

STANDARD BASISPLATTENSÄTZE

ZUR KULTIVIERUNG

PATHOGENER ERREGER

IN DER

VETERINÄRMEDIZIN

Dr. Tilman Kühn

**Thüringer Landesamt für Lebensmittelsicherheit
und Verbraucherschutz, Jena**

Dr. Annette Schliephake

Landesamt für Verbraucherschutz, Stendal



Augen- und Konjunktivalabstriche

<u>aerob</u>	Columbiaagar mit 5% Schafblut	24h bei 37°C
	Columbiaagar mit 10-20 % Schafblut	24h bei 33°C
	Sabouraudagar	5 Tage bei 37°C
<u>microaerob</u>	Kochblutagar oder Columbiaagar mit 5% Schafblut und Amme	2 x 24 h bei 37°C
<u>anaerob</u>	Schaedler-Agar	48 h bei 37°C
<u>Anreicherung</u>	Fraser-Bouillon	24h bei 37°C
	→ Oxfordagar / Chromagar-Listeria	
	PPLO-Mycoplasma-bouillon	5 Tage bei 37°C
	→ PPLO-Agar	

Krankheitsbilder / Zielkeime

- Konjunktivitis und Keratitis
- Endophtalmitis
- Panophthalmitis
- periokuläre Infektionen
- Keratomykosen

γ Staphylokokken, Streptokokken, Moraxellen, Neisserien, Actinomyces

γ Mycoplasmen

γ Hefen, Schimmelpize

γ okuläre Beteiligung bei Allgemeininfektionen

Nasen- und Rachenabstriche

aerob

Columbiaagar mit 5% Schafblut

24h bei 37°C

McConkey-Agar

2 x 24h bei 37°C

Pasteurella-multocida-Selektivagar

24h bei 37°C

Sabouraud- oder Kimmigagar

5 d bei 37°C

microaerob

Kochblutagar oder
Columbia mit 5% Schafblut und Amme

2 x 24 h bei 37°C

Krankheitsbilder / Zielkeime

- Rhinitis, Tracheitis, Bronchitis, Pneumonie
- sekundäre Beteiligung respiratorischer Organe an anderen Krankheitsbildern
- nasale Granulome, Cryptococccose

g Pasteurella multocida, Mannheimia haemolytica

γ Bordetella bronchiseptica

γ Haemophilus somnus, -suis, Actinobacillus pleuropneumoniae

γ Pseudomonas spp.

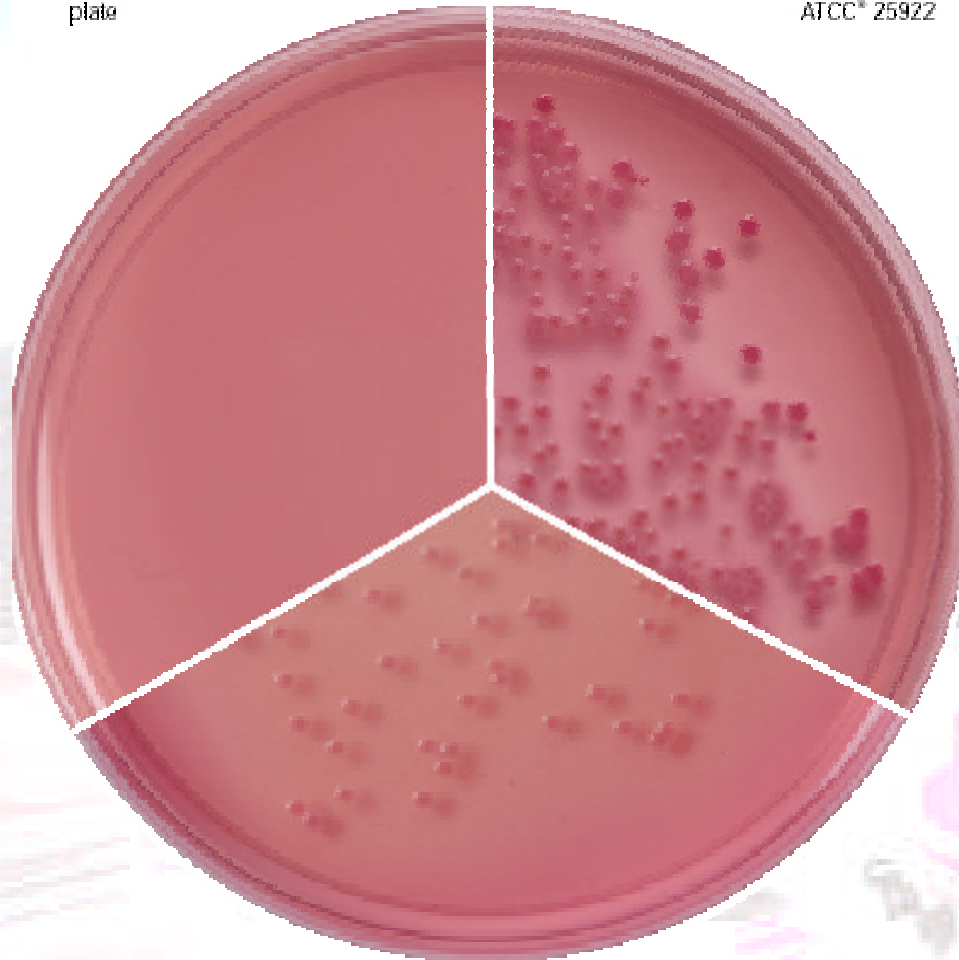
γ Streptokokken, Staphylokokken, andere Eitererreger

