# PERSÖNLICHE & INTENSIVE BETREUUNG IST UNS WICHTIG

## VAXXINOVA DIAGNOSTICS LEIPZIG

Vaxxinova GmbH diagnostics · Deutscher Platz 5e · 04103 Leipzig · www.vaxxinova.de

**Customer Service – Diagnostik**

☎ +49 (0) 341 463 79 8 50
🖷 +49 (0) 341 463 79 8 58
✉ leipzig@vaxxinova.com

**DR. BERND-ANDREAS SCHWARZ**
Leiter Vaxxinova diagnostics
T +49 (0) 341 463 79 8 54
M +49 (0) 173 258 62 93
bernd-andreas.schwarz@vaxxinova.com

**DR. DANIEL PIEHLER**
Diagnostics Team Leipzig
Leiter Bakteriologie
T +49 (0) 341 463 79 8 53
daniel.piehler@vaxxinova.com

**DR. ULRIKE RIPP**
Diagnostics Team Leipzig
QMB
T +49 (0) 341 463 79 8 51
ulrike.ripp@vaxxinova.com

**DR. CHRISTIANE MAUL**
Diagnostics Team Leipzig
T +49 (0) 341 463 79 8 52
christiane.maul@vaxxinova.com

**KATRIN KRAEMER**
Stammmanagement
T +49 (0) 341 463 79 8 65
katrin.kraemer@vaxxinova.com

**DR. ADRIAN LÜHRS**
Scientific Manager
T +49 (0) 4721 300 55 14
M +49 (0) 173 160 76 87
adrian.luehrs@vaxxinova.com

## VAXXINOVA VERTRIEB Autogene Impfstoffe MÜNSTER

Vaxxinova GmbH · Johann-Krane-Weg 25 · 48149 Münster · www.vaxxinova.de

**Customer Service – Autogene Impfstoffe**

☎ +49 (0) 251 284 126 00
🖷 +49 (0) 251 284 126 11
✉ bestellung@vaxxinova.com

**DR. PATRICK WEFSTAEDT**
Leiter Vertrieb
M +49 (0) 172 549 79 27
patrick.wefstaedt@vaxxinova.com

**MICHAEL NAGEL**
Vertrieb Außendienst
M +49 (0) 173 760 06 39
michael.nagel@vaxxinova.com

**ORTWIN MENKE**
Vertrieb Außendienst
M +49 (0) 172 762 14 65
ortwin.menke@vaxxinova.com

**DR. THOMAS NOÉ**
Technical Service Manager
M +49 (0) 173 595 18 67
noe@vaxxinova.com

# LEITFADEN ZUR PROBENGEWINNUNG
## FÜR DIE MIKROBIOLOGISCHE DIAGNOSTIK BEI TIEREN

:: Diagnostik als Basis

vaxxinova
veterinary prevention strategies

Die gezielte Untersuchung von diagnostischem Material 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 Therapie und Prophylaxe. Ebenfalls Grundvoraussetzung für die Herstellung von autogenen Impfstoffen ist die Isolierung der am Infektionsgeschehen beteiligten Krankheitserreger. Entnahme, Handhabung und Transport von diagnostischen Proben sind Schlüsselfaktoren für die Richtigkeit von Laboranalysen. Diese präanalytische Phase **– vor Beginn der Laboruntersuchungen –** liefert den größten Beitrag zu systematischen Fehlern in den Laborergebnissen. Entscheidend für den Erfolg der Diagnostik sind die korrekte Auswahl des Untersuchungsmaterials, deren Entnahme sowie deren Weiterleitung. Ungeeignete Probenentnahmesysteme und inkorrekte Handhabung können erhebliche Unrichtigkeiten in der Laboranalyse verursachen. Die Einhaltung einiger einfacher Empfehlungen kann präanalytische Fehler reduzieren. Dieser Leitfaden beschreibt, welche Punkte bei der Probenentnahme geplant und dokumentiert werden müssen, welche Proben für bestimmte Erreger genommen werden und welche Punkte beim Transport beachtet werden müssen.

## :: Planung und Vorbereitung

Ein vollständiger Vorbericht und komplettes Begleitschreiben sind wesentliche Voraussetzungen, um im Labor die methodisch geeignetsten Untersuchungen zu veranlassen und Befunde richtig zu interpretieren.

