

Aus dem Department für Nutztiere und öffentliches Gesundheitswesen
der Veterinärmedizinischen Universität Wien

Universitätsklinik für Schweine

Leiterin: Univ.-Prof. Dr. med. vet. Andrea Ladinig Dipl. ECPHM

**Vergleichende Untersuchung verschiedener Nachweisverfahren zur
Bestimmung von Spulwurminfektionen in österreichischen
Hausschweinebeständen**

Diplomarbeit

Veterinärmedizinische Universität Wien

vorgelegt von
Christian Winkler

Wien, im September 2020

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung und Fragestellung	- 1 -
1.1	Hypothese	- 2 -
2	Literaturübersicht.....	- 3 -
2.1	Erreger	- 3 -
2.1.1	Systematik	- 3 -
2.1.2	Morphologie	- 3 -
2.1.3	Entwicklung.....	- 3 -
2.1.4	Vorkommen und Epidemiologie	- 4 -
2.1.5	Pathogenese	- 7 -
2.1.6	Immunität und genetische Einflüsse.....	- 8 -
2.1.7	Wirtschaftliche Bedeutung des Erregers	- 9 -
3	Material und Methoden	- 11 -
3.1	Probennahme und Leber Scoring	- 11 -
3.2	Kotuntersuchung.....	- 12 -
3.2.1	Flotationsverfahren.....	- 12 -
3.2.2	McMaster-Zählung	- 13 -
3.3	Untersuchung der Blutproben.....	- 14 -
3.3.1	Vorbereitung der Proben	- 14 -
3.3.2	ELISA	- 15 -
3.4	Statistische Auswertung	- 17 -
4	Ergebnisse.....	- 18 -
4.1	Deskriptive Statistik	- 18 -
4.1.1	Milkspots	- 18 -
4.1.2	Flotation.....	- 18 -

4.1.3	ELISA.....	- 18 -
4.2	Bestimmung von Sensitivität und Spezifität	- 21 -
5	Diskussion	- 29 -
6	Zusammenfassungen	- 41 -
6.1	Zusammenfassung	- 41 -
6.2	Summary.....	- 43 -
7	Literaturverzeichnis	- 45 -
8	Abbildungsverzeichnis	- 49 -
9	Tabellenverzeichnis	- 50 -

1 Einleitung und Fragestellung

Spulwurminfektionen im Schwein zählen zu den am häufigsten festgestellten Parasitosen. Die Prävalenz innerhalb eines Betriebes kann abhängig vom Betriebssystem und Betriebsablauf recht unterschiedlich sein. So konnten in einer Untersuchung in Norddeutschland 33 % der untersuchten Proben aus dem Endmastbereich von Schweinemastbetrieben als positiv auf Spulwurmeier befundet werden (Joachim et al. 2001). Diagnostisch wurden Infektionen mit *Ascaris (A.) suum* bislang vorwiegend entweder durch Nachweis der Eier im Kot mittels Flotationsverfahren oder, sofern die Möglichkeit der Beurteilung von Lebern am Schlachthof gegeben war, durch indirekten Nachweis über die Feststellung von Milkspots detektiert. Die herkömmlichen Verfahren haben aber auch Einschränkungen. Zum einen können bei der Flotationsmethode falsch positive Ergebnisse durch orale Aufnahme von Spulwurmeierkontaminiertem Kot und darauffolgender Darmpassage auftreten (Boes et al. 1997) und zum anderen können Schlachtlebern frei von Milkspots sein, da diese nach einiger Zeit wieder abheilen können und die Leber daher unauffällig erscheint.

Jede Aufnahme von embryonierten und infektiösen Spulwurmeiern resultiert mehr oder weniger in sogenannten Wanderlarven, welche zuerst den Darm verlassen und folglich über das Blutssystem in Leber und Lunge gelangen, um sich schließlich im Darm zum adulten Wurm zu entwickeln. Die meisten Larven jedoch werden vor der Körperwanderung wieder ausgeschieden ohne sich vollständig zu einem adulten Wurm zu entwickeln (Roepstorff et al. 1997; Nejsun et al. 2009). Während der Körperwanderung kommt das Immunsystem des Schweines in Kontakt mit Antigenen von *A. suum*. Dieser Kontakt mit immunogenen Strukturen des Spulwurms resultiert in der Bildung von Antikörpern. Nach dieser Erkenntnis wurde von der Firma Svanova (Boehringer Ingelheim Svanova, Uppsala, Schweden) ein kommerzieller indirekter ELISA-Kit angeboten, mit dem Antikörper, die gegen das *A. suum*-Hämoglobin gerichtet sind, nachgewiesen werden können. Dies ermöglicht einen sehr zuverlässigen Nachweis von Spulwurminfektionen, da in infizierten Schweinen spätestens sieben Wochen nach der Infektion Antikörper im Blut nachweisbar sind, auch wenn weder Eiausscheidung noch Milkspots nachweisbar waren (Vlaminck et al. 2015).

Da in Österreich bisher noch keine serologischen Untersuchungen zum Nachweis von Antikörpern gegen Schweinespulwurmantigene beim Schwein im Vergleich zu herkömmlichen Nachweismethoden durchgeführt wurden, soll durch diese Studie auf die weite Verbreitung von Spulwürmern in der österreichischen Mastschweinepopulation hingewiesen werden. Die Exposition von Schweinen mit wandernden *A. suum*-Larven kann einen nicht unerheblichen Einfluss auf das Wachstum und die Wirtschaftlichkeit eines Betriebes haben. Durch den sensitiveren Nachweis einer Spulwurminfektion mittels ELISA (Vlaminck et al. 2015) steht nun eine Nachweismethode für Tierärzte zur Verfügung, um entsprechende Verbesserungen im Gesundheitsmanagement eines Schweinebetriebes vorzunehmen und die Gesundheit bzw. Wirtschaftlichkeit der Schweine dadurch zu steigern.

1.1 Hypothese

Für diese Studie wurde folgende Hypothese aufgestellt: Der Nachweis von Antikörpern gegen *A. suum*-Hämoglobin mittels des ELISA SERASCA® (Boehringer Ingelheim Svanova, Uppsala Schweden) ist die aktuell sensitivste Methode zum Nachweis einer Spulwurminfektion in österreichischen Mastschweinen.

Es ist in Österreich nach wie vor unüblich in Schweinemastbetrieben entsprechende Untersuchungen zum Nachweis von Spulwurminfektionen durchzuführen, da durch die Rückmeldung seitens der Schlachtkörper- und Organbeurteilung eine gewisse Basis zur Einschätzung eines Spulwurmbefalls geschaffen wurde. Dies veranlasst aber Tierärzte und Landwirte sich auf diese teilweise nicht gewissenhaft dokumentierte Prävalenz von Milkspot-Lebern einer Schlachtpartie zu verlassen. Mehrere Studien haben nun belegt, dass das aber eine wenig zuverlässige Methode nicht so ist (Vlaminck et al. 2015; Vlaminck et al. 2012). Diese Studie dient in diesem Sinne auch der Bewusstseinsbildung bei Landwirtinnen und Landwirten, aber auch bei Tierärzten und Tierärztinnen, die in der Schweinepraxis tätig sind.

2 Literaturübersicht

2.1 Erreger

2.1.1 Systematik

Der Schweinespulwurm (*Ascaris suum*) gehört zum Stamm der Fadenwürmer (Nematoda). Unter den Nematoden zählt er zur Klasse der Secernentea. In der Klasse der Secernentea fällt er in die Ordnung der Spulwürmer (Ascaridida). Die Ordnung der Spulwürmer wird in zwei Überfamilien unterteilt. Die eine Überfamilie wird als Heterakoidea bezeichnet und die andere Überfamilie, zu der auch die Familie des Schweinespulwurms zählt, wird als Ascaridoidea bezeichnet. In der Überfamilie der Ascaridoidea gehört der Schweinespulwurm zur Familie der Ascarididae und darin wiederum zur Gattung *Ascaris* (Deplazes et al. 2013).

2.1.2 Morphologie

Die männlichen Adultstadien von *A. suum* werden 15-25 cm lang und 3-5 mm dick. Das Hinterende des Männchens ist leicht eingerollt und trägt 2 etwa 2 mm lange Spiculae. Die weiblichen Adultstadien werden 20-30 cm lang und ebenfalls 3-5 mm dick. Beim Weibchen befindet sich die Vulva am Übergang vom 1. zum 2. Körperdrittel. Beim Männchen sowie beim Weibchen säumen 3 deutliche, mit kleinen Zähnen versehene Lippen die Mundöffnung. Die Eier sind oval dickschalig mit einem dreischichtigen Aufbau, bräunlich und außen mit einer höckerigen und klebrigen Proteinschicht versehen (Deplazes et al. 2013; Joachim, 2006).

2.1.3 Entwicklung

Der Adultus von *A. suum* lebt im Darmlumen. Dabei legen die Weibchen täglich bis zu 200 000 Eier, die anschließend mit dem Kot ausgeschieden werden. Die Entwicklung des Embryos findet im Freien statt. Diese Entwicklung endet mit dem Larvenstadium III. Im Labor dauerte diese Entwicklung zwei bis drei Wochen. Dabei befanden sich die Eier in einer feuchten Umgebung bei ca. 28°C mit Zugang zu Sauerstoff (Deplazes et al. 2013).

Die Infektion geschieht über die orale Aufnahme von embryonierten Eiern. Der Schlupf der Larven erfolgt nach der oralen Aufnahme binnen weniger Stunden im Magen und im Dünndarm. Die geschlüpften Larven bohren sich über die Darmwand des hinteren Dünndarms, Zäkums und Kolons in die Mesenterialvenen. Sie erreichen die Leber innerhalb von sechs Stunden *post infectionem* (p.i.). Dort wandern die Larven im Leberparenchym für circa vier bis

sechs Tage. Diese Wanderung durch die Leber verursacht Schäden im Leberparenchym und eine Entzündungsreaktion, gefolgt von der Ausbildung von bindegewebig organisierten Milkspots. Einen Tag danach gelangen die Larven in die Lunge. Über das Eindringen in die Alveolen gelangen sie in die Bronchien. Von dort wandern sie über die Trachea und den Larynx in den Pharynx. Diese Wanderung wird als trachealer Wanderweg bezeichnet. Im Pharynx werden die Larven abgeschluckt und dadurch gelangen sie wieder in den Verdauungstrakt. Die letzte Häutung findet am 25.Tag nach der Infektion im Dünndarm statt. Durch diese letzte Häutung werden die Larven zu Adulten. Die Präpatenz beträgt ca. sechs bis acht Wochen (Deplazes et al. 2013; Joachim, 2006; Roepstorff et al. 1997; Roepstorff 2003).

