

Serologische Verlaufsuntersuchungen auf *Haemophilus parasuis* und *Mycoplasma hyorhinis* in drei schweinehaltenden Betrieben

A. Palzer¹, K. Kolb¹, K. Strutzberg-Minder², S. Zoels¹, M. Eddicks¹, K. Heinritzi¹, M. Ritzmann¹

¹Klinik für Schweine der Ludwig Maximilians Universität München, ²IVD Gesellschaft für Innovative Veterinärdiagnostik GmbH

Zusammenfassung

Ziel der Arbeit war die Infektionsdynamik von *Haemophilus (H.) parasuis* und *Mycoplasma (M.) hyorhinis* in 3 Betrieben zu untersuchen. Insgesamt wurden 61 Ferkel in der 1., 3., 5., 7., 9., 11., 14., 18. und 22. Lebenswoche klinisch untersucht und eine Blutprobe entnommen. Die Sauen wurden ebenfalls beprobt und alle Blutproben wurden mittels ELISA auf Antikörper gegen *H. parasuis* und *M. hyorhinis* untersucht. Klinisch zeigten sich bei Tieren in Betrieb 1 und 3 Anzeichen einer Polyserositis, die mit einer Abnahme der maternalen Antikörper gegen beide Erreger bis zur 5. bzw. 7. Lebenswoche einherging. Die Länge der Persistenz war dabei von der Höhe der maternalen Antikörperaktivität abhängig. Im Betrieb 1 wurden alle Tiere in der Mast positiv auf Antikörper gegen *H. parasuis* getestet. Im Betrieb 3 waren mehrere Sauen im *M. hyorhinis* ELISA positiv, in der Mast waren mehrere Tiere ebenfalls positiv, daher lassen positive Befunde bei Sauen eventuell einen Rückschluss auf eine verstärkte Infektionsdynamik im Mastbereich zu. Es konnte für *H. parasuis* als auch für *M. hyorhinis* eine signifikante Korrelation zwischen der Antikörperaktivität der Sauen und der Ferkel festgestellt werden.

Schlüsselwörter: Glässersche Krankheit, Mycoplasmen-Polyserositis, ELISA, Schwein

Serological course investigations of *Haemophilus parasuis* and *Mycoplasma hyorhinis* in three pig farms

The aim of the study was to investigate the infection dynamic of *Haemophilus (H.) parasuis* and *Mycoplasma (M.) hyorhinis* in 3 farms. A total of 61 piglets were clinically investigated at 1., 3., 5., 7., 9., 11., 14., 18. and 22. weeks of life and a blood sample was taken from each piglet as well as from the sows. The serum samples were tested using ELISA for antibodies against *H. parasuis* and *M. hyorhinis*. Clinical signs indicating polyserositis were seen in farm 1 and 3. For both pathogens, a decline of the maternal antibodies could be detected up to the 5th or 7th week of life. The duration of persistence depended on the level of the maternal antibodies. In farm 1, all animals were tested positive for antibodies against *H. parasuis* during the fattening period. In farm 3, several sows were tested positive in the *M. hyorhinis* ELISA, therefore, positive results in sows can indicate a higher infection dynamic during the fattening period. For *H. parasuis* as well as for *M. hyorhinis* a significant correlation between the level of the antibodies in the sows and their piglets could be seen.

Keywords: Glässer's disease, Mycoplasma-polyserositis, ELISA, swine

DOI 10.17236/sat00008

Eingereicht: 16.06.2014
Angenommen: 15.08.2014

Einleitung

Die Glässer'sche Krankheit, ausgelöst durch *Haemophilus (H.) parasuis*, wird weltweit beobachtet und ist als eine der bedeutendsten Infektionserkrankungen in der modernen Schweinehaltung einzuschätzen (Ritzmann und Heinritzi, 2005; Aragon et al., 2012). Sporadisch auftretende systemische Infektionen mit *H. parasuis* be-

treffen primär jüngere gestresste Tiere. Experimentelle Infektionen mit virulenten Stämmen zeigen, dass für den Krankheitsverlauf weniger die Infektionsdosis als vielmehr die individuellen Unterschiede in der Infektionsabwehr sowie unterschiedlich belastende Umweltfaktoren ausschlaggebend sind (Kielstein et al., 1994). Daneben scheinen auch Coinfektionen eine Rolle zu spielen. So wurden in Routineproben von Tieren mit

Serologische Verlaufsuntersuchungen auf *Haemophilus parasuis* und *Mycoplasma hyorhinis* in drei schweinehaltenden Betrieben

