



## **Technische Weisungen** vom 30. September 2005 (Stand 25. August 2014)

über die

### **Entnahme von Proben und deren Untersuchung auf Brucellose**

Das Bundesamt für Lebensmittelsicherheit und Veterinärwesen (BLV) erlässt, gestützt auf die Artikel 151, 190, 207, 233 und 297 Absatz 1 Buchstabe c der Tierseuchenverordnung vom 27. Juni 1995 (TSV; SR 916.401), folgende

#### **Weisungen:**

#### **I. Geltungsbereich**

1. Die vorliegenden Technischen Weisungen regeln die Probenahme, die Untersuchungsmethoden, die Interpretation der Befunde und die daraus folgenden Massnahmen im Rahmen der Überwachung sowie der Abklärungen bei Verdachts- und Seuchenfällen der Brucellose der Rinder, Schafe, Ziegen, Schweine und Widder.

#### **II. Probenahme**

2. **Als Untersuchungsmaterial** für die Diagnose der Brucellose dienen
  - für den serologischen Nachweis: Blutserum. Nach Anordnung der Kantonstierärztin / des Kantonstierarztes kann auch Einzel- oder Tankmilch von Rindern untersucht werden.
  - für den Erregernachweis: Abortmaterial [Plazenta, Fötus (Labmagen)], Organe aus dem Urogenitaltrakt und Milz sowie veränderte Organe, Abszessmaterial, Punktate von Gelenken oder Gelenkkapseln.
3. **Blutproben:** die Proben sind kühl aufzubewahren und per A-Post oder Kurier einem anerkannten Labor zuzustellen.
4. **Nachgeburt/Fötus:** es müssen mehrere, wenn immer möglich unmittelbar nach dem Werfen, bzw. dem Abort entnommene, nekrotische oder hyperämische Kotyledonen der Plazenta eingesendet werden, und falls möglich auch der Fötus (Labmagen) oder Organe von totgeborenen Tieren.
5. **Organe/Punktate:** veränderte Organe von verdächtigen Tieren (z.B. Hoden, Nebenhoden, Geschlechtsdrüsen, Milz und regionale Lymphknoten) oder Punktate von Gelenken oder Gelenkkapseln können nach Absprache und nach Anweisungen des anerkannten Labors zur Untersuchung eingeschickt werden.
6. Das Untersuchungsmaterial soll in **hermetisch verschlossene Gefässen** gesammelt und verschickt werden, wobei jegliche Verunreinigung oder Gefährdung der Personen, die mit diesen Behältern umgehen, vermieden werden muss. Die Proben sind kühl aufzubewahren (jedoch nicht gefroren), und möglichst schnell dem anerkannten Labor zuzustellen.
7. Alle Proben müssen **unverwechselbar gekennzeichnet** und von einem **Untersuchungsantrag** begleitet sein, der Name, Vorname, Adresse, TVD-Nummern des Herkunftsbetriebes und des Einzeltieres, die Auftraggeberin / den Auftraggeber, die erwünschte Untersuchung und eine Angabe enthält, an wen die Rechnung zu stellen ist.

### III. Laboratorien

8. **Laboratorien**, welche Untersuchungen im Rahmen der amtlichen Brucellose-Bekämpfung durchführen, bedürfen hierzu der Anerkennung durch das BLV (Art. 312 TSV). Eine aktuelle Liste wird auf der Webseite des BLV publiziert ([www.blv.admin.ch](http://www.blv.admin.ch)).
9. **Nationales Referenzlabor:** ZOBA, Institut für Veterinär-Bakteriologie der Vetsuisse-Fakultät der Universität Bern, Länggassstrasse 122, 3012 Bern oder Postfach 8466, 3001 Bern
10. Nach Wiederholung fragliche Resultate, oder im IDEXX ELISA mit einer OD von >70% - 80% als „verdächtig“ einzustufende Werte, sowie positive Resultate müssen der Kantonstierärztin / dem Kantonstierarzt gemeldet und vom zuständigen Referenzlabor überprüft werden. Für die Überprüfung von Seren sind die Rohdaten (OD-Werte in Prozent der Positivkontrolle) und das verwendete Testkit anzugeben. Abklärungsuntersuchungen zu Proben, die auch im Referenzlabor serologisch positiv reagieren, werden von der Kantonstierärztin / dem Kantonstierarzt in Absprache mit dem Referenzlabor angeordnet. Verdächtige Reinkulturen sind in Standardtransportmedium mit Tupfer zu versenden.

