

Ausgabe Februar 2020

Die bakteriologische Untersuchung – ein wichtiger Bestandteil der zuchthygienischen Untersuchung der Stute

Während der Zuchtsaison gilt es, die Zuchttauglichkeit bei allen Stuten zu beurteilen, die für eine Belegung vorgesehen sind. Hierzu gehört neben der gynäkologischen Untersuchung eine mikrobiologische Untersuchung von Zervix- oder Uterustupfern.

Es wird empfohlen – wie von den meisten Hengstbesitzern ohnehin gefordert – auch unverdächtige Stuten zu untersuchen, da auch klinisch unauffällige Stuten mit pathogenen Keimen infiziert sein können.

Unbedingt bakteriologisch untersucht werden müssen Tupferproben von auffälligen Stuten, beispielsweise wenn sie verfohlt haben oder nach Belegung güst geblieben sind, wenn sie in der klinischen Untersuchung Auffälligkeiten zeigen, oder der letzte Geburtsverlauf gestört war oder sie in der laufenden Decksaison mehr als einmal umgerosst haben.

Ein frühzeitiger vorsaisonaler Beginn der zuchthygienischen Untersuchung ist anzuraten, damit auch infizierte Tiere durch entsprechende Therapiemaßnahmen in Zuchtcondition versetzt werden können, ohne dass wertvolle Zeit verloren geht. Fällt das Ergebnis einer Tupferprobe positiv aus, sollte vor der Belegung behandelt werden. Der Behandlungserfolg kann frühestens 10 Tage nach Therapieende durch eine erneute bakteriologische Untersuchung überprüft werden. Sind Kontrolluntersuchung und Klinik unauffällig, kann die nächste Rosse für eine Belegung genutzt



werden. Bei gutem Zuchtmanagement sind im Idealfall alle Diagnostik- und Therapieverfahren abgeschlossen, noch bevor die Decksaison startet.

Was bei der Probenentnahme zu beachten ist:

Vor der Entnahme des Tupfers ist immer eine Trächtigkeit auszuschließen! Der ideale Zeitpunkt liegt in der Rosse bei geöffnetem Muttermund.

Die Entnahme sollte mithilfe eines Spekulum und unter Verwendung von Tupferentnahmesystemen durchgeführt werden, bei denen der Tupfer durch zwei Kunststoffhüllen gegen Verunreinigung geschützt ist. So wird eine Kontamination des Tupfers mit Keimen aus dem

äußeren Genitalbereich verhindert. Eine saubere Entnahmetechnik ist für einen interpretierbaren Befund unverzichtbar!

Im Anschluss an die Probenentnahme sollte der Tupfer unmittelbar in ein Transportmedium überführt werden.

Im Labor angekommen:

Für die bakteriologische Kultur wird der Tupfer auf einem Blut-Agar als Universalnährboden und einem Selektivmedium für gram-negative Keime ausgestrichen. Zusätzlich wird der Tupfer in ein flüssiges Anreicherungsmedium verbracht. Die Nährmedien werden bei 36°C bebrütet und nach ca. 24 h beurteilt. Sollte sich noch kein Wachstum zeigen, werden die Platten nach weiteren 24 h erneut abgelesen. Das über Nacht bebrütete Anreicherungsmedium wird wiederum auf Agarplatten ausgestrichen, die ebenfalls nach 24 h Bebrütungszeit beurteilt werden. Mithilfe des Anreicherungsverfahrens gelingt es, auch empfindliche oder bereits vorgeschädigte Keime nachzuweisen.

Die Keimdifferenzierung erfolgt anhand der Kulturmorphologie, biochemischer Verfahren und mittels MALDI-TOF (Matrix- assisted laser desorption time-of-flight- Massenspektrometrie). Werden für die Zuchthygiene relevante Keime gefunden, wird ein Antibiotogramm im Mikrodilutionsverfahren angefertigt. Liegen andere Bakterien vor, werden diese im Befund angegeben – jedoch wird hier nicht automatisch eine Resistenztestung durchgeführt. Allerdings können bei klinisch auffälligen Stuten auch in der Zuchthygiene als apathogen eingestufte Keime, z.B. einige Enterobacteriaceae, eine Rolle spielen. In diesen Fällen ist es wichtig, die vorhandene Erkrankung/Symptomatik auf dem Untersuchungsantrag anzugeben und eine bakteriologische Untersuchung anzuwählen, sofern auf jeden Fall ein Antibiotogramm erwünscht ist.

Die bakteriologische Untersuchung dauert i.d.R. 2 – 3 Tage inklusive Antibiotogramm.

