

Deutsches Tierärzteblatt

Zeitschrift der Bundestierärztekammer | www.bundestieraerztekammer.de

**LEITLINIEN ZUR PROBENGWINNUNG FÜR
DIE BAKTERIOLOGISCHE DIAGNOSTIK BEIM
SCHWEIN, RIND, GEFLÜGEL UND FISCH**



Leitlinien zur Probengewinnung für die bakteriologische Diagnostik beim Schwein, Rind, Geflügel und Fisch

DVG-Arbeitskreis Antibiotikaresistenz

Die gezielte Untersuchung von diagnostischem Material im Rahmen der weiterführenden Untersuchung ist zur Abklärung von unklaren klinischen Befunden sowohl bei Einzeltieren als auch bei Bestandsproblemen wichtig. Zudem ergibt sich die Notwendigkeit ätiologisch abgesicherter Diagnosen als Grundlage einer zielgerichteten antimikrobiellen Therapie auch aus den „Leitlinien für den sorgfältigen Umgang mit antimikrobiell wirksamen Tierarzneimitteln“ (BTK, 2015¹).

Eine sachgerechte Probenentnahme ist zwingende Voraussetzung für valide Ergebnisse der mikrobiologischen Diagnostik bei bakteriell bedingten Erkrankungen. Ziel der hier vorgestellten Leitlinien ist es, zur Probengewinnung und -behandlung für die bakteriologische Diagnostik einerseits allgemeine Empfehlungen zu geben und andererseits tierartspezifische Besonderheiten für praxisrelevante Untersuchungen zu berücksichtigen.

1. Allgemeines

1.1 Wahl eines adäquaten Labors

Das Leistungsspektrum von Laboratorien im Hinblick auf die bakteriologische Diagnostik ist unterschiedlich. Insbesondere beim Wunsch nach Isolierung seltener oder besonders schwierig zu kultivierender Bakterien ist zunächst ein Verantwortlicher des avisierten Labors zu kontaktieren, um Verzögerungen durch erforderliche Rücksprachen bzw. Weitersendung der Proben zu vermeiden. Dieses ist insbesondere bei der Einsendung von Proben von Fischen zu beachten. Das Labor muss mit der Untersuchung von Fischproben vertraut sein und die speziellen Anforderungen an die Inkubationstemperatur von Fischproben beachten.

1.2 Begleitschreiben/Vorbericht

Ein aussagekräftiges Begleitschreiben und ein vollständiger Vorbericht sind zwingende Voraussetzungen, um im Labor die sachlich sinnvollen Untersuchungen zu veranlassen und Befunde richtig zu interpretieren. Unnötige Analysen und Kosten werden so vermieden und Ergebnisse sind schneller verfügbar. Bei der Erhebung und Verarbeitung der Daten sind die Vorgaben der Datenschutz-Grundverordnung (EU-DSGVO²) zu beachten. Folgende Angaben sind erforderlich:

- Einsendende Praxis (ggf. verantwortlicher Tierarzt³) mit vollständiger Adresse, Telefonnummer, Fax, E-Mail,
- Tierhalter mit vollständiger Adresse,
- Angaben zum Tier bzw. Tierbestand (Tierart, Rasse, Geschlecht, Alter, Gewicht, Kennzeichnung bzw. Ohrmarke, Bestands-/Herdengröße, bei Fischproben Haltungstemperatur),
- Angaben zum Hintergrund des Problems (Zeitpunkt des Auftretens, klinische Symptome, Verlauf der Erkrankung, Morbidität, Mortalität, Letalität),
- Art und Kennzeichnung des Untersuchungsmaterials (Kot, Nasentupfer etc.),
- Datum der Probenentnahme,
- ggf. Vorbehandlungen (z. B. antibiotische Behandlungen, Impfungen) und deren Effekt,
- ggf. Verdachtsdiagnose,
- Untersuchungswunsch (Vermerk, falls Isolate aufgehoben werden sollen),
- gewünschte Adresse für den Befund und die Rechnung.

Die überwiegende Anzahl der Laboratorien bevorzugt die Verwendung eines laboreigenen Vordrucks für die Einsendung von Probenmaterial. Deshalb sollte vor dem Versand von Probenmaterial geprüft werden, ob das infrage kommende Labor eigene Formulare z. B. über dessen Website zur Verfügung stellt.

1.3 Entnahme von geeigneten Substraten

Zum eigenen Schutz und zum Schutz der Mitarbeiter sind hygienische Maßnahmen bei der Probenentnahme zu beachten. Bei Verdacht auf Beteiligung von Zoonoseerregern am Erkrankungsgeschehen sollten zusätzliche Arbeitsschutzmaßnahmen (z. B. Tragen von Schutzhandschuhen, Anlegen einer Atemmaske) während der Probenentnahme ergriffen werden. Ist dieses nicht möglich, so muss unter Umständen auf eine Probenentnahme vor Ort verzichtet und das Tier für eine weitere Diagnostik in eine Klinik oder zur Sektion verbracht werden. Der Mitarbeiterschutz hat hierbei grundsätzlich Vorrang vor möglichen wirtschaftlichen Aspekten der Probenentnahme. Die Arbeit muss stets mit sterilen Instrumenten, Geräten und Behältnissen erfolgen. Die Ergebnisse der bakteriologischen Diagnostik können nur hilfreich sein, wenn das Probenmaterial sinnvolle Untersuchungen ermöglicht. Entsprechend gilt:

- Proben sollten möglichst von lebenden, akut erkrankten und antibiotisch nicht vorbehandelten Tieren, ggf. von frisch verendeten/euthanasierten Tieren, entnommen werden. Dies erhöht entscheidend die Wahrscheinlichkeit, dass sich die für die primäre Infektion verantwortlichen Bakterien isolieren lassen und das Ergebnis des Resistenztests somit für die aktuelle Erkrankungssituation brauchbar ist. Die Probenentnahme erfolgt zunächst stets an Tieren mit typischen Symptomen oder einem entsprechenden Vorbericht (z. B. Rhinitis atrophicans, Abort). Multimorbide Kümmerer sind für die Diagnostik eines speziellen Krankheitsgeschehens ungeeignet. In Fällen von Therapieversagen kann es notwendig werden, gezielt Proben von bereits vorbehandelten und typisch erkrankten Tieren, bei denen es zu keiner Verbesserung der klinischen Symptomatik gekommen ist, für weiterführende diagnostische Untersuchungen zu entnehmen.
- In Einzelfällen (z. B. bei Verdacht auf das Vorliegen einer generellen Immunsuppression der Tiere) kann eine Entnahme von Proben von chronisch kümmernden Tieren mit multiplen Symptomen für das Durchführen von molekularbiologischen Untersuchungen sinnvoll sein. Solche Untersuchungen sollten jedoch nur im Ausnahmefall nach einer besonders gründlichen Anamneseerhebung und mit vorsichtiger Befundinterpretation erfolgen.
- Die Auswahl der zu sezierenden Tiere ist vom Tierarzt vorzunehmen und sollte nicht dem Tierhalter überlassen bleiben. Die „Verordnung zum Schutz kranker oder verletzter Tiere vor Belastungen beim Transport“⁴ ist zu beachten. Es empfiehlt sich meist, ein erkranktes Tier unmittelbar vor dem Transport zu euthanasieren. Wenn möglich sollte ggf. geeignetes Probenmaterial, wie z. B. Blutproben, beim lebenden oder frisch toten Tier entnommen werden. Auch sollte durch die Euthanasie selbst das nachfolgend vorgesehene Untersuchungsmaterial nicht zerstört oder kontaminiert werden. Abweichend davon sollten erkrankte Fische – wenn möglich – erst unmittelbar vor der Probenentnahme euthana-

¹ https://www.bundestieraerztekammer.de/tieraerzte/leitlinien//downloads/Antibiotika-Leitlinien_01-2015.pdf

² <https://dsgvo-gesetz.de/>

³ Sämtliche Personenbezeichnungen gelten für beiderlei Geschlecht

⁴ http://www.lfv-sa.de/rechtsverordnungen/TierSchTrV_v_11_Juni_1999.pdf

siert werden. Ist dies nicht möglich, sollten die Fische bis zur Probenentnahme gekühlt (nicht eingefroren) werden.

- Perakut verendete oder euthanasierte Tiere, abortierte Feten und Plazenten müssen zur Vermeidung von autolytischen Veränderungen umgehend zur Sektion transportiert werden, wobei während des Transports eine zwischenzeitliche Kühlung notwendig ist. Bei vorliegender Genehmigung zur Probenentnahme nach Tierkörperöffnung im Herkunftsbestand sollte die Probenentnahme baldmöglichst nach Verenden bzw. unmittelbar im Anschluss an die Euthanasie der Tiere erfolgen. Bereits in Fäulnis übergegangene oder gefrorene Tierkörper sind für bakteriologische Untersuchungen ungeeignet. Der Probennehmer sollte für den Zweck geeignete Schutzkleidung tragen. Bei der Probenentnahme ist jegliche Verunreinigung der Probe zu vermeiden. Das Probengefäß sowie die zur Probenentnahme verwendeten Materialien und Instrumente müssen zum Zeitpunkt der Entnahme steril sein. Eventuell zuvor verwendete Instrumente/Materialien (z. B. im Rahmen der Öffnung des Tierkörpers oder für die Reinigung von Probenentnahmelokalisationen) müssen ausgetauscht werden, um eine Kontamination der Probe zu vermeiden.
- Ist das Probenmaterial nicht als prinzipiell keimfrei anzusehen (wie dies z. B. bei Milch und Zystozenteseurin der Fall ist), sondern weist Bakterien der „Normalflora“ (d. h. physiologische Mikrobiota) auf, ist besonderer Wert auf die Beurteilung der Befunde (Menge der isolierten Erreger im Verhältnis zur Entnahmetechnik, evtl. Nachweis von Virulenzfaktoren) zu legen. Es sollte beachtet werden, dass sich der zum Zeitpunkt der Probenentnahme vorhandene Keimstatus während des Transports zur Untersuchung verändern kann und zudem Begleitkeime die Diagnostik erschweren.
- Untersuchungen von Poolproben mehrerer Tiere (Sammelproben) gehen zu Lasten der Aussagekraft des Untersuchungsergebnisses, weil die Empfindlichkeit der Laboruntersuchung i. d. R. geringer wird und Aussagen zum Einzeltier nicht mehr getroffen werden können. Proben sollten daher grundsätzlich (wenn möglich) als Einzeltierproben gewonnen werden. Inwiefern es bei besonderen Fragestellungen (z. B. Nachweis von Salmonellen oder *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*) sinnvoll ist, diese als Mischproben zu untersuchen, ist mit dem untersuchenden Labor vorab zu klären. Im Fall von Poolproben muss der Probennehmer bereits auf eine homogene Vermengung des Probenmaterials achten.
- Für molekularbiologische Untersuchungen (z. B. PCR) sollte geeignetes Trägermaterial ohne Transportmedium verwendet werden.

1.4 Zeitpunkt der Probenentnahme

Der geeignete Zeitpunkt zur Probenentnahme ergibt sich aus der Pathogenese der jeweiligen Erkrankung, dem bisherigen Verlauf der Erkrankung sowie bisherigen Behandlungsansätzen. Folgende Aspekte gilt es zu berücksichtigen:

- Bestimmte Erreger werden nur in der akuten Phase der Erkrankung oder intermittierend ausgeschieden (z. B. Euterinfektionen mit *Streptococcus agalactiae*, Salmonellen).
- Die Entnahme von Proben zum Nachweis von schwer anzüchtbaren Erregern (z. B. Mykoplasmen, *Haemophilus* spp., *Avibacterium paragallinarum*, *Flavobacterium psychrophilum*, *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*) muss so terminiert werden, dass nach dem Transport eine unverzügliche Bearbeitung der Probe im Labor erfolgen kann (vorangehende Absprache mit dem Labor erforderlich).
- Für serologische Untersuchungen zur Diagnostik einer Erkrankung (d. h. zum Nachweis von spezifischen Antikörpern) sind ggf. zwei Serumproben (gepaarte Seren) erforderlich, die unmittelbar nach dem Auftreten erster klinischer Erscheinungen und frühestens zwei Wochen später gewonnen werden und über einen entsprechenden Anstieg des Antikörpertiters eine Infektion anzeigen.

- Gegebenenfalls bereits durchgeführte Vorbehandlungen müssen bei der Wahl des Zeitpunktes der Probenentnahme berücksichtigt, dokumentiert und dem untersuchenden Labor mitgeteilt werden.

1.5 Probenanzahl und Probenvolumen

Die Probenanzahl ergibt sich aus der jeweiligen Problemstellung in Verbindung mit der Anzahl der Tiere im Bestand bzw. der Anzahl der Tiere in der betroffenen Tiergruppe. Die Größe der zu untersuchenden Stichprobe (Anzahl der Tiere) ergibt sich dabei aus der Größe der zu untersuchenden Tiergruppe (Bestand oder betroffene Tiergruppe), der vermuteten Prävalenz des Erregers innerhalb dieser Tiergruppe sowie der angestrebten Aussagekraft der Ergebnisse (gewünschter Konfidenzbereich). Hilfestellungen für die Berechnung bzw. Tabellen mit vorberechnetem Stichprobenumfang bei bestimmten Populationsgrößen und Prävalenzen sind online verfügbar (siehe „Leitfaden zur Bestimmung der Stichprobengröße bei Untersuchungen im Tierbestand“, Friedrich-Loeffler-Institut, 2015⁵).