### IV. Untersuchungsmethoden

#### 11. Serologische Untersuchung für den Antikörpernachweis im Blut:

- **ELISA:** es dürfen nur vom BLV für die jeweilige Verwendung zugelassene Testsysteme zur Anwendung kommen. Die für die Verwendung von ELISA-Testsystemen vom Hersteller beigelegten Gebrauchsvorschriften sind zu befolgen. Die aktuell zugelassenen Testsysteme sind auf der Webseite des BLV publiziert ([www.blv.admin.ch](http://www.blv.admin.ch) > Tiergesundheit > Übersicht Tierkrankheiten > Brucellose).
- **Gepufferte Brucella Antigentests (BBAT):**
  - **Rose Bengal Test (RBT):** Der **Rose Bengal Test** für *B. abortus/melitensis/suis* wird nach den Vorgaben der aktuellen Ausgabe des Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines der OIE\*<sup>1</sup> durchgeführt. Die Resultate werden als negativ oder positiv berichtet.
  - **Komplementbindungsreaktion (KBR):** Die Komplementbindungsreaktion wird nach den Vorgaben der aktuellen Ausgabe des Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines der OIE\*<sup>1</sup> durchgeführt. Die Resultate werden in internationalen Einheiten ausgedrückt.

#### 12. Erregernachweis mikroskopisch:

- **Nachgeburt/Fötus:** Kotyledonen sowie beim Fötus die Leber, Lunge sowie der Labmagen (Sediment) werden mikroskopisch mittels modifizierter Ziehl - Neelsen Spezialfärbung nach Stamp (gemäss Vorgaben der aktuellen Ausgabe des Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines der OIE\*<sup>1</sup>) untersucht. Neben den Brucellen sind auch Coxiellen und Chlamydien in dieser Spezialfärbung positiv. Bei Tieren mit positivem Ergebnis der Spezialfärbung besteht der Verdacht auf eine Brucellose-Infektion. In diesem Fall muss, falls noch nicht vorhanden, eine Blutprobe des Muttertieres oder der Herde entnommen und der Antikörpernachweis durchgeführt werden.  
Bei einem positiven Antikörpernachweis besteht ein Tierseuchenverdacht und es muss ein kultureller Erregernachweis durchgeführt werden.
- **Organe/Punktate:** die mikroskopische Untersuchung wird sinngemäss nach dem Abschnitt „Nachgeburt/Fötus“ durchgeführt.

### 13. Erregernachweis kulturell:

Im Verdachtsfall wird der kulturelle Erregernachweis mittels spezieller Isolationsmethoden (Abril et al. 2011<sup>\*2</sup>) und Spezialnährmedien gemäss den Vorgaben der aktuellen Ausgabe des Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines der OIE<sup>\*1</sup> durchgeführt. Alle verdächtigen Reinkulturen müssen zur Bestätigung an das Referenzlabor weitergeleitet werden.

### 14. Diagnostisches Vorgehen für die Brucellose der Rinder, Brucellose der Schafe und Ziegen, Brucellose der Widder und Brucellose der Schweine:

Als Grundmethode für **serologische Tests** dienen **bei Wiederkäuern** die zu diesem Zweck zugelassenen ELISA-Kits, **bei Schweinen** der RBT, bzw. der zugelassene ELISA-Kit mit Blutproben.

Bei **Aborten** erfolgt neben der serologischen Untersuchung des Muttertieres auch ein mikroskopischer Erregernachweis in Nachgeburt/Fötus mittels modifizierter Ziehl - Neelsen Spezialfärbung nach Stamp gemäss Vorgaben der aktuellen Ausgabe des Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines des OIE<sup>\*1</sup>.

Bei einem positiven Antikörpernachweis besteht ein Tierseuchenverdacht und es muss sowohl eine serologische Bestandesuntersuchung als auch ein kultureller Erregernachweis durchgeführt werden.

**Für Tiere in KB-Stationen** gelten die Technischen Weisungen über sanitärische Anforderungen an Produktion, Lagerung, Abgabe und Übertragung von Samen der Rinder-, Schaf-, Ziegen- und Schweinegattung ([www.blv.admin.ch](http://www.blv.admin.ch) > Themen > Tiergesundheit > Fachthemen > Künstliche Besamung / Embryotransfer). Für die Ein-, Durch- und Ausfuhr von Klautieren sind besondere Bestimmungen zu beachten (<http://www.blv.admin.ch> > Themen > Internationales).

Diagnostisches Vorgehen für die **Brucellose der Widder**: Als Grundmethode dient die serologische Untersuchung mittels ELISA. Bei einem positivem Resultat wird vom betroffenen Tier frühestens nach 2 Wochen eine zweite Probe für die serologische Nachuntersuchung erhoben; die Untersuchungen gelten nach negativem zweiten Befund dann als abgeschlossen, wenn die epidemiologische Abklärung im Bestand keinen Hinweis auf Brucellose ergibt.

