

Monitoring-Systeme in Zuchtschweinebeständen aus Sicht der Wissenschaft

Positionspapier

von Heiko Nathues¹, Hendrik Nienhoff², Elisabeth grosse Beilage¹, Thomas Blaha¹, Mathias Ritzmann³, Gerald Reiner⁴, Karl-Heinz Lahrman⁵, Johannes Kaufhold⁶, Dagmar Waberski⁷, Isabell Hennig-Pauka⁷, Michael Wendt⁷, Karl-Heinz Waldmann⁷

In diesem Artikel wird ein Vorschlag aufgezeigt, wie Untersuchungen für möglichst transparente und deutschlandweit standardisierte Zertifikate für verschiedene Infektionserreger beim Schwein aussehen können. Das hier vorgestellte „DE-Zertifikat“ geht in seiner Aussagekraft weit über bis dato bestehende Zertifikate (Westfalen-Pass, Ems-Vechte-Hase-Screening etc.) hinaus und ist im Gegensatz zu bereits etablierten Zertifikaten allein aus wissenschaftlicher Sicht und ohne eigenes ökonomisches Interesse entworfen worden.

Mit dem Ziel, Schweine eines definierten Gesundheitsstatus zu vermarkten und den Kunden deutscher Ferkelerzeuger dadurch mehr Transparenz zu bieten, wurden in den vergangenen Jahren von verschiedensten Institutionen (Erzeugerringe, Vermarktungsorganisationen etc.) zahlreiche „Gesundheitszertifikate“, „Gesundheitszeugnisse“ und „Ferkelpässe“ für den Handel mit Absetzferkeln und Mastläufern etabliert. Gleichzeitig haben auch die in Deutschland ansässigen Zuchtorganisationen ihre Monitoring- und Surveillance-Systeme für verschiedene Infektionserreger überarbeitet und der Nachfrage nach „zertifizierten“, spezifisch Pathogen-freien (SPF) Tieren, insbeson-

dere Zuchtläufere und Jungsauen, angepasst. Die zum Teil erheblichen Unterschiede in der Untersuchungshäufigkeit, Unterschiede bei den Stichprobenumfängen, den Labormethoden und den Prüfberichten, mit denen die Ergebnisse dokumentiert werden, führen jedoch zu einer nur mäßigen Vergleichbarkeit der verschiedenen Programme und verunsichern Tierärzte wie Landwirte hinsichtlich der Zuverlässigkeit und Sicherheit dieser „Zertifikate“. Dieser Istzustand mit einer Vielzahl unterschiedlicher Programme sowie entsprechenden Zertifikaten und Zeugnissen wurde nicht zuletzt durch die föderale Organisation des Schweinegesundheitsdienstes in Deutschland gefördert, da vielfach keine Absprachen zu einem einheitlichen Vorgehen stattgefunden haben.

Aus Sicht der Wissenschaft ist die derzeitige Praxis in Deutschland eher fraglich. Bereits an anderer Stelle wurde festgestellt, dass „zig verschiedene Zertifikate am Ende eher zu Verunsicherung als zu mehr Transparenz“ führen [1]. Diesem Punkt können die Autoren nur zustimmen; die Einigung auf einen „deutschlandweit einheitlichen Standard“ wäre daher sehr wünschenswert.

Initiiert von einigen Zuchtorganisationen und dem Schweinegesundheitsdienst (SGD) in Niedersachsen befasst sich eine Arbeitsgruppe aus Vertretern der veterinärmedizinischen Bildungsstätten sowie der Landwirtschaftskammer mit der Thematik, um erstmalig Rahmenbedingungen resp. wissenschaftliche Notwendigkeiten für solch ein deutschlandweit einheitliches, „sicheres“ und „zuverlässiges“, aber auch „ökonomisch akzeptables“ Zertifikat zu spezifizieren. Die Ergebnisse entsprechender Diskussionen in dieser Arbeitsgruppe sind Gegenstand dieses Artikels. Im Folgenden werden wissenschaftliche Grundlagen für Monitoring- und Surveillance-Systeme in Schweinebeständen im Ansatz erläutert, die ökonomischen Aspekte solcher Systeme erwähnt und ein Vorschlag aufgezeigt, wie die Untersuchungen für möglichst transparente und deutschlandweit standardisierte Zertifikate („DE-Zertifikat“) für verschiedene Infektionserreger beim Schwein aussehen können.

Monitoring- und Surveillance-Systeme in Schweinebeständen

„Monitoring“ ist ein Überbegriff für alle Arten der unmittelbaren systematischen Erfassung, Beobachtung oder Überwachung eines Vorgangs oder Prozesses mittels technischer Hilfsmittel oder anderer Systeme. Dabei ist die wiederholte Durchführung der Beobachtung resp. Überwachung ein zentrales Element der jeweiligen Untersuchungsprogramme [2]. „Surveillance“ ist ebenfalls ein Terminus für die systematische und kontinuierliche Beobachtung eines Geschehens in Raum und Zeit, wobei im Unterschied zum Monitoring (als rein passives Beobachtungssystem) auch die Interpretation und das Ergreifen entsprechender Maßnahmen dazugehören. Die Begriffe „Monitoring“ und „Surveillance“ werden zunehmend synonym verwendet oder mit der Abkürzung MOSS (Monitoring and Surveillance System) subsummiert. Der Einfachheit halber wird im folgenden Text nur noch der Begriff „Monitoring“ verwendet, wenngleich die beschriebenen Prozesse eher einem Surveillance-System entsprechen.

