

## 7 Anhang

### 7.1 Material

#### 7.1.1 Nährmedien

**Nährmedien für die Isolierung, Anzuchtung und Differenzierung von *Campylobacter* spp.**

##### **Preston Selektivanreicherungsbouillon**

Selektivanreicherungsmedium zur Anzuchtung von *Campylobacter*-Spezies

*Basismedium:*

Nährbouillon Nr. 2 (Fertigbouillon, Oxoid, Wesel, Art.-Nr. CM 67)

Zusammensetzung (g/l):

Fleischextrakt „Lab-Lemmco“(10,0), Pepton (10,0), Natriumchlorid (5,0), pH 7,5  
12,5 g der Nährbouillon Nr. 2 werden in 475 ml Aqua dest. gelöst und 15 Minuten bei 121°C autoklaviert.

Zusätze nach dem Autoklavieren:

*Zusatz 1:* 25 ml lysiertes Pferdeblut (Froschek, Mühlheim)

*Zusatz 2:* *Campylobacter*-Selektiv-Supplement Preston  
(Fertigprodukt, Oxoid, Wesel, Art.-Nr. SR 0204 E)

Zusammensetzung je Röhrchen:

Polymyxin B (2500 I.E), Rifampicin(5 mg), Trimethoprim (5 mg),  
Amphotericin B (5 mg).

Der Inhalt eines Röhrchens wird aseptisch in 2 ml sterilem Aqua dest. gelöst.

*Zusatz 3:* *Campylobacter*-growth-supplement  
(Fertigprodukt, Oxoid, Wesel, Art.-Nr. SR 84)

Zusammensetzung je Röhrchen: Natriumpyruvat (0,125 g), Natriumdisulfit (0,125 g),  
Eisenbisulfat (0,125 g).

Der Inhalt eines Röhrchens wird aseptisch in 2 ml sterilem Aqua dest. gelöst.

Das Basismedium wird nach dem Autoklavieren auf 50°C abgekühlt. Anschließend werden aseptisch das lysierte Pferdeblut (Zusatz 1), 1 gelöstes Röhrchen (à 0,375g) *Campylobacter-growth-supplement* (Zusatz 3) und 1 gelöstes Röhrchen *Campylobacter-Selektiv-Supplement Preston* (Zusatz 2) (à 16 mg) hinzugegeben, gut vermischt und in Portionen zu je 9 ml in sterile Reagenzröhrchen abgefüllt und mit einem Stopfen versehen.

#### **Preston Selektivnährboden**

Selektivagar zum Nachweis von *Campylobacter*-Spezies

*Basismedium:*

*Campylobacter*-Agar-Basis

(Fertigmedium, Oxoid, Wesel, Art.-Nr. CM 689)

Zusammensetzung (g/l): Lab-Lemco-Powder (10,0), Pepton (10,0), NaCl (5,0), Agar (20,0), pH 7,5

18,5 g der *Campylobacter*-Agar-Basis werden zusammen mit 3 g Agar-Agar in 475 ml Aqua dest. gelöst und 15 Minuten bei 121°C autoklaviert.

Zusätze:

*Zusatz 1:* 25 ml lysiertes Pferdeblut (Froschek, Mülheim) werden zusammen mit 21,5 g *Campylobacter*-Agar-Basis in 475 ml Aqua dest. vermischt.

*Zusatz 2:* *Campylobacter*-Selektiv-Supplement Preston (Zusatz 2)

Das Basismedium wird nach dem Autoklavieren auf 50°C abgekühlt. Anschließend werden aseptisch das lysierte Pferdeblut (Zusatz 1) und 1 gelöstes Röhrchen *Campylobacter*-Selektiv-Supplement Preston (Zusatz 2) hinzugegeben, gut vermischt und Platten gegossen.

#### **Karmali Selektivnährboden**

Blutfreier Selektivagar zum Nachweis vom *Campylobacter* Spezies

*Basismedium:*

*Campylobacter* -Agar-Basis nach Karmali

(Fertigmedium, Oxoid, Wesel, Art.-Nr. CM 935)

Zusammensetzung (g/l): Columbia-Agar-Basis (39,0), Aktivkohle (4,0), pH 7,4

21,5 g *Campylobacter*-Agar-Basis nach Karmali werden in 500 ml Aqua dest. gelöst und 15 Minuten bei 121°C autoklaviert.

