

## Amtliche Methode und Falldefinition

# Meldepflichtige *Salmonella*-Infektionen

## Inhaltsverzeichnis

<b>Amtliche Methode</b> .....	3
<b>1. Charakterisierung der Infektion</b> .....	3
1.1 Erreger .....	3
1.2 Klinische Symptomatik .....	3
1.3 Differenzialdiagnose .....	3
1.4 Diagnostische Indikation .....	4
1.5 Zuständige Untersuchungseinrichtung .....	4
1.6 Rechtsgrundlagen (in der jeweils geltenden Fassung) .....	4
<b>2. Untersuchungsmaterial</b> .....	4
<b>3. Untersuchungsgang</b> .....	4
3.1 Untersuchungsgang nach DIN EN ISO 6579-1 in der aktuell gültigen Fassung .....	5
3.2 Selektivanreicherung auf halbfestem Rappaport-Vassiliadis-Medium (MSRV) .....	5
3.3 Feste Selektivmedien .....	5
3.4 Differenzierung <i>Salmonella</i> -verdächtiger Kulturen .....	5
<b>3.5 Gesamtgenomdifferenzierung und Bioinformatik</b> .....	5
<b>Falldefinition - Meldepflichtige <i>Salmonella</i>-Infektion</b> .....	7

## Amtliche Methode

### 1. Charakterisierung der Infektion

#### 1.1 Erreger

Die Salmonellose ist eine durch bakterielle Erreger der Gattung *Salmonella* (*S.*) verursachte Infektionskrankung. 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 sechs 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 White-Kauffmann-Le Minor-Schema aufgelistet. Zum gegenwärtigen Zeitpunkt sind mehr als 2 500 verschiedene Serovaren enthalten.

#### 1.2 Klinische Symptomatik

*Salmonella*-Infektionen sind perakut bis chronisch oder symptomlos verlaufende zyklische Infektionskrankheiten. Der Verlauf einer Infektion wird durch den betroffenen Wirt und durch Faktoren des Erregers (Art der *Salmonella*-Serovar, Höhe der Infektionsdosis, Virulenz des *Salmonella*-Stammes) bestimmt. Tierarten, bei denen Meldepflicht besteht, sind: Einhufer, Schweine, Schafe, Ziegen, Hunde, Katzen, Hasen, Kaninchen, Puten, Gänse, Enten, Hühner (ausgenommen *Salmonella*-Infektionen, für die eine Mitteilungspflicht nach §4 der Geflügel-Salmonellen-Verordnung besteht), Tauben, Forellen und forellenartige Fische, Karpfen sowie alle der Lebensmittelgewinnung dienenden Säugetierarten. *Salmonella*-Infektionen der Rinder unterliegen der Anzeigepflicht.

#### 1.3 Differenzialdiagnose

Enterale- und systemische Infektionen. In allen Fällen sichern erst der Erregernachweis und der Ausschluss der möglichen anderen Ursachen die Diagnose endgültig.

## Meldepflichtige *Salmonella*-Infektionen

### 1.4 Diagnostische Indikation

Klinischer, pathologisch-anatomischer oder epidemiologisch begründeter Verdacht.

### 1.5 Zuständige Untersuchungseinrichtung

- Staatliche und private Veterinäruntersuchungseinrichtungen
- Friedrich-Loeffler-Institut (Nationales Referenz Labor für Salmonellose der Rinder), Naumburger Straße 96a, 07743 Jena, Telefon: +49 3641-804-2267
- NRL Salmonellen am BfR

### 1.6 Rechtsgrundlagen (in der jeweils geltenden Fassung)

- Gesetz zur Vorbeugung vor und Bekämpfung von Tierseuchen (Tiergesundheitsgesetz TierGesG) in der aktuell gültigen Fassung
- Verordnung über meldepflichtige Tierkrankheiten in der aktuell gültigen Fassung
- Richtlinie über Mittel und Verfahren für die Durchführung der Desinfektion bei bestimmten Tierseuchen in der aktuell gültigen Fassung.

## 2. Untersuchungsmaterial

Kotproben als Einzel- oder Sammelproben.

Organproben von verendeten oder getöteten Tieren (Darminhalt, besonders Dickdarmabschnitte, Leber, Milz, Darmlymphknoten).

Zur Untersuchung sollte 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 beigelegt sein.

## 3. Untersuchungsgang

Die bakteriologische Untersuchung von Probenmaterial tierischen Ursprungs (Tierkot, Darminhalt, Umgebungsproben) auf das Vorhandensein von Salmonellen erfolgt entsprechend den Anforderungen der DIN EN ISO 6579-1 in der aktuell gültigen Fassung.

### 3.1 Untersuchungsgang nach DIN EN ISO 6579-1 in der aktuell gültigen Fassung

- Voranreicherung in gepuffertem Peptonwasser ( $18 \pm 2$  Stunden bei  $37 \pm 1$  °C)
- Selektive Anreicherung auf MSR/V (zweimal 24 Stunden bei  $41,5 \pm 1$  °C)
- Ausstreichen auf XLD und zweites Medium nach Wahl
- Bestätigung durch biochemische und serologische Untersuchung

### 3.2 Selektivanreicherung auf halbfestem Rappaport-Vassiliadis-Medium (MSR/V)

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 MSR/V-Platten pipettiert und zweimal 24 Stunden bei  $41,5 \pm 1$  °C inkubiert.

