, Geräte und Behältnisse zu verwenden. Insbesondere ist folgendes zu beachten:

- Proben sollten möglichst von lebenden, akut erkrankten, jedoch antibiotisch nicht vorbehandelten Tieren entnommen werden,
- jegliche Verunreinigung der Probe ist zu vermeiden und das Probengefäß muss steril sein,
- Untersuchungen von Mischproben mehrerer Tiere („Sammelproben") gehen zu Lasten der Diagnosesicherheit,
- In Fällen von Therapieversagen kann es notwendig werden, gezielt Proben von bereits vorbehandelten und typisch erkrankten Tieren zu entnehmen.
- ,

[4]Waldmann K-H et al (2018): DVG Leitlinien zur Probengewinnung für die bakteriologische Diagnostik beim Schwein, Rind, Geflügel und Fisch, DTBl. 2018, 66 (12)

Zeitpunkt der Probennahme

Der geeignete Zeitpunkt zur Probenentnahme ergibt sich aus der Pathogenese der jeweiligen Erkrankung. Insbesondere ist Folgendes zu beachten:

- Bestimmte Erreger werden nur in der akuten Phase der Erkrankung oder intermittierend ausgeschieden (z. B. Euterinfektionen mit *Staphylococcus aureus*),
- bei besonders empfindlichen Erregern (z. B. Mykoplasmen, *Haemophilus* spp.) muss möglichst eine unverzügliche Bearbeitung der Probe im Labor erfolgen (Eintreffen am Wochenende vermeiden),
- bereits durchgeführte Vorbehandlungen müssen bei der Wahl des Zeitpunktes der Probenentnahme berücksichtigt werden.

Verwendung von Transportmedien, Aufbewahrung, Verpackung und Transport

Bei der Probennahme sollten die geeigneten Transportmedien für die Probe unbedingt berücksichtigt werden. So ist z. B. bei kleinen Probenvolumina (z. B. Tracheobronchialsekret) das Austrocknen der Probe zu verhindern, für die Isolation von Anaerobiern muss i. d. R. ein speziell geeignetes Transportmedium verwendet werden und bei Sepsisverdacht müssen spezielle Blutkulturentnahmesysteme eingesetzt werden.

Prinzipiell sollten alle Proben gekühlt bei +4 °C bis zur Untersuchung aufbewahrt bzw. versandt werden. Der Transport sollte ebenfalls unter gekühlten Bedingungen erfolgen. Die Proben sollten innerhalb von 24 Stunden nach Entnahme noch in gekühltem Zustand im Labor eintreffen.

4. Erregeridentifikation

Neben der sorgfältigen Probengewinnung ist eine möglichst eindeutige Identifikation des bakteriellen Erregers Voraussetzung und Grundlage für die korrekte Auswertung der Ergebnisse der Empfindlichkeitsprüfung.

Allgemeine Voraussetzungen

Gemäß Infektionsschutzgesetz[5] § 45 benötigt der Tierarzt „für mikrobiologische Untersuchungen zur orientierenden (…) veterinärmedizinischen Diagnostik mittels solcher kultureller Verfahren, die auf die primäre Anzucht und nachfolgender Subkultur zum Zwecke der Resistenzbestimmung beschränkt sind und bei denen die angewendeten Methoden nicht auf den spezifischen Nachweis meldepflichtiger Krankheitserreger gerichtet sind," keine Erlaubnis, „soweit die Untersuchungen für die unmittelbare Behandlung der eigenen Patienten für die eigene Praxis durchgeführt werden." Dies gilt nach Auskunft des Bundesministeriums für Landwirtschaft in Abstimmung mit dem Bundesministerium für Gesundheit u.a. auch für den Bezug von Qualitätskontrollstämmen. Solche Qualitätsstandards können von der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen (DSMZ) oder im Diagnostischen Fachhandel bezogen werden.

[5] Infektionsschutzgesetz vom 20. Juli 2000 (BGBl. I S. 1045). Zuletzt geändert durch Artikel 1 des Gesetzes vom 17. Juli 2017 (BGBl. I S. 2615)

Bei Vorliegen der Voraussetzungen von § 45 Absatz 2 Nummer 1, 2 oder 3 Infektionsschutzgesetz ist die Tätigkeit mit Krankheitserregern erlaubnisfrei, ohne dass es dazu weiterer Voraussetzungen oder einer behördlichen Entscheidung bedarf.

Grundsätzlich gilt auch, dass gemäß § 3 der Tierseuchenerregerverordnung[6] der Tierarzt keiner Erlaubnis bedarf „zum Arbeiten mit den in § 1 Nr. 2 bezeichneten Tierseuchenerregern oder zum Erwerben oder Abgeben dieser Tierseuchenerreger (…) für diagnostische Untersuchungen oder therapeutische Maßnahmen im Rahmen ihrer Praxis“, sowie „Tierkliniken (…) für diagnostische Untersuchungen oder therapeutische Maßnahmen in ihrem Arbeitsbereich unter tierärztlicher (…) Leitung (…)“.

Zu beachten sind außerdem die Vorgaben der Biostoffverordnung[7] sowie TRBA 260 (Schutzmaßnahmen bei Tätigkeiten mit biologischen Arbeitsstoffen in der Veterinärmedizin und bei vergleichbaren Tätigkeiten) und TRBA 100 (Schutzmaßnahmen für Tätigkeiten mit biologischen Arbeitsstoffen in Laboratorien).