Zusätze:

*Campylobacter*-Selektiv-Supplement Karmali

Zusammensetzung je Röhrchen: Natriumpyruvat (50,0 mg), Hämin (16,0 mg), Cefoperazon (16,0 mg), Vancomycin (16,0 mg)

1 Röhrchen wird aseptisch in jeweils 1 ml sterilem Aqua dest. und 1 ml Ethanol gelöst.

Das Grundmedium wird nach dem Autoklavieren auf 50°C abgekühlt. Anschließend wird aseptisch 1 gelöstes Röhrchen *Campylobacter*-Selektiv-Supplement Karmali dazu gegeben und nach guter Durchmischung werden Platten gegossen.

### **Mueller-Hinton-Bouillon**

(Fertigbouillon, Oxoid, Wesel, Art.-Nr. CM 405) Bouillon zur Herstellung einer Keimsuspension für die Resistenztests.

Zusammensetzung (g/l): Rindfleisch, getrocknete Infusion aus 300 g (2,0), Casein hydrolysat (17,5), Stärke (1,5), pH 7,4

Das Gemisch wird in 1000 ml Aqua dest. gelöst und anschließend für 15 Minuten bei 121°C autoklaviert. Nach dem Abkühlen auf ca. 50°C wird die Bouillon in sterile Reagenzgläser in Portionen von 4 ml abgefüllt.

### **Mueller-Hinton-Agar mit Zusatz von 5 % Schafblut**

(Fertignährboden, Oxoid, Wesel, Art.-Nr. CM 337) Agar zur Durchführung des Resistenztests.

Zusammensetzung (g/l): Rindfleisch, getrocknete Infusion aus 300 g (2,0), Caseinhydrolysat (17,5), Stärke (1,5), Agar (17,0), pH 7,4

38 g Mueller-Hinton-Agar werden in 1000 ml Aqua dest. gelöst und 15 Minuten bei 121°C autoklaviert. Dem auf 50°C abgekühltem Grundmedium wird anschließend aseptisch 5 % Schafblut (Froschek, Mühlheim) zugegeben und nach Durchmischen werden Platten zu Portionen von je 18 ml gegossen.

### **Nitrat-Nährmedium**

Medium zur Durchführung der Nitratreduktion

*Basismedium:*

Zusammensetzung: Pepton (Oxoid, Wesel, Art.-Nr. L 34) (10 g), Fleischextrakt „Lab-Lemco“ (Oxoid, Wesel, Art.-Nr. L29) (5,0 g), NaCl (Roth, Karlsruhe, Art.-Nr. 9265) (3,0 g), Dinatriumhydrogenphosphat (Merck, Darmstadt, Art.-Nr. 1.06585) (2,0 g), pH 7,2

Das Basismedium wird 15 Minuten bei 121°C autoklaviert. Nach dem Abkühlen werden in 1000 ml des Basismediums 1,5 g Kaliumnitrat (KNO<sub>2</sub>) (Merck, Darmstadt, Art.-Nr. 1.05063)

gelöst. Das Medium wird hiernach zu Portionen von 8 ml in sterile Reagenzröhrchen abgefüllt und bei 100°C im Dampftopf für 30 Minuten sterilisiert.

### **Nährmedien für die Isolierung und Anzuchtung von *Yersinia enterocolitica***

#### ***Yersinia*-Selektiv-Anreicherungsbouillon nach Oßmer**

Selektivanreicherungsbouillon zur Anzuchtung von *Yersinia enterocolitica*.

*Yersinia*-Selektiv-Anreicherungs-Medium (Fertigmedium, Merck, Art.-Nr. 1.167701.0500)

Zusammensetzung (g/l): Peptone (10,0), L-Asparginsäure (20,0), Na-Pyruvat (2,5), Bacitrac (0,15), Irgasan (0,01), Tween 80 (0,5), MOPS/TRIS (5,5).

38,7 g des *Yersinia*-Selektiv-Anreicherungsmediums nach Oßmer werden in 1000 ml Aqua dest. gelöst und 15 Minuten bei 121°C autoklaviert und nach dem Abkühlen auf ca. 50°C in Portionen zu je 10 ml in sterile Petrischalen gegossen.