Soll ein Bestand auf die **Unverdächtigkeit** bezüglich einer spezifischen Erkrankung hin untersucht werden, so kann bei der Berechnung der Stichprobengröße von folgenden Prävalenzen ausgegangen werden:

- hochkontagiöse Erkrankungen: 10 Prozent,
- kontagiöse Erkrankungen: 5 Prozent,
- wenig kontagiöse Erkrankungen: 1 Prozent.

Unabhängig von der Stichprobenkalkulation wird empfohlen, für den **Ausschluss einer Infektion** mindestens 20 Tiere je Tiergruppe zu überprüfen. Generell sollte die zugrunde gelegte Prävalenz (inkl. kurzer Begründung) für die folgende Befundinterpretation dokumentiert werden.

Das Probenvolumen muss für die angestrebten Untersuchungen ausreichen; ggf. ist dies durch Rücksprache mit dem Labor vor der Probenentnahme zu klären, denn im Falle von notwendigen Mehrfachuntersuchungen – u. U. in mehreren verschiedenen Instituten – muss das Probenvolumen bereits bei der Probenentnahme größer gewählt werden.

Nach der Entnahme sind die Proben eindeutig, analog zum Begleitschreiben und dauerhaft (nicht abwischbare Beschriftung der Behältnisse) zu kennzeichnen, um das Ergebnis der Untersuchungen dem entsprechenden Tier, Stallabteil oder Teich sicher zuordnen zu können.

1.6 Verwendung von Transportmedien

Die Verwendung von geeigneten Transportmedien (**Tabelle 1**) verbessert wesentlich die Diagnostikmöglichkeiten:

- Bei kleinen Probenvolumina (z. B. Tracheobronchialsekret vom Schwein, Tupferproben von Fischgeweben) verhindert ein Transportmedium die Austrocknung der Probe.
- Bei Verdacht auf Infektionen mit schwer anzüchtbaren Bakterien (z. B. Mykoplasmen, *Haemophilus* spp., *Avibacterium paragallinarum*, *Flavobacterium psychrophilum*, *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*) lässt sich durch Verwendung eines speziellen Transportmediums eine Verdrängung dieser Erreger durch robustere Konkurrenzkeime (z. B. *Proteus* spp.) einschränken.
- Sollen Anaerobier isoliert werden, muss für diese Gruppe i. d. R. ein speziell geeignetes Transportmedium verwendet werden.
- Bei Verdacht auf Vorliegen einer Bakteriämie oder Septikämie sollten kommerziell erhältliche Blutkulturentnahmesysteme eingesetzt werden. Diese sollten nicht gekühlt gelagert werden und möglichst schnell, ebenfalls ungekühlt, versandt werden.
- Bei Proben von Fischen sind immer eine Kühlung der Proben und ein Schutz vor Licht notwendig.

Nach Möglichkeit sollte die Verwendung eines geeigneten Mediums sowie das Verhältnis von Medium zu Probenmaterial vor der Probenentnahme mit dem untersuchenden Labor abgesprochen werden.

⁵ https://www.openagrar.de/receive/openagrar_mods_00017757

Tabelle 1: Übersicht zu möglichen Abstrichbestecken (z. B. Tupfer oder Bürsten) und Transportsystemen. Bei unklarer Erregerzusammensetzung sind mehrere verschiedene Transportsysteme je Lokalisation zu verwenden (z. B. Amies- und Virus-Transportsystem bei respiratorischen Erkrankungen).

Abstrichtupfer und Transportsysteme	Ziel der Untersuchungen
Watteträger	Isolierung anspruchsloser Bakterien ohne Medium nur bei kurzen Transportzeiten; Austrocknungsgefahr beachten
Watte-/Viskosetupfer ohne Transportmedium	PCR-Untersuchungen
Amies-Medium	Für die meisten Erreger geeignet; auch für anspruchsvolle Bakterien (z. B. <i>Haemophilus</i> spp., <i>Aeromonas salmonicida</i> subsp. <i>salmonicida</i>) mit oder ohne Holzkohle als Transportsystem
Anaerobier-Transportsystem (Amies-Medium mit Redox-indikator)	Anaerobier (z. B. Wunden, Abszesse)
Chlamydien- bzw. Mykoplasmen-Transportmedium	Chlamydien und zellwandfreie Bakterien (z. B. Mykoplasmen)

1.7 Probenaufbewahrung, -verpackung und -transport

Mit wenigen Ausnahmen (z. B. Blutkultursysteme, Untersuchung von Pansenssaft auf Botulismustoxin s. u.) sollten alle Proben gekühlt (optimal bei 4°C) bis zur Untersuchung aufbewahrt bzw. versandt werden.

Alle für eine Laboruntersuchung vorgesehenen Proben sind auslauf- und bruchstabil zu verpacken. Probengefäße sind nicht ganz zu füllen, da bei Gasentwicklung andernfalls Explosionsgefahr des Behälters besteht.

Der Transport sollte in der Regel ebenfalls unter gekühlten Bedingungen erfolgen, d. h. die Proben dürfen weder Minusgrade noch Raumtemperatur erreichen. Hierzu empfehlen sich z. B. Transportbehältnisse, die auch für den Versand von Frischsperma verwendet werden. Diese sind mit Aussparungen versehen für die Aufnahme der Proben und Kühlelemente, die zuvor für mindestens 12 Stunden bei -20°C tief zu frieren sind. Die Trennwände verhindern den direkten Kontakt mit den Kühlelementen und damit das Gefrieren der Proben. Die Proben sollten innerhalb von 24 Stunden nach Entnahme noch in gekühltem Zustand im Labor eintreffen. Wenn ein direkter, unverzüglicher Transport nicht möglich ist, sollte der Versand von Tierkörpern und -teilen am besten nach Vorkühlen und in Absprache mit dem Labor erfolgen.

Für den Postversand von medizinischem und biologischem Untersuchungsgut gelten Bestimmungen, die zwingend eingehalten werden müssen (s. o.), um u. a. eine potenzielle Gefährdung des Menschen auszuschließen. Hilfreiche Hinweise finden sich in der Broschüre „Patientenproben richtig versenden – Gefahrgutrechtliche Hinweise nach ADR 2017 für Human- und Tiermedizin“ der Berufsgenossenschaft für Gesundheitsdienst und Wohlfahrtspflege⁶. Insbesondere ist für Menschen pathogenes Untersuchungsmaterial deutlich zu kennzeichnen. Der Absender trägt haftungsrechtlich die Verantwortung für die Kennzeichnung und adäquate

Verschickung von Probenmaterialien, besonders von Proben aus im Infektionsschutzgesetz aufgelisteten Krankheitsfällen, und von Erregerkulturen.

–Die Verpackung transportgefährdeter Materialien muss auf deren besondere Empfindlichkeit abgestimmt sein und muss den Inhalt der Sendungen gegen Beanspruchungen, die während der Beförderung entstehen können (u. a. Druck, Stoß, Fall, Temperatureinflüsse), sicher schützen. Dafür sind geprüfte Verpackungen im Handel verfügbar.

–Bei Sendungen von flüssigem Untersuchungsgut (Blut, Serum, Urin, Kot, in Flüssigkeit befindliche Proben usw.) ohne oder mit geringem Infektionsrisiko muss sichergestellt sein, dass durch die Verpackung keine Flüssigkeiten durchsickern können. Potenziell erregerehaltiges Material muss i. d. R. als „Biological Substance Category B UN 3373“ gekennzeichnet und nach der Verpackungsvorschrift P 650-ADR (Europäisches Übereinkommen zur Beförderung gefährlicher Güter auf der Straße, Kapitel 4.1.4 Verzeichnis der Verpackungsanweisungen⁷) verpackt sein. Da die Transportbedingungen der Transportunternehmen unterschiedlich sind, ist es erforderlich, direkte Information hierzu anzufordern (Deutsche Post⁸, TNT⁹ u. a.).

–Glas als Schutzgefäß ist unzulässig.

–Für die Versendung von Rohmilch oder Milchproben gelten gegenwärtig keine gesonderten Bestimmungen. Die allgemeinen Empfehlungen und Vorschriften sind einzuhalten.

1.8 Anzeige- und Meldepflicht, Zuständigkeiten

Hinsichtlich der Diagnostik von anzeigepflichtigen Tierseuchen und meldepflichtigen Tierkrankheiten bestehen in den einzelnen Bundesländern unterschiedliche Zuständigkeitsregelungen. Diese sind generell zu beachten.

Änderungen im Tierseuchenrecht und Listen zu anzeige- und meldepflichtigen Tierseuchen bzw. Tierkrankheiten können auf den Internetseiten des **Bundesministeriums für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL)**¹⁰ mit jeweils aktuellem Stand eingesehen werden.

Die von dort herausgegebenen „Arbeitsanleitungen zur Labordiagnostik von anzeigepflichtigen Tierseuchen“¹¹ (bei entsprechender Zugangsberechtigung siehe auch Hinweise im Tierseuchennachrichtensystem – TSN) enthalten ebenfalls Hinweise zur Probenentnahme. Ansonsten sind im OIE-Manual¹² weitere Hinweise für die Probenentnahme und Diagnostik besonderer Infektionserreger ersichtlich.

2. Empfehlungen zur Probenentnahme beim Schwein

2.1 Allgemeines

Im Allgemeinen ist bei der Entnahme von Proben im Schweinebestand zu unterscheiden, ob es sich um eine **Probenentnahme zur Diagnostik** von akut aufgetretenen Erkrankungen oder um eine **Probenentnahme im Rahmen eines routinemäßigen Monitoringprogramms** handelt. Bei einer Beprobung im Rahmen eines Monitorings muss generell von einer niedrigeren Prävalenz des Erregers in den zu untersuchenden Proben ausgegangen werden und deshalb der Stichprobenumfang erhöht werden. Dieses ist v. a. bei latenten Infektionen sowie bei intrazellulär persistierenden Erregern (z. B. *Lawsonia intracellularis*) zu beachten.

Sollen Tupferproben entnommen und anschließend mittels PCR untersucht werden, ist besonders darauf zu achten, dass nur Tupfer mit Kunststoff als Trägermaterial verwendet werden, da Holz Substanzen freisetzen kann, die zu einer Inhibition der PCR führen können.

⁶ https://www.bgw-online.de/SharedDocs/Downloads/DE/Medientypen/BGW%20Broschueren/BGW09-19-011-Patientenproben_Download.pdf?__blob=publicationFile

⁷ <https://www.bmvi.de/SharedDocs/DE/Artikel/G/Gefahrgut/gefahrgut-recht-vorschriften-strasse.html>

⁸ <https://www.deutschepost.de/de/g/gefahrgut-versenden.html>

⁹ https://www.tnt.com/express/de_de/site/home/how-to-ship-parcel/shipping-services/additional-services/dangerous-goods-services.html

¹⁰ https://www.bmel.de/DE/Tier/Tiergesundheit/Tierseuchen/tierseuchen_node.html

¹¹ Arbeitsanleitungen zur Labordiagnostik von anzeigepflichtigen Tierseuchen: nach der Verordnung über anzeigepflichtige Tierseuchen vom 23. Mai 1991 (BGBl. I S. 1178) in der jeweils geltenden Fassung (Stand: September 1999), BMELF, Referat Öffentlichkeitsarbeit, 1999 – 214 Seiten

¹² <http://www.oie.int/standard-setting/terrestrial-manual/access-online/>

Bei der Befundinterpretation ist generell zu beachten, dass die Relevanz verschiedener Erreger (z. B. *Haemophilus parasuis*, *Streptococcus suis*, *Escherichia coli*) oftmals nicht über den reinen Speziesnachweis geführt werden kann, da avirulente bzw. niedrig virulente Stämme häufig auch in der Keimflora nicht erkrankter Tiere nachzuweisen sind. In diesen Fällen ist es erforderlich, neben dem reinen Speziesnachweis auch den Nachweis spezifischer Virulenzfaktoren zu führen, um die Relevanz des nachgewiesenen Bakterienisolats am Infektionsgeschehen beurteilen zu können.

Einige Probenentnahmetechniken (z. B. bronchoalveoläre Lavage bei Absetzferkeln) sind beim Schwein nur unter Allgemeinanästhesie möglich. Bei klinisch erkrankten Tieren, v. a. bei Tieren mit Atemwegserkrankungen, muss hierbei von einem erhöhten Narkoserisiko ausgegangen werden. Zwar kann nach § 12c Abs. 2 TÄHAV¹³ von der Erstellung eines Antibiotogramms abgesehen werden, wenn die Probenentnahme mit der Gefahr einer zusätzlichen Beeinträchtigung des Gesundheitszustands des zu behandelnden Tieres verbunden ist. Jedoch muss v. a. vor dem Hintergrund der Medikation einer ganzen Tiergruppe, wie im Schweinebestand üblich, hierbei das Risiko für das Einzeltier gegen die Gruppengesundheit abgewogen und ggf. eine andere Entnahmetechnik gewählt werden.

