

Neuigkeiten zu *Actinobacillus pleuropneumoniae* - unsere Diagnostik ist auf dem aktuellsten wissenschaftlichen Stand!

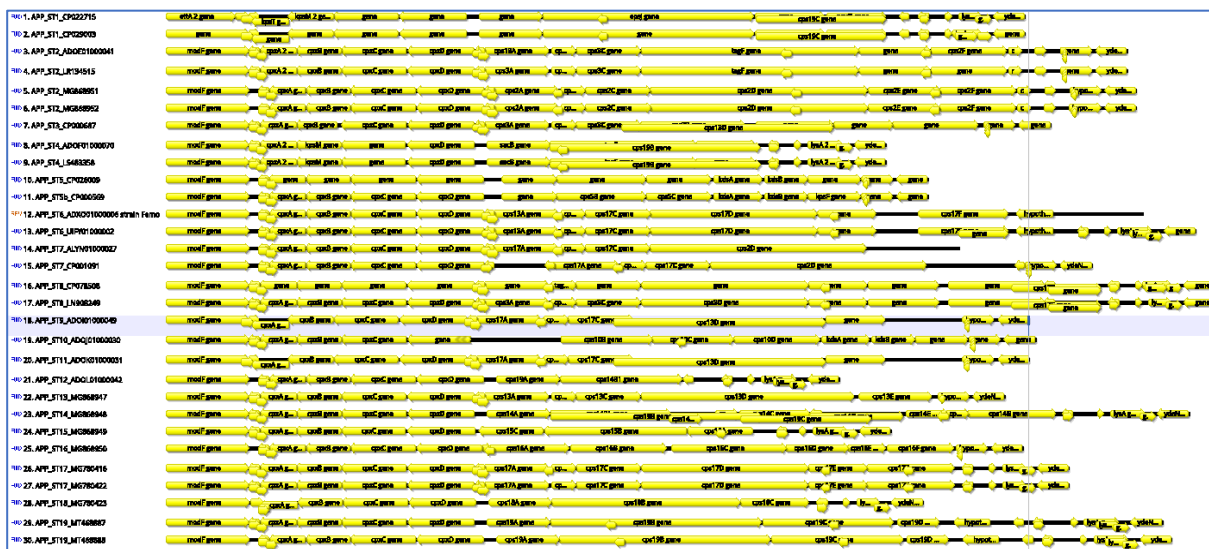


Abbildung 1:
Cps-Loci von App 1-19 (in numerischer Reihenfolge, nicht nach Homologien sortiert), © IVD 2021

Experten für *Actinobacillus pleuropneumoniae* (App) haben einen weiteren neuen Serotyp 19 identifiziert und die bis dato etablierte multiplex PCR (mPCR) zur Kapsel-spezifischen Typisierung („molekulare Serotypisierung“) aller bekannten Serotypen an die neu gewonnenen Erkenntnisse angepasst und aktualisiert (Stringer et al. 2021a).

Anhand dieser Ergebnisse wird deutlich, dass es auch in der jüngsten Vergangenheit einige Fehlklassifikationen hinsichtlich des identifizierten (Kapsel-)Serotyps mittels der bis dahin verwendeten cps-mPCR nach (Bosse et al. 2018) für App gegeben hat, z.B. bei App Serotyp 8 und den bis dato nicht identifizierbaren App 19.

Auch die Primer für den Speziesnachweis basierend auf dem *apxIV*-Gen wurden optimiert.

Ferner zeigt sich, dass der Serotyp-definierende cps-Locus der App Serotypen 9 und 11 sich nur in einer einzigen Base im *cpsF*-Gen unterscheidet, so dass sie nicht differenziert werden können. Da App 9 und 11 darüber hinaus auch den gleichen LPS-O-Antigen-Locus sowie das gleiche Apx-Profil aufweisen, wird vorgeschlagen die beiden Serotypen als Hybrid-Serotypen 9/11 anzusehen.

Retrospektiv konnten wir in ersten, eigenen Untersuchungen mit der optimierten cps-mPCR (Stringer et al. 2021) ein bis dato nicht typisierbares Isolat aus 2018 als App 19 identifizieren.

Im Allgemeinen kodieren Isolate desselben Serotyps für dieselben LPS-O-Antigene, wobei einige Serotypen die gleichen oder sehr ähnliche O-Antigene aufweisen, was auch zu den bekannten serologischen Kreuzreaktionen führen kann, z. B. die Serogruppen 3/6/8/15, 4/7 und 1/9/11 (Gottschalk, 2015).