**Folgende Angaben sind mindestens erforderlich:**

- Einsendende Praxis oder Organisation sowie verantwortliche Tierärztin bzw. Tierarzt mit vollständiger Adresse, Telefonnummer, Fax, E-Mail
- Tierhalter mit vollständiger Adresse und VVVO-Nummer
- Angaben zum Tier bzw. Tierbestand (Tierart, Rasse, Geschlecht, Nutzung, Alter, Gewicht, Kennzeichnung bzw. Ohrmarke)
- Klinische Angaben (Beginn, Symptome, Verlauf, Morbidität)
- Anzahl, Art und Kennzeichnung des Untersuchungsmaterials
- Datum der Probenentnahme
- Nachweisziele
- gewünschte Adresse(n) für Befundübermittlung und Rechnungsstellung

Die exakte Dokumentation der Herkunft der entnommenen Proben ist für die Herstellung autogener Impfstoffe äußerst wichtig. Die isolierten Stämme müssen eindeutig einem Betrieb zugeordnet werden.



:: LEITFADEN ZUR PROBENGEWINNUNG

## :: Stichprobenplanung Serologie

Die Serologie ist ein wichtiges Instrument für die Detektion von Infektionen und Erkrankungsprävalenzen, das Monitoring von Vakzineeinsätzen und zur Festlegung geeigneter Impfzeitpunkte. Der Erfolg hängt auch von der Stichprobengröße und der Häufigkeit der Probenentnahmen ab. Die Festlegung der Mindestprobenzahl ist entscheidend für die Wertigkeit der Ergebnisse. Die Grundlagen der Stichprobenziehung sollten bekannt sein oder mit dem Labor beraten werden, bevor ein Untersuchungsprogramm etabliert bzw. ein Untersuchungsauftrag erteilt wird. Bei zu geringen Stichprobenumfängen sollte man sich im Klaren sein, dass die Reduktion der Probenzahl zu einem Verlust an Information und zu einer potentiellen Fehlinterpretation der Ergebnisse führen kann.

Zur Erkennung einer Erkrankung (d.h. zum Nachweis von spezifischen Antikörpern) sind ggf. zwei Serumproben (sog. Probenpaar) erforderlich, die unmittelbar nach dem Auftreten der klinischen Erscheinungen und frühestens zwei Wochen später gewonnen werden.

Für die serologische Diagnostik genügen im Allgemeinen 3 – 5 ml Serum oder Plasma bzw. 6 – 10 ml Voll- oder EDTA-Blut.

**Serum:**
Für die Mehrzahl der Untersuchungen wird Serum verwendet.

**Vollblut:**
Vollblut kann in entsprechenden Serumröhrchen, vorzugsweise mit Trennmittel, eingesendet werden. Eine Zentrifugation kann ebenfalls vor dem Versand erfolgen.

**EDTA-Blut:**
Bitte auf gute Durchmischung (nicht schütteln!) achten. EDTA-Blut wird für die Blutbilder und für den PCR-Nachweis von Mycoplasma suis benötigt.

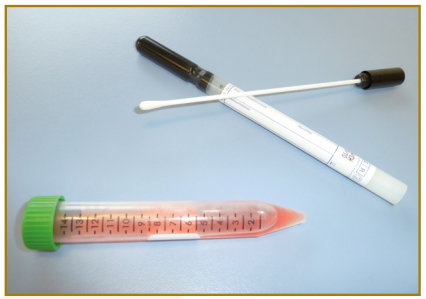
vaxxinova
veterinary prevention strategies

## :: Entnahmehinweise für die bakteriologische Diagnostik

Bei der Auswahl der Tiere ist darauf zu achten, dass möglichst antibiotisch unbehandelte und frisch erkrankte Tiere ausgewählt werden. Dies erhöht die Sicherheit, dass sich die für die primäre Infektion verantwortlichen Bakterienstämme isolieren lassen und das Ergebnis des Resistenztests die reale Resistenzlage dieser Erreger repräsentiert. Auch wenn ein autogener Impfstoff im Einsatz ist, sollte regelmäßige Diagnostik erfolgen. Nur mittels fortlaufender, begleitender Diagnostik ist es möglich, frühzeitig eine Drift der Erreger und damit ein sich wechselndes Erregerspektrum zu erkennen, zumal eine erfolgreiche Impfung immer auch einen erheblichen Selektionsdruck auf die „Zielkeime" ausübt.