Je nach Keim und Zieltierarten - möglicherweise auch abhängig vom Infektionsort - unterscheiden sich die Bewertungskriterien (Hemmhofdurchmesser oder klinische Breakpoints). Demensprechend ist eine Identifizierung des in der Kultur isolierten Erregers vor jeder Empfindlichkeitsprüfung erforderlich. Um reproduzierbare Testergebnisse zu erzielen, ist es unerlässlich, Testverfahren zu standardisieren, denn Parameter wie Kulturmedium, Einsaatmenge der Mikroorganismen (Inokulum), Inkubationstemperatur und –dauer können das Untersuchungsergebnis maßgeblich beeinflussen. Das Mitführen von Kontrollstämmen ist aus Gründen der Qualitätssicherung geboten.

Laborausstattung

Für die Standardverfahren zur Isolierung und Identifikation von bakteriellen Erregern benötigt man eine spezielle Laborausstattung, die mindestens die folgenden Geräte bzw. Materialien umfassen sollte

Sterile Pipetten, Petrischalen, Reagenzgläser, Platinösen und Glasspatel zum Ausstreichen der Proben, eine UV-Lampe sowie Brutschränke bzw. Bruträume mit einer Temperatur von 30°C, 36±1°C und 45°C.

Weitere Hinweise s. Normensammlung „Medizinische Mikrobiologie und Immunologie“[8] DIN 12950 (Neu: DIN EN 12469:2000) und DIN 58956 (Neu: DIN EN 12128:1998-05).

---

[6]Verordnung über das Arbeiten mit Tierseuchenerregern (Tierseuchenerreger-Verordnung), 25. November 1985 (BGBl. I S. 2123). Zuletzt geändert durch Artikel 8 der Verordnung vom 17. April 2014 (BGBl. I S. 388)

[7]Biostoffverordnung vom 15. Juli 2013 (BGBl. I S. 2514). Zuletzt geändert durch Artikel 146 des Gesetzes vom 29. März 2017 (BGBl. I S. 626)

TRBA 260 (Schutzmaßnahmen bei Tätigkeiten mit biologischen Arbeitsstoffen in der Veterinärmedizin und bei vergleichbaren Tätigkeiten) und TRBA 100 (Schutzmaßnahmen für Tätigkeiten mit biologischen Arbeitsstoffen in Laboratorien)

[8]Normensammlung „Medizinische Mikrobiologie und Immunologie“. (DIN 12950 (Neu: DIN EN 12469:2000) und DIN 58956 (Neu: DIN EN 12128:1998-05)

Erregerisolierung

Zuerst muss die Probe aufgearbeitet und im Anschluss die Nährbodenplatte beimpft werden. Die Auswahl der Nährmedien richtet sich dabei grundsätzlich nach den vermutenden Erregern. Ein Erstansatz erfolgt in der Regel auf nicht-selektiven Medien wie z. B. Blutagar, evtl. mit Äskulinzusatz.

Bei bereits bekannten spezifischen Fragestellungen können selektive Nährböden zum Einsatz kommen, die das Wachstum bestimmter Bakterien unterstützen. Eine Auflistung geeigneter Spezialnährböden finden Sie z. B. in den Leitlinien zur Isolierung und Identifizierung von Mastitiserregern, DVG 2009[9].

Die Ausstrichverfahren zur mikrobiologischen Diagnostik arbeiten i. d. R. maximal semiquantitativ. Die Größe des Inokulums und die Größe der zu beimpfenden Oberfläche können daher in bestimmten Grenzen variiert werden. Wird jedoch zu wenig Probenmaterial ausgestrichen, so begünstigt dies falsch-negative Ergebnisse. Häufig kommt ein Verdünnungsausstrich mittels 3-Ösen-System zum Einsatz.

Identifizierung

Die Identifizierung spezifischer Krankheitserreger erfolgt im ersten Schritt über die Beurteilung der Koloniemorphologie und einer evtl. aufgetretenen Hämolyse. Zusätzlich gibt eine Gramfärbung weitere, wichtige Hinweise. Ergänzend werden unterschiedliche biochemische Untersuchungen zur Differenzierung ähnlich aussehender Erreger eingesetzt, z. B.: Clumping-Factor-Test, Koagulase-Test, bunte Reihen oder kommerzielle Testsysteme.

Auch spezielle Empfindlichkeitsuntersuchungen bzw. das Wachstum auf Spezialmedien können zur Unterscheidung von Erregern beitragen.

Eine genaue, relativ automatisierte Erregerbestimmung ermöglicht das MALDI-TOF System.

Hinweise zur Anzucht spezieller Erreger bietet die AVID-Methodensammlung[10]. Allerdings ist zu beachten, dass es für bestimmte Erreger wie z.B. Mykoplasmen keine standardisierten Methoden zur Empfindlichkeitsprüfung gibt und sich die Anzucht ebenfalls als sehr schwierig darstellt.

In den Leitlinien zur Isolierung und Identifizierung von Mastitiserregern sind die genauen Verfahren zur Abgrenzung der Mastitiserreger aufgeführt.

[9] DVG Leitlinien Entnahme von Milchproben unter antiseptischen Bedingungen und Isolierung und Identifizierung von Mastitiserregern, 2. Auflage Gießen, Juni 2009

[10] AVID Methodensammlung, Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft (DVG) (unter Aktualisierung)

5. Durchführung der Empfindlichkeitsprüfung

Diffusionsverfahren

Die zu testenden Keime müssen in Reinkultur vorliegen. Einzelne Kolonien werden in eine Nährbouillon verbracht und auf eine Standardtrübung eingestellt (McFarland 0,5). Sodann werden 100µl des Inokulums auf Mueller-Hinton-Platten verbracht, mit einem Drigalski Spatel gleichmäßig ausgestrichen und anschließend die Testblättchen mittels Dispenser aufgelegt. Die Bebrütungsdauer und Bebrütungstemperatur richtet sich nach den zu testenden Keimen und kann sehr unterschiedlich sein. Diese Angaben sind den jeweiligen Standards, z.B. CLSI für die verschiedenen Keime zu entnehmen.

