

Entwicklung eines diagnostischen Konzepts zum Nachweis von *Haemophilus parasuis* – Infektionen bei Schweinen in der Schweiz

M. Holbach¹, S. Gobeli², J. Frey², C. Gurtner³, H. Nathues¹

¹Schweineklinik, ²Institut für Veterinär bakteriologie und ³Institut für Tierpathologie, Vetsuisse-Fakultät, Universität Bern, Schweiz

Einleitung

Haemophilus (H.) parasuis ist ein gramnegatives Bakterium und Kommensale der oberen Atemwege von Schweinen, aus welchen er auch bei gesunden Tieren isoliert werden kann (Kielstein et al., 1994). Unter dem Einfluss verschiedener Stressoren kann *H. parasuis* zur Ausbildung des Krankheitsbildes der Glässer'schen Krankheit führen, welche durch eine fibrinöse Polyserositis, Polyarthrit und Meningitis gekennzeichnet ist (Kielstein et al., 1994). Im chronischen Stadium führt die Erkrankung zu Kümern und einem verringerten täglichen Zuwachs (Turni und Blackall, 2007). Auch in der Schweiz ist die Glässer'sche Krankheit eine in der Praxis häufig gestellte Diagnose. Der kulturelle Nachweis von *H. parasuis* erweist sich jedoch wegen der hohen Ansprüche des Erregers an seine Umgebung oftmals schwierig (Angen et al., 2007) und Behandlungen werden häufig aufgrund einer klinischen Verdachtsdiagnose durchgeführt. Ziel dieser Studie war es daher, die *H. parasuis*-Diagnostik in der Schweiz zu optimieren und an die topographischen Besonderheiten des Landes anzupassen.

Tiere, Material und Methoden

Diese Studie umfasst 20 Bestände, bei welchen der Verdacht auf eine *H. parasuis*-Infektion vorlag. Nach einer eingehenden Bestandsuntersuchung wurden 1 bis 3 erkrankte Schweine, die das Krankheitsgeschehen im Bestand widerspiegeln, für weitere Abklärungen selektiert. An der Schweineklinik der Universität Bern wurden die Tiere sorgfältig klinisch und nach anschließender Euthanasie im Institut für Tierpathologie der Universität Bern pathologisch untersucht. Veränderungen wurden dokumentiert und nach einem Befundschlüssel in 4 Ausprägungsgraden unterteilt. Des Weiteren wurden Proben entnommen, welche für jedes Tier

ein Sammeltupfer der serösen Häute und einen der Gelenkknorpelflächen (jeweils ein Gelenk der Vorder- und eines der Hintergliedmassen), sowie Tupfer der Leptomeningen und Synovialflüssigkeit umfassten. Diese Proben wurden ohne nennenswerte zeitliche Verzögerungen im Institut für Veterinär bakteriologie der Universität Bern kulturell verarbeitet (Turni und Blackall, 2007) und im Fall von Wachstum *H. parasuis*-typischer Kolonien mittels konventioneller biochemischer Methoden und MALDI-TOF-Massenspektrometrie identifiziert.

Die PCR wurde nach dem Protokoll von Turni et al., 2010 durchgeführt. Konnte *H. parasuis* kulturell isoliert werden oder wurde während der Sektion die Verdachtsdiagnose einer *H. parasuis*-Infektion gefestigt, wurde in dem jeweiligen Bestand eine Hofsektion an einem akut und typisch erkrankten, unbehandelten Tier direkt im Anschluss an die Euthanasie durchgeführt. Die dabei standardisiert entnommenen Proben umfassten einen Sammeltupfer der serösen Häute und einen der Gelenkknorpel, sowie Synovia und Flüssigkeit eines Perikardergusses – sofern vorhanden. Mit diesen Proben wurde ein Übernachtversand simuliert, bevor sie nach 15 bis 27 Stunden wie oben beschrieben bakteriologisch untersucht wurden.

Ergebnisse und Diskussion

In 13 der 20 in die Studie inkludierten Bestände (= 65%) konnte *H. parasuis* nachgewiesen werden. In 7 Beständen waren andere Erreger, wie beispielsweise *Mycoplasma hyorhinis*, ursächlich für das ursprünglich mit *H. parasuis* assoziierte Krankheitsgeschehen verantwortlich.