#### **PBS-Lösung**

(Fertigprodukt, Oxoid, Wesel, Art.-Nr. Br 14 a)

Tabletten zur Herstellung einer ausbalancierten Salzlösung ohne Calcium und Magnesium

Zusammensetzung (g/l): Natriumchlorid (8,0), Kaliumchlorid (0,2), Dinatriumhydrogenphosphat (1,15), Kaliumdihydrogenphosphat (0,2), pH 7,3.

1 Tablette wird in 100 ml Aqua dest. gelöst und bei 115°C für 15 Minuten autoklaviert.

#### **KOH-Lauge**

(Fertigprodukt, Merck, Darmstadt, Art.-Nr. 5033)

0,25% KOH-Lösung zur Laugenbehandlung von Probenmaterial.

12 g der Kaliumhydroxid (KOH) Plätzchen werden in 480 ml Aqua dest. bei 100°C im Dampftopf gelöst und in Reagenzgläschen zu je 4,5 ml abgefüllt.

#### ***Yersinia*-Selektivagar nach Wauters**

Selektivagar zum Nachweis von *Yersinia* Spezies. *Yersinia* Selectiv Agar acc. to Wauters; (Fertigprodukt, Merck, Art.-Nr. 1.11443.0500)

Zusammensetzung (g/l): Fleischextrakt (5,0), Pepton aus Fleisch (5,0), Hefeextrakt (5,0), Laktose (10,0), Neutralrot (0,025), Ochsen-galle, getrocknet (8,5), Natriumcitrat (10,0), Natriumthiosulfat (8,5), Eisen(III)citrat (1,0), Natrium-desoxycholat (10,0), Calciumchlorid (1,0), Brilliantgrün (0,0003), Agar-Agar (12,0), pH 7,4.

76 g des *Yersinia*-Selektivagars nach Wauters werden in 1000 ml Aqua dest. gelöst und in dicken Schichten von ca. 0,5 cm Dicke werden Platten gegossen.

***Yersinia*-Selektivagar nach Schiemann (Basis) (CIN-Agar)**

Selektivagar zur Anzucht von *Yersinia* Species, insbesondere *Y. enterocolitica*, nach Schiemann (1979) aus klinischem Material sowie aus Lebensmitteln, Wasser u. a.

*Basismedium:*

*Yersinia* Selektive Agar Base acc. to Schiemann (CIN Agar)

(Fertigprodukt, Merck, Art.-Nr. 1.16434.0500)

Zusammensetzung (g/l): Pepton aus Casein (10,0), Pepton aus Fleisch (10,0), Hefeextrakt (2,0), D(-)-Mannit (20,0), Natriumpyruvat (2,0), Natriumchlorid (1,0), Magnesiumsulfat (0,01), Gallsalzmischung (1,0), Neutralrot (0,03), Kristallviolett (0,001), Agar-Agar (12,5), pH 7,4.

58,5 g der *Yersinia*-Selektivagarbasis nach Schiemann werden in 1000 ml Aqua dest. gelöst und für 15 Minuten bei 121°C autoklaviert.

Zusätze:

*Yersinia*-Selektivsupplement (CIN) (Fertigprodukt, Merck, Art.-Nr. 1.16466.0001)

Zusammensetzung je Röhrchen: Cefsulodin (7,5 mg), Irgasan (2,0 mg), Novobiocin (1,25 mg).

Der Inhalt eines Röhrchens mit den drei Hemmstoffen wird aseptisch in jeweils 1 ml Ethanol/steriles Aqua dest. gelöst.

Das Basismedium wird nach dem Autoklavieren auf 50-45°C abgekühlt. Anschließend werden, pro 500 ml *Yersinia*-Selektivagar nach Schiemann, der Inhalt eines Fläschchens *Yersinia*-Selektivsupplement (CIN) steril eingemischt und Platten gegossen.

***Salmonella-Shigella*-Agar mit Natriumdesoxycholat und Calciumchlorid (SSDC)**

(Fertigprodukt, Merck, Darmstadt)

Selektivagar zum Nachweis von *Yersinia*-Spezies

Zusammensetzung (g/l): Hefeextrakt (5,0), Peptone (10,0), Lactose (10,0), Gallsalzmischung Nr. 3 (8,5), Natriumdesoxycholat (10,0), Calciumchlorid (1,0), Natriumcitrat (10,0), Natriumthiosulfat (5,42), Ammoniumeisen(III)-citrat (1,0), Brilliantgrün (0,0003), Neutralrot (0,025), Agar-Agar (15,0), pH 7,4.