γ Hefen, Schimmelpilze

Bordetella-Subkultivierung auf MacConkey-Agar

Uninoculated
plate

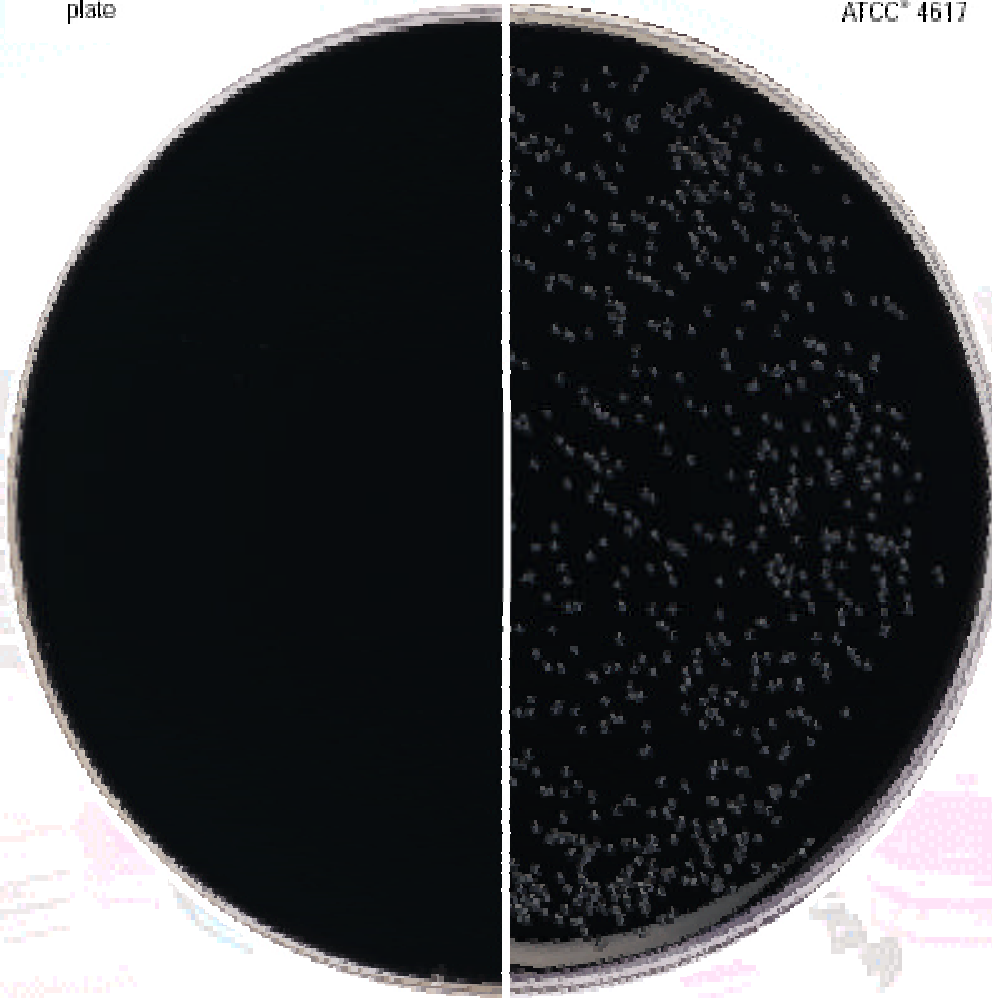
Escherichia coli
ATCC® 25922




Bordetella-Subkultivierung auf Holzkohle (Charcoal)-Agar

Uninoculated
plate

Bordetella bronchiseptica
ATCC® 4617



Wundabstriche / Abszeßpunkttate

<u>aerob</u>	Columbiaagar mit 5% Schafblut	24h bei 37°C
	Columbiaagar mit CNA	24h bei 37°C
	Gassner-Agar	24h bei 37°C
	Cetremid-Agar (Pseudomonas-Selektiv-Agar)	24h bei 37°C
<u>microaerob</u>	BHI-Agar mit 5% Schafblut	2 x 24 h bei 37°C
<u>anaerob</u>	Schaedler-Agar mit Neomycin	48 h bei 37°C
	Eigelb-Lecithinase-Agar	24 H bei 37°C
<u>Anreicherung</u>	Thioglycolatbouillon	24 h bei 37°C
	 BHI-Agar mit 5% Schafblut	

Krankheitsbilder / Zielkeime

- infizierte Wunden, Wundclostridiosen
- Actinomykose
- Abszesse

g Streptokokken, Staphylokokken

γ Arcanobacterium pyogenes

γ Corynebacterium pseudotuberculosis, - spp.

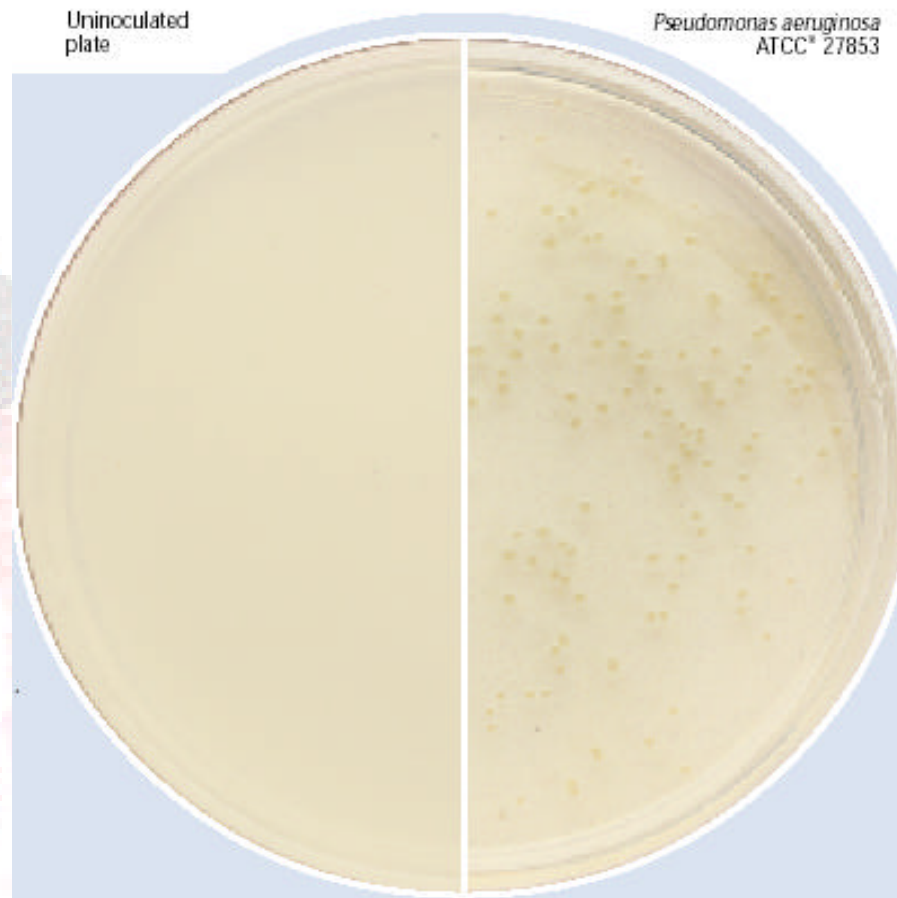
γ Enterobacteriaceae

γ Pseudomonas aeruginosa

γ Anaerobier, v.a. Clostridium spp.