2.1.4 Vorkommen und Epidemiologie

A. suum ist weltweit in schweineproduzierenden Ländern zu finden. Dabei ist der Parasit am häufigsten in der Altersgruppe Mastschwein anzutreffen. Egal um welche Haltungsbedingungen es sich dabei handelt, kann der Erreger ein wichtiger Faktor für die Gesundheit und die Wirtschaftlichkeit einer Schweinehaltung sein (Deplazes et al. 2013).

Eigenschaften des Erregers, die epidemiologisch von besonderer Bedeutung sind:

- Die hohe Reproduktionsrate des Parasiten
- Die langsame exogene Entwicklung
- Die ausgeprägte Tenazität der *Ascaris*-Eier
- Die Übertragungsbedingungen
- Die Populationsbiologie

Reproduktionsrate der Parasiten, exogene Entwicklung und Tenazität der Eier

Die Reproduktionsrate von *A. suum* ist beachtlich. Ein einzelnes weibliches Individuum kann bis zu 200 000 Eier pro Tag produzieren. Zu beachten ist aber, dass die Eiproduktion nach zwei bis drei Wochen ohne Vorhandensein von männlichen Individuen stoppt. Jedoch nehmen die weiblichen Individuen die Eiproduktion wieder auf, wenn diese wieder Kontakt zu männlichen Individuen haben. Dies konnte man in einem Versuch bestätigen, in dem adulte weibliche *A. suum* in naive Schweine übertragen wurden, die eben nach besagten zwei bis drei Wochen die

Ei Produktion einstellten. Danach wurden männliche Individuen übertragen und die weiblichen Individuen begannen wieder mit der Produktion von Eiern (Jungersen et al. 1997).

Wie oben bereits erwähnt, findet im Ei ein Entwicklungsprozess statt, der es erst möglich macht, dass ein Ei einen Wirt infizieren kann. Dieser Prozess nimmt viel Zeit in Anspruch. Bei Raumtemperatur kann dieser Vorgang bis zu acht Wochen dauern. Dabei muss aber beachtet werden, dass die Entwicklung sistiert, wenn die Temperatur unter 15°C fällt. So kommt es nicht selten vor, dass Eier erst nach ein paar Monaten infektiös werden (Deplazes et al. 2013).

Da die Entwicklung so viel Zeit in Anspruch nimmt und nur unter gewissen Bedingungen stattfinden kann, ist eine hohe Resistenz der Eier gegen Umwelteinflüsse nötig. Diese hohe Tenazität der Eier beruht vor allem auf der dreischichtigen Eischale. Die innere Eischale, die aus 25% Protein und 75% Lipiden besteht, sorgt für eine hohe Chemoresistenz. Für eine ausgeprägte mechanische Stabilität sorgt die mittlere Schicht. Die aus Protein und Chitin bestehende Schicht, ist die stärkste der drei Schichten. Ganz außen liegt eine dünne und unebene Lage aus Mukopolysacchariden. Letztere ist sehr klebrig und begünstigt das Anhaften an unterschiedlichen Oberflächen (Joachim, 2006).

Die größte Anfälligkeit haben die Eier gegenüber trockenen und sonnigen Umwelteinflüssen. Unter diesen Bedingungen, können larvenhaltige Eier bis zu vier Wochen im Schweinekot überleben. Unter feuchten Umweltbedingungen, wie z.B. im feuchten Boden, können die Eier mehr als fünf Jahre infektiös bleiben. In der Gülle überleben larvenhaltige Eier bei Temperaturen von ca. 18°C lediglich für ca. 3 Monate (Joachim, 2006).

Der Infektionsverlauf von *A. suum*, hat eine wenig ausgeprägte Saisonalität. Das liegt zum einen an dem langsam und variabel verlaufenden Entwicklungszyklus in den Eiern und zum anderen an der hohen Tenazität der Eier. Jedoch gelten Herbst und Winter, als die Zeiten der stärksten Exposition, aber das lediglich unter Stallbedingungen (Deplazes et al. 2013).

Übertragungsbedingungen im Schweinebestand

Aufgrund der klebrigen Proteinhülle der Eier bleiben diese an sämtlichen Oberflächen haften. Das kann die Haut von den Tieren sein, die Oberfläche der Stallböden oder der Stallwände, oder aber auch Gegenstände, Insekten und Transportmittel können mit Eiern kontaminiert sein

und somit zur Verbreitung des Erregers beitragen. Ebenfalls problematisch ist, dass Grünflächen durch die Ausbringung von eihaltiger Gülle kontaminiert werden können. Vor allem sind unbefestigte Ausläufe ins Freie ein wichtiger Risikofaktor, da die Eier im feuchten Boden mehrere Jahre überleben können. Zusätzlich nehmen die Schweine auch Regenwürmer auf, der für den Parasiten als Stapelwirt fungiert. Ein Tier kann sich nur durch die orale Aufnahme von larvenhaltigen Eiern infizieren. Dafür ist nur eine geringe Dosis notwendig. Beispielsweise sind bei Ferkeln nur 50 Eier je Tag notwendig - eine sehr niedrige Zahl, wenn man bedenkt, dass ein Adultes *A. suum* Weibchen bis zu 200 000 Eier pro Tag produzieren kann. Was man dabei aber beachten muss, ist, dass es bei einem massiven Befall der Tiere selten zur Ausscheidung von larvenhaltigen Eiern kommt (Deplazes et al. 2013; Joachim 2006; Nansen und Roepstorff 1999).

Populationsbiologie

Ein wesentlicher Faktor, der die Populationsbiologie von *A. suum* bestimmt, ist die immunologische Reaktion der befallenen Wirte. Die Intensität des Befalls ist eher gering, da in der Regel weniger als 40 Würmer je Tier vorkommen. Wie bereits erwähnt kommt es bei einem hohen Befall selten zur Ausscheidung von Eiern, was daran liegt, dass sich bei einer Infektion mit einer hohen Dosis infektiöser Eier weniger adulte Würmer etablieren als bei jener mit einer niedrigen Dosis. Nach der Infektion mit einer hohen Anzahl an Eiern befinden sich auch viele Adulte im Dünndarm, jedoch wird ein hoher Anteil an Parasiten nach zwei bis drei Wochen ausgeschieden. Dadurch kommt es zur Entwicklung einer kleinen Restpopulation mit adulten Würmern. Das Szenario, bei dem sich die stabilste Situation hinsichtlich der Etablierung adulter Würmer im Darm ergibt, ist jenes, bei dem das Ferkel ab der ersten Lebenswoche kontinuierlich mit einer geringen Dosis infektiöser Eier infiziert wird. Dabei kommt es bei fast allen Tieren zur Ausscheidung von Spulwurmeiern und zu einer Infektion mit wenig adulten Würmern. Diese wenigen Würmer persistieren dann in den Mastschweinen bis zur Schlachtreife (Deplazes et al. 2013).

Der Zeitpunkt, an dem die Zahl der Ascariden-Eier in den Ausscheidungen von Schweinen am höchsten ist, ist vor allem von der Form des Managements abhängig. So konnte man nachweisen, dass die Ausscheidung von Ascariden-Eiern bei Mastschweinen am höchsten war, wenn sich die Tiere bereits im Saugferkelalter infizierten. Jedoch sank diese mit zunehmendem

Alter wieder ab. Dies war vor allem in kleinbäuerlichen und Biobetrieben der Fall. Wenn die meisten Ascariden Eier von Zuchttieren ausgeschieden wurden, dann fand eine Infektion erst in der Aufzuchtphase statt. Das war bei intensiv geführten Betrieben der Fall (Schnieder et al. 2006; Nansen und Roepstorff 1999).

2.1.5 Pathogenese

Bei der Pathogenese einer *A. suum* Infektion wird zwischen einer Wander- und einer Darmphase unterschieden. Die erste Interaktion der Parasiten mit dem Wirtsorganismus zeigt sich in Form einer Passage durch die Darmschleimhaut, bei der punktförmige Blutungen, kleine leukozytäre Infiltrationen und ödematöse Schwellungen der Submukosa des Darmes entstehen können. Man geht davon aus, dass dieser Vorgang für die Stimulation des Immunsystems bedeutend ist (Joachim, 2006).

Die Leber wird bereits wenige Stunden nach der Infektion erreicht. Dabei entsteht das Krankheitsbild der Hepatitis interstitialis parasitaria multiplex. Bei diesem Krankheitsbild entstehen als Folgereaktion der Nekrosen im Parenchym, die die Larven durch das umherwandern verursachen, Granulome und Bindegewebsherde in der Leber. Diese Herde werden als Milchflecken oder Milkspots bezeichnet. Sie stellen sich an der Oberfläche der Leber als zwei bis zehn Millimeter große, weißliche und unscharf begrenzte Herde dar. Diese Milkspots werden bei der Untersuchung der Lebern am Schlachthof entdeckt. Der Nachteil dieser Detektionsmöglichkeit ist, dass die Milkspots bereits nach wenigen Wochen wieder abheilen und verschwinden. Jedoch hängen der Verlauf und die Ausprägung dieser Veränderungen von der Infektionsdosis ab. So konnte man nachweisen, dass die Zahl der Milkspots bei einer Reinfektion verringert ist. Dies liegt daran, dass weniger Larven in die Leber gelangen (Deplazes et al. 2013).

Von der Leber wandern die Larven in die Lunge. Dort durchbohren sie die Kapillarwand um in die Alveolen zu gelangen. Dieser Vorgang führt dann zu punktförmigen Blutungen im Lungengewebe. Histologisch findet man eosinophile Granulozyten und lymphohistiozytäre Zellen (Joachim, 2006).

