

# Probenentnahme – Erregerdiagnostik - Antibiotogramm

Fortbildungsveranstaltung RP Darmstadt/LTK Hessen

15.05.2019

## Allgemeine Aspekte zur Probenentnahme

- **Am besten: akut erkrankt, nicht antibiotisch vorbehandelt**
- **ggf. mehrfach beproben**, z.B. bei Erregern mit intermittierender Ausscheidung
- **Bestandsdiagnostik: bei unklarer Symptomatik: Beprobung von mind. 5 Tieren**
- Probenentnahme unter Verwendung **sterilen Instrumentariums**
- **Jegliche Kontamination vermeiden**: ggf. Reinigung/Desinfektion der Entnahmestelle



## Allgemeine Aspekte zur Probenentnahme

- **Austrocknung auf dem Transportweg vermeiden:** Tupfer mit nährstoffreichem Transportmedium oder bei großer Probenmenge gut verschließbares, steriles Plastikgefäß (trockene Tupfer sind nur für molekularbiologische Diagnostik geeignet)
- Bei Verdacht auf **strikt anaerob wachsende Bakterien** Verwendung von **Medium mit Redoxindikator**
- Bei **Sepsisverdacht: spezielle Blutkulturentnahmesysteme**
- Bei **Gewinnung von Organmaterial aus verendeten/euthanasierten Tieren, abortierten Feten:** schnelle Sektion/Kühlung, Probenentnahme aus krankhaft veränderten Regionen der Organe

## Allgemeine Aspekte zum Probenversand

- **Kühlung** des Untersuchungsmaterials bis zum Versand (+ 4°C)
- **Ausnahme: Blutkulturen** (Lagerung bei 37°C)
- Versand per Post oder Kurierdienste: Einhalten der **Verpackungsvorschrift** (ADR, RID, IATA-DGR)
- Innenverpackung – saugfähiges Material – Schutzgefäß/Schutzhülle – Außenverpackung
- **Kennzeichnung „UN 3373 Biological Substance, Category B“**

# Erregerisolierung und Diagnostik

## Informationen zu Patient und Probenmaterial

- Tierart
- Alter
- (Verdachts-)Diagnose
- Antibiotische Vorbehandlung
- Herkunft der Probe (Körperregion)
- Entnahmezeitpunkt
- Entnahmeart

## Befunderhebung im mikrobiologischen Labor

- Bakterienwachstum: ja/nein?
- Reinkultur/Mischkultur?
- Keimzahl (semi-quantitativ)
- Spezifisch pathogene Bakterien – Standortmikrobiota - Kontamination?
- Weitere phänotypische und genotypische Untersuchungen

Auswahl der Kulturmedien und Kultivierungsbedingungen

**Diagnose**

## Beispiele für veterinärmedizinisch relevante Erreger, die sich NICHT mittels zellfreier künstlicher Medien kultivieren lassen

- *Chlamydiaceae* (*Chlamydia* spp., *Chlamydophila* spp.)
- *Coxiella burnetii*
- *Lawsonia intracellularis*
- Hämotrophe Mycoplasmen
- *Anaplasma* spp.
- *Ehrlichia* spp.
- *Neorickettsia* spp.

# Empfindlichkeitsprüfung (Antibiogramm)

## Methoden

**Bestimmung der *in-vitro* Empfindlichkeit eines bakteriellen Infektionserregers gegenüber antimikrobiellen Wirkstoffen – Ziele:**

- Therapieempfehlungen für den behandelnden Tierarzt
- Ausschluss der Anwendung von Wirkstoffen gegenüber denen der nachgewiesene Erreger bereits *in-vitro* eine Resistenz zeigt

Agardiffusion  
qualitative Daten

Bouillon-Mikrodilution  
quantitative Daten



● MHK

# Empfindlichkeitsprüfung (Antibiogramm)

## Methoden

- **Die Bouillon-Mikrodilution** ist die **vom Arbeitskreis Antibiotikaresistenz der DVG empfohlene Methode** für die In-vitro-Empfindlichkeitsprüfung **in der Routinediagnostik**, der Forschung und bei Monitoringstudien (DTBI 2017, 65 (4): 472-481).
- **Kommerziell erhältliche Mikrotiterplatten** für Erreger von
  - ✓ Infektionen bei Großtieren
  - ✓ Infektionen bei Kleintieren
  - ✓ Mastitiden
- **Quantitative Daten (MHK-Werte)** besitzen **höhere Aussagekraft** als HHD-Werte
- **Für Bouillon-Mikrodilution** gibt es **mehr anerkannte veterinärspezifische klinische Grenzwerte** als für die Agardiffusion



# Empfindlichkeitsprüfung (Antibiogramm)

## National/international anerkannte Verfahren

Verschiedene Organisationen geben Durchführungsvorschriften heraus:

- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)
- European/Veterinary Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST/VETCAST)
- British Society for Antimicrobial Chemotherapy (BSAC)
- Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM)
- *Deutsches Institut für Normung (DIN) (Nicht mehr gültig!?)*



**Empfindlichkeitsprüfung muss exakt nach den Vorgaben einer solchen validierten Durchführungsvorschrift erfolgen!**

# Empfindlichkeitsprüfung (Antibiogramm)

## National/international anerkannte Verfahren

Vorgaben umfassen hierbei beispielsweise:

- Methode
- Nährmedien
- Supplemente für anspruchsvolle Bakterien
- Inokulumdichte
- Inkubationszeiten und –temperaturen
- Atmosphäre
- Qualitätskontrollen (Durchführung, erforderliche Qualitätskontrollstämme)



# Empfindlichkeitsprüfung (Antibiogramm)

## National/international anerkannte Verfahren

- Durchführungsvorschriften sind i.d.R. **Standards** und keine Richtlinien.
- Standards (z.B. CLSI) erlauben im Gegensatz zu Richtlinien **keine Abweichungen bezüglich Material und Methoden!**



Die Bewertung der Ergebnisse ist nur möglich, wenn die Durchführungsvorschrift und die dazugehörigen Grenzwerte von derselben Organisation/Institution erarbeitet wurden.



# Empfindlichkeitsprüfung (Antibiogramm)

## National/international anerkannte Verfahren - Verfügbarkeit

Veterinärmedizinisch relevante Erreger, für die derzeit keine anerkannten Methoden zur Empfindlichkeitsprüfung zur Verfügung stehen:

- *Ornithobacterium rhinotracheale*
- *Riemerella anatipestifer*
- *Bibersteinia* spp.
- *Bordetella* spp. außer *B. bronchiseptica*
- *Mycoplasma* spp.
- *Lawsonia intracellularis*
- *Chlamydia* spp.
- *Coxiella* spp.

Veterinärmedizinisch relevante Erreger, für die nur in sehr eingeschränktem Maße anerkannte Methoden zur Empfindlichkeitsprüfung zur Verfügung stehen:

- obligate Anaerobier

## **Für die adäquate Erstellung von Antibiogrammen in der eigenen Praxis sind**

- erhebliche Anforderungen/rechtliche Rahmenbedingungen (bauliche und organisatorische Anforderungen an das Labor nach BioStoffV und einschlägigen TRBAs, Erlaubnis nach § 44 IfSG) und
- fundierte Kenntnisse in der mikrobiologischen Diagnostik/der Durchführung der Empfindlichkeitsprüfung

**zu erfüllen.**



**In vielen Fällen ist es notwendig bzw. besser, die Proben an ein ausgewiesenes Labor zu übersenden und den Erregernachweis sowie das Antibiogramm dort erstellen zu lassen.**