Auf klinischer Ebene wiesen *H. parasuis* positiv- und negativ-getestete Tiere ähnliche, unspezifische Symptome auf. Diese Symptome umfassten unter anderem ein

<https://doi.org/10.17236/sat00131>

Eingereicht: 22.10.2016
Angenommen: 30.05.2017

Entwicklung eines diagnostischen Konzepts zum Nachweis von *Haemophilus parasuis* – Infektionen bei Schweinen in der Schweiz

M. Holbach et al.

reduziertes Allgemeinbefinden, eine unphysiologische Körperhaltung, eine erhöhte innere Körpertemperatur und/oder Konjunktivitiden.

Auch in der Pathologie wiesen die Tiere ähnliche Befunde auf, unabhängig davon, ob bei ihnen später *H. parasuis* nachgewiesen werden konnte. Häufige Befunde waren dabei vor allem Verklebungen beziehungsweise Verwachsungen der serösen Häute sowie vermehrt gefüllte Gelenke in unterschiedlichen Ausprägungsgraden. Im Rahmen der kulturellen Untersuchungen wurden 153 Proben von 39 Tieren untersucht. Dabei waren 20 Tiere aus 13 Beständen und insgesamt 30 Proben positiv für *H. parasuis*. Wie aus Tabelle 1 ersichtlich, handelte es sich dabei allein bei 20 Proben (= 67%) um Tupfer der Leptomeningen und bei je 3 weiteren (= je 10%) um Serosatupfer beziehungsweise um Synovialflüssigkeit. Die übrigen 4 positiven Proben (= 13%) waren Tupfer der Gelenkoberflächen. Siebzig Prozent der positiv getesteten Tiere wiesen lediglich an einer Lokalisation den Erreger auf. Im Durchschnitt wurden die Proben 61 Minuten nach dem Tod des Tieres entnommen und durchschnittlich nach weiteren 34 Minuten verarbeitet. Die Verarbeitung der Proben für die PCR fand zu einem späteren Zeitpunkt statt und führte nur zu negativen Ergebnissen. In den im Rahmen der Hofsektion entnommenen Proben konnte weder mittels Kultur noch mittels PCR *H. parasuis* nachgewiesen werden.

In 13 der 20 Bestände konnte *H. parasuis* nachgewiesen werden und in 7 Beständen waren andere Erreger ursächlich am Krankheitsgeschehen beteiligt. Behandlungen aufgrund einer Verdachtsdiagnose sind somit nicht zielführend und bedürfen einer gesicherten Diagnose, für die neben den klinischen Symptomen und pathologischen Veränderungen ein Erregernachweis notwendig ist. Die klinischen und pathologischen Symptome waren in *H. parasuis*-positiven und -negativen Beständen nahezu identisch. Gleiches gilt für positiv beziehungsweise negativ getestete Einzeltiere.

Unter Berücksichtigung aller Resultate scheint der bestmögliche Weg einer erfolgreichen *H. parasuis*-Diagnostik in der Schweiz darin zu bestehen, mindestens 2 akut

und typisch erkrankte, nicht mittels Antibiotika vorbehandelte Tiere, lebend in die nächstgelegene diagnostische Einrichtung zu bringen, wo in direktem Anschluss an die Euthanasie der Tiere die Entnahme und Weiterverarbeitung der Proben gewährleistet wird. Neben bestandsspezifischen Symptomen, wie beispielsweise vermehrt gefüllten Gelenken, sollten die Tiere eine erhöhte innere Körpertemperatur aufweisen, um sicherzugehen, dass die Erkrankung als akut einzustufen ist (Olvera et al., 2007).