Histologisch können im Darm Becherzellhyperplasie, Mastozytose, eosinophile Granulozyten, eine Verdickung der Tunica muscularis und eine Zottenatrophie in der Darmwand nachgewiesen werden. Wenn die Tiere dann die Eier ausscheiden, fressen sie weniger, nehmen

weniger an Gewicht zu, haben eine verminderte Stickstoffretention und eine beeinträchtigte Fettverdauung. Zusätzlich wird die Laktaseaktivität beeinträchtigt. Das kann zu einer osmotischen Diarrhö führen, da dadurch die Laktose nicht mehr oder nur unzureichend abgebaut werden kann (Deplazes et al. 2013).

2.1.6 Immunität und genetische Einflüsse

Bei der Immunantwort gegen *A. suum*, handelt es sich sowohl um eine humorale als auch um eine zelluläre Immunantwort. Bei der humoralen Immunantwort werden unterschiedliche spezifische Antikörper gebildet. Die Art der Antikörper die gebildet werden, sind von der Entwicklung der Larven und von dem Standort ihres Wanderwegs, abhängig. Das bedeutet, dass für die Antigene des jeweiligen Entwicklungsstadiums der Larven spezifische Antikörper gebildet werden. Es wird angenommen, dass Antikörper bei der Immunabwehr von *A. suum* eine wichtige Rolle spielen. Diese Annahme basiert auf dem Nachweis einer sogenannten Th₂-Polarisierung. Es konnte nachgewiesen werden, dass bei hohen IgE-Spiegeln und bei einer ausgeprägten Eosinophilie der Tiere, die Tiere nach einer Reinfektion eine klare Th₂-dominierte Immunantwort entwickeln. Aufgrund der Tatsache, dass Antikörper eine wichtige Rolle bei der Immunantwort spielen, kann auch davon ausgegangen werden, dass die Ferkel einer chronisch mit *A. suum* infizierten Sau maternale, laktogen übertragene Antikörper aufgenommen haben und einen gewissen Schutz bieten (Mejer und Roepstorff 2006; Roepstorff et al. 2011). Die grundsätzliche Bildung von Antikörpern wird nicht durch eine Therapie mit Anthelminthika beeinflusst. Jedoch zeigt eine Studie, dass sich die Menge der Serumantikörper die gegen die Antigene der Larvenstadien L2 und L3 gerichtet sind, durch eine Behandlung ändert im Vergleich zu Tieren, die nicht behandelt wurden (Urban et al. 1989).

Bei Tieren, die ständigen Infektionen mit *A. suum* ausgesetzt sind, bildet sich eine langsam schützende Immunität aus. Dabei handelt es sich um eine prähepatische Barriere. Der Mechanismus dieser Immunität basiert darauf, dass die Larven bereits im Darm abgefangen und über die sogenannte ADCC-Reaktion eliminiert werden. ADCC steht für antibody-dependent cellular cytotoxicity. Dabei handelt es sich um einen Mechanismus, bei dem eine mit einem Antikörper markierte Zielzelle durch eine Effektorzelle zerstört wird. Die Effektorzellen sind meist Natürliche Killerzellen, aber auch Makrophagen, eosinophile und neutrophile Granulozyten. Dies bewirkt eine verringerte Milkspot-Bildung. Neben dieser prähepatischen

Barriere kommt es zu einer Reduktion der Larven in Lunge und in Leber. Diese Art von Immunität ist aber an das Vorhandensein einer adulten Wurmpopulation gebunden. Wird diese Population mit Hilfe von chemotherapeutischen Mitteln beseitigt, kommt es zu einer raschen Wiederbesiedelung des Darms (Deplazes et al. 2013).

Bei den genetischen Einflüssen auf die Befallsintensität von *A. suum* gibt es sogenannte QTL (Quantitative Trait Loci) Kandidaten. An diesen QTLs liegen Gene, die für bestimmte Regulationsmechanismen codieren, die nicht nur Einfluss auf die Regulation der Befallsintensität von *A. suum* nehmen, sondern auch Einfluss auf die Befallsintensität von *Trichuris suis* haben. Diese QTLs können dann züchterisch genutzt werden um die Befallsintensität von *A. suum* oder *T. suis* zu verringern (Nejsum et al. 2009).

2.1.7 Wirtschaftliche Bedeutung des Erregers

Zur wirtschaftlichen Bedeutung von *A. suum* werden unterschiedliche Aussagen getroffen.

A. suum ist als weltweit verbreiteter Endoparasit beim Schwein auch jener, welcher die höchsten wirtschaftlichen Verluste unter den Endoparasiten verursacht. Die wirtschaftlichen Verluste entstehen, indem *A. suum* einen negativen Einfluss auf die täglichen Zunahmen und die Futterverwertung in der Schweinemast hat. Dabei korreliert die Anzahl der adulten *A. suum* Würmer mit der Reduktion der täglichen Zunahmen (Ózsvári 2018). Es kommt zu einer Verschlechterung der Futterverwertung bei einer subklinischen Infektion um üblicherweise 3-6%. Das macht in den USA einen geschätzten wirtschaftlichen Verlust von 155 Mio. Dollar jährlich aus. (Stewart und Hale 1988). Neben der verschlechterten Futterverwertung entstehen wirtschaftliche Verluste durch das Verwerfen von Lebern mit Milkspots am Schlachthof (Ózsvári 2018). Dies ist allerdings nur in Ländern von Bedeutung, wo es durch das Verwerfen der Lebern zu einem finanziellen Abzug des Schlachtpreises kommt (z.B. Deutschland).

Der Futterverbrauch steigt linear mit der Infektionsdosis an. Ebenso zeigen infizierte Tiere eine gesteigerte Ausscheidung von Stickstoff und eine schlechtere Verdauung hinsichtlich Rohprotein, Trockenmasse und der Bruttoenergie (Hale et al. 1985).

Durch den Einsatz von Anthelminthika wird die Anzahl der adulten Würmer im Darm verringert und die Zuwachsrate bei natürlicher Exposition signifikant gesteigert. Die

Futtermittelverwertung bleibt unverändert und bei Inokulation mit *A. suum* Eiern kann die Zuwachsrate mit einer therapeutischen Behandlung nicht verbessert werden. Dennoch wird das Wachstumspotential bei natürlicher Exposition und ohne therapeutische Behandlung dauerhaft geschädigt (Urban et al. 1989).

Bei einer natürlichen Exposition führt die Anwendung von Anthelminthika zu einer Reduktion der Eiausscheidung, jedoch nicht zu einer Reduktion der Milkspot-Lebern. Ebenso bleiben die Futtermittelverwertung und die täglichen Zunahmen unverändert. In der Praxis zeigt die Anwendung von Anthelminthika eventuell erst nach einigen Durchgängen eine Verbesserung der Leistungsparameter und eine Verringerung der Milkspot-Lebern (Boes et al. 2010).

Durch die Anwendung von Anthelminthika konnte man bei positiv getesteten Tieren bereits nach dem ersten Durchgang einen Rückgang des Antikörperspiegels gegen *A. suum* feststellen. Zusätzlich zeigte sich das Antikörperspiegel von L3-Lungen-Antikörpern als ein signifikanter Prädiktor für verminderte tägliche Zunahmen, eine schlechtere Futtermittelverwertung und einer verlängerten Mastdauer. Ähnliches konnte man in der Studie von Vlaminck et al. (2015) bezüglich betroffener Lebern und AsHb-Antikörperspiegel feststellen (Vlaminck et al. 2015). Dies zeigt wiederum, wie nützlich die Serologie als Instrument zur Beurteilung des *A. suum* Infektionsniveaus ist und weist es auf einen Effekt einer *A. suum*-Infektion auf die Produktivität hin. Dies bedeutet jedoch nicht, dass die Anwendung von Anthelminthika gegen *A. suum* die Produktivität verbessern muss, da mehrere Faktoren einen Einfluss auf die Produktivität haben (Vandekerckhove et al. 2019).

Die Behandlung von Schweinen mit 2,5 mg Fenbendazol pro kg Körpergewicht an zwei aufeinander folgenden Tagen in Woche eins und Woche sechs der Mastperiode verringerte das Vorhandensein von *A. suum*-Eiern im Kot. In Ställen, die die Behandlung erhielten, wurden 69,8% weniger Lebern beim Schlachten verworfen. Schweine mit *A. suum* Eiern im Kot in Woche sechs der Mastperiode, hatten um 61,8g niedrigere Tageszunahmen als Tiere ohne Parasiteneier. Die Behandlung mit Fenbendazol konnte nicht mit einer Veränderung der täglichen Zunahmen in Verbindung gebracht werden und hatte keinen messbaren Einfluss auf den Magerfleischanteil (Lassen et al. 2017).