A. Palzer et al.

einer makroskopisch sichtbaren Polyserositis signifikant häufiger Doppelinfectionen mit *H. parasuis* und *Mycoplasma (M.) hyorhinis* festgestellt (Palzer et al., 2006). Die Diagnose „Glässer'sche Krankheit“ muss anhand klinischer Symptome in Kombination mit Sektionsbefund und dem Nachweis von *H. parasuis* aus den befallenen Organen erfolgen (Aragon et al., 2012). Gleiches gilt für die Diagnose einer Mycoplasmen-Polyserositis. Die Auswahl klinisch erkrankter Tiere ist wichtig, da dies die Chance den pathogenen Stamm zu detektieren erheblich erhöht (Turni, 2008). Klinisch relevante Erregerisolate können insbesondere aus Pleura, Perikard, Peritoneum, Gelenken und Meningen isoliert werden (Nedbalcova et al., 2006). Ebenfalls sind Sammeltupfer der serösen Häute geeignet. Diese können gleichzeitig auf *M. hyorhinis* untersucht werden (Palzer et al., 2006). Die Isolierung und die Kultivierung von *H. parasuis* ist anspruchsvoll und nicht immer erfolgreich (Ritzmann und Heinritzi, 2005). Da Tiere bisher für eine aussagekräftige Diagnostik immer seziiert werden müssen und eine Probenentnahme nur am toten Tier möglich ist, würde eine aussagekräftige Diagnostik, zum Beispiel anhand von Blutproben am lebenden Tier, die Diagnosestellung erheblich erleichtern. Bisher ermöglichen serologische Testsysteme nur eine Einschätzung des ungefähren Infektionszeitpunkts einer *H. parasuis*-Infektion. Dies ist vor allem für das Auffinden des optimalen Vakzinationszeitpunktes von Bedeutung. Für die Erstellung eines aussagekräftigen Herdenprofils müssen Blutproben sämtlicher Altersgruppen entnommen werden (Ritzmann et al., 2006). Zur Nachweisdauer maternalen Antikörper gibt es für *H. parasuis* unterschiedliche Angaben. Pomorska-Mól et al. (2011) weisen maternale Antikörper bis zu 3 Wochen nach der Geburt nach, in anderen Studien wird ein Absinken der maternalen Antikörperkonzentration für die ersten 6 bis 7 Lebenswochen ermittelt (Müller et al., 2004; Ritzmann et al., 2006). Die humorale Immunität schützt gegen die Glässer'sche Krankheit (de la Fuente et al., 2009), daher ist die Dauer der maternalen Immunität von großer Bedeutung. Die Ferkel *H. parasuis*-geimpfter Sauen weisen eine höhere maternale Antikörperaktivität auf, als Ferkel ungeimpfter Sauen und sind deshalb besser geschützt (Solano-Aguilar et al., 1999; Cerdà-Cuéllar et al., 2010). Bisher gab es keine kommerziell verfügbare Möglichkeit Antikörper gegen *M. hyorhinis* nachzuweisen. Ziel dieser Arbeit ist die Darstellung von *H. parasuis* und *M. hyorhinis* Infektionen im zeitlichen Verlauf in 3 verschiedenen Schweinebeständen.

Tiere, Material und Methoden

Tiere und Betriebe

Für die vorliegende Untersuchung wurden 61 Ferkel und 49 Muttersauen aus insgesamt 3 Betrieben untersucht.

In allen Betrieben wurden in der Vergangenheit immer wieder Fälle einer Polyserositis mittels pathologischer Untersuchungen von erkrankten Tieren nachgewiesen. In jedem Betrieb wurde jeweils eine komplette Kammer mit Sauen ausgewählt. Von jeder Sau wurden mindestens 1 klinisch unauffälliges Ferkel mit mittlerem Körpergewicht ausgewählt. Betrieb 1 bestand aus 500 Muttersauen die im Einwochenrhythmus belegt wurden. Die Ferkel wurden in der 2. Lebenswoche mit einem One-Shot Impfstoff gegen *Mycoplasma (M.) hyopneumoniae* und in der 3. Lebenswoche mit einer One-Shot Vakzine gegen das Porcine Circovirus Typ 2 geimpft. Die Ferkel wurden am 21. Lebenstag abgesetzt und kammerweise Rein-Raus in der Ferkelaufzucht aufgestellt. Im Alter von 11 Wochen wurden die Tiere zum Mäster (1:1-Bezug) transportiert und dort kammerweise Rein-Raus gemischt mit anderen Tieren in Buchten aufgestellt. Der Betriebsablauf in Bezug auf die Umstallung und Impfungen war im Betrieb 2 mit 400 Muttersauen derselbe wie in Betrieb 1. Betrieb 3 mit 160 Muttersauen produzierte im Fünfwochenrhythmus. Die Impfung gegen *M. hyopneumoniae* erfolgte als Two-Shot in der 1. und 3. Lebenswoche. Das Absetzalter der Ferkel betrug 27 Tage. Die Einstallung in die eigene Mast erfolgte in Betrieb 3 mit 9 Wochen. Sowohl in Betrieb 1 als auch in Betrieb 3 erfolgte eine Impfung der Muttersauen gegen PRRSV. Bei Betrieb 2 handelt es sich um einen PRRSV-freien Bestand.

Versuchsanordnung

Die 61 Versuchsferkel (Betrieb 1: 20 Tiere, Betrieb 2: 21 Tiere, Betrieb 3: 20 Tiere) wurden in der 1. Lebenswoche in den Versuch aufgenommen und bis zur 22. Lebenswoche kurz vor der Schlachtung beprobt. In die Auswertung gingen nur Tiere ein, von denen bis zum Schlachtttermin Blutproben entnommen werden konnten. Es wurden maximal 2 Ferkel je Wurf in die Studie aufgenommen. Den Tieren wurde in der 1., 3., 5., 7., 9., 11., 14., 18. und 22. Lebenswoche Blut entnommen. Zusätzlich erfolgte in der 1. Lebenswoche eine Blutentnahme bei den Muttertieren. Alle Tiere wurden zu den Beprobungszeitpunkten klinisch untersucht, insbesondere wurden der Ernährungszustand, der Respirationstrakt und der Bewegungstrakt beurteilt. Das verwendete Scoresystem ist in Tabelle 1 dargestellt. Tiere wurden als klinisch auffällig in Hinblick einer Polyserositis beurteilt, wenn der klinische Score mindestens 3 betrug.

