Zeitschrift: Schweizer Archiv für Tierheilkunde SAT : die Fachzeitschrift für Tierärztinnen und Tierärzte = Archives Suisses de Médecine Vétérinaire ASMV : la revue professionnelle des vétérinaires

Herausgeber: Gesellschaft Schweizer Tierärztinnen und Tierärzte

Band: 137 (1995)

Heft: 4

Artikel: Serologische Untersuchungen zum Nachweis von Antikörpern gegen Eubacterium suis beim Schwein

Autor: Wendt, M. / Amtsberg, G.

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-590993

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 09.12.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Klinik für kleine Klauentiere und forensische Medizin und Ambulatorische Klinik und Institut für Mikrobiologie und Tierseuchen** der Tierärztlichen Hochschule Hannover*

Serologische Untersuchungen zum Nachweis von Antikörpern gegen Eubacterium suis beim Schwein

M. Wendt und G. Amtsberg***

Zusammenfassung

Es wird eine Methode zur Bestimmung von Antikörpern gegen Eubacterium suis (E. suis) im Serum von Schweinen mittels eines indirekten Immunfluoreszenztestes vorgestellt. Für die Untersuchung standen 35 Sauen mit einer Harnwegsinfektion sowie 43 gesunde Kontrollsauen zur Verfügung. Bei 19 der erkrankten Sauen konnte E. suis im Harn nachgewiesen werden. Die Ergebnisse der Serologie wurden mit dem aktuellen Erregernachweis im Harn verglichen. Um eine Spezifität von 100% zu erreichen, kann eine Titerhöhe ab 1:16++ als positiv angesehen werden. Die Sensitivität lag damit bei 78,9%. Erkenntnisse zur Serokonversion und zum Verlauf der Titerentwicklung konnten an 15 Sauen gewonnen werden, die experimentell mit E. suis infiziert worden waren. Antikörper waren frühestens 3 Wochen p. infect. nachweisbar und entstanden vorzugsweise bei Sauen, die eine hämorrhagische Zystitis aufwiesen. Es bestand keine Beziehung zwischen einer möglichen Nierenbeteiligung und der Titerentwicklung bzw. der Titerhöhe. Serologische Untersuchungen können trotz vorliegender E.-suis-Infektion negativ ausfallen, wenn noch keine ausreichende Immunantwort erfolgt ist oder die Antikörperbildung bei nur kurzzeitiger Infektion der Blase ausbleibt.

Schlüsselwörter: **Schwein – Harnwegsinfektion – Eubacterium suis – Serum-Antikörper – Immunfluoreszenz**

Serological examinations for detection of antibodies against Eubacterium suis in pigs

Determination of antibodies against Eubacterium suis (E. suis) in the serum of pigs was carried out by an indirect immunofluorescence test. Therefore 35 sows with urinary tract infections as well as 43 healthy control sows were investigated. E. suis could be detected in the urine of 19 sows. Serological results were compared with the bacteriological examinations. To reach a specificity of 100% for detection of animals actually infected with E. suis, titres from 1:16++ can be accepted as positive. Therefore sensitivity gave a level of 78,9%. Seroconversion and development of antibody titers were studied on 15 sows, which were experimentally infected with E. suis. Antibodies could be shown 3 weeks after infection at the earliest, they were preferably demonstrated in sows with a haemorrhagic cystitis. No correlation existed between the affection of the kidneys and the development and the level of titres respectively. Serological investigations can turn out negative in spite of E. suis infection, if immunological response still has not taken place or development of antibodies has failed to appear after short-time infection of the bladder.

Key words: **pig – urinary tract infection – Eubacterium suis – serum antibodies – immunofluorescence**

Einleitung

Die Diagnose von Harnwegsinfektionen erfolgt üblicherweise durch die makroskopische, mikroskopische und bakteriologische Untersuchung von Harnproben, aber auch serologische Untersuchungsmethoden werden zum Nachweis dieser Erkrankungen eingesetzt. Sowohl vom Menschen als auch von Tieren ist bekannt, dass es bei Harnwegsinfektionen zu einer Bildung von erregerspezifischen Antikörpern kommt, die im Serum und auch im Harn nachgewiesen werden können (Kienitz, 1970; Clark et al., 1971; Decker und Hirsch, 1971; Smith und Hand, 1972; Lindberg et al., 1973; Hanson et. al., 1974; Smith et al., 1974; Osborne et al., 1979; Fuhrmann, 1980; Ratner et al., 1981; Rene et al., 1982; Parsons, 1986; Reid und Sobel, 1987).

Speziell beim Schwein gibt es dazu jedoch nur wenige Erkenntnisse. Im Harn gesunder Schweine sind nach Bourne et al. (1973) Immunglobuline der Klassen IgA und IgG vorhanden. Für das IgA liess sich eine sekretorische Komponente darstellen. Das IgG im Harn war in seiner Zusammensetzung dem Serum-IgG sehr ähnlich. Bei Escherichia-coli-Harnwegsinfektionen konnte Wagner (1990) im Serum von Sauen verschiedene Immunglobuline (IgA, IgG und IgM) gegen die jeweils homologen Serotypen aus dem Harn nachweisen. Im Harn selbst fanden sich nur Antikörper vom IgA- und IgG-Typ.

Von besonderer Bedeutung in der Sauenhaltung ist die Infektion der Harnwege mit Eubacterium suis (E. suis). Dieser Erreger verursacht neben einer hämorrhagischen Zystitis häufig auch eine Pyelonephritis, die aufgrund einer Urämie zum Tod der erkrankten Sau führen kann. Eigene Untersuchungen belegten die Anwesenheit von spezifischen Antikörpern (IgG) gegen E. suis im Harn von Sauen (Langfeldt et al., 1990). Kauko et al. (1977) versuchten, Antikörper gegen E. suis im Serum von Sauen nachzuweisen, bei denen eine Pyelonephritis vermutet wurde. Der Test erwies sich jedoch als recht unspezifisch. Antikörper fanden sich bei 8 von 26 kontrollierten Schweinen, aber nur bei 2 dieser Tiere konnte eine E.-suis-Infektion auch bakteriologisch diagnostiziert werden.