Die Anwendung spezifischer Monitoring-Systeme in der Schweinepopulation bzw. in einzelnen Schweinebeständen hat in Deutschland eine lange Tradition und wird seit mehr als 20 Jahren dazu genutzt, das Auftreten und mittlerweile auch die *Freiheit von Tierseuchen*, beispielsweise die Klassische Schweinepest (KSP) und Aujeszkysche Krankheit (AK), zu „beobachten“ [3]. Die Untersuchungen auf anzeigepflichtige Tierseuchen sind dabei durch umfangreiche Verordnungen und diverse Methodensammlungen staatlicher Untersuchungseinrichtungen geregelt und standardisiert. Bei der Erarbeitung dieser Regelwerke wurden die Eigenschaften der Erreger (Kontagiosität, Persistenz, Tenazität etc.), die Größe der Populationen unter Risiko sowie die Notwendigkeit einer möglichst hohen Sicherheit der Untersuchungsergebnisse und weniger die ökonomischen Aspekte der eigentlichen Untersuchungskosten berücksichtigt. Auf diese Weise wurde vermieden, dass durch Einsparungen bei den Untersuchungskosten (z. B. durch zu geringe Stichprobenumfänge) das Risiko für

¹ Außenstelle für Epidemiologie, Bakum, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover

² Schweinegesundheitsdienst (SGD), Landwirtschaftskammer Niedersachsen

³ Klinik für Schweine, Veterinärmedizinische Universität Wien

⁴ Klinik für Schweine, Fachbereich Veterinärmedizin, Justus-Liebig-Universität, Gießen

⁵ Klinik für Klauentiere, Fachbereich Veterinärmedizin, Freie Universität Berlin

⁶ Ambulatorische und Geburtshilfliche Tierklinik, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig

⁷ Klinik für kleine Klauentiere

und forensische Medizin und Ambulatorische Klinik, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover

Tab. 1: Erforderlicher Stichprobenumfang zum Nachweis einer Infektion bei mindestens einem infizierten Tier einer Gruppe

Gruppengröße (n)	Anteil infizierter Tiere in der Gruppe					
	5 %		10 %		20 %	
	Konfidenz-Level					
	90 %	95 %	90 %	95 %	90 %	95 %
Anzahl erforderlicher Proben (n)						
100	36	45	20	25	10	13
200	41	51	21	27	11	13
300	42	54	22	28	11	14
750	44	57	22	28	11	14
3000	45	58	22	29	11	14

modifiziert nach [4]

ein Nichterkennen von Infektionen ansteigt. Nur wenn eine ausreichende Anzahl Schweine aus einem Bestand in eine regelmäßig erfolgende Untersuchung einbezogen wird, kann am Ende die Freiheit von einem Infektionserreger mit ausreichender Sicherheit (≥ 95 Prozent Wahrscheinlichkeit) angenommen werden. Für die Untersuchung auf KSP und AK werden bis zu 30 Schweine aus einer Herde bzw. einer seuchenhygienischen Einheit untersucht, um eine Infektion mit einer Prävalenz von ≥ 10 Prozent mit 95 Prozent Sicherheit (Fehler 1. Art ≤ 5 Prozent) auszuschließen (Tab. 1). Jede Reduktion des Stichprobenumfangs würde dazu führen, dass entweder nur KSP resp. AK mit einer höheren Prävalenz bei gleichbleibender Sicherheit der Ergebnisse oder Infektionen mit gleicher Prävalenz bei geringerer Sicherheit der Ergebnisse erkannt würden [5].

In der Wissenschaft gilt eine Irrtumswahrscheinlichkeit bzw. ein Fehler 1. Art ≤ 5 Prozent ebenfalls als akzeptabel [6]. Dieser Wert entspricht einer Ergebnissicherheit von mindestens 95 Prozent. Eine höhere Irrtumswahrscheinlichkeit als 5 Prozent resp. höhere Wahrscheinlichkeit falsch negativer Ergebnisse/Entscheidungen wird nur dann akzeptiert, wenn dafür eine schlüssige Begründung vorliegt. Allerdings wird dann auch gleichzeitig gefordert, dass bei der Darstellung der Ergebnisse diese höhere Irrtumswahrscheinlichkeit ausdrücklich benannt und bei der Interpretation bzw. Diskussion entsprechend berücksichtigt wird [7].

Das Vorgehen beim Monitoring anzeigepflichtiger Tierseuchen sowie die Maßstäbe, mit denen die epidemiologische Aussagekraft wissenschaftlicher Untersuchungen in Tierpopulationen beurteilt wird, unterscheiden sich erheblich von den derzeit in Deutschland auf freiwilliger Basis etablierten Monitoring-Systemen. Aus diesem Grund sollte hier auch der Terminus „Frei von ...“ nicht benutzt werden, sofern nicht mindestens die gleichen Ansprüche wie beim veterinärbehördlich vorgeschriebenen Vorgehen bei Tierseuchen hinsichtlich Stichprobenumfang, Untersuchungsfrequenz etc. erfüllt werden. Und selbst wenn bei einem Monitoring in Analogie zum Vorgehen bei Tier-

seuchen relativ hohe Ansprüche hinsichtlich Probenzahl etc. umgesetzt werden, besteht ein Rest von Unsicherheit (i. d. R. 5 Prozent), der dazu führt, dass keine 100-prozentige Sicherheit für die Aussage „Frei von ...“ besteht. Sollte dennoch auf der Basis weniger Untersuchungsergebnisse mit entsprechend hoher Irrtumswahrscheinlichkeit behauptet werden, ein Schweinebestand sei „frei von einem bestimmten Erreger“, ist diese Aussage nach Auffassung der Autoren nicht haltbar.

