

Zur Seroprävalenz von *Actinobacillus pleuropneumoniae* in schweizerischen Schweinezuchtbetrieben – eine Studie mit dem ApxIV ELISA

I. Nussbaumer¹, R. Miserez², D. Hüsey², M. G. Doherr³, J. Frey², W. Zimmermann¹

¹Schweineklinik, ²Institut für Veterinärbakteriologie und ³Abteilung für klinische Forschung der Universität Bern

Zusammenfassung

Nach Abschluss der Flächensanierung von Enzootischer Pneumonie (EP) und porciner Actinobacillose (APP) in der Schweiz (2003) kann davon ausgegangen werden, dass der *Actinobacillus pleuropneumoniae* Serotyp 2 weitgehend getilgt ist. Über die Verbreitung der anderen Serotypen und damit über die Verbreitung von *A. pleuropneumoniae* in der Schweiz insgesamt sind keine aktuellen Zahlen bekannt. Mit dem ApxIV ELISA steht uns ein serologischer Test zur Verfügung, der Antikörper gegen alle Serotypen entdeckt und Kreuzreaktionen mit anderen Bakterienspezies ausschliesst. In dieser Studie ging es darum, die Verbreitung von *A. pleuropneumoniae* in Zuchtbetrieben festzustellen, den APP-Status in Herdebuchbetrieben zu erheben und Kenntnisse über die Eignung des ApxIV ELISA zur Diagnostik latent infizierter Betriebe zu gewinnen. Dazu wurden insgesamt 2068 Proben aus 96 Betrieben untersucht. Bei der Untersuchung verschiedener Alterskategorien von zwei nachweislich mit *A. pleuropneumoniae* infizierten Betrieben wurde festgestellt, dass Saugferkel und Mutterschweine hohe positive Werte aufwiesen, während Tiere im Alter von 3 Wochen bis zum ersten Abferkeln überwiegend negative Resultate zeigten. Von den untersuchten Herdebuchbetrieben reagierten über die Hälfte im ApxIV ELISA positiv, bei den Zuchtbetrieben waren es 93%. Auf Einzeltierebene wurde eine Sensitivität von 96% bei einer Spezifität von 100% gefunden. Die Sensitivität der ApxIV ELISA Diagnostik auf Herdenebene lag zwischen 67% und 99%, abhängig von der Prävalenz innerhalb der Herde. Die Herdenspezifität betrug 100%. Der ApxIV ELISA eignet sich gut zur Detektion von latent infizierten Herden.

Schlüsselwörter: *Actinobacillus pleuropneumoniae*, ApxIV ELISA, Seroprävalenz, Testvalidierung, Herdebuchbetriebe

The seroprevalence of *Actinobacillus pleuropneumoniae* in Swiss pig breeding herds – a study with the ApxIV ELISA

Abstract

At the end of the national eradication program for Enzootic Pneumonia (EP) and Porcine Actinobacillosis (APP) in Switzerland (2003), *A. pleuropneumoniae* serotype 2 is considered to have been eradicated. There is no current information about the distribution of the other serotypes available. The ApxIV ELISA detects antibodies against all serotypes of *A. pleuropneumoniae*, without cross-reaction with other bacterial species. The aim of this study was to achieve actual data concerning the seroprevalence of *A. pleuropneumoniae* in breeding-herds and to validate the ApxIV ELISA under field conditions, especially for the diagnosis of latently infected breeding-herds without clinical signs, and to achieve more information about the role of herd book farms for the spread of the infectious agent. A total of 2068 serum samples from 96 pig herds in Switzerland were examined. Over half of the examined herd book farms showed positive results in this ELISA. 93% of the breeding herds were positive. On single animal level sensitivity was 96% and specificity 100%. Herd sensitivity ranged between 67% and 99%. Herd specificity was 100%. The results show that the ApxIV ELISA is a valuable tool for the detection of latently infected herds.

