FRIEDRICH-LOEFFLER-INSTITUT
FLI
Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit
Federal Research Institute for Animal Health

Amtliche Methodensammlung

Salmonellose der Rinder

1. Charakterisierung der Infektion
2. Untersuchungsmaterial
3. Untersuchungsgang

Salmonellose der Rinder

1. Charakterisierung der Infektion

1.1 Erreger

Die Salmonellose ist eine durch bakterielle Erreger der Gattung *Salmonella* (*S.*) verursachte Infektionserkrankung. Sie tritt sowohl bei Tieren als auch beim Menschen auf und stellt weltweit eine der wichtigsten Zoonosen dar.
Salmonellen gehören zur Familie der Enterobacteriaceae, der gramnegative, peritrich begeißelte oder unbewegliche Arten angehören. Die Gattung *Salmonella* besteht aus der Spezies *enterica* und der Spezies *bongori*. Die Spezies *Salmonella* enterica wird in 6 Subspezies eingeteilt: *S. enterica* subsp. *enterica*, *S. enterica* subsp. *salamae*, *S. enterica* subsp. *arizonae*, *S. enterica* subsp. *diarizonae*, *S. enterica* subsp. *houtenae* und *S. enterica* subsp. *indica*. Nur für Serovaren, die zu *S. enterica* subsp. *enterica* gehören, wurde ein Name festgelegt, der auf den Ort der erstmaligen Isolierung zurückzuführen ist. Der Name der Serovar wird mit großem Anfangsbuchstaben und nicht kursiv geschrieben. Der vollständige Name lautet dann z. B. *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Serovar Typhimurium, als Kurzform wird *Salmonella* Typhimurium verwendet. Bei Serovaren anderer Subspezies wird nach der Subspezies die entsprechende Antigenformel angegeben. Die Antigenformeln aller *Salmonella*-Serovaren sind im Kauffmann-White-Schema aufgelistet, zum gegenwärtigen Zeitpunkt sind mehr als 2 500 verschiedene Serovaren enthalten.
Die größte Bedeutung für die Salmonellose des Rindes in Deutschland besitzen die *Salmonella*-Serovaren Typhimurium, und die an das Rind adaptierte Serovar Dublin. Zahlreiche andere Serovaren können auch Salmonellosen bei Rindern verursachen, insgesamt ist ihr Anteil jedoch wesentlich geringer.

1.2 Klinische Symptomatik

Salmonellosen der Rinder sind perakut bis chronisch oder symptomlos verlaufende zyklische Infektionskrankheiten, die überwiegend bei Kolostral- und Tränkmilchkälbern, bei Jungrindern aber auch bei Kühen um den Zeitraum des Abkalbens auftreten können. Klinische Symptome sind Durchfall, der blutig sein kann, Lungen- bzw. Gelenkentzündungen sowie Aborte ab 7. Trächtigkeitsmonat. Anhaltende latente Infektionen mit symptomloser intestinaler Besiedelung durch den Erreger sind möglich. Die Inkubationszeit variiert in Abhängigkeit vom Alter der Tiere, der Infektionsdosis und der *Salmonella*-Serovar zwischen 2 bis 8 Tagen.

1.3 Differentialdiagnose

Auszuschließen sind Kolisepsis und Koliruhr der Kälber, *Clostridium-perfringens*-Enterotoxämien, Pasteurellose, Rotavirus-Infektion der Saugkälber, Brucellose bei Aborten sowie Futtermittelintoxikationen. In allen Fällen sichern erst der Erregernachweis und der Ausschluss der möglichen anderen Ursachen die Diagnose endgültig.

1.4 Diagnostische Indikation

Klinischer, pathologisch-anatomischer oder epidemiologisch begründeter Verdacht.

1.5 Zuständige Untersuchungseinrichtung

- Staatliche Veterinäruntersuchungseinrichtungen
- NRL Salmonellose der Rinder am FLI

1.6 Rechtsgrundlagen

- Verordnung zum Schutz gegen die Salmonellose der Rinder (Rinder-Salmonellose-Verordnung) in der jeweils aktuell gültigen Fassung ~~vom 14. November 1991 (BGBl. I S. 2118)~~.
- ~~Änderung der Rinder-Salmonellose-Verordnung nach Artikel 2 der Zweiten Verordnung zur Änderung tierseuchenrechtlicher Verordnungen (BGBl. I 2009, S. 3939 ff. vom 23.Dezember 2009 Nr. 80).~~
- ISO 6579-1:2017

