

ASSOZIATION MIT SEROSITIDEN BEIM SCHWEIN

Direkter und indirekter Nachweis von *Haemophilus parasuis* und *Mycoplasma hyorhinis*

KATRIN STRUTZBERG-MINDER, HANNOVER, ET AL.*

Der indirekte Nachweis von *Haemophilus parasuis* (*Hps*)-Infektionen beim Schwein korreliert nicht unbedingt mit den klinischen und pathologischen Befunden einer Serositis. *Hps*-Infektionen konnten zwar etwa ab der 9. Lebenswoche von Absatzferkeln mit Hilfe des Swinechek7 HPS ELISA (Biovet, Quebec, Kanada) detektiert werden, eine Korrelation mit klinischen und pathologischen Befunden war aber nicht festzustellen. Tiere mit klinischen Symptomen, die auf die Glässersche Krankheit hinwiesen und bei denen mittels PCR *Hps* nachgewiesen werden konnte, zeigten zunächst ebensolche serologischen Herdenprofile wie Herden, die weder klinische Symptome, noch eine Serositis oder *Hps*-positive PCR-Befunde aufwiesen. Allerdings dürfen auch differentialdiagnostische Erreger wie *Streptococcus suis* u. a. bei dem Befund einer Serositis nicht unberücksichtigt bleiben.



Dr. Katrin Strutzberg-Minder

Tieren wurden Blutproben gewonnen. Pathologisch wurde das Vorliegen einer Serositis (Peritonitis, Pleuritis und Perikarditis) dokumentiert und Sammeltupfer der serösen Häute genommen, die mittels PCR auf *Hps* und *M. hyorhinis* untersucht wurden. Der Nachweis von Antikörpern erfolgte für den indirekten Nachweis von *Hps* mit dem Swinechek7 HPS ELISA (s. o.) und für *M. hyorhinis* mit einem ELISA nach der Methode von Engvall und Perlmann (1971), bei der eine Ganz-Zell-Präparation des *M. hyorhinis*-Referenzstammes als Testantigen fungierte.

Gibt es einen Zusammenhang zwischen den direkten und indirekten Nachweisen von *Hps* und *M. hyorhinis* und einer Serositis beim Schwein?

Die Übereinstimmung, in beiden ELISA ein gleiches Ergebnis zu erhalten, war deutlich und signifikant (Tab. 1). Das bedeutet, dass die Assoziation von *Hps* und *M. hyorhinis*, die bereits durch den simultanen Nachweis beider Erreger in Sammeltupfern der serösen Häute mittels PCR erbracht werden konnte, nun auch für den indirekten Nachweis beider Erreger, also für den Nachweis von Antikörpern gegen beide Erreger im Blutserum mittels ELISA gezeigt werden konnte.

Bei 74 Schweinen wurde eine Serositis diagnostiziert (Abb. 1 und 2). 24 Schweine mit Serositis waren *Hps*-PCR positiv im Sammeltupfer der serösen

Häute, 28 waren *M. hyorhinis*-PCR positiv und 11 davon waren in beiden PCRs, also für beide Erreger, positiv. 96 Schweine hatten keine Anzeichen einer Serositis, 7 waren dennoch *Hps*-positiv und 3 Tiere waren mittels PCR sogar positiv im Serosa-Sammeltupfer für *M. hyorhinis* und *Hps*. Möglicherweise befanden sich diese Tiere noch in einer frühen Infektionsphase, so dass zwar die potentiellen Erreger nachgewiesen, aber noch keine Läsionen beobachtet werden konnten. 16 von 74 Schweinen mit Serositis waren positiv im *Hps*-ELISA, 11 waren positiv im *M. hyorhinis*-ELISA und 5 waren sogar positiv in beiden ELISA. Nur 9 von 96 Schweinen ohne Serositis hatten ein positives Ergebnis im ELISA und nur 5 dieser Schweine hatten ein doppelt positives Ergebnis.