Bei der Auswertung werden die Hemmhöfe als klare Flächen ohne Bakterienwachstum mit dem bloßen Auge wahrgenommen. Der Durchmesser der Hemmhöfe in Millimeter wird mit einem Lineal oder Messschieber quantitativ erfasst und die qualitative Beurteilung der Bakterien als resistent, intermediär oder sensibel erfolgt durch den Abgleich der gemessenen Hemmhofdurchmesser (HHD) mit den klinischen Grenzwerten gemäß den Vorgaben des Clinical Laboratory Standards Institutes (CLSI). Allerdings sind die klinischen Grenzwerte nur anwendbar, wenn die Empfindlichkeitsprüfung auch nach den Vorgaben der CLSI durchgeführt wurde.

Dilutionsverfahren

Reihenverdünnungstest: Der Test erfolgt heutzutage automatisiert als Mikrodilution. Dazu wird eine 96-Loch Platte mit Nährbouillon befüllt und der zu untersuchende Erreger sowie das Antibiotikum in absteigender Konzentration zugesetzt. Nach der Inkubationszeit wird das Bakterienwachstum abgelesen und die niedrigste wachstumshemmende Konzentration stellt die MHK dar.
Agar - Verdünnungstest: Die Empfindlichkeitsprüfung erfolgt mithilfe fester Nährmedien, in welche der jeweilige Wirkstoff in unterschiedlichen Verdünnungen bereits eingegossen ist und die Bakterien punktförmig oberflächlich aufgetragen werden. Wie beim Reihenverdünnungstest wird das Bakterienwachstum nach 24-stündiger Inkubation abgelesen und die niedrigste wachstumshemmende Konzentration stellt die MHK dar.

Epsilometertest

Der Streifen wird auf eine Bakterienkultur gelegt, die als Bakterienrasen ausgestrichen ist. Diese wird dann meist bei 37 °C für 24 Stunden inkubiert. Dabei diffundiert das Antibiotikum in den Agar und hemmt in einer bestimmten Zone das Bakterienwachstum. Anhand von Hemmzone und Graduierungen lässt sich die MHK ablesen.

Korrelation zwischen Dilutions- und Diffusionsverfahren

Die unterschiedlichen Maßeinheiten erlauben keinen direkten Vergleich von Hemmhofdurchmessern und MHK-Werten, die Errechnung einer Korrelation ist hingegen möglich und kann sinnvoll sein. Dazu werden zahlreiche Bakterienstämme in beiden Methoden getestet und die Messergebnisse einer Regressionsanalyse unterzogen. Über die Regressionsgeraden lassen sich dann Rückschlusse vom Hemmhofdurchmesser auf die MHK machen, die aber immer nur Speziesspezifisch gelten.

6. Interpretation

Zur Bewertung der HHD- und MHK-Werte gibt es grundsätzlich zwei unterschiedliche Typen von Interpretationskriterien:

- die klinischen Grenzwerte, bei denen die In-vitro-Ergebnisse ins Verhältnis zu den im Tier/Organsystem erreichbaren Wirkstoffkonzentrationen gesetzt werden (siehe Tabelle 1) und
- die epidemiologischen Cut-off-Werte, die anhand der Verteilung der Mikroorganismenpopulation eines Erregers ermittelt werden.

Die epidemiologischen Cut-Off-Werte erlauben eine Vergleichbarkeit von Daten zur Verteilung von MHK- und HHD-Werten und deren zeitlichen und regionalen Veränderungen und können damit auch zur Erkennung von Änderungen der Empfindlichkeitslage herangezogen werden. Sie sind aber nicht für die Beurteilung von Isolaten im Hinblick auf eine mögliche Therapie des Einzelfalls geeignet (Schwarz et al., 2014)[11].

Klinische Grenzwerte erlauben dagegen Rückschlüsse darauf, welche Wirkstoffe für die Behandlung der jeweiligen Erkrankung in Betracht kommen und welche nicht. Für einige wenige Wirkstoffe sind veterinärspezifische Grenzwerte für die einzelnen Tierarten, Erkrankungen und Bakterienspezies in den Dokumenten des Clinical Laboratory Standards Institutes (CLSI)[12] enthalten. Die Beurteilung der Bakterien als resistent (R), intermediär (I) oder sensibel (S) erfolgt in diesen Fällen durch Abgleich der gemessenen Hemmhofdurchmesser (HHD) bzw. der ermittelten MHK-Werte mit den klinischen Grenzwerten gemäß den Vorgaben des CLSI. Hierbei ist zu beachten, dass eine Übertragung der Interpretationskriterien auf andere Tierarten und Organsysteme nicht vorgenommen werden kann.. Wichtig zu beachten ist des Weiteren, dass die Durchführung des Tests und Beurteilung des Ergebnisses jeweils nach derselben Norm erfolgen müssen. Abweichungen in der Durchführung, z.B. Verwendung abweichender Medien, Inokulum, Bebrütungs-temperatur oder -dauer, führen darüber hinaus zur Verfälschung des Ergebnisses und müssen vermieden werden.

Da veterinärspezifische Grenzwerte nicht für alle Erreger/Organsysteme/Tierarten zur Verfügung stehen, wird hilfsweise zum Teil auf humanmedizinische Grenzwerte oder Empfehlungen des Herstellers zurückgegriffen (Kaspar et al., 2014 u. BVL-Fachmeldung, 2018)[13,14]. Stehen spezifische Grenzwerte nicht zur Verfügung, ist die Einstufung als resistent (R), intermediär (I) oder sensibel (S) alleinig auf Basis der In-vitro-Empfindlichkeitsprüfung nicht möglich. In diesen Fällen könnten ggf. Angaben zur Verteilung (Pharmakokinetik) in den jeweiligen Organsystemen für die Entscheidung über die Auswahl eines Medikamentes mit herangezogen werden.