„DE-Zertifikat“

Mit dem Ziel, ein standardisiertes, transparentes und ökonomisch umsetzbares Zertifizierungssystem für das Monitoring bestimmter Infektionserreger in der deutschen Schweineproduktion, insbesondere aber in den Schweinebeständen der Zuchtorganisationen einzuführen, wurden verschiedene Faktoren (akzeptable Irrtumswahrscheinlichkeit, Verfügbarkeit von Methoden, Untersuchungskosten etc.) betrachtet und ein Kompromiss erarbeitet. Dieser Kompromiss, dessen Inhalt im Folgenden dargestellt wird, beschreibt zunächst nur die Auffassung einer Arbeitsgruppe mit Vertretern veterinärmedizinischer Bildungsstätten sowie der Landwirtschaftskammer Niedersachsen und ist nicht rechtsverbindlich. Dennoch sei darauf hingewiesen, dass die Empfehlungen allein aus wissenschaftlicher Sicht und ohne eigenes ökonomisches Interesse entworfen wurden.

In Zukunft wird die DVG-Fachgruppe „Schweinekrankheiten“ den Inhalt dieses Positionspapiers aufgreifen, in eine Leitlinie überführen, stetig aktualisieren und weiterentwickeln.

In einer erweiterten Arbeitsgruppe unter dem Dach der DVG-Fachgruppe „Schweinekrankheiten“ sollen auch Vertreterinnen und Vertreter aus folgenden Organisationen resp. Verbänden mitwirken:

- DVG-Fachgruppe Epidemiologie
- DVG, AVID
- BTK, Ausschuss für Schweine
- bpt, Fachgruppe Schwein
- Schweinegesundheitsdienste
- FLI, Zulassungsstelle

- Zuchtorganisationen
- Landwirtschaftskammern

Es ist angestrebt, dass sich zukünftig auch Repräsentanten weiterer Interessensgruppen (wie Hersteller von Diagnostika, Versicherungen etc.) beteiligen, damit aktuelle Entwicklungen und Fragestellungen berücksichtigt werden. Die Arbeitsgruppe soll mindestens einmal im Jahr tagen und ihre Beschlüsse (Änderungen der Leitlinie etc.) in einschlägigen Fachzeitschriften der Veterinärmedizin und der Agrarwissenschaften publizieren.

Es ist nochmals zu betonen, dass eine Zertifizierung „frei von ...“ oder „Freiheit von ...“ aufgrund der hier beabsichtigten, wenig frequenten Untersuchung mit reduzierten Stichprobenumfängen fachlich nicht vertretbar ist. Dieses Güte Merkmal eines Schweinebestandes, das nur mit Monitoring-Systemen nach o. g. Kriterien überprüft werden kann, wird aber auch nicht von allen Zuchtorganisationen oder Landwirten als Kunden dieser Organisationen für notwendig erachtet, sodass ein Gütesiegel, wie folgend beschrieben, durchaus sinnvoll sein kann. Ein „DE-Zertifikat“ soll im Gegensatz zu „frei von ...“ lediglich eine „Unwahrscheinlichkeit/Unverdächtigkeit“ für spezifische Infektionserreger bescheinigen. Ein erhöhtes Risiko hinsichtlich einer fehlerhaften Beurteilung resp. Einschätzung des Infektionsstatus des Bestandes, hier mindestens 20 Prozent, müsste von allen Beteiligten in Kauf genommen werden. Damit stellt ein „DE-Zertifikat“ zwar nicht den höchsten Standard dar, den ein Zuchtschweinebestand hinsichtlich der Überwachung von Infektionskrankheiten erreichen kann, es ist aber das erste Gütesiegel, das deutschlandweit einheitlich, standardisiert und transparent den Infektionsstatus für ausgewählte Erreger unter Berücksichtigung klar formulierter Unsicherheiten beschreibt.

Prinzip der Zertifizierung

Der Status eines Schweinebestandes für bestimmte Infektionskrankheiten wird durch Betrachtung der Tierherkunft, des Bestandes selbst und durch die Kombination verschiedener Untersuchungsverfahren festgestellt: Der betreuenden Tierärztin/dem betreuenden Tierarzt obliegt die klinische und epidemiologische Untersuchung des Bestandes, die Entnahme und der Versand von Proben für labordiagnostische Untersuchungen sowie ggf. die Erhebung pathologischer Veränderungen an Organen geschlachteter Schweine („Schlachthof-Check“). Weiterführende Untersuchungen in anerkannten Einrichtungen dienen der Beurteilung von makroskopischen und histologischen Organveränderungen (Sektion) sowie dem direkten und/oder indirekten Erregernachweis.