Was bedeuten die Ergebnisse für die Qualität der diagnostischen Verfahren?

Bewertet man die Testergebnisse bezüglich der Wahrscheinlichkeit, dass ein Zusammenhang mit einer Serositis besteht, so zeigen sowohl die PCR als auch die ELISA recht gute diagnostische Spezifität (Dsp, Tab. 2 a und b). Das bedeutet, die Tests erzeugen nur wenige falsch positive Ergebnisse. Die Wahrscheinlichkeit, dass ein Tier ohne Serositis auch ein negatives PCR-Ergebnis für *Hps* und den Nachweis beider Erreger gleichzeitig erhält, ist rund 90 % bzw. rund 96 % für *M. hyorhinis*. Bei den ELISA liegt die Spezifität jeweils bei 87 %, d. h. ein Schwein ohne Serositis wird mit einer Wahrscheinlichkeit von 87 % ein negatives ELISA-Ergebnis erhalten. Rund 80 % aller Schweine ohne Serositis erhielten sogar ein doppelt negatives Ergebnis.

Die diagnostische Sensitivität zwischen 14,9 % für den *M. hyorhinis*-ELISA und 37,8 % für die *M. hyorhinis*-PCR ist sehr schlecht bis schlecht, allerdings sehr wahrscheinlich deshalb, weil andere differentialdiagnostische Erreger die Polyserositis verursacht hatten, so dass diese Erreger auch gar nicht nachgewiesen werden konnten.

Unterschiede bei den Ergebnissen der PCR und ELISA sind möglicherweise auf die Detektion unterschiedlicher Infektionsphasen zurückzuführen. Während der ELISA gegen die Erreger gerichtete Antikörper vermutlich früh im Verlauf einer Infektion im Blut nachweist, die nicht unbedingt zu einer Infektionskrankheit führt, sind die Verursacher der Serositiden erst nach Besiedlung der serösen Häute mittels PCR auch dort nachzuweisen. Aus Verlaufsuntersuchungen gab es Hinweise, dass der ELISA vermutlich auch klinisch inapparente Infektionen detektiert und der Gehalt an Antikörpern möglicherweise sinkt, wenn die Infektion sich als Krankheit in Form von Läsionen der Serosa manifestiert hat.

16,8 % der hier untersuchten Serositis-Fälle waren aufgrund des Nachweises mittels PCR in den Serosa-Sammeltupfern wahrscheinlich auf *Hps* bzw. 19,6 % auf *M. hyorhinis* zurückzuführen. 7,7 % der Fälle waren sogar mit beiden Erregern als mögliche Krankheitsursache assoziiert. Es ist zu vermuten, dass 32,2 bis 35 % der Serositis-Fälle durch andere differentialdiagnostische Erreger verursacht waren. Dagegen schließt ein doppelt negatives Testergebnis für *Hps* und *M. hyorhinis*, sowohl in der PCR als auch im ELISA, eine durch diese Erreger bedingte Polyserositis zu rund 90 % bzw. 80 % aus. Damit weisen auch diese Ergebnisse darauf hin, dass beide potentiellen Pathogene sowohl positiv als auch negativ mit einer Serositis assoziiert sind.

Fazit für die Praxis

Zu beachten ist, dass sowohl *Hps* als auch *M. hyorhinis* allgemeine Bewohner des Respirationstrakts beim