Ziel der eigenen Untersuchungen war es zu überprüfen, ob bei E.-suis-infizierten Sauen mit Hilfe eines Immunfluoreszenzverfahrens die Ausbildung spezifischer Serumantikörper gegen E. suis nachweisbar ist und ob dieser Test zum Nachweis einer aktuellen Infektion genutzt werden kann. Dazu wurden sowohl einmalige Titerbestimmungen als auch Verlaufsuntersuchungen vorgenommen. Darüber hinaus sollte kontrolliert werden, ob eine Beziehung zwischen eventuell vorhandenen Serumtitern bzw. der Titerhöhe und dem Vorliegen von Nierenschäden besteht, da die Kenntnis über eine Nierenbeteiligung für die Prognose von besonderer Bedeutung ist.

Tiere, Material und Methoden

Tiere und Probenentnahme

Von den nachfolgend aufgeführten Sauen wurde Serum gewonnen und bis zur Untersuchung bei -20 °C aufbewahrt:

- 38 Sauen, die zur Geburtshilfe (Sectio caesarea) in die Klinik für kleine Klauentiere eingestellt wurden. Die Tiere zeigten keine Anzeichen weiterer Erkrankungen, insbesondere nicht von Harnwegsinfektionen.
- 25 Sauen, die aufgrund einer spontanen Harnwegsinfektion in der Klinik vorgestellt wurden. Bei 19 Tieren konnte E. suis im Harnsediment nachgewiesen werden, häufig lagen dabei Mischinfektionen mit anderen Erregern vor. Bei den übrigen 6 Patienten lagen zwar ebenfalls Bakteriurien vor, jedoch wurde E. suis nicht aus dem Harn isoliert. Ein Hemmstofftest verlief bei diesen Sauen positiv (Micur®, Fa. Boehringer, Mannheim).
- 15 Sauen, bei denen eine experimentelle E.-suis-Infektion vorgenommen wurde (zur Technik s. Wendt, 1992). Von diesen Tieren wiesen 10 Sauen vor Versuchsbeginn eine Harnwegsinfektion ohne Beteiligung von E. suis auf. Bei den restlichen 5 Probanden konnten zu dieser Zeit weder eine Bakteriurie noch Veränderungen an den Harnorganen festgestellt werden. Im Gegensatz zu den übrigen Tieren, bei denen nur einmal bei der Einstellung in die Klinik Blut für die Serodiagnostik entnommen wurde, fand bei diesen 15 Schweinen eine mehrfache Probenentnahme statt, zuerst vor der artifiziellen Infektion, danach in wöchentlichen Abständen bis mindestens 6 Wochen p. infect. Bei einer Reihe von Schweinen konnten auch noch Verlaufskontrollen über diesen Zeitpunkt hinaus durchgeführt werden. Eine Behandlung wurde im Untersuchungszeitraum nicht vorgenommen.

Untersuchungsmethodik

Die Untersuchung des Harns der Sauen auf das Vorhandensein von E. suis erfolgte mittels eines indirekten Immunfluoreszenztestes (Langfeldt et al., 1990; Wendt et al., 1990). Ausserdem wurde die Bestimmung der aeroben Gesamtkeimzahl im Harn mittels Eintauchnährböden (Uricult®, Fa. Boehringer, Mannheim) sowie ein weiterführender kultureller Nachweis mit anschliessender Differenzierung der vorhandenen Bakterienarten vorgenommen.

Für die Serodiagnostik konnte ein indirekter Immunfluoreszenztest zum Nachweis von E.-suis-spezifischen IgG-Antikörpern etabliert werden, dessen einzelne Arbeitsschritte im folgenden erläutert sind:

a) Beschickung eines teflonbeschichteten Objektträgers (3x10 ausgestanzte Probenkammern mit 2mm Durchmesser, LC-3090, Fa. Landgraf, Hannover) mit einer E.-suis-Suspension (Stamm NCTC 10373, Dichte Nr. 1 der McFarland-Skala, 5 µl/Kammer) und anschliessender Hitzefixation.

b) Herstellung einer Serumverdünnung in Mikrotiterplatten (1:2 bis 1:1024, Vorlage 100µl phys. NaCl-Lösung + 100µl Serum).
c) Beschickung des vorbereiteten Objektträgers mit den Serumverdünnungen (5µl/Kammer).
d) Inkubation in feuchter Kammer für 30 Minuten (37 °C), anschliessend abspülen mit Phosphatpuffer (PBS), 2x10 Minuten waschen in PBS und lufttrocknen (37 °C).
e) Überschichtung mit Konjugat (Verdünnung 1:250, fluoreszein-konjugiertes Ziege-anti-Schwein-IgG, Fa. Dianova, Hamburg).
f) wie d) (lichtgeschützt!).
g) Eindecken in Glyzerin-Puffer.
h) Untersuchung unter dem UV-Mikroskop (495 nm Wellenlänge).

Als Kontrollen wurden jeweils eine Konjugat-Kontrolle (Antigen + Konjugat), eine negative Serumprobe (gesundes Läuferschwein, 35 kg KM) sowie eine positive Serumprobe (spontan mit E. suis infizierte Sau) mitgeführt. Die Beurteilung der Fluoreszenz orientierte sich nach folgender Einteilung: (-) = keine, (+) = geringe, (++) = deutliche, (+++) = hochgradige Randfluoreszenz.
Der Zustand der Harnblasen wurde mit Hilfe zystoskopischer Untersuchungen kontrolliert (Methodik s. Wendt und Aengenheister, 1989). Die Beteiligung der Nieren bei E.-suis-infizierten Tieren konnte anhand von Schlacht- oder Sektionsbefunden abgeklärt werden.