2.2 Diagnostik von respiratorischen Erkrankungen

Für die Diagnostik respiratorischer Erkrankungen stehen verschiedenste Entnahmetechniken/Probenarten zur Verfügung. Hierzu zählen Tupferproben aus der Nasenhöhle und von den Tonsillen, Lungenspülproben (bronchoalveoläre Lavage) oder auch Lungengewebeproben, die im Rahmen einer Sektion entnommen werden können. Bei der Entnahme von Tupferproben sollten die Tupferträger vor der Verwendung leicht mit steriler physiologischer Kochsalzlösung (0,9 prozentige wässrige Natriumchlorid-Lösung) angefeuchtet werden.

Bei der Auswahl der Probenart, die für die weitere Diagnostik verwendet werden soll, ist v. a. auf die individuelle Pathogenese der verschiedenen Erkrankungen zu achten. Sollen Proben aus dem oberen Respirationstrakt (Nasentupfer, Tonsillentupfer, Speichelproben) entnommen werden, ist zu berücksichtigen, dass die Untersuchungsergebnisse dieser Proben nicht als aussagekräftig für die tiefen Atemwege angesehen werden können. Hierbei gilt es v. a. Unterschiede in der Zusammensetzung der Keimflora zwischen oberen und tiefen Atemwegen (z. B. *Haemophilus parasuis*, *Streptococcus suis*), Ausscheidungszeiten (z. B. Influenzavirus) oder Kolonisationsverhalten des Erregers (z. B. *Actinobacillus pleuropneumoniae*) zu bedenken.

Proben aus den oberen Atemwegen sind außerdem meist hochgradig mit unspezifischen Bakterienarten kontaminiert und bedürfen neben dem gekühlten Transport einer raschen Kultivierung und der Auswertung durch erfahrenes Laborpersonal.

Nasentupfer eignen sich v. a. zum Nachweis von Erkrankungen, bei denen sich der Erreger direkt in den Epithelien des oberen Respirationstraktes vermehrt (z. B. *Pasteurella multocida* Typ D, Influenzavirus). Für die Diagnostik von Lungenerkrankungen, bei denen sich der Erreger in den tiefen Atemwegen vermehrt, sind sie generell als ungeeignet anzusehen. Zur Entnahme von Nasentupferproben sind die Schweine am Kopf ohne Bewegungsspielraum zu fixieren (Verletzungsgefahr durch abbrechende Tupfer). Es sollten für die Entnahme gezielt Tiere mit vermehrtem Nasenausfluss ausgewählt werden. Sollen Nasentupfer zur Influenzadiagnostik eingesetzt werden, ist zu bedenken, dass das Influenzavirus post infectionem nur für die Dauer von 2 bis 3 Tagen ausgeschieden wird und folglich nur eine Beprobung von akut fieberhaft erkrankten Tieren sinnvoll ist. Vor jeder Entnahme von Tupferproben ist die Rüsselscheibe trocken zu reinigen, um eine zusätzliche Kontamination zu vermeiden. Es muss darauf geachtet werden, den Tupfer tief genug in den ventralen Nasengang vorzuschieben, da Tupferproben aus dem Nasenvorhof oftmals nur

eine unspezifische Keimflora aufweisen und keinen Rückschluss auf die tatsächlich nasal vorhandenen Erreger zulassen. Ein zu tiefes Vorschieben kann jedoch zu Verletzungen des Siebbeins führen. Der Tupfer sollte für mind. 10 Sekunden mit leicht drehenden Bewegungen in der Nase verbleiben, um genügend Sekret aufnehmen zu können.

Tonsillentupfer/-kratzenproben (Nachweis von z. B. *Pasteurella multocida* Typ D) können nach Fixation und Einführen eines mit einer Lichtquelle versehenen Maulkeils auch am wachen Tier sicher entnommen werden. Insbesondere bei der Entnahme von Tonsillenkratzenproben ist es wichtig, keine tiefgehenden Verletzungen im Rachenbereich der Tiere zu setzen. Bei der Auswertung sind die allgemeinen Hinweise zu Proben aus dem oberen Respirationstrakt zu beachten.

Für die Entnahme von **Trachealtupfern und Lungenspülproben** (bronchoalveoläre Lavage – BAL) sind verschiedene Entnahmetechniken etabliert. Bei der BAL kann man generell zwischen der transoralen, der transnasalen und der transtrachealen Lavage unterscheiden. Bei jeder der verschiedenen Methoden gilt es, unterschiedliche Vorteile und Risiken zu bedenken. So ist bei der transoralen und transnasalen Lavage mit einer stärkeren Kontamination durch Kommensalen zu rechnen, wohingegen das Verletzungsrisiko für das Tier bei der transtrachealen Lavage als höher einzustufen ist. Des Weiteren können die transorale und die transnasale Lavage, im Gegensatz zur transtrachealen Lavage, auch bei Tieren mit einem Körpergewicht von über 40 kg durchgeführt werden. Während die transtracheale Lavage immer unter Allgemeinanästhesie der Tiere vorgenommen werden muss, gelingen die transnasale und die transorale Lavage (transoral bei Tieren über 80 kg) auch am wachen Tier nach ausreichender Fixation. Von einer transoralen Lavage ohne Allgemeinanästhesie bei Tieren unter 80 kg Körpergewicht ist abzuraten. Bei BAL-Proben für die Diagnostik können lediglich 60–70 Prozent von der verwendeten Spülflüssigkeit (sterile, physiologische Kochsalzlösung oder sterile PBS-Lösung) zurückgewonnen werden, von denen nur etwa 1–2 Prozent aus der Lunge ausgespülte Substanzen und Erreger beinhalten. Soll die Probe im Anschluss an die Entnahme für verschiedene, weiterführende Untersuchungen geteilt werden, so ist dieses bei der Berechnung des notwendigen Gesamtvolumens der zu verwendenden Spülflüssigkeit zu berücksichtigen. In diesem Falle können insgesamt ca. 100 ml Spülflüssigkeit in fünf Fraktionen verwendet werden, ohne eine akute Atemnot auszulösen. Für eine kulturelle Untersuchung sollte die Lavage innerhalb von 24 Stunden im Labor eintreffen und angelegt werden. Bei bestimmten Erregern (z. B. *Mycoplasma* spp.) kann es für einen erfolgreichen kulturellen Nachweis nötig sein, die BAL mit einem speziellen Flüssigtransportmedium zu versetzen. Dieses sollte im Vorfeld mit dem untersuchenden Labor abgesprochen werden, welches i. d. R. auch das Transportmedium zur Verfügung stellen kann. Zu beachten ist, dass aus einem speziellen für Mykoplasmen geeigneten Medium aufgrund des Zusatzes von Antibiotika keine weiteren Bakterien angezüchtet werden können.

Alle drei BAL-Methoden werden im Praxiseinsatz ohne Sichtkontrolle durchgeführt. Dabei wird i. d. R. nur ein Lungenlappen, v. a. die kaudalen Bereiche der Hauptlappen, von der Spülung erreicht. Bei chronischen oder latenten Infektionen mit einer nur geringen, ungleichmäßigen Kolonisation der Lunge kann es daher zu falsch negativen Ergebnissen kommen.

Die größte Sicherheit bei der Diagnostik von Erkrankungen der tiefen Atemwege bietet die gezielte **Entnahme von verändertem Lungengewebe** im Rahmen einer durchgeführten Sektion. Hierbei ist darauf zu achten, das Gewebe direkt aus Bereichen mit typischen pneumonischen Veränderungen zu entnehmen. Beim gleichzeitigen Vorliegen von Pleuraaffektionen kann zur Absicherung der Ergebnisse die Gewebeentnahme um die Entnahme von Abstrichtupfern von der Pleura ergänzt

¹³https://www.bmel.de/DE/Tier/Tiergesundheit/Tierarzneimittel/_texte/TierarzneimittelHausapotheke.html /http://www.gesetze-im-internet.de/t_hav/

werden. Die diagnostische Sicherheit kann erhöht werden, wenn parallel zur Gewebeentnahme für den Erregernachweis, Lungengewebeproben für eine spätere Diagnoseabsicherung über histologische/immunhistochemische Untersuchungen entnommen werden (Größe ca. 1 cm x 1 cm x 1 cm in Formalin).

Bei der Interpretation von Befunden, die auf am **Schlachthof** entnommenen Proben beruhen, muss, je nach verwendeter Schlachttechnologie, berücksichtigt werden, dass es zu einer Kontamination der Lunge mit Brühwasser gekommen sein kann.

2.3 Diagnostik von Erkrankungen des Urogenitalsystems

In diesen Bereich fallen die Probenentnahmen zur Abklärung von Harnwegsinfektionen, allgemeinen Reproduktionsstörungen oder auch spezifischen Abortgeschehen. Insbesondere im Bereich der Harnwegsinfektionen sowie der allgemeinen Reproduktionsstörungen können ursächliche Zusammenhänge bestehen. Hierbei kommen i. d. R. Harnproben, Zervixtupfer (Sauen), die Untersuchung von abortierten Früchten/Eihautteilen und ggf. Spermia zum Einsatz.

Die Anzahl der im Rahmen der **Abortdiagnostik oder der Diagnostik von vermehrten Totgeburten** zu untersuchenden Würfe bemisst sich nach der normalen Berechnung der Stichprobengröße. Je Wurf sind dabei mindestens fünf Früchte und Eihautteile – möglichst aus dem Geburtsweg – zu entnehmen und zu untersuchen, da oftmals nur ein geringer Prozentsatz der Früchte in einem Wurf infiziert ist (z. B. PCV2/PRRSV). Bei einer Entnahme von Probenmaterial aus dem Geburtsweg ist außerdem zu beachten, dass es im Zusammenhang mit vorheriger Geburtshilfe bereits zu einer Kontamination des Probenmaterials (Eihautteile) gekommen sein kann, was bei der Befundinterpretation berücksichtigt werden muss.

Für **Zervixtupfer** sind alle zur Entnahme von Tupferproben bei der Stute geeigneten Tupferträger in Verbindung mit einem 40 cm langen, sterilisierten Röhrenspekulum verwendbar. Zur Entnahme haben sich auch sterilisierte Spektula aus Pappe zum Einmalgebrauch bewährt. Die Entnahme erfolgt nach eingehender vaginaler Untersuchung und Befundung des Zervixeingangs auf Schleimhautbeschaffenheit und Sekretion, um zwischen zervikalem, urethralem und vaginalem Ausfluss unterscheiden zu können. Eine blinde vaginale Tupferung ergibt oft unspezifische, kaum bewertbare mikrobiologische Befunde. Der Tupfer sollte vor der Entnahme leicht mit steriler physiologischer Kochsalzlösung angefeuchtet werden und mind. 15 Sekunden Kontakt mit der kaudalen Zervixschleimhaut haben, um Sekret aufzusaugen zu können. Das Spekulum darf vor der Tupferentnahme nicht zurückgezogen werden, weil dann Schleimhaut freiliegt, die durch das Spekulum mit der unspezifischen Flora des Vestibulums kontaminiert wurde. Aus dem Scheidenvorhof entnommene Proben sind diagnostisch wertlos.

Für die kulturelle bakteriologische Untersuchung und Erstellung eines Antibiotogramms sind Tupfer in einem Transportmedium zu versenden. Sollen Untersuchungen auf Chlamydien (PCR) erfolgen, ist zu beachten, dass trockene Tupfer mit größerer Oberfläche verwendet werden müssen, wobei nicht nur Sekret, sondern auch abgeschilferte Zellen anhaften müssen.

Für die Gewinnung von **Harnproben** stehen zwei verschiedene Verfahren zur Verfügung. Es kann sowohl Spontanharn als auch Katheterharn verwendet werden. Bei beiden Verfahren sind Vor- und Nachteile zu bedenken. Katheterharn ist zwar aufgrund geringerer Kontamination mit Schleimhautkommensalen zweckmäßiger, die Entnahme muss jedoch unter möglichst aseptischen Bedingungen erfolgen, um eine iatrogen bedingte Cystitis zu vermeiden. Bei Spontanharn ist hingegen das generelle Kontaminationsrisiko höher einzustufen, da er üblicherweise als unsteril anzusehen ist. Soll Spontanharn verwendet werden, ist vor die-

sem Hintergrund darauf zu achten, dass Mittel- oder Endstrahlurin aufgefangen wird. In spontan abgesetztem Harn ergibt sich aus einer Keimzahl von $\geq 10^5$ KBE/ml ein Hinweis auf eine klinische Harnwegsinfektion. Eine Bakterienvermehrung im Harn während des Versands kann den wahren Keimgehalt jedoch erheblich verfälschen; entsprechend sollten die Proben, wenn irgend möglich, innerhalb von vier Stunden gekühlt in das Labor transportiert werden. Alternativ wird ein Röhrchen mit Harn zentrifugiert und das Sediment anschließend getupfert, ohne dass in diesem Fall noch eine Keimzahlbestimmung erfolgen kann; der Transport des Tupfers erfolgt dann in einem Transportmedium. Zusätzlich ist die mikroskopische Untersuchung des Sediments (Kristalle, Zellen) sinnvoll.