Je nach Klinik und zu erwartenden Erregern müssen unterschiedliche Proben genommen werden. Hierbei müssen rechtliche Grundlagen berücksichtigt werden, z.B. Sektion, gezielte Organentnahme, Biopsie, Abstriche. Eine Probe sollte aus Organmaterial und/oder aus Tupfer-Abstrichen mit Transportmedium bestehen.

Bei kleinen Probenvolumina (z. B. Tracheobronchialsekret) verhindert ein Transportmedium die Austrocknung der Probe. Ein Transportmedium kann die Schädigung der Zielkeime und/oder Verdrängung dieser Erreger durch eine robustere Konkurrenzflora verhindern oder minimieren.



Bei Verdacht auf Infektionen mit besonders empfindlichen Bakterien (z. B. Mykoplasmen) lässt sich durch Verwendung eines speziellen Transportmediums die Vitalität und Anzüchtbarkeit essentiell verbessern. vaxxinova stellt dieses auf Anfrage zur Verfügung.

Bei unklarer Erregerzusammensetzung sind mehrere verschiedene Transportsysteme je Abstrichstelle zu verwenden.

| | |
|---|---|
| Abstrichträger ohne Medium | Isolierung anspruchsloser Bakterien (z. B. Salmonellen); PCR-Diagnostik |
| Amies + Holzkohle | für empfindliche und anspruchsvolle Bakterien mit Holzkohle als Adsorbens |
| Anaerobier-Transportsystem | Anaerobier (z. B. Bioptate) |
| Virus-Transportsystem | zur Kultivierung von Viren |
| Mykoplasmen-Transportsystem | Anzucht Mykoplasmen |



:: LEITFADEN ZUR PROBENGEWINNUNG

Die Probenentnahme sollte stets mit sterilen Instrumenten, Geräten und Behältnissen erfolgen. Bei der Probenentnahme ist jegliche Verunreinigung der Probe zu vermeiden.

Bei Probenmaterial aus primär nicht sterilen Bereichen (Kot, Rachen etc.) muss besonderer Wert bei der Beurteilung der Befunde auf die Menge der isolierten Erreger im Verhältnis zur Entnahmetechnik und das Verhältnis zu Bakterien der „Normalflora" gelegt werden, da der zum Zeitpunkt der Probenentnahme vorhandene Keimstatus sich während des Transports zur Untersuchung verändern kann und Begleitkeime die Diagnostik dann erschweren.

In Fäulnis übergangene oder gefrorene Tierkörper und Organe sind ebenso wie multimorbide Kümmerer für die Diagnostik eines speziellen Krankheitsgeschehens unbrauchbar.

Untersuchungen von Pool- oder Sammelproben mehrerer Tiere sind für die bakteriologische Diagnostik meist ungeeignet, weil die Empfindlichkeit des Untersuchungsganges geringer wird und Aussagen zum Einzeltier nicht mehr getroffen werden können.

Proben zur histologischen Untersuchung werden in Formaldehydlösung (10 %) konserviert.

Tupferproben zur Diagnostik **respiratorischer Erkrankungen** aus Nasenhöhle und Tonsillen sind meist mit unspezifischer Begleitflora kontaminiert und bedürfen einer schnellen Bearbeitung. Zur Entnahme von Nasentupferproben sind die Schweine am Kopf zu fixieren. Tupfer- bzw. Kratzproben von den Tonsillen (Nachweis von z. B. Actinobacillus pleuropneumoniae u. a.) können nach Fixation und Einführen eines Maulkeiles auch am wachen Tier sicher entnommen werden.

Trachealtupfer und Lungenspülproben (bronchoalveoläre Lavage; BALF) liefern vom lebenden Tier Befunde, die ebenso aussagekräftig sind wie Ergebnisse von Sektionsmaterial.

Im Rahmen der **Abortdiagnostik** sind mindestens zwei Früchte und Eihautteile – möglichst aus dem Geburtsweg – zu entnehmen; ggf. eine Zervixtupferprobe.

Für **Zervixtupfer** sind Tupferträger in Verbindung mit einem ca. 40 cm langen Röhrenspekulum verwendbar. Zur Entnahme haben sich auch sterilisierte Spekula zum Einmalgebrauch bewährt. Die Entnahme erfolgt nach Sichtkontrolle und Beurteilung des Zervixeinganges auf Schleimhautbeschaffenheit und Sekretion. Eine „blinde" Tupferung ergibt oft unspezifische, kaum bewertbare mikrobiologische Befunde.