3 Material und Methoden

3.1 Probennahme und Leber Scoring

Die Probennahme erfolgte am Schlachthof Berger in Sieghartskirchen. Dabei wurden von zehn Tieren je Betrieb Blut und Kotproben genommen. Es wurden insgesamt 18 Betriebe beprobt. Es wurden an 5 Tagen Proben genommen und entsprechend Lebern am Schlachtband beurteilt. Die Gewinnung der Blutproben erfolgte nach dem Entblutungsschnitt mit Hilfe einer 10ml Serum Primavette (KABE Labortechnik GmbH, Nümbrecht-Elsenroth, Deutschland). Zur Gewinnung der Kotproben wurde der herausgelöste Darm am Rektum oder Colon aufgeschnitten. Anschließend wurde der Kot, der sich im Darmabschnitt befand, in einen Kotbecher überführt. Bei jedem Betrieb von dem Kot und Blutproben gesammelt wurden, wurden auch die Lebern der Schlachtschweine des jeweiligen Betriebs auf Milkspots untersucht. Dabei wurden max. 70 Tiere bzw. Lebern des Betriebes beurteilt und nach hochgradigen, mittelgradigen oder geringgradigen Befall eingeteilt. Die Einteilung erfolgte unter folgenden Kriterien:

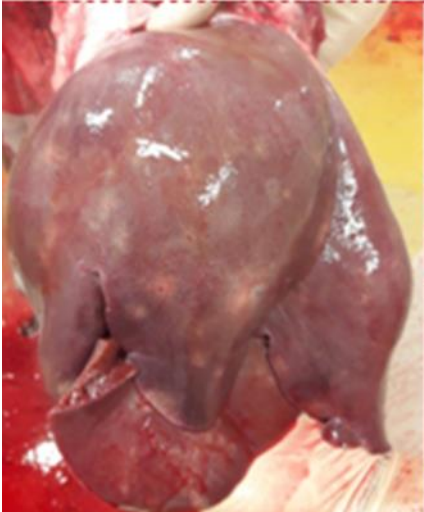
		
Leber mit hochgradigem Milkspotbefall	Leber mit mittelgradigem Milkspotbefall	Leber mit geringgradigem Milkspotbefall
hgr.: >20 Milkspots	mgr.: Zwischen 5 und 20 Milkspots	ggr.: <5 Milkspots

Abbildung 1 verschiedene Lebern mit unterschiedlicher Anzahl an Milkspots

Für die Probennahme waren drei Personen zuständig. Eine Person entnahm die Kot- und Blutproben. Das war gleichzeitig möglich, da der Entblutungsschnitt und das Herauslösen des Darms im Schlachtprozess zeitversetzt erfolgten. Die zweite Person war für die Beurteilung der Lebern zuständig. Für die Dokumentation war die dritte Person zuständig. Dokumentiert wurden die Nummer des Tieres, Entnahme von Blut- und Kotprobe, Milkspotbefall (siehe Anhang). Die Nummerierung der Tiere erfolgte mit der Vergabe einer Betriebsnummer. Diese Nummer war eine einfache fortlaufende Nummer, die nach der Reihenfolge, wann die Betriebe beprobt wurden, vergeben wurde. Der erste Betrieb bekam die Nummer Eins und der letzte Betrieb die Nummer Achtzehn. Gleichmaßen wurden die beprobten Tiere fortlaufend durchnummeriert. Um eine Doppelbeprobung eines Betriebs auszuschließen, wurden die LFBIS Nummern der achtzehn Betriebe während dem Proben ziehen festgehalten. Während der Entnahme der Proben bei Betrieb Nummer Vier waren drei Darmschlingen nicht zuordenbar, daher wurden diese aus der Studie ausgeschlossen. Weshalb bei Betrieb Vier anstelle von zehn Kot- und Blutproben nur jeweils sieben Proben vorhanden waren.

3.2 Kotuntersuchung

Die Kotuntersuchung erfolgte mittels Flotationsverfahren. Dabei wurden zuerst alle Proben auf das Vorhandensein von *A. suum*-Eier untersucht und anschließend wurden die positiven Proben mittels McMaster Auszählung ausgewertet. Es kam folgendes Protokoll beim Flotationsverfahren zur Anwendung:

3.2.1 Flotationsverfahren

Geräte:

- Zentrifuge Universal 16 von der Firma Hettich
- Mikroskop Olympus von der Firma Nikon
- Minishaker IKA

Material:

- Reibschale / Pistill
- Trichter / Metallsieb
- Zentrifugenröhrchen (15 ml, runder Boden)
- Ösenhalter / Öse (Ø 4 mm, rechtwinkelig gebogen)

- Objektträger / Deckgläser
- Pumpfläschchen

Lösungen:

- Kristallzucker-Lösung mit einer Dichte von $1,3 \text{ g/cm}^3$.

Methodenbeschreibung:

Zu Beginn wurde ein ca. walnussgroßes Stück Kot in der Reibschale mit ca. 20 ml Leitungswasser und Pistill zu einer homogenen Suspension verrieben. Die Kotsuspension wurde mittels Trichter und Sieb in ein Zentrifugenröhrchen geseiht. Dabei wurde das Röhrchen bis etwa 5 mm unter den Rand angefüllt. Das Röhrchen wurde anschließend bei $690 \times g$ (2500 rpm) 8 Minuten lang zentrifugiert. Im Anschluss erfolgte die Absaugung der überstehenden Flüssigkeit bis auf ein paar Millimeter über dem Sediment, ohne dabei Teile vom Sediment zu entfernen. Als Nächstes erfolgte die Zugabe der Kristallzucker-Lösung aus dem Pumpfläschchen bis 5 mm unter dem Rand des Röhrchens. Das Sediment und die Zuckerlösung bzw. Flotationslösung wurden mithilfe des Minishakers homogenisiert. Nachdem Homogenisieren erfolgte ein erneutes Zentrifugieren des Röhrchens unter den gleichen Bedingungen wie vorher ($690 \times g$ bzw. 2500 rpm für 8 Minuten). Zum Schluss wurden mit der Drahtöse mindestens vier Tropfen von der Oberfläche der Suspension abgenommen und auf einen Objektträger überführt. Die Tropfen auf dem Objektträger wurden mit der Kante der Öse zu einem einheitlichen Tropfen verbunden. Dieser Tropfen wurde mit einem Deckglas ohne Lufteinschlüsse bedeckt und zwar so, dass das Deckglas parallel zum Objektträger ausgerichtet war.

Auswertung

Das Präparat wird bei 100-facher Vergrößerung mäanderförmig durchgemustert. Bei Nachweis von *A. suum*-Eiern wird eine weitere Flotation mit der Probe durchgeführt mit anschließender McMaster-Zählung.

3.2.2 McMaster-Zählung

Methodenbeschreibung

Am Anfang wurde der Kot gut gemischt und exakt 4 g in ein Becherglas eingewogen. Mit der Hilfe des Messzylinders wurden 60 ml der Flotationslösung (Kristallzucker-Lösung) abgemessen und in das Becherglas mit dem Kot eingefüllt. Dieses Gemisch wurde mit Hilfe eines Magnetrührers verrührt. Dabei wurde ein Magnet in das Becherglas gegeben und durch das Anschalten des Magnetrührers startete der Rührvorgang. Während des Rührvorgangs wurde auf eine geringe Lufteinmischung geachtet und mit Hilfe einer Pipette etwas von der Suspension entnommen. Im letzten Schritt befüllte man die McMaster Zählkammer mit der Suspension der Pipette luftblasenfrei. Die Zählkammer wurde vor der Auswertung 5 bis 10 Minuten lang waagrecht gelagert.

Auswertung

Unter dem Mikroskop wurde die Kammer mit 100-facher Vergrößerung mäanderförmig entlang der Raster der Zählfelder mikroskopiert. Alle parasitären Objekte, die sich innerhalb der Zählfelder befanden oder die Begrenzungslinie berührten, wurden mit Hilfe des Handzählers gezählt.

Die Anzahl der Eier pro Gramm Kot wurde mit folgender Formel berechnet:

$$\text{Eier pro Gramm Kot} = \frac{\text{gezählte Eier} * \text{angesetzter Suspension in ml}}{\text{Kotmenge in g} * 0,3}$$

Beispiel Tier 1.3.:

$$5250 = \frac{105 * 60}{4 * 0,3}$$

3.3 Untersuchung der Blutproben

Die Untersuchung der Blutproben erfolgte mit dem SERASCA®-test, ein ELISA Test Kit von der Firma Boehringer Ingelheim mit der Artikelnummer 115842. Dabei wurde das daraus gewonnene Serum auf Antikörper, die gegen *A. suum* gerichtet sind, getestet.

3.3.1 Vorbereitung der Proben

Die Blutproben wurden mit Hilfe von 10 ml Serum Primavetten (KABE Labortechnik GmbH, Nümbrecht-Elsenroth, Deutschland) entnommen und danach 10 Minuten lang bei 805 x g (3000 rpm) und 20°C zentrifugiert. Das Serum wurde dann in Eppendorfgefäße pipettiert und im Gefrierschrank bei -20°C bis zur Analyse gelagert.

3.3.2 ELISA

Bestandteile des ELISA-Test Kits

- 2 x Mikrotiterplatten mit je 96 Wells (12 x 8) (beschichtet mit nicht infektiösen *A. suum* Antigen)
- 24 ml Konjugat (Meerrettich Peroxidase konjugierte Anti-Schweine-Antikörper)
- 125 ml PBS-Tween Lösung
- 20 ml Substrat Lösung (Tetramethylbenzidin in H₂O₂-haltigem Substratpuffer)
- 10 ml Stopp-Lösung (Schwefelsäure)
- 0,12 ml A. positives Kontrollserum
- 0,12 ml B. negatives Kontrollserum

Methodenbeschreibung

Voraussetzung für die Durchführung des ELISAs war das Temperieren der Reagenzien auf Raumtemperatur. Im ersten Arbeitsschritt wurden die Proben homogenisiert und anschließend bei 3220 x g (6000 rpm) 30 Sekunden lang zentrifugiert. Der ELISA wurde generell mit Hilfe eines Roboters (DYNEX DS2 System) durchgeführt. Dazu mussten die Proben in 15 ml Röhrchen überführt werden und dabei wurden in jedes Röhrchen 1 ml Probe pipettiert. Für die Durchführung des ELISAs benötigte man 500 ml PBS-Tween Puffer pro Platte. Um alle Proben zu analysieren, waren zwei Platten notwendig. Darum wurden insgesamt 1000 ml PBS-Tween Puffer hergestellt. Um diese Menge herzustellen, wurden 50 ml des im Test Kit vorhandenen Konzentrats 1:20, also mit 950 ml destilliertem Wasser verdünnt. Nach der Herstellung des PBS-Tween Puffers wurde der Roboter mit den Proben und allen notwendigen Reagenzien bestückt. Die Maschine führte nun folgende Schritte durch: zu Beginn verdünnte der Roboter die Positiv- und Negativkontrolle sowie die Proben mit dem PBS-Tween Puffer 1:200. Anschließend befüllte der Roboter zwei Vertiefungen der Platte mit der Positivkontrolle und zwei weitere Vertiefungen mit der Negativkontrolle. Dabei wurden in jede Vertiefung 100 µl pipettiert. Danach pipettierte der Roboter die Proben in gleicher Weise wie die Kontrollen. Je Probe wurden zwei Vertiefungen zu je 100 µl befüllt. Als Nächstes wurde ein Inkubationsschritt durchgeführt. Dabei wurde die Platte bei 37°C 1 Stunde lang abgedeckt. In diesem Schritt

erfolgte die Bindung möglicher Antikörper im Serum an die mit *A. suum* Antigen beschichtete Wand der Vertiefungen bzw. der Mikrotiterplatte. Danach führte der Roboter einen Waschschrift durch, wonach er in jede Vertiefung 100 µl Konjugat-Lösung hinzugab. Darauf folgte wieder ein Inkubationsschritt mit angeschlossenem Waschschrift. Nun wurde in jede Vertiefung 100 µl Substrat gegeben. Nach der Zugabe des Substrats erfolgte die Inkubation bei Raumtemperatur für 10 Minuten. Die Reaktion wurde nach den 10 Minuten des Inkubationsschritts mit Hilfe der Stopp-Lösung beendet. Fünfzehn Minuten später erfolgte die Messung der optischen Dichte mit Hilfe eines integrierten Photometers bei einer Wellenlänge von 450 nm.