2. Untersuchungsmaterial

Kotproben als Einzel-oder Sammelproben.
Organproben von verendeten oder getöteten Tieren (Darminhalt, besonders Dickdarmabschnitte, Leber, Milz, Darmlymphknoten).
Zur Abklärung von Eintragsquellen und insbesondere von Ausbreitungswegen sollten auch Umweltproben und Umgebungsproben aus dem Stallbereich (besonders geeignet sind dafür auch Sockentupferproben), Futtermittel, Kot oder Organe von anderen Tierarten (Nutztiere, Haustiere, Nagetiere, Wildvögel) untersucht werden.
Zur Untersuchung sollte nur frisch entnommenes Material verwendet werden. Das Untersuchungsmaterial soll in einem sterilen und verschlossenen Probenbehälter transportiert werden. Bei der Entnahme sollen Kreuzkontaminationen vermieden werden. Der Probenbehälter muss so eindeutig beschriftet sein, dass die Herkunft und Identität der Proben jederzeit erkennbar ist. Die Transportdauer, d. h. die Zeit von der Gewinnung des Untersuchungsmaterials bis zum Eingang im mikrobiologischen Laboratorium, soll so kurz wie möglich sein und 48 Stunden nicht überschreiten. In Sonderfällen müssen sich Einsender und Laboratorien über den geeigneten Versand verständigen.
Dem Untersuchungsmaterial soll ein schriftlicher, vom Einsender unterschriebener, Untersuchungsauftrag sowie Vorbericht beigefügt sein.
Weitere Vorgaben zur Probenentnahme und zum Untersuchungsmaterial sind in den Ausführungshinweisen zur Verordnung zum Schutz gegen die Salmonellose der Rinder vom 1. Februar 1972 (B-21.2) enthalten (Nr. 5.1 bis 5.4 zu § 3).

3. Untersuchungsgang

Mit der Änderung der Rinder-Salmonellose-Verordnung nach Artikel 2 der Zweiten Verordnung zur Änderung tierseuchenrechtlicher Verordnungen (BGBl. I 2009, S. 3939 ff. vom 23. Dezember 2009 Nr. 80) wurde festgelegt, dass die bakteriologischen Untersuchungen von Probenmaterial aus Rinderbeständen den Anforderungen der ISO-Norm 6579 Anhang D entsprechen müssen. Dazu wurde die Rinder-Salmonellose Verordnung folgendermaßen geändert:
„In § 1 Absatz 2 der Rinder-Salmonellose-Verordnung in der Fassung der Bekanntmachung vom 14. November 1991 (BGBl. I S. 2118) wird nach Satz 1 folgender Satz angefügt:
‚Die bakteriologischen Untersuchungsverfahren nach Satz 1 Nummer 1 und 2 Buchstabe a müssen den Anforderungen der ISO-Norm 6579 Anhang D[1] entsprechen.“ (geändert 2017: ISO 6579-1:2017).
~~[1] Die ISO—Norm ist im Beuth Verlag GmbH, 10772 Berlin, erschienen. Sie ist beim Deutschen Patent- und Markenamt archivmäßig gesichert niedergelegt.“~~

3.1 Bemerkungen zur Methodik der bakteriologischen Untersuchung

Die bakteriologische Untersuchung von Kotproben des Rindes auf Salmonellen wurde bisher auf Grundlage der Ausführungshinweise zur Rinder-Salmonellose-Verordnung vom 1. Februar 1972 durchgeführt. Ein wesentlicher Unterschied zwischen diesen Ausführungshinweisen und der Standard-Methode ISO 6579-1:2017 (Nachweis von *Salmonella spp*. in Tierkot und Umgebungsproben aus der Primärproduktion) besteht darin, dass bei der ISO-Methode eine Voranreicherung unter Verwendung von gepuffertem Peptonwasser (BPW) erfolgen muss, und dass anstelle der beiden flüssigen Selektivanreicherungsmedien nur das modifizierte, halbfeste Rappaport-Vassiliadis-Medium (MSRV) Anwendung findet.

3.2 Untersuchungsgang nach ISO 6579-1:2017

- Voranreicherung in gepuffertem Peptonwasser (18 ± 2 Stunden bei 37 ± 1 °C)
- Selektive Anreicherung auf MSRV (zweimal 24 Stunden bei 41,5 ± 1 °C)
- Ausstreichen auf XLD und zweites Medium nach Wahl
- Bestätigung

3.3 Selektivanreicherung auf halbfestem Rappaport-Vassiliadis-Medium (MSRV)

Das halbfeste Medium mit den Hemmzusätzen unterdrückt das Wachstum der Begleitflora und ermöglicht die Vermehrung und das Schwärmen der Salmonellen auf der Oberfläche der Platten. Von der Voranreicherungskultur in gepuffertem Peptonwasser werden 100 µl auf die MSRV-Platten pipettiert und zweimal 24 Stunden bei 41,5 ± 1 °C inkubiert.

3.4 Feste Selektivmedien

Zur Identifizierung der Salmonellen wird Material vom äußeren Rand der Schwärmzone (MSRV) auf festen Selektivmedien mit einer Impföse ausgestrichen. Dabei sollten auf einem Teil der Platten Einzelkolonien entstehen. Die Wahl des Agars hängt wesentlich vom Untersuchungsmaterial und daher von der zu erwartenden Begleitflora ab. Neben dem nach ISO 6579-1:2017 vorgegebenem Xylose-Lysin-Desoxycholat-Agar (XLD) stehen zahlreiche verschiedene Medien als zweites festes Selektivmedium zur Verfügung (XLT4-Agar, Desoxycholat-Citrat-Lactose-Saccharose-Agar, Rambach-Agar). Die Bebrütung erfolgt bei 37 °C für 24 bis 48 Stunden.

3.5 Differenzierung *Salmonella*-verdächtiger Kulturen

Salmonella-verdächtige Reinkulturen werden serologisch und biochemisch (s. o.) mit kommerziellen *Salmonella*-Antiseren bzw. kommerziellen Testkits weiter differenziert.

Friedrich-Loeffler-Institut, Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit
Südufer 10, D-17493 Greifswald – Insel Riems, www.fli.de