Mit kurzen Tupfern aus dem Scheidenvorhof entnommene Proben sind diagnostisch wertlos.

vaxxinova
veterinary prevention strategies

**Kotproben** sind möglichst direkt rektal vom Einzeltier, nicht vom Stallboden, zu entnehmen. Für die Salmonellenuntersuchung ist ein wirksames Anreicherungsverfahren vorhanden, so dass (nur) hier der Einsatz von Sammelkotproben ohne wesentlichen Verlust an Information möglich ist.

Für die Diagnostik von **Harnwegsinfektionen** wird überwiegend spontan abgesetzter Mittelstrahlurin aufgefangen. Eine Keimvermehrung im Harn während des Versands kann den wahren Keimgehalt jedoch erheblich verfälschen. Alternativ kann ein Röhrchen mit Harn zentrifugiert und das Sediment anschließend getupfert werden; der Transport des Tupfers erfolgt dann in einem Transportmedium.

Für den Transport kann auch ein spezielles Harntransportsystem (z.B. ExactoBac-U®) verwendet werden, das ein lyophilisiertes Bakteriostatikum enthält. Selbst anaerob wachsende Harnwegsinfektionserreger wie *Actinobaculum suis* können so noch nach mehreren Tagen aus infizierten Harnproben nachgewiesen werden.

| Erreger | benötigtes Organmaterial oder Tupfer von |
|---|---|
| APP | Lunge, Pleura, Tonsille |
| Bordetellen | Lunge, Trachea, Nasentupfer |
| Clostridien | Dünndarm, Kot |
| Escherichia coli | Darm, Kot |
| Haemophilus parasuis | Gehirn, ungeöffnete Gelenke, Tupfer von serösen Häuten, (bedingt) Lunge; Herz mit Herzbeutel |
| Mykoplasmen | Lunge, Tupfer von serösen Häuten, ungeöffnete Gelenke, Herz mit Herzbeutel |
| Pasteurellen | Lunge, Nasentupfer |
| Staphylokokken | Haut |
| Streptokokken | Gehirn, ungeöffnete Gelenke, Vaginalabstriche, Lunge |



:: LEITFADEN ZUR PROBENGEWINNUNG

## :: Beschriftung

Nach der Entnahme sind die Proben eindeutig, analog zum Begleitschreiben und dauerhaft (nicht abwischbare Beschriftung der Behältnisse) zu kennzeichnen, um das Ergebnis später dem entsprechenden Tier oder Stallabteil zuordnen zu können. Eine sorgfältige Beschriftung ist zur Sicherung der Identität einer Probe unbedingt erforderlich.

## :: Probenaufbewahrung, -verpackung und -transport

Der rasche und sachgerechte Transport des Materials in das Labor ist ein wichtiger Teil der präanalytischen Phase. Bestimmungsgemäße und zertifizierte Verpackungssysteme erhalten Sie bei Teilnahme an unserem TNT-Abholservice.

Proben, die nicht über unseren TNT-Abholservice in das Labor gelangen, können über den Postweg verschickt werden. Hierfür gelten die jeweils aktuellen Bestimmungen der Deutschen Post „Regelungen für die Beförderung von gefährlichen Stoffen und Gegenständen“. Der Absender trägt haftungsrechtlich die Verantwortung für die Kennzeichnung und adäquate Verschickung des Probenmaterials von Erregerkulturen oder Proben mit im Infektionsschutzgesetz aufgelisteten Krankheiten. Von der Deutschen Post zugelassen sind nur Verpackungen nach DIN EN 829 (Probengefäß, aufsaugende Materialien, Schutzgefäß, kistenförmige Verpackung oder Versandhülle).

Alle für eine Laboruntersuchung vorgesehenen Proben sind auslauf- und bruchsicher zu verpacken. Grundsätzlich gilt, dass die verwendete Verpackung flüssigkeitsdicht sein muss und absorbierendes Material zwischen Primär- und Sekundärverpackung einzufügen ist. Bei Proben ohne Krankheitserreger kommen als Außenverpackung für den postalischen Versand eine entsprechend gekennzeichnete, reißfeste Versandtasche infrage. Bei Proben mit Krankheitserregern bedarf es zusätzlich einer bauartgeprüften, kistenförmigen Außenverpackung mit Kennzeichnung UN3373.