γ Rhodococcus equii

Pseudomonas-Selektivkultivierung auf Cetremid-Agar



Ohrtopfer

aerob

Columbia mit 5% Schafblut

24h bei 37°C

Columbia CNA

24h bei 37°C

Baird-Parker-Agar

24h bei 37°C

Gassner-Agar

24h bei 37°C

Sabouraud- und/oder Kimmigagar

5 d bei 37°C

microaerob

BHI-Agar mit 5% Schafblut

2 x 24 h bei 37°C

anaerob

Anaerobier-CDC-Agar


48 h bei 37°C

Krankheitsbilder / Zielkeime

- Otitiden, Otomykosen

- γ *Staphylococcus aureus*
- γ *Streptococcus* spp.
- γ andere Eitererreger, z.B. *Pseudomonas* spp., *Proteus*
- γ *Malassezia pachydermatis*, *Candida* spp.
- γ Schimmelpilze

Hautabstriche / Hautgeschabsel

<u>aerob</u>	Columbia mit 5% Schafblut	24h bei 37°C
	Columbia CNA	24h bei 37°C
	Galle-Aesculin-Agar	24h bei 37°C
	Baird-Parker-Agar	24h bei 37°C
	Gassner-Agar	24h bei 37°C
	Sabouraud- oder Kimmigagar Dermatophytenagar, z.B. Nach Taplin	bis ca. 4 Wo bei ZT bis max. 30°C
<u>microaerob</u>	BHI-Agar mit 5% Schafblut	2 x 24 h bei 37°C
<u>Anreicherung</u>	Acidbouillon bei Rotlaufverdacht	24 h bei 37°C
	 Columbia mit 5% Schafblut	

