

Actinobacillus pleuropneumoniae – Infektion, Verbesserung der Diagnostik

**Dr. Sylvia Baier, LWK Niedersachsen, Schweinegesundheitsdienst,
Dr. Jens Brackmann, LWK Niedersachsen, Institut für Tiergesundheit der
LUFA Nord-West**

Einleitung und Zielsetzung

In den letzten Jahren ist die Bedeutung von Actinobacillus pleuropneumoniae-Infektionen gestiegen. So können 70 - 80 kg schwere Mastschweine bei akuten Infektionen mit einer Mortalitätsrate von 10 – 15 % verenden. Außerdem tritt die Infektion aktuell auch in Flatdecks auf. Bei Jungsaunen wurde zum 1. Abferkeln eine erhöhte Erkrankungsrate (Fieber bis 42°C) mit teilweise hohen APP-Antikörper-Titern festgestellt, so dass die Empfehlungen zu Jungsaunen-Impfprogrammen in der Eingliederung für die praktische Betriebsberatung eventuell angepasst werden müssen. Bisher sind 15 verschiedene APP-Serotypen bekannt.

Derzeit ist eine sichere Diagnosestellung nur über eine Sektion mit anschließendem bakteriologischem Erregernachweis möglich. Die Ergebnisse serologischer Untersuchungen sind bisher unbefriedigend. Dieses erschwert auch eine gezielte Überwachung der APP-Unverdächtigkeit in Zuchtbetrieben.

Um eine bezahlbare und effektive Diagnostik vom Institut für Tiergesundheit der LUFA Nord-West und dem Schweinegesundheitsdienst der Landwirtschaftskammer Niedersachsen anbieten zu können, sollten in der vorliegenden Studie mit den derzeit verfügbaren Tests Vergleichsuntersuchungen durchgeführt werden.

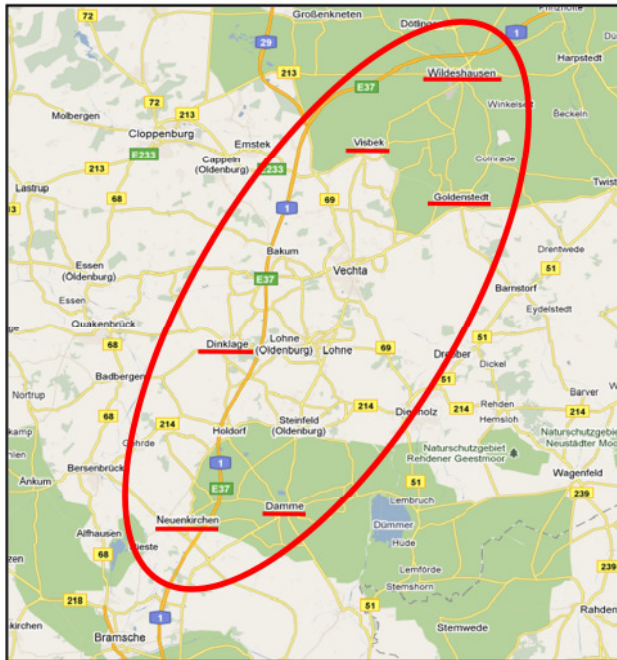
Material und Methoden

Bereits seit 2009 haben Betriebe der Arbeitskreise in Vechta (siehe Abbildung 1) den Wunsch geäußert, Screenings in einem neutralen Labor durch ein und denselben Tierarzt (SGD, Dr. Baier), unabhängig von den verschiedenen Haustierärzten, durchführen zu lassen. Aus diesem vorhandenen Probenpool wurden Proben von Problemsauen zum APP-Testvergleich herangezogen.

Die untersuchten zwölf Betriebe haben eine durchschnittliche Bestandsgröße von 350 Sauen und eine durchschnittliche Leistung von 27 abgesetzten Ferkeln / Sau und Jahr.

- 5 Betriebe halten die Sauen separat, liegen aber in einer tierdichten Region
- 4 Betriebe arbeiten im geschlossenen System
- 3 Betriebe sind Ferkelerzeuger mit Restemas

Abbildung 1: Lage der untersuchten Bestände



Pro Bestandsbesuch wurden gezielt jeweils fünf bis zehn Blutproben von Problemsauen entnommen. 75 dieser Blutproben wurden ausgewählt, um in der vorliegenden Studie weiterführend auf APP-Antikörper untersucht zu werden. Die Bestände haben zum Teil Probleme mit APP-Infektionen und sind zum Teil geimpft.