Keywords: *Actinobacillus pleuropneumoniae*, ApxIV ELISA, seroprevalence, test evaluation, herd book farm

Einleitung

Actinobacillus pleuropneumoniae ist der Erreger der weltweit vorkommenden und wirtschaftlich bedeutsamen Krankheit Actinobacillose der Schweine. Es können vier Verlaufsformen unterschieden werden: a) Perakut mit Apathie, Anorexie, hohem Fieber, Dyspnoe, blutigschaumigem Nasenausfluss, Herz- und Kreislaufversagen, b) akut mit Dyspnoe, Inappetenz, Apathie, Fieber und stossweisem, schmerzhaftem Husten, c) chronisch mit Wachstumsdepression, Husten, verminderter Fresslust und Fieberschüben. Überlebende Tiere werden oft stumme Träger des Erregers und beherbergen diesen in den Tonsillen, Nasenhöhlen oder in fokalen Lungenläsionen (Bosse et al., 2002). Die latente Infektion (d) in einer Herde äussert sich kaum durch klinische Symptome. Gelegentlich werden pleuritische Veränderungen bei der Schlachtung gefunden. Die Einschleppung des Erregers in einen Bestand erfolgt in der Regel durch Zukauf infizierter Tiere (Zimmermann und Stäger, 1993).

Bis heute sind 15 verschiedene Serotypen von *A. pleuropneumoniae* beschrieben. *A. pleuropneumoniae* produziert die Zytotoxine ApxI, ApxII, ApxIII und ApxIV, die zur Familie der pore-forming RTX-Toxine gehören (Frey, 1995). Diese Toxine sind wichtige Virulenzfaktoren und werden von den verschiedenen Serotypen in unterschiedlichen Kombinationen gebildet. Alle Serotypen produzieren das ApxIV-Toxin in vivo (Schaller et al., 1999). Es konnte gezeigt werden, dass das *apxIV* Gen hochgradig spezifisch für die Spezies *A. pleuropneumoniae* ist (Schaller et al., 2001). Apx-Toxine sind stark immunogen und induzieren eine massive Produktion von Antikörpern in mit *A. pleuropneumoniae* infizierten Schweinen (Frey und Nicolet, 1991). Schweine, die mit *A. pleuropneumoniae* natürlich oder künstlich infiziert wurden, bilden Antikörper gegen das ApxIV-Toxin, welche ab der zweiten bis dritten Woche nach der Infektion zuverlässig mit dem ApxIV ELISA nachgewiesen werden. Es treten keine Kreuzreaktionen mit anderen Erregern auf (Dreyfus et al., 2004). Die Überwachung von *A. pleuropneumoniae* Infektionen auf Betriebsebene spielt eine entscheidende Rolle, um die Erregerverbreitung zu verhindern. Sie basiert auf routinemässig angewendeten serologischen Tests und bakteriologischer Kultur aus pathologischem Material (Sidibé et al., 1993). Für die Serotypisierung stehen PCR-Methoden zur Verfügung (Frey, 2003; Hüsey et al., 2004). Zur serologischen Diagnostik wurde schon früh die Komplementbindungsreaktion (Nicolet, 1971) durchgeführt. Heute stehen ELISA-Verfahren im Vordergrund. Der bisher in der Schweiz zur Überwachung eingesetzte Serotyp 2 ELISA ist nicht mehr kommerziell erhältlich. Für die in der Schweiz immer häufiger Probleme verursachenden Serotypen 7 und 12, die auch in anderen Ländern Europas vermehrt isoliert werden, ist kein kommerzieller Test erhältlich (Dreyfus et al., 2004). Deshalb drängte sich ein alternatives serologisches Testverfahren auf, das ohne die Gefahr von Kreuzreaktionen eine mit *A. pleuropneumo-*

niae infizierte Herde detektieren kann. Diese Voraussetzungen erfüllt der ApxIV ELISA.

Im Jahre 1995 wurden die Actinobacillose der Schweine und die Enzootische Pneumonie der Schweine als zu bekämpfende Tierseuchen in die schweizerische Tierseuchenverordnung aufgenommen. Seit dem Abschluss der Flächensanierung (Zimmermann et al., 2001) Ende 2003 traten nicht mehr als 10 Fälle von Schweineactinobacillose pro Jahr auf. Bekämpft werden sämtliche Serotypen die mit klinischen Symptomen und / oder pathologischen Befunden in Zusammenhang gebracht werden können.

In den Jahren 2004–2006 sind insgesamt 160 Isolate von *A. pleuropneumoniae* zur Typisierung im Referenzlabor eingegangen. Insbesondere Serotyp 7/12 wurde vermehrt aus pathologischen Läsionen isoliert. Vor der Flächensanierung stand Serotyp 2 im Vordergrund.