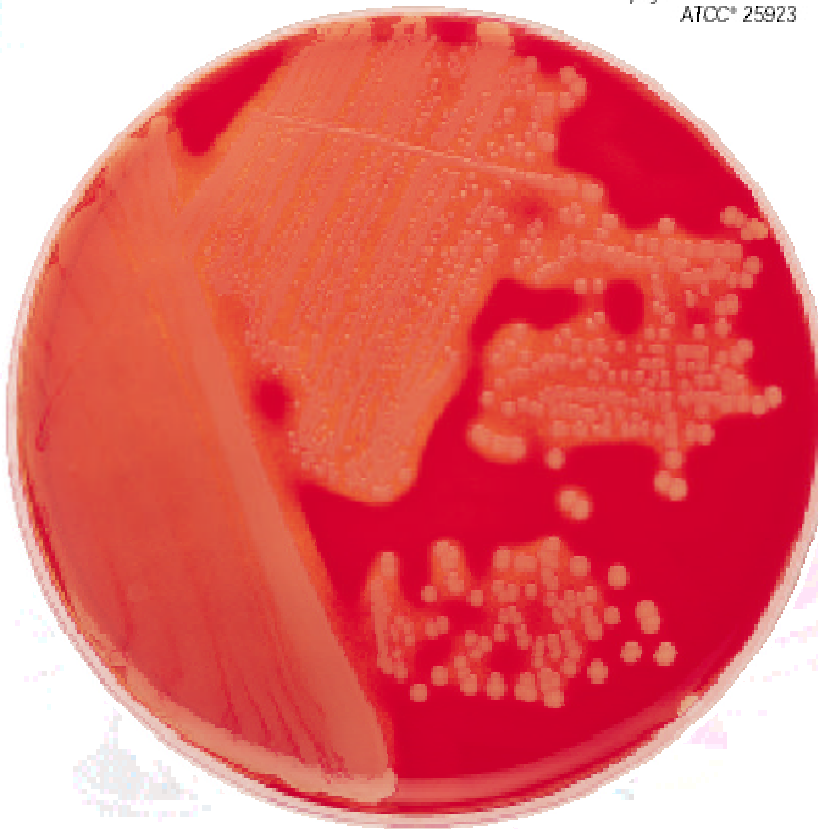
Krankheitsbilder / Zielkeime

- infektiös-eitrige Dermatitiden, Nocardiose
- Rotlauf

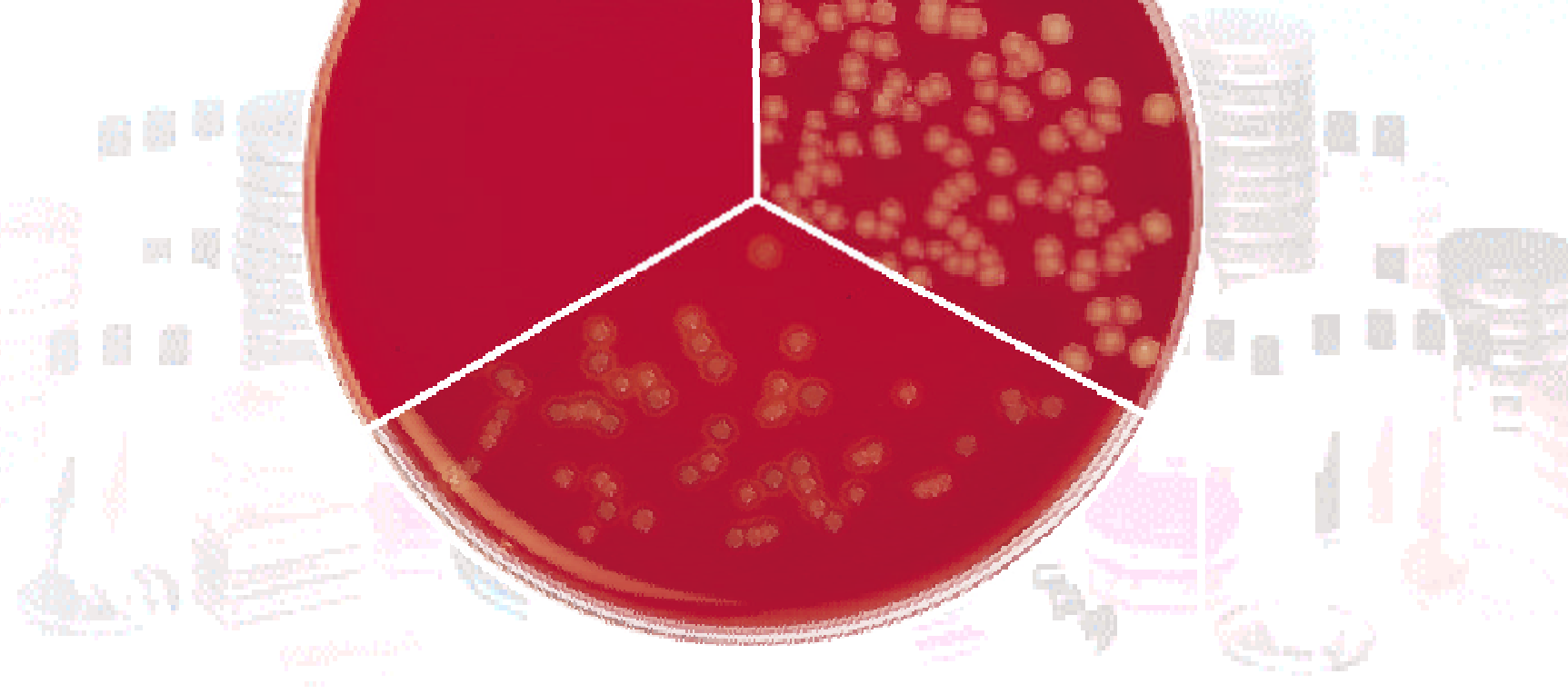
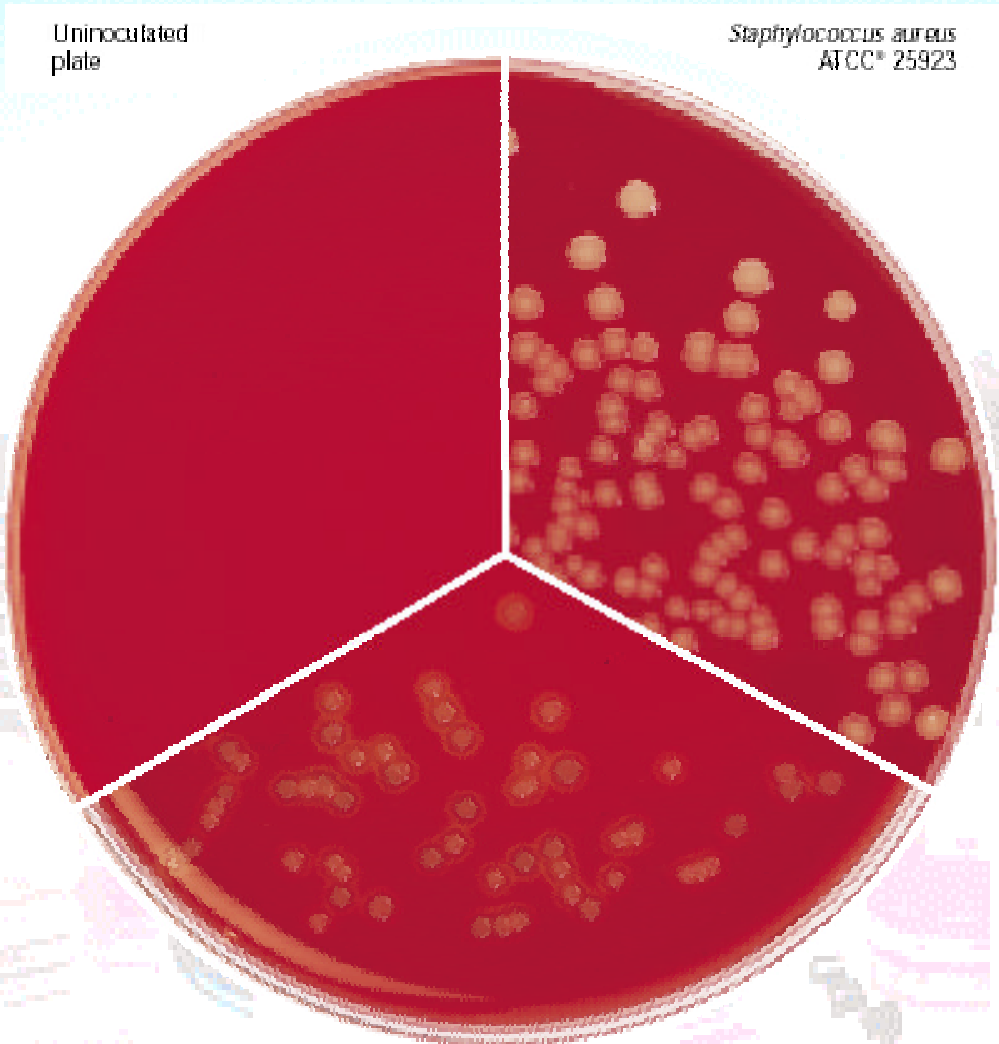
- γ Staphylococcus aureus, -hyicus
- γ Streptococcus zooepidemicus
- γ andere Eitererreger, z.B. Pseudomonas spp., Proteus
- γ Arcanobacterium pyogenes
- γ Nocardia spp., Dermatophilus congolensis
- γ Erysipelothrix rhusiopathiae
- γ Dermatophyten, z.B. Microsporum spp., Trichophyton spp.
- γ Candida spp., Malassezia pachydermatis

Staph.-aureus-Kultivierung auf Columbia- und Baird-Parker-Agar


Staphylococcus aureus
ATCC® 25923



Selektivkultivierung gram-positiver Kokken auf Columbia-CNA-Agar



Gehirn / Meningen / Liquor

<u>aerob</u>	Columbiaagar mit 5% Schafblut	24h bei 37°C
	Oxford-Agar	24 h bei 37°C
	Sabouraudagar	48 h bei 37°C
<u>microaerob</u>	Kochblut oder Columbiaagar mit 5% Schafblut und Amme	2 x 24 h bei 37°C
	BHI-Agar	2 x 24 h bei 37°C
	Palcam-Listeria-Selektivagar	48h bei 37°C
<u>Anreicherung</u>	Fraser-Bouillon	24h bei 37°C
	 Oxfordagar / Chromagar-Listeria	

Krankheitsbilder / Zielkeime

- infektiös-eitrige Enzephalitiden und Meningitiden
- sekundäre enzephalitische Beteiligung an anderen Krankheitsbildern
- Listeriose
- Cryptococcose

g Haemophilus spp.