Zunächst wurden die Serumproben in drei verschiedenen Screening-ELISAs untersucht. Zum Einsatz kam der APP-ELISA der Fa. Cypress Diagnostics (Belgien), der App-Screening-ELISA der Fa. ID-Vet (Frankreich), sowie der Apx IV-ELISA der Fa. IDEXX (Schweiz). Während in den beiden erstgenannten Verfahren Antikörper gegen die Serotypen 1 – 12 nachgewiesen werden, kann der Apx-IV-ELISA zusätzlich Antikörper gegen die Serotypen 13 – 15 nachweisen. Unabhängig vom Ergebnis in diesen Untersuchungen wurden sämtliche Proben in zwölf verschiedenen ELISA-Verfahren von zwei Herstellern (ID-Vet, Frankreich und Biovet, Kanada) untersucht, die zum Nachweis ausgewählter APP-Serotypen geeignet sind (Tabelle 1). In Abhängigkeit vom verwendeten Antigen werden mit diesen Serotyp-spezifischen Testen entweder einzelne Serotypen oder Gruppen von Serotypen, die sich in dem jeweiligen Antigen ähneln, nachgewiesen.

APP-Serotyp(en)	1, 9, 11		2		2,6	3, 6, 8			4, 7		12	10	5
ELISA-Hersteller	ID-Vet	Bio-Vet	ID-Vet	Bio-Vet	ID-Vet	ID-Vet	Bio-Vet	ID-Vet	Bio-Vet	Bio-Vet	Bio-Vet	Bio-Vet	Bio-Vet

Tabelle 1: Übersicht der verwendeten Serotyp-spezifischen ELISAs

Ergebnisse und Diskussion

1. Vergleich der verschiedenen ELISA-Verfahren

1.1 Vergleich der 3 Screening-ELISAs

In jedem Bestand wurden in den drei Tests jeweils mehrere positive Tiere gefunden.

	?/+	-
ID-Vet Screening	80%	20%
Cypress APP	88%	12%
IDEXX Apx IV	91%	9%

Tabelle 2: Prozentuale Verteilung der Testergebnisse:

ID-Vet Screening - Cypress APP	ID-Vet-Screening - IDEXX Apx IV	IDEXX Apx IV - Cypress APP
77,3%	84%	86,7%

Tabelle 3: Übereinstimmung der Testergebnisse in %:

1.2 Vergleich der Ergebnisse des APP-Screenings mit den Ergebnissen der APP-Typisierung

Um einen Hinweis auf die Spezifität der Ergebnisse der Screening-ELISAs zu bekommen, wurden die Ergebnisse den Typisierungs-Testen gegenüber gestellt. Auf der Ebene der Bestände ergab sich dabei eine 100 %-ige Übereinstimmung (in jedem Bestand mindestens ein positives Screening- und ein positives Typisierungs-Ergebnis). Die Ergebnisse der einzelnen Proben werden in Tabelle 4 aufgeführt.

	Übereinstimmung mit Typisierung	Abweichend nicht negativ	Abweichend negativ
Cypress APP	85,3%	4 Proben	7 Proben
ID-Vet Screening	88%	0 Proben	9 Proben
IDEXX Apx IV	96%	1 Proben	2 Proben

Tabelle 4: Vergleich APP-Screening und –Typisierung

1.3 Ergebnisse der Typisierungs-ELISAs und Vergleich der beiden Testhersteller

Leider standen von den beiden Testherstellern nicht für alle Serotypen spezifische ELISA-Teste zur Verfügung (siehe Tabelle 1). Im Folgenden werden daher nur die Serotypen betrachtet, die von beiden Herstellern abgedeckt werden.

Vergleich der Typisierungs-ELISAs für die Serotypen 1, 9, 11:

In zehn Beständen stimmten die Ergebnisse überein, in zwei Beständen nicht. In den abweichenden Beständen ist jeweils nur eine Probe in einem Test fraglich. Die Ergebnisse der Proben stimmen in beiden Testen gut überein.

Vergleich der Typisierungs-ELISAs für den Serotyp 2:

In zehn Beständen stimmen die Ergebnisse überein, in zwei nicht. Bei den Abweichungen ist jeweils nur eine Probe im ELISA der Firma BioVet fraglich.

Vergleich der Typisierungs-ELISAs für den Serotyp 3, 6, 8:

In elf Beständen stimmen die Ergebnisse überein, in einem nicht. In diesem Bestand ist eine Probe im BioVet positiv, alle anderen Proben sind negativ. Von der Firma ID-Vet ist zusätzlich ein Test zum Nachweis der Serotypen 2 und 6 verfügbar. Die Proben, die in diesem Test positiv waren, waren ohne Ausnahme auch in den Typ-2-Testen positiv oder fraglich. Es handelt sich in diesen Fällen daher mit großer Wahrscheinlichkeit um Antikörper gegen den Serotyp 2 und nicht gegen Serotyp 6.

Vergleich der Typisierungs-ELISAs für den Serotyp 4, 7

In elf Beständen stimmen die Ergebnisse überein, in einem nicht. In diesem Bestand ist eine Probe im BioVet positiv, alle anderen Proben sind negativ.

2 APP-Prävalenz

Da in sämtlichen Beständen App-Antikörper fragliche und positive Proben gefunden wurden, ist der Erreger in allen Beständen anzutreffen. Es sind nur drei Proben in sämtlichen Testesnegativ. Die Gesamtprävalenz der Proben beträgt daher 96 %.

Auch in den Typisierungs-ELISAs wurde eine Bestandsprävalenz von 100 % ermittelt. Insgesamt waren nur sechs Proben in allen Typisierungs-ELISAs negativ (Tabelle 5).

	1, 9, 11		2		2, 6	3, 6, 8		4, 7		12	10	5
	ID- Vet	Bio- Vet	ID- Vet	Bio- Vet	ID- Vet	ID- Vet	Bio- Vet	ID- Vet	Bio- Vet	Bio- Vet	Bio- Vet	Bio- Vet
+ %	75	67	42	42	42	83	92	92	92	75	17	8
+/? %	83	83	42	58	42	83	92	92	100	100	58	33

Tabelle 5: Serotypprävalenzen, Bestände

Die prozentualen Anteile der einzelnen Serotypen lassen einige Rückschlüsse auf die Verbreitung von APP und der verschiedenen Serotypen in den untersuchten Beständen zu. Da die Verteilung der positiven Proben in den Beständen relativ uneinheitlich war, wurde von uns ein Punktbewertungsschema zur Feststellung der Bedeutung von APP und der verschiedenen Serotypen in den untersuchten Beständen erarbeitet (Tabelle 6).

Bestand	Screening	1, 9, 11	2	2, 6	3, 6, 8	4, 7	12	10	5
D	10	10	0,5	0	1	8,5	9	2	2
A	9,5	10	7,5	6	5,5	7,5	4	6	0
H	9	5,5	9,5	8	8	4,5	5	1	1
B	8,5	3,5	6	6	0	6,5	1	0	0
C	8,5	2	2,5	4	9,5	6,5	2	0	0
L	8	0,5	0	0	4,5	1	7	3	1
I	7,25	0	1	0	4	10	7,5	2	0
J	6,5	2,5	0	0	5,75	5,5	1,5	0,5	1
G	6,5	1,5	0	0	3,5	9	9	1	0
F	6	2	0	0	6,5	6	3	0	0
K	6	2	0	0	9	2,5	1,5	0	0
E	5	0,25	0,25	1,5	4	3,25	4,5	0	0

Tabelle 6: Punktevergabe zur Klassifizierung der Betriebe.

Für jedes positive Ergebnis wurde 1 Punkt vergeben; für jedes fragliche Ergebnis 0,5 Punkte. Wurde nur ein Test durchgeführt (2, 6; 12; 10 und 5), so wurden die Punkte verdoppelt. Wurden aus einem Bestand zehn Proben untersucht, so wurden die Punkte halbiert.

Farblegende:

0 bis < 2 Punkte	2 bis < 6 Punkte	6 bis 8 Punkte	> 8 bis 10 Punkte
------------------	------------------	----------------	-------------------

Bei dieser Auswertung fällt auf, dass die Serotypen 3, 6, 8, 4, 7 und 12 in nahezu allen Beständen mit mehr oder weniger vielen Tieren und unabhängig von den Screening-Ergebnissen auftreten. Dagegen sind die Serotypen 1, 9, 11 und 2 nur in wenigen Beständen, dann aber bei vielen Tieren nachzuweisen.