[11]Schwarz S, Feßler AT, Kaspar H, Werckenthin C, Wallmann J (2014): Empfindlichkeitsprüfung von Bakterien im diagnostischen Labor, Der praktische Tierarzt, 95 (Suppl 5), 18 - 22

[12] CLSI (2018): Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals. 4th ed. CLSI supplement VET08. Wayne, PA:, USA 2018.

[13]Kaspar H, (2014): Nationales Resistenzmonitoring tierpathogener Erreger, Der praktische Tierarzt, 95 (Suppl 5), 23 -29

[14]BVL-Fachmeldung (2018): Hinweise zur Neufassung der Verordnung über tierärztliche Hausapotheken (TÄHAV), unter: https://www.bvl.bund.de (abgerufen am 26.10.2018)

In den von vielen Laboren verwendeten und den vom DVG Arbeitskreis Antibiotikaresistenz empfohlenen Mikrotiterplattenlayouts (Feßler et al., 2017)[15] für

die Mikrodilution wird aus Gründen der Arbeits- und Kostenersparnis bei vergleichbarem Resistenzverhalten (bekannte Kreuzresistenz) und anderen möglichen Rückschlüssen häufig nur ein Vertreter einer Wirkstoffklasse untersucht (Stellvertretersubstanz). Entsprechende Hinweise finden sich auch in den CLSI-Dokumenten. Es wird empfohlen, in diesen Fällen auf Übertragbarkeit des Ergebnisses auf verwandte Stoffe hinzuweisen („gilt auch für“).

[15]Feßler A T et al (2017): Mikrotiterplattenlayouts für Kleintiere, Großtiere und Mastitis Aktualisierung der Layouts des DVG-Arbeitskreises „Antibiotikaresistenz“, DTBL 2017; 65 (4): 472-481

7. Dokumentation

Mit der zweiten Änderung der Tierärztlichen Hausapothekenverordnung (TÄHAV)[16] wurden Vorgaben für die Dokumentation gemacht. Diese umfassen auch Dokumentationspflichten zu den durchgeführten Antibiogrammen, die nachfolgend zusammengefasst sind.

Im Falle der Probennahme, Isolierung von bakteriellen Erregern und Untersuchung ihrer Empfindlichkeit gegenüber Stoffen mit antibakterieller Wirkung nach § 12d Satz 1 TÄHAV ist vom Tierarzt ein Nachweis zu führen, der folgende Angaben enthalten muss:

1. Datum der Probennahme
2. Name und Anschrift des Tierhalters, Identität der beprobten Tiere und Probenmatrix,
3. Bezeichnung des verwendeten Tests,
4. Datum von Untersuchungsbeginn und -ende,
5. Befund: quantitatives Ergebnis und qualitative Bewertung der Empfindlichkeitstestung.

Im Verordnungstext ist grundsätzlich die Ausnahme vorgesehen, dass kein Antibiogramm durchzuführen ist (§ 12 c Satz 2), wenn nach dem Stand der veterinärmedizinischen Wissenschaft

- die Probennahme mit der Gefahr einer zusätzlichen Beeinträchtigung des Gesundheitszustandes des zu behandelnden Tieres verbunden wäre,
- der Erreger nicht mittels zellfreier künstlicher Medien kultiviert werden kann, oder
- für die Bestimmung der Empfindlichkeit des Erregers keine geeignete Methode verfügbar ist.

In diesen Fällen ist durch den Tierarzt aber auch ein Nachweis mit den Gründen, warum ein Antibiogramm nicht erstellt worden ist, zu dokumentieren. Die Nachweise sind vom Tierarzt in übersichtlicher und allgemein verständlicher Form zu führen, mindestens fünf Jahre ab dem Zeitpunkt ihrer Erstellung aufzubewahren und der zuständigen Behörde auf Verlangen vorzulegen.

Nachweise können auch als elektronisches Dokument geführt und aufbewahrt werden. Bei der Aufbewahrung der Nachweise als elektronisches Dokument muss sichergestellt sein, dass die Daten während der Aufbewahrungszeit jederzeit lesbar gemacht werden können und unveränderlich sind. Die Dokumentation ist den Behörden zeitlich geordnet zur Verfügung zu stellen.

[16] Zweite Änderungsverordnung der Tierärztlichen Hausapothekenverordnung, Bundesgesetzblatt Jahrgang 2018 Teil I Nr. 7, ausgegeben zu Bonn am 28. Februar 2018

8. Ausblick

Gerade hinsichtlich des neuerlich verordnungsbedingt gewachsenen Stellenwertes von Erregeridentifizierung und Empfindlichkeitsprüfung erscheint es sinnhaft, die zahllosen Lücken in der Verfügbarkeit von standardisierten Durchführungsmethoden und Beurteilungskriterien zu minimieren, um so dem Praktiker eine sinnvolle und handhabbare Vorgehensweise zu ermöglichen.