76 g des SSDC-Agars werden in 1000 ml Aqua dest. suspendiert und im kochenden Wasserbad gekocht, bis der Agar vollständig gelöst ist. Anschließend wird der Nährboden auf 50°C abgekühlt, nochmals gut gemischt und in sterile Petrischalen gegossen.

### **Nährmedien zur Isolierung und Anzucht von *Salmonella* spp.**

#### **Gepuffertes Peptonwasser**

(Fertigprodukt, Oxoid, Wesel, Art.-Nr. CM 509), Medium zur Voranreicherung

##### *Basismedium:*

Zusammensetzung (g/l): Pepton (10,0), NaCl (5,0), Dinatriumhydrogenphosphat (3,5), Kaliumhydrogenphosphat (1,5)

##### Zusätze:

Ammoniumeisen(III)citrat (5,6 g) (Merck, Darmstadt, Art.-Nr. 1.03761)

20 g des Basismediums und der Zusatz werden in 1000 ml Aqua dest. gelöst, der pH-Wert auf 7,2 eingestellt und das Medium anschließend für 15 Minuten bei 121°C autoklaviert und nach dem Abkühlen auf ca. 50°C in Portionen zu je 8 ml in sterile Petrischalen gegossen.

#### ***Salmonella*-Anreicherungsbouillon nach Rappaport und Vassiliadis**

(Vassiliadis et al., 1976)

(Fertigmedium, Merck, Darmstadt, Art.-Nr. 1.07700), Selektivanreicherungsmedium

Zusammensetzung (g/l): Pepton aus Casein (4,0), Pepton aus Sojamehl (1,0), Magnesiumchlorid (29,0), Natriumchlorid (8,0), Dikaliumhydrogenphosphat (0,4), Kaliumdihydrogenphosphat (0,6)

43 g des Fertigmediums werden in 1000 ml Aqua dest. gelöst, der pH-Wert auf 5,2 eingestellt und das Medium anschließend bei 121°C für 15 Minuten autoklaviert.

#### **Salmonellenanreicherung in Kaliumtetrathionat-Bouillon**

Selektivanreicherungsmedium

##### *Basismedium:*

Gewöhnliche Nährbouillon

Zusammensetzung (g/l): Pepton (10,0), (Oxoid, Wesel, Art.-Nr. L34), Fleischextrakt „Lab Lemco“ (5,0), (Oxoid, Wesel, Art.-Nr. L29), Natriumchlorid (3,0), (Roth, Karlsruhe, Art.-Nr. 9265), Dinatriumhydrogenphosphat (2,0), (Merck, Darmstadt, Art.-Nr. 1.06585)

Die aufgelisteten Zutaten werden in 1000 ml Aqua dest. gelöst und der pH-Wert mit einer 1 N HCl-Lösung (Merck, Darmstadt, Art.-Nr. 1.09057) auf 6,5 eingestellt.

Zusätze:

*Zusatz 1:* 0,1% ige Kristallviolett-Lösung

Zusammensetzung: Kristallviolett (0,1 g), (Merck, Darmstadt, Art.-Nr. 1.01408)

Das Kristallviolett wird in 100 ml Aqua dest. gelöst.

*Zusatz 2:*

Kaliumtetrathionat, Pulver (20.0 g), (Merck, Darmstadt, Art.-Nr. 1.05169)

5 ml der 1%igen Kristallviolett-Lösung (Zusatz 1) werden zu 1000 ml gewöhnlicher Nährbouillon gegeben, für 15 Minuten bei 121°C autoklaviert und anschließend mit 20 g des Kaliumtetrathionat-Pulvers (Zusatz 2) vermischt. Nach dem Abkühlen auf ca. 50°C wird die Kaliumtetrathionat-Bouillon in sterile Gläschen abgefüllt.

**Rambach Agar (Rambach, 1990)**

(Fertigagar, Merck, Darmstadt, Art.-Nr. 1.07500)

Selektivmedium zur Isolierung von *Salmonella*-Spezies

Zusammensetzung (g/l): Pepton (8,0), Natriumchlorid (5,0), Natriumdesoxycholat (1,0), Chromogen-Mischung (1,5), Propylenglycol (10,5), Agar-Agar (15,0), pH 7,3

**Brilliantgrün-Phenolrot-Lactose-Agar**

Selektivmedium zur Isolierung von *Salmonellen*-Spezies

*Basismedium:* Zusammensetzung: Agar-Agar (20,0 g), (Difco, Augsburg, Art.-Nr. 0140), Fleischextrakt (3,0 g), (Oxoid, Wesel, Art.-Nr. L29), Fleischpepton (10,0 g), (Oxoid, Wesel, Art.-Nr. L 34), NaCl (5,0 g), (Roth, Karlsruhe, Art.-Nr. 9265), pH 6,9

Das Basismedium wird in 1000 ml Aqua dest. gelöst und anschließend für 15 Minuten bei 121°C autoklaviert.