Vor mehr als 15 Jahren wurde in einer repräsentativen serologischen Studie die Seroprävalenz der Serotypen 2, 3, 7, 9 und 12 in der Schweiz untersucht. Für Serotyp 2 fand man eine Prävalenz von 4%. Auffallend war die hohe Prävalenz bei den Serotypengruppen 3/6/8 (19%), 4/7 (24%) und 12 (26%) (Zimmermann und Stäger, 1993). Antikörper gegen Serotyp 9 wurden nur in einem der untersuchten Betriebe gefunden.

Die Ziele dieser Arbeit waren: a) Die Seroprävalenz von *A. pleuropneumoniae* in den Schweinebeständen der Schweiz zu erheben, b) den ApxIV ELISA unter Feldbedingungen für die Herdendiagnostik zu evaluieren und c) die epidemiologische Bedeutung infizierter Remontierungsbetriebe (SGD Status AR: Herdebuchbetriebe) zu beleuchten.

Tiere, Material und Methoden

Tiere

Zur Darstellung des Antikörpertiterverlaufs innerhalb einer Herde (Betriebsprofil) wurden bei zwei nachweislich mit *A. pleuropneumoniae* infizierten Betrieben von je 10 Saugferkeln in der 1., 2., 3., 4. und 6. Lebenswoche, von 10 Absetzjägern im Alter von 8 Wochen, 10 Mastschweinen im Alter von 3 bis 5 Monaten, 10 Remonten und 10 adulten Schweinen Blut genommen. Zum Vergleich wurde dasselbe in einer APP-freien SPF- (Specific Pathogen Free) Herde durchgeführt. Insgesamt ergaben sich daraus 270 Blutproben, von denen 30 (diejenigen der Adulten) in die Testevaluation einfließen und dem Datensatz A zugeordnet wurden.

Datensatz A enthielt 1588 Proben aus einer Zeitperiode von 1999 bis 2006. Die Seren stammten von Mutterschweinen oder Ebern aus insgesamt 72 vorwiegend SGD-Betrieben aus allen Regionen der Schweiz (27 Remontierungs-, 30 Zucht- und 13 Mastbetriebe sowie 2 Besamungsstationen). Pro Betrieb standen 10–20 Proben

zur Verfügung. In den Besamungsstationen wurden alle Eber untersucht. Datensatz B beinhaltete 480 Seren von Mutterschweinen aus 24 Remontierungsbetrieben der Ostschweiz.

Klassifizierung der Betriebe

Im Datensatz A wurden die Betriebe unter Zuhilfenahme der SGD-Datenbank in den Status APP-frei oder APP-infiziert eingeteilt. Als Kriterien dienten: Kultureller Nachweis von *A. pleuropneumoniae*, fragliche Resultate im Serotyp 2 ELISA und Tierverkehr. Der festgelegte Status wurde mit den Resultaten des ApxIV ELISA verglichen. Die Betriebe aus Datensatz B konnten mangels genügender Informationen nicht in gleicher Weise klassifiziert werden. Sie wurden lediglich anhand des ApxIV ELISA Resultats in positiv oder negativ eingeteilt.

ELISA

Alle Seren wurden mit dem kommerziellen Testkit CHE-KIT-APP-ApxIV der Firma IDEXX, 3097 Liebefeld, Schweiz untersucht. Eine Vorvalidierungsstudie mit diesem Test ergab auf Einzeltierebene eine Sensitivität von 93.8% bei einer Spezifität von 100%. Die Details zu diesem indirekten ELISA wurden in der Arbeit von A. Dreyfus publiziert (Dreyfus et al., 2004). Dort wurde ein Cut off von 40% ermittelt, den wir mit unseren Daten bestätigen konnten und weiter verwendet haben.