Erregerkulturen oder isolierte Erreger sind keine diagnostischen Proben; sie unterliegen nicht der UN3373, sondern der UN2814 und bedürfen speziellen Verpackungen.

Alle Proben sollten gekühlt bei +4 °C bis zur Untersuchung aufbewahrt bzw. versandt werden. Die Proben sollten innerhalb von 24 Stunden nach Entnahme noch in gekühltem Zustand im Labor eintreffen.

vaxxinova
veterinary prevention strategies

**Spezifische Probeschemata für PRRS:**

| Symptom | Probenmaterial | Probenentnahme nach Klinik | Untersuchungsart |
|---|---|---|---|
| Husten | Blutprobe, BALF | sofort | PCR |
| Husten | Blutprobe | 3 Wochen nach Beginn des Hustens | ELISA |
| Spätabort | Abortmaterial | sofort | PCR |
| | Blutprobe Sau | 2 – 3 Wochen nach Abort | ELISA |
| totgeborene Ferkel | Ferkel | sofort | PCR |
| | Nabelschnur | sofort | PCR / ELISA |
| lebensschwache Ferkel | Blutprobe Ferkel | sofort | PCR / ELISA |
| | Blutprobe Sau | 2 – 3 Wochen nach Abort | ELISA |
| Umrauschen | Blutprobe Sau | 2 – 3 Wochen nach Umrauschen | ELISA |
| Impfkontrolle | Blutprobe | kontinuierlich | ELISA |
| Statuskontrolle | Blutprobe | kontinuierlich | ELISA |

**Spezifische Probeschemata für Schweineinfluenza:**

| Symptom | Probenmaterial | Probenentnahme nach Klinik | Untersuchungsart |
|---|---|---|---|
| Abort | Abortmaterial | nicht geeignet! | |
| | Nasentupfer Sau | sofort bei Fieber | PCR |
| | Blutprobe Sau | 2 – 3 Wochen nach Abort | ELISA |
| totgeborene Ferkel | Ferkel | nicht geeignet! | |
| | Blutprobe Sau | 2 – 3 Wochen nach Geburt | ELISA |
| lebensschwache Ferkel | Blutprobe Sau | 2 – 3 Wochen nach Geburt | ELISA |
| Umrauschen | Blutprobe Sau | 2 – 3 Wochen nach Umrauschen | ELISA |
| | Nasentupfer Sau | sofort bei Fieber | PCR |
| Husten | Nasentupfer | sofort | PCR |
| Husten | Blutprobe | 3 Wochen nach Beginn des Hustens | ELISA |
| Impfkontrolle | Blutprobe | kontinuierlich | ELISA |
| Statuskontrolle | Blutprobe | kontinuierlich | ELISA |





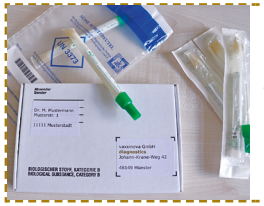
## :: Der Weg zum Impfstoff

vaxxinova bietet ein überzeugendes Konzept, um bakterielle oder virale Erkrankungen erfolgreich zu kontrollieren.

Auf der Basis des typisierten Krankheitserregers können wir gezielt autogene Impfstoffe herstellen.

### :: PROBENENTNAHME

Von erkrankten Schweinen werden Proben für die bakteriologische Untersuchung genommen.

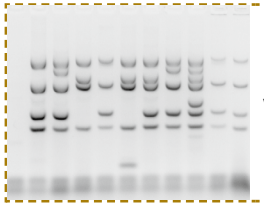


### :: PROBENVERSAND

Der Transport sollte gekühlt, schnell und in der für den Transport zugelassenen Verpackung (stabil und bruchsicher) stattfinden, sodass das Untersuchungsmaterial möglichst frisch eines unserer Labors erreicht. Bei Tupferproben für die bakteriologische Untersuchung immer Tupfer in das Transportmedium einsetzen.

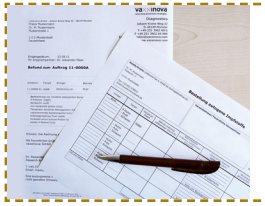
### :: UNTERSUCHUNG IM LABOR

Die Proben werden nach dem Eintreffen in unseren Labors schnellstmöglich bearbeitet und auf bakterielle Infektionserreger untersucht. Bei der bakteriologischen Untersuchung ist eine Bebrütung von mindestens 24 Stunden notwendig, sodass in den meisten Fällen frühestens 48 Stunden nach Eintreffen der Probe in unserem Labor mit einem Befund zu rechnen ist.