Zusätze:

*Zusatz 1:* Laktose-Lösung

Zusammensetzung: Laktose-Monohydrat (15,0 g), (Roth, Karlsruhe, Art.-Nr. 6868)

15,0 g Laktose-Monohydrat werden in 20 ml Aqua dest. gelöst.

*Zusatz 2:* Brilliantgrün-Lösung

Zusammensetzung: Brilliantgrün (0,03 mg), (Chroma, Köngen, Art.-Nr. 10320)  
0,03 mg Brilliantgrün werden in 12 ml Aqua dest. gelöst.

**Zusatz 3: Phenolrot-Lösung**

Zusammensetzung: Phenolrot (0,04 g), (Merck, Darmstadt, Art.-Nr. 1.07241)

0,04 g Phenolrot werden in 20 ml Aqua dest. gelöst. Die Lactose-, Brilliantgrün- und Phenolrot-Lösungen (Zusätze 1-3) werden bei 100°C im Dampftopf für 30 Minuten sterilisiert, aseptisch dem 1000 ml Basismedium zugegeben und nach dem Abkühlen auf ca. 50°C in sterile Petrischalen gegossen.

**Bromthymolblau-Nährboden**

*Basismedium:*

Zusammensetzung:

Blut-Agar (40,0 g), (Oxoid, Wesel, Art.-Nr. CM 55), Agar-Agar (5,0 g), (Difco, Augsburg, Art.-Nr. 0140), pH 7,2

45 g des Basismediums werden in 970 ml Aqua dest. gelöst und anschließend für 15 Minuten bei 121°C autoklaviert.

Zusätze:

*Zusatz 1: Laktose-Lösung*

Zusammensetzung: Laktose-Monohydrat (15,0 g), (Roth, Karlsruhe, Art.-Nr. 6868)

15,0 g Laktose-Monohydrat werden in 20 ml Aqua dest. gelöst.

*Zusatz 2: 1%ige wässrige Bromthymolblau-Lösung*

Zusammensetzung: Bromthymolblau (0,1 g), (Merck, Darmstadt, Art.-Nr. 1.03026)

1 g Bromthymolblau werden in 10 ml Aqua dest. gelöst.

Dem Basismedium werden 20,0 ml der Laktose (Zusatz 1) und 10,0 ml der 1%igen Bromthymolblau-Lösung (Zusatz 2) zugegeben. Die Zutaten werden vermischt, bei 100°C im Dampftopf für 30 Minuten sterilisiert und nach dem Abkühlen auf ca. 50°C in sterile Petrischalen zu je 15 ml abgefüllt.



### 7.1.2 Sonstige Medien

#### Blut-Nährboden

(Fertignährboden, Oxoid, Wesel, Art.-Nr. CM 55)

*Basismedium:*

Zusammensetzung (g/l): Fleischextrakt „Lab Lemco“ (10,0), Pepton (10,0), Natriumchlorid (5,0), Agar (15,0), pH 7,3

Zusätze: Agar-Agar (5,0 g) (Difco, Augsburg, Art.-Nr. 0140), steriles, defibriniertes Schafblut (50 ml) (Froschek, Mühlheim)

Das Basismedium und die 5 g Agar-Agar werden in 1000 ml Aqua dest. gelöst und 15 Minuten bei 121°C autoklaviert. Nach Abkühlen auf 50°C werden 50 ml Schafblut zugegeben und in sterile Petrischalen gegossen.

### 7.1.3 Diagnostika und Reagenzien

#### Diagnostika und Reagenzien zur Identifizierung von *Campylobacter* spp.

##### Dry Slide Oxidase-Test

(Difco, Augsburg, Art.-Nr. 3530-75)

##### Katalase-Reagenz

(Merck, Darmstadt, Art.-Nr. 1.08600)

35%ige Wasserstoffperoxidlösung. Diese 35%ige Wasserstoffperoxidlösung wird mit sterilem Aqua dest. auf eine Konzentration von 3% verdünnt.