Auswertung

Zur Bestimmung von Sensitivität und Spezifität sowie dem Anteil richtiger Diagnosen nach positivem oder negativem Testausgang (positiver/negativer Vorhersagewert) wurden die Ergebnisse der serologischen Untersuchung dem Resultat des jeweiligen Erregernachweises im Harn gegenübergestellt (n = 78). Die 15 artifiziell infizierten Sauen fanden dazu nur zum Zeitpunkt vor der Infektion Berücksichtigung. Darüber hinaus wurden die Resultate der serologischen Verlaufsuntersuchungen dieser Tiere sowie einer spontan infizierten Sau beschrieben.
Als Titer wurde die höchste Serumverdünnung angegeben, bei der die Randfluoreszenz noch deutlich (++) sichtbar war, bevor sie nur noch als gering (+) beurteilt werden konnte. Um falsch positive Ergebnisse auszuschalten und damit eine Spezifität von 100% zu erreichen, wurden Titer ab einer Höhe von 1:16 als positiv gewertet. Die Reaktion galt als fraglich, wenn Serumproben Titer von 1:4 oder 1:8 aufwiesen. Als negativ wurde die Untersuchung beurteilt, wenn ausschliesslich geringe (+) oder gar keine Randfluoreszenzen (-) in den Verdünnungsstufen auftraten. Titerhöhen von 1:2 wurden als unspezifische Reaktion eingeschätzt und damit ebenfalls als negativ bewertet, da sie häufig auch bei gesunden Sauen feststellbar waren.
Für die Sauen, deren Serum spezifische Antikörpertiter enthielt, wurde mittels eines chi-Quadrat-Testes geprüft, ob ein Bezug zwischen dem Nachweis von Antikörpern im Serum und dem Charakter der Zystitis (nicht hämorrhagisch/hämorrhagisch) bzw. der Lokalisation der Harnwegsinfektion (Zystitis/Zystitis und Pyelonephritis) besteht.

Ergebnisse

Die immunfluoreszenzserologische Kontrolle von 59 Patienten, bei denen keine E.-suis-Infektion nachgewiesen werden konnte (43 Sauen, die keine Anzeichen einer Harnwegsinfektion aufwiesen, sowie 16 Schweine mit einer Harnwegsinfektion ohne E.-suis-Beteiligung), verlief in 56 Fällen negativ. Bei 3 weiteren Schweinen, die an einer Zystitis erkrankt waren, ergab sich eine fragliche Reaktion (Titer 1:4++ oder 1:8++). Diese 59 Serumproben liessen in keiner Verdünnungsstufe eine hochgradige Randfluoreszenz (+++) erkennen. Bei Festlegung des Grenztiters bei 1:16++ ergab sich damit für den vorliegenden Test eine Spezifität von 100% (Tab. 1).

Tabelle 1: Ergebnisse der serologischen Untersuchung von 78 Sauen auf Antikörper gegen E. suis im Vergleich zum Erregernachweis im Harn (+ = positiv, ? = fraglich, - = negativ).

E. suis		Erregernachweis im Harn		Vorhersagewert
		ja	nein	
Titer 1:16	+	15	0	100% (pos.)
Titer ≥ 1:4/1:8	?	3	3	
Titer neg./1:2	-	1	56	95,2% (neg.)
		78,9% Sensitivität	100% Spezifität	

Unter den serologisch unauffälligen Tieren befanden sich 11 Sauen mit einer Blaseninfektion ohne hämorrhagischen Charakter (Escherichia coli (E. coli) n = 8, Streptokokken n = 1, Staphylococcus hyicus n = 1, bakteriologisch negativ/Hemmstoff-positiv n = 1). Bei weiteren 5 Patienten, die im Gegensatz dazu eine hämorrhagische Zystitis aufwiesen, konnte in 3 Harnproben eine signifikante Bakteriurie festgestellt werden (Proteus/E. coli n= 1, Proteus n=1, Streptokokken n=1), in 2 Fällen lag kein Keimnachweis vor. Ein durchgeführter Hemmstofftest fiel in allen 5 Harnproben positiv aus.
Von 19 Probanden, die E. suis im Harn ausschieden, wurden 15 als serologisch positiv beurteilt, für die Titer von mindestens 1:16 ++ nachgewiesen werden konnten. Bei 3 Schweinen lagen die Antikörper-Titer dagegen nur bei 1:4 ++ (n = 2) bzw. 1:8 ++ (n = 1), eine Sau reagierte überhaupt nicht. Im Gegensatz zu den Tieren, bei denen E. suis nicht im Harn gefunden wurde, konnten bis auf 3 Ausnahmen (Titer negativ, 1:8 ++ bzw. 1:16 ++) bei allen Proben in den unteren Verdünnungsstufen hochgradige Randfluoreszenzen (+++) beobachtet werden.
Die Sensitivität des Testes beträgt damit 78,9% im Vergleich zum direkten Erregernachweis. Aus diesen Resul-

taten ergab sich unter Berücksichtigung der Prävalenz von E. suis im vorgestellten Patientengut bei positivem Testausgang ein Vorhersagewert von 100%, im negativen Fall lag er bei 95,2%.
Zum Zeitpunkt der Untersuchung der mit E. suis infizierten Tiere existierte bei 14 von 15 als serologisch positiv eingestuften Sauen eine zystoskopisch wahrnehmbare hämorrhagische Zystitis mit entsprechender Hämaturie. Bei den Schweinen, die fraglich bzw. negativ reagierten, waren in 2 von 4 Harnproben Blutbeimengungen vorhanden (Tab. 2). Eine Abhängigkeit der Serumtiter vom Charakter der Zystitis konnte statistisch nicht gesichert werden.