Die entnommenen Proben sollten vor allem auch Tupfer der Leptomeningen einschliessen, da in vorliegender Studie *H. parasuis* vor allem aus diesen nachgewiesen werden konnte. Dies ist zwar nicht mit der gängigen Meinung in der Literatur in Einklang zu bringen, nach welcher aufgrund des ausgeprägten Organotropismus von *H. parasuis* für seröse Häute (Kielstein et al., 1994) ein Sammeltupfer dieser Häute als Mittel der Wahl für eine Diagnostik (Palzer et al., 2006) gilt. Unsere abweichende Haltung könnte aber damit erklärt werden, dass das in der Schweiz dominante, virulente Serovar 5 zwar das gleiche ist, wie in vorangegangenen Studien nachgewiesen, sich aber in den vorkommenden Stämmen wesentlich unterscheidet. Da selbst innerhalb eines Bestandes verschiedene Stämme eines Serovars nachgewiesen werden können (Ritzmann und Heinritzi, 2005), ist es möglich, dass ein oder mehrere in der Schweiz auftretende Stämme einen stärkeren Tropismus zu den Leptomeningen und weniger zu den serösen Häuten aufweisen. Ebenfalls ist zu bemerken, dass trotz der hohen Nachweisrate von *H. parasuis* in den Proben der Leptomeningen, die Tiere klinisch nur selten und wenn, dann nur geringgradig ausgeprägte zentralnervöse Störungen zeigten und auch in der Pathologie oft weder makroskopisch noch histologisch eitrige Meningitiden erkennen liessen.

In der vorgestellten Studie erwies sich der Erregernachweis mittels Kultur wesentlich empfindlicher als der Nachweis mittels real-time PCR. Dies entspricht nicht den in anderen Studien getroffenen Aussagen, dass die real-time PCR eine höhere Sensitivität besitzt als Kultur oder PCR (Turni et al., 2010). Der wahrscheinlichste Grund für die geringe Sensitivität der PCR könnte darin liegen, dass das in der PCR untersuchte Endvolumen an CFUs um ein Vielfaches kleiner ist, als das in der Kultur untersuchte.

Tabelle 1: Verteilung der auf *H. parasuis* positiv getesteten Proben (n = 30) auf vier beprobte Lokalisationen.

Lokalisation	Relative Verteilung der positiven Proben
Serosa	10%
Synovia	10%
Gelenkknorpel	13%
Leptomeningen	67%

Dank

Der Dank geht an alle an diesem Projekt beteiligten Institutionen, ebenso wie an MSD Animal Health, Schweiz für die finanzielle Unterstützung und an die teilnehmenden Landwirte für ihr Engagement.

Literatur

- Angen Ø., Oliveira S., Ahrens P., Svensmark B., Leser T. D.: Development of an improved species specific PCR test for detection of *Haemophilus parasuis*. *Vet. Microbiol.* 2007, 119: 266–276.
- Kielstein P., Rassbach A., Pöhle D., Johannsen U., Wiegand M., Schäfer M.: Zur Pathogenese der *Haemophilus-parasuis*-Infektion des Schweines (Glässersche Krankheit). *Monatsh. Veterinarmed.* 1994, 49: 71–75.
- Olvera A., Segalés J., Aragón V.: Update on the diagnosis of *Haemophilus parasuis* infection in pigs and novel genotyping methods. *Vet. J.* 2007, 174: 522–529.
- Palzer A., Ritzmann M., Hafner-Marx A., Wolf G., Heinrizi K.: Nachweis von *Haemophilus parasuis* und *Mycoplasma hyorhinis* bei Schweinen sowie Assoziation dieser Erreger mit klinischen und pathologisch-anatomischen Befunden. *Deut. Tierärztl. Woch.* 2006, 113: 227–230.
- Ritzmann M., Heinrizi K.: Klinisches Bild, Diagnostik und Differenzial- diagnostik der Glässer'schen Krankheit. *Tierärztl. Prax.* 2005, 33: 61–64.
- Turni C., Blackall P.J.: Comparison of sampling sites and detection methods for *Haemophilus parasuis*. *Aust. Vet. J.* 2007, 85: 177–84.
- Turni C., Pyke M., Blackall P. J.: Validation of a real-time PCR for *Haemophilus parasuis*. *J. Appl. Microbiol.* 2010, 108: 1323–1331

Entwicklung eines diagnostischen Konzepts zum Nachweis von *Haemophilus parasuis* – Infektionen bei Schweinen in der Schweiz

M. Holbach et al.

Korrespondenz

Prof. Dr. Heiko Nathues
Schweineklinik
Vetsuiss-Fakultät Bern
Bremgartenstrasse 109a
3012 Bern
E-Mail: heiko.nathues@vetsuisse.unibe.ch