Spezielle Eintauchnährböden (z. B. Uricult[®], Fa. Roche Deutschland Holding GmbH¹⁴) sind zweckmäßig und ermöglichen einen problemlosen Versand. Für den Transport können auch spezielle Urintransportsysteme verwendet werden, die ein lyophilisiertes Bakteriostatikum enthalten. Selbst *Actinobaculum suis*, ein spezifischer anaerob wachsender Harnwegsinfektionserreger, kann so noch nach mehreren Tagen aus Harnproben nachgewiesen werden. Allerdings erschwert auch hier eine initiale Kontamination des Harns mit Begleitkeimen die Isolierung erheblich.

Liegt bei Tieren mit Verdacht auf Harnwegsinfektionen gleichzeitig ein gestörtes Allgemeinbefinden vor, ist zu empfehlen, Serum- oder Plasma-proben bezüglich des Kreatinin- und Harnstoffgehalts zu untersuchen, um eine mögliche Beteiligung der Nieren im Rahmen des Erkrankungsgeschehens abschätzen zu können.

Treten Urogenitalerkrankungen als Bestandsproblem auf, können entsprechende Proben (s. o.) auch anlässlich der Schlachtung von betroffenen Sauen nach Exenteration der Harn- und Geschlechtsorgane unter sterilen Kautelen (Händedesinfektion, Tragen steriler Handschuhe, Verwendung sterilen Instrumentariums) entnommen werden.

Sollen **Spermproben** von Ebern mikrobiologisch untersucht werden, so sind die Proben unmittelbar nach der Gewinnung kühl zu lagern. Für die mikrobiologisch-kulturelle Untersuchung ist nur Nativsperma geeignet. Sperma, das bereits mit einem Verdünnungs- bzw. Lagermedium versetzt worden ist, ist aufgrund der darin enthaltenen antimikrobiell wirksamen Substanzen für diese Untersuchung ungeeignet. Bezüglich des Probenolumens sind 1–2 ml, die aus der zuvor gewonnenen Spermamportion steril entnommen werden, ausreichend. Spermproben sollten innerhalb von 4 bis 6 Stunden zum untersuchenden Labor gebracht und angelegt werden. Für den Nachweis von anspruchsvollen Bakterien (z. B. Chlamydien) muss ein Transportmedium genutzt werden. Aufgrund des kurzen Zeitfensters zwischen Entnahme und Untersuchung sowie der eventuellen Notwendigkeit eines spezifischen Transportmediums sollten Entnahme, Versand und Transport vor der Probenentnahme mit dem untersuchenden Labor abgesprochen werden.

Bei der Befundinterpretation ist zu beachten, dass auch bei gesunden Tieren eine Besiedelung des Genitals, v. a. des Präputialdivertikels, mit ubiquitären Bakterienarten vorkommt und daher immer mit einer geringen Kontamination des Spermias durch Kommensalen gerechnet werden muss. Eine Interpretation der mikrobiologischen Befunde kann daher nur in Verbindung mit den klinischen Symptomen erfolgen.

2.4 Diagnostik von Erkrankungen des Verdauungstraktes

Für die Diagnostik von Erkrankungen des Verdauungstraktes werden v. a. Kotproben und Sektionsmaterial sowie teilweise Umgebungsproben (Wisch-/Sockenproben) verwendet. Es sollte jedoch daran gedacht werden, dass v. a. Durchfall auch als Sekundärsymptom bei anderen systemischen Erkrankungen auftreten kann (CAVE: Tierseuchen). In Abhängigkeit von der vermutlichen Krankheitsursache ist unterschiedliches Untersuchungsmaterial für die Diagnostik zu verwenden (**Tabelle 2**).

¹⁴<https://www.roche.de/service/kontaktswitch.php>

Kotproben sind direkt rektal vom Einzeltier, nicht vom Stallboden, zu gewinnen. Bei Bedarf sind mehrere Proben einzusenden. Je nach Art und Umfang der geplanten diagnostischen Untersuchungen muss darauf geachtet werden, genügend Material zu entnehmen (PCR/Kultur: mind. 2 g). Kotproben sollten kühl gelagert und spätestens 24 Stunden nach der Entnahme im Labor untersucht werden, da ansonsten der unspezifische Keimgehalt in den Proben stark zunimmt. Wenn ein mikrobiologisch-kultureller Nachweis durchgeführt werden soll, ist, insbesondere bei Verdacht auf eine Infektion mit anaeroben Erregern, ein geeignetes Amies-Transportmedium zu verwenden. Tupfer für PCR-Untersuchungen sind hingegen trocken zu versenden. Bei der Untersuchung von Poolproben muss bedacht werden, dass dieses zu einer Verdünnung der Zielspezies führen kann. Nicht für alle Erreger stehen entsprechend selektive Anreicherungsverfahren zur Verfügung, sodass das Poolen von Kotproben bei einigen Erregern (z. B. *Brachyspira hyodysenteriae*) zu einem deutlichen Verlust der diagnostischen Sensitivität führen kann. Für die Untersuchung auf Salmonellen ist hingegen ein wirksames selektives Anreicherungsverfahren vorhanden, sodass hier der Einsatz von gut durchmischten Sammelkotproben meist ohne wesentlichen Verlust an Information möglich ist.

Für *Lawsonia intracellularis* ist eine kulturelle Anzucht im Rahmen der Routinediagnostik derzeit nicht möglich. Für den diagnostischen Nachweis ist daher die PCR-Untersuchung die Methode der Wahl. Aufgrund der stark eingeschränkten Anzuchtmöglichkeiten und einer fehlenden Methode kann eine Antibiotigrammstellung bei diesem Erreger derzeit nicht durchgeführt werden.

Sektionsproben (Darmproben) können im Rahmen von Sektionen oder am Schlachthof gewonnen werden. Die Nachweisrate für Erreger aus Sektionsmaterial ist höher als die Nachweisrate in Kotproben. Erste Autolyseprozesse setzen an der Darmschleimhaut bereits innerhalb von 30 Minuten nach dem Tod der Tiere ein, sodass die Sektion und Probenentnahme unmittelbar im Anschluss an den Tod des Tieres erfolgen muss. Eine Diagnostik am Darmtrakt von Tieren, die länger als 12 Stunden tot sind, ist als sinnlos anzusehen. Idealerweise sollte immer die parallele Entnahme von nativem und in Formalin zu fixierendem Probenmaterial erfolgen, um im Zweifelsfall die Beteiligung (Plausibilität/Relevanz) nachgewiesener Erreger über histologische oder immunhistochemische Untersuchungen absichern zu können.

Tabelle 2: Auswahl von Untersuchungsmaterial zur Diarrhoediagnostik

Krankheit	Tiere/Darm	Kot
Colienteritis	++	+
Clostridiose	++ (Dünndarm)	(+)
Salmonellose	++ (Dickdarm)	+
Dysenterie	++ (Dickdarm)	++
Porzine proliferative Enteropathie – PPE (<i>Lawsonia intracellularis</i>)	++	++

++ gut geeignet, + geeignet, (+) mäßig geeignet

Umgebungsproben (Wisch- oder Sockenproben) sind nur für den Nachweis von Erregern sinnvoll, für die entsprechende Anreicherungsverfahren zur Verfügung stehen (z. B. Salmonellen), da es in der Umgebung der Tiere zu einer starken Verdünnung der Keimbelastung kommt.

2.5 Diagnostik von Gelenk- und systemischen Erkrankungen

Für die Diagnostik von systemischen Erkrankungen unter Beteiligung der großen Körperhöhlen (Polyserositis) inkl. ZNS-Symptomatik sowie von Gelenkerkrankungen werden im Rahmen der Sektion gewonnene Tupferproben (Meningen, Serosen, Gelenke) oder auch Gelenkpunktate verwendet.

Instrumente (Messer, Säge) zur Eröffnung der jeweiligen Lokalisation (Schädeldecke, Gelenke) müssen steril sein. Instrumente, die bereits zuvor für Hautschnitte oder andere Probenentnahmen verwendet worden sind, müssen ersetzt werden. Die Tupferproben sind innerhalb von 24 Stunden nach der Entnahme gekühlt und in einem Transportmedium an das untersuchende Labor zu versenden. Bei einer Beteiligung der Serosen (Pleura/Peritoneum) am Erkrankungsgeschehen sollten aufgrund der deutlich höheren Sensitivität direkt Abstrichtupfer zum molekulargenetischen Nachweis (PCR) der Erreger aus den Bereichen der vorliegenden Serosaaffektionen entnommen und untersucht werden, und zwar auch dann, wenn der Erreger (z. B. *Haemophilus parasuis*, *Mycoplasma hyorhinis*) potenziell in anderen Lokalisationen (z. B. oberer Respirations-trakt, Lungengewebe) nachweisbar sein könnte. Kulturelle Erregernachweise gelingen aus sog. Serosensammeltupfern aufgrund der Begleit- bzw. Kontaminationsflora nur selten.

Eine Entnahme von Gelenkflüssigkeit am lebenden Tier kann im Rahmen einer Gelenkpunktion durchgeführt werden. Hierfür ist beim Schwein eine Allgemeinanästhesie erforderlich. Die Punktatentnahme hat unbedingt unter sterilen Kautelen zu erfolgen. Die Punktionsstelle muss daher wie vor einem chirurgischen Eingriff gereinigt und desinfiziert werden. Der Durchmesser der verwendeten Kanülen sollte bei der Entnahme 1,1–1,2 mm nicht überschreiten. Kann keine Gelenkflüssigkeit gewonnen werden, ist diese Tatsache nicht als aussagekräftig bezüglich des Nicht-Vorliegens einer Infektion anzusehen, da das Gelenkpunktat je nach Veränderung auch zu zähflüssig sein kann, um abgesaugt zu werden. Je nach vermutetem Erreger (z. B. Mykoplasmen) sollte ein entsprechendes Transportmedium für den Probenversand zugesetzt werden. Auch in diesen Fällen sollte ein unmittelbarer, gekühlter Transport zum untersuchenden Labor erfolgen.

Bei der Auswahl der Untersuchungsmethode sowie der Interpretation der Untersuchungsergebnisse muss berücksichtigt werden, dass einige Erreger von Gelenkentzündungen (z. B. *Erysipelothrix rhusiopathiae*) kapselassoziiert vorliegen und daher nicht oder nur schlecht in der freien Gelenkflüssigkeit nachgewiesen werden können. Negative Untersuchungsergebnisse sind in diesen Fällen als nicht aussagekräftig anzusehen.

2.6 Entnahme von Blutproben zum Erregernachweis/Monitoring

Eine Untersuchung von Blutproben zum Erregernachweis ist nur dann sinnvoll, wenn eine Virämie, eine Bakteriämie oder ein septikämisches Geschehen vermutet werden. Für den mikrobiologisch-kulturellen Nachweis müssen hierzu spezielle Blutkultursysteme verwendet werden. Hierbei muss eine vom Hersteller des Blutkultursystems vorgegebene Menge Vollblut, ohne den Zusatz von Gerinnungshemmern, direkt nach der Entnahme und vor Einsetzen der ersten Gerinnungsprozesse, in das Blutkultursystem überführt werden. Eine solche Untersuchung muss folglich bereits vor der geplanten Probenentnahme vorbereitet werden. Zwar lassen sich einige Erreger auch im direkten Ausstrich von Blutproben kultivieren, jedoch sind hierfür keine Standardverfahren etabliert, sodass im Zweifelsfall nur der Nachweis im Blutkultursystem als aussagekräftig angesehen werden kann. Da Bakteriämiephasen nur kurzzeitig nach der erfolgten Infektion und meistens vor dem Auftreten der ersten klinischen Symptome vorliegen, verlaufen Untersuchungen von Blutproben, die bei Tieren mit akuten Symptomen entnommen wurden, oftmals mit negativen Untersuchungsergebnissen. In Fällen von septikämischen Erkrankungsverläufen macht der Nachweis bakterieller Erreger in Blutkultursystemen nur im Rahmen der Bestandsdiagnostik einen Sinn, weil die Ergebnisse für das individuelle Einzeltier i. d. R. zu spät vorliegen. Soll eine Blutuntersuchung für die Anzucht eines Erregers durchgeführt werden, so muss die Blutentnahme dafür unter sterilen Kautelen nach vorheriger Reinigung und Desinfektion der Punktionsstelle erfolgen (Einwirkzeit des Hautantiseptikums beachten).

Grundsätzlich findet das Monitoring bakterieller Erkrankungen in den Beständen über in regelmäßigen Abständen durchgeführte serologische Untersuchungen (Antikörpernachweis) statt. Dieses kann wertvolle Hinweise zum Infektionsgeschehen auf den jeweiligen Betrieben und daher

eine Entscheidungsgrundlage für die Auswahl weiterer diagnostischer Untersuchungsmethoden liefern. Bei der Durchführung derartiger Monitoringuntersuchungen muss jedoch bedacht werden, dass nicht alle bakteriellen Infektionen zwangsläufig zu einer Serokonversion bei den Tieren führen. In vielen Fällen (z. B. *Pasteurella multocida* Typ D, *Actinobacillus pleuropneumoniae*) kann es auch zu einer Kolonisation der Tiere ohne direkte Serokonversion kommen.

3. Empfehlungen zur Probenentnahme beim Rind

3.1 Allgemeines

Im Allgemeinen ist bei der Entnahme von Proben im Rinderbestand zu unterscheiden, ob es sich um Probenentnahmen zwecks weiterführender Diagnostik von akut aufgetretenen Erkrankungen bei Therapieversagen bzw. vor Antibiotikawechsel oder um Probenentnahmen im Rahmen eines routinemäßigen Monitoringprogramms handelt (z. B. Beprobung von Kühen zum Zeitpunkt des Trockenstellens).