### 3.3 Feste Selektivmedien

Zur Identifizierung der Salmonellen wird Material vom äußeren Rand der Schwärmzone (MSR/V) 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 DIN EN ISO 6579-1 in der aktuell gültigen Fassung 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 u. a.). Die Bebrütung erfolgt bei 37 °C für 24 bis 48 Stunden.

### 3.4 Differenzierung *Salmonella*-verdächtiger Kulturen

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

### 3.5 Gesamtgenomdifferenzierung und Bioinformatik

Gesamtgenomsequenzierung mit anschließender bioinformatischer Datenanalyse ist in vielen Ländern bereits Standard bei der Charakterisierung von *Salmonella*-Stämmen, bei der Analyse von Ausbrüchen, bei epidemiologischen Untersuchungen sowie bei der Detektion genetischer Marker für Resistenz gegen Antibiotika, Virulenz und mobiler genetischer Elemente. Während die Sequenzierung mittels Verfahren der zweiten Generation (Next Generation Sequencing) etabliert ist, befinden sich Verfahren der dritten Generation erst in der Validierungsphase. DNA-Isolation und Erstellung von Libraries sollte nach Herstellerangaben durchgeführt werden.

Für Sequenzierung und Datenanalyse sollte der Leitfaden ISO 23418 in der aktuell gültigen Fassung beachtet werden. Die Datenanalyse beginnt mit einer Qualitätskontrolle. Dabei sollten 70 % der Basen einer Probe

## Meldepflichtige *Salmonella*-Infektionen

einen Qualitätswert (Phred Score) von mindestens 30 aufweisen. Quantitativ sollte eine mindestens 30-fache coverage angestrebt werden, wobei möglichst 70 % der reads taxonomisch dem Genus *Salmonella* zugeordnet werden sollten. In der Datenanalyse folgt meist die Assemblierung der Reads zu Genomen (bzw. Contigs). Die assemblierten Genome sollten eine Größe von 4,3-5,2 mB aufweisen. Basierend auf den Assemblies können *Salmonella*-Serovaren (oder plural Serovare? Serotypen?) mit den Softwaretools SISTR (Yoshida et al) und/oder SeqSero2 (Zhang et al) vorhergesagt werden. Mittels in silico MLST kann, basierend auf den Assemblies, eine grobe Typisierung vorgenommen werden. Für eine hochauflösende Typisierung stehen Verfahren zur Analyse von Einzelnukleotidänderungen (z.B. Software snippy, <https://github.com/tseemann/snippy>), oder das Kerngenom-MLST zur Verfügung. Für das Kerngenom-MLST bietet sich die kostenfreie Software ChewBBACA an, die in der Pipeline chewieSnake ([https://gitlab.com/bfr\\_bioinformatics/chewieSnake](https://gitlab.com/bfr_bioinformatics/chewieSnake)) verwendet wird. Alternativ kann die lizenzierte Software Ridom SeqSphere+ verwendet werden. Eine linuxbasierte Pipeline zur automatischen Analyse von Gesamtgenomdaten für *Salmonellen* ist unter [https://gitlab.com/FLI\\_Bioinfo/WGSBAC](https://gitlab.com/FLI_Bioinfo/WGSBAC) kostenfrei verfügbar.

### Falldefinition - Meldepflichtige *Salmonella*-Infektion

#### Klinisches Bild

*Salmonella*-Infektionen sind perakut bis chronisch oder symptomlos verlaufende zyklische Infektionskrankheiten. Der Verlauf einer Infektion wird durch den betroffenen Wirt und durch Faktoren des Erregers (Art der *Salmonella*-Serovar, Höhe der Infektionsdosis, Virulenz des *Salmonella*-Stammes) bestimmt. Tierarten, bei denen Meldepflicht besteht, sind: Einhufer, Schweine, Schafe, Ziegen, Hunde, Katzen, Hasen, Kaninchen, Puten, Gänse, Enten, Hühner (ausgenommen *Salmonella*-Infektionen, für die eine Mitteilungspflicht nach §4 der Geflügel-Salmonellen-Verordnung besteht), Tauben, Forellen und forellenartige Fische, Karpfen sowie alle der Lebensmittelgewinnung dienenden Säugetierarten. *Salmonella*-Infektionen der Rinder unterliegen der Anzeigepflicht.

#### Differenzialdiagnose

Enterale- und systemische Infektionen. In allen Fällen sichern erst der Erregernachweis und der Ausschluss der möglichen anderen Ursachen die Diagnose endgültig.

#### Diagnostische Indikation

Klinischer, pathologisch-anatomischer oder epidemiologisch begründeter Verdacht

#### Labordiagnostischer Nachweis

Erregernachweis:

Bakteriologische Untersuchung von Kot oder Organmaterial

#### Durch TSN zu übermittelnder Fall

Voraussetzungen für die Feststellung eines Falles:

Labordiagnostische Bestätigung durch direkten Erregernachweis

#### Rechtsgrundlagen (in der jeweils geltenden Fassung)

- Gesetz zur Vorbeugung vor und Bekämpfung von Tierseuchen (Tiergesundheitsgesetz TierGesG) in der aktuell gültigen Fassung
- Verordnung über meldepflichtige Tierkrankheiten in der aktuell gültigen Fassung
- Richtlinie über Mittel und Verfahren für die Durchführung der Desinfektion bei bestimmten Tierseuchen in der aktuell gültigen Fassung.

Friedrich-Loeffler-Institut, Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit

Südufer 10, D-17493 Greifswald - Insel Riems, [www.fli.de](http://www.fli.de)