γ Streptokokken

γ Listeria monozytogenes

γ andere Eitererreger

γ Cryptococcus spp.

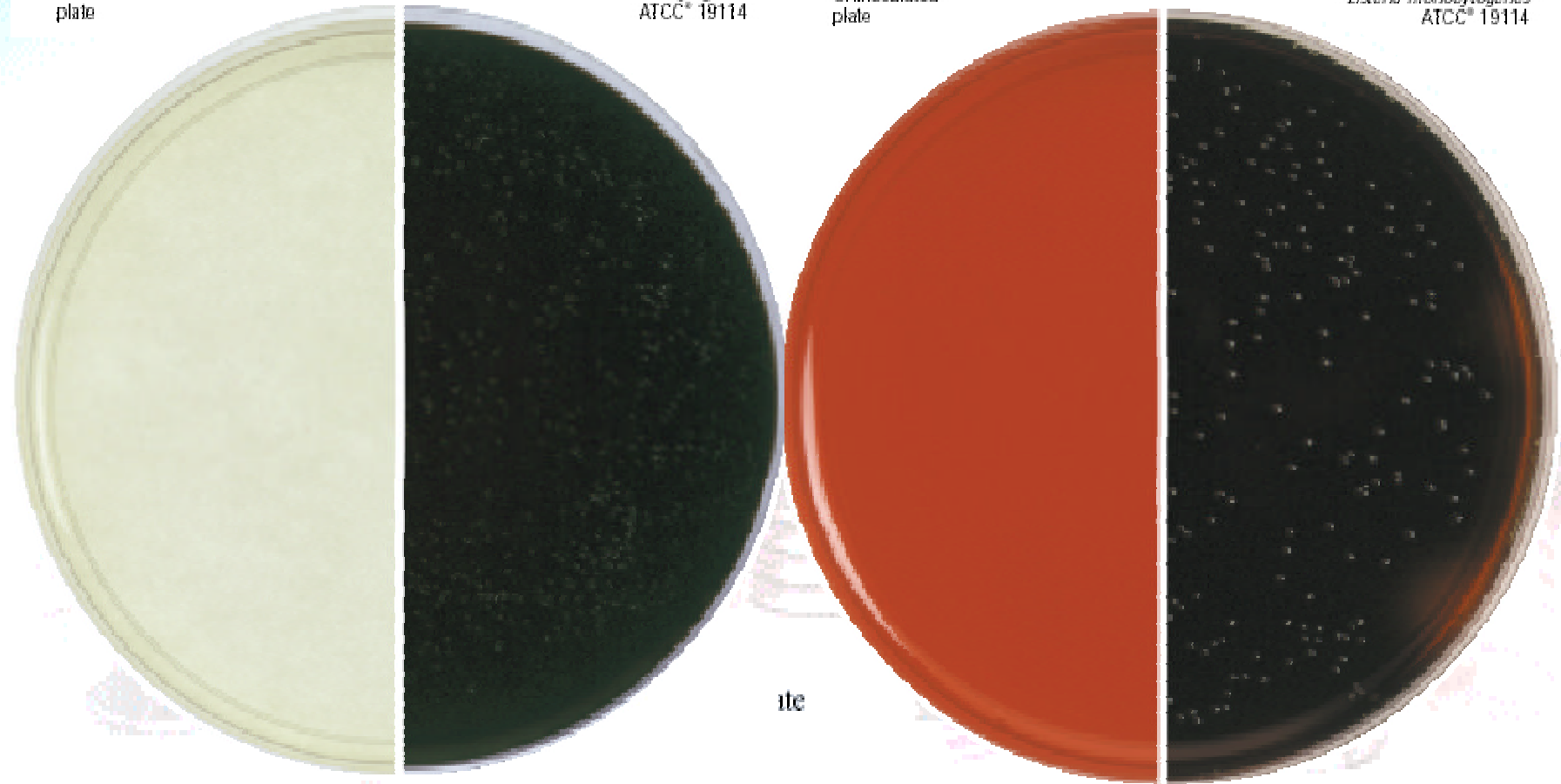
Selektivkultivierung von Listerien auf Oxford- und Palcam-Agar