Stand: 01.07.2019

Bundesverband für Tiergesundheit e.V.
Schwertberger Str. 14
53177 Bonn
Tel.: 0228-318296
Fax: 0228-318298
E-Mail: bft@bft-online.de

9. Quellenverzeichnis

AVID Methodensammlung, Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft (DVG) (unter Aktualisierung)

Biostoffverordnung vom 15. Juli 2013 (BGBl. I S. 2514). Zuletzt geändert durch Artikel 146 des Gesetzes vom 29. März 2017 (BGBl. I S. 626) sowie TRBA 260 (Schutzmaßnahmen bei Tätigkeiten mit biologischen Arbeitsstoffen in der Veterinärmedizin und bei vergleichbaren Tätigkeiten) und TRBA 100 (Schutzmaßnahmen für Tätigkeiten mit biologischen Arbeitsstoffen in Laboratorien)

BVL-Fachmeldung (2018): Hinweise zur Neufassung der Verordnung über tierärztliche Hausapotheken (TÄHAV), unter: https://www.bvl.bund.de (abgerufen am 26.10.2018)

CLSI VET01S 3rd ed.: Zitiert nach GERMVET BVL-Report 11.5, Berichte zu Resistenzmonitoringstudien 2014 u. 2015, Resistenzsituation bei klinisch wichtigen tierpathogenen Bakterien

CLSI (2018): Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals. 4th ed. CLSI supplement VET08. Wayne, PA:, USA 2018.

Waldmann K-H et al (2018): DVG Leitlinien zur Probengewinnung für die bakteriologische Diagnostik beim Schwein, Rind, Geflügel und Fisch, DTBl. 2018, 66 (12)

DVG Leitlinien Entnahme von Milchproben unter antiseptischen Bedingungen und Isolierung und Identifizierung von Mastitiserregern, 2. Auflage Gießen, Juni 2009

Feßler A T et al (2017): Mikrotiterplattenlayouts für Kleintiere, Großtiere und Mastitis Aktualisierung der Layouts des DVG-Arbeitskreises „Antibiotikaresistenz“, DTBL 2017; 65 (4): 472-481

Grosse Beilage et al. (2013): Diagnostik, Prophylaxe und Therapie von Atemwegserkrankungen in Schweinebeständen. In: Grosse Beilage und Wendt (Hrsg.): Diagnostik und Gesundheitsmanagement im Schweinebestand, Band 1.

Hillier et al (2014): Guidelines Canine Superficial Bacterial Folliculitis, Vet Dermatol 25: 163-177

Infektionsschutzgesetz vom 20. Juli 2000 (BGBl. I S. 1045). Zuletzt geändert durch Artikel 1 des Gesetzes vom 17. Juli 2017 (BGBl. I S. 2615)

Johnson, C. C. (1996): In vitro testing: correlations of bacterial susceptibility, body fluid levels and effectiveness of antibacterial therapy. Antibiotics in Laboratory Medicine. W. Wilkins.Maryland, USA, Lorian V. 4th edn.: 813-834.

Kaspar H, (2014): Nationales Resistenzmonitoring tierpathogener Erreger, Der praktische Tierarzt, 95 (Suppl 5), 23 - 29

Kraft, Dürr (2006): Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin. Bakteriologie. 6. Aufl., Schattauer Verlag

Lappin et al (2017): Guidelines Respiratory Tract Disease in Dogs and Cats, JVIM 31: 279-294; Weese et al (2011): Guidelines Urinary Tract Disease in Dogs and Cats, Research Veterinary Medicine International Vol 2011, Hindawi

Normensammlung „Medizinische Mikrobiologie und Immunologie“ (DIN 12950 und DIN 58956.(Neu: DIN EN 12469:2000) und DIN 58956 (Neu: DIN EN 12128:1998-05)

Ritzmann et al. (2013): Diagnostik, Prophylaxe und Therapie von Skelett- und Gliedmaßenerkrankungen in Schweinebeständen. In: Grosse Beilage und Wendt (Hrsg.): Diagnostik und Gesundheitsmanagement im Schweinebestand, Band 1.

Schwarz S, Feßler A T, Kaspar H, Werckenthin C, Wallmann J (2014). Empfindlichkeitsprüfung von Bakterien im diagnostischen Labor. Der Praktische Tierarzt, 95 (Suppl. 5), 18–22.

Thacker und Minion (2012): Mycoplasmosis. In: Zimmerman et. al. (Hrsg.) - Diseases of Swine 10th Edition

Verordnung über das Arbeiten mit Tierseuchenerregern (Tierseuchenerreger-Verordnung), 25. November 1985 (BGBl. I S. 2123). Zuletzt geändert durch Artikel 8 der Verordnung vom 17. April 2014 (BGBl. I S. 388)

Wendt et al. (2013): Diagnostik, Prophylaxe und Therapie von Erkrankungen des Verdauungstraktes Schweinebeständen. In: Grosse Beilage und Wendt (Hrsg.): Diagnostik und Gesundheitsmanagement im Schweinebestand, Band 1

Zweite Änderungsverordnung der Tierärztlichen Hausapothekenverordnung, Bundesgesetzblatt Jahrgang 2018 Teil I Nr. 7, 28. Februar 2018

10. Anhang

Tabelle 1: MHK-Grenzwerte für veterinärpathogene Bakterien nach CLSI VET01S 3rd ed.[17] Weitere Grenzwerte verfügbar unter http://vet01s.edaptivedocs.info/Login.aspx und auf der Webseite des Arbeitskreises Antibiotikaresistenz der DVG e.V. (http://antibiotikaresistenz.dvg.net/index.php?id=1918)

MHK-Grenzwerte [mg/L]					
Wirkstoff	**Tierart/ Bakterienspezies**	**empfindlich (S)**	**intermediär (I)**	**resistent (R)**	**Anmerkung**
Ampicillin	*Enterobacteriaceae* *Enterococcus spp.*	≤ 8 ≤ 8	16	≥ 32 ≥ 16	
	Hund				
	S. pseudintermedius	≤ 0,25		≥ 0,5	Haut- und Weichteilinfektionen
	E. coli	≤ 8			Harnwegsinfektionen
	Schwein				
	APP *B. bronchiseptica* *S. suis*	≤ 0,5	1	≥ 2	respiratorische Erkrankungen
Amoxicillin/ Clavulansäure	*Enterobacteriaceae*	≤ 8/4	16/8	≥ 32/16	
	Hund				
	E. coli	≤ 8/4			Infektionen des Urogenitaltraktes
	Staphylococcus spp.	≤ 0,25/0,12	0,5/0,25	≥ 1/0,5	Haut- und Weichteilinfektionen
	Katze				
	E. coli	≤ 0,25/0,12	0,5/0,25	≥ 1/0,5	Infektionen des Urogenitaltraktes