Bei der Befundinterpretation ist generell zu beachten, dass die Relevanz einiger Erreger (z. B. *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*) für das Krankheitsgeschehen oftmals nicht über den alleinigen Speziesnachweis erfolgen kann, da avirulente bzw. niedrig virulente Stämme des jeweiligen Bakteriums auch in der Keimflora nicht erkrankter Tiere nachweisbar sind. In diesen Fällen ist es erforderlich, neben dem reinen Speziesnachweis auch den Nachweis spezifischer Virulenzfaktoren zu führen (z. B. *Escherichia coli* F5-positiv; Fähigkeit zur Toxinbildung im Falle von *Clostridium perfringens*), um die Relevanz des nachgewiesenen Bakterienisolats am Krankheitsgeschehen beurteilen zu können.

3.2 Diagnostik von respiratorischen Erkrankungen

Die Atemwegserkrankungen des Rindes werden international unter dem Begriff „Boviner Respiratorischer Krankheitskomplex“ geführt. Hierunter fallen Atemwegserkrankungen, die sich auf einen einzigen Erreger zurückführen lassen, wie z. B. die infektiöse Bovine Rhinotracheitis (IBR) oder die parasitär bedingte Lungenwurmerkrankung (Dictyokaulose), aber auch die zu den Faktorenerkrankungen zählende Enzootische Bronchopneumonie der Kälber und Jungrinder (EBP) und Sonderformen, wie Aspirations- und Eingusspneumonien und die atypische interstitielle Pneumonie. Die größte Bedeutung als Bestandserkrankung kommt der EBP zu. Dabei handelt es sich um eine Faktorenkrankheit, d. h., dass ursächlich für den Ausbruch der Erkrankung verschiedene Erreger (Viren, Bakterien, Parasiten), die Umgebungsbedingungen (Temperatur, Luftfeuchte, Staub- und Schadgasexposition) und das Jungtiermanagement (Kolostrumversorgung, Fütterung, Stresseinfluss) im komplexen Zusammenwirken eine Rolle spielen.

Für die Gewinnung von Probenmaterial im Rahmen der Diagnostik respiratorischer Erkrankungen beim Rind stehen verschiedene Entnahmetechniken zur Verfügung. Hierzu zählen Tupferproben von den Schleimhäuten des oberen Respirationstrakts, Trachealspülproben, Transtrachealspülproben und die gezielte Spülung des Lungengewebes mittels BAL. Bei der Entnahme von Tupferproben ist generell darauf zu achten, dass das Trägermaterial vor dessen Verwendung leicht mit steriler physiologischer Kochsalzlösung angefeuchtet wird, um dessen Aufnahmevermögen zu erhöhen und ein Austrocknen des Probenmaterials zu vermeiden.

Bei der Auswahl des Verfahrens zur Probenentnahme im Rahmen der weiterführenden Diagnostik muss die spezifische Pathogenese der jeweiligen Atemwegserkrankung berücksichtigt werden, die auf Grundlage der Befunde der klinischen Untersuchung vermutet wird. Deshalb bilden die Befunde der klinischen Untersuchung die Voraussetzung für die weiterführenden Untersuchungen. Für Probenmaterial, das aus dem oberen Respirationstrakt (Nasentupfer) gewonnen wird, gilt, dass die Untersuchungsergebnisse nicht zwingend die Situation im unteren Atemstrakt widerspiegeln. Neuere Untersuchungen zeigen, dass die in Proben

aus dem Atemstrakt von Kälbern nachgewiesenen Mikroorganismen ein bestandsspezifisches Muster aufweisen, was die Bedeutung der regelmäßigen Probenentnahmen aus dem Atemstrakt erkrankter Kälber im Hinblick auf Impfpfehlungen und die Antibiotikawahl verdeutlicht.

Sollen Tupferproben entnommen und anschließend mittels PCR untersucht werden, ist besonders darauf zu achten, dass das Trägermaterial für den Tupfer aus Kunststoff besteht, da Holz Substanzen freisetzen kann, die zu einer Inhibition der PCR führen.

Nasentupfer eignen sich v. a. zum Nachweis von Erkrankungen, bei denen sich der Erreger direkt in den Epithelien des oberen Respirationstraktes vermehrt (z. B. respiropathogene Viren). Die Entnahme von Nasentupferproben unter Verwendung kurzer Nasentupfer sollte vermieden werden. Geeigneter ist die Verwendung langer Nasentupfer, die geschützt, d. h. von einem Plastikrohr ummantelt, sein sollten. Für die Probenentnahme ist das Rind mittels üblicher Zwangsmaßnahmen zu fixieren. Eine Sedierung ist für solche Probenentnahmen üblicherweise nicht notwendig. Nach Reinigung des Flotzmauls werden die Tupfer – ohne das Flotzmaul zu berühren – in den unteren Nasengang eingebracht (bei Verwendung eines geschützten Tupfers wird dieser nach Erreichen der Lokalisation für die Probenentnahme aus der schützenden Hülle hervorgeschoßen) und mit drehenden Bewegungen auf der Schleimhaut hin und her bewegt. Anschließend wird der Nasentupfer zurückgezogen und in das vorgesehene Transportgefäß verbracht. Im Falle eines akuten Ausbruchs einer Atemwegserkrankung sollten gezielt akut erkrankte Tiere mit entsprechender klinischer Symptomatik (Nasenausfluss, Husten) und Fieber ausgewählt werden. Die beschriebene Technik der Probenentnahme eignet sich für die Diagnostik respiropathogener Viren, wie des Bovinen Herpesvirus-1 (BHV-1), des Parainfluenza-3 Virus (PI3) und des Bovinen Respiratorischen Synzytialvirus (BRSV), und unter Berücksichtigung des oben genannten Vorbehalts auch für die bakteriologische Diagnostik.

Für die Entnahme von **Trachealspülproben (TL)**, **Transtrachealspülproben (TTL)** und **Lungenspülproben (bronchoalveoläre Lavage – BAL)** sind verschiedene Entnahmetechniken etabliert. Die Probenentnahme erfolgt unter sterilen Kautelen (Händedesinfektion, Tragen steriler Handschuhe, Verwendung sterilen Instrumentariums). Die Entnahme erfolgt bevorzugt am stehenden Tier entweder direkt in ein entsprechendes Probengefäß oder durch Überführen der mit Hilfe einer Injektionsspritze aus dem unteren Atemstrakt aspirierten Spülflüssigkeit in das sterile Probengefäß. Bei jeder der verschiedenen Methoden gilt es, deren Vorteile, aber auch Risiken zu bedenken.

Die Entscheidung zur Sedierung obliegt dem Tierarzt und ist für die TL mit einfachem oder Doppelschlauchsystem empfehlenswert, jedoch nicht notwendig; für die TTL sowie für die BAL ist sie jedoch ratsam. Da die Probenentnahme beim stehenden Tier erfolgt, sollte das Stehvermögen durch die Sedation nicht beeinträchtigt sein.

Bei der **transnasal** durchgeführten **Trachealspülproben (TL)** wird entweder ein einzelner steriler Schlauch mit Luer-Lock oder ein steriles Doppelschlauchsystem aus PVC verwendet. Auch mittels Endoskopie – also unter Sichtkontrolle – kann entsprechendes Probenmaterial gewonnen werden. Eine Besonderheit stellt das ivet[®]scope (Unitronic, Düsseldorf¹⁵) dar, welches über ein Spekulum die Probenentnahme unter Sichtkontrolle von der Maulhöhle aus erlaubt. Die Entscheidung, ob eine leichte Sedierung erfolgt, obliegt dem Tierarzt. Die Verwendung eines einfachen Schlauchs birgt gegenüber der geschützten Probenentnahme mit Hilfe eines Doppelschlauchsystems das Risiko der Kontamination des Probenmaterials durch Bakterien des oberen Respirationstraktes. Nach Fixation des Rindes und Reinigung des Flotzmauls wird entweder ein einfacher Schlauch oder ein Doppelschlauchsystem über den ventralen Nasengang bei angehobenem Kopf in die Trachea vorgeschoben. Durch Vergleich der

¹⁵<http://www.unitronic.de/ueber-uns/unternehmen/news/news-details/items/unitronic-multifunktionales-endoskop-ivetscope.html>

Katheterlänge mit der Größe des Tieres, kann man bei dieser Methode ohne Sichtkontrolle den Sitz des Schlauchendes einschätzen. Der Sitz des Schlauchs proximal der Bifurcatio tracheae bzw. im rechten Hauptbronchus führt bei Einbringen der Spülflüssigkeit (Volumen 40–60 ml 0,9-prozentige NaCl-Lösung mittels Spritze) zum Husten, während das Einbringen eines kleinumigen Schlauchs in die Bronchioli aufgrund fehlender Rezeptoren keinen Husten auslösen wird. Bei derart tief eingebrachten Schläuchen handelt es sich um eine BAL, bei der nur ein geringer Abschnitt des Lungengewebes im Gegensatz zur TL und TTL regelrecht gewaschen wird. Die eingebrachte Spülflüssigkeit wird in beiden Fällen in eine Spritze aspiriert und in das sterile Probengefäß überführt.

Die **Transtrachealspülprobe (TTL)** birgt das geringste Risiko für eine Kontamination durch die Kommensalen des oberen Respirationstraktes, da dieser über die perkutane Punktion der Trachea umgangen wird. Das Material, das für die Durchführung der Transtrachealspülprobe erforderlich ist, besteht neben dem Probengefäß zum Auffangen der Spülflüssigkeit aus dem Material für die Lokalanästhesie an der Punktionsstelle, einem Punktions- und Entnahmeset (Punktionsnadel, Spülkatheter), aus sterilen Handschuhen, steriler physiologischer Kochsalzlösung und dem Material für die Vorbereitung der Punktionsstelle. Zur Punktion der Trachea und der anschließenden Probengewinnung kann verwendet werden:

- A. ein großlumiger peripherer Venenkatheter aus Kunststoff und ein steriler Schlauch (z. B. einer Kinderernährungs- oder ein Kunststoffschlauch) oder
- B. ein Venenverweilkatheter mit 13 G-Punktionskanüle aus Stahl, durch die der 14 G-Katheter mit Luer-Lock von etwa 50–75 cm Länge in die Trachea eingebracht wird.

Am stehenden Tier befindet sich die Lokalisation für die transdermale Punktion der Trachea ventral am Hals etwa eine Handbreite (ca. 8 cm) unterhalb des gut zu palpierenden Kehlkopfes exakt in der Mitte der Halsunterseite. Hier ist die Trachea direkt unter der Haut zu palpieren. An dieser Stelle wird nach chirurgischer Vorbereitung und Lokalanästhesie durch subkutane Infiltration der Punktionsstelle mit 3–5 ml einer 2-prozentigen Procainlösung, gefolgt von einer wiederholten Desinfektion, das Lumen der Trachea – mit oder ohne vorherige Stichinzision – punktiert. Dazu wird der Katheter/die Punktionskanüle zunächst durch die Haut und dann im Raum zwischen zwei Trachealringen durch die Wand der Luftröhre gestoßen, wobei die Kanüle/der Katheter in Richtung des Verlaufs der Luftröhre nach distal vorgeschoben wird. Die erfolgreiche Punktion erkennt man an dem zischenden Geräusch der ein- und ausströmenden Luft am Konus des Katheters/der Punktionskanüle sowie an dem Luftstrom, den man dort spüren kann, wenn man die Handaußenflächen vor die Kanülenöffnung hält. Der Schlauch bzw. der Venenverweilkatheter wird dann durch das Lumen des Katheters/der Punktionskanüle in die Trachea eingebracht.

Bei einer TTL wird der Schlauch bevorzugt bis kurz vor die Bifurcatio tracheae geschoben. Hier befindet sich der tiefste Punkt der Trachea, an dem sich das Sputum aus mehreren Lungenabschnitten ansammelt und aus dem bei der endoskopischen TL bevorzugt das Probenmaterial gewonnen wird.

Die Methode der **bronchoalveolären Lavage (BAL)** unterscheidet sich von der TL und der TTL insofern, als ein kleinumiger Schlauch oder ein Ballonkatheter – nachdem die oben beschriebene Vorgehensweise der TL oder der TTL angewendet wurde – über die Bifurcatio tracheae soweit wie möglich im Bronchialbaum vorgeschoben wird. Aufgrund der anatomischen Besonderheiten läuft der Schlauch in der überwiegenden Zahl der Fälle in den rechten Hauptbronchus. Sobald der Schlauch nicht mehr weiter vorgeschoben werden kann, wird die physiologische Kochsalzlösung eingebracht. Im Gegensatz zur TL und TTL wird bei dieser Manipulation kein Hustenreiz ausgelöst. Die Rückgewinnungsraten sind geringer als bei der TL und der TTL (hier ca. 40 Prozent). Gespült wird ein Bereich der Lunge, der nur in seltenen Fällen bei der Enzootischen Bronchopneu-

monie pneumonisch verändert ist. Es werden signifikant häufiger Monokulturen aus BAL-Probenmaterial gewonnen. Inwieweit Ergebnisse von BAL für das Krankheitsgeschehen bestimmend sind, obliegt der Einschätzung des Tierarztes.