### :: TYPISIERUNG (VIRULENZ / EPIDEMIOLOGIE)

Bakterien-Stämme werden mit Hilfe modernster Methoden im Hinblick auf ihre weiteren Eigenschaften typisiert: z.B. Serotypen, Virulenz-assozierte Gene, Toxingene.



### :: BEFUND UND STAMMAUSWAHL

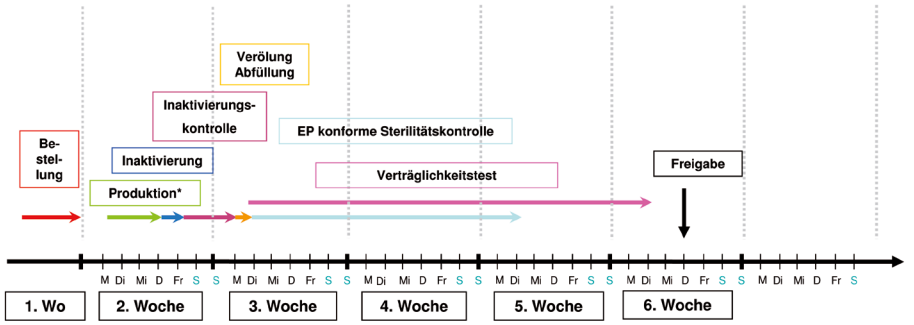
Nach Abschluss der Untersuchungen wird dem Einsender ein Befund zugeschickt. Dieser stellt die Grundlage für eine Bestellung bestandsspezifischer Impfstoffe dar.

vaxxinova
veterinary prevention strategies

## :: Produktionszeitstrahl für bakterielle und virale Impfstoffe

Schematische Darstellung der einzelnen Produktionsschritte mit den benötigten Zeiträumen:

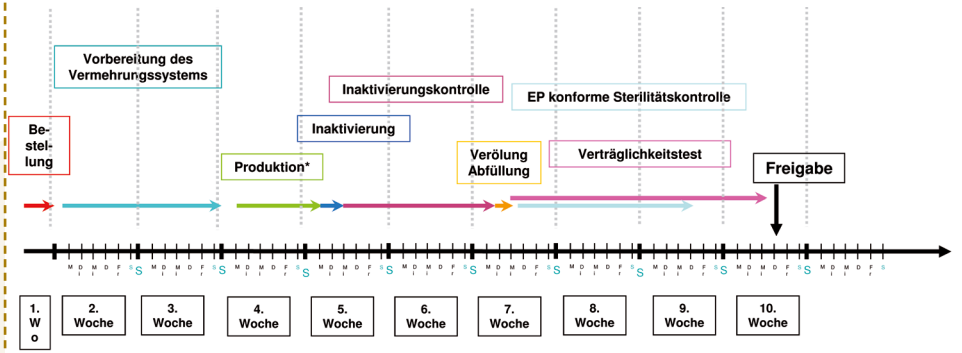
### ZEITSTRAHL OPTIMALER PRODUKTIONSVERLAUF „SCHNELL WACHSENDE BAKTERIEN“




* Voraussetzung ist das Vorliegen geprüfter Isolate
Ansonsten müssen mindestens 3 zusätzliche Wochen eingeplant werden

:: **HINWEIS** Aufgrund des individuellen Produktionsprozesses sind immer zeitliche Verzögerungen möglich.

### ZEITSTRAHL OPTIMALER PRODUKTIONSVERLAUF „VIRALE BESTANDSSPEZIFISCHE IMPFSTOFFE“




* Voraussetzung ist das Vorliegen geprüfter Isolate
Ansonsten müssen mindestens 3 zusätzliche Wochen eingeplant werden

:: **HINWEIS** Aufgrund des individuellen Produktionsprozesses sind immer zeitliche Verzögerungen möglich.





Bitte senden Sie Ihre Proben an unser diagnostisches Labor in Leipzig:

Standort Leipzig:

Vaxxinova GmbH diagnostics
Deutscher Platz 5 e
04103 Leipzig

T 03 41 / 4 63 79 850

Für eventuelle Rückfragen steht Ihnen unser vaxxinova diagnostics Team jederzeit sehr gerne zur Verfügung.

vaxxinova
veterinary prevention strategies