



Aviäre Influenza – Entnahme und Versand von Proben sowie labordiagnostische Untersuchungen

Karl Zimmer

**Landesuntersuchungsamt
Institut für Tierseuchendiagnostik**

**Fortbildungsveranstaltung „Tiergesundheit“
Mainz, 18.04.2023**



Entnahme und Versand von Proben zur labordiagnostischen Untersuchung auf AI

Quellen

- 1 **Delegierte Verordnung (EU) 2020/687** zur Ergänzung der Verordnung (EU) 2016/429 hinsichtlich Vorschriften für die Prävention und Bekämpfung bestimmter gelisteter Seuchen
- 2 Entscheidung 2006/437 (EG) über die Genehmigung eines **Handbuchs zur Diagnose der Aviären Influenza** gemäß der Richtlinie 2005/94 EG
- 3 **Amtliche Methode und Falldefinition Geflügelpest (Aviäre Influenza)**, Stand 3.2.2021, des Friedrich-Loeffler-Instituts gemäß dem Gesetz zur Vorbeugung vor und Bekämpfung von Tierseuchen
- 4 **Tierseuchenbekämpfungshandbuch Aviäre Influenza**
- 5 **LUA**, Stand 18.04.2023
- 6 **Verpackungsanweisung P650** gemäß dem Europäischen Übereinkommen über die internationale Beförderung gefährlicher Güter auf der Straße (ADR)
- 7 **Allgemeinverfügung Nr. D / BAM / ADR 3.12 / 304 918**, Stand: 26.2.2020, der Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung zur Zulassung einer alternativen Verpackung für die Beförderung von ansteckungsgefährlichen tierischen Stoffen auf der Straße (ADR)



labordiagnostische Untersuchungen auf AI

labordiagnostische Untersuchungen

Anlass der Untersuchung Tiere und / oder Betriebe	Matrix	Nachweis		Matrix	Nachweis
im Monitoring	Tierkörper / Organe Abstriche Fäzes	Genom		Blut	Antikörper
mit Verdacht					
in der Schutzzone					
in der Überwachungszone					
mit Kontakt					
mit spezifischen Ausnahmen von der Tötung					
mit Wiederbelegung					
N. N.					

Entnahme von Proben zur labordiagnostischen Untersuchung auf AI

Tierkörper

von kurz zuvor verendeten Vögeln^{2,3}
von schwer erkrankten² getöteten Vögeln^{2,3}

❖ keine Einsendung lebender Tiere!⁵

mit eindeutiger Kennzeichnung und
Identitätskennzeichnung¹

vollständig⁵

frisch⁵

ohne deutlich sichtbare Anzeichen von Autolyse
und Fäulnis sowie Madenbefall





Entnahme von Proben zur labordiagnostischen Untersuchung auf AI

Tierkörper, zur Untersuchung ungeeignet





Entnahme von Proben zur labordiagnostischen Untersuchung auf AI

Organe³

Gehirn, Lunge, Niere, Herz, Leber,
Duodenum mit Pankreas, Caecal-Tonsille

von Einzeltieren⁵

eindeutig einer Tierart zuzuordnen,
mit eindeutiger Kennzeichnung und
Identitätskennzeichnung¹

von kurz zuvor verendeten Vögeln^{2,3}

von schwer erkrankten² getöteten Vögeln^{2,3}

frisch⁵

ohne deutlich sichtbare Anzeichen von Autolyse und Fäulnis
sowie Madenbefall

- ❖ Trennung von Organen und Darm mit Fäzes³
- ❖ einmalige Verwendung des Entnahmebestecks⁵



Entnahme von Proben zur labordiagnostischen Untersuchung auf AI

Abstriche

Oropharynx einschließlich Trachea² / Choanenspalte³

(alternativ: „Wagentasche“² / „Rachen“³)