Statistische Auswertung

a) Ebene Einzeltier: Die Resultate des ApxIV ELISA wurden mit dem ermittelten Herdenstatus als Goldstandard verglichen (nur Datensatz A). Dabei wird angenommen, dass alle getesteten Tiere aus einem positiven Betrieb positiv sein sollten. Die Sensitivität wird mit diesem Verfahren je nach Prävalenz infizierter Tiere im betroffenen

Bestand deutlich unterschätzt. Für die Spezifität lässt sich eine gute Schätzung erreichen. Mit einem Bayesian-Modell von Adam Branscum (Department of Statistics UC Davis, USA) konnten für die Sensitivität und die Spezifität genauere Werte ermittelt werden (für beide Datensätze). Dabei wurde angenommen, dass die Werte der gesuchten Parameter einer Beta-Verteilung folgen.

b) Ebene Herde: Mit dem Computerprogramm Herdacc Version 3 (D. Jordan, Department of Population Medicine, University of Guelph, Canada) wurden verschiedene Szenarien zur Schätzung der Herdensensitivität und Herdenspezifität unter Variierung des Cut-point (Anzahl Test-positiver Einzeltiere, um die Herde als positiv zu klassifizieren) und der Stichprobengrösse errechnet. Diese Berechnungen erlaubten Rückschlüsse auf die zu erwartende Herdensensitivität und –spezifität in Abhängigkeit der Einzeltier-Testcharakteristika, der Herdenprävalenz, der Herdengrösse und des Stichprobenumfangs.

Ergebnisse

Folgender Antikörpertiterverlauf im Betriebsprofil der beiden mit APP infizierten Zuchtbetriebe war festzustellen: Saugferkel in den ersten drei Lebenswochen zeigten hohe kolostrale Antikörpertiter, die abfallen, aber bis zu einem Alter von 8 Wochen noch knapp über dem Cut off liegen. Die Antikörpertiter der Tiere im Alter von mehr als 8 Wochen bis zum ersten Abferkeln lagen im negativen Bereich (unterhalb des Cut off). Die Mutterschweine zeigten grösstenteils positive Antikörpertiter. Die Proben von Schweinen eines APP-freien SPF-Betriebs wiesen bei allen Alterskategorien Werte deutlich unter dem Cut off auf (Abb. 1).

Datensatz A

Ein Betrieb wurde vor der statistischen Auswertung als positiv eingestuft, wenn mindestens ein Tier positiv rea-

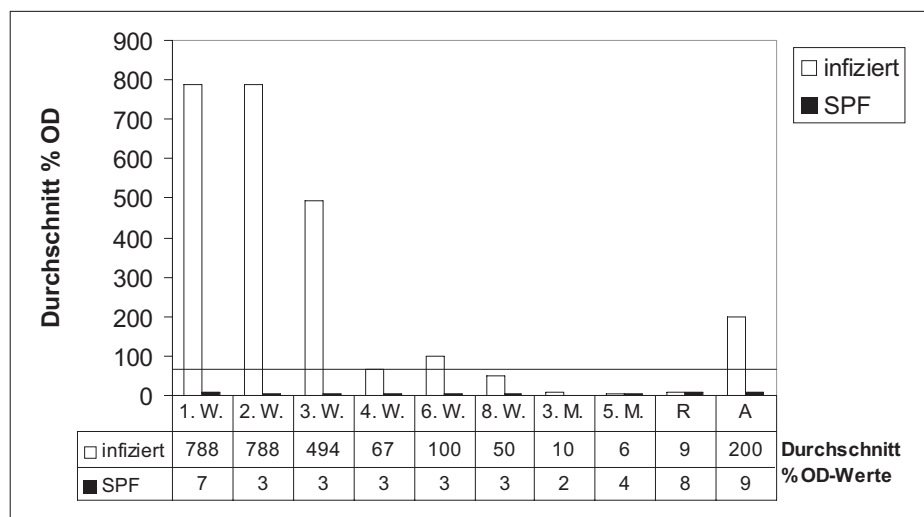


Abbildung 1: Durchschnittlicher Antikörpertiter in zwei infizierten Beständen und einem freien (SPF) Bestand. W: Woche; Ferkel, M.: Monat; Mast, R: Remonten, A: Adulte Schweine (Cut off: 40%).

106 Originalarbeiten

gierte (Cut-point = 1). Bis auf einen Betrieb wiesen alle zwei oder mehr positive Tiere auf. Als negativ wurde ein Betrieb eingestuft, wenn alle Proben negative serologische Resultate zeigten. Bei sieben Betrieben (3 AR-, 4 Mastbetriebe) stammten die Seren nur von Mastschweinen. Negative Resultate von Tieren in dieser Alterskategorie erlauben keine Aussage über den Betrieb, weil diese Tiere auch in einem infizierten Bestand negative Resultate aufweisen können, wie im Betriebsprofil gezeigt werden konnte. Diese 7 Betriebe wurden daher von der Studie ausgeschlossen. Betriebe, die nur Proben mit fraglichen Resultaten hatten (Extinktionswerte zwischen 30 bis 40%, nahe des Cut off), kamen nicht vor.