##### Gram-Färbung

Grams Karbolgentianaviolettlösung (Merck, Darmstadt, Art.-Nr. 1.09216), Lugolsche Lösung (Merck, Darmstadt, Art.-Nr. 1.09261), Ethanol 95% (Merck, Darmstadt, Art.-Nr. 1.00972), Ziehl-Neelsen Karbofuchsinlösung (Merck, Darmstadt, Art.-Nr. 1.09215)

##### Api-Campy-System

(BioMérieux Deutschland, Nürtingen, Art.-Nr. 20800)

Test zur biochemischen Identifizierung der *Campylobacter*-Isolate.

**Zusatzreagenzien für das Api-Campy-System**

(BioMérieux Deutschland, Nürtingen)

Nit 1	Sulfanilsäure (Art.-Nr. 70440)
Nit 2	N-n-Dimethyl-1-Naphtylamin (Art.-Nr. 70450)
Nin	Ninhydrin (Art.-Nr. 70490)
FB	Fast Blue BB (Art.-Nr. 70560)

**Diagnostika und Reagenzien zur Identifizierung von *Yersinia enterocolitica*****Harnstoffbouillon**

(Fertigmedium, Difco, Art.-Nr. 227210), Medium zur Differenzierung von Mikroorganismen aufgrund der Ureaseproduktion.

Zusammensetzung (g/l): Hefeextrakt (0,1), Monokaliumphosphat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) (9,1), Dikaliumphosphat ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ) (9,5), Harnstoff (20,0), Phenolrot (0,01), pH 6,8

38,7 g der Harnstoffbouillon werden in 1000 ml Aqua dest. suspendiert und gründlich vermischt. Nach einer Filtersterilisation wird die Bouillon zu je 10 ml in Reagenzröhrchen abgefüllt und jeweils mit einem sterilen Zellstoffstopfen verschlossen.

**Phenolrot-Dextrose-Bouillon**

(Fertigmedium, Difco, Art.-Nr. 293100); Medium zur Bakterienkultur-differenzierung auf der Basis der Dextrose-Fermentation

Zusammensetzung (g/l): Proteose Peptone Nr. 3 (10), Fleischextrakte (1), Dextrose (5), NaCl (5), Phenolrot (0,018), pH 7,4

21 g der Phenolrot-Dextrose-Bouillon werden in 1000 ml Aqua. dest. gelöst und bei 121°C für 15 Min autoklaviert. Anschließend wird die Bouillon zu 10 ml in Durham-Röhrchen abgefüllt.

**Kligler-Eisen-Zweifachzucker-Nährboden**

(Fertigprodukt, Oxoid, Wesel, Art.-Nr. CM33); Nährboden zur Identifizierung von *Enterobacteriaceae*

Zusammensetzung (g/l):

Fleischextrakt „Lab-Lemco“ (3,0), Hefeextrakt (3,0), Pepton (20,0), Natriumchlorid (5,0), Laktose (10,0), Glukose (1,0), Eisen(III)-ammoniumcitrat (0,3), Natriumthio-sulfat (0,3), Phenolrot (0,05), Agar (12,0), pH 7,4

54,65 g des Nährbodens werden in 1000 ml Aqua dest. im Dampftopf bei 100°C gelöst. Anschließend werden damit Reagenzröhrchen zu je 7 ml befüllt und für 15 Minuten bei 121°C autoklaviert. Beim Auskühlen werden sie schräg gelagert.

### **Hitchen-Agar**

Agar zur Beweglichkeitsprüfung

*Basismedium:*

Zusammensetzung (g/l): Fleischpepton (20,0), (Oxoid, Wesel, Art.-Nr. L 34), Fleischextrakt (12,0), (Oxoid, Wesel, Lab Lemco Art.-Nr. L29), Agar-Agar (3), (Difco, Augsburg, Art.-Nr. 0140)

Die Zutaten werden in 1000 ml Aqua dest. im Dampftopf bei 100°C gelöst, autoklaviert und anschließend auf 60-70°C abgekühlt.

*Zusätze:* D(+)-Glukose (2 g), (Roth, Karlsruhe, Art.-Nr. 6780), Kaliumnitrat (2 g)

Die Zusätze werden mit dem Basismedium gut vermischt und dann in Reagenzgläser zu je 8 ml abgefüllt. Diese werden mit einem Zellstoffstopfen verschlossen und bei 100°C für 30 Minuten sterilisiert. Der pH Wert beträgt 7,5.