Tabelle 2: Serumtiter in Abhängigkeit vom Charakter der Zystitis bei 19 Sauen mit einer E.-suis-Infektion (+ = positiv, ? = fraglich, - = negativ).

E. suis		hämorrhagische Zystitis ja	nein
Titer 1:16	+	14	1
Titer ≥ 1:4/1:8	?	1	2
Titer neg./1:2	-	1	0
Chi-Quadrat = 1,80 (n.s.)			

Zwischen der Lokalisation der Infektion und einer positiven Serumreaktion konnte ebenfalls kein Bezug hergestellt werden. Es wiesen sowohl 8 Sauen, bei denen lediglich die Blase in Mitleidenschaft gezogen war, Antikörper (Titer :16++) gegen E. suis auf als auch 7 Patienten, bei denen neben der Blase auch die Nieren in Form einer Pyelonephritis betroffen waren (Tab. 3). Auch die Höhe der Serumtiter ergab keine Hinweise auf die Lokalisation der Erkrankung (Tab. 4).
Einen Überblick über die verschiedenen Titerentwicklungen nach einer experimentellen Infektion mit E. suis

Tabelle 3: Serumtiter in Abhängigkeit von der Ausbreitung der E.-suis-Infektion bei 19 Sauen (Z= Zystitis, PN = Pyelonephritis [+ = positiv, ? = fraglich, - = negativ]).

		Z	Z+PN
Titer ≥ 1:16	+	8	7
Titer 1:4/1:8	?	2	1
Titer neg./1:2	-	0	1
Chi-Quadrat = 0,20 (n.s.)			

Tabelle 4: Höhe der Serumtiter in Abhängigkeit von der Ausbreitung der E.-suis-Infektion bei 18 Sauen (Z= Zystitis, PN= Pyelonephritis). Eine weitere mit E. suis infizierte Sau entwickelte keine nachweisbaren Antikörper.

Serumtiter	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024
Z	1	1	2	1	3	2	-	-	-
Z + PN	1	-	1	2	-	4	-	-	-
Chi-Quadrat = 5,18 (n.s.)									

gibt die Tabelle 5 anhand von Verlaufskontrollen. Bei 10 der 15 Sauen stellte sich zu keinem Zeitpunkt eine hämorrhagische Zystitis ein. Bei 5 dieser Tiere (nicht in Tab. 5 berücksichtigt) wurde der Erreger rasch eliminiert, schon nach 3 Tagen konnte E. suis nicht mehr im Harn gefunden werden. Entsprechend liess sich bei den betreffenden Schweinen auch keine Antikörperbildung nachweisen. Bei den übrigen 5 Sauen (Gruppe A) war E. suis für eine oder mehrere Wochen aus dem Harn zu isolieren. Nur bei einem dieser Schweine (Nr. 1001) entwickelten sich jedoch innerhalb der Beobachtungsperiode von 6–8 Wochen keine messbaren Antikörpertiter, obwohl eine Elimination der inokulierten Bakterien erst nach 4 Wochen erfolgte. Bei 2 Sauen (Nr. 2, 13) war E. suis schon 2 bzw. 3 Wochen p. infect. nicht mehr nachweisbar, und nur zu 2 Zeitpunkten lag eine Reaktion vor (ohne hochgradige Randfluoreszenz (+++) in den unteren Verdünnungsstufen). Mehrfache Nachkontrollen eines dieser Tiere (Nr. 13) bis zu 23 Wochen p. infect. blieben negativ. Eine eindeutige Serokonversion konnte lediglich bei 2 Probanden (Nr. 31, 32) festgestellt werden, aus deren Harn E. suis jeweils über 4 Wochen isolierbar war.
Bei weiteren 5 Sauen (Gruppe B) haftete die E.-suis-Infektion bei allen Sauen länger als 4 Wochen, wobei es zumindest zeitweise zum Auftreten einer hämorrhagischen Zystitis kam. Antikörper gegen E. suis wurden serologisch innerhalb einer Kontrolldauer von 6–9 Wochen p. infect. bei allen 5 Schweinen gefunden. Nachuntersuchungen bei einem dieser Tiere (Nr. 343) über eine Dauer von etwa 4 Monaten ergaben konstante Titer. Nur bei einem Schwein (Nr. 1000) lagen die Titer unter dem Grenzwert von 1:16++, allerdings wurde diese Sau lediglich über 6 Wochen kontrolliert.
Eine eindeutige Serokonversion konnte in 3 Fällen frühestens 3 Wochen und bei 3 weiteren Tieren erst 6–8 Wochen nach der Infektion registriert werden. Bei einer frühen Antikörperentwicklung lagen die initial gemessenen Titer deutlich höher. Die höchsten Werte mit 1:512 erreichten 2 Sauen (Nr. 32, Gr.A; Nr. 167, Gr.B), deren Blase zwar am Ende des Versuches morphologisch und bakteriologisch unauffällig war, bei denen sich jedoch jeweils ein einseitiger Nierenabszess ausgebildet hatte (E. suis im Abszessinhalt nicht nachweisbar).
Der Titerverlauf bei einer spontan mit E. suis infizierten Sau, die bei der Einstellung in die Klinik schon als seropositiv erkannt wurde, ist in Tabelle 6 dargestellt. Das Schwein wurde über eine Dauer von 9 Monaten beobachtet und schied E. suis während der gesamten Zeit im Harn aus. Bis auf eine Ausnahme (1:8++) lagen die Titer zu allen Kontrollterminen im positiven Bereich (1:16++ bis 1:64++).