Die Tierhalter sollen nachweisen, dass ihre Bestände nur mit Schweinen beliefert wurden (ggf. aufgebaut wurden) und beliefert werden, die aus einem für den entsprechenden Erreger „DE-zertifizierten“ oder erreger-

freien Schweinebestand stammen. Im Fall von PRRSV darf für den Bestand nur Spermia aus PRRSV-freien^{*} Besamungsstationen bezogen werden. Da derzeit noch nicht alle Besamungsstationen ein PRRSV-Monitoring für den o. g. Status etabliert haben, wird übergangsweise bis zum 31. Dezember 2013 auch Spermia aus SGD PRRSV-zertifizierten Besamungsstationen akzeptiert [9].

Ein „DE-Zertifikat“ soll erstmalig ausgestellt werden, wenn über einen Zeitraum von sechs Monaten

1. bei regelmäßiger klinischer Untersuchung im Abstand von maximal vier Wochen keine klinischen Symptome für die zu zertifizierende Infektionskrankheit festgestellt wurden, und
2. bei drei aufeinander folgenden Untersuchungen im Abstand von drei Monaten in einer repräsentativen Stichprobe keine spezifischen Antikörper^{**} nachgewiesen werden konnten (gilt nur für Erreger, für die serologische Testverfahren zur Verfügung stehen; **Tab. 2**), und
3. bei drei aufeinander folgenden Untersuchungen im Abstand von drei Monaten in einer repräsentativen Stichprobe keine spezifischen Genomfragmente^{**} nachgewiesen werden konnten bzw. der Erreger mittels kultureller resp. parasitologischer Untersuchung nicht nachgewiesen werden konnte.

Sobald einer dieser drei Punkte nicht (mehr) zutrifft, beginnt die Frist von sechs Monaten erneut. Werden Schweine mit unbekanntem Status oder Schweine mit positivem Ergebnis eingestellt oder wird Spermia mit unbekanntem Status oder positivem Ergebnis bezogen, soll das Zertifikat erlöschen. Ein neues Zertifikat soll erst dann wieder erteilt werden, wenn Voraussetzungen Nr. 1 bis 3 wieder erfüllt sind.

Werden durch die Tierhalter und/oder durch die Tierärzte zeitlich unabhängig von den regelmäßigen Untersuchungen, die im Abstand

^{*} PRRSV-frei/PRRSV-negativ siehe [8]

^{**} Ein positiver (direkter oder indirekter) Erregernachweis und/oder „fragliches“ Untersuchungsergebnis bei nicht mehr als 15 Prozent der untersuchten Schweine hat zur Folge, dass ein Zertifikat zunächst „ruht“ bzw. noch nicht ausgestellt werden kann. Um das Ruhen des Zertifikats wieder aufzuheben, sollen die Proben derselben Tiere umgehend mit einer anderen anerkannten Methode erneut untersucht werden. Alternativ soll binnen 14 Tagen eine weitere Stichprobe mit derselben Methode **und**, sofern verfügbar, dem jeweiligen Goldstandard untersucht werden. Sind die positiven und/oder fraglichen Untersuchungsergebnisse mit einer anderen anerkannten Methode oder dem Goldstandard (sofern verfügbar) nicht zu bestätigen, kann das Zertifikat ausgestellt bzw. verlängert werden.

Beispiel:

Erstuntersuchung Test A für Serumproben: 1/15 Probe positiv, 1/15 Probe fraglich

Möglichkeit I: alle Serumproben mittels Test B untersuchen

Möglichkeit II: nach einigen Tagen wieder Proben von 15 Tieren einsenden; Serum für Test A und alternatives Probenmaterial für Test C

Checkliste I: Probenentnahme

- Identifikation der Probanden anhand der Betriebskennzeichnung auf der Ohrmarke und, wenn möglich, einer individuellen Nummer auf der gleichen oder einer weiteren Ohrmarke.

Eine betriebsspezifische Identifikation soll auf dem Probenbegleitschein gut lesbar dokumentiert werden! Die Proben selbst können mit einer fortlaufenden Nummer beschriftet werden, sofern anhand des Probenbegleitscheins eine Zuordnung zu einem Bestand/zu einem Tier möglich ist.

Entnahme von Blutproben

- Je Schwein eine sterile Kanüle und eine sterile Serum-Monovette verwenden, um Kreuzkontaminationen zu vermeiden
- Beschriftung jeder einzelnen Probe
- Proben sollen gekühlt (optimal sind 6 °C), dürfen jedoch **nicht** tiefgefroren (<0 °C) werden

Entnahme von Analabstrichen/Kotproben (ausschließlich rektal!)

- Je Schwein einen sterilen Tupfer bzw. ein steriles Probengefäß **mit** Schraubverschluss verwenden, um Kreuzkontaminationen zu vermeiden
- Für kulturelle Untersuchungen: Tupfer mit Medium
- Für molekularbiologische Untersuchungen: Kotproben (Tupfer nur in Ausnahmefällen, aber dann immer ohne Medium)
- Beschriftung jeder einzelnen Probe
- Proben sollen gekühlt werden (optimal sind 6 °C)

Entnahme von Nasentupfern

- Je Schwein einen sterilen Tupfer verwenden, um Kreuzkontaminationen zu vermeiden
- Für kulturelle Untersuchungen: Tupfer mit Medium
- Für molekularbiologische Untersuchungen: Tupfer ohne Medium
- Beschriftung jeder einzelnen Probe
- Proben sollen gekühlt werden (optimal sind 6 °C)

von max. vier Wochen erfolgen sollen, klinische Symptome im Bestand festgestellt, die als Hinweis auf eine Infektion mit dem auf dem Zertifikat genannten Erreger gewertet werden

können, soll umgehend eine klinische und epidemiologische Untersuchung des Bestands erfolgen. Außerdem sollen weiterführende Untersuchungen (**Tab. 2**) zum Nachweis resp.