Abstrich sichtbar befeuchtet⁵

und

Kloake^{2,3}

Abstrich mit ausreichend Fäzes bedeckt, ca. 1 g²

- ❖ kombinierter Rachen-Kloaken-Abstrich^{(3),4}
Beprobung zuerst im Rachen, dann in der Kloake⁵

von Einzeltieren^{(3),4}

eindeutig einer Tierart zuzuordnen,

mit eindeutiger Kennzeichnung und Identitätskennzeichnung¹

von lebenden Vögeln³

von kurz zuvor⁵ verendeten Vögeln^{(3),4}

- ❖ Tupfer und Virustransportsystem mit Stabilisierungs-Medium^{2,3}
Tupfer nach der Entnahme der Probe vollständig in das Medium eintauchen^{2,3}



Entnahme von Proben zur labordiagnostischen Untersuchung auf AI

Tupfer und Virustransportsystem mit Stabilisierungsmedium

Muster können beim ITSD angefragt werden

❖ Haltbarkeit beachten!⁵



Entnahme von Proben zur labordiagnostischen Untersuchung auf AI

sollte die Entnahme von Kloaken-Abstrichen aus lebenden Vögeln nicht möglich sein²

Fäzes^{2,3}

aus der Kloake⁵

vom Boden⁵

von Einzeltieren⁵

eindeutig einer Tierart zuzuordnen

mit eindeutiger Kennzeichnung und Identitätskennzeichnung¹

❖ keine Sammelkotproben⁵

von lebenden Vögeln³

frisch abgesetzt²

nicht angetrocknet⁵

sorgfältig gesammelt²

ohne Verunreinigungen⁵

ca. 5 g⁵

❖ Stuhlröhre mit Löffel und Schraubverschluss⁵



Entnahme von Proben zur labordiagnostischen Untersuchung auf AI

Stuhlröhre mit Löffel und Schraubverschluss

Muster können beim ITSD abgefragt werden



Entnahme von Proben zur labordiagnostischen Untersuchung auf AI

Blutproben

am lebenden Tier aus⁵

- Halsvene (Vena jugularis),
- Flügelvene (Vena cutanea ulnaris),
- Ständervene (Vena metatarsalis plantaris superficialis)

bei der Schlachtung⁵

von Einzeltieren⁵

eindeutig einer Tierart zuzuordnen,
mit eindeutiger Kennzeichnung und Identitätskennzeichnung¹

von Tieren, die krank erscheinen²

von Tieren, die sich scheinbar wieder erholt haben²

ca. 3 ml⁵

- ❖ Blutröhrchen mit Gerinnungsförderer (Serum⁵)
- ❖ einmalige Verwendung der Kanüle⁵



Entnahme von Proben zur labordiagnostischen Untersuchung auf AI

Blutröhrchen mit Gerinnungsförderer

Vorgabe⁵

- ❖ Verwendung ausschließlich der vom LUA bereitgestellten Serum-Blutröhrchen mit Barcode-Dublette⁵
- ❖ Haltbarkeit beachten⁵



Entnahme von Proben zur labordiagnostischen Untersuchung auf AI

Bereitstellung von Probenahme-Material durch das ITSD

Tupfer und Virustransportsystem mit Stabilisierungsmedium

Stuhlröhre mit Löffel und Schraubdeckel

Blutröhrchen, Serum-Kabevette mit Barcode-Dublette

bei konkretem Anlass

in begrenztem Umfang

auf Anfrage

❖ Anfragen an: poststelle.itsd@lua.rlp.de



Entnahme von Proben zur labordiagnostischen Untersuchung auf AI

im Verdachtsbetrieb¹ (1)

unter Berücksichtigung der Ergebnisse der klinischen Untersuchungen
nach Möglichkeit Einbeziehung von Tieren,

- die klinische Anzeichen aufweisen
- die wahrscheinlich vor Kurzem an der Seuche verendet sind
- mit epidemiologischer Verbindung zu einem bestätigten Fall oder Verdachtsfall
- bei denen die Befunde aus vorherigen Laboruntersuchungen positiv oder uneindeutig waren

wenn keine offensichtliche Klinik oder postmortalen Läsionen vorliegen

- Proben nach dem Zufallsprinzip in jeder epidemiologischen Einheit



Entnahme von Proben zur labordiagnostischen Untersuchung auf AI

im Verdachtsbetrieb¹ (2)

Die Probenahme (bezüglich Tiere, Probenart, Probenahmeverfahren) muss ... und dem entsprechenden Notfallplan gemäß Art. 43 der VO (EU) 2016/429 entsprechen.