Tabelle 6: Serologische Verlaufsuntersuchungen bei einer spontan mit E. suis infizierten Sau.

Wochen nach 1. Untersuchung	0	5	10	13	14	15	16	17	18	20	25	28	38
Serumtiter	1:32	32	16	16	16	8	32	32	16	32	64	16	16

Sau-Nr. Gr. A		Woche 0	1	2	3	4	5	6	7	8	> 8
2	a	-	+	-	-	-		-	-		
	b	-	-	-	-	1:4		-	1:4		
	c	-	7	7	7	7		7	6		
	d	-	Ec	Ec	Ec	Ec		Ec	Ec		
13	a	-	+	+	-	-		-		-	-(24)
	b	-	1:16	-	-	-		1:64		-	-
	c	3	7	6	7	5		7		7	7
	d	Ec	Ec	Ec	Ec	Ec		Ec		Ec	Ec
31	a	-	+	+	+	+		-	-	-	-(11)
	b	-	1:16	-	1:4	-		-	-	1:16	1:64
	c	-	5	6	4	5		4	6	4	-
	d	-	Ec, Pr	Ec, Pr	Ec, Pr	Pr		Pr, Sc	Pr		-
32	a	-	+	+	+	+		-	-	-	
	b	-	-	-	1:256	1:128		1:256	1:512		
	c	-	6	6	6	6		7	5	5	
	d	-	Ec	Ec	Ec	Ec		Ec	Ec	Ec	
1001	a	-	+	+	-	+	-		-		
	b	-	-	-	-	-	-		-		
	c	7	7	-	7	7	7		5		
	d	Ec	Ec	-	Ec	Ec	Ec		Ec		
Gr. B											
167	a	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-(9)
	b	-	-	-	1:64	1:64	1:128	1:128	1:128	1:256	1:512
	c	6	6	7	6	7	3	7	6	6	7
	d	Ec	Ec, Sc	Ec	Ec, Sc	Ec	Ec	Ec	Ec	Ec	Ec
795	a	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-(9)
	b	-	-	-	1:4	1:4	1:8	1:8	1:16	1:4	1:16
	c	5	5	6	4	7	5	5	6	5	4
	d	Sc	Ec	Ec	Ec	Ec, Sc	Ec	Ec, Sc	Ec	Ec	Ec
343	a	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+(17)
	b	-	-	-	1:128	1:64	1:32	1:64	1:64	1:128	1:64
	c	6	6	6	7	6	6	6	6	4	6
	d	Sthy	Ec	Ec, Sc		Ec, Sc		Ec, Sc		Ec, Sc	Ec, Sc
344	a	-	+	+	+	+	+	+	+	+	
	b	-	-	-	-	-	-	1:16	1:8	1:16	
	c	6	5	5	6	6	6	5	6	7	
	d	Ec	Ec, Sc	Ec, Sc		Ec, Sc		Ec, Sc		Ec, Sc	
1000	a	-	+	+	+	+	+	+			
	b	-	-	-	-	-	1:8	1:8			
	c	-	5	6	6	7	7	7			
	d	-	Ec, St	Ec	Ec	Ec	Pr	Ec, Pr			

Tabelle 5: Erreger- und Antikörpernachweis im Verlauf experimenteller E.-suis-Infektionen bei 10 Sauen. Gruppe A (n = 5): ohne hämorrhagische Zystitis; Gruppe B (n = 5): mit hämorrhagischer Zystitis; a = E.-suis-Nachweis neg. (-)/ pos. (+); b = Höhe des E.-suis-Antikörper-Titers; c = aerobe Gesamtkeimzahl (lg KBE/ml Harn); d = Keimdifferenzierung der Begleitflora (Ec = E. coli, Pr = Proteus sp., Sc = Streptokokken, St = Staphylokokken (Koagulase-negativ), Sthy = Staphylococcus hyicus). Bei Beobachtungszeiten über 8 Wochen ist unter Angabe der Woche das Ergebnis der letzten Untersuchung dargestellt.

Diskussion

Die vorgestellte Methode zum Nachweis von Serumantikörpern gegen E. suis bei Sauen, die aufgrund aktueller Harnwegsinfektionen untersucht wurden, erreichte im Vergleich mit dem direkten Erregernachweis eine Spezifität von 100%, wenn eine Titerhöhe von mindestens 1:16++ gemessen werden konnte. Bei allen damit serologisch als positiv beurteilten Patienten konnte auch E. suis aus dem Harn isoliert werden. Bei Rekonvaleszenten nach artifizieller Infektion bestanden auch ohne Erregernachweis noch als positiv zu bewertende Serumtiter. Die Persistenz der Titer nach der Erregerelimination aus dem Harntrakt konnte bei diesen Sauen nur über maximal 3 Wochen geprüft werden. Der ständige Antigenkontakt bei 2 chronisch infizierten Tieren erzeugte über 4 bzw. 9 Monate relativ konstante Titer.

Die Sensitivität des Testes (78,9%) deutet an, dass bei einmaliger Untersuchung unter den vorgestellten Bedingungen nicht alle mit E. suis infizierten Tiere erfasst werden. Wie unter anderem die Verlaufsuntersuchungen an den künstlich infizierten Sauen belegen, kann dies folgende Ursachen haben:

- Bei Auftreten einer akuten Erkrankung ist noch keine ausreichende Immunantwort erfolgt.
  Eine anhaltende Serokonversion war frühestens 3 Wochen p. infect. zu beobachten, im Einzelfall sogar erst nach 8 Wochen. Der Nachweis von fraglichen Reaktionen (1:4 ++, 1:8 ++) sollte Anlass zur Nachuntersuchung geben, da sich der Titeranstieg bei einzelnen Schweinen nur sehr langsam entwickelte.
- Bei nur kurzzeitiger Infektion kann die systemische Immunantwort ausbleiben.