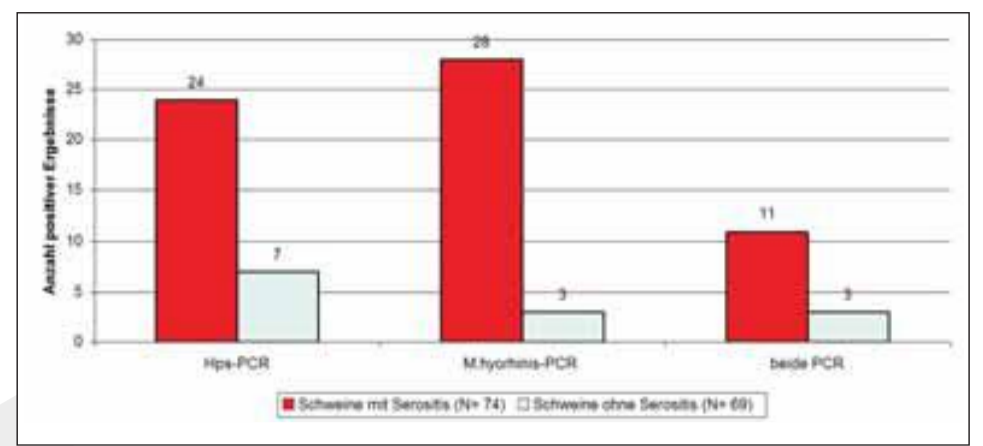


Abb. 1: Anzahl positiver Ergebnisse der Untersuchungen mittels PCR.

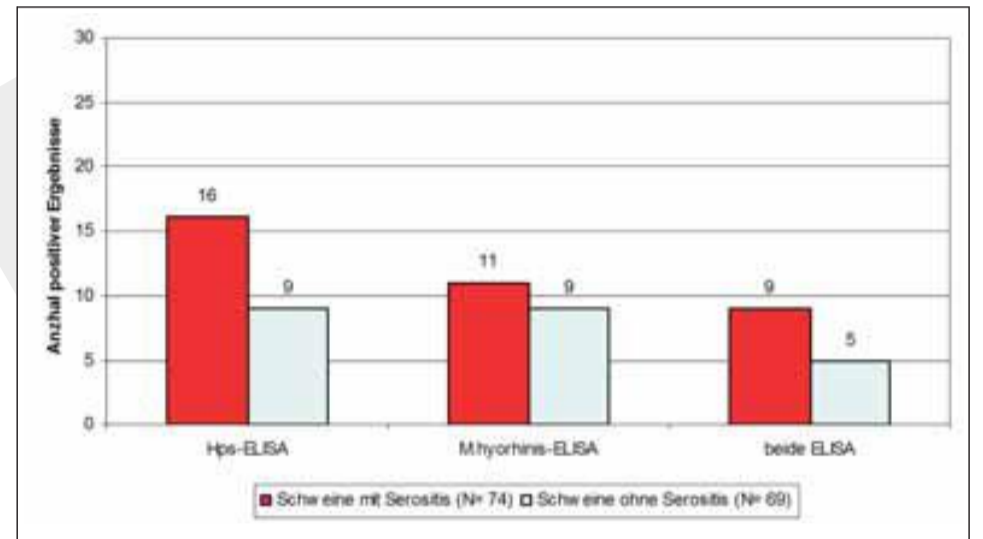


Abb. 2: Anzahl positiver Ergebnisse der Untersuchungen mittels ELISA.

Anzahl	<i>M. hyorhinis</i> -ELISA			Anzahl	Anteil in % <i>M. hyorhinis</i> -ELISA		
	<i>Hps</i> -ELISA positiv	<i>Hps</i> -ELISA negativ	gesamt		<i>Hps</i> -ELISA positiv	<i>Hps</i> -ELISA negativ	gesamt
<i>Hps</i> -ELISA positiv	14	11	25	positiv	9,8	7,7	17,5
<i>Hps</i> -ELISA negativ	13	105	118	negativ	9,1	73,4	82,5
gesamt	27	116	143	gesamt	18,9	81,1	100,0

$\kappa = 0,4361$ $p < 0,0001$

Tab. 1: Anzahl und Anteil (%) der Ergebnisse von Untersuchungen im *Hps*- und *M. hyorhinis*-ELISA im Vergleich.