Für die kulturelle Untersuchung sollte die Spülflüssigkeit innerhalb von 24 Stunden im Labor eintreffen und die Kultur angelegt werden. Mykoplasmen (z. B. *Mycoplasma bovis*) können bevorzugt mittels PCR, aber auch kulturell in der zurückgewonnenen Flüssigkeit nachgewiesen werden.

Die größte Sicherheit bei der Diagnostik von Erkrankungen der tiefen Atemwege bietet die gezielte **Entnahme von verändertem Lungengewebe** im Rahmen einer **Sektion** verendeter oder euthanasierter Rinder. Es ist darauf zu achten, dass Rinder zur Sektion ausgewählt werden, die das akute klinische Geschehen in der Herde repräsentieren. Weiterhin sollte Gewebe direkt aus Bereichen mit typischen pneumonischen Veränderungen entnommen und untersucht werden. Beim gleichzeitigen Vorliegen von Pleuraaffektionen kann zur Absicherung der Ergebnisse die Gewebeentnahme um Abstriche von der pleuralen Oberfläche ergänzt werden. Die diagnostische Sicherheit kann erhöht werden, wenn parallel zur Gewebeentnahme für den Erregernachweis, Lungengewebeproben für eine spätere Diagnoseabsicherung über histologische/immunhistochemische Untersuchungen entnommen werden (Größe ca. 1 cm x 1 cm x 1 cm in Formalin).

3.3 Diagnostik bei Mastitiden

Die Richtlinien für die Entnahme von **Milchproben** orientieren sich an den Leitlinien der DVG-Fachgruppe „Milchhygiene“ und des Sachverständigenausschuss „Subklinische Mastitis“ (2. Auflage, 2009, ISBN: 978-3-941703-22-3).

Für den Nachweis euterpathogener Erreger im Rahmen der Mastitisdiagnostik sind Viertelanfängselmelke zu entnehmen. Lediglich bei Verdacht auf Infektionen mit Hefen sind Viertelendmelke sinnvoll. Die Proben sollten vorzugsweise zur normalen Melkzeit entnommen werden. Die klinische Untersuchung des Euters hinsichtlich Beschaffenheit des Drüsenparenchyms, Zitze und Zitzenkuppe erfolgt unmittelbar nach dem Ausmelken. Die klinischen Befunde sollten auf dem Untersuchungsantrag festgehalten werden.

Die Beurteilung der Eutergesundheit allein auf der Basis zytologischer und mikrobiologischer Befunde ist aus Milchproben, die während der ersten 5 Tage nach dem Abkalben gezogen wurden sowie aus Milchproben von Rindern, die weniger als 2 kg Milch geben, nicht immer ausreichend sicher möglich.

Die Entnahme von Trockenstehersekret ist ein Sonderfall. Nach der Entnahme müssen die Zitzenkuppen mit einem den EU-Verordnungen entsprechenden Zitzendesinfektionsmittel behandelt werden.

Vor der Probenentnahme sollten die Viertel möglichst trocken von groben Verschmutzungen befreit werden (Reinigungstücher aus Zellstoff oder sonstigen Einwegmaterialien). Eine nasse Reinigung mit Trinkwasser oder einer schwachen Desinfektionslösung ist nur bei groben Verunreinigungen notwendig. Die anschließende Trocknung erfolgt ausschließlich mit Einwegtüchern. Nach der Reinigung werden die ersten drei Milchstrahlen gesondert in einen Vormelkbecher gemolken und auf sinnfällige Veränderungen geprüft. Im Übrigen erfolgt die Reinigung und Desinfektion der Zitzenkuppe gründlich mit einem separaten, alkoholgetränkten Einwegtuch für etwa 15 Sekunden pro Zitze (vorzugsweise 70-prozentiger Ethylalkohol). Die Zitzen der vom Probennehmer abgewandten Seite werden zuerst gereinigt und desinfiziert, jedoch zuletzt beprobt.

Zur Probenentnahme müssen Einmalhandschuhe getragen werden. Die Röhrchen werden unmittelbar vor der Probenentnahme möglichst erst unter der Kuh geöffnet und sollten horizontal gehalten werden, um Kontaminationen zu verhindern. Der Verschlussstopfen wird mit der Innenseite nach unten gehalten, wobei ein Berühren der Innenfläche des Stopfens zu vermeiden ist.

Die Entnahme erfolgt vorzugsweise nach Einsetzen der Milchejektion und Abmelken des ersten Milchstrahls mit möglichst geringem Druck und bevorzugt durch ein einziges Entleeren der Zitze. Das Zitzenende darf den Rand des Probenentnahmegefäßes nicht berühren. In der Regel sind 5–10 ml ausreichend; bei Verdacht auf Mykoplasmeninfektion sollte man zunächst ein spezielles Medium vom Labor anfordern. Beim Verschluss der Röhrchen ist darauf zu achten, dass ein ausreichendes Luftpolster belassen wird, damit eine Durchmischung der Probe gewährleistet wird.

Die Behältnisse für die Milchproben müssen steril und mit dicht schließenden Verschlüssen versehen sein. Es ist unbedingt notwendig, die Röhrchen vor der Probenentnahme mit fortlaufenden Nummern o. ä. zu beschriften und eine Stall- oder Untersuchungsliste als Untersuchungsantrag und zur Probenidentifizierung zu führen. Eine Farbkennzeichnung der Verschlüsse kann für die Zuordnung der Euterviertel vorteilhaft sein.

Die gefüllten Probenentnahmegefäße werden für den Transport in geeignete Behältnisse verbracht. Der Probenversand sollte schnellstmöglich erfolgen. Nach Entnahme sollten die Proben bis zum Versand auf 6°C gekühlt und gelagert werden. Eine Konservierung der Proben ist erforderlich, sofern der Ansatz zur mikrobiologischen Untersuchung trotz Kühlung der Proben nicht innerhalb von 24 Stunden nach Entnahme der Probe durchgeführt werden kann oder eine Abkühlung der Proben unmittelbar nach der Probenentnahme nicht möglich ist. Zur Konservierung sind Borsäurepräparate, die eine Konzentration von 0,5 bis 0,6 Prozent H_3BO_3 in der Probe garantieren, besonders geeignet. Im Handel sind Fertigpräparate für diesen Zweck erhältlich. Derart behandelte Proben können 24 Stunden bei Zimmertemperatur (ca. 20°C) und weitere 24 Stunden bei 4–6°C bis zur Untersuchung gelagert werden. Die Konservierung über Tiefkühlung ist ebenfalls möglich. Dabei haben Mastitiserreger, wie *Staphylococcus aureus* und verschiedene Koagulase-negative Staphylokokken (KNS), unveränderte bzw. höhere Isolierungsraten, während eine Abnahme der Nachweisraten für andere Spezies nicht ausgeschlossen werden kann.

3.4 Diagnostik von Erkrankungen des Urogenitalsystems

Bei bakteriologischen Untersuchungen zur Diagnostik von Genitalinfektionen der Kuh ist zu berücksichtigen, dass in den ersten Wochen post partum in den meisten Fällen auch bei ungestörtem Puerperalverlauf Bakterien nachweisbar sind; bei Vorliegen chronischer Endometritiden sind andererseits häufig keine Bakterien mehr im Uterus nachweisbar. Die Interpretation von Ergebnissen einer bakteriologischen Untersuchung in den ersten vier Wochen post partum ist außerdem schwierig, weil sogar bei klinisch gesunden Tieren pathogene Keime (z. B. *Escherichia coli* und *Trueperella pyogenes*) nachgewiesen werden können und die intrauterine Mikroflora insgesamt sehr divers ist. Für die Probenentnahme besonders geeignet sind handelsübliche Einmaltupfer oder Bürstchen (Cytobrush, erhältlich z. B. bei Minitube¹⁶) mit einer Länge von etwa 60 cm, die von einem Mantelrohr und einer Schutzfolie umgeben sind. Kontaminationen durch im Vestibulum bzw. in der Vagina vorkommende Bakterien werden so vermieden. Die Tupfer werden wie Besamungspipetten in das Corpus uteri eingeführt und nach der Probenentnahme in ein Nährmedium überführt (z. B. Amies-Medium). Besteht der Verdacht auf eine Beteiligung von Anaerobiern am Infektionsgeschehen, so ist der Tupfer unmittelbar nach der Entnahme in ein entsprechendes Transportmedium zu verbringen.

Im Rahmen der mikrobiologischen Untersuchung des **Genitals des Bullen** sind Vorhautsekret, Vorsekret und Samenproben zu überprüfen. **Präputialsekret** kann einerseits mittels Präputialspülprobe gewonnen werden; dies ist jedoch verhältnismäßig aufwendig, aber für den sicheren Erregernachweis (*Campylobacter* spp.) nach wie vor Methode der Wahl. Eine Möglichkeit für den Nachweis anderer Infektionserreger bildet das Ausspülen der künstlichen Scheide unmittelbar nach der Spermagewinnung und der Entfernung des Samenauffangglases, wobei als Spülflüssigkeit physiologische Kochsalzlösung oder eine spezielle Nähr-

bouillon verwendet werden kann. Für den Nachweis von *Campylobacter* spp. oder anderen sensiblen Bakterien muss eine spezielle Nährbouillon (z. B. Cary-Blair-Medium n. Copan, Lander-Medium, modifiziertes SBL-Medium) genutzt werden. Nach der Spülung ist für den Mykoplasmenachweis auf die Verwendung spezieller Medien (z. B. PH-Medium oder KN-B-Medium) zu achten. **Vorsekret** (ca. 1–2 ml) kann relativ einfach durch das Ablenken des erigierten Penis mit einer behandschuhten Hand und das Vorhalten einer sterilen Petrischale während eines Blindsprungs erfolgen. Für die mikrobiologische Untersuchung von Sperma werden unmittelbar nach der Gewinnung 1–2 ml steril entnommen. Es ist zu beachten, dass auch bei gesunden Tieren eine Besiedelung des Genitale mit ubiquitären Keimen vorkommt. Die Interpretation der mikrobiellen Befunde kann daher nur in Verbindung mit den klinischen Symptomen erfolgen. Außerdem ist bei der Befundbeurteilung auf die Lokalisation, die Art und die Anzahl der nachgewiesenen Erreger zu achten.

Zum Nachweis von Erregern von **Harnwegsinfektionen** (z. B. bei Verdacht auf Nephritis, Zystitis oder Infektion mit Leptospiren) wird beim weiblichen Tier Katheterharn unter möglichst sterilen Kautelen für die bakteriologische Untersuchung gewonnen. Dafür muss das Rind gut fixiert werden (z. B. durch Fixation im Fressgatter oder im „Headgate“ des Klauenstands unter Anwendung des Schwanzgriffs oder des kombinierten Kniefalten-Schwanzgriffs). Nach gründlicher, möglichst trockener Reinigung der Vulva und deren Umgebung wird ein steriler Harnkatheter (z. B. Harnkatheter nach BRESLAU) unter Sichtkontrolle, bevorzugt unter Verwendung eines Spreizspekulums, in die Harnröhrenöffnung eingeführt und bis in die Blase vorgeschoben. Ein blubberndes Einströmen von Luft signalisiert den korrekten Sitz des Katheters. Von der Verwendung von Besamungspipetten sollte abgesehen werden, weil die Gefahr besteht, dass die Plastikkatheter bei Abwehrbewegungen abbrechen oder die Blase perforieren.

Da potenziell pathogene Mikroorganismen in den harnableitenden Organen des gesunden Rindes vorkommen, sollte bei der Einsendung der Proben eine Keimzahlbestimmung durchgeführt werden.

Beim männlichen Tier ist Mittelstrahlurin nach sorgfältiger Reinigung und ggf. Kürzen der Präputialhaare zu verwenden. Die zusätzliche Verwendung von Eintauchnährböden erlaubt eine Schätzung der zum Zeitpunkt der Probenentnahme vorhandenen Keimzahlen.

Für den Nachweis von Leptospiren mittels PCR bei Vorliegen einer chronischen Leptospirose ist Harn geeignet, und zwar ab der zweiten Krankheitswoche. Alternativ kann ein Teil der Harnprobe mit Formalin versetzt werden, um zwecks Vermeidung einer bakteriellen Überwucherung eine Dunkelfeldmikroskopie oder einen Immunfluoreszenztest durchführen zu können. Dieser mikroskopische Erregernachweis wird allerdings nur von sehr wenigen Laboren angeboten.

3.5 Diagnostik von Erkrankungen des Verdauungstraktes

Kotproben sind als Einzeltierprobe aus der Ampulla recti eines erkrankten Tieres zu gewinnen und unverzüglich in ein geeignetes Probenbehältnis (nicht den Untersuchungshandschuh) zu überführen. Gegebenenfalls sind mehrere Proben einzusenden. Dabei ist auf ausreichendes Probenvolumen (> 5 g) und eine getrennte Einsendung zu achten, da Proben sowohl für den bakteriologischen Nachweis (z. B. ETEC, Salmonellen), die virologische Untersuchung (z. B. Rota-, Coronaviren), wie auch die parasitologische Diagnostik (z. B. Kryptosporidien, Kokzidien, Magen-Darm-Strongyloiden, Leberegel-, Lungenwurmdagnostik) verwendet werden. Die Probenmenge ist stets so zu bemessen, dass ein Austrocknen des Probenmaterials verhindert wird.