Ein deutlicher Antikörperanstieg ergab sich im Versuch nur bei Sauen, die mindestens über 4 Wochen E. suis im Harn ausschieden. Eine schnelle Elimination der Keime aus dem Harntrakt scheint einerseits durch unspezifische Abwehrmechanismen möglich, wie es bei 5 der experimentell infizierten Sauen beobachtet werden konnte. Andererseits kann eine antibiotische Behandlung im frühen Krankheitsstadium den Erreger abtöten, so dass eine Immunreaktion ausbleibt oder abgeschwächt wird (Bremner et al., 1969; Neal et al., 1991). Dazu sei auf 5 spontan erkrankte Schweine hingewiesen, die zwar eine hämorrhagische Zystitis aufwiesen, bei denen jedoch bakteriologisch kein Hinweis auf eine E.-suis-Infektion vorlag. Bei 2 Sauen musste das Ergebnis der serologischen Untersuchung aber als fraglich interpretiert werden, da zumindest Titer in geringer Höhe vorhanden waren. In allen 5 Fällen verlief der Hemmstofftest im Harn positiv. Hier kann deshalb eine frühzeitig mit Antibiotika vorbehandelte E.-suis-Infektion nicht ausgeschlossen werden.

Das Angehen der E.-suis-Infektion sowie die Entwicklung einer hämorrhagischen Zystitis hing eng mit dem Grad der Vorschädigung des Blasenepithels durch andere Erreger zusammen. Es muss deshalb mit dem gehäuften Auftreten von Mischinfektionen gerechnet werden. Aus intakten Blasen wurde E. suis in der Regel schnell eliminiert.

Einige Autoren sind der Meinung, dass bei Harnwegsinfektionen anhand von Serumtitern eine Nierenbeteiligung belegt werden kann. Bei der Corynebacterium-renale-Infektion des Rindes fanden Hiramune et al. (1972, 1975) ausschliesslich bei solchen Tieren eine positive serologische Reaktion, die sowohl an einer Zystitis als auch an einer Pyelonephritis erkrankt waren. Aus den eigenen Ergebnissen ergab sich eine solche diagnostische Möglichkeit nicht, da bei den Probanden die Serumtiterentwicklung nicht von der Lokalisation der Harnwegsinfektion abhängig war. Ebenso konnte Wagner (1990) bei Escherichia-coli-Infektionen anhand der Serumtiter bei Sauen nicht auf eine Nierenbeteiligung schliessen. Beim Menschen und beim Kaninchen präsentierten sich bei Mitbeteiligung der Nieren deutlich höhere Titer als bei separaten Blasenentzündungen (Ritzerfeld et al., 1969; Kienitz, 1970; Clark et al., 1971; Thomas et al., 1974). In dieser Hinsicht sind besonders 2 artifiziell infizierte Sauen zu erwähnen, die am Ende der Untersuchung E. suis aus dem Harntrakt eliminiert hatten. Sie liessen zwar keine Zystitis mehr erkennen, zeigten jedoch jeweils einseitig einen Nierenabszess. Bei diesen Tieren entwickelten sich die höchsten Titer von 1:512. Ansonsten war die Titerhöhe als diagnostischer Hinweis nicht verwendbar, da sie nicht eindeutig mit einer Nierenbeteiligung korrelierte. Eine Beziehung kann dagegen eher zwischen der Entstehung eines Serumtiters und dem Vorhandensein einer hämorrhagischen Zystitis vermutet werden, da die zuvor bei einmalig untersuchten Tieren registrierte Tendenz im Zusammenhang mit den experimentellen Infektionen bestätigt werden konnte.

Um die Einbeziehung der Nieren ins Infektionsgeschehen festzustellen, wird in der Literatur als weitere diagnostische Methode der Nachweis von antikörperbeladenen Bakterien im Harn vorgeschlagen. Eine Reihe von Autoren beschreiben bei Mensch und Tier eine enge Beziehung zwischen solchen mit Antikörpern bedeckten Erregern und Infektionen der oberen Harnwege (Jones et al., 1974; Thomas et al., 1974; Nicolet und Fey, 1979; Ratner et al., 1981; Langfeldt et al., 1990). Riedasch et al. (1978) sind dagegen der Meinung, dass eine solche lokale Immunreaktion unabhängig von der Lokalisation durch Läsionen am Harnepithel induziert wird.

Ob die Antikörper in Serum oder Harn eine Schutzwirkung gegen eine Harnwegsinfektion bieten, ist noch weitgehend unklar (Hand et al., 1971; Osborne et al., 1979; Parsons, 1986). Es gibt Hinweise aus der Humanmedizin, dass zumindest die lokale Immunantwort in der Blase eine gewisse Protektion hervorruft (Kaijser et al., 1978, 1983; Svanborg-Eden und Svennerholm, 1978; Riedasch et. al., 1983; Measley und Levison, 1991). Für gramnegative Keime aus dem Harn vom Menschen (E. coli, Proteus sp., Pseudomonas sp.) liess sich andererseits die Produktion von Proteasen belegen, die in der Lage sind, IgA zu zerstören. Die Protease-Bildung könnte damit eine Bedeutung als Virulenzfaktor haben (Milazzo und Delisle, 1984). Im vorliegenden Patientengut dürfte den im Serum befindlichen Immunglobulinen kaum eine protektive Wirkung zukommen, da ein Teil der seropositiven Sauen sich aufgrund einer fortgeschrittenen Urämie schon in einem moribunden Zustand befand.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass der vorgestellte fluoreszenzserologische Test eine sehr spezifische Methode darstellt, um eine bestehende E.-suis-Infektion bei der Sau nachzuweisen. Es muss jedoch bei einmaliger Kontrolle je nach Vorbehandlung oder Krankheitsstadium mit falsch negativen Ergebnissen gerechnet werden, da eine Serokonversion entweder gar nicht oder frühestens nach 3 Wochen eintritt. Eine serologische Verlaufskontrolle nach 3–4 Wochen kann zur Diagnosesicherung dienlich sein, im Einzelfall kommt es aber erst nach 8 Wochen zur Antikörperbildung. In der Praxis wird aufgrund des oft akuten Krankheitsverlaufes eine Zweituntersuchung kaum Bedeutung haben. Über die Lokalisation der Erkrankung vermittelt die serologische Untersuchung bei der E.-suis-Infektion keinen gesicherten Aufschluss.