Dabei müssen das Seuchenprofil (gem. VO (EU) 2016/429, Art. 7 Buchstabe a) sowie folgende Aspekte berücksichtigt werden:

- der Zweck der Probenahme
- die gelisteten Arten - die Anzahl der Tiere - die Kategorie
- die vorhandene Aufzeichnungen hinsichtlich Erzeugung, Gesundheitsstatus und Rückverfolgbarkeit
- die Art des Betriebes und Haltungspraktiken
- das Ausmaß des Expositionsrisikos
(Wahrscheinlichkeit der Exposition, mütterliche Immunität, Haltung)
- sonstige relevante epidemiologische Faktoren



Entnahme von Proben zur labordiagnostischen Untersuchung auf AI

im Verdachtsbetrieb¹ (3)

Die Mindestanzahl der einer Probennahme zu unterziehenden Tiere muss ... und dem entsprechenden Notfallplan gemäß Art. 43 der VO (EU) 2016/429 entsprechen.

Dabei müssen das Seuchenprofil (gem. VO (EU) 2016/429, Art. 7 Buchstabe a) sowie folgende Aspekte berücksichtigt werden:

- die in dem Betrieb erwartete Prävalenz
- die gewünschte Nachweissicherheit, die in jedem Fall mindestens 95 % betragen muss
- internationale Standards und vorhandene wissenschaftliche Erkenntnisse



Entnahme von Proben zur labordiagnostischen Untersuchung auf AI

im Verdachtsbetrieb²

❖ Standardprobensatz

- für die virologische Untersuchung

≥ 5 kranke (euthanasierte) / tote Tiere (falls vorhanden)

und / oder

≥ 20 Rachen-Abstriche und ≥ 20 Kloaken-Abstriche bzw.

≥ 20 Rachen-Abstriche und ≥ 20 Fäzes

bzw.

≥ 20 kombinierte Rachen-Kloaken-Abstriche^{(3),4}

oder



Entnahme von Proben zur labordiagnostischen Untersuchung auf AI

im Verdachtsfall²

- ❖ Standardprobensatz
 - für die serologische Untersuchung
 - ≥ 20 Blutproben

- ❖ Bei kleineren Beständen sind von allen Tieren Proben zu nehmen.

- ❖ Vögel, die krank erscheinen oder sich scheinbar wieder erholt haben, müssen gezielt in die Probenahme einbezogen werden.



Entnahme von Proben zur labordiagnostischen Untersuchung auf AI

im Verdachtsbetrieb^{4,5}

für die virologische Untersuchung

- Beprobung der Falltiere
mittels kombiniertem Rachen-Kloaken-Abstrich

falls weniger als 20 Falltiere: Auffüllen durch

- Beprobung v. a. von kranken Tieren
mittels kombiniertem Rachen-Kloaken-Abstrich

❖ Die Einsendung von toten Tieren ist nicht nötig.



Entnahme von Proben zur labordiagnostischen Untersuchung auf AI

im Verdachtsbetrieb oder aus sonstigem Anlass⁵

❖ Probenahme in Abstimmung mit LUA



Entnahme von Proben zur labordiagnostischen Untersuchung auf AI

persönliche Schutzausrüstung⁵

Overall (ggf. doppelt)

Gummistiefel (ggf. zusätzlich Überschuhe)

Einmalhandschuhe (ggf. doppelt)

Schutzbrille / Visier

Atemmaske mit Partikelfilter FFP3*



© LUA

- Die Person auf dem Foto trägt keine Atemmaske mit Partikelfilter FFP3*



Entnahme von Proben zur labordiagnostischen Untersuchung auf AI

Probenbegleitscheine

Mindestangaben¹

Herkunftsbetrieb

Art, Alter und Kategorie der beprobten Tiere

Krankheitsgeschichte, sofern verfügbar und relevant

klinische Anzeichen und post mortem Befunde

alle anderen relevanten Informationen

- ❖ gemäß den von ... dem Proben entgegennehmenden Labor festgelegten Anforderungen (auf) den entsprechenden Formblättern