### **Api-20-E-System**

(BioMérieux Deutschland, Nürtingen, Art.-Nr. 20100)

Biochemisches Testsystem zur Identifizierung von *Yersinia*-Isolaten.

### **Zusatzreagenzien für das Api-20-E-System**

(BioMérieux Deutschland, Nürtingen)

TDA	Eisenperchlorid (Art.-Nr. 70400)
James	Verbindung mit J 2183 (Art.-Nr. 70540)
VP 1	Kaliumhydroxid (Art.-Nr. 70420)
VP 2	$\alpha$ -Naphthol (Art.-Nr. 70430)

### **Antiseren**

(SIFIN, Berlin)

Anti-*Yersinia enterocolitica* 03 (Art.-Nr. TS 1701); Anti-*Yersinia enterocolitica* 05 (Art.-Nr. TS 1704); Anti-*Yersinia enterocolitica* 09' (Art.-Nr. TS 1703)

---

## Diagnostika und Reagenzien zur Identifizierung von *Salmonella*-Spezies

### Antiseren

*Salmonella*-Antiseren (Behringwerke AG, Marburg)

### Reagenzien zum Nachweis von Rotaviren

#### **Bio-X Rotavirus Elisa-Kit**

(Fertigprodukt, Bio-X Diagnostics, Marche-en-Farmenne, Belgien, Art.-Nr. K70)

Bestandteile eines Test-Kits:

#### **2 Mikrotitertestplatten mit je 96 Vertiefungen (12 x 8)**

Vertiefungen der mit A, C, E und G gekennzeichneten Reihen sind mit monoklonalen Anti-Rotavirus Antikörpern beschichtet; Vertiefungen der Reihen B, D, F und H sind mit einem unspezifischen Antikörper beschichtet

#### **100 ml Waschlösung (20 x konz.)**

Herstellung der gebrauchsfertigen Waschlösung durch Zugabe von 50 ml Konzentrat zu 950 ml Aqua dest.

#### **50 ml Verdünnungspuffer (5 x konz.)**

Herstellung des gebrauchsfertigen Verdünnungspuffers durch Zugabe von 50 ml Konzentrat zu 200 ml Aqua dest.

#### **500 µl Peroxydasekonjugat anti Rotavirus, gefriergetrocknet**

Es handelt sich um einen spezifischen monoklonalen Antikörper, an den Meerrettichperoxydase gebunden ist. Das Pulver wird in 0,5 ml Aqua dest. aufgelöst. Vor dem Gebrauch wird das aufgelöste Peroxydasekonjugat noch 1:50 im Verdünnungspuffer verdünnt.

#### **2 x 0,5 ml Rotavirus (Positive Kontrolle), gefriergetrocknet.**

Das Pulver jedes Fläschchens wird in 0,5 ml Aqua dest gelöst.

#### **1 x 2 ml Farblösung, TMB (Tetramethylbenzidin, Chromogen)**

#### **30 ml Substratlösung**

#### **15 ml Stopplösung ( 1 M Phosphatsäure)**

---

**Reagenzien zum Nachweis von *Kryptosporidium parvum*****Bio-X Kryptosporidien Elisa Kit**

(Fertigprodukt, Bio-x Diagnostics, Marche-en-Farmenne, Belgien, Art.-Nr.: Bio K70)

Bestandteile eines Test-Kits:

**2 Mikrotitertestplatten zu je 96 Vertiefungen (12 x 8)**

Vertiefungen der mit A, C, E und G gekennzeichneten Reihen sind mit monoklonalen Anti-Kryptosporidien Antikörpern beschichtet; Vertiefungen der Reihen B, D, F und H sind mit einem unspezifischen Antikörper beschichtet

**100 ml Waschlösung (20 x konz.)**

Herstellung der gebrauchsfertigen Waschlösung durch Zugabe von 50 ml Konzentrat zu 950 ml Aqua dest.

**50 ml Verdünnungspuffer (5 x konz.)**

Herstellung des gebrauchsfertigen Verdünnungspuffers durch Zugabe von 50 ml Konzentrat zu 200 ml Aqua dest.