Auswertung

Die Ergebnisse bezüglich der Reaktivität zwischen Antikörper und den Antigenen wurden als durchschnittliches Verhältnis der optischen Dichte dargestellt. In der Formel zur Berechnung der Ergebnisse wird das durchschnittliche Verhältnis der optischen Dichte mit folgender Abkürzung dargestellt: ODR, was für die Optical Density Ratio steht.

Berechnung der ODR ():

OD... optische Dichte

$$ODR = \frac{(OD_{Probe\ oder\ Kontrolle} - OD_{Negativkontrolle})}{(OD_{Positivkontrolle} - OD_{Negativkontrolle})}$$

Je nach ODR der Probe gab es drei unterschiedliche Befunde:

ODR >0,6 → positiv

ODR 0,4-0,6 → fraglich

ODR <0,4 → negativ

Für die Gültigkeit des Tests musste der durchgeführte Test gewisse Kriterien erfüllen. Zum Einen durfte die OD der beiden Vertiefungen der Positivkontrolle nicht mehr als 25% von der durchschnittlichen OD der beiden Vertiefungen abweichen und zum Anderen musste die Positivkontrolle eine OD von mehr oder gleich 0,8 und die Negativkontrolle eine OD von weniger als 0,5 aufweisen.

3.4 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung wurde mittels IBM SPSS® v24 (IBM, Wien, Österreich) durchgeführt. Für die Inferenzstatistik wurde für alle Hypothesentestungen ein Signifikanzschwellwert von $\alpha = 5\%$ festgelegt. Die Übereinstimmung der Ergebnisse wurde mittels eines Cohen's Kappa (κ) und Chiquadrat (Chi^2) überprüft. Die Interpretation der erhobenen κ -Werte erfolgte nach folgendem Schema (Viera und Garrett 2005):

- 0,0 = schlechte Übereinstimmung der Ergebnisse
- 0,01-0,2 = geringfügige Übereinstimmung der Ergebnisse
- 0,21-0,40 = ausreichende Übereinstimmung der Ergebnisse
- 0,41-0,60 = mittlere Übereinstimmung der Ergebnisse
- 0,61-0,80 = wesentliche Übereinstimmung der Ergebnisse
- 0,81-0,99 = annähernd vollständige Übereinstimmung der Ergebnisse

4 Ergebnisse

4.1 Deskriptive Statistik

4.1.1 Milkspots

Insgesamt wurden 844 Lebern auf Milkspots untersucht. Davon waren im Schnitt 81% der Lebern frei von Milkspots, 14% waren geringgradig (ggr.) befallen, 4% wiesen einen mittelgradigen (mgr.) Befall auf und 1% war hochgradig (hgr.) befallen. Durchschnittlich hatten bei jedem Betrieb 20% der Lebern Milkspots. Betrachtet man nur die Lebern der Tiere, deren Kot und Blut auch untersucht wurden, so wurden insgesamt nur 177 Lebern untersucht, von denen 39 Milkspots (22%) aufwiesen. Jedoch waren bei drei Betrieben alle Lebern frei von Milkspots (Abbildung 2).

4.1.2 Flotation

Insgesamt wurden 177 Proben der koproskopischen Untersuchung mittels Flotationsmethode unterzogen. Davon wurden in 13 Proben (7%) Eier von *A. suum* nachgewiesen. In neun Betrieben konnte man in keiner Kotprobe Eier von *A. suum* nachweisen. Darunter waren auch jene drei Betriebe bei denen keine Milkspot-Leber nachgewiesen wurde (Abbildung 3).

4.1.3 ELISA

Wie bei der Flotation wurden auch für den ELISA 177 Proben gesammelt. Im Gegensatz zu den anderen beiden Untersuchungsmethoden konnten bei jedem Betrieb Tiere mit Antikörpern gegen *A. suum* festgestellt werden. Insgesamt wurden von den 177 Proben 14% negativ getestet, 69% positiv und 17% fraglich. Durchschnittlich wurden 68% der geprüften Tiere jedes Betriebes positiv auf *A. suum* Antikörper getestet (Abbildung 4).