Entnahme von Proben zur labordiagnostischen Untersuchung auf AI

Probenbegleitscheine

seitens des LUA bereitgestellte, elektronisch beschreibbare PDF-Dateien⁵

Homepage LUA

- Service

- Downloads

- Tierseuchen & Tiergesundheit

- Probenbegleitscheine

- für Tierkörper und Organe von Hausgeflügel

Antrag zur Sektion einschließlich weiterführender Untersuchungen

- für Abstriche und Fäzes von Hausgeflügel

Antrag zur diagnostischen Untersuchung

- für Blutproben von Hausgeflügel

Antrag zur Untersuchung von Bestandsproben

- für Tierkörper, Abstriche, Fäzes von Wildvögeln

Antrag zur Untersuchung auf Aviäre Influenza im Rahmen des Wildvogel-Monitorings



Versand von Proben zur labordiagnostischen Untersuchung auf AI

Modalitäten

- ❖ Probengefäße äußerlich desinfizieren³

gekennzeichnet¹
individuell, dauerhaft⁵

gekühlt^{2,3} (4° C)

- ❖ Proben zur Untersuchung auf AI nicht bei -20° C einfrieren^{2,3}

unverzüglich nach der Entnahme¹

so schnell wie möglich²
innerhalb von 24 (48) Stunden⁵

mit Begleitschreiben¹
vor Durchfeuchtung und Verunreinigung geschützt⁵

rechtzeitige Information der zuständigen Person im Labor
über die Ankunft der Proben¹

- ❖ Beachtung der einschlägigen Verpackungs- und Transportbedingungen¹



Versand von Proben zur labordiagnostischen Untersuchung auf AI

Verpackungsanweisung P650

Material	Funktion	Anforderungen	
		für flüssige Stoffe	für feste Stoffe
Verpackungen müssen unter normalen Transportbedingungen ... den Stößen und Belastungen standhalten ... und das Austreten des Inhalts verhindern.			
Primärgefäß	enthält Probe	dicht	staubdicht
mehrere zerbrechliche Primärgefäße einzeln einzuwickeln oder so trennen, dass eine gegenseitige Berührung verhindert wird; Verpackung in der Sekundärverpackung derart, dass unter normalen Beförderungsbedingungen ein Zubruchgehen, Durchstoßen und Austreten von Inhalt in die Sekundärverpackung verhindert wird.			
absorbierendes Material	Absorption von austretendem Material	ausreichend, dass der gesamte Inhalt des Primärgefäßes aufgenommen werden kann	
Sekundärverpackung	enthält Primärgefäß und absorbierendes Material	dicht starr (s. Außenverpackung)	staubdicht starr (s. Außenverpackung)
Polstermaterial	Schutz der Sekundärverpackung	Austreten des Inhalts darf die Schutzeigenschaften des Polstermaterials oder der Außenverpackung nicht nennenswert beeinflussen	
Außenverpackung	enthält Sekundärverpackung und Polstermaterial sowie das Anschreiben	Austreten des Inhalts darf die Schutzeigenschaften der Außenverpackung nicht nennenswert beeinflussen starr (s. Sekundärverpackung)	
vollständiges Versandstück		Mindestabmessung einer Oberfläche 100 x 100 mm; Bestehen der Fallprüfung gemäß einschlägiger Vorschriften aus 1,2 m Höhe	
Kennzeichnung		Biologischer Stoff, Kategorie B; UN3373*	

* 1 „Pathologisches Tiermaterial; verderblich; zerbrechlich. Darf nur im Bestimmungslabor geöffnet werden.“



Versand von Proben zur labordiagnostischen Untersuchung auf AI

Sekundärverpackung

Muster können beim ITSD angefragt werden



Versand von Proben zur labordiagnostischen Untersuchung auf AI

Versandboxen

Muster können beim ITSD angefragt werden

- ❖ Die Verantwortung für den ordnungsgemäßen Versand und die Einhaltung der einschlägigen Transportbedingungen trägt der Einsender!¹



Versand von Proben zur labordiagnostischen Untersuchung auf AI

Transport von Tierkörpern⁷

Tierische Stoffe, von denen bekannt oder anzunehmen ist, dass sie mit HPAI infiziert sind, sind im Sinne des ADR zugeordnet zur Gefahrgutnummer UN3373, ansteckungsgefährliche Stoffe der Kategorie B.