Literatur

Bourne F.J., Curtis J., Wah L.S. (1973):
Urinary immunglobulins in the adult pig.
Immunol. *24*, 1–12.

Bremner D.A., Fairley K.F., O'Keefe C., Kincaid-Smith P. (1969):
The serum antibody response in renal and bladder infections.
Med. J. Austr. *24*, 1069–1071.

Clark H., Ronald A.R., Turck M. (1971):
Serum antibody response in renal versus bladder bacteriuria.
J. inf. Dis. *123*, 539–543.

Decker K., Hirsch H.A. (1971):
Serumantikörper bei Harnwegsinfektionen nach gynäkologischen Operationen.
Dtsch. med. Wochenschr. *96*, 66–71.

Fuhrmann G. (1980):
Pathogenese der rekurrierenden Harnwegsinfektionen – immunologische Aspekte.
Euromed. *10*, 582–584.

Hand W.L., Smith J.W., Sanford J.P. (1971):
The antibacterial effect of normal and infected urinary bladder.
J. Lab. clin. Med. 77, 605–615.

Hanson L.A., Ahlstedt S., Carlsson B., Jodal U., Lindberg U., Sohl A. (1974):
Studies of secretory antibodies to E. coli in human urine compared to the serum antibody content.
Adv. exp. Med. Biol. *45*, 399–408.

Hiramune T., Inui S., Murase N., Yanagawa R. (1972):
Antibody response in cows infected with Corynebacterium renale with special reference to the differentiation of pyelonephritis and cystitis.
Res. vet. Sci. *13*, 82–86.

Hiramune T., Murase N., Yanagawa R. (1975):
Efficacy of antibiotic treatment in cows affected with cystitis and those affected with pyelonephritis due to Corynebacterium renale.
Jap. J. vet. Sci. *37*, 465–468.

Jones S.R., Smith J.W., Sanford J.P. (1974):
Localisation of urinary tract infections by detection of antibody-coated bacteria in urine sediment.
N. Engl. J. Med. *290*, 591–593.

Kaijser B., Larsson P., Nimmich W., Söderström T. (1983):
Antibodies to Escherichia coli K and O antigens in protection against acute pyelonephritis.
Prog. Allergy *33*, 275–287.

Kaijser B., Larsson P., Olling S. (1978):
Protection against ascending Escherichia coli pyelonephritis in rats and significance of local immunity.
Inf. Immun. *20*, 78–81.

Kauko L., Schildt R., Sandholm M. (1977):
Corynebacterium suis emakoiden pyelonefriitin aihenttajana suomessa (Pyelonephritis of the sow caused by Corynebacterium suis.).
Suom. Eläinl. *83*, 489–492.

Kienitz M. (1970):
Der Wert serologischer Untersuchungen für Diagnose und Verlaufsuntersuchungen von Harnwegsinfektionen des Kindes.
Dtsch. med. Wochenschr. *95*, 1155–1160.

Langfeldt N., Wendt M., Amtsberg G. (1990):
Vergleichende Untersuchungen zum Nachweis von Corynebacterium suis-Infektionen beim Schwein mit Hilfe der indirekten Immunfluoreszenz und der Kultur.
Berl. Münch. tierärztl. Wochenschr. *103*, 273–276.

Examens sérologiques pour la détection d'anticorps contre Eubacterium suis chez le porc

Une méthode pour la détection d'anticorps contre Eubacterium suis (E. suis) dans le sérum de porcs à l'aide d'un test immunofluorescent indirect est présentée. Trente-cinq truies avec une infection des voies uriniares ainsi que 43 truies témoins saines ont été utilisées dans cet essai. Les résultats de la sérologie ont été comparés avec ceux de la détection de l'agent pathogène dans l'urine. Afin d'obtenir une spécificité de 100%, à partir de 1:16++ un titre peut être considéré comme positif. La valeur de la sensibilité était en conséquence 78.9%. Des connaissances sur les conversions sériques et sur le profil du développement du titre ont pu être obtenues chez 15 truies infectées avec E. suis. Des anticorps ont été détectés au plus tôt 3 semaines après l'infection et sont apparus de préférence chez les truies qui avaient une cystite hémorrhagique. Aucune relation entre une contribution possible du rein et le développement du titre et de son niveau n'a été observée. Des tests sérologiques peuvent s'avérer négatifs, lorsqu'une réponse immunitaire suffisante n'a pas encore eu lieu ou lorsque la formation d'anticorps est absente lors d'une infection de la vessie de courte durée.