Checkliste II: Probenversand

Proben sollen nicht vor einem Wochenende versendet werden, wenn die Zustellung erst nach dem Wochenende zu erwarten ist. Dadurch wird eine länger andauernde, unsachgemäße Probenlagerung in Paketzentren etc. vermieden.

Die Proben sollen unter Berücksichtigung aller relevanten (Rechts-)Vorschriften versendet werden (Richtlinien der IATA [International Air Transport Association], Vorschriften der ADR [Accord européen relatif au transport international des marchandises Dangereuses par Route] etc.).

Mindestangaben auf dem Probenbegleitschein

- Name & Anschrift des Tierarztes
- Name & Anschrift des Tierhalters
- Name & Anschrift des Rechnungsempfängers
- Name & Anschrift weiterer Befundempfänger
- Tierart & Tieralter
- Datum der Probenentnahme
- Anzahl der Proben
- Art der Proben
- Kennzeichnung der Proben (ggf. Verknüpfung zwischen fortlaufenden Nummern auf Probenbehältnissen und den individuellen Kennzeichnungen einzelner Tiere)
- Vorbericht (klinische Symptome, Impfstatus, etc.)
- Exakter Untersuchungsauftrag (möglichst spezifische Angaben zu dem Test, der durchgeführt werden soll)
- Ggf. weitere Informationen zu früheren Untersuchungen

Ausschluss des auf dem Zertifikat genannten Erregers unter Berücksichtigung entsprechender klinisch erkrankter Tiere eingeleitet werden. Der Stichprobenumfang, das Untersuchungsmaterial und die Untersuchungsmethode sind in **Tabelle 2** erläutert.

Stichprobenumfang

In die klinische Untersuchung der Herde werden im Sinne einer umfassenden Bestandsuntersuchung **alle Schweine** einbezogen. Die Untersuchung der Herde durch die bestandsbetreuende Tierärztin/den bestandsbetreuenden Tierarzt soll regelmäßig in Abständen von maximal vier Wochen erfolgen.

Die weiterführenden Untersuchungen an Probenmaterial von Schweinen erfolgen immer nur an einer Stichprobe. In Abhängigkeit vom Erreger, für den ein Zertifikat ausgestellt resp. verlängert werden muss, sollen die Untersuchungen in Abständen von maximal zwei, drei resp. sechs Monaten erfolgen. Der Stichprobenumfang für ein Zertifikat zur Bescheinigung der „Unwahrscheinlichkeit“ muss so groß bemessen werden, dass unabhängig vom Erreger eine Prävalenz einer Infektion von 10 Prozent mit einer Sicherheit von mindestens 80 Prozent erkannt wird (**Tab. 3**). Für die meisten Bestände resp. Tiergruppen wird es daher notwendig sein, mindestens 15 Schweine zu untersuchen. Das Alter der Schweine, die in die weiterführenden Untersuchungen einzu beziehen sind, wird in Abhängigkeit der Epidemiologie der verschiedenen Erreger festgelegt (**Tab. 2**).

Tab. 3: Erforderlicher Stichprobenumfang zum Nachweis einer Infektion mit einer Prävalenz von 10 Prozent bei mindestens einem infizierten Tier einer Gruppe

Gruppengröße (n)	Konfidenzintervall		
	80 %	90 %	95 %
	Anzahl erforderlicher Proben (n)		
1000	15	22	28
2000	15	22	29
5000	16	22	29
10 000	16	22	29

modifiziert nach [4]

Für die weiterführenden Untersuchungen auf verschiedene Infektionserreger sind die nachfolgend genannten, allgemeinen Grundsätze bezüglich der klinischen und epidemiologischen Untersuchung durch die Tierärztin/den Tierarzt, der labordiagnostischen Untersuchung von Probenmaterial sowie der Befunddokumentation zu beachten.

Voraussetzungen für eine „gute“ Labordiagnostik

Tierärztinnen und Tierärzte, die im Rahmen der Zertifizierung für die klinische Untersuchung der Schweinebestände sowie für die Einleitung weiterführender Untersuchungen an Probenmaterial im Labor verantwortlich sind, sollten grundsätzlich drei wichtige Einflussfaktoren auf die Ergebnisse der Laboruntersuchungen berücksichtigen:

1. Probenmanagement (Entnahme, Lagerung und Versand)

2. Auswahl der Untersuchungseinrichtung und Labormethode
3. Befunddokumentation und Befundmitteilung

Das Probenmanagement hat einen entscheidenden Einfluss auf das spätere Untersuchungsergebnis; Fehler, die bei Entnahme, Lagerung und/oder Versand von Proben auftreten können, führen i. d. R. zu einer irreversiblen Beeinträchtigung der Probenqualität. Tupferproben zum kulturellen Nachweis von Bakterien müssen nach Entnahme in einem für den jeweiligen Erreger geeigneten Transportmedium umgehend an eine Untersuchungseinrichtung versendet werden. Im Gegensatz dazu sollten Proben für Untersuchungen mit einer PCR (polymerase chain reaction) falls notwendig bei -20 °C oder niedrigeren Temperaturen gelagert und ohne ein Transportmedium versendet werden. Grundsätzlich gilt, dass Proben unverzüglich und gekühlt, ohne große