Die Verpackung muss aus mindestens drei Bestandteilen bestehen:

- a. Primärgefäß, Sack aus Kunststoff-Folie
Foliendicke $\geq 100 \mu\text{m}$
wirksam verschlossen und eingestellt in
 - b. Sekundärverpackung, Sack aus Kunststoff-Folie
Foliendicke $\geq 100 \mu\text{m}$
wirksam verschlossen und eingestellt in
 - c. Fass aus Stahl oder Kunststoff mit abnehmbarem Deckel
(UN Verpackungscode 1A2 bzw. 1H2)
- ❖ Der Versender muss den Beförderer und den Empfänger über den Inhalt des Versandstückes ... informieren
 - ❖ Eine Kopie der Allgemeinverfügung ist bei der Beförderung mitzuführen.



Versand von Proben zur labordiagnostischen Untersuchung auf AI

Kunststoff Deckelfass gem. UN Verpackungscode 1H2

Muster können beim ITSD angefragt werden.

- ❖ Die Verantwortung für den ordnungsgemäßen Versand und die Einhaltung der einschlägigen Transportbedingungen trägt der Einsender!¹



Versand von Proben zur labordiagnostischen Untersuchung auf AI

Transport von Tierkörpern⁵

Tierkörper von verendeten oder (krank) getöteten Tieren sind im Sinne des ADR zugeordnet zur Gefahrgutnummer UN3373, ansteckungsgefährliche Stoffe der Kategorie B.

Für diese ist grundsätzlich die Verpackungsanweisung P650 maßgebend.

Dabei sind mindestens die folgenden Bedingungen einzuhalten:

- fest verschlossene Verpackung

z. B. Kunststoff-Fass mit abnehmbaren Deckel gem. UN Verpackungscode 1H2

- abgedeckte lecksichere Behältnisse

z. B. Plastikwanne, Tierkörper eingepackt in

Primärverpackung, z. B. Sack aus Plastikfolie, wirksam verschlossen, eingestellt in

Sekundärverpackung, z. B. Sack aus Plastikfolie mit Saugmaterial, wirksam verschlossen

- lecksicherer Viehtransporter bzw. Viehanhänger

❖ Grundsätzlich wird die persönliche Verbringung von Tierkörpern empfohlen.



Versand von Proben zur labordiagnostischen Untersuchung auf AI

zuständige Untersuchungseinrichtungen

amtliche Untersuchungen⁵

- LUA, ITSD

Ausschluss / Bestätigung eines Verdachts

differenzialdiagnostische Ausschluss-Untersuchungen⁵

- LUA, ITSD

- andere staatliche Veterinäruntersuchungsämter

❖ Ausschluss / Bestätigung eines Verdachts

Bestätigungs- und Differenzierungs-Untersuchungen

- FLI Insel Riems, NRL AI³

❖ Untersuchungs- und Entscheidungsvorbehalt bezüglich der Bestimmung der Pathogenität als Voraussetzung für die amtliche Seuchenfeststellung³



Institut für Tierseuchendiagnostik

Probenannahme

Montag bis Freitag:	07:30 bis 16:00 Uhr
Samstag und Sonntag: ¹⁾	09:00 bis 11:00 Uhr
Feiertag: ¹⁾	09:00 bis 11:00 Uhr

Erreichbarkeit

ITSD	poststelle.itsd@lua.rlp.de
Probenannahme	0261/9149-277
Zentrallabor	0261/9149-327