Ingesta aus dem Dünndarm sind ein wichtiges Substrat insbesondere für die Diagnostik von Toxikoinfektionen und Enterotoxämie hervorgerufen durch *Clostridium perfringens*. Da die Erreger auch bei gesunden Tieren vorkommen, sind der Nachweis und die Charakterisierung des produzierten Toxins bzw. die Typisierung der isolierten *Clostridium perfrin-*

¹⁶<https://www.minitube.de/>

gens-Stämme für die ätiologische Diagnose einer Erkrankung erforderlich. Die Probenentnahme sollte möglichst am frisch erkrankten Tier bzw. unmittelbar (< 6 Stunden) nach dem Verenden des Tieres erfolgen, da sich die Erreger während der Autolyse sehr schnell vermehren.

Bei der Paratuberkulose des Rindes kann der Erregernachweis (*Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* – MAP) am lebenden Tier über die Untersuchung von Kotproben (PCR, Kotkultur) erfolgen. Darüber hinaus lassen sich Infektionen über die Untersuchung von Blutproben (zellvermittelte Immunität mittels Interferon- γ -Test oder Antikörperrnachweis mittels ELISA), Milchproben oder Organproben (Erregernachweis) feststellen. Die Feststellung, ob ein Rind tatsächlich MAP-infiziert ist, ist insofern erschwert, als ein direkter Erregernachweis am lebenden infizierten Tier aufgrund der unregelmäßigen Ausscheidung von MAP und des Vorkommens von Passanten (Aufnahme von MAP aus der Umgebung und Ausscheidung durch nicht infizierte Rinder) nicht immer über eine einzige Untersuchung festgestellt werden kann, die Diagnostik mittels Kotkultur mehrere Monate in Anspruch nehmen kann, eine Schimmelpilzkontamination die Untersuchung mittels Kotkultur beeinträchtigen bzw. gänzlich unmöglich machen kann und die Antikörper-vermittelte Immunität vergleichsweise spät einsetzt. Für die Paratuberkulosesanierung ist die Diagnostik am Einzeltier erforderlich. Für die Überprüfung der Anwesenheit des Erregers im Bestand und zwecks Monitoring der Stallumgebung eignen sich Sockentupfer.

Am toten Tier ist für den Nachweis von MAP die Untersuchung des Ileocaecallymphknotens und der Darmschleimhaut des distalen Ileums Methode der Wahl.

3.6 Diagnostik von Gelenk- und systemischen Erkrankungen

Insbesondere bei bestandsweise gehäuft auftretenden Polysynovitiden und/oder Polyarthritiden sind **Gelenkpunktate** unter sterilen Kautelen zu entnehmen. Bei Verdacht auf Beteiligung von Mykoplasmen sind für die Anzucht spezielle Mykoplasmenmedien zu verwenden, die im Labor angefordert werden. Der Nachweis von Borrelien (mittels PCR) kann unmittelbar aus dem Punktat (oder einem Hautbioptat) erfolgen.

Der Erregernachweis aus der **Blutkultur** wird auch bei Tieren mit Verdacht auf Bakteriämien bzw. Septikämien nicht routinemäßig durchgeführt. Die Ergebnisse kommen i. d. R. für den betreffenden Patienten zu spät; zudem sind die Erreger häufig nur in einem engen Zeitfenster nachweisbar, sodass im Krankheitsverlauf wiederholt Blut für die kulturelle Untersuchung entnommen werden muss. Das dramatische Krankheitsgeschehen erfordert andererseits eine umfassende antibiotische Therapie, die wiederum den Erregernachweis erschwert oder unmöglich macht. Es ist auf sterile Kautelen zu achten, d. h. im Bereich der Jugularvene wird die Haut großflächig rasiert, entfettet und zweimal im Abstand von 3 Minuten jodiert. Das „Signal“-Blutkultursystem¹⁷ ermöglicht den Nachweis von aeroben und anaeroben Bakterien mit nur einer Blutkulturflasche.

Die Diagnose **Botulismus** beruht primär auf dem klinischen Bild, das durch fortschreitende Paralyse der quergestreiften Muskulatur gekennzeichnet ist. Der bloße Nachweis des Bakteriums *Clostridium botulinum* ist nicht aussagekräftig, da es regelmäßig im Verdauungstrakt gesunder wie kranker Tiere angetroffen wird. Der direkte Toxinnachweis erfolgt über den Tierversuch, gelingt aber nur relativ selten. Bei der Probengewinnung ist die Hitzeelastibilität der Toxine zu berücksichtigen. Blutserum ist kühl zu lagern, andere Proben (z. B. Pansen-, Darminhalt, Lebergewebe) sind sofort in dicht schließenden Behältnissen einzufrieren (aufgrund der schnellen Inaktivierung der Toxine insbesondere im Pansensaft) und dann zu versenden. Dabei ist zu berücksichtigen, dass nur wenige Laboratorien die Toxindiagnostik anbieten (z. B. Göttingen, Potsdam).

3.7 Diagnostik von Augenerkrankungen

Besteht eine **Keratokonjunktivitis** sollte die Probenentnahme vor jeglicher Verabreichung von Arzneimitteln erfolgen. Bei den Erregern, die im Zusammenhang mit Keratokonjunktivitis beim Rind nachgewiesen

werden, handelt es sich v. a. um *Moraxella bovis*, *Moraxella bovoculi*, *Chlamydophila* spp. und Mykoplasmen. Das Rind ist für die Probenentnahme gut zu fixieren und ggf. zu sedieren. Die Probenentnahme erfolgt aus dem Konjunktivalsack am Unterlid mittels geeigneter Watte- oder Viskoseträger, die – um ein Austrocknen zu verhindern – zuvor mit steriler physiologischer Kochsalzlösung angefeuchtet wurden. Ebenso können die Tupfer in Röhrchen mit Amies-Transportmedium verbracht werden. Soll eine Untersuchung auf Mykoplasmen erfolgen, sollte die Art des zu verwendenden Transportmediums vor der Probenentnahme mit dem diagnostischen Labor abgestimmt werden. Bei Vorliegen von Hornhautulcera kann, um eine bakterielle Kontamination zu vermeiden und die Chance auf den Nachweis von Moraxellen (*Moraxella bovis*, *Moraxella bovoculi*) zu erhöhen, das Probenmaterial nicht von der Konjunktiva, sondern (vorsichtig) direkt von den Rändern des Ulcus gewonnen werden.

4. Empfehlungen zur Probenentnahme beim Geflügel

4.1 Allgemeines

Die pathologisch-anatomische Untersuchung und die weiterführende Labordiagnostik sind in der Geflügelmedizin unerlässliche Hilfsmittel zur Erstellung einer vollständigen ätiologischen Diagnose. Probenentnahmen an lebenden Tieren haben bei Wirtschaftsgeflügel eine untergeordnete Bedeutung; die Beprobung von lebenden Tieren spielt hauptsächlich in der Rasse- und Hobbygeflügelhaltung eine Rolle.

Die Anzahl der untersuchten Tiere sollte der Herdengröße angemessen sein (siehe 1.5).

Bzüglich der Auswahl von Tieren zur **Sektion** sind neben verendeten ggf. auch erkrankte, lebende Tiere auszusuchen. Vor der Sektion sollte das Gefieder der Tiere mit Wasser befeuchtet werden, um Kontaminationen während der Untersuchung durch herumfliegende Federn und Federstaub zu vermeiden. Probenentnahmen der Haut sollten vor dem Befeuchten erfolgen. Zur Probenentnahme können Tupfer eingesetzt werden (siehe 1.6). Die Verwendung von Tupfern bietet sich insbesondere an, wenn die Proben erst mit Zeitverzögerung untersucht oder zur Untersuchung versandt werden sollen. Außerdem ist die Verwendung von Tupfern material- und arbeitssparend, da diese direkt auf den Agarplatten ausgestrichen werden können. Eine Alternative ist die teilweise oder vollständige Entnahme von veränderten Organen, wenn diese zeitnah am gleichen Tag untersucht werden. Dabei sollten die Proben möglichst so genommen werden, dass auch der Übergangsbereich von verändertem zu gesundem Gewebe in der Probe enthalten ist. Als Probengefäße eignen sich z. B. sterile Petrischalen. Alle Proben sollten so schnell wie möglich nach Eröffnung des Tierkörpers genommen werden. Bei der Entnahme von Organmaterial oder der Eröffnung von Organen muss steriles Besteck (Scher, Pinzette) verwendet werden, das bei der Beprobung von unterschiedlichen Organsystemen gewechselt werden muss. Generell ist bei der Probenentnahme auf sauberes Arbeiten zu achten, stark bakterienhaltige Organe, wie der Verdauungstrakt, sollten erst am Ende der Untersuchung eröffnet werden.

4.2 Probenentnahme von toten Tieren

4.2.1 Diagnostik von respiratorischen Erkrankungen

Im oberen Atmungstrakt erschweren teilweise Bakterien der Normalflora die Untersuchung und bestimmte klein wachsende Bakterienarten (z. B. *Ornithobacterium rhinotracheale*) können so leicht übersehen werden. Hier sollten im untersuchenden Labor zusätzlich antibiotikahaltige Nährböden (z. B. mit Neomycin und/oder Gentamicin) eingesetzt werden, die insbesondere das Wachstum von *Enterobacteriaceae* unterdrücken. Andere Erreger (z. B. *Avibacterium paragallinarum*) haben eine geringe Tenazität, sodass bei der Untersuchung von toten Tieren oder dem Versand von Proben unter Umständen falsch negative Ergebnisse entstehen können. Hier macht ggf. die Verwendung von molekularbiologischen Verfahren (PCR) Sinn.

¹⁷ <https://www.fishersci.de/shop/products/thermo-scientific-oxid-signal-blood-culture-system/11933192>

Zur Probenentnahme im Rahmen einer Sektion wird wie folgt verfahren:

Nasenmuscheln (Conchae): Den Oberschnabel an der Basis mit einer Schere absetzen und einen Tupfer in die Conchae einführen, leicht drehen und vorsichtig wieder entnehmen.

Sinus infraorbitalis: Den Oberschnabel an der Basis mit einer Schere absetzen, eine Scherenklinge in die Nasenmuschel einführen und in Richtung des Sinus schneiden, dieser liegt ventral des Auges. Dann Tupfer aus dem eröffneten Sinus nehmen, ohne die äußere Haut dabei zu berühren.

Choanenspalte: Tupfer einführen, leicht drehen.

Larynxbereich: Tupfer einführen oder gesamten Larynx entnehmen und im Labor direkt mit der Impföse beproben.

Trachea: Wenn die gesamte Trachea verändert ist, ist für die bakteriologische Untersuchung die untere Hälfte der Trachea zu bevorzugen, da die Wahrscheinlichkeit geringer ist, dass die Normalflora die Untersuchung erschwert. Es können wieder Tupfer zum Einsatz kommen oder das Organ entnommen und im Labor direkt beprobt werden.

Lungen: Tupferprobenentnahme im Übergangsbereich von verändertem zu unverändertem Gewebe oder Organentnahme.

Luftsäcke: Tupferprobenentnahme von veränderten Bereichen.

Zur Diagnostik von Konjunktiven siehe 4.3.

4.2.2 Diagnostik von Erkrankungen des Urogenitalsystems

Vögel haben keine Harnblase, die Harnleiter münden in die Kloake und der Vogelharn wird zusammen mit dem Kot abgesetzt. Eine separate bakteriologische Untersuchung des Harns ist nicht sinnvoll. Nur Erpel und Gänse haben einen ausstülpbaren Phallus (Phallus protrudens).

Nieren, Hoden: Anschnitt des Organs und Tupfern der Schnittfläche oder Organentnahme und Beprobung im Labor.

Phallus: Tupferprobenentnahme aus veränderten Bereichen.

Ovar: Tupferprobenentnahme von Entzündungsmaterial, das sich zwischen den Follikeln befindet, Tupferprobenentnahme von Follikelinhalt nach Eröffnung.

Legedarm: Eröffnung des Legedarms mit sterilem Besteck, Tupferprobenentnahme von Legedarmwand und Entzündungsmaterial.

4.2.3 Diagnostik von Erkrankungen des Verdauungstraktes

Auch der Verdauungstrakt hat eine Normalflora, daher muss unter Einbeziehung der klinischen Erscheinungen, pathologischen Veränderungen, der Erregermenge, der isolierten Bakterienspezies und ggf. weiteren molekularbiologischen Untersuchungen (Virulenzfaktoren) eine Bewertung erfolgen, ob es sich um ein bakterielles Krankheitsgeschehen handelt oder nicht. Bei der Versendung von Proben, die auf Anaerobier untersucht werden sollen, müssen dafür geeignete Transportsysteme verwendet werden.

Kropf, Duodenum, Jejunum, Ileum, Caecum: Bei Tupferentnahme aus veränderten Bereichen oder Entnahme von Darmteilen und Beprobung im Labor sollte der Darm erst im Labor eröffnet werden, um Austrocknung zu verhindern.