Tab. 2: Spezifische Anforderungen an die regelmäßigen, weiterführende Untersuchungen zum Nachweis verschiedener Infektionserreger in Schweinebeständen

Erreger	Alter der Schweine	Anzahl der Schweine	Untersuchungsintervall	Untersuchungsmaterial*	Untersuchungsmethode	Besonderheiten**
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	JS, AS	15	3 Monate	Serum, ggf. Tonsillentupfer	ELISA, ggf. PCR oder Kultur	KEINE Impfung
<i>Ascaris suum</i>	AF, LS, JS, AS	15	3 Monate	Kot	Flotation	zzgl. Befund vom Schlachthof
<i>Brachyspira hyodysenteriae</i>	AF, LS, JS	15	6 Monate	Kot	Kultur, ggf. PCR	
<i>Mycoplasma hyopneumoniae</i>	LS, JS	15	3 Monate	Serum, ggf. Tonsillentupfer	ELISA, ggf. PCR	KEINE Impfung
<i>Pasteurella multocida</i> (Typ D, toxinbildend)	AF, LS, JS, AS	15	3 Monate	Serum, ggf. Nasentupfer	ELISA, ggf. PCR	KEINE Impfung
PRRSV	SF, AF, JS	15	2 Monate	Serum	ELISA + PCR	KEINE Impfung
<i>Salmonella</i> spp.	JS	15	3 Monate	Serum, ggf. Kot	ELISA, ggf. Kultur oder PCR	KEINE Impfung mit lebendem Erreger
<i>Sarcoptes suis</i>	AS	15	6 Monate	Serum, ggf. Kratzproben	ELISA, ggf. Mikroskopie	

SF = Saugferkel; AF = Absetzferkel; LS = Läufer Schwein; JS = Jungsau; AS = Altsau

* Grundsätzlich wird Serum bzw. Kot untersucht. Alle Proben sind einzeln zu untersuchen. Andere Material- und Methodenkombinationen (hier mit „ggf.“ gekennzeichnet) sind zu verwenden, wenn die Untersuchung von Serum bzw. Kot zu einem fraglichen und/oder vermutlich falsch positivem Ergebnis geführt hat

** Für alle Erreger gilt: Während des Zeitraums von 14 Tagen vor der Probenentnahme dürfen bei den Schweinen, von denen Proben entnommen werden sollen, keine gegen den Erreger wirkende Mittel zur Prophylaxe, Metaphylaxe und/oder Therapie eingesetzt worden sein.

Checkliste III: Anforderungen an die Labore

Alle Labore, die Untersuchungen für die Ausstellung resp. Verlängerung eines Zertifikats anbieten, sollen durch die Deutsche Akkreditierungsstelle GmbH (DAKs) akkreditiert sein. Sofern Proben für einzelne Untersuchungen an andere Einrichtungen weitergeleitet werden (Unteraufträge an Dritte), sollen auch diese akkreditiert sein. Tierärzte, die für die Einsendung von Proben an eine geeignete Untersuchungseinrichtung verantwortlich sind, sollen sich über den Status der Akkreditierung informieren und sich diesen ggf. bescheinigen lassen.

Mindestanforderungen an Laboreinrichtungen

- Verwendete Testverfahren sollen
 - (a) vom Friedrich-Loeffler-Institut zugelassen sein, oder
 - (b) als kommerzielles Test-Kit erhältlich sein, oder
 - (c) in Fachzeitschriften mit Gutachtersystem publiziert sein.

Werden andere Testverfahren angewendet (sog. Inhouse-Tests), sollen alle relevanten Informationen in geeigneter Weise veröffentlicht werden, sodass ggf. die Reproduzierbarkeit zweifelhafter Untersuchungsergebnisse überprüft werden kann.

- Die analytische Sensitivität und Spezifität sowie die diagnostische Sensitivität und Spezifität der verwendeten Testverfahren sollen bekannt sein und dem Einsender auf Wunsch mitgeteilt werden.
- Die Chargennummer kommerzieller Testkits soll dem Kunden auf Wunsch durch das Labor mitgeteilt werden.
- Die Labore sollen regelmäßig, mindestens jedoch einmal im Jahr an Ringversuchen der entsprechenden Methodik (ELISA, PCR, Kultur etc.) teilnehmen.
- Proben sollen im Labor über einen Zeitraum von mindestens vier Wochen für etwaige Nachuntersuchungen, Bestätigungstests etc. in geeigneter Weise aufbewahrt werden, sofern das Probenmaterial dieses zulässt.

Anforderungen an die Befunde

- Name & Anschrift der Untersuchungseinrichtung
- Name & Telefonnummer des Sachbearbeiters
- Datum des Probeneingangs
- Datum der Befundmitteilung
- Datum des Befundabschlusses
- Name & Anschrift des Tierarztes/Tierarztpraxis
- Name & Anschrift des Tierhalters
- Tierart & Tieralter
- Anzahl der Proben
- Art der Proben
- Kennzeichnung der Proben (ggf. Verknüpfung zwischen fortlaufenden Nummern auf Probenbehältnissen und den individuellen Kennzeichnungen einzelner Tiere)
- Exakte Bezeichnung der Untersuchungsmethode (spezifische Angaben zum Hersteller des Tests oder zur Literaturstelle, in der die Methode beschrieben ist)
- Exakte Angabe der Untersuchungsergebnisse (%OD-Werte, S/P-ratio etc.) und Hinweise zur Interpretation (cut-off etc.)