Bestimmung der Antikörperaktivität

Alle Blutproben wurden zentrifugiert und das Serum bei -20°C eingefroren. Die weitere Untersuchung der Blutproben wurden im Labor der IVD (Gesellschaft für Innovative Veterinärdiagnostik) GmbH, Hannover durchgeführt. Zur Bestimmung der *H. parasuis*-Ak wurde ein handelsfertiges ELISA-Kit (Swinecheck® HPS, Fa. Biovet Canada, Saint-Hyacinthe, Quebec) verwen-

Tabelle 1: Scoresystem der klinischen Untersuchung.

Ernährungszustand	gut	0
	mäßig	1
	schlecht	2
Respirationstrakt	unauffällig	0
	Husten	1
	hochgradige Dyspnoe	2
Lahmheit	nicht vorhanden	0
	gering-mittelgradig	1
	hochgradig	2

det. Dieses Testkit weist Ak gegen die virulenten Serotypen 1, 5, 10, 12, 13 und 14 nach. Mit dem Testkit wurden die Positiv- und die Negativkontrolle, das Substrat und die Stopplösung gebrauchsfertig mitgeliefert. Der Test wurde nach Herstellerangaben durchgeführt. Alle Kontrollen und Proben wurden im Doppelansatz untersucht. Die Auswertung der Ergebnisse erfolgte nach folgendem Bewertungsschema: OD-Ratio < 0,6: negativ; OD-Ratio $\geq 0,6$ und < 0,9: fraglich; OD-Ratio $\geq 0,9$: positiv.

Spezifische Antikörper gegen *M. hyorhinis* im Blutserum wurde mittels eines im Labor der IVD GmbH, Hannover etablierten in house-ELISA bestimmt. Die Ergebnisse wurden wie folgt bewertet: ELISA Unit (EU) Werte ≤ 47 : negativ (keinen Hinweis auf eine *M. hyorhinis* bedingte Serositis), EU-Werte 48–70: schwach positiv (sprechen

für eine Infektion mit *M. hyorhinis*), EU-Werte ≥ 71 : stark positiv (Assoziation mit einer *M. hyorhinis* bedingten Serositis sehr wahrscheinlich). Der ELISA wurde anhand von Proben aus dem Feld evaluiert (Strutzberg-Minder et al., 2008). Die Grenzwerte wurden unter Verwendung des Mittelwertes und der 1 fachen bzw. 2 fachen Standardabweichung der Messwerte des negativen Kontrollkollektivs berechnet (Richardson et al. 1983). Die diagnostische Spezifität betrug 87%.

Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte durch das Programm SPSS 15.0 mittels Chi-Quadrat-Test. Das Signifikanz-Niveau betrug 0.05. Die Berechnung der Korrelationen erfolgte durch die Bestimmung des Spearman-Rho Faktors. Das Signifikanzniveau betrug 0.05.

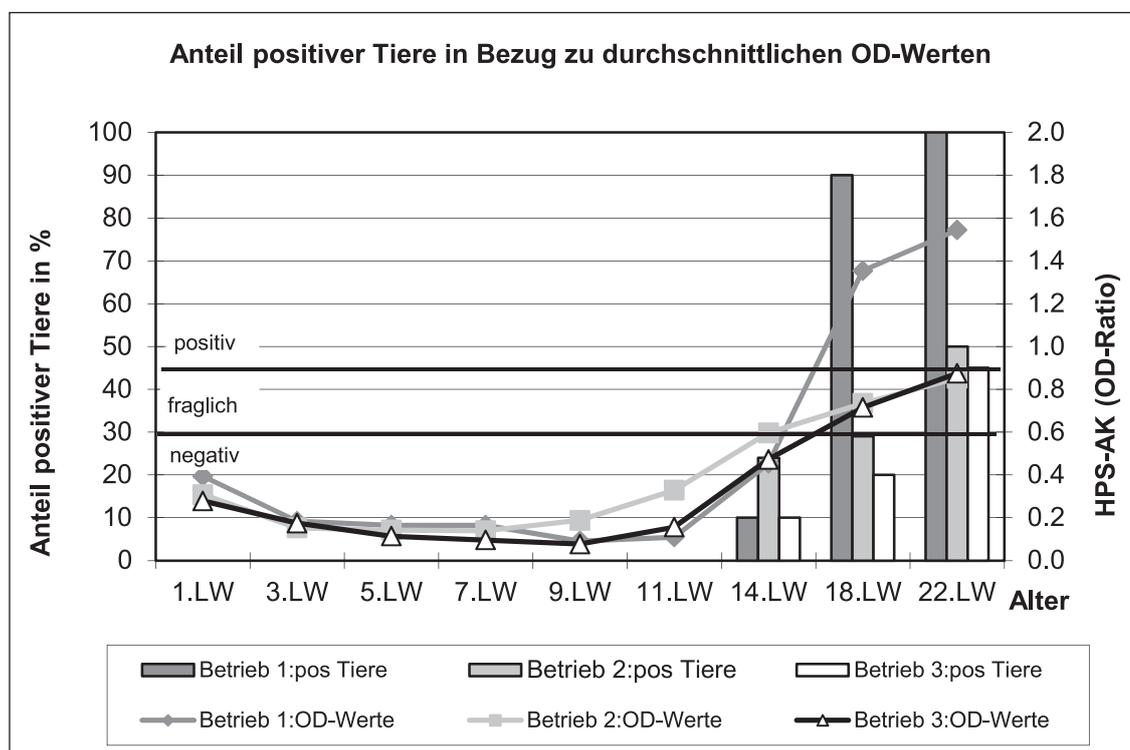
Ergebnisse

Klinischer Verlauf

Im Betrieb 1 trat in der 14. und 18. Lebenswoche bei 4/20 Tieren spontaner Husten auf. In der 22. Lebenswoche konnten keine Tiere mit Atemwegsproblemen festgestellt werden. Bei jeweils einem Tier konnte in der 1., 3. und 9. Lebenswoche eine Lahmheit festgestellt werden, die Tiere waren ansonsten klinisch unauffällig. Ab der 14. Lebenswoche ließ sich bis zur 22. Lebenswoche eine kontinuierliche Zunahme von Tieren mit Lahmheiten feststellen. In der 22. Lebenswoche wiesen

Serologische Verlaufsuntersuchungen auf *Haemophilus parasuis* und *Mycoplasma hyorhinis* in drei schweinehaltenden Betrieben

A. Palzer et al.

**Abbildung 1:** Durchschnittliche ELISA-Ergebnisse (OD-Ratio) und Seroprävalenz für *H. parasuis*.

Serologische Verlaufsuntersuchungen auf *Haemophilus parasuis* und *Mycoplasma hyorhinis* in drei schweinehaltenden Betrieben

A. Palzer et al.

9/20 Tiere eine Lahmheit auf. Drei Tiere im Betrieb wiesen einen Score >3 auf, der nach dem verwendeten Scoresystem für eine Polyserositis hindeutet. Im Betrieb 2 wurden nur wenige klinische Auffälligkeiten beobachtet. Von der 14. bis zur 22. Lebenswoche wurden bei bis zu 3/20 Tieren vermehrt Anzeichen von Husten und Dyspnoe beobachtet. Weiterhin zeigten in der Mast 4 Tiere Lahmheiten die mit einer vermehrten Gelenksfüllung einhergingen. In Betrieb 3 traten bei bis zu 4/20 Tieren in der 9., 14., 18. und 22. Lebenswoche Lahmheiten auf. Ab der 14. Lebenswoche wurden bei 4/20 Tieren vermehrt respiratorische Probleme festgestellt. Insgesamt zeigte ein Tier einen Score größer 3.

Serologie und Seroprävalenz von *H. parasuis*

Der serologische Verlauf für *H. parasuis* war in allen drei Betrieben von der 1. bis zur 7. Lebenswoche ähnlich (Abb. 1). In Betrieb 1 lagen die Ausgangswerte in der 1. Lebenswoche mit durchschnittlich 0.394 (SD 0.189) OD-Ratio am höchsten. Der früheste Anstieg der Antikörper konnte für Betrieb 2 festgestellt werden. Ab der 7. bis zur 9. Lebenswoche erfolgte ein geringgradiger Antikörperanstieg. In Betrieb 1 und 3 nahmen hingegen die Antikörper bis zur 9. Lebenswoche weiter ab. Der stärkste Anstieg wurde für Betrieb 1 festgestellt. Die ersten seropositiven Tiere wurden für alle drei Betriebe in der 14. Lebenswoche ermittelt (Abb. 1). In der 18. Lebenswoche lag die Seroprävalenz in Betrieb 1 bei 18/20, in Betrieb 2 und 3 betrug der Anteil positiver Tiere zu

diesem Zeitpunkt nur 6/21 bzw. 4/20. In diesen Betrieben wurde in der 22. Lebenswoche eine maximale Seroprävalenz von 10/21 bzw. 9/20 erreicht. In Betrieb 1 waren zu diesem Zeitpunkt alle beprobten Tiere seropositiv.

Serologie und Seroprävalenz von *M. hyorhinis*

Mit einem Mittelwert von 24 EU (SD 10) hatten die Ferkel in Betrieb 1 und 2 in der 1. Lebenswoche den gleichen Ausgangswert. In Betrieb 3 lag mit 60 EU (SD 47) deutlich höher. Während in Betrieb 1 zu diesem Zeitpunkt kein seropositives Tier auftrat, lag die Prävalenz in Betrieb 2 bei 1/21 und in Betrieb 3 bei 8/20 seropositiven Tieren. In allen drei Betrieben sanken die Antikörper in der 3. Lebenswoche deutlich ab, und die Seroprävalenz lag in allen Betrieben bei 0% (Abb. 2). Stark positive Proben konnten in Betrieb 1 bei einem Tier in der 22. Lebenswoche festgestellt werden. In Betrieb 2 waren in der 11. Lebenswoche 1/21, in der 14. Lebenswoche 2/21 der Tiere stark positiv. In der 18. Lebenswoche konnte in Betrieb 2 kein seropositives Tier detektiert werden, in der 22. Lebenswoche wurde dagegen eine Seroprävalenz von 3/21 erreicht. Für die 11. Lebenswoche konnte in Betrieb 3 kein stark positives Tier ermittelt werden. In der 14. Lebenswoche wurde eine Seroprävalenz von 7/20 festgestellt. Diese nahm in der 18. Lebenswoche auf 5/20 ab und erreichte danach in der 22. Lebenswoche eine Seroprävalenz von 9/20.

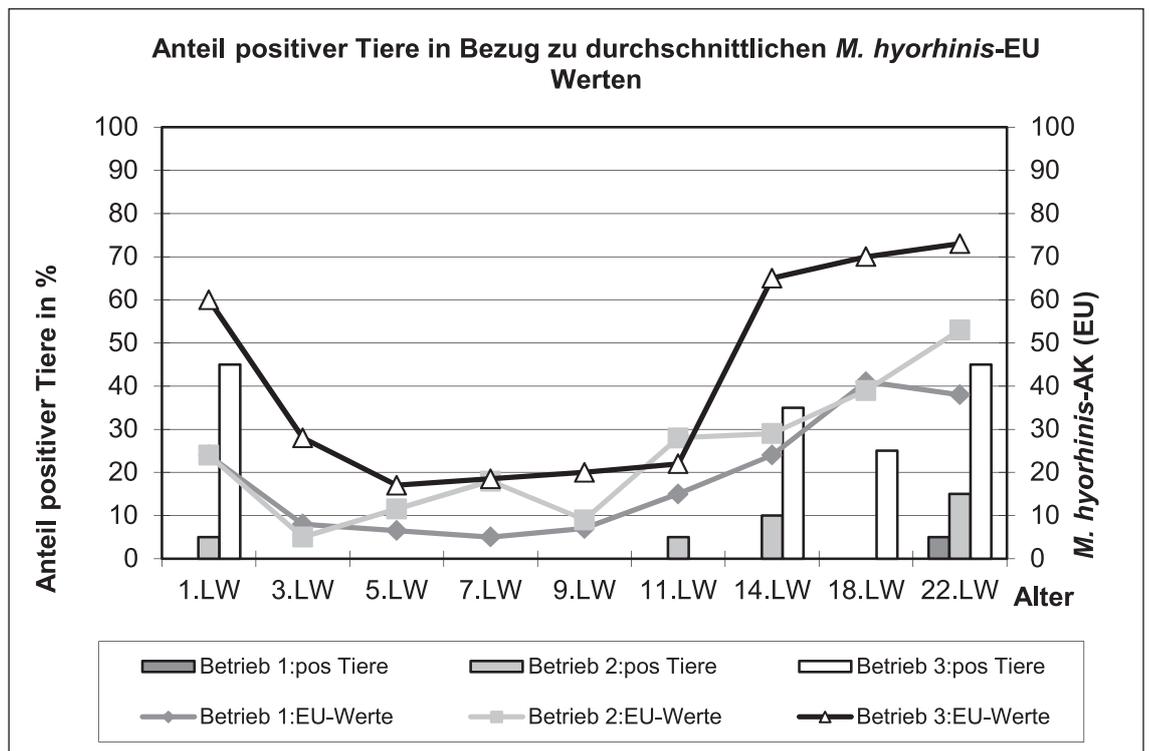


Abbildung 2: Durchschnittliche ELISA-Ergebnisse (ELISA Units) und Seroprävalenz für *M. hyorhinis*.

Tabelle 2: Vergleich des mittleren Antikörpergehaltes ($m \pm SD$) der Muttersauen und Ferkel in der ersten Lebenswoche.

	Betrieb 1		Betrieb 2		Betrieb 3	
	Sauen (n=17)	Ferkel (n=20)	Sauen (n=20)	Ferkel (n=21)	Sauen (n=12)	Ferkel (n=20)
<i>H. parasuis</i> (OD-Ratio)	0.370 (SD 0.109)	0.394 (SD 0.189)	0.317 (SD 0.085)	0.308 (SD 0.108)	0.276 (SD 0.104)	0.278 (SD 0.115)
<i>M. hyorhinis</i> (ELISA Units)	30 (SD 9)	24 (SD 10)	49 (SD 33)	24 (SD 32)	63 (SD 33)	60 (SD 47)

Serologische Verlaufsuntersuchungen auf *Haemophilus parasuis* und *Mycoplasma hyorhinis* in drei schweinehaltenden Betrieben

A. Palzer et al.

Vergleich der beiden ELISA Ergebnisse

In jedem der Mastbetriebe konnten Tiere beobachtet werden, die sowohl positive Antikörperwerte gegen *H. parasuis* als auch gegen *M. hyorhinis* aufwiesen, auch wenn im Betrieb 1 nur ein Tier positiv war. Im Betrieb 1 war ein Tier, im Betrieb 2 drei Tiere und im Betrieb 3 sechs Tiere in beiden Testsystemen positiv. Es konnte allerdings sowohl für *M. hyorhinis* als auch für *H. parasuis* kein Zusammenhang zwischen dem klinischen Befund und positivem Antikörpernachweis festgestellt werden ($p > 0.05$).

Vergleich der ELISA Ergebnisse der Sauen mit dem der Ferkel in der 1. LW

Die Ergebnisse der Untersuchung der Sauenblutproben und der Saugferkelproben ist in Tabelle 2 dargestellt. Sowohl die Antikörper gegen *H. parasuis* als auch gegen *M. hyorhinis* zwischen Muttersauen und Ferkeln korrelierte ($p < 0.05$). Für *H. parasuis* wurde ein mittlerer Zusammenhang ($\rho = 0.466$) und für *M. hyorhinis* ($\rho = 0.288$) ein niedriger Zusammenhang festgestellt. Beim Vergleich der Höhe der Antikörperwerte fiel auf, dass Sauen und Ferkel wiesen im Fall von *H. parasuis* annähernd gleich hohen Wert auf. Bei *M. hyorhinis* lagen dagegen die Werte der Ferkel in allen 3 Betrieben niedriger als die Werte der entsprechenden Muttersauen.

Diskussion

In allen 3 Betrieben wurde von der 1. bis zur 7. bzw. 9. Lebenswoche ein Absinken der Antikörperwerte gegen *H. parasuis* beobachtet, so dass davon ausgegangen werden kann, dass die Ausgangswerte in der 1. Lebenswoche maternalen Ursprungs waren. Blanco et al. (2004) wiesen mit Hilfe eines HPS-ELISA (Biovet), der auch in der vorliegenden Arbeit verwendet wurde, bei 3 Wochen alten, mit Kolostrum aufgezogenen Ferkeln, Antikörperwerte von knapp über 0.1 nach. Die Autoren nehmen an, dass die Werte zu diesem Zeitpunkt hoch genug sind, um die Ferkel vor einer Infektion zu schützen. In der vorliegenden Arbeit waren die Ferkel mit Antikörperwerten um 0.1 bis zur 7. Lebenswoche ebenfalls vor einer Infektion geschützt. In Betrieb 2 konnte ab der 7. Lebenswoche ein sehr flacher, von der 9. bis zur 11. Lebenswoche ein deutlicher Antikörperanstieg festgestellt

werden. Da Antikörper gegen *H. parasuis* 1 bis 2 Wochen nach der Infektion mit dem Erreger auftreten (de la Fuente et al., 2009) deutet dies darauf hin, dass in Betrieb 2 eine Infektion mit *H. parasuis* zwischen der 7. und 9. Lebenswoche zum Zeitpunkt der Sortierung der Ferkel stattfand. Aragon et al., (2012) beschrieben ebenfalls bei Absetzferkeln und Läufer Schweinen häufig Infektionen nach Belastungssituationen in Verbindung mit einem hohen Infektionsdruck. In Betrieb 3 lag der Infektionszeitpunkt um die 9. Lebenswoche, dies war gleichzeitig der Zeitpunkt an dem die Tiere durch Umstellung in die Mast vermehrtem Stress ausgesetzt waren, gleiches gilt für Betrieb 1 in der 11. Lebenswoche. Einige Tiere serokonvertierten bereits zwischen der 11. bis zur 14. Lebenswoche. Dies deutet darauf hin, dass sich diese Tiere kurz nach der Einstallung mit dem Erreger auseinandergesetzt hatten. So wiesen andere Studien zu diesem Zeitpunkt in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit vermehrt *H. parasuis* nach, was ebenfalls auf eine gehäufte Exposition zu diesem Zeitpunkt hindeutet (Palzer et al., 2005). Im Gegensatz dazu stiegen die Antikörper in Betrieb 1 ab Mitte der Mast an. Die Seroprävalenz lag in der 18. Lebenswoche bei 90% und damit deutlich höher als in den beiden anderen Betrieben. Der deutliche Antikörperanstieg zusammen mit den klinisch vermehrt auftretenden Lahmheiten deutet darauf, dass in Betrieb 1 eine klinisch relevante *H. parasuis*-Infektion im Sinne der Glässer'schen Krankheit stattgefunden hat.

Bisher gibt es in der Literatur keine Angaben über Seroprävalenz und serologischen Verlauf von *M. hyorhinis*. Ursache dafür könnte sein, dass bisher *M. hyorhinis* in den seltensten Fällen als alleiniges Pathogen und in den meisten Fällen als ein Kofaktor für respiratorische Probleme angesehen wurde (Kawashima et al., 1996). Verschiedene Arbeiten zeigten, dass *M. hyorhinis* häufig auch ein alleiniger Verursacher einer Polyserositis war (Palzer et al., 2006). Der in den ersten Lebenswochen beobachtete Antikörperabfall in allen 3 Betrieben legt nahe, dass es sich in diesem Zeitraum um den Nachweis maternaler Antikörper gehandelt hat. Im Betrieb 3 wurden gleichzeitig verschiedene Sauen positiv getestet. Dies deutet auf einem erhöhten Infektionsdruck hin. In der vorliegenden Arbeit lagen demnach die Infektionszeitpunkte in Betrieb 1 und 2 Ende des Flatdecks. In Betrieb 1 hat eine Infektion mit *M. hyorhinis* nach den

Serologische Verlaufsuntersuchungen auf *Haemophilus parasuis* und *Mycoplasma hyorhinis* in drei schweinehaltenden Betrieben

A. Palzer et al.

vorliegenden Ergebnissen keine klinische Relevanz. In Betrieb 3 erfolgte die Umstellung in die Mast schon in der 9. Lebenswoche, ein Zeitpunkt an dem die Tiere wieder erhöhtem Stress ausgesetzt waren und höhere EU-Werte als in Betrieb 1 und 2 aufwiesen. Auf ein akutes Infektionsgeschehen deutet der deutliche Anstieg der Antikörper als auch der Seroprävalenz von der 11. bis zur 14. Lebenswoche hin. Im Fall von *M. hyopneumoniae* können Antikörper bis zu 52 Wochen post infectionem persistieren (Bereiter et al., 1990). Wenn man von einer ähnlich langen Persistenz der *M. hyorhinis*-Antikörper nach Infektion ausgeht, würden die hohen Antikörperwerte der Muttersauen von deren Infektion während der Aufzucht herrühren. Allerdings wiesen einzelne Tiere sowohl in Betrieb 2 als auch in Betrieb 3 nur zu einem Zeitpunkt hohe EU-Werte auf, dieselben Tiere wurden vier Wochen später wieder negativ im Sinne des verwendeten Testsystems gewertet. Dies spricht gegen eine lange Persistenz der gegen *M. hyorhinis* gerichteten Antikörper.