[17] Zitiert nach GERMVET BVL-Report · 11.5, Berichte zu den Resistenzmonitoringstudien 2014 und 2015, Resistenzsituation bei klinisch wichtigen tierpathogenen Bakterien

Tabellen 2.1: Übersicht zur Probennahme beim Kleintier (Hund und Katze)

Organ	Probennahme	Erwartete Erreger	Nachweis-methode	Antibiogramm (Routine-diagnostisk)	Probennahme ohne tiefe Sedation oder Anästhesie	Kommentar
Haut						
Oberflächliche Pyodermie	Sekret aus intakter Pustel bevorzugt; Rand einer Collerette; unter Krusten aus exsudativen Läsionen	*Staph. pseudintermedius*, *Strept. canis*, *S. aureus*, *Ps. aeruginosa*, *Proteus spp.*, *Pasteurella spp.*	Kultur	Ja	Ja	
Tiefe Pyodermie	Feinnadel-Aspiration aus Tiefe der Hautläsion oder von Biopsie		Kultur	Ja	Nein	Tiefe Pyodermie: Oberflächendesinfektion vor Probennahme
Infizierte Wunden / Abszesse	Exudative Läsionen; von Biopsie oder Abszessmembran		Kultur	Ja	Ja	
Otitis externa **Otitis media**	Vertikaler Anteil; horizontaler Anteil und Bulla (ggf. Myringotomie erforderlich)	*Malassezia pachy-dermatis* zusätzlich (gemäß Zytologie)	Kultur	Ja	Ja Nein	Horizontaler Gehörgang: Sedation und ggf. Videootoskopie erforderlich.
Gelenke & Knochen						
Osteomyelitis und post-chirurgische Infektionen	Biopsie oder infiziertes Implantat beproben; Ultraschall-geführte Feinnadelaspiration	Staphylokokken, Strepto-kokken, Enterokokken, Enterobacteriaceae	Kultur	Ja	ggf. Nein	Biopsie nur bei schweren Osteomyelitiden
Septische Arthritis	Sterile Aspiration (Gelenkflüssigkeit); optional Biopsie der Gelenkkapsel		Blutkultur	Ja/Nein	Ja	Bei Borrelien-Verdacht: PCR
Peridontale Infektionen	I.d.R. nicht erforderlich	Anaerobier häufig zusätzlich	Kultur	Ja/Nein	Nein	Nur im Falle von schweren Osteomyelitiden ist eine chirurgische Biopsie erforderlich.

Kleintier-Erreger, die einer Kultivierung nur schwer zugänglich sind oder sich entziehen: Anaplasmen, Bartonellen, Borrelien, Chlamydien, Ehrlichien, Helicobacter spp., Mycoplasmen, Leptospiren, Mykobakterien, Rickettsien.

Tabellen 2.2: Übersicht zur Probennahme beim Kleintier (Hund und Katze)

Organ	Probennahme	Erwartete Erreger	Nachweis-methode	Antibiogramm (Routine-diagnostisk)	Probennahme ohne tiefe Sedation oder Anästhesie	Kommentar
Urogenitalsystem						
Unkomplizierte/kom-plizierte Zystitis (Urin)	Spontanharn (Mittelstrahl), Katheter, Zystozentese (bevorzugt)	Enterobacteriaceae Staphylokokken, Streptokokken, *Pseudomonas spp.* Pasteurellen, Enterokokken	Kultur	Ja	Ja	
Mastitis	Milchprobe direkt oder durch Aspiration aus Drüsenviertel		Kultur	Ja	Ja	
Endometritis / Pyo-metra und Vaginitis	Transcervikale Probe (Uterus) oder per Tupfer vor Cervix (via Spekulum)		Kultur	Ja	Ja	
Prostatitis	Sekret per aseptisch platziertem Harnkatheter unter Prostata oder per Ultraschall-gestützter Punktion		Kultur	Ja	Ja/Nein	Prostatamassage zur Sekretgewinnung. Ggf. Sedation erforderlich.
Digestivtrakt	Faeces	Enterobacteriaceae, Clostridien, *Salmonella spp*.	Kultur	Ja	Ja	Schnelle Kühlung erforderlich (4°C); Testung innerhalb von 24h notwendig.
Augen						
Konjunktivitis & Keratitis	Tupfer aus Konjunktivalsack	Staphylokokken, Streptokokken, Pasteurellen, Bordetellen, Pseudomonaden	Kultur	Ja	Ja	PCR für Chlamydien u/o Mykoplasmen. Bei Uveitiden sind bakterielle Tupfer nicht sinnvoll.

Kleintier-Erreger, die einer Kultivierung nur schwer zugänglich sind oder sich entziehen: Anaplasmen, Bartonellen, Borrelien, Chlamydien, Ehrlichien, Helicobacter spp., Mycoplasmen, Leptospiren, Mykobakterien, Rickettsien.