Die Hälfte der Remontierungsbetriebe, 28 von 30 Zuchtbetrieben (93%) und die zwei Besamungsstationen reagierten positiv. Neun von 13 Mastbetrieben, in denen zum Zeitpunkt der Probenahme oder einige Zeit vorher Husten auftrat, wurden positiv befunden. Insgesamt reagierten über Zweidrittel aller untersuchten Betriebe positiv (Tab. 1). Bis auf einen Betrieb lieferte die serologische Untersuchung Befunde, die wir aufgrund des festgelegten Betriebsstatus erwarteten. Von den seropositiven Remontierungsbetrieben aus liess sich die Verbreitung des Erregers via Tierverkehr in die Zuchtbetriebe anhand der Betriebsakten nachvollziehen. Dies unterstreicht die Bedeutung der infizierten Remontierungsbetriebe in der Verbreitung des Krankheitserregers.

Datensatz B

Über die Hälfte, nämlich 14 der 24 Remontierungsbetriebe aus der Ostschweiz, zeigten positive Resultate im ApxIV ELISA, wobei in einem Betrieb nur ein Tier positiv reagierte. Zehn Betriebe waren klar negativ.

Auswertung Ebene Einzeltier

Datensatz A: Der Vergleich der ApxIV Resultate mit dem Herdenstatus als Goldstandard ergab eine Sensitivität von 78% und eine Spezifität von 99%. Die Auswertung mit dem Bayesian Modell ergab eine Sensitivität von 96% und eine Spezifität von 99%.

Datensatz B: Hier stand kein Goldstandard zur Verfügung, daher wurde nur das Bayesian Modell angewendet. Dabei wurde eine Sensitivität von 95% und eine Spezifität von 99% berechnet.

Auswertung auf Herdenebene

Die von uns gefundenen Prävalenzen innerhalb der Herden beider Datensätze unterlagen einer breiten Streuung (Tab. 2). Die mittels Herdacc-Programm errechneten Werte zeigen, dass es sinnvoll ist, für unterschiedliche Herdengrössen unterschiedliche Cut-points festzulegen, da bei niedriger Herdenprävalenz die Herdensensitivität mit zunehmender Herdengrösse abnimmt, wenn die Herdenspezifität möglichst hoch sein soll. Diesem Problem kann einerseits durch Festlegung eines anderen Cut-points, andererseits durch Erhöhung der Stichprobengrösse begegnet werden (Tab. 3). Es fällt auf, dass bei 10% Herdenprävalenz die Herdensensitivität zwischen 67% und 96% schwankt, während bei 30% Herdenprävalenz die Herdensensitivität 99% beträgt. Bei noch höherer Herdenprävalenz bleiben die Sensitivitätswerte im Bereich zwischen 99% und 100%. Die Spezifität bleibt 100%.

Table 1: Anzahl positive und negative Betriebe (in Datensatz A wurden sieben Betriebe ausgeschlossen, siehe Text).

	Remontierungsbetriebe	Zuchtbetriebe	KB-Stationen	Mastbetriebe
Total	51	30	2	13
positiv	26	26	2	9
negativ	22	4	0	0
ausgeschlossen	3	0	0	4

Table 2: Positive Betriebe und deren Anteil positiver Einzelresultate an der Gesamtzahl der entnommenen Proben pro Betrieb.

Anteil positiver Proben / Betrieb	Datensatz A	Datensatz B
90%–100%	25	4
60%–80%	9	0
30%–50%	8	9
10%–20%	6	0
< 10%	1	1

Tabelle 3: Berechnung der Herdensensitivität (HSENS) und Herdenspezifität (HSPEC) des ApxIV ELISA in Abhängigkeit von Herdenprävalenz, Herdengrösse, Stichprobengrösse und des Cut-point.