In allen Betrieben erfolgte die Infektion mit *M. hyorhinis* und die mit *H. parasuis* im gleichen Zeitfenster. Da *H. parasuis* und *M. hyorhinis* den Respirationstrakt besiedeln, ist eine ähnliche Reaktion der beiden Erreger auf äußere Reize bzw. das Ausnutzen einer Veränderung im Respirationstrakt möglich. Als weitere Erklärung ist eine Interaktion zwischen den beiden Erregern in Be-

tracht zu ziehen, das in verschiedenen Studien (Kobayashi et al., 1996; Palzer et al., 2006) *H. parasuis* zusammen mit *M. hyorhinis* nachgewiesen wurde. Eine Arbeitsgruppe (Strutzberg-Minder et al., 2008) wies mit Hilfe der PCR bei 15% und mittels ELISA bei 7% der Tiere mit einer Serositis sowohl *H. parasuis* als auch *M. hyorhinis* nach. Bei der Betrachtung der klinischen Verläufe muss der PRRS Status der Betriebe berücksichtigt werden. Da Betrieb 2 PRRSV unverdächtig war und PRRSV ein bedeutender Kofaktor für *H. parasuis* darstellt (Palzer et al., 2014), kann dies die unterschiedlichen klinischen Verläufe erklären. In der vorliegenden Arbeit wurde kein Zusammenhang zwischen dem Feststellen einer klinischen Auffälligkeit und dem serologischen Befund festgestellt.

Da sehr viele Tiere Antikörper gegen *H. parasuis* aufwiesen, jedoch größtenteils klinisch völlig unauffällig waren, muss die Aussagekraft des verwendeten ELISA in Hinblick auf die Detektion klinisch relevanter Infektionen in Zweifel gezogen werden. Er eignet sich jedoch sehr gut zur Ermittlung der Infektionsdynamik im Betrieb. In Bezug auf den Nachweis von Antikörpern gegen *M. hyorhinis* konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen klinischem Befund und Ergebnis der serologischen Untersuchung festgestellt werden. Aber auch dieser Test eignet sich gut zur Ermittlung der Infektionsdynamik.

Suivi sérologique de trois exploitations détenant des porcs quant à *Haemophilus parasuis* et *Mycoplasma hyorhinis*

Le but de ce travail était d'étudier la dynamique d'infection par *Haemophilus* (*H.*) *parasuis* et *Mycoplasma* (*M.*) *hyorhinis* dans 3 exploitations. Au total, 61 porcelets ont été examinés cliniquement et soumis à une prise de sang dans leur 1^{ère}, 3^{ème}, 5^{ème}, 7^{ème}, 9^{ème}, 11^{ème}, 14^{ème}, 18^{ème} et 22^{ème} semaine de vie. Les truies ont également été testées et tous les échantillons sanguins ont été analysés par ELISA quant à des anticorps contre *H. parasuis* et *M. hyorhinis*. Sur le plan clinique, on constatait dans les exploitations 1 et 3 des signes de polysérosite qui étaient corrélés avec une chute des anticorps maternels contre les deux agents jusqu'à la 5^{ème} respectivement la 7^{ème} semaine. La durée de persistance dépendait de la hauteur des anticorps maternels. Dans l'exploitation 1, tous les animaux d'engraissement ont été testés positifs quant à la présence d'anticorps contre *H. parasuis*. Dans l'exploitation 3, plusieurs truies étaient positives au test ELISA face à *M. hyorhinis*, alors que dans l'engraissement plusieurs animaux étaient également positifs, ce qui permet

Follow-up sierologici per l'*Haemophilus parasuis* e il *Mycoplasma hyorhinis* in tre aziende di allevamento di suini

Lo scopo dello studio era di identificare la dinamica infettiva dell'*Haemophilus* (*H.*) *parasuis* e del *Mycoplasma* (*M.*) *hyorhinis* in 3 aziende. Un totale di 61 suinetti nella 1^ª, 3^ª, 5^ª, 7^ª, 9^ª, 11^ª, 14^ª, 18^ª e 22^ª settimana di vita sono stati esaminati clinicamente e hanno subito un prelievo di sangue. Le scrofe sono state anch'esse esaminate e tutti i campioni di sangue sono stati testati con ELISA agli anticorpi per l'*Haemophilus* (*H.*) *parasuis* e *Mycoplasma* (*M.*) *hyorhinis*. Clinicamente sono stati rilevati in animali delle aziende 1 e 3 segni di polisierosite, accompagnati da una diminuzione di anticorpi materni contro entrambi gli agenti patogeni fino alla 5^ª risp. 7^ª settimana di vita. La durata della persistenza era dipendente dal livello di attività degli anticorpi materni. Nell'azienda 1, tutti gli animali sono stati testati durante l'ingrasso come positivi agli anticorpi *H. parasuis*. Nell'azienda 3 diverse scrofe sono risultate positive al test ELISA per il *M. hyorhinis* e durante l'ingrasso più animali erano risultati anch'essi positivi. Da questi ri-

éventuellement de penser que les cas positifs chez les truies sont la conséquence d'une dynamique d'infection augmentée dans l'engraissement. On a pu constater aussi bien pour *H. parasuis* que pour *M. hyorhinis* une corrélation significative entre l'activité des anticorps chez les truies et chez les porcelets.

sultati positivi nelle scrofe si può eventualmente dedurre una maggiore dinamica infettiva durante l'ingrasso. Una correlazione significativa tra l'attività degli anticorpi delle scrofe e dei suinetti è stata determinata per il *H. parasuis* e il *M. hyorhinis*.

Serologische Verlaufsuntersuchungen auf *Haemophilus parasuis* und *Mycoplasma hyorhinis* in drei schweinehaltenden Betrieben

A. Palzer et al.

Literatur

- Aragon V., Segalés J., Oliveira S.: Glässer's Disease. In: Disease of Swine 10th edn. Hrsg. J.J. Zimmerman, L.A. Karriker, A. Ramirez, K.J. Schwartz, G.W. Stevenson, Wiley-Blackwell, Chichester UK, 2012, 760–778.
- Bereiter M., Young T., Joo H. S., Ross R. F.: Evaluation of the ELISA, and comparison to the complement fixation test and radial immunodiffusion enzyme assay for detection of antibodies against *M. hyopneumoniae* in swine. *Vet. Microbiol.* 1990, 25: 177–192.
- Blanco I., Galina-Pantoja L., Oliveira S., Pijoan C., Sánchez C., Canals A.: Comparison between *Haemophilus parasuis* infection in colostrum-deprived and sow reared piglets. *Vet. Microbiol.* 2004, 103: 21–27.
- Cerdà-Cuellar M., Naranjo J. F., Verge A., Nofrarias M., Cortey M., Olvera A., Segalés J., Aragon V.: Sow vaccination modulates the colonization of piglets by *Haemophilus parasuis*. *Vet. Microbiol.* 2010, 145: 315–320.
- De la Fuente A. J., Rodríguez-Ferri E. F., Frandoloso R., Martínez S., Tejerina F., Gutiérrez-Martin C. B.: Systemic antibody response in colostrum-deprived pigs experimentally infected with *Haemophilus parasuis*. *Res. Vet. Sci.* 2009, 86: 248–253.
- Kawashima K., Yamada S., Kobayashi H., Marita M.: Detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and *Mycoplasma hyorhinis* antigens in pulmonary lesions of pigs suffering from respiratory distress. *J. Comp. Pathol.* 1996, 114: 315–323.
- Kielstein P., Raßbach A., Pöhle D., Johannsen U., Wiegand M., Schäfer M.: Zur Pathogenese der *Haemophilus parasuis*-Infektion des Schweines (Glässer'sche Krankheit). *Mh. Vet. Med.* 1994, 49: 71–75.
- Kobayashi H., Morozumi T., Miyamoto C., Shimizu M., Yamada S., Ohashi S., Kubo M., Kimura K., Mitani K., Ito N., Yamamoto K.: *Mycoplasma hyorhinis* infection levels in lungs of piglets with porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS). *Vet. Med. Sci.* 1996, 58: 109–113.
- Müller C., Doherr M., Egli C., Sicher D., Mourits B., Zimmermann W.: *Haemophilus parasuis* infection: vaccination and serological follow-up. Proc. 18th IPVS Congress, Hamburg, Deutschland, 2004: 817.
- Nedbalcova K., Satran P., Jaglic Z., Ondriasova R., Kucerova Z.: *Haemophilus parasuis* and Glässer's disease in pigs: a review. *Vet. Med.* 2006, 51: 168–179.
- Palzer A., Ritzmann M., Wolf G., Heinritzi K.: Erregernachweis aus bronchoalveolärer Lavage bei Schweinen mit Atemwegserkrankungen. *Tierärztl. Umschau* 2005, 60: 550–556.
- Palzer A., Ritzmann M., Hafner-Marx A., Wolf G., Heinritzi K.: Nachweis von *Haemophilus parasuis* und *Mycoplasma hyorhinis* bei Schweinen sowie Assoziation dieser Erreger mit klinischen und pathologisch-anatomischen Befunden. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 2006, 113: 227–230.
- Palzer A., Haedke K., Heinritzi K., Zoels S., Ladinig A., Ritzmann M.: Associations among *Haemophilus parasuis*-, *Mycoplasma hyorhinis*- and Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus infections in pigs with polyserositis. *Can. Vet. J.* 2014, accepted.
- Pomorska-Mól M., Markowska-Daniel I., Rachubik J., Pejsak Z.: Effect of maternal antibodies and pig age on the antibody response after vaccination against Glässer's disease. *Vet. Res. Commun.* 2011, 35: 337–343.
- Richardson M. D., Turner A., Warnock D. W., Llewellyn P. A.: Computer Assisted Rapid Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) in the Serological Diagnosis of Aspergillosis. *J. Immunol. Methods* 1983, 56: 201–207.
- Ritzmann M. und Heinritzi K.: Klinisches Bild, Diagnostik und Differenzialdiagnostik der Glässer'schen Krankheit. *Tierärztl. Prax.* 2005, 33: 61–64.
- Ritzmann M., Palzer A., Strutzberg-Minder K., Tschentscher A., Heinritzi K.: Serological results against *Haemophilus parasuis* in naturally infected and vaccinated pigs. Proc. 19th IPVS Congress, Kopenhagen, Denmark, 2006 Vol. 2: 251.
- Solano-Aguilar G. I., Pijoan C., Rapp-Gabrielson V., Collins J., Carvalho L. F., Winkelmann N.: Protective role of maternal antibodies against *Haemophilus parasuis* infection. *Am. J. Vet. Res.* 1999, 60: 81–87.
- Strutzberg-Minder K., Palzer A., Ritzmann M., Heinritzi K.: Direct and indirect detection of *Haemophilus parasuis* and *Mycoplasma hyorhinis* and association with serositis in swine. Proc. 20th IPVS Congress, Durban, Südafrika, 2008, Vol. 1: 115.
- Turni, C.: *Haemophilus parasuis* profiling on Australian farms on live pigs. Proc. 20th IPVS Congress, Durban, South Africa, 2008, Vol. 1: 139.

Korrespondenz

Andreas Palzer
Klinik für Schweine der LMU München
Sonnenstrasse 16
85764 Oberschleissheim
Deutschland
E-Mail: a.palzer@lmu.de