**500 µl Peroxydasekonjugat anti-Kryptosporidien, gefriergetrocknet**

Es handelt sich um einen spezifischen monoklonalen Antikörper, an den Meerrettichperoxydase gebunden ist. Das Pulver wird in 0,5 ml Aqua dest. aufgelöst. Vor dem Gebrauch wird das aufgelöste Peroxydasekonjugat noch 1:50 in Verdünnungspuffer verdünnt.

**2 x 0,5 ml Kryptosporidien (Positive Kontrollen), gefriergetrocknet**

Das Pulver jedes Fläschchen wird in 0,5 ml Aqua dest. aufgelöst.

**2 ml Farblösung, TMB (Tetramethylbenzidin, Chromogen)****30 ml Substratlösung****15 ml Stopplösung, ( 1 M Phosphatsäure)****7.1.4 Weitere Materialien und Geräte****Aufbewahrungssystem zur Stammhaltung von Bakterien**

Protect-System (Transia, Ober-Mörlen, Art.-Nr. 86070 AP)

**Kotprobengefäße**

PS-Stuhlgefäß mit Löffelstopfen (Greiner, Frickenhausen, Art.-Nr. 3530-75)

**Sterile Einmalösen**

Impfschlingen blau, Öse 10 µl (Greiner, Frickenhausen, Art.-Nr. 731170)

**Anaerobier System**

Anaerobier Topf „Gas-Pak 100“ (Becton Dickinson, Heidelberg, Art.-Nr. 4360626)

*Campylobacter*-Gas-Generating-Kit (Oxoid, Wesel, Art.-Nr. BR 60)

Gasentwickler zur Erzeugung einer mikroaerophilen Atmosphäre (s. „Wachstum unter anaeroben Bedingungen).

**Waage**

Zum Abwiegen der Kotproben wurde eine Waage der Firma Sartorius, Göttingen verwendet.

**Tischschüttler**

Vortex-Genie™ Mixer (Scientific Industries, New York, USA)

**Brutschränke**

Bakteriologische Brutschränke (Heraeus, Hanau).

**Mikroskope**

Phasenkontrastmikroskop (Wild, Heerbrugg, Schweiz)

Lichtmikroskop, Leitz Diaplan (Leitz, Wetzlar).

**7.1.5 Bakterienstämme**

Als Referenzstämme wurden verwendet:

*Campylobacter jejuni* 51/58; *Campylobacter jejuni* 81116; *Campylobacter coli* DSM 4689

Die Referenzstämme wurden mir freundlicherweise von Frau Dr. Elke Ruckaberle, einer ehemaligen Doktorandin des CVUA Stuttgart, überlassen.

*E. coli* ATCC 25922

Der Referenzstamm wurde mir freundlicherweise vom CVUA Aulendorf zur Verfügung gestellt.

*Yersinia enterocolitica* subsp. *enterocolitica* DSM-Nr. 4780.

## Fragebogen Betrieb

### 1) Angaben zum Betrieb

Anschrift:

Tierzahl:

Rinder insgesamt:

Milchkühe:

Rinder über 4 Monate, außer Milchkühe:

Aufzuchtkälber:

Andere gehaltene Tierarten wie z.B. Schweine, Geflügel, Schafe, etc.

### 2) Angaben zur Kälberhaltung

Überwiegend gehaltene Rasse:

Haltungsform: Anbindestall/Boxenlaufstall

Weidegang: ja/nein

Remontierung aus eigener Nachzucht: ja/nein

Zukauf von Kälbern: ja/nein

Impfregime:

Anzahl Kälber insgesamt;

Anzahl von Kälbern mit Durchfall:

momentan:

retrospektiv:

Anzahl der eingesandten Durchfallproben:

Behandlungserfolg:

**Abbildung 7.1 Fragebogen zur Erhebung betriebspezifischer Daten**

## Fragebogen Durchfallkalb

### Spezielle Angaben zum Kalb

Betrieb:

Identifizierungsnummer des Kalbes:

Proben-Nummer

Rasse:

Geschlecht

Geburtsdatum:

Tränkemethode:

Haltung: einzeln

Gruppe

Durchfall: seit:

Konsistenz des Kotes: wässrig, dünnflüssig, dickflüssig

Beimengungen: nein / ja (Schleim/Blut)

Behandlung: nein

ja

mit was:

**Abbildung 7.2 Fragebogen zur Erhebung von Einzeldaten eines durchfallkranken Kalbes**