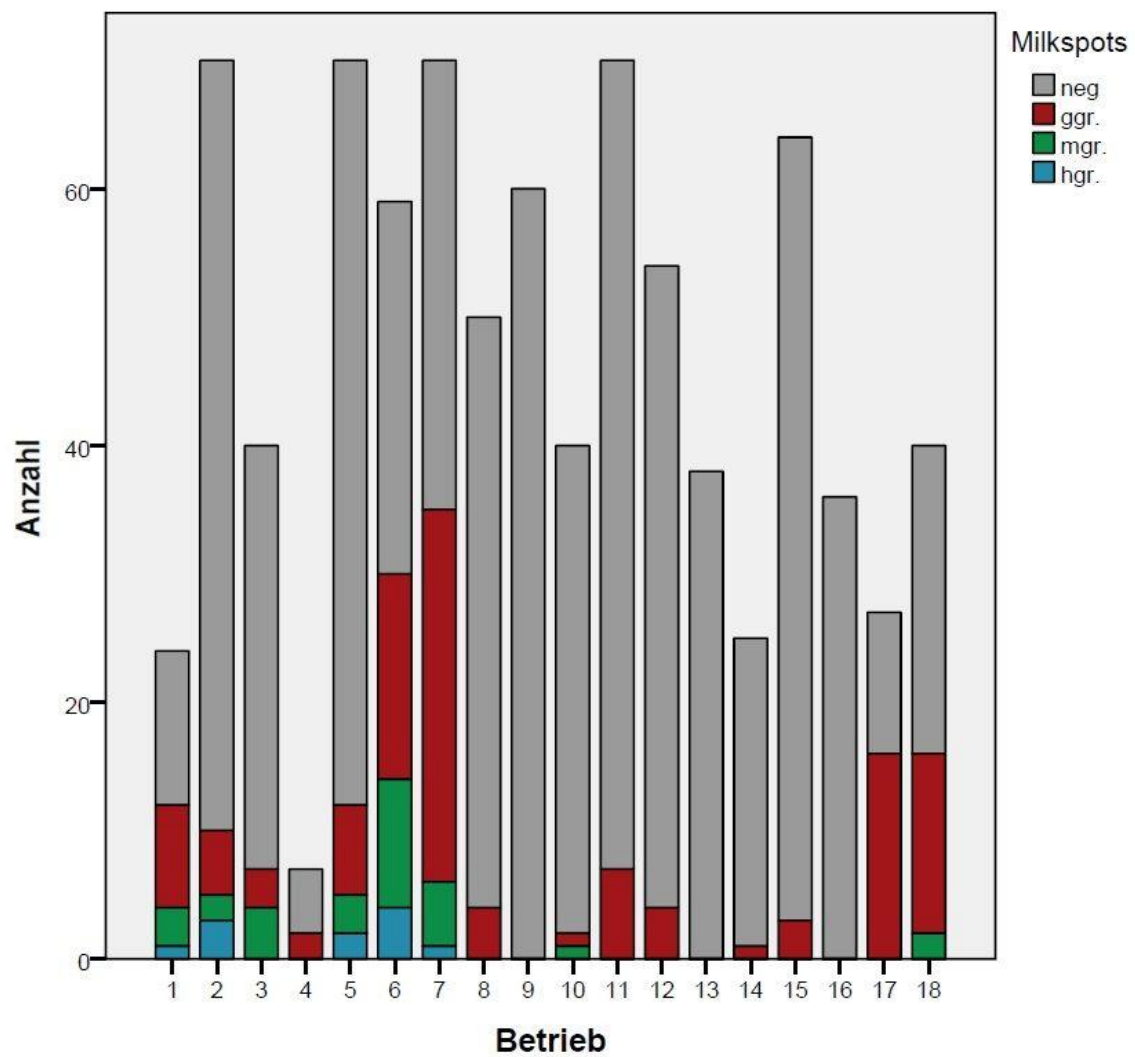


Abbildung 2: Anzahl und Ergebnisse der untersuchten Lebern je Betrieb

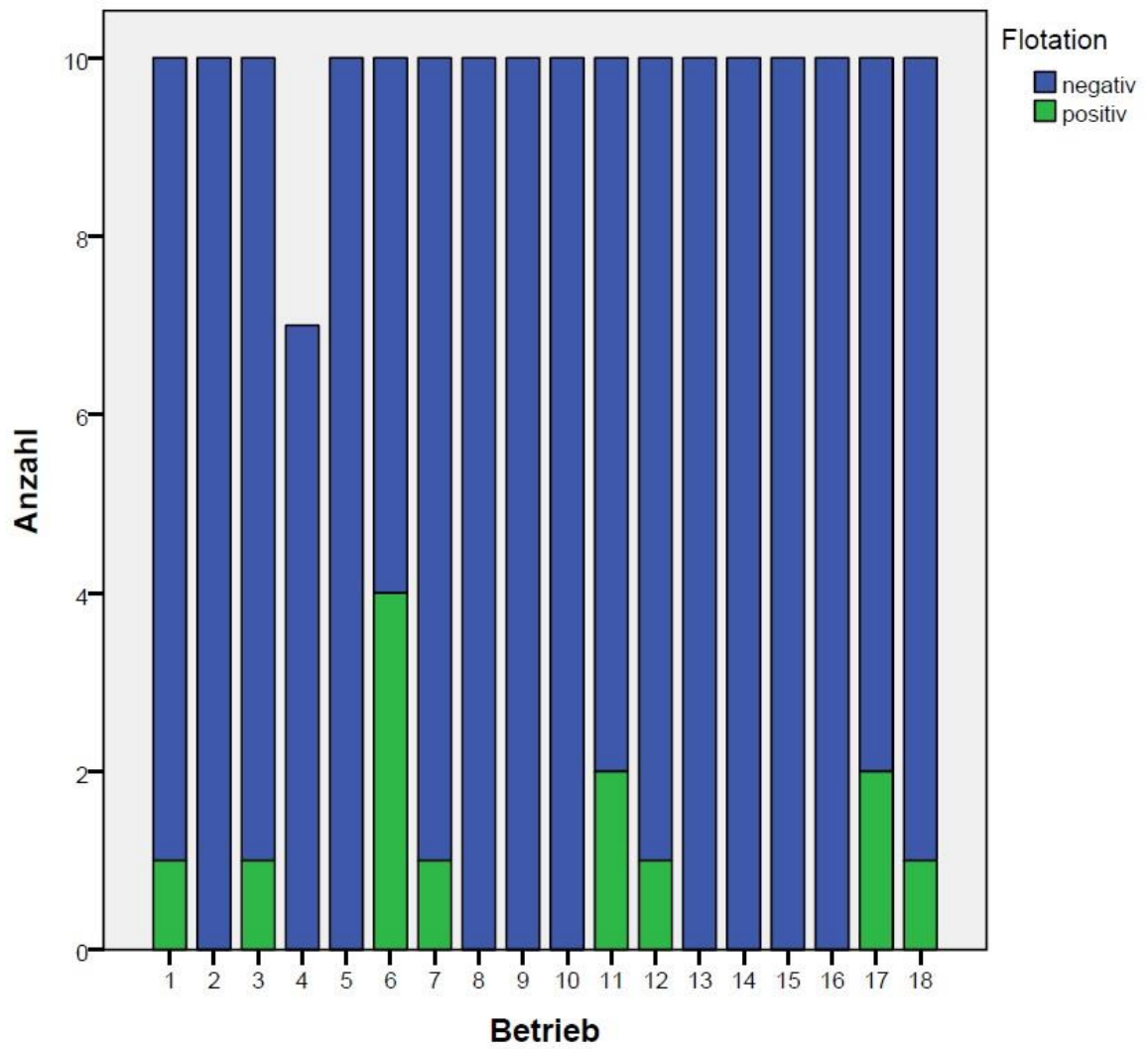


Abbildung 3 Positive Ergebnisse der untersuchten Kotproben je Betrieb.

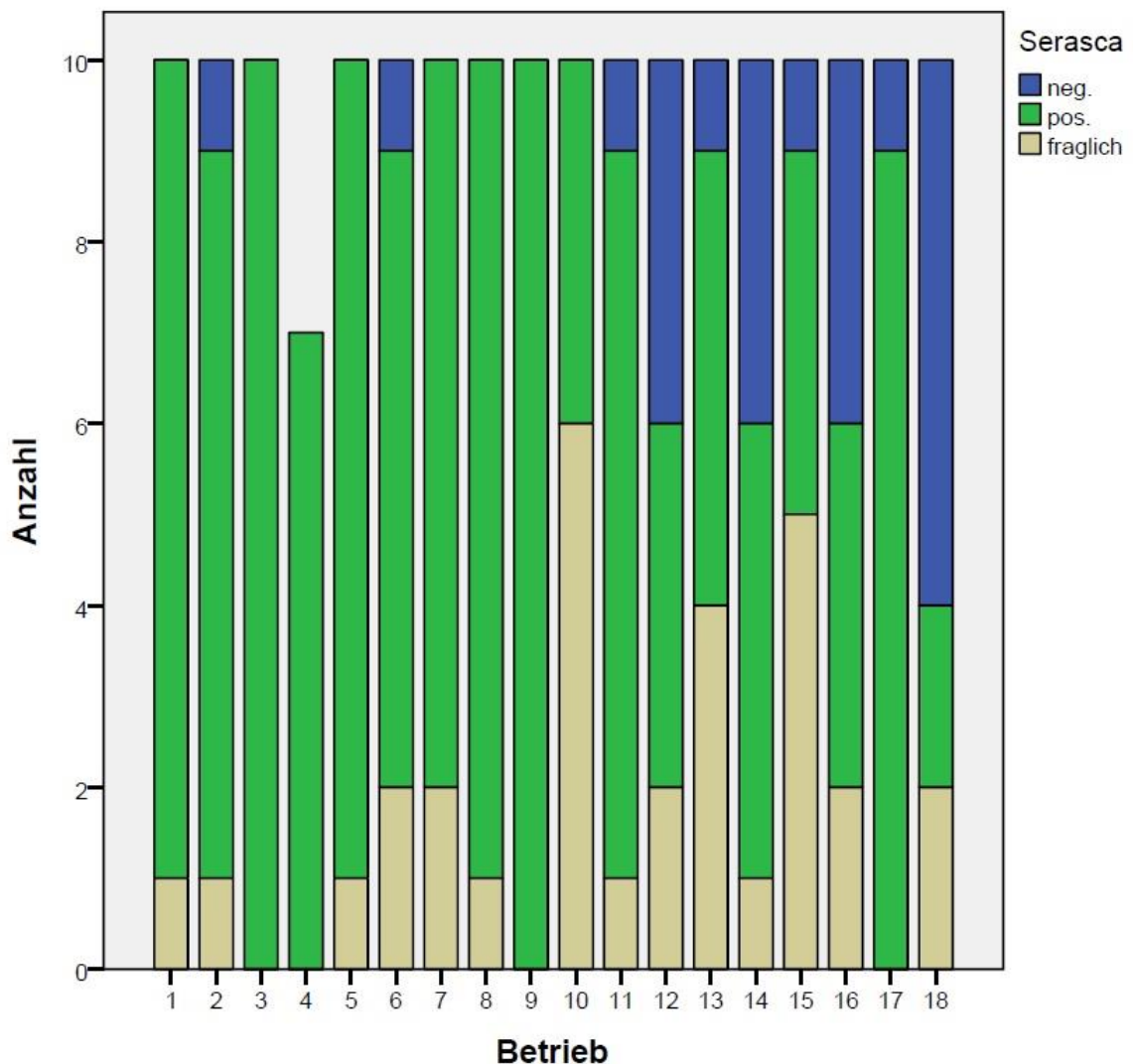


Abbildung 4: Ergebnisse des SERASCA®-Test auf Antikörper der einzelnen Betriebe dargestellt.

4.2 Bestimmung von Sensitivität und Spezifität

Zur Bestimmung der Sensitivität und Spezifität wurden Kreuztabellen verwendet. Als Goldstandard dienten die Ergebnisse des ELISAs. Grundsätzlich waren sämtliche Resultate dieser Arbeit nicht signifikant. Lediglich die Tabelle 1 wies signifikante Ergebnisse auf ($p=0,017$). Die Sensitivität der Leber-Untersuchung auf Milkspots lag zwischen 23,5% und 27,0% und die Spezifität zwischen 87,5% und 89,1% (Tabellen 1, 2, 3). Bei der Flotationsmethode lag die Sensitivität zwischen 8,5% und 9,0% und die Spezifität zwischen 96,4% und 100,0% (Tabellen 4, 5 und 6). Da bei den fraglichen Befunden des ELISAs zwar ein exaktes Ergebnis vorlag, sich jedoch die Interpretation als schwierig erwies, wurden in der

Arbeit mehrere Kreuztabellen angefertigt, in denen Tiere mit einem fraglichen ELISA Befund als positiv, negativ oder als fehlend gewertet wurden, um zu zeigen welchen Einfluss die fraglichen Befunde auf die Resultate dieser Arbeit haben können, wenn sie entsprechend gewertet wurden. Wie bereits erwähnt wies nur die Tabelle 1 signifikante Ergebnisse auf. In der Tabelle 1 wurde die Organbeurteilung und der ELISA verglichen, jedoch mit negativ gewerteten fraglichen ELISA-Ergebnissen. Des Weiteren war die Sensitivität der Organbeurteilung bei fehlender und negativer Bewertung der fraglichen ELISA Befunde gleich hoch (bei neg. Bewertung: 27,0% Sensitivität; bei fraglicher Bewertung: 27,0% Sensitivität; bei positiver Bewertung: 23,5% Sensitivität). Die höhere Sensitivität der Organbeurteilung bei negativer oder fehlender Bewertung der fraglichen ELISA Befunde erklärt sich über den damit verbundenen niedrigeren Anteil an falsch negativen Ergebnissen der Organbeurteilung. Bezüglich der Sensitivität verhielten sich die Resultate bei dem Vergleich zwischen Flotation und ELISA ähnlich (bei neg. Wertung: 8,5-9,0% Sensitivität), allerdings war die Streuung geringer als beim Vergleich des ELISA mit den Milkspot-Ergebnissen.

Tabelle 1: Bestimmung von Sensitivität und Spezifität bei Milkspots und ELISA. Fragliche ELISA Ergebnisse als negativ gewertet.

			ELISA		
			neg.	pos.	Summe
Milkspots	Neg.	Anzahl	49	89	138
		ELISA	89,1%	73,0%	78,0%
	Pos.	Anzahl	6	33	39
		ELISA	10,9%	27,0%	22,0%
Summe			55	122	177

Die Sensitivität lag bei 27,0% und die Spezifität bei 89,1% mit einem positiven Prädiktor von 84,6%. Der Anteil an falsch negativen Proben erreichte 73,0% und jener der falsch positiven 10,9%. Die Ergebnisse waren signifikant und stimmen geringfügig überein ($p=0,017$; $\kappa=0,114$).

Tabelle 2 Bestimmung von Sensitivität und Spezifität bei Milkspots und ELISA. Fragliche ELISA Ergebnisse als fehlend gewertet.