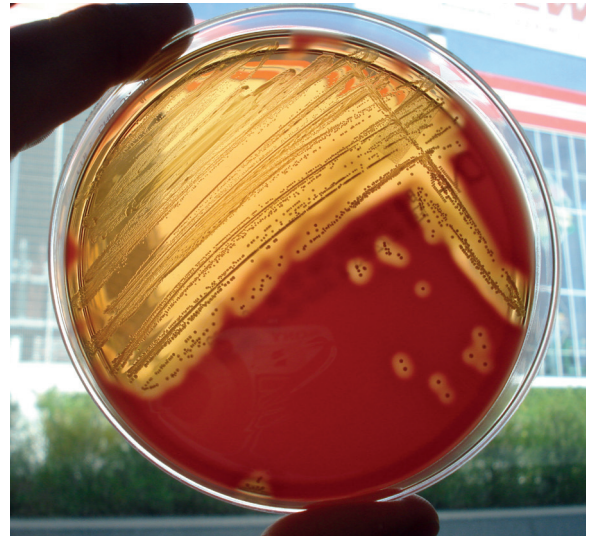


Abb. 1: β -hämolisierende Streptokokken auf einer Blut-Agarplatte

Pathogene Keime in der Zuchthygiene:

Folgende Bakterien werden bei der zuchthygienischen Untersuchung als pathogen eingestuft, eine Behandlung ist hier auch bei klinisch gesunden Stuten vor der Belegung anzuraten:

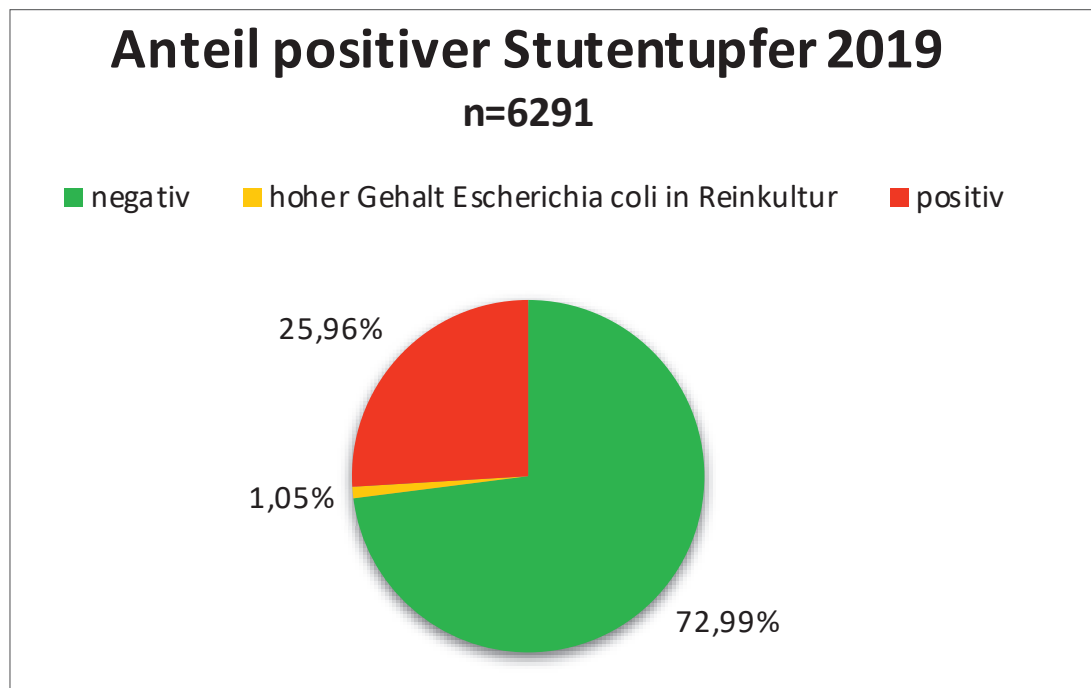
- β -hämolisierende Streptokokken
- *Staphylococcus aureus*
- *Escherichia coli* var. *haemolytica*
- *Klebsiella* sp.
- *Raoultella ornithinolytica*
früher: *Klebsiella ornithinolytica*
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Actinobacillus equuli*
- *Bordetella bronchiseptica*
- *Rhodococcus equi*

Auch bei Vorliegen von anderen Pseudomonaden oder *Escherichia coli* (ohne Hämolyse) wird eine Behandlung vor der Belegung empfohlen, wenn diese in hoher Keimzahl und in Reinkultur nachgewiesen werden können. Der mikrobiologische Befund ist immer im Zusammenhang mit den klinischen Veränderungen bei der gynäkologischen Untersuchung zu beurteilen.