Uninoculated
plate

Listeria monocytogenes
ATCC® 19114

Uninoculated
plate

Listeria monocytogenes
ATCC® 19114



ite

Sektionsmaterial Parenchyme - z.B. Leber, Milz, Niere

aerob

Columbiaagar mit 5% Schafblut

24h bei 37°C

BPLS-Agar

24 h bei 37°C

Gassner, McConkey oder Coli/TBX-Agar

24 h bei 37°C

Sabouraudagar

48 h bei 37°C

anaerob

Schaedler-Agar

2 x 24 h bei 37°C

Anreicherung

Rappaport- / Preuss-Bouillon

24 h bei 42°C



Salmonella-ID / -Selektivnährböden

Krankheitsbilder / Zielkeime

- alle Formen der Sepsis

g E. coli

g Salmonellen

g andere Enterobactriaceae

g Pseudomonaden

g Anaerobier, z.B. Clostridien

Harnproben

aerob

Columbia mit 5% Schafblut

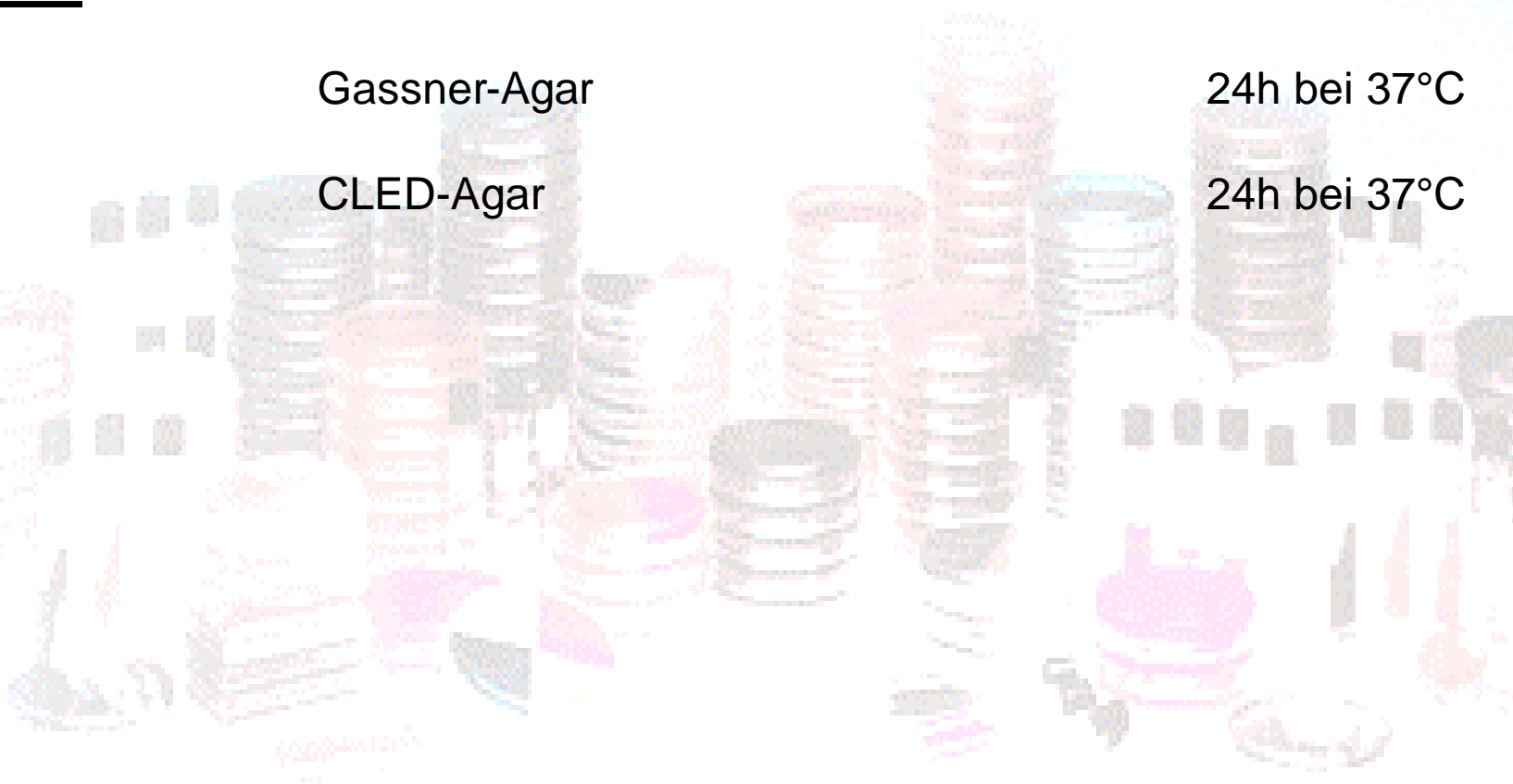
24h bei 37°C

Gassner-Agar

24h bei 37°C

CLED-Agar

24h bei 37°C



Krankheitsbilder / Zielkeime

- Urethritis
- Zystitis
- Pyelonehritis

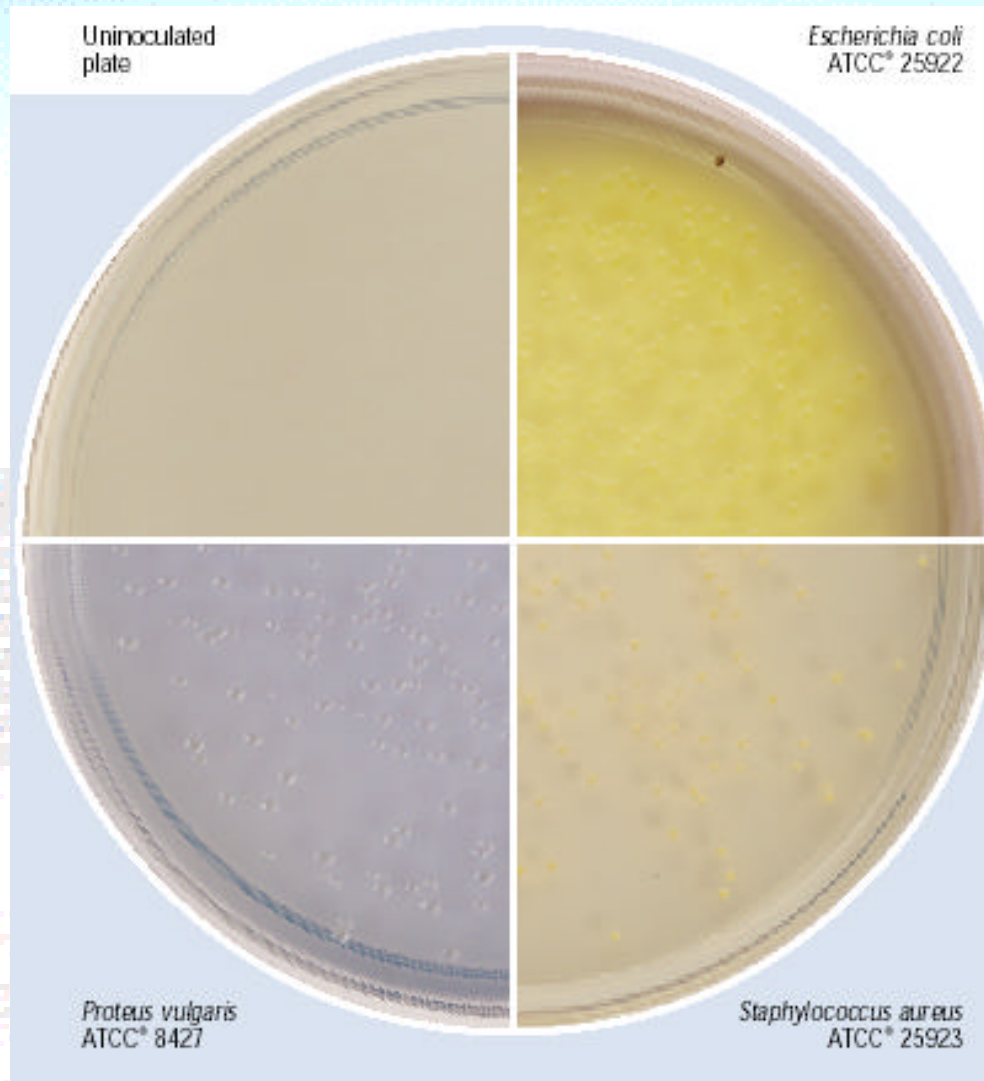
g E. coli

g Proteus und andere Enterobacteriaceae

g Staphylokokken, Streptokokken,
Enterokokken

g Pseudomonaden

CLED-Agar (Cystine-Lactose-Electrolyte-Deficient-Agar)



Sektionsmaterial Lunge / Pleura / Trachea

<u>aerob</u>	Columbia mit 5% Schafblut	24h bei 37°C
	McConkey-Agar	24h bei 37°C
	Pasteurella-multocida-Selektivagar	24h bei 37°C
<u>microaerob</u>	Kochblutagar / Columbia mit 5% Schafblut mit Amme	2 x 24 h bei 37°C
	<u>Anreicherung</u>	
	PPLO-Mycoplasma-bouillon → PPLO-Agar	5 Tage bei 37°C
	Levinthal-Bouillon → Kochblutagar / Columbia mit 5% Schafblut mit Amme	24 h bei 37°C

Krankheitsbilder / Zielkeime

- Rhinitis, Tracheitis, Bronchitis, Pneumonie, Pleuropneumonie
- sekundäre Beteiligung respiratorischer Organe an anderen Krankheitsbildern

γ Pasteurella multocida, Mannheimia haemolytica

γ Bordetella bronchiseptica

γ Haemophilus somnus, -suis, -parasuis

γ Actinobacillus pleuropneumoniae

γ Mycoplasmen

γ Pseudomonas spp.

γ Streptokokken z.B. Sc. equi, -equisimilis,
Staphylokokken

γ Actinomyces pyogenes, andere Eitererreger

Darmpathogene Erreger

Nähr- medium	Blutagar	GASSNER Agar	Blutagar PNPG	Blutagar	Blutagar Neomycin	CCDA	CIN	Salmonellen It PM 50- 0055	Nativ- präparat	HF	DAZN
Bebrütungs- temperatur	37 °C	37 °C	37 °C	37 °C	37 °C	37 °C	30 °C	37 °C			
Bebrütungs- art	aerob	aerob	aerob	anaerob	aerob	mikro- aerophil	aerob	aerob			
Bebrütungs- dauer (in Stunden)	18 bis 24	18 bis 24	18 bis 24	48	18 bis 24	96	24 bis	18 bis 24			
Tierart											
Rind	x	x	x					x		(x)	(x)
Schwein	x	x	x			x	x ^o	x	x ¹	(x)	
Pferd	x	x	x					X		(x)	
Hund	x	x	x	x	x	x		x			
Katze	x	x	x	x	x	x		x			
Tauben, Wasser- geflügel	x	x	x		x			x		x	
Hühner	x	x	x			x		X			
Exoten	x	x	x					x		x	
Nager	x	x	x					x		x	
Reptilien	x ^x	x ^x	x ^x					x ^x		x	
Affenartige	x	x	x	x	x			x		x	

Aborte / Zuchthygiene

1. Abortmaterial

2. Spermaproben

3. Spülproben von Zuchtbullen

4. Genitalproben / Genitalsekrete weiblicher Tiere

zu 1. Untersuchung von Abortmaterial

Feten	Organe		GASSNER-	Blutagar	Blutagar	Blutagar	Blutagar	Salmo-		Material für	Material für
			Agar		PNPG		PNPG	nellen	DAST	virologische	histologische
		Bebrütungsart	aerob	aerob	aerob	mikro-	mikro-	**)		Untersuchung	Untersuchung
		Bebrütungs- temperatur	37 °C	37 °C	37 °C	aerophil	aerophil				
Bebrütungs- dauer (Std.)	24 bis 96	24 bis 96	24 bis 96	24 bis 96	24 bis 96	24 bis 96					
Rind	Leber	x	x		x	x				Lunge, Niere, Milz, Eihaut	Herz, Leber, Lunge, Milz, Niere, Eihaut, Gehirn
	Lunge	x	x		x	x					
	Magen	x	x		x	x		x			
	Eihaut	x		x	x ^x	x ^x	x	x			
Schwein	Leber	x	x		x	x				Leber, Lunge, Milz, Niere, Herz, Eihaut, Gehirn, Tonsille, ggf. Knochenmark, Lymphknoten	Niere, Herz, Leber, Lunge, Eihaut
	Lunge	x	x		x	x					
	Magen	x	x		x	x		x			
	Eihaut	x		x	x ^x	x ^x		x			

X^x - Eihäute werden nach einer Vorbehandlung mit Kalilauge (3%ig, 20 min) auf o.g. Nährböden fraktioniert ausgestrichen (Verdünnungsausstrich)