			ELISA		Summe
			neg.	pos.	
Milkspots	Neg.	Anzahl	21	89	110
		ELISA	87,5%	73,0%	75,3%
	Pos.	Anzahl	3	33	36
		ELISA	12,5%	27,0%	24,7%
Summe			24	122	146

Die Sensitivität lag bei 27,0% und die Spezifität bei 87,5% mit einem positiven Prädiktor von 91,7%. Der Anteil an falsch negativen Proben erreichte 73,0% und jener der falsch positiven 12,5%. Die Ergebnisse waren nicht signifikant und stimmen geringfügig überein ($p=0,131$; $\kappa=0,060$).

Tabelle 3: Bestimmung von Sensitivität und Spezifität bei Milkspots und ELISA. Fragliche ELISA Ergebnisse als positiv gewertet.

			ELISA		
			neg.	pos.	Summe
Milkspots	Neg.	Anzahl	21	117	138
		ELISA	87,5%	76,5%	78,0%
	Pos.	Anzahl	3	36	39
		ELISA	12,5%	23,5%	22,0%
Summe			24	153	177

Die Sensitivität lag bei 23,5% und die Spezifität bei 87,5% mit einem positiven Prädiktor von 92,3%. Der Anteil an falsch negativen Proben erreichte 76,5% und jener der falsch positiven 12,5%. Die Ergebnisse waren nicht signifikant und stimmen geringfügig überein ($p=0,225$; $\kappa=0,037$).

Tabelle 4: Bestimmung von Sensitivität und Spezifität bei Flotation und ELISA. Fragliche ELISA Ergebnisse als positiv gewertet.

			ELISA		
			neg.	pos.	Summe
Flotation	Neg.	Anzahl	24	140	164
		ELISA	100,0%	91,5%	92,7%
	Pos.	Anzahl	0	13	13
		ELISA	0,0%	8,5%	7,3%
Summe			24	153	177

Die Sensitivität lag bei 8,5% und die Spezifität bei 100% mit einem positiven Prädiktor von 100%. Der Anteil an falsch negativen Proben erreichte 91,5% und jener der falsch positiven 0%. Die Ergebnisse waren nicht signifikant und stimmen geringfügig überein ($p=0,138$; $\kappa=0,0025$).

Tabelle 5: Bestimmung von Sensitivität und Spezifität bei Flotation und ELISA. Fragliche ELISA Ergebnisse als negativ gewertet.

			ELISA		Summe
			neg.	pos.	
Flotation	Neg.	Anzahl	53	111	164
		ELISA	96,4%	91,0%	92,7%
	Pos.	Anzahl	2	11	13
		ELISA	3,6%	9,0%	7,3%
Summe			55	122	177

Die Sensitivität lag bei 9,0% und die Spezifität bei 96,4% mit einem positiven Prädiktor von 91,0%. Der Anteil an falsch negativen Proben erreichte 91,0% und jener der falsch positiven 3,6%. Die Ergebnisse waren nicht signifikant und stimmen geringfügig überein ($p=0,204$; $\kappa=0,035$).

Tabelle 6: Bestimmung von Sensitivität und Spezifität bei Flotation und ELISA. Fragliche ELISA Ergebnisse als fehlend gewertet.

			ELISA		
			neg.	pos.	Summe
Flotation	Neg.	Anzahl	24	111	135
		ELISA	100%	91,0%	92,5%
	Pos.	Anzahl	0	11	11
		ELISA	0,0%	9,0%	7,5%
Summe			24	122	146

Die Sensitivität lag bei 9,0% und die Spezifität bei 100% mit einem positiven Prädiktor von 100%. Der Anteil an falsch negativen Proben erreichte 91,0% und jener der falsch positiven 0,0%. Die Ergebnisse waren nicht signifikant und stimmen geringfügig überein ($p=0,126$; $\kappa=0,032$).

5 Diskussion

Die Diagnostik bei Verdacht auf Spulwurmbefall war bisher auf die koproskopische Untersuchung mittels Flotationsverfahren und die pathoanatomische Untersuchung der Lebern am Schlachtband relativ beschränkt. Mit der Entwicklung eines Testsystems zur Bestimmung von spezifisch gegen *A. suum* gerichteten Antikörpern steht nun eine Methode zur Verfügung, die nicht nur zeitlich stark uneingeschränkter im Vergleich zu den herkömmlichen Methoden ist, sondern vielmehr Verwendung in der Prävention und frühzeitigen Detektion von Spulwurminfektionen Anwendung finden kann. Die ist erforderlich, um die ökonomischen Verluste, die der Parasit verursacht, zu minimieren. Dazu zählen neben der verworfenen Leber am Schlachthof, eine schlechtere Futterverwertung, schlechtere Tageszunahmen, einen geringeren Magerfleischanteil und eine höhere Anfälligkeit gegenüber Lungenpathogenen mit den damit verbundenen medizinischen Kosten (Kipper et al. 2011; Knecht et al. 2011; Boes et al. 2010; Vlaminck et al. 2015; Ózsvári 2018; Stewart und Hale 1988; Hale et al. 1985). Die genauen Zahlen zu den Kosten variieren in der Literatur zwischen 5 € und 8 € pro Mastschwein. Der Direktor des Schlachthofes in Fulda bezifferte in einer mündlichen Mitteilung an die Universität Kassel am 07.12.2005 den Verlust einer Leber am Schlachtband mit 2,50 €.

Die Verwendung eines ELISAs der Antikörper gegen *A. suum*-Hämoglobin im Blutserum von Schweinen detektiert, wurde bereits in anderen Studien evaluiert und zur Diagnostik im Sinne einer Herdenuntersuchung verwendet.

Vlaminck et al. (2012) untersuchte in einer Studie eine ähnliche Fragestellung. Durch den meist subklinischen Verlauf der Spulwurminfektion und die üblicherweise geringe Anzahl an Proben, die für die Detektion von *A. suum* in einem Schweinbestand verwendet werden, wurde der neu entwickelte indirekte ELISA evaluiert. Der ELISA detektiert gegen *A. suum* Hämoglobin (AsHb) gerichtete Antikörper im Blutserum von Schweinen (Vlaminck et al. 2012).

Im Rahmen dieser Erstvalidierung nach experimenteller Infektion stellte sich heraus, dass der ELISA bei der Diagnose einer länger andauernden Infektion mit *A. suum* eine hohe Sensitivität und eine hohe Spezifität (99,5% und 100,0%) zeigt. Neben dem Serum wurden auch Kotproben entnommen und untersucht. Dabei ergab die Flotationsmethode eine Sensitivität von 59,5% und eine Spezifität von 68,4%. Schweine, welche experimentell mit *T. suis* infiziert wurden, zeigten

drei Wochen *post infectionem* eine gesteigerte Serumaktivität im ELISA, sodass zumindest von einer begrenzten Kreuzreaktion ausgegangen werden muss (Vlaminck et al. 2012).

In einem weiteren Versuch der Studie konnte man feststellen, dass eine Serokonversion nach ca. sechs Wochen auftritt. In diesem Versuch wurden zehn Tiere im Alter von zehn Wochen mit je 100 *A. suum* Eiern an fünf aufeinanderfolgenden Tagen infiziert. Die höchsten Titer wurden in diesem Versuch acht Wochen nach der ersten Infektion gemessen. Das verdeutlicht, dass nicht nur die Infektionsdosis eine Rolle bei der Entwicklung von Antikörpern spielt, sondern auch die Dauer der Infektion. Aufgrund dieser Ergebnisse und einigen Untersuchungen in Betrieben wird in der Studie empfohlen, den ELISA bei Tieren ab einem Alter von 18 Wochen oder einem Gewicht von über 60 kg durchzuführen, um das Risiko von falsch negativen Ergebnissen zu reduzieren. Letztere Aussage bezieht sich auf die Annahme, dass die Infektion beim Einstallen in den Mastbetrieb geschieht.

Zum Abschluss wurden 101 konventionelle, schweinehaltende, flämische Betriebe mit Hilfe des ELISAs auf *A. suum* Infektionen untersucht. Dabei wurden insgesamt 696 Blutproben gesammelt. Von jedem Betrieb wurden durchschnittlich sieben (3-12) Tiere mit mehr als 60 kg Lebendgewicht beprobt. Als Ergebnis kam heraus, dass bei 38,6% der Betriebe weniger als 20% der Tiere seropositiv waren. Dagegen konnte man aber bei 19,8% der Betriebe über 80% positive Tiere feststellen (Vlaminck et al. 2012).

Einen Spulwurmbefall in einem Mastbetrieb zu diagnostizieren wurde in europäischen Schweinebetrieben bisher aus Kosten- und Zeitgründen kaum durchgeführt. Derzeit wird nur die Anzahl der bei der Schlachtung betroffenen Lebern routinemäßig zur Messung der Parasitenexposition verwendet.

In der Studie von Vlaminck et al. (2015) wurde zunächst die Ergebnisse der *A. suum*-Serologie mit dem Anteil der betroffenen Lebern bei der Schlachtung verglichen, anschließend wurden mögliche Assoziationen zwischen dem *A. suum* Infektionsniveau und der Exposition gegenüber wichtiger Lungenerreger untersucht (Vlaminck et al. 2015).

Sowohl in den belgischen als auch in den deutschen Betrieben wurde ein signifikanter Zusammenhang zwischen einer erhöhten durchschnittlichen *Ascaris*-Serologie und dem Prozentsatz der betroffenen Lebern festgestellt. In den belgischen Betrieben waren sowohl die

Ascaris-Serologie als auch der Anteil der betroffenen Lebern negativ mit den durchschnittlichen Tageszunahmen korreliert. Im Gegensatz dazu wurden in den deutschen Betrieben Korrelationen zwischen dem Prozentsatz der betroffenen Lungen bei der Schlachtung und dem erhöhten Vorkommen von *A. suum* und einigen anderen Atemwegspathogenen festgestellt (Vlaminck et al. 2015).

Zusammenfassend zeigt diese Studie, dass das serologische Screening auf *A. suum*-Antikörper in Mastschweinbetrieben ein attraktives Diagnosewerkzeug ist, mit dem das Vorhandensein einer Spulwurminfektion durch die Messung der Infektionsintensität angezeigt werden kann. Darüber hinaus tragen die Ergebnisse dieser Studie dazu bei, dass sowohl Spulwurminfektionen als auch Herdenexposition gegenüber Atemwegspathogenen einen signifikanten negativen Einfluss auf die landwirtschaftliche Produktivität haben und dass all diese Faktoren bei der Beurteilung der Gesundheit von Schweinen und der landwirtschaftlichen Produktivität zu berücksichtigen sind (Vlaminck et al. 2015).