Herdengrösse	10	20	30	40	50	60	120	120
Cut-point	1	1	1	1	2	2	2	2
Stichprobe	10	10	20	20	20	20	20	40
HSPEC	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
HSENS	100%	76.30%	97%	94.70%	67.40%	66.70%	67.90%	96.90%
Herdenprävalenz: 10%								
Herdengrösse	10	20	30	40	50	60	120	120
Cut-point	1	1	1	1	2	2	2	2
Stichprobe	10	10	20	20	20	20	20	40
HSPEC	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
HSENS	100%	99.50%	100%	100%	99.90%	99.80%	99.40%	100%
Herdenprävalenz: 30%								

Diskussion

Mehr als die Hälfte der untersuchten Remontierungsbetriebe und über 90% der Zuchtbetriebe reagierten positiv im ApxIV ELISA. Daraus lässt sich schliessen, dass verschiedene Serotypen von *A. pleuropneumoniae* in diesen Schweinebeständen vorkommen. Allerdings treten klinische Erkrankungen selten auf und bei der Überwachung im Schlachthof werden kaum verdächtige Lungenveränderungen festgestellt. Inwieweit in einem latent infizierten Bestand die Tiere durch die Erreger beeinträchtigt werden, ist schwer abzuschätzen. Denkbar ist allerdings, dass angesichts der in der heutigen Schweinehaltung im Vordergrund stehenden multifaktoriellen Erkrankungen *A. pleuropneumoniae* eine Rolle als Faktor spielen kann oder in Zukunft spielen wird.

Gemäss einer früheren Studie (Zimmermann und Stäger, 1993) waren nicht SPF-sanierte Betriebe öfter seropositiv als SPF-sanierte Betriebe. Diese Beobachtung können wir bestätigen: Viele der positiven Remontierungsbetriebe, die von uns untersucht wurden, waren ursprünglich nach dem schwedischen Verfahren (Waldmann und Radtke, 1937) saniert worden oder die Herde wurde ab solchen Betrieben aufgebaut. Die Tatsache, dass in unserer Studie auch positive SPF-Betriebe gefunden wurden, ist vermutlich darauf zurückzuführen, dass Tiere von einem positiven Betrieb zugekauft wurden, da heute dem ursprünglichen Herdenaufbau geringere Beachtung geschenkt wird.

Da über die Hälfte der Herden als positiv einzustufen ist, schätzen wir gesamtschweizerisch den Anteil positiver Remontierungsbetriebe auf 40%. Mit dieser Erkenntnis und aufgrund der Tatsache, dass sowohl Kern- wie auch Vermehrungszuchtbetriebe und der grösste Teil der Zuchtbetriebe seropositiv reagieren, muss man zum Schluss gelangen, dass in der Schweiz eine vollständige Freiheit von *A. pleuropneumoniae* nur schwierig zu erreichen sein wird. Es gäbe die Möglichkeit, bestimmte Serotypen zu eliminieren, so wie das weitgehend mit dem Serotyp 2 im Rahmen der Flächensanierung geschehen ist. Dabei

stünde jedoch der Aufwand in keinem Verhältnis zum Schaden, der jährlich durch *A. pleuropneumoniae* in der Schweiz verursacht wird.

Aus der altersabhängigen Antikörpertiterverteilung in den Betriebsprofilen lässt sich ableiten, dass Saugferkel ab der dritten Lebenswoche, Absetzferkel, Masttiere und Remonten negative serologische Resultate zeigen können, obwohl die Herde latent infiziert ist. Daraus folgt, dass die Untersuchung von Schweinen in diesem Alterssegment nicht zum Auffinden latent infizierter Bestände geeignet ist. Die ermittelten Testcharakteristika auf Einzeltierebene wie auch auf Herdenebene beruhen folglich auf der Untersuchung von adulten Tieren. Alternativ wären Saugferkel bis ins Alter von 3 Wochen zur Untersuchung geeignet, da diese, wie ebenfalls im Betriebsprofil gezeigt werden konnte, hohe kolostrale Antikörpertiter aufweisen.

Die in der Vorvalidierungsstudie gefundenen Einzeltier-testcharakteristika entsprechen denjenigen vorliegender Studie. Der ApxIV ELISA ist auch unter Feldbedingungen ein geeignetes Diagnostikumittel für Einzeltieruntersuchungen.