Temperaturschwankungen vor oder während des Transports an eine Untersuchungseinrichtung eingesendet werden sollten. Die optimale Lagerung und ein geeigneter Transport von Proben sollte im Zweifelsfall mit der Untersuchungseinrichtung abgesprochen werden.

Die Auswahl einer geeigneten Untersuchungseinrichtung ist bei der heutigen Anzahl verschiedener Anbieter von Labor-diagnostik eine mindestens ebenso große Herausforderung wie die Auswahl einer geeigneten Labormethode, mit der das anvisierte Untersuchungsziel erreicht werden kann. Neben finanziellen Aspekten (Kosten des Probenverkehrs, Kosten für die Un-

tersuchung selbst) sollten bei der Auswahl des Labors v. a. Qualitätsmerkmale, wie der Akkreditierungsstatus, berücksichtigt werden. Das Labor muss ein transparentes Qualitätsmanagementsystem haben, das regelmäßig durch eine Akkreditierungsstelle des Deutschen Akkreditierungsrates (DAR, Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung, Berlin) auditiert wird (zukünftig durch die DAKs, Deutsche Akkreditierungsstelle GmbH, Berlin). Das Gütesiegel gewährleistet keinesfalls die 100-prozentige „Richtigkeit“ aller Untersuchungsergebnisse, bescheinigt aber die Neutralität der Einrichtung sowie „die fachliche Kompetenz des Laboratoriums

als auch das Qualitätsmanagementsystem“ (www.aks-hannover.de). Darüber hinaus müssen akkreditierte Einrichtungen alle verwendeten Methoden nach der Etablierung zunächst validieren und im Anschluss fortlaufend mit geeigneten Vergleichsmethoden überprüfen. Mit diesem Verfahren wird gewährleistet, dass die Mindestanforderungen nationaler resp. internationaler Richtlinien an eine „Gute Labor-Praxis“ erfüllt werden [10,11,12].

Eine weitere Anforderung an die Untersuchungseinrichtungen ist, dass ausschließlich Untersuchungsmethoden (i. e. S. Diagnostika) verwendet werden, die in Deutschland vom Friedrich-Loeffler-Institut (FLI) zugelassen sind. Neben diesen Tests werden auch (noch) nicht zugelassene, aber kommerziell erhältliche Tests sowie in einschlägigen Fachzeitschriften publizierte Untersuchungsmethoden anerkannt. Eine Beschränkung auf die genannten Untersuchungsmethoden soll nicht summa summarum die Qualität von Inhouse-Verfahren in Abrede stellen, sondern vielmehr die Transparenz, Vergleichbarkeit und ggf. auch Reproduzierbarkeit von Laborergebnissen verbessern.

Befunde bzw. Prüfberichte, in denen die Ergebnisse von Laboruntersuchungen mitgeteilt werden, sind transparent, detailliert und klar verständlich darzustellen. In dem schriftlichen Befund sollen Mindestangaben, wie Datum des Probeneingangs, Probenkennzeichnung, exakte Bezeichnung der Untersuchungsmethode für den Nachweis eines Erregers oder den Nachweis spezifischer Antikörper, Name des Untersuchers etc., erkennbar sein.

Ausstellen eines Zertifikats

Ein „DE-Zertifikat“ für den jeweiligen Erreger (**Tab. 2**), das die „Unwahrscheinlichkeit“ einer Infektion mit diesem Erreger bescheinigt, soll von der bestandsbetreuenden Tierärztin/dem bestandsbetreuenden Tierarzt ausgestellt werden, wenn alle Voraussetzungen erfüllt sind. Der Tierarzt/die Tierärztin bescheinigt, dass die Anforderungen auf den **Checklisten I bis III (s. Kästen)** von ihm selbst bzw. dem Labor erfüllt worden sind und die weiterführenden Untersuchungen keinen Hinweis auf das Vorliegen der entsprechenden Infektion erbracht haben. Das Zertifikat (**Abb. 1**) soll nach einem einheitlichen Muster ausgestellt werden.

Interpretation eines Zertifikats

Grundsätzlich bescheinigt ein „DE-Zertifikat“ nur, dass in einem Bestand die Infektion mit dem im Zertifikat genannten Erreger „unwahrscheinlich“ ist. Ein Bestand mit einem „DE-Zertifikat PRRSV“ kann **nicht** als frei von PRRSV eingestuft werden. Das Zertifikat, sofern denn die notwendigen Untersuchungen in akkreditierten Einrichtungen mit anerkannten Methoden durchgeführt wurden und alle Befunde negativ waren, besagt lediglich, dass mit einer Sicherheit von 80 Prozent (also einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 20 Prozent)



DE-Zertifikat für Zuchtschweinebestände

In Übereinstimmung mit der Leitlinie
„Monitoring-Systeme in Zuchtschweinebeständen aus Sicht der Wissenschaft“
der DVG-Fachgruppe „Schweinekrankheiten“

Dieses Zertifikat bescheinigt für den Zeitraum vom _____ (Datum der letzten Ausstellung, max. vor 6 Monaten) bis _____ (heute), dass der u. g. Bestand an einem Monitoring-System für