Analisi serologiche per l'identificazione di anticorpi nel maiale contro l'Eubacterium suis

Viene presentato un metodo per l'accertamento di anticorpi mediante un test immunofluorescente contro l'Eubacterium suis nel siero di maiale. Per gli esperimenti vennero messe a disposizione 35 scrofe con infezioni alle vie urinarie e 43 scrofe sane come controllo. In 19 delle scrofe malate venne rilevato E. suis nel controllo. In 198 delle scrofe malate venne rilevato E. suis nelle urine. I risultati sierologici vennero confrontati con l'attuale accertamento del batterio nelle urine. Per raggiungere una specificità del 100% è necessario riconoscere come positivo una titolazione a partire da 1:66 ++. La sensibilità del test si aggirava dunque intorno al 78.9%. Ragguagli sulla seroconversione e sullo sviluppo della titolazione vennero ottenuti sperimentalmente con delle scrofe precedentemente infettate con E. suis. Gli anticorpi poterono essere identificati al più presto 3 settimane dopo l'infezione e in particolare in scrofe affette da cistite emorragica. Non si poterono riscontrare dei parallelismi fra una possibile partecipazione dei reni e lo sviluppo della titolazione nonostante l'infezione, anche negative, se non è ancora avvenuta una sufficiente risposta del sistema immunitario o se il breve contatto nella vescica non basta per innescare la produzione di anticorpi.

Lindberg U., Ahlstedt S., Hanson L.A., Sohl A. (1973):
Determination of E. coli antibodies in unconcentrated urine with enzyme-linked immunosorbent assay.
Scand. J. Immunol. *2*, 320–321.

Measley R.E., Levison M.E. (1991):
Host defense mechanisms in the pathogenesis of urinary tract infection.
Med. Clin. North Am. *75*, 275–286.

Milazzo F.H., Delisle G.J. (1984):
Immunoglobulin A proteases in gram-negative bacteria isolated from human urinary tract infections.
Inf. Immun. *43*, 11–13.

Neal D.E., Kaack M.B., Baskin G., Roberts J.A. (1991):
Attenuation of antibody response to acute pyelonephritis by treatment with antibiotics.
Antimicrob. Agents Chemother. *35*, 2340–2344.

Nicolet J., Fey H. (1979):
Antibody coated bacteria in urine sediment from cattle infected with Corynebacterium renale.
Vet. Rec. *105*, 301–303.

Osborne C.A., Klausner J.S., Lees G.E. (1979):
Urinary tract infections: Normal and abnormal host defense mechanisms.
Vet. Clin. North Am.: Small Anim. Pract. *9*, 587–609.

Parsons C.L. (1986):
Pathogenesis of urinary tract infections. Bacterial adherence, bladder defense mechanisms.
Urol. Clin. North Am. *13*, 563–568.

Ratner J.J., Thomas V.L., Sanford B.A., Forland M. (1981):
Bacteria-specific antibody in the urine of patients with acute pyelonephritis and cystitis.
J. inf. Dis. *143*, 404–412.

Reid G., Sobel J.D. (1987):
Bacterial adherence in the pathogenesis of urinary tract infection: a review.
Rev. inf. Dis. *9*, 470–487.

Rene P., Dinolfo M., Silverblatt F.J. (1982):
Serum and urogenital antibody responses to Escherichia coli pili in cystitis.
Inf. Immun. *38*, 542–547.

Riedasch G., Heck P., Rautenberg E., Ritz E. (1983):
Does low urinary sIgA predispose to urinary tract infection?
Kidney Int. *23*, 759–763.

Riedasch G., Ritz E., Möhring K., Bommer J., Sis J. (1978):
Antibody-coating of urinary bacteria: relation to site of infection and invasion of urothelium.
Clin. Nephrol. *10*, 239–244.

Ritzerfeld W., Prat V., Komickova L., Losse H. (1969):
Zur Diagnostik von Harnwegsinfekten. Über die Korrelation von Harnwegsinfektion und Antikörper-Titer im Tierversuch.
Fortschr. Med. *87*, 1293–1295.

Smith J., Holmgren J., Ahlstedt S., Hanson L.A. (1974):
Local antibody production in experimental pyelonephritis: amount, avidity and immunglobulin class.
Inf. Immun. *10*, 411–415.

Smith J.W., Hand W.L. (1972):
Immunglobulin content and antibody activity in urine in experimental urinary tract infection.
J. Immunol. *108*, 861–866.

Svanborg-Eden C., Svennerholm A.-M. (1978):
Secretory immunoglobulin A and G antibodies prevent adhesion of Escherichia coli to human urinary tract epithelial cells.
Inf. Immun. *22*, 790–797.

Thomas V., Shelokov A., Forland M. (1974):
Antibody-coated bacteria in the urine and the site of urinary-tract infection.
N. Engl. J. Med. *290*, 588–590.

Wagner S. (1990):
Die Immunreaktion bei der durch Escherichia coli bedingten chronischen Harnwegsinfektion des weiblichen Schweines.
München, Tierärztl. Fak., Diss.

Wendt M. (1992):
Untersuchungen zur Diagnostik und zur Charakterisierung von Harnwegsinfektionen der Sau unter besonderer Berücksichtigung von Eubacterium suis.
Hannover, Tierärztl. Hochsch., Habil. Schr.

Wendt M., Aengenheister J. (1989):
Endoskopische Untersuchung der Harnblase bei Zuchtsauen – ein Beitrag zur Zystitisdiagnostik.
Tierärztl. Prax. *17*, 273–279.

Wendt M., Langfeldt N., Amtsberg G. (1990):
Comparison of different methods for detection of Corynebacterium suis infections in sows and boars.
in: 11th Int. Pig Vet. Soc. (IPVS) Congr., Lausanne (1.-5.7. 1990), Proc., S. 177.

Korrespondenzadresse: PD Dr. Michael Wendt, Klinik für kleine Klauentiere, Tierärztliche Hochschule Hannover, Bischofsholer Damm 15, D-30173 Hannover

Manuskripteingang: 8. Dezember 1993