Fazit und Schlussfolgerungen für die Praxis

- In jedem Bestand wurden APP-Antikörper positive Tiere gefunden (100 % Prävalenz).
- 72 der 75 untersuchten Proben waren in mindestens einem der Teste positiv.
- APP negative Jungsauen sollten daher in unserer Region gegen APP geimpft werden.
- Gute Übereinstimmung von Screening und Typisierung auf Bestandsebene. Eine Überprüfung in Typisierungs-ELISAs ist auch in Zukunft erforderlich.
- Die Screeningteste liefern bei Einzeltieren z. T. unterschiedliche Ergebnisse.
- Blutprobenergebnisse müssen bestandsweise bewertet werden.
- Der IDEXX Apx IV zeigt die beste Übereinstimmung mit der Typisierung. Der ID-Vet-APP Screening war etwas weniger sensitiv, erscheint aber spezifischer.
- Typisierung: Für die Serotypen 1, 9, 11 sowie 2 stimmen die Teste sehr gut überein. Für die Serotypen 3, 6, 8 sowie 4, 7 stimmen die Ergebnisse der Bestände gut überein, die Unterschiede bei den Proben sind jedoch relativ ausgeprägt. Die Typisierungs-ELISAs von ID-Vet scheinen etwas besser zu differenzieren.
- Vertreter der Serotypen aus den Gruppen 3, 6, 8 sowie 4, 7 und 12 scheinen nahezu ubiquitär in den Beständen verbreitet zu sein. Die Bestandsprävalenz ist hoch, die Einzeltierprävalenz (soweit aus der niedrigen Stichprobenzahl beurteilbar) ist meistens deutlich niedriger.
- Als pathogene Stämme kommen in einigen Beständen die Serotypen der Gruppe 1, 9, 11 vor. Hier fallen zwei Bestände, in denen alle Tiere positiv sind und zwei Bestände in denen mehrere Tiere positiv sind, auf. Diese Bestände zeichnen sich außerdem durch hohe ELISA-Werte aus.

- Eine Sonderstellung nimmt der Serotyp 2 ein. Dieser zeigt die niedrigste Prävalenz sowohl in den Beständen als auch bei den Proben. In den positiven Beständen sind aber zumeist viele Tiere für diesen Serotyp positiv und die ELISA-Werte hoch. Auf eine besondere Bedeutung dieses Serotyps, der auf Grund seines APX-Toxin-Profiles als schwachvirulent einzustufen ist, wurde in der Literatur bereits mehrfach hingewiesen.
- Die Serotypen 1, 9, 11 und 2 sollten daher gemeinsam mit den potenziell pathogenen Serotypen 5 und 10 im Focus der Diagnostik stehen.

Da ein gewisser Grad an Kreuzreaktionen in den Typisierungs-ELISAs wahrscheinlich nicht auszuschließen ist, sollten einzelne fraglich und positive Ergebnisse nicht überbewertet werden, sondern die Serotypen mit dem häufigsten Nachweis in einem Bestand und den höchsten ELISA-Werten als relevant betrachtet werden. Zur Überprüfung der in den untersuchten Beständen serologisch nachgewiesenen APP-Infektionen sind weiterführende Untersuchungen zu empfehlen, in deren Mittelpunkt die Suche nach in den Beständen vorhandenen APP-Isolaten und deren Typisierung mit Hilfe molekularbiologischer Verfahren stehen sollte.

Für die Beratung der Schweinebestände wäre die Erprobung eines APP-Diagnostikpaketes, welches aus einem Screeningtest + der Serotypisierung für die relevanten Typen 1, 9, 11 und 2 besteht, sinnvoll. Durch die weitere Unterstützung mit Geldern des Versuchswesens der Landwirtschaftskammer Niedersachsen könnte durch mehr Proben pro Betrieb und Testung von Untersuchungspaketten (Screeningtest + Serotypisierung 1, 9, 11, 2) mehr Sicherheit in der APP-Diagnostik und Beratung von Problembeständen gewonnen werden. Weiterhin muss Sicherheit für negative Betriebe (perspektivische APP-unverdächtige Zuchtbestände) mittels serologischer Untersuchung erreicht werden.