- | | |
|---|---|
| <input type="checkbox"/> <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>
(APP) | <input type="checkbox"/> <i>Pasteurella multocida</i> (Typ D, toxinbildend)
(Rhinitis atrophicans) |
| <input type="checkbox"/> <i>Ascaris suum</i>
(Spulwurmbefall) | <input type="checkbox"/> PRRSV
(Spätabort) |
| <input type="checkbox"/> <i>Brachyspira hyodysenteriae</i>
(Schweinedysenterie) | <input type="checkbox"/> <i>Salmonella species</i>
(Salmonellen-Infektion) |
| <input type="checkbox"/> <i>Mycoplasma hyopneumoniae</i>
(Enzootische Pneumonie) | <input type="checkbox"/> <i>Sarcoptes suis</i>
(Schweineräude) |

teilgenommen hat, das nach einem deutschlandweit einheitlichen Standard* durchgeführt wird. Die regelmäßige tierärztliche Untersuchung des Bestandes und weiterführende Diagnostik belegen, dass eine Infektion von mehr als 10 Prozent der Tiere im Bestand mit dem o. g. Erreger unwahrscheinlich ist (Irrtumswahrscheinlichkeit 20 Prozent).

Die Tierhalterin/der Tierhalter

Name: _____

Str./HsNr.: _____

PLZ/Ort: _____

VVVO-Nr.: _____

bescheinigt, dass

ihr/sein Bestand seit der ersten Ausstellung eines Zertifikats für den/die o. g. Erreger nur mit Schweinen beliefert wurde (ggf. aufgebaut wurde) und beliefert wird, die aus einem für den o. g. Erreger „DE-zertifizierten“ oder erregerfreien Schweinebestand stammen. Im Fall von PRRSV wird für den Bestand nur Sperma aus PRRSV-freien Besamungsstationen bezogen. Beim Auftreten klinischer Symptome für den/die o. g. Erreger wurde die bestandsbetreuende Tierärztin/der bestandsbetreuende Tierarzt konsultiert.

Datum: _____

Unterschrift: _____

Die Tierärztin/der Tierarzt

Name: _____

Str./HsNr. _____

PLZ/Ort: _____

bescheinigt, dass

durch sie/ihn in den letzten 6 Monaten keine Hinweise (typische klinische Symptome, Laborbefunde, etc.) auf eine Infektion mit dem/den o. g. Erreger(n) festgestellt wurden. Die weiterführenden Untersuchungen wurden im vollen Umfang* durchgeführt und erfüllten alle Voraussetzungen für gute Labor-diagnostik*. Die Befunde dieser weiterführenden Untersuchungen werden mindestens 6 Monate aufbewahrt und können ggf. vorgelegt werden.

Datum: _____

Unterschrift: _____

eine PRRSV-Infektion mit einer Prävalenz von ≥ 10 Prozent im Bestand ausgeschlossen werden kann.

Anschrift des korrespondierenden Autors:

Prof. Dr. Karl-Heinz Waldmann, Dipl. ECPHM, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Klinik für kleine Klauentiere und forensische Medizin und Ambulatorische Klinik, Bischofsholer Damm 15, 30173 Hannover, Tel. (05 11) 8 56 72 60, karl.heinz.waldmann@tiho-hannover.de

Literatur:

- [1] Lehnert, H (2009): Ferkel mit Gesundheitszeugnis: so funktioniert das Monitoring. Top Agrar 5, S12-S16
- [2] Bales, S; Baumann, HG; Schnitzler, N (2003): Infektionsschutzgesetz: Kommentar und Vorschriftensammlung. 2. Auflage, Kohlhammer, Stuttgart
- [3] Anonym (2010): Verordnung zum Schutz gegen die Schweinepest und die Afrikanische Schweinepest. BGBl I 3547; zuletzt geändert durch Art. 4 V v. 4.10.2010 I 1308
- [4] Cannon, R; Roe, RT (1982): Livestock disease surveys: a field manual for veterinarians. Australian Bureau of Animal Health, Canberra
- [5] Kreienbrock, L; Schach, S (2005): Epidemiologische Methoden, 4. Auflage. Elsevier-Spektrum, Heidelberg
- [6] Thrusfield, M (1997): Veterinary Epidemiology, 2nd ed. Blackwell, Oxford
- [7] Moher, D; Schulz, KF; Simera, I; Altman, DG (2010): Guidance for developers of health research reporting guidelines. PLoS Med 16, e1000217.
- [8] Holtkamp, DJ; Polson, DD; Torremorell, M; Morrison, B; Classen, DM; Becton, L; Henry, S; Rodibaugh, MT; Rowland, RR; Snelson, H; Straw, B; Yeske, P; Zimmerman, J (2011): Terminologie zur Klassifizierung von Schweineherden. Tierärztliche Praxis (G) 39: 101-112.
- [9] Nienhoff, H; Baier, S; Wettlaufer-Zimmer, U (2010): Zertifizierung der PRRS-Unverträglichkeit von schweinehaltenden Betrieben. Praktischer Tierarzt 91: 513-519
- [10] Anonym (1998): The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products: Guideline on validation of analytical procedures: Methodology. www.eudra.org/emea.html; Abrufdatum: 1.10.2009.
- [11] Anonym (1998): The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products: Guideline on validation of analytical procedures: Definition and terminology. http://www.eudra.org/emea.html; Abrufdatum: 1.10.2009
- [12] Anonym (2004): Office International des Epizooties, Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals, principles of validation of diagnostic assays for infectious diseases. www.oie.int/eng/normes/mmanual/A_00014.htm; Abrufdatum 1.10.2009