a	<i>Hps</i> -PCR			<i>M. hyorhinis</i> -PCR			beide PCR		
	positiv	negativ	gesamt	positiv	negativ	gesamt	positiv	negativ	gesamt
Schwein mit Serositis	24	50	74	28	46	74	11	63	74
Schwein ohne Serositis	7	62	69	3	66	69	3	62	65
gesamt	31	112	143	31	112	143	14	125	139
	32,4	89,9		37,8	95,7		14,9	89,9	
	DSe	DSP		DSe	DSP		DSe	DSP	

b	<i>Hps</i> -ELISA			<i>M. hyorhinis</i> -ELISA			beide ELISA		
	positiv	negativ	gesamt	positiv	negativ	gesamt	positiv	negativ	gesamt
Schwein mit Serositis	16	58	74	11	63	74	9	50	59
Schwein ohne Serositis	9	60	69	9	60	69	5	55	60
gesamt	25	118	143	20	123	143	14	105	119
	21,6	87,0		14,9	87,0		12,2	79,7	
	DSe	DSP		DSe	DSP		DSe	DSP	

Tab. 2: Diagnostische Spezifität (Dsp) und Sensitivität (Dse) der PCR (a) und ELISA (b) bezogen auf den Nachweis einer Serositis.

Schwein sind und auch nicht jede *Hps*- oder *M. hyorhinis*-Infektion, sollte es denn zu einer kommen, zu einer Infektionskrankheit führt.

Mit Hilfe der ELISA können daher Infektionen mit diesen Mikroorganismen frühzeitig nachgewiesen und insbesondere Infektionszeitpunkte bestimmt werden. Der doppelt positive Antikörpernachweis gibt Hinweise auf eine durch diese fakultativ pathogenen Mikroorganismen bedingte Serositis, das doppelt negative Ergebnis schließt eine Serositis durch sie mit hoher Wahrscheinlichkeit aus.

Mittels PCR ist es möglich, *Hps* und *M. hyorhinis* als potentielle Verursacher von Serositiden in Serosa-Sam-

meltupfern zu identifizieren, wobei gezeigt werden konnte, dass eine Serositis sogar häufiger mit mehr als einem Erreger, wie hier *Hps* und *M. hyorhinis*, assoziiert ist, was wiederum für Therapie und Prophylaxe von Bedeutung sein kann.

* weitere Autoren: Andreas Palzer und Karl Heinritz, München, Mathias Ritzmann, München und Wien

Korrespondenzadresse:
Dr. Katrin Strutzberg-Minder
 IVD Gesellschaft für Innovative
 Veterinär diagnostik mbH
 Heisterbergallee 12
 30453 Hannover
 strutzberg@ivd-gmbh.de

Gesellschaft für Innovative Veterinär diagnostik mbH



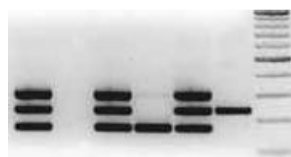
Infektionsdiagnostik auf dem neuesten wissenschaftlichen Stand

- ELISA-Hochdurchsatzverfahren
- Real time-PCR
- Peptid-capture-PCR zum Nachweis von Salmonellen und *Campylobacter spec.*
- Immunhistochemie für PCV-2, PRRSV und *Lawsonia intracellularis*

Nutzen Sie unser **umfassendes Angebot** an Infektionsdiagnostik beim Schwein!

Im Rahmen der Diagnostik fibrinöser Serositiden stellt beispielsweise unser **PCR-Screening "Serositis"** zum Nachweis von

- *Mycoplasma hyorhinis* und
 - *Haemophilus parasuis*
- aus Sammeltupfern seröser Häute eine sehr sensitive und schnelle Methode dar.



Überzeugen Sie sich von unserer Erfahrung bei der Beurteilung pathologischer Organveränderungen und **zielgerichteten Organentnahme** für weiterführende Untersuchungen!

Fragen Sie uns!

IVD GmbH
 Heisterbergallee 12
 30453 Hannover

www.ivd-gmbh.de
 service@ivd-gmbh.de
 Telefon: 0511 220029-0