Atypische App-Varianten zeichnen sich dadurch aus, dass sich die Isolate im Biotyp (NAD-abhängiges Wachstum), LPS-O-Antigentyp und/oder Apx-Toxin-Profil von den jeweiligen Referenzstämmen der Kapseltypen (alt: Serotypen) unterscheiden. Neueste Untersuchungen (Schuwerk et al. 2021) zeigen, dass der Anteil atypischer Varianten nicht unerheblich sein kann (>70%, aber n=4 bzw. 7).

Bisherige Versuche App in Proben nachzuweisen und gleichzeitig den Erreger auch hinsichtlich des Sero- und Virulenz-Typs zu charakterisieren sind bislang weitestgehend fehlgeschlagen. Allerdings konnte nun jüngst dieselbe namhafte Forschergruppe, die App (Serotyp) 19 neu identifizierte (s.o.), ein Verfahren optimieren, mit dem auch Lungenproben von Schweinen unmittelbar mit der neuen cps-mPCR (Stringer et al. 2021a)

typisiert werden konnten (Stringer et al. 2021b). Geeignete Lungenproben oder *App*-Isolate werden dazu auf FTA® Karten (Whatman™) aufgebracht, was zudem Vorteile für den Versand dieser Proben bietet, da der Erreger mit dem Auftragen auf die Proben-Karten inaktiviert wird und daher nicht mehr infektiös ist, und diese Proben-Karten nicht gekühlt werden müssen. Andererseits wird bei der Verwendung von FTA® Karten aber auch nur DNA konserviert und das in begrenzter Menge, wohingegen man auf archivierte Isolate in der Regel immer wieder durch erneute Kultivierung zurückgreifen kann.

Fazit für die Diagnostik aus den neuesten Erkenntnissen:

1. Die Diagnostik muss den wissenschaftlichen Erkenntnissen auch in Zukunft angepasst werden. Es ist zu erwarten, dass man im Zuge der verstärkten Genomanalysen weitere Typen und Varianten von *App* identifizieren wird.
2. Nach dem heutigen Stand sollten **alle *App*-Isolate** mit der neuen **cps-mPCR** nach Stringer et al. 2021 analysiert werden. So ist die bestmögliche Identifizierung des Kapseltyps (alt: Serotyp) gewährleistet und dies ist sowohl für die Auswahl passender Impfstoffe als auch für eine epidemiologische Bewertung von großer Bedeutung.
3. Aufgrund verstärkt auftretender atypischer Varianten kann noch weniger als zuvor vom Kapseltyp (alt: Serotyp) auf das **Virulenzpotenzial** geschlossen werden. Es bietet sich daher an, ergänzend das **Apx-Toxin-Profil** mittels mPCR für alle Isolate zu erstellen, um damit eine Einschätzung des Virulenzpotenzials ableiten zu können.
4. Die Bestimmung des Biotyps erfolgt zum einen durch die **klassische, bakterielle Kultivierung** als auch im Rahmen der **cps-mPCR** anhand des nadV-Gens. Die Bestätigung **der Spezies *App*** wird durch das apxIV-Target in der cps-mPCR gewährleistet.
5. Eine Kapsel-(Sero-)Typisierung mittels cps-mPCR nach Stringer et al. (2021a) direkt an geeigneten Lungenproben auf FTA® Karten aufgebracht wurde nun erstmals validiert (Stringer et al. 2021b).
⇒ Wir werden das Verfahren bei uns etablieren und evaluieren, und auch hinsichtlich der Apx-Toxin-Typisierung prüfen!

Unsere Diagnostik ist auf dem neuesten, wissenschaftlichen Stand!

Bei der IVD GmbH stehen folgende diagnostische Möglichkeiten zur Verfügung:

- **Direkter PCR Nachweis** von *App* in geeignetem Probenmaterial mittels ***App* PCR** (*App* ApxIV PCR) auf Basis des *ApxIV*-Toxin-Gens.
- **Kulturelle Anzucht** und Isolierung von *App*-Isolaten aus frischem Probenmaterial, z.B. nach Sektion.
- **Molekulare Serotypisierung** der *App*-Isolate mittels ***App* Kapsel Typisierung Multiplex PCR** (*App* cps-mPCR) aktualisiert nach Stringer et al. 2021.
- Einschätzung des **Virulenzpotentials** von *App*-Isolaten mittels der ***App* Toxin Typisierung Multiplex PCR** zur Erstellung des Apx-Toxin Profils.

Für weitere Informationen stehe ich Ihnen gern zur Verfügung.

Dr. Katrin Strutzberg-Minder
E-Mail: strutzberg@ivd-gmbh.de
Telefon: 0511 220029-0 oder -10

IVD Gesellschaft für Innovative
Veterinärdiagnostik mbH
Albert-Einstein-Straße 5
30926 Seelze
www.ivd-gmbh.de
Telefon: 0511-220029-0