### 15. Beurteilungsschema und weitere Abklärungen: Ein positiver Fall liegt vor wenn ein *Brucella* Stamm isoliert wurde. Die Interpretation von serologischen Resultaten **für die Brucellose der Rinder, Brucellose der Schafe und Ziegen, und Brucellose der Schweine** und das damit verbundene weitere Vorgehen sind im Anhang beschrieben.

## V. Inkrafttreten

Diese Weisungen ersetzen die Technischen Weisungen über die Entnahme von Proben und deren Untersuchung auf Brucellose und Coxiellose vom 1. Mai 1969 und treten am 1. Oktober 2005 in Kraft.

<sup>\*1</sup>Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, World Organization for Animal Health (OIE), [http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A\\_summry.htm](http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A_summry.htm).

<sup>\*2</sup>A novel isolation method of *Brucella* species and molecular tracking of *Brucella suis* biovar in domestic and wild animals (2011). Abril C, Thomann A, Brodard I, Wu N, Ryser-Degiorgis MP, Frey J, Overesch G. *Vet Microbiol.* **150**:405-10.

## Anhang: Beurteilungsschema für serologische Befunde bei Brucellose der Rinder, Brucellose der Schafe und Ziegen, und Brucellose der Schweine

### 1. Beurteilung im ELISA

Die nachstehende Tabelle gibt Auskunft über die Ergebnisse der Untersuchung von Blutproben im ELISA sowie über das weitere Vorgehen.

Ergebnis im ELISA	Weiteres Vorgehen
negativ	Untersuchung abgeschlossen mit negativem Befund
Verdächtig/positiv	Probe ans Referenzlabor

### 2. Folgeuntersuchungen im Referenzlabor sowie weiteres Vorgehen

Die nachfolgende Tabelle gibt Auskunft über die Untersuchungen von positiven Proben im Referenzlaboratorium, die möglichen Ergebnisse sowie deren Beurteilung. Alle Proben werden mittels ELISA, Agglutination (Rose Bengal Test RBT) **und** KBR nachuntersucht. Bei Unklarheiten empfiehlt es sich, mit der Leitung des Referenzlaboratoriums Kontakt aufzunehmen.

ELISA	Agglutination (RBT)	KBR	Gesamtbeurteilung und weiteres Vorgehen
negativ	negativ	< 20 IE/ml, negativ	<b>Untersuchung abgeschlossen</b> , negativer Befund.
positiv	positiv	≥ 20 IE/ml, positiv	<b>Handelt es sich um einen Einzelbefund</b> , liegt <b>Verdacht</b> auf Brucellose vor und epidemiologische Abklärungen im Bestand sind durchzuführen, Vorgehen nach Artikeln 154, 193, 210 der TSV. <b>Sofern mehrere Proben desselben Bestandes positiv sind</b> , liegt ein <b>Seuchenfall</b> im Sinne von Artikeln 151, 190, 207 vor. Die epidemiologischen Abklärungen richten sich nach den Artikeln 155, 194, 211 der TSV.
positiv	positiv	< 20 IE/ml, negativ	<b>Handelt es sich um einen Einzelbefund</b> , ist vom betroffenen Tier frühestens nach 2 Wochen eine zweite Blutprobe für die serologische Nachuntersuchung zu erheben; die Untersuchungen gelten nach negativem Befund dann als abgeschlossen, wenn die epidemiologische Abklärung im Bestand keinen Hinweis auf Brucellose ergibt. <b>Sofern mehrere Proben desselben Bestandes positiv sind</b> , liegt <b>Verdacht</b> auf Brucellose vor. Die epidemiologischen Abklärungen im Bestand richten sich nach den Artikeln 154, 193, 210 der TSV.
positiv	negativ	≥ 20 IE/ml, positiv	<b>Handelt es sich um einen Einzelbefund</b> ist vom betroffenen Tier frühestens nach 2 Wochen eine zweite Blutprobe für die serologische Nachuntersuchung zu erheben; die Untersuchung gilt nach negativem Befund dann als abgeschlossen, wenn die epidemiologische Abklärung im Bestand keinen Hinweis auf Brucellose ergibt. <b>Sofern mehrere Proben desselben Bestandes positiv sind</b> , liegt <b>Verdacht</b> auf Brucellose vor. Die epidemiologischen Abklärungen im Bestand richten sich nach den Artikeln 154, 193, 210 der TSV.
positiv	negativ	< 20 IE/ml, negativ	<b>Untersuchung abgeschlossen</b> , sofern epidemiologisch kein Hinweis auf Brucellose besteht.

### 3. Untersuchungsmaterial Milch von Rindern:

Sofern Milchproben im ELISA nicht interpretierbare oder positive Resultate ergeben, sind Blutproben zu erheben und an das Referenzlaboratorium einzuschicken. Es empfiehlt sich in jedem Fall, bei unklarer Interpretation mit der Leitung des Referenzlaboratoriums Kontakt aufzunehmen.