4.2.4 Diagnostik von Erkrankungen des Skelettsystems

Bei Gelenktupfern ist die Kontaminationsgefahr durch Kontakt des Tupfers mit der äußeren Haut erhöht, insbesondere bei kleineren Tieren.

Zehengrundgelenke, Intertarsal-, Kniegelenk, ggf. Gelenke des Flügels: Eröffnung des Gelenks mit Skalpell, Tupferentnahme aus dem Gelenk.

Hüftgelenk, Femurkopf, Knochenmark Femur: Eröffnung des Gelenks durch vorsichtige manuelle Exartikulation, Beprobung des Femurkopfes und/oder bei Ablösung des Femurkopfes auch des Knochenmarks mit Tupfern.

Sehnenscheide: Eröffnung der Sehnenscheiden mit sterilem Besteck und Tupferprobenentnahme.

Sechster Brustwirbel (bei Masthähnchen): Entfernung des Lungen- und Nierengewebes im Übergang von der Lunge zu den Nieren, Durchtren-

nung der Wirbelsäule vor und hinter dem sechsten Brustwirbel gefolgt von einem Sagittalschnitt durch den Wirbel und Tupferentnahme aus dem veränderten Bereich.

4.2.5 Diagnostik von systemischen Erkrankungen und Erkrankungen des ZNS

Die Untersuchung von Herz, Leber und Milz zur Diagnose von systemischen bakteriellen Infektionen wird sehr häufig durchgeführt. Die Beprobung von Großhirn und Kleinhirn erfolgt meist nur beim Vorliegen von zentralnervösen Störungen.

Herzbeutel: Vorsichtige Eröffnung mit sterilem Besteck und Tupferentnahme aus dem Inneren des Herzbeutels.

Herz: Nach Sagittalschnitt Tupferprobenentnahme vom Herzmuskel und/oder möglicherweise veränderten Herzklappen oder Entnahme des Organs und Beprobung im Labor.

Leber, Milz: Anschnitt des Organs und Tupfern der Schnittfläche oder Organentnahme und Beprobung im Labor.

Großhirn, Kleinhirn: Probenentnahmen bei dem Vorliegen von zentralnervösen Symptomen. Gerade bei kleinen Tieren ist die Kontaminationsgefahr durch die Eröffnung des Schädels groß.

4.3 Probenentnahme von lebenden Tieren

4.3.1 Diagnostik von respiratorischen Erkrankungen

Für die Entnahme von **Nasentupfern** werden zuerst eventuell vorhandene Krusten und Beläge entfernt. Ist das Nasenloch stark verschmutzt, empfiehlt es sich, zunächst einen oder zwei Tupfer zu werfen. Es müssen entsprechend dünne Tupfer gewählt werden, um in das Nasenloch eingehen zu können. Bei Geflügel ist darauf zu achten, dass die empfindlichen Nasenklappen nicht verletzt werden.

Für die Entnahme von Trachealtupfern wird der Zungengrund durch sanften Druck von außen im Submandibularbereich zwischen den beiden Unterschnabelästen derart angehoben und mit dem Daumen fixiert, dass die Larynxöffnung sichtbar wird. Der Tupfer wird vorsichtig einige Zentimeter (je nach Vogelgröße) in die Trachea eingeführt. Die Probenentnahme wird häufig durch Abwehrbewegungen der Tiere erschwert. Für die Entnahme von Choanentupfern wird der Tupfer in die Choanenspalte derart eingeführt, dass er vorher möglichst keinen Kontakt mit der Zunge oder dem Gaumen hat, anschließend um 180° gedreht und ebenfalls ohne Berührung der Umgebung entfernt.

Für die Entnahme von **Konjunktivaltupfern** wird das untere Augenlid des gut fixierten Kopfes etwas abgehoben. Der Tupfer wird von lateral kommend parallel zum Lidrand in den Fornix conjunctivae eingeführt und leicht gedreht.

4.3.2 Diagnostik von Erkrankungen des Verdauungstraktes

Für die Entnahme von **Kropftupfern** muss der Hals in starker Streckstellung sehr gut fixiert werden, da jede Bewegung des Vogels zu Verletzungen durch den Tupfer führen kann. Da der Ösophagus in seinem Anfangsteil an der rechten Halsseite liegt, empfiehlt es sich, den Tupfer von der linken Schnabelseite über den Zungenrücken einzuführen. Die Position des Tupfers wird palpatorisch kontrolliert. Der Tupfer wird im Kropf einige Male entlang der längsverlaufenden Schleimhautfalten geführt und dann rasch herausgezogen.

Möglichst frische **Kotproben** können in Beständen, in denen ein Abfangen der Vögel nicht gewünscht wird, gesammelt werden. Für die bakteriologische Untersuchung eignen sich nur frisch abgesetzte, nicht ausgetrocknete Proben.

Zur Entnahme eines **Kloakentupfers** werden die Federn in der Umgebung derart gescheitelt, dass die Kloake gut zugänglich ist. Der Tupfer wird mit sanftem Druck soweit in die Kloake eingeführt, dass sich der Watteteil im Inneren der Kloake befindet, dann wird er einmal um 180° gedreht und vorsichtig aus der Kloake entfernt.

4.3.3 Diagnostik von systemischen Erkrankungen und Hautinfektionen

Die **Blutentnahme** erfolgt nach Hautdesinfektion aus der Flügelvene (*V. ulnaris*), der Metatarsalvene (*V. metatarsalis plantaris superficialis*) oder der Jugularvene (*V. jugularis dextra*). Die entnommene Blutmenge sollte 1 Prozent der Körpermasse nicht übersteigen. Eine bakteriologische Untersuchung von Blutproben ist bei Geflügel eher unüblich.

Die Entnahme von **Organbiopsien** oder die Punktion von flüssigkeitsgefüllten Körperhöhlen sind möglich, werden aber bei Rassegeflügel selten durchgeführt.

Beim Verdacht einer bakteriellen Ätiologie bei **Hautveränderungen** sollten zunächst Verschmutzungen und oberflächliche Sekrete mit einem sterilen Tupfer entfernt werden, dann ist die Tupferprobe aus dem Übergangsbereich von verändertem zu gesundem Gewebe nehmen.

5. Empfehlungen zur Probenentnahme bei Fischen

5.1 Allgemeines

Zur Diagnostik einer akut auftretenden Erkrankung müssen für die Probenentnahme Tiere aus dem Bestand ausgewählt werden, die klinische Anzeichen einer Erkrankung zeigen, wie Lethargie, Absondern vom Schwarm, Dunkelfärbung, Hämorrhagien oder Hautulzerationen. Die Anzahl der untersuchten Tiere sollte der Bestandsgröße angemessen sein. Dieses muss insbesondere berücksichtigt werden, wenn es sich um eine Probenentnahme im Rahmen eines routinemäßigen Monitorings handelt und von einer geringen Prävalenz von Infektionserregern ausgegangen werden muss. Bei Speisefischen erfolgt die Probenentnahme i. d. R. im Rahmen einer pathologischen Untersuchung, die Entnahme von Tupferproben an lebenden Tieren ist bei diesen Fischen von untergeordneter Bedeutung.

Zur Probenentnahme können Tupfer mit Transportmedium (**Tabelle 1**) verwendet werden, oder es können veränderte Organe entnommen und in einem sterilen Gefäß (sterile Petrischale) zur Untersuchung gebracht werden. Sollen Organproben untersucht werden, ist darauf zu achten, dass das Material während des Transports nicht austrocknet. Deshalb ist die Verwendung von Transportmedium bei Tupfern und bei Organmaterial in dem Fall, in dem die Proben erst mit Zeitverzögerung, wie z. B. nach einem Versand, untersucht werden können, unbedingt anzuraten. Um auch temperatur- und lichtempfindliche Bakterien nachweisen zu können, sollte immer ein Transportmedium mit Holzkohlezusatz verwendet werden und der Versand immer gekühlt erfolgen. Die Kultur von Fischproben hat bei einer Temperatur von 15 bis 25 °C (oft sind beide Temperaturbereiche sinnvoll) über mehrere Tage zu erfolgen. Bakterien, die nach einer Kultur der Proben bei 37 °C nachgewiesen werden, tragen oft nicht zum Krankheitsgeschehen bei.

5.2 Haut

Proben von Hautveränderungen, wie Ulzerationen oder Furunkeln, werden unter Verwendung eines Tupfers direkt entnommen. Die Untersuchung von Hautproben wird durch die ubiquitär im Wasser und auch physiologischerweise auf der Haut der Fische vorhandenen Bakterien erheblich erschwert. Um die Bakterien identifizieren zu können, die ursächlich zur Entstehung von Ulzerationen geführt haben, muss deshalb der Übergangsbereich von verändertem zu gesundem Gewebe beprobt werden. Hierfür kann es notwendig sein, besonders feine Wattetupfer zu verwenden. In Tupferproben aus zentralen Bereichen von Hautulzerationen werden oft nur ubiquitäre Bakterien aus dem Wasser nachgewiesen.

5.3 Kiemen

Von veränderten Kiemenbereichen, z. B. bei Kiemenschwellungen oder Kiemennekrosen, werden Proben unter leichtem Drehen des Tupfers entnommen. Auch die Interpretation von Untersuchungsergebnissen aus Kiemenproben wird durch die physiologische Bakterienflora auf den Kiemen erheblich erschwert.

5.4 Aszites

Bei Fischen mit Aszites kann Flüssigkeit mit einer sterilen Spritze entnommen werden. Dazu wird der Fisch auf die dorsale Körperseite gedreht und mit dem Kopf nach unten gelagert. Die Kanüle wird unmittelbar cranial der Bauchflossen in die Leibeshöhle eingestochen und dann – je nach Fischgröße – ca. 1 cm weit flach nach cranial geführt, wo Flüssigkeit aufgenommen werden kann.

5.5 Organproben

Für die Entnahme von Organproben werden zu beprobende Fische tierschutzgerecht getötet. Die Leibeshöhle wird mittels sterilem Sektionsbesteck (Schere, Pinzette) eröffnet. Um eine Kontamination der Organe mit Bakterien der Hautflora und aus dem Verdauungstrakt zu vermeiden, wird die Leibeshöhle durch einen Einschnitt caudal der Afteröffnung mit der Schere eröffnet. Dann wird eine Scherenklinge durch die geschaffene Öffnung eingeführt, der After umschnitten und die Leibeshöhle durch Schneiden entlang der ventralen Körperlinie in Richtung Brustflossen eröffnet. Mit einer Pinzette wird die Bauchdecke an der Stelle des initialen Einschnitts angehoben, eine Scherenklinge eingeführt und mit einem bogenförmigen Schnitt, der dorso-frontal verläuft, die Bauchdecke abgehoben. Dabei ist die Kontamination der Leibeshöhlenorgane mit Hautschleim oder Schuppen zu vermeiden. Beprobt werden i. d. R. Leber, Milz und Niere, indem Gewebe mit sterilem Besteck angeschnitten und die Schnittflächen mittels Tupfer beprobt werden. Wie oben beschrieben, können auch Gewebestücke entnommen und in einem sterilen Gefäß (Petrischale) direkt zur Untersuchung gebracht werden, wenn die Laboruntersuchung zeitnah erfolgt. Werden bei der Sektion pathologische Veränderungen in anderen als den genannten Organen beobachtet, werden diese Organe wie oben beschrieben gesondert beprobt.

Generell ist auf sauberes Arbeiten zu achten und eine Verletzung des Verdauungstraktes in jedem Fall zu vermeiden. Da Organgewebe von Fischen nach dem Tod rasch von Bakterien besiedelt wird, die langsam wachsende Fischpathogene überwachsen, sollten nur frischtote Fische beprobt werden, wobei zügig gearbeitet werden sollte.

Die vorliegenden Leitlinien zur Probengewinnung für die bakteriologische Diagnostik beim Schwein, Rind, Geflügel und Fisch wurden vom Arbeitskreis „Antibiotikaresistenz“ der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft (DVG) erstellt.

Mitglieder des DVG-Arbeitskreises „Antibiotikaresistenz“

Alexander Böttner (Schwabenheim), Christiane Cuny (Wernigerode), Michael Fehr (Hannover), Andrea T. Feßler (Berlin), Arne Jung (Hannover), Heike Kaspar (Berlin), Corinna Kehrenberg (Hannover), Manfred Kietzmann (Hannover), Dieter Klarmann (Oldenburg), Elisabeth Müller (Bad Kissingen), Kerstin E. Müller (Berlin), Thomas Peters (Wunstorf), Angelika Richter (Leipzig), Christine Schwarz (Berlin), Stefan Schwarz (Berlin), Claudia Sigge (Bonn), Dieter Steinhagen (Hannover), Bernd Stephan (Leverkusen), Jutta Verspohl (Hannover), Karl-Heinz Waldmann (Hannover), Jürgen Wallmann (Berlin), Christiane Werckenthin (Oldenburg)

An der Erstellung dieser Leitlinien haben zudem mitgewirkt: Heiner Bollwein (Zürich), Doris Höltig (Hannover), Martin Kaske (Zürich) und Volker Krömker (Hannover).

Korrespondierender Autor: Prof. Dr. Karl-Heinz Waldmann, Klinik für kleine Klauentiere und forensische Medizin und Ambulatorische Klinik, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Bischofsholer Damm 15, 30173 Hannover, karl-heinz.waldmann@tiho-hannover.de