**) Die Untersuchung auf Salmonellen richtet sich nach aktueller Prüfmethode 50 - 0055

1. Untersuchung von Abortmaterial

		Bebrütungsart	GASSNER-	Blutagar	Blutagar	Blutagar	Blutagar	Salmo-	DAST	Material für	Material für	
			Agar		PNPG		micro-	PNPG		nellen	Untersuchung	histologische
			aerob	aerob	aerob	aerophil	aerophil	**))				
Feten	Organe	Bebrütungs- temperatur	37 °C	37 °C	37 °C	37 °C	37 °C					
		Bebrütungs- dauer (Std.)	24 bis 96	24 bis 96	24 bis 96	24 bis 96	24 bis 96					
Rind	Leber		x	x		x	x			Lunge, Niere, Milz, Eihaut	Herz, Leber, Lunge, Milz, Niere, Eihaut, Gehirn	
	Lunge		x	x		x	x					
	Magen		x	x		x	x		x			
	Eihaut		x		x	x ^x	x ^x	x	x			
Schwein	Leber		x	x		x	x			Leber, Lunge, Milz, Niere, Herz, Eihaut, Gehirn, Tonsille, ggf. Knochenmark,	Niere, Herz, Leber, Lunge, Eihaut	
	Lunge		x	x		x	x					
	Magen		x	x		x	x		x			
	Eihaut		x		x	x ^x	x ^x		x			
Schaf/Ziege	Leber		x	x		x	x			Lunge, Leber, Eihaut	Gehirn, Herz, Leber, Eihaut	
	Lunge		x	x		x	x					
	Magen		x	x		x	x		x			
	Eihaut		x		x	x ^x	x ^x		x			
	Nabel /Nabelstumpf								x			
Pferd	Leber		x	x		x	x			Leber, Milz, Lunge, Eihaut	Leber, Milz, Lunge, Eihaut, Thymus	
	Lunge		x	x		x	x					
	Magen		x	x		x	x		x			
	Eihaut		x		x	x ^x	x ^x		x			
sonstige Tierarten	Leber		x	x		x	x			je nach Tierart, mindestens aber: Lunge, Leber, Milz	je nach Tierart, mindestens aber: Lunge, Leber, Milz, Herz	
	Lunge		x	x		x	x					
	Magen		x	x		x	x		x			
	Eihaut		x		x	x ^x	x ^x		x			

XX - Eihäute werden nach einer Vorbehandlung mit Kalilauge (3%ig, 20 min) auf o.g. Nährböden fraktioniert ausgestrichen (Verdünnungsausstrich)

**) Die Untersuchung auf Salmonellen richtet sich nach aktueller Prüfmethode 50_0055

zu 2. Untersuchung von Spermaproben

Nährmedium	Blutagar/Amme	Blutagar/Amme	GASSNER-Agar
Bebrütungsart	aerob	mikroaerophil	aerob
Bebrütungs- temperatur	37 °C	37 °C	37 °C
Bebrütungsdauer (Stunden)	24 – 96	24 - 96	24 – 96

Als Amme wird der *Staphylococcus aureus* – Stamm ATCC 25923 verwendet.

zu 3. Untersuchung der Spülproben von Zuchtbulln

- a) Spülprobe 10 min bei 3000 U/ min zentrifugieren
- b) Überstand des 1. Zentrifugates in ein zweites Zentrifugenbröhrchen abgießen
- c) vom Bodensatz des ersten Zentrifugates werden folgende Nährböden beimpft:

	Blutagar/PNPG/Amme	GASSNER-Agar/PNPG	Blutagar/ PNPG/Amme
Bebrütungs- temperatur	37 °C	37 °C	37 °C
Bebrütungsart	aerob	aerob	mikroaerophil
Bebrütungsdauer (Stunden)	24 – 96	24 – 96	96

Als Amme wird der *Staphylococcus aureus* – Stamm ATCC 25923 verwendet.

- d) vom Bodensatz des ersten Zentrifugates wird ein Nativpräparat angefertigt, Betrachtung im Lichtmikroskop mittels Phasenkontrast→ Beurteilung des allgemeinen Keimgehaltes
- e) restlicher Bodensatz des ersten Zentrifugates in Trichomonadenbouillon pipettieren und 8 Tage bei 37°C aerob inkubieren, dann im Nativpräparat auf Trichomonaden untersuchen (Lichtmikroskop, Phasenkontrast)

zu 3. Untersuchung der Spülproben von Zuchtbullen

Der Überstand vom 1. Zentrifugat wird 30 Minuten bei 6000 U/min zentrifugiert.

Von diesem 2. Bodensatz werden folgende Nährmedien beimpft:

	Blutagar	Blutagar/ PNPG	Campylobacteragar nach SKIRROW
Bebrütungstemperatur	37 °C	37 °C	37 °C
Bebrütungsart	mikroaerophil	mikroaerophil	mikroaerophil
Bebrütungsdauer (Stunden)	96	96	96

zu 4. Untersuchung von Genitalproben / - sekret en weiblicher Tiere

Tierart	Nähr- medium	Blutagar	Blutagar/ Amme	Blutagar	CEMO MS 1	CEMO MS 2	GASS- NER- Agar	DAST
	Bebrü- tungs- tempera- tur.	37 °C	37 °C	37 ° C	37 ° C	37 ° C	37 °C	
	Bebrü- tungs- art	aerob	mikro- aerophil	anaerob	mikro- ae- rophil	mikro- ae- rophil	aerob	
	Bebrü- tungsdau- er (Std.)	24 – 96	96	48	96 bis 14 Ta- ge	96 bis 14 Ta- ge	24 – 96	
Pferd		x	x	x	x	x	x	
Rind		x	x	x			x	x
Schwein		x	x	x			x	x
übrige Tierar- ten		x	x	x			x	x

Als Amme wird der *Staphylococcus aureus* – Stamm ATCC 25923 verwendet.

Untersuchung von Fischen

Nachweis von:	Nutz – und Wildfische	Medium	Inkubation	Dauer
Bakterien	Kiemen, Leber, Milz, Niere ggf. weitere Organe nach Anweisung	C.A. 5% HB NA I (5% HB, 1% NaCl) BPLS – A.	24 °C, aerob	mind. 2 d
	Forellenbrut	wie oben zusätzlich Trypton – A.	18°C, aerob	2 – 7 d
Pilzen	Kiemen, Haut, Flosse ggf. weitere Organe nach Anweisung	Sabour. A. RG Y – A.	18 – 24 °C, aerob	2 - 7 d
	Zierfische			
Bakterien	Kiemen, Leber, Milz, Niere ggf. weitere Organe nach Anweisung	C.A. 5% HB NA I (5% HB, 1% NaCl) BPLS – A. TCBS – Cholera A	24 °C, aerob	mind. 2 d
Pilzen	Kiemen, Haut, Flosse ggf. weitere Organe nach Anweisung	Sabour. A. RG Y – A.	24 °C, aerob	2 – 7 d
<u>Anreicherung auf Salmonellen</u>			24 °C	18 – 24 h
	Anreicherungsmedium	AM nach Rappaport AM nach Preuss		
	Selektivnährböden	BPLS – A. Rambach – A.	24°C 24 °C	bis 48 h bis 48 h