Die Anwendung des ApxIV ELISA mit dem in Tabelle 3 vorgeschlagenen Probenentnahmeschema erlaubt es, latent mit *A. pleuropneumoniae* infizierte Schweinebestände zu entdecken oder die Freiheit eines Betriebes von diesem Erreger zu bestätigen und zu überwachen.

Dank

Wir danken dem SUISAG Bereich SGD und seinen Mitarbeitern, den Schweinezüchtern, der Firma IDEXX und Dr. Dieter Brunner vom IKMI für die Mitarbeit und Unterstützung.

La seroprévalence de *Actinobacillus pleuropneumoniae* dans les élevages de porcs en Suisse- une étude avec l'ApxIV ELISA

Résumé

Suite au programme national d'éradication de la pneumonie enzootique et de l'actinobacillose, l'agent pathogène de l'actinobacillose porcine prédominant en Suisse, *Actinobacillus pleuropneumoniae* sérotype 2, est supposé avoir été éradiqué. Par contre, peu de données existent sur la prévalence et de la diffusion des autres sérotypes de *A. pleuropneumoniae*. Par conséquent, la prévalence de l'actinobacillose en général ne peut pas être évaluée. Le test diagnostique sérologique ELISA ApxIV offre une possibilité pratique pour détecter les anticorps contre tous les sérotypes de *A. pleuropneumoniae* chez les porcs. La présente étude avait comme but d'évaluer, par sérologie, la prévalence de *A. pleuropneumoniae* dans les troupeaux porcins, de connaître le statut de l'actinobacillose dans les troupeaux d'Herd book et de valider le test ELISA ApxIV pour le diagnostic de l'actinobacillose dans des troupeaux infectés de façon latente par *A. pleuropneumoniae*. L'étude comprenait 2068 sérums provenant de 96 troupeaux. L'analyse des porcs de différentes classes d'âge provenant de deux troupeaux connus pour être infectés par *A. pleuropneumoniae*, a montré que les cochonnets non sevrés et les truies ont de hautes valeurs sérologiques anti-ApxIV, tandis que les animaux de l'âge de 3 semaines jusqu'à l'âge d'avoir des petits avaient des titres sérologiques bas. La moitié des troupeaux d'Herd book montrait des titres positifs pour l'ELISA ApxIV. Dans les élevages, 93% des troupeaux étaient positifs pour l'ELISA ApxIV. Au niveau des animaux individuels, le test ELISA ApxIV montrait une sensibilité de 96% et une spécificité de 100%. La sensibilité du diagnostic par ELISA ApxIV au niveau des troupeaux est située entre 67% - 99%, dépendant de la prévalence à l'intérieur du troupeau. La spécificité du test au niveau du troupeau était 100%. Nous concluons que l'ELISA ApxIV est approprié pour un diagnostic de troupeaux infectés de façon latente par *A. pleuropneumoniae*.

La sieroprevalenza dell'*Actinobacillus pleuropneumoniae* in aziende di allevamento di suini svizzere – uno studio con ApxIV ELISA

Sommario

Conclusosi in Svizzera nel 2003 il risanamento di superficie dalla polmonite enzotica (PE) e dell'Actinobacillosi dei suini (APP), si può dedurre che l'*Actinobacillus pleuropneumoniae* sierotipo 2 è ampiamente eliminato. Sulla propagazione di altri sierotipi e con questi sulla propagazione di *A. pleuropneumoniae* in Svizzera non sono conosciuti valori attuali. Con l'ApxIV ELISA, abbiamo a disposizione un test sierologico che rivela gli anticorpi contro tutti i sierotipi ed esclude delle reazioni incrociate con altri specie di batteri. In questo studio si tratta di verificare la propagazione dell'*A. pleuropneumoniae* nelle aziende di allevamento, di rilevare lo stato dell'APP nelle aziende con registro genealogico e di acquistare le conoscenze sull'idoneità dell'ApxIV ELISA per diagnosticare delle aziende con infezione latente. Per questo sono state esaminate in totale 2068 campioni provenienti da 96 aziende. Dall'esame di varie categorie di età in due aziende rivelatesi infettate da *A. pleuropneumoniae* si è constatato che i maialini da latte e le scrofe mostravano alti valori positivi mentre animali di età da 3 settimane fino alla prima filiazione mostravano risultati prevalentemente negativi. Delle aziende con registro genealogico esaminate più della metà hanno reagito positivamente all'ApxIV ELISA, in quelle di allevamento erano il 93%. A livello dell'animale è stata trovata una sensibilità del 96% con una specificità del 100%. La sensibilità della diagnostica dell'ApxIV ELISA a livello dei branchi si trovava tra il 67% e il 99% a dipendenza della prevalenza all'interno del branco. La specificità della mandria comportava il 100%. Possiamo quindi affermare che il test ApxIV ELISA è idoneo alla rivelazione di branchi infettati in stato latente.