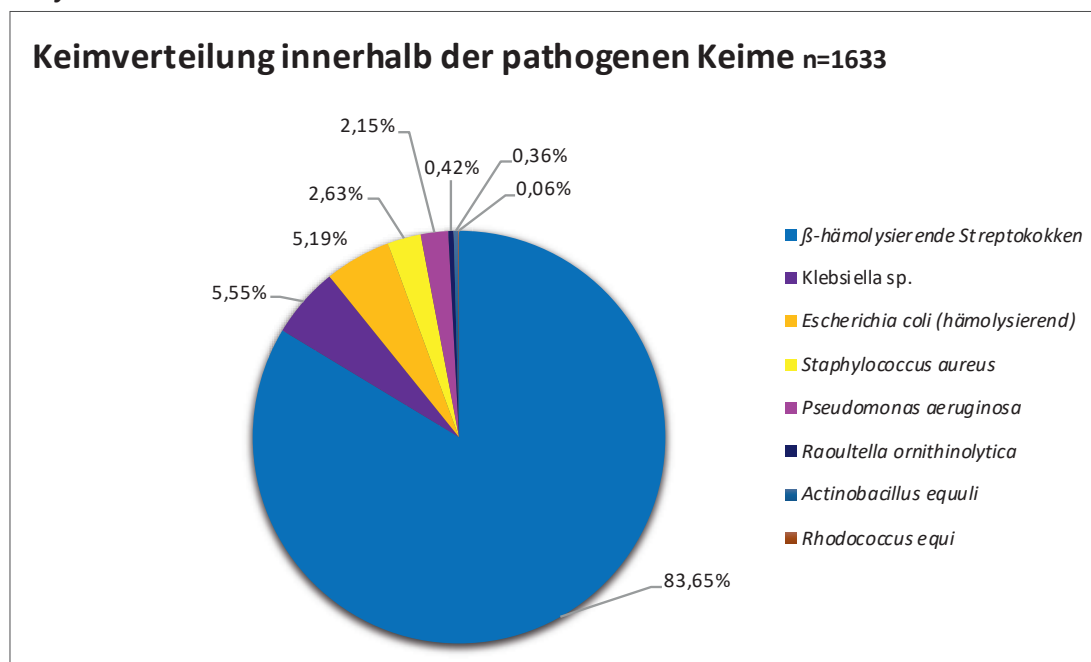
Überblick über zuchtthygienische Untersuchungen im Jahre 2019:

Ausgewertet wurden Tupfer von weiblichen Pferden, die im Jahr 2019 für die zuchtthygienische Untersuchung von in Deutschland praktizierenden Tierärzten zu LABOKLIN geschickt wurden.

Bei ca. 26% der eingesandten Proben konnten pathogene Keime nachgewiesen werden. Bei 1% lag *Escherichia coli* in einem hohen Gehalt in Reinkultur vor.



Erwartungsgemäß bildeten die β -hämolyisierenden Streptokokken mit ca. 84% mit Abstand die größte Gruppe, gefolgt von *Klebsiella* sp. und *Escherichia coli* var. *haemolytica*.



Staphylococcus aureus wurde zwar mit 2,6% nur am vierthäufigsten nachgewiesen, erwähnenswert ist jedoch, dass bei 39% der Isolate eine Methicillin-Resistenz vorlag. Ähnlich häufig wurde *Pseudomonas aeruginosa* isoliert. *Raoultella ornithinolytica* und *Actinobacillus equuli* waren sehr selten vertreten. *Rhodococcus equi* konnte nur einmal angezüchtet werden. *Bordetella bronchiseptica* wurde nicht isoliert.

Die mykologische Untersuchung:

Können bei einer klinisch auffälligen Stute in der bakteriologischen Untersuchung keine Keime nachgewiesen werden oder zeigen sich auf der Schleimhaut weißliche Beläge, kann es sich lohnen, zusätzlich eine mykologische Untersuchung anzufordern.

Meist werden Hefen der Gattung *Candida* nachgewiesen. Von den Schimmelpilzen kommt die Gattung *Aspergillus* am häufigsten vor.

Prädisponierend für eine Infektion mit Hefepilzen ist v.a. eine vorausgegangene langfristige Antibiotikatherapie.

Als Untersuchungsmaterial ist hier ebenfalls ein Tupfer mit Medium geeignet. Die Untersuchung dauert bis zu einer Woche.

Taylorella equigenitalis:

Die kontagiöse equine Metritis (CEM) ist eine meldepflichtige Deckseuche, die durch das Bakterium *Taylorella equigenitalis* verursacht wird. Während infizierte Hengste i.d.R. symptomlose Träger sind, kommt es bei der Stute zu Endometritis und Fruchtbarkeitsstörungen, aber auch inapparente Infektionen kommen vor.

Nach Richtlinie 92/65/EWG sind bei der Stute Tupferproben von mindestens zwei Lokalisationen – Fossa clitoridis und Sinus clitoridis – zu entnehmen. Neben der kulturellen Erregeranzucht steht die PCR als weiteres, geeignetes Untersuchungsverfahren zur Verfügung. Unabhängig vom Verfahren sind ausschließlich Tupfer mit Aktivkohlezusatz (Amies-Transportmedium) zu verwenden.

Die Kultur sollte spätestens 24 h nach Probenentnahme (48 h nach Probenentnahme bei gekühltem Transport) im Labor sein und angelegt werden. Bei der PCR sollten zwischen Probenentnahme und Testansatz nicht mehr als 48 h vergehen.

Kultur und PCR gibt es sowohl als Einzelleistungen, als auch in günstigeren Profilen in Kombination mit der zucht-hygienischen Untersuchung. Zu beachten ist hier, dass für jedes Verfahren ein eigener Tupfer benötigt wird.

Die kulturelle Untersuchung dauert 7 Tage (bei Ausfuhr nach Kanada: 2 Wochen; bei Ausfuhr nach Norwegen: 3 Wochen). Die PCR bietet den Vorteil der schnelleren Diagnostik innerhalb von 1 – 3 Werktagen.