Tabellen 2.3: Übersicht zur Probennahme beim Kleintier (Hund und Katze)

Organ	Probennahme	Erwartete Erreger	Nachweis-methode	Antibiogramm (Routine-diagnostisk)	Probennahme ohne tiefe Sedation oder Anästhesie	Kommentar
Respirationstrakt						
Rhinitis / oberer Respirationstrakt	Nasale Biopsie oder tiefes nasales flushing/brushing	Pasteurellen (*P. multocida*), Staphylokokken (*S. pseudintermedius*), Streptokokken, Bordetellen (*B. bronchisepticum*), *E. coli*; *S. equi subspecies zooepidermicus*	Kultur	Ja	Nein	Nasale Tupfer/Sekret als Probe werden nicht empfohlen. Pilzkulturen bei nasalen Biopsien mit Verdacht. Bei Mykoplasmen-Verdacht PCR
Tracheobronchitis (Hund) & Pneumonie	Bronchoalveoläre Lavage (blind oder endoskopisch); ggf. transtracheal wash		Kultur	Ja	Nein	Bei V.a. Mykoplasmen oder Bordetellen mit PCR
Pyothorax	Pleuralflüssigkeit (Thorakozentese)		Kultur/Blut-kultur	Ja/Nein	Ja/Nein	bei Verdacht Anaerobier-Kultur; häufig sind Enterobacteriaceae beteiligt (Mischinfektionen)
Andere						
Sepsis (bak. Endokarditis, Bakteriämie)	Blutprobe	Streptokokken, *Pasteurella spp.*, *E. coli*, *Haemophilus felis*, *Nocardia asteroides*, *Bacteroides spp.*	Blutkultur	Ja	Ja	2-3 Blutproben an unterschiedlicher Stelle entnehmen.
Septische Peritonitis	Abdominalflüssigkeit (Parazentese); nekrotisches Material (Chirurgie)		Blutkultur	Ja	Ja/Nein	Blutkultur (nekrotisches Material). Anaerobier-Kultur zusätzlich empfohlen. Mykoplasmen-PCR.

Kleintier-Erreger, die einer Kultivierung nur schwer zugänglich sind oder sich entziehen*:* Anaplasmen, Bartonellen, Borrelien, Chlamydien, Ehrlichien, Helicobacter spp., Mycoplasmen, Leptospiren, Mykobakterien, Rickettsien.

Literatur zu Tabelle 2.1 – 2.3.:

Kraft, Dürr (2006): Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin. Bakteriologie. 6. Aufl., Schattauer Verlag ;
Hillier et al (2014): Guidelines Canine Superficial Bacterial Folliculitis, Vet Dermatol 25: 163-177;
Lappin et al (2017): Guidelines Respiratory Tract Disease in Dogs and Cats, JVIM 31: 279-294;
Weese et al (2011): Guidelines Urinary Tract Disease in Dogs and Cats, Research Veterinary Medicine International Vol 2011, Hindawi

Tabelle 3: Übersicht zur Probennahme beim Schwein

Organ/ Erkrankung	Probenmaterial	Erwarteter/ nachzuweisender Erreger	Nachweis-methode	Antibiogramm (Routine-diganostik)	Probenentnahme ohne Tötung/Sektion des	Probenentnahme ohna Allgemeinanästhesi	Kommentar
Respirationstrakt							
Enzootische Pneumonie	Lungengewebe, BAL Flüssigkeit, (Nasentupfer)	*Mycoplasma hyopneumoniae*	PCR, Immunhistochemie (IHC)	nein	ja	(nein)	Kulturelle Anzucht in der Routinediagnostik nicht möglich. Kultur ist häufig falsch negativ und wird schnell überwuchert (*M.hyorhinis*)[1]. Zudem ist Anzucht sehr langwierig (Wochen)[1].
Aktinobazillus-Pleuropneumoniae	Lungengewebe, (BAL Flüssigkeit)	*Actinobacillus pleuropneumoniae*	Kultur, PCR	ja	(ja)	nein	Nachweis aus der BAL Flüssigkeit unzuverlässig[2].
Progressive rhinitis atrophicans	Nasentupfer	*Pasteurella multocida* (Toxin bildend)	Kultur und/oder PCR	ja	ja	ja	
Seröse Häute (Respirationstrakt)							
Glässersche Krankheit	Tupfer von serösen Häuten, Gehirn, (Gelenkpunktat)	*Hämophilus parasuis*	PCR, Kultur	ja	(nein)	nein	Der Erregernachweis muss aus den veränderten Geweben/Organen erfolgen (Pleura, Peritoneum usw.), Nachweis aus Gelenkpunktaten unzuverlässig[3].
Mykopasmen Polyserositis	Tupfer von serösen Häuten, Gelenkpunktat	*Mycoplasma hyorhinis*	PCR, Kultur	?	(ja)	nein	Je nach Symptomatik ist evtl. eine Tötung des Tieres notwendig (Serosatupfer)

Organ/ Erkrankung	Probenmaterial	Erwarteter/ nachzuweisender Erreger	Nachweis-methode	Antibiogramm (Routine-diganostik)	Probenentnahme ohne Tötung/Sektion des	Probenentnahme ohna Allgemeinanästhesi	Kommentar
Verdauungstrakt							
E.coli Infektion des Saugferkels	Kotproben, Dünndarm	*Escherichia coli* (spezifische Virulenzfaktoren)	Kultur (weitere Typisierung)	ja	ja	ja	für Diagnostik weitere Bestimmung der Virulenzfaktoren erforderlich (Toxine etc.)
E.coli Diarrhoe bei Absetzferkeln	Kotproben, Dünndarm	*Escherichia coli* (spezifische Virulenzfaktoren)	Kultur (weitere Typisierung)	ja	ja	ja	für Diagnostik weitere Bestimmung der Virulenzfaktoren erforderlich (Toxine etc.)
Nekrotisierende Enteritits der Saugferkel	Kotproben, Jejunum/Ileum	*C.perfringes* Typ C	Kultur (weitere Typisierung)	ja	ja	ja	für Diagnostik weitere Bestimmung der Virulenzfaktoren erforderlich (Toxine etc.)
C. perfringes Typ A Infektion	Kotproben, Darm	*C.perfringes* Typ A	Kultur (weitere Typisierung)	ja	ja	ja	für Diagnostik weitere Bestimmung der Virulenzfaktoren erforderlich (Toxine etc.)
Porzine proliferative Enteropathie (PIA, PHE, Ileitis)	Kotproben, Ileum, Zäkum, Colon	*Lawsonia intracellularis*	PCR,IFT,Immunhisto-chemie (IHC)	nein	ja	ja	bei nicht akut erkrankten Tieren scheidet oft nur ein Teil der Tiere in der Gruppe L.intracellularis aus[4]
Dysenterie	Kotproben, Darm	*Brachyspira hyodysenteriae*	PCR, Kultur	ja	ja	ja	Untersuchung von Darmmaterial ist sensitiver als die Untersuchung von Kotproben[4]
Spirochäten Diarrhoe	Kotproben, Darm	*Brachyspira pilosicoli*	PCR, Kultur	ja	ja	ja	Untersuchung von Darmmaterial ist sensitiver als die Untersuchung von Kotproben[4]
Salmonellose	Kotproben, Dickdarm	*Salmonella typhimurium, (Salmonella choleraesuis)*	Kultur	ja	ja	ja	