Literatur

Bosse J. T., Janson H., Sheehan B. J., Beddek A. J., Rycroft A. N., Kroll J. S., Langford P. R.: *Actinobacillus pleuropneumoniae*: pathobiology and pathogenesis of infection. *Microbes Infect.* 2002, 4: 225–235.

Dreyfus A., Schaller A., Nivollet S., Segers R. P. A. M., Kobisch M., Mieli L., Soerensen V., Hüßy D., Miserez R., Zimmermann W., Inderbitzin F., Frey J.: Use of recombinant ApxIV in serodiagnosis of *Actinobacillus pleuropneumoniae* infections, development and prevalidation of the ApxIV ELISA. *Vet. Microbiol.* 2004, 99: 227–238.

Frey J. und Nicolet J.: Immunological properties of *Actinobacillus pleuropneumoniae* hemolysin I. *Vet. Microbiol.* 1991, 28: 61–73.

Frey J.: Virulence in *Actinobacillus pleuropneumoniae* and RTX toxins. *Trends Microbiol.* 1995, 3: 257–261.

Frey J.: Detection, identification and subtyping of *Actinobacillus pleuropneumoniae*. In: PCR detection of microbial pathogens. Hrsg. K. Sachse und J. Frey, Humana Press, Totowa, New Jersey, 2003, 87–95.

Hüßy D., Schlatter Y., Miserez R., Inzana T., Frey J.: PCR-based identification of serotype 2 of *Actinobacillus pleuropneumoniae* biovars I and II. *Vet. Microbiol.* 2004, 99: 307–10.

Nicolet J.: Sur l'hémophilose du porc. III. Différenciation sérologique de *Haemophilus para-haemolyticus*. *Zbl. Bakt.* 1971, I. Abt. Orig. 216: 487–495.

Schaller A., Kuhn R., Kuhnert P., Nicolet J., Anderson T. J., MacInnes J. I., Segers R. P. A. M., and Frey J.: Characterization of apxIVA, a new RTX determinant of *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Microbiology* 1999, 145: 2105–2116.

Schaller A., Djordjevic S. P., Eamens G. J., Forbes W. A., Kuhn R., Kuhnert P., Gottschalk M., Nicolet J., Frey J.: Identification and detection of *Actinobacillus pleuropneumoniae* by PCR based on the gene apxIVA. *Vet. Microbiol.* 2001, 79: 47–62.

Sidibé M., Messier S., Larivière S., Gottschalk M., Mittal K.R.: Detection of *Actinobacillus pleuropneumoniae* in the porcine upper respiratory tract as a complement to serological tests. *Can. J. Vet. Res.* 1993, 57: 204–208.

Waldmann O. und Radtke G.: Erster Bericht über Erfolge der Bekämpfung der Ferkelgrippe durch die Riemser Einzelhüttenanlage. *Berl. Tierärztl. Wschr.* 1937, 53: 241–248.

Zimmermann W. und Stäger M.: Zur Seroprävalenz von *Actinobacillus pleuropneumoniae* (APP) in Schweizer Schweinezuchtbetrieben. *Wien. Tierärztl. Mschr.* 1993, 80:129-135.

Zimmermann W., Masserey Y., Maurer T., Keller H.: Flächensanierung von EP und APP – ein Gesundheitsprojekt in der Schweineproduktion. *Tierärztl. Umschau* 2001, 56: 339–344.

Korrespondenzadresse

Iwan Nussbaumer
Dept. für klinische Veterinärmedizin
Schweineklinik
Vetsuisse-Fakultät der Universität Bern
Bremgartenstrasse 109a
Postfach 8466
3001 Bern
Fax: 031 631 26 31
Iwan.nussbaumer@knp.unibe.ch

Manuskripteingang: 3. Juli 2007
Angenommen: 28. August 2007