1) Erreichbarkeit der tierärztlichen Rufbereitschaft über die Probenannahme vor Ort



labordiagnostische Untersuchungen auf AI

Poolen von Proben

Das Poolen von Proben findet ausschließlich im Labor statt!⁵

gepoolt werden können

- Organe – von Einzeltieren³
- (kombinierte) Rachen-Kloaken-Abstriche – bis zu 5 (10) Proben^{(3),5}
einer Tierart von einem Entnahmezeitpunkt
- Fäzes – bis zu 5 Proben⁽³⁾

nicht gepoolt werden können

- Blutproben⁵



labordiagnostische Untersuchungen auf AI

Untersuchungsdauer⁵

unter optimalen Voraussetzungen und Gegebenheiten

Methode	Arbeitstag				
	LUA*	Versand	FLI *	Befund	Gesamt
Registrierung (Probenahme)	1				
RT-qPCR M- / NP-Protein	1 (2)		3 (4)	(3) 4 (5)	4 (+/-1)
RT-qPCR H5, H7, N1, ...	(1) 2	2 (3)			
RT-qPCR Pathotyp-spezifisch					

* Priorisierung von Untersuchungen nach Dringlichkeit



labordiagnostische Untersuchungen auf AI

Untersuchungskapazitäten ITSD⁵

Matrix	Methode	Routinebedingungen Proben / Woche	Krisenfall Proben / Woche
Tierkörper	Abstriche	375	600
	Sektion	75	125
Organe	PCR	250	1.250
Abstriche			
Fäzes	Eikultur	10	25
Blut	ELISA	1.000	5.000
	HAH	100	500



labordiagnostische Untersuchungen auf AI

Kosten⁵

Matrix	Methode	Kosten / Probe €
Tierkörper	Abstriche	1,25
	Sektion	5,88
Organe Abstriche Fäzes	PCR	Pool 1-2 Proben: 18,69 Pool 3-5 (10) Proben: 8,51
	Eikultur	29,50
Blut	ELISA	5,93
	HAH	5,19



AI-Monitoring bei wildlebenden Fleischfressern

Modalitäten⁵

Fuchs, Marderhund, Waschbär,
Dachs, Iltis, Marder, Wiesel, ...
Wildschweine

(Feb) - Mrz 2023:
KUS; BIR, KH, KIB, KL, PS
molekularbiologische Untersuchung
serologische Untersuchung
(nur Wildschweine)

Apr – Jun 2023:
RLP
molekularbiologische Untersuchung
serologische Untersuchung

- ❖ Untersuchungen auf AI bei domestizierten Fleischfressern
derzeit nur bei konkretem Verdacht



Aviäre Influenza - Entnahme und Versand von Proben sowie diagnostische Untersuchungen

Zusammenfassung

- Zur labordiagnostischen Untersuchung auf AI können Tierkörper / Organe, Abstriche und Fäzes sowie Blutproben eingesandt werden.
- Bei jeder Matrix sind Besonderheiten bei der Probennahme zu beachten
- Es werden Empfehlungen für die bei der Probennahme zu verwendenden Materialien und zur Zahl der zu untersuchenden Proben gegeben.
- Die bereitgestellten Probenbegleitscheine sind zu verwenden.
- Die Proben sind zu kühlen und unverzüglich ins Labor zu verbringen.
- Die einschlägigen Verpackungs- und Transportbedingungen sind zu beachten.
- Bei den labordiagnostischen Untersuchungen kommen im ITSD und FLI virologische (und serologische) Verfahren zur Anwendung.
- Bis zur Erstellung eines abschließenden positiven Befundes ist mit einem Zeitfenster von mindestens 4 Arbeitstagen zu rechnen.
- Die Untersuchungskapazitäten des ITSD sowie die Untersuchungskosten werden aufgezeigt.



Danksagung

an

- Sektionshelfer
- technische Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter
- Tierärztinnen und Tierärzte
- Verwaltungsmitarbeiterinnen und -mitarbeiter

des Landesuntersuchungsamts, Institut für Tierseuchendiagnostik
für die Durchführung der Untersuchungen

- Sie für Ihre Aufmerksamkeit!