Quellen zu Tabelle 3:

1: Thacker und Minion (2012): Mycoplasmosis. In: Zimmerman et. al. (Hrsg.) - Diseases of Swine 10th Edition

2: Grosse Beilage et al. (2013): Diagnostik, Prophylaxe und Therapie von Atemwegserkrankungen in Schweinebeständen. In: Grosse Beilage und Wendt (Hrsg.): Diagnostik und Gesundheitsmanagement im Schweinebestand, Band 1.

3: Ritzmann et al. (2013): Diagnostik, Prophylaxe und Therapie von Skelett- und Gliedmaßenerkrankungen in Schweinebeständen. In: Grosse Beilage und Wendt (Hrsg.): Diagnostik und Gesundheitsmanagement im Schweinebestand, Band 1.

4: Wendt et al. (2013): Diagnostik, Prophylaxe und Therapie von Erkrankungen des Verdauungstraktes Schweinebeständen. In: Grosse Beilage und Wendt (Hrsg.): Diagnostik und Gesundheitsmanagement im Schweinebestand, Band 1.

Tabelle 4: Übersicht zur Probennahme beim Rind

Organ/ Erkrankung	Proben-material	Nachzuweisen-der Erreger	Nachweis-methode	Antibiogramm in der Routinediagnostik	Probenentnahme ohne Allgemeinanästhesi	Kommentar
Milchdrüse						
Mastitis	Viertelanfangsgemelk	euterpathogene Erreger wie Streptokokken-, Staphylokokkenspezies	Kultur, PCR	ja	ja	Anrüsten des Euters, Reinigung und Desinfektion der Zitze, Verwerfen der ersten Milchstrahlen, dann Gewinnung von ca. 10 ml
		Mykoplasmen	Kultur, PCR	nein	ja	Für kulturelle Untersuchung geeignetes Transportmedium zufügen
	Viertelendgemelk	Hefen, *Staph. aureus*	Kultur, PCR	ja	ja	Nach Abnahme des Melkzeugs Reinigung und Desinfektion der Zitze, 10 ml
Respirationstrakt						
Bovine Respiratory Disease (BRD)	tiefer Nasentupfer oder Transtracheal-spülprobe	Virale Erreger (BRSV, PI-3, BHV 1, BVDV) und bakterielle Erreger (*P. multocida, M. haemolytica, H. somni,* Mykoplasmen)	PCR Kultur	nicht zutreffend ja	ja bzw. Sedation, Lokalanästhesie	Je nach Untersuchungszeitpunkt im Krankheitsverlauf können virale oder bakterielle Erreger nachgewiesen werden.

Urogenitalsystem						
Endometritis	Tupferprobe	Bakterielle Erreger	Kultur, PCR	Ja	Ja	Einmaltupfer mit Kunststoffummantelung. Auf geeigneten Entnahmezeitpunkt achten (Abstand zu evtl. Vorbehandlung, oft kein Erregernachweis bei chronischen Metritiden); bei Verdacht auf Anaerobier geeignetes Transportmedium wählen
Genitalinfektionen Bulle	Präputialspülprobe	*Campylobacter spp.*, *Tritrichomonas foetus*, Mykoplasmen	Kultur, PCR	nein	Ja	Spezielle Medien notwendig!
Harnwegsinfektion	Weibl. Tiere: Katheterharn Männl. Tiere: Mittelstrahlurin	Bakterielle Erreger Leptospiren	Kultur, PCR PCR	Ja nicht zutreffend	Ja ja	Katheterharn möglichst steril gewinnen; Mittelstrahlurin nach gründlicher Reinigung der Präputialhaare Bei chronischer Leptospirose
Verdauungstrakt	Kotprobe	Viren (z. B. Rota-, Corona-) Bakterien (z. B. ETEC, Salmonellen) Parasiten (z. B: Cryptosporidien, Eimerien, Magen-Darm-Strongyliden etc.)	PCR Kultur, PCR Parasitologische Untersuchung	nicht zutreffend Ja nicht zutreffend	Ja Ja Ja	Zur Verhinderung des Austrocknens auf ausreichendes Volumen achten (> 5g), Entnahme beim Einzeltier aus der Ampulla recti
Paratuberkulose	Kotprobe	*Mycobacterium avium ssp. paratuberculosis*	Kultur	nein	ja	Mind. 20 g; Anzuchtdauer mindestens 4 Wochen

Quellen zu Tabelle 4:

DVG Empfehlungen zur Probengewinnung, DTBl 2008

DVG Leitlinien Entnahme von Milchproben unter antiseptischen Bedingungen 2009 .