Wie bereits in der Fragestellung erwähnt, war das Ziel dieser Arbeit dazu die größere Sensitivität des ELISA zu demonstrieren, was durch die Resultate (Sensitivität der Organbeurteilung: 23,5-27,0%; Flotation: 8,5-9,0%; ELISA: 99,5%) bestätigt wurde. Jedoch muss an dieser Stelle erwähnt werden, dass der Großteil der Ergebnisse dieser Arbeit nicht signifikant waren mit Ausnahme des Vergleichs zwischen Milkspot und ELISA, wenn die fraglichen Befunde des ELISAs als negativ bewertet wurden. Ebenso wurde die hohe Sensitivität des ELISAs bereits in anderen Studien demonstriert (Vlaminck et al. 2012, 2015). Sowohl Flotation als auch die Bestimmung von Milkspots wiesen eine deutlich geringere Sensitivität im Vergleich zum Serasca© ELISA auf. Vor allem der Umstand, dass in dieser Arbeit bei drei Betrieben keine der Lebern Milkspots aufwiesen und bei der Hälfte der Betriebe in keiner Kotprobe Spulwurmeier nachgewiesen werden konnten, jedoch trotzdem bei allen Betrieben Antikörper nachgewiesen wurden, verdeutlicht ebenfalls die höhere Sensitivität des ELISAs.

Eine sensitivere Diagnostik, wiederum ist eine stabilere Grundlage um die Entscheidung einer Entwurmung zu treffen, z.B. ob ein Mastbetrieb die zugekauften Ferkel entwurmen soll oder nicht. Dies bedeutet aber nicht, dass der ELISA als einziges diagnostisches Tool ausreicht. Wie bereits in den Resultaten erwähnt wurden in dieser Arbeit mehrere Kreuztabellen angefertigt

und die fraglichen Befunde des ELISAs unterschiedlich gewertet. Das zeigt, dass die Interpretation der ELISA Befunde sich nicht immer als einfach erweist. Darum sollte nicht allein der ELISA die Grundlage einer Entscheidung hinsichtlich Therapie und Parasitenmanagement sein, denn auch der Anteil der Tiere mit Milkspot-Lebern ist diagnostisch relevant und hat eine starke Aussagekraft, da die verworfenen Lebern einen großen Teil des wirtschaftlichen Schadens, zumindest in Deutschland aufgrund des Abzugs des Schlachtentgelts, ausmachen. Derzeit ist die gängige Praxis, dass die Landwirtin / der Landwirt über den Anteil der Milkspot-Lebern in der Schlachtabrechnung auf die *A. suum* Prävalenz am Betrieb schließt und das letztendlich als Entscheidungsgrundlage zur Entwurmung verwendet. Hier sollte jedoch die Frage gestellt werden, ob es ausreicht, sich nur auf die Ergebnisse der Organbeurteilung zu verlassen. Obwohl drei Betriebe, die im Rahmen dieser Arbeit untersucht wurden, frei von Milkspot-Lebern waren, hatten alle getesteten Betriebe im Durchschnitt einen Anteil von 20% an Milkspot-Lebern und insgesamt waren 69% der Tiere Antikörper positiv. Zusätzlich werden von Tierarztpraxen, Schweine-Vermarktungsgesellschaften und von Universitätskliniken prophylaktische Entwurmungsempfehlungen basierend auf der durchschnittlichen Anzahl der Milkspot-Lebern am Schlachthof, abgegeben. So empfiehlt zum Beispiel die Schweine-Vermarktungsgesellschaft Schleswig Holstein mbH bei durchschnittlich 0-5% Milkspot-Lebern bei der Schlachtabrechnung keine Änderungen bezüglich des derzeitigen Parasitenmanagements am Betrieb vorzunehmen, bei 5-30% eine Entwurmung der frisch eingestellten Mastferkel mit einer sechs Wochen späteren Folgeentwurmung und bei über 30% empfiehlt sie eine konsequente Entwurmung aller Tiere im Mastbereich in einem 5 Wochen-Intervall. Dazu wird generell empfohlen die Desinfektion mit gegen *A. suum* wirksamen Mitteln durchzuführen und im Rein-Raus-Verfahren zu produzieren (Wurmbefall.pdf 2017). Dieser Umstand wirft damit wiederum die Frage auf, ob die Mastbetriebe in der Praxis nach diesem Schema oder nach anderen ähnlichen Schemen überhaupt handeln. Zumindest in dieser Arbeit hatte wie bereits erwähnt jeder untersuchte Betrieb durchschnittlich einen Anteil von 20% Milkspot-Lebern, auch wenn es drei Betriebe gab, die gar keine Milkspot-Lebern unter den geschlachteten Tieren hatten. Da im Zuge dieser Arbeit das etablierte Parasitenmanagement der Betriebe nicht erfasst wurde, kann nur über die Ursache für den doch relativ hohen Anteil an Milkspotlebern nur spekuliert werden. Mögliche

Erklärungen wären, dass einerseits die Tiere überhaupt nicht entwurmt wurden oder womöglich zu den falschen Zeitpunkten entwurmt wurden.

Für die höhere Sensitivität des ELISAs gibt es verschiedene Gründe. Zum einen, weil sich Milkspots schon bereits nach drei Tagen *post infectionem* bilden können (Roepstorff et al. 1997) und zum anderen, weil auch nachgewiesen wurde, dass Milkspots bereits nach zwei bis drei Wochen *post infectionem* beginnen sich zurückzubilden (Roepstorff et al. 1997; Eriksen et al. 1980). Die Larven benötigen nach dem Schlupf max. sechs Stunden um zur Leber zu gelangen, um dort dann 4-6 Tage zu verbleiben, bis sie weiterwandern (Deplazes et al. 2013). Für die Diagnostik mittels Organbeurteilung bedeutet das, dass sich bei einem Mastferkel, welches im Alter von elf bis zwölf Wochen, also zu Beginn der Mast, eine *A. suum*-Infektion hat, Milkspots bereits nach drei Tagen bilden können. Jedoch können sich diese schon nach wenigen Wochen wieder zurückbilden. Dies bedeutet letztendlich, dass solche Tiere mit *A. suum* infiziert waren, dies aber in der Organbeurteilung nicht aufschien, da diese Mastschweine erst in einem Alter von ca. 23-27 Wochen geschlachtet und der Organbeurteilung unterzogen wurden. Vereinfacht dargestellt ist es mit der Organbeurteilung am Schlachthof nur möglich, Infektionen der Endmast zu erkennen, aber nicht der Vor- und Mittelmast. Im Weiteren würde auch der ELISA das gleiche Tier nicht als positiv erkennen, wenn die Durchführung des ELISA am Beginn der Mast erfolgen würde, da eine Serokonversion sechs bis acht Wochen lang dauert (Vlaminck et al. 2012). Ein weiteres Problem, dass sich aus diesem Beispiel ergibt, ist, dass das Tier acht Wochen nach der Infektion Eier ausscheidet (Deplazes et al. 2013). Dann wäre das Mastferkel in einem Alter von 20 Wochen und damit in der Endmast. Die Eier benötigen je nach Umweltbedingung ca. zwei bis drei Wochen um infektiös zu werden (Deplazes et al. 2013). Das wiederum bedeutet, dass ein Tier, das sich zu Beginn der Mast infiziert hat, am Ende der Mast Eier ausscheidet und damit die anderen Tiere in der Bucht ansteckt. Das kann bei den anderen Tieren in der Bucht zur Bildung von Milkspots führen, da dafür ausreichend Zeit wäre, denn wie bereits erwähnt, können sich diese bereits drei Tage *post infectionem* bilden. Damit würden wieder Lebern am Schlachthof verworfen. Dies muss aber nicht zwangsmäßig geschehen. In Studien von Roepstorff (1997) und Eriksen (1980) wurde nachgewiesen, dass bei einem niedrigen Infektionsniveau geringgradige Veränderungen der Leber oder aber auch keine Milkspot-Lebern entstehen können. Grundsätzlich aber könnte durch eine ELISA Testung der Tiere im für diese Situation empfohlenen Alter von 18 Wochen das Tier als positiv

diagnostiziert und für behandlungswürdig befunden werden. Würde die Behandlung zeitnah nach der Testung erfolgen, so würde sie ca. sechs Wochen *post infectionem* erfolgen, wodurch die Ausscheidung von *A. suum*-Eier verhindert werden könnte und damit auch die Ansteckung der anderen Tiere, was am Schlachthof wiederum zu einer Verringerung der Milkspot-Lebern führen würde. Dies ist nur eines von möglichen Szenarien in einem Mastbetrieb, der die Ferkel mit 30 kg zukaufte und als schlachtreife Mastschweine dem Schlachthof weiterverkauft. Was die Kotuntersuchung und damit den Nachweis von Spulwurmeiern im Kot betrifft, so erfolgt die Ausscheidung frühestens nach sechs aber meist erst nach acht Wochen und ist dabei kein permanentes Geschehen (Jungersen et al. 1997).

Aufgrund von persistierenden maternalen Antikörpern kann es bei der ELISA-Diagnostik zu falsch positiven Ergebnissen kommen. Darum kommt es bei der Diagnostik nicht nur auf das Ergebnis an, sondern auch auf die Interpretation des Ergebnisses in Anbetracht der jeweiligen Situation.

Bei einem Zuchtbetrieb, der Ferkel verkauft, ist die Situation eine ganz andere. Hier ist die Wahrscheinlichkeit eines falsch positiven Ergebnisses aufgrund von persistierenden Antikörpern viel höher und die Beurteilung, ob eine akute Infektion vorliegt, ist dadurch erschwert. Darum ist die *A. suum* Diagnostik mittels ELISA für Zuchtbetriebe eher ungeeignet. Vor allem da derzeit kein Wert auf *A. suum* freie Betriebe oder auf *A. suum* freie Tiere gelegt wird. Zusätzlich findet bei den meisten Zuchtