

## **Bericht aus der AG PAR:**

### **1. Vergleichsuntersuchungen 2014 (nach 2009, 2010 u. 2012)**

### **2. Monitoring von Zuchtbetrieben**

Michael Alt<sup>1</sup> und Katrin Beckmann<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Fachbereich 3.5.5 – Tiergesundheit, Schweinegesundheitsdienst,  
Landwirtschaftskammer Niedersachsen

<sup>2</sup>Institut für Tiergesundheit, LUFA Nord-West, Oldenburg

- 
1. Klinische Untersuchung
  2. Bakteriologische Untersuchung mit Toxin-Nachweis
  3. Serologische Untersuchung
  4. Pathologisch-anatomische Untersuchung

Kriterien: 1. Sensitivität (Empfindlichkeit, sensitivity)  
2. Spezifität (specificity)

Fragen: Prävalenz im infizierten Betrieb  
predictive value, Confidence level  
Stichprobenumfang  
Häufigkeit der Untersuchung  
Untersucher (SGD, Hoftierärzte, Organisation)

Kriterien: 1. Verhalten

- a. Niesen
- b. Schniefen
- c. Unruhe

2. Nasen- und Augenausfluß, Sekretbahnen mit Verschmutzung

- a. serös
- b. mukopurulent
- c. blutig

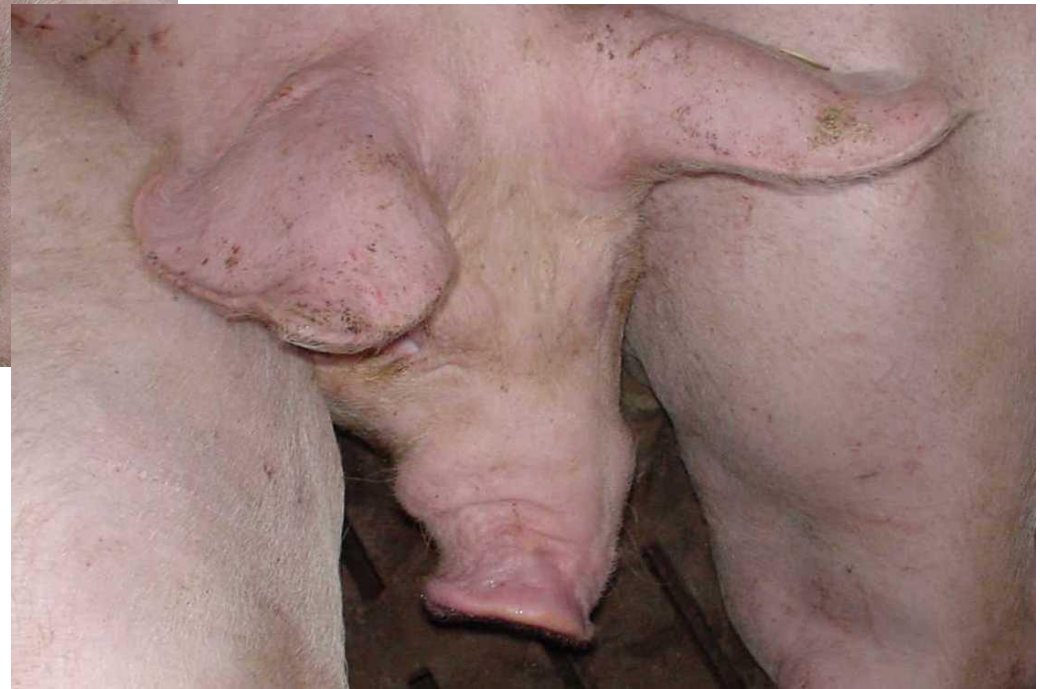
3. Morphologische Veränderungen

- a. Asymmetrie des Oberkiefers
- b. Auftreibungen, Faltenbildung
- c. Verkürzung des Oberkiefers
- d. Verbiegung des Oberkiefers



Auftreibungen

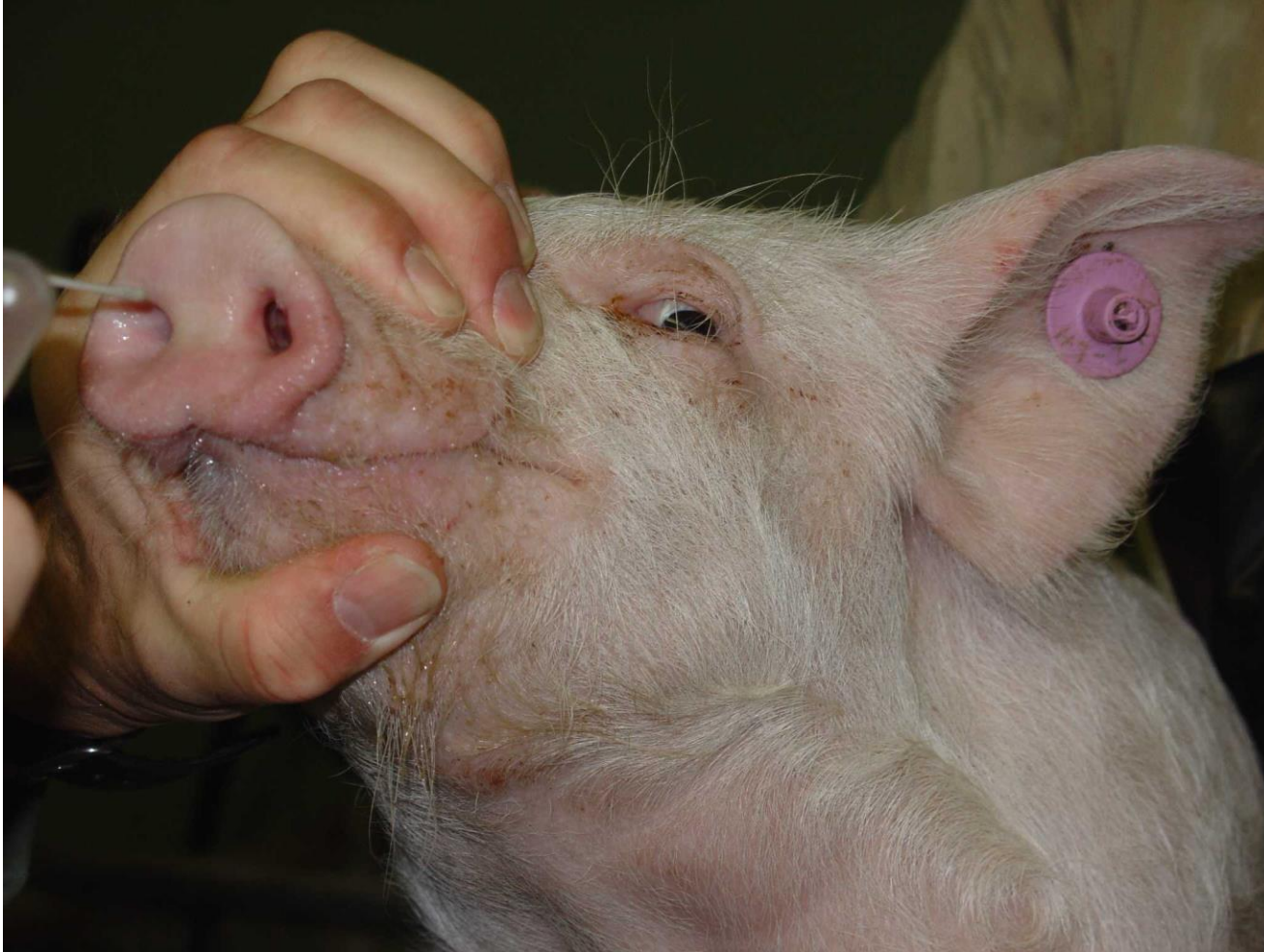
Verkrümmung



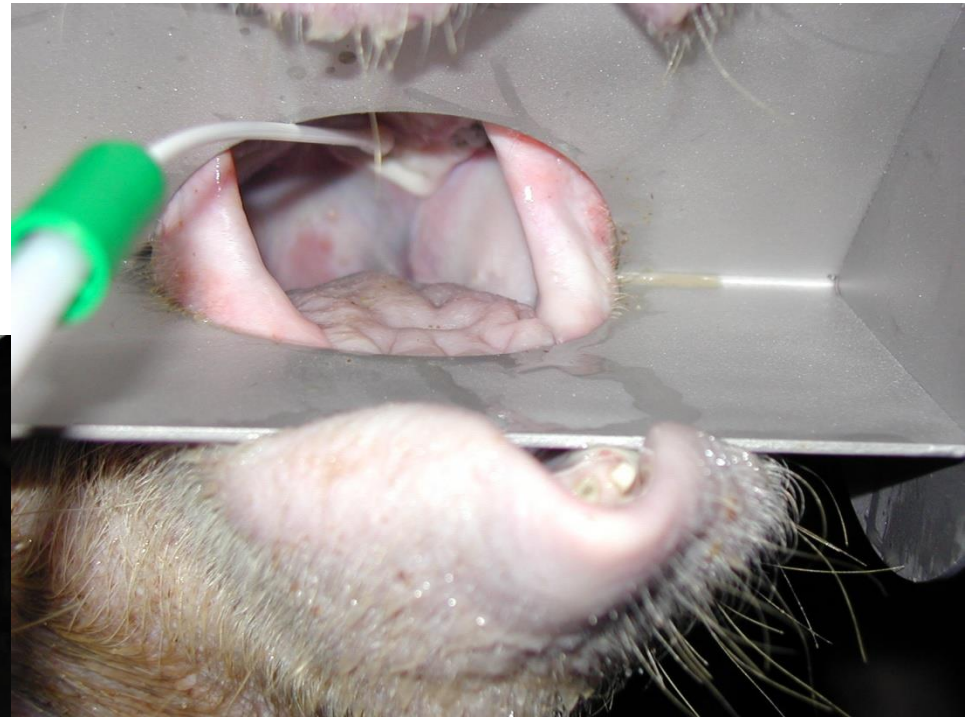
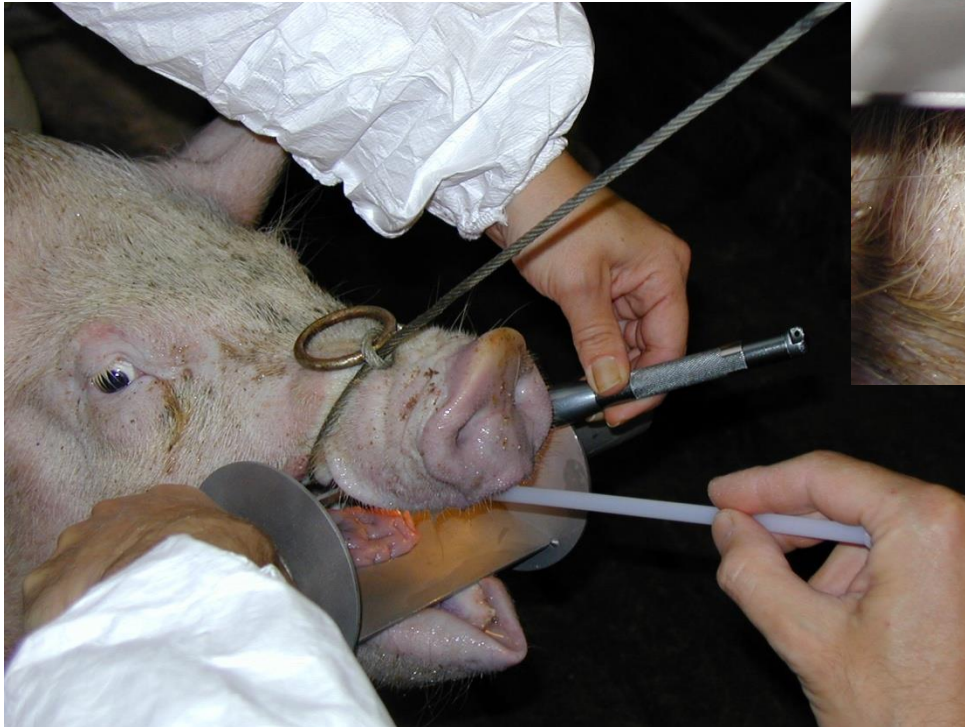
# Klinische Untersuchung



# Nasentupfer - Entnahme



# Rachentupfer - Entnahme







# Bakteriologische Untersuchung: ELISA (zuvor Dako® und Oxoid®)

- Ausstreichen auf Selektiv-Agar
- Bebrütung 24 h bei 37 ° C
- Abschwemmung des Überstandes
- Kühlung bei 4 ° C oder Weiterverarbeitung
- Einsatz von 200 µl Überstand in den ELISA
- Inkubation
- Waschen
- Zugabe von Konjugat und Chromogen
- Auswerten

## Ergebnisse aus positiven Einsendungen des IfT der Lufa Nord-West 2005:

Einsendungen	Proben	pos.	%
31	526	147	28

## Neuer Hersteller des ELISA Kits: Thermo Fisher Scientific, Wesel

# Bakteriologische Untersuchung: PCR

- Ausstreichen auf Selektiv-Agar
- Bebrütung 24 h bei 37 ° C
- Abschwemmung des Überstandes
- Kühlung bei 4 ° C oder Weiterverarbeitung
- Durchführung der PCR nach Hotzel et al. (1997) mit Nachweis des DNT-Gens

## Ergebnisse aus positiven Einsendungen des IfT 2007-2008:

Einsendungen	Proben	pos.	%
15	186	83	44

# Serologische Untersuchung ELISA

- Zentrifugieren
- Neutralisation mit definierter Toxinmenge
- Inkubation über Nacht im Kühlschrank bei 4 ° C
- Durchführung des ELISA mit Verdünnungsstufen
- Auswertung: Sofern der OD – Wert 50 % des OD-Wertes der neg. Kontrolle unterschreitet, gilt die Reaktion als positiv.
- Auswertung: Fraglich gilt ein Titer von 1:1, positiv ein solcher von 1:2.

## Ergebnisse aus positiven Einsendungen des IfT 2005-2008:

Einsendungen	Proben	pos.	%
15	163	52	31 (incl. 2 Einsendungen aus Impfbetrieben)
13	92	11	12

**Fazit: Nur als zusätzliche Untersuchung, für Quarantäne-Tiere und zum Ausschluss der Impfung geeignet.**

## Population Size (Detecting One or More Positives)

Prevalence Estimate (% Positive)		Confidence Level	100	200	400	600	800	1000	2000	4000
>15%	70%		9	9	9	9	9	9	9	9
	80%		11	11	11	11	11	11	11	11
	90%		15	15	15	16	16	16	16	16
	95%		18	19	20	20	20	20	20	20
	99%		26	28	29	29	29	29	30	30
>20%	70%		7	7	7	7	7	7	7	7
	80%		8	9	9	9	9	9	9	9
	90%		11	12	12	12	12	12	12	12
	95%		14	14	15	15	15	15	15	15
	99%		20	21	22	22	22	22	22	22
>25%	70%		6	6	6	6	6	6	6	6
	80%		7	7	7	7	7	7	7	7
	90%		9	9	9	9	10	10	10	10
	95%		11	12	12	12	12	12	12	12
	99%		16	17	17	17	17	17	18	18

---

**Teilnehmende Labore:**

- Ift der LUFA Nord-West
- LUFA NRW, Münster
- LLLF Rostock
- DNA-Diagnostik Rostock
- LUA Chemnitz
- LUA Leipzig
- LUA Dresden
- TGD Bayern, Grub
- CVUA Stuttgart
- VFL Herzogenburg, A
- GD Deventer, NL

**Methoden: ELISA, PCR mit Anreicherung, PCR direkt**

---

**Proben: Je 5 „identische“ Proben wurden verschickt:**

**Einmal unspezifischer Keimgehalt**

**Zweimal unspezifischer Keimgehalt und tox. P.m.**

**Zweimal tox. P. m. in Reinkultur**

**Ergebnisse: In 11 Laboren wurden je 5 Proben untersucht:**

**53 Proben mit richtigem Ergebnis**

**1 Probe unspezifischer Keimgehalt und tox. P.m. nicht erkannt**

**1 Probe tox. P.m. in Reinkultur nicht erkannt**

**Die beiden falsch negativen Ergebnisse entstanden je einmal im ELISA und in der PCR.**

**Daraus kann man ableiten : Sensitivität 95 %, Spezifität 100 %.**

**Neun von elf Laboren (82 %) lieferten ausschließlich richtige Resultate.**

---

**Teilnehmende Labore:**

- Ift der LUFA Nord-West
- LUFA NRW, Münster
- LLLF Rostock
- DNA-Diagnostik Rostock
- LUA Leipzig
- LUA Dresden
- TGD Bayern, Grub
- CVUA Stuttgart
- VFL Herzogenburg, A
- GD Deventer, NL

**Neue Teilnehmer:** Bioscreen, Münster  
Synlab Leipzig  
IVD Hannover

**Methoden:** ELISA, PCR mit Anreicherung, PCR direkt

## PRA-Vergleich

Lab-Schlüssel	Probe 1 tox. P.m.	Probe 2 tox.P.m. UKG	Probe 3 tox.P.m.UKG	Probe 4 UKG P-	Probe 5 UKG	
A	4	5	6	7	8	
B	11	13	15	17	19	
C	21	23	25	27	29	
D	39	37	35	33	31	
E	43	45	47	49	51	
F	60	59	57	55	53	
G	61	63	65	67	69	
H	79	77	75	73	71	
I	80	82	84	86	88	
J	98	96	94	92	90	nicht unters.
K	111	112	113	114	115	falsch fragl.
L	1054	1058	1060	1062	1064	
M	120	119	118	117	116	



---

Von insgesamt 65 Proben wurden 63 (97 %) mit richtigem Ergebnis untersucht.

Eine negative Probe mit hohem unspezifischem Keimgehalt wurde als fraglich beurteilt (ELISA).

Eine negative Probe wurde wegen mangelnder Eignung nicht untersucht.

Es wurden weder falsch positive noch falsch negative Ergebnisse geliefert. Alle Untersuchungsmethoden (ELISA, PCR mit oder ohne Voranreicherung) führten zu ausschließlich nicht falschen Ergebnissen.

Wenn die Proben aus Schweinebeständen entnommen worden wären, hätten die Ergebnisse in allen Fällen zu einer richtigen Beurteilung geführt.

**Die Sensitivität kann mit 100 % und die Spezifität mit 96 % angegeben werden.**

Elf von dreizehn Laboren (85 %) lieferten ausschließlich richtige Ergebnisse.

---

**Von insgesamt 120 Proben wurden 116 (96,6 %) richtig erkannt.**

**PCR und ELISA nahezu gleichwertig**

**3 (2,5 %) Proben von 120 Proben falsch; eine (0,8 %) nicht untersucht.**

**Geschätzte Sensitivität: > 97 %**

**Geschätzte Spezifität: > 97 %**

**Bei stark verschmutzten Proben besteht die Gefahr von fraglichen oder falsch positiven Ergebnissen, obwohl in den meisten Fällen die Diagnostik nicht gestört wird.**

---

**Jedes Labor erhielt 5 Proben:**

- 1. tox. P.m. in Reinkultur**
- 2. tox. P.m. mit unspezifischem Keimgehalt**
- 3. tox. P.m. mit unspezifischem Keimgehalt**
- 4. Nicht tox. P.m. mit unspezifischem Keimgehalt**
- 5. Unspezifischer Keimgehalt**

## Labore

GD Deventer, NL  
Herzogenburg, A  
LVA Schleswig-Holstein  
LLLF Rostock  
Vaxxinova  
LUFA Oldenburg  
Bioscreen  
Inst. f. Mikrobiologie, Tiho H  
IVD, H  
LUFA Münster  
LUA Leipzig  
LUA Dresden  
LUA Koblenz  
CVUA Stuttgart  
CVUA Freiburg  
TGD Bayern

## Methoden

PCR  
PCR, ELISA  
PCR  
ELISA  
PCR  
PCR  
PCR  
PCR  
PCR  
ELISA  
ELISA  
ELISA  
ELISA  
ELISA  
ELISA  
ELISA

**Ergebnis: Alle Proben wurden richtig erkannt!**

## Labore

GD Deventer, NL  
Herzogenburg, A  
LVA Schleswig-Holstein  
LLLF Rostock  
Vaxxinova  
LUFA Oldenburg  
Bioscreen  
Inst. f. Mikrobiologie, Tiho H  
IVD, H  
LUFA Münster  
LUA Leipzig  
LUA Dresden  
LUA Koblenz  
CVUA Stuttgart  
CVUA Freiburg  
TGD Bayern

## Methoden

PCR  
PCR, ELISA  
PCR  
ELISA  
PCR  
PCR  
PCR  
PCR  
PCR  
ELISA  
ELISA  
ELISA  
ELISA  
ELISA  
ELISA  
ELISA

**Ergebnis:**

**Alle Proben  
wurden richtig  
erkannt !**

## 14 Labore

Herzogenburg, A  
LVA Schleswig-Holstein  
LLLF Rostock  
Vaxxinova  
LUFÄ Nord West, Oldenburg  
Bioscreen  
Inst. f. Mikrobiologie, Tiho H  
IVD, H  
LUA Leipzig  
LUA Dresden  
LUA Rheinland-Pf., Koblenz  
CVUA Stuttgart  
CVUA Freiburg  
TGD Bayern

## Methoden

PCR, ELISA

PCR

ELISA

PCR

PCR

PCR

PCR

PCR

ELISA

ELISA

ELISA

ELISA

ELISA

ELISA

**Ergebnis:**

**Nur ein falsch  
positives Ergebnis;**

**Alle anderen 69  
Proben wurden richtig  
erkannt !**

- 
- **149 Proben richtig erkannt, eine falsch negative Probe**
  - **Sensitivität und Spezifität liegen rechnerisch bei 99 %**
  - **ELISA und PCR liefern gleichermaßen gute Ergebnisse**
  - **Verzögerungen beim Versand werden in Grenzen toleriert**
  - **Schmutzkeime stören nur wenig**
  - **Insgesamt sehr hohe Zuverlässigkeit**

**Vielen Dank:**

**Die Durchführung wurde durch das Safe Guard AP 2.2B unterstützt!**

**Tab. 2:** Spezifische Anforderungen an die regelmäßigen, weiterführende Untersuchungen zum Nachweis verschiedener Infektionserreger in Schweinebeständen

Erreger	Alter der Schweine	Anzahl der Schweine	Untersuchungsintervall	Untersuchungsmaterial*	Untersuchungsmethode	Besonderheiten**
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	JS, AS	15	3 Monate	Serum, ggf. Tonsillentupfer	ELISA, ggf. PCR oder Kultur	<b>KEINE</b> Impfung
<i>Ascaris suum</i>	AF, LS, JS, AS	15	3 Monate	Kot	Flotation	zzgl. Befund vom Schlachthof
<i>Brachyspira hyodysenteriae</i>	AF, LS, JS	15	6 Monate	Kot	Kultur, ggf. PCR	
<i>Mycoplasma hyopneumoniae</i>	LS, JS	15	3 Monate	Serum, ggf. Tonsillentupfer	ELISA, ggf. PCR	<b>KEINE</b> Impfung
<i>Pasteurella multocida</i> (Typ D, toxinbildend)	AF, LS, JS, AS	15	3 Monate	Serum, ggf. Nasentupfer	ELISA, ggf. PCR	<b>KEINE</b> Impfung
PRRSV	SF, AF, JS	15	2 Monate	Serum	ELISA + PCR	<b>KEINE</b> Impfung
<i>Salmonella</i> spp.	JS	15	3 Monate	Serum, ggf. Kot	ELISA, ggf. Kultur oder PCR	<b>KEINE</b> Impfung mit lebendem Erreger
<i>Sarcoptes suis</i>	AS	15	6 Monate	Serum, ggf. Kratzproben	ELISA, ggf. Mikroskopie	

SF = Saugferkel; AF = Absetzferkel; LS = Läuferschwein; JS = Jungsau; AS = Altsau

\* Grundsätzlich wird Serum bzw. Kot untersucht. Alle Proben sind einzeln zu untersuchen. Andere Material- und Methodenkombinationen (hier mit „ggf.“ gekennzeichnet) sind zu verwenden, wenn die Untersuchung von Serum bzw. Kot zu einem fraglichen und/oder vermutlich falsch positivem Ergebnis geführt hat

\*\* Für alle Erreger gilt: Während des Zeitraums von 14 Tagen vor der Probenentnahme dürfen bei den Schweinen, von denen Proben entnommen werden sollen, keine gegen den Erreger wirkende Mittel zur Prophylaxe, Metaphylaxe und/oder Therapie eingesetzt worden sein.



1. **Nasentupfer sind weiterhin das bevorzugte Untersuchungsmaterial**
2. **Serumproben nur in Ausnahmefällen und ergänzend sinnvoll**
  - Quarantäne
  - Ausschluss von Impfungen
  - Bestandssanierungen
3. **Bevorzugte Altersgruppe : Tiere von 2 bis 4 Monaten**
4. **Andere Altersgruppen können zusätzlich mit herangezogen werden (klinischer Verdacht, Zukauf, Quarantäne)**
5. **In Niedersachsen werden z. B. BHZP- und TOPIGS-Norsvin-Betriebe mit 4 x 15 bzw. 16 (> 3000 Tiere/Bestand) Proben überwacht**

Vielen Dank!

[michael.alt@lwk-niedersachsen.de](mailto:michael.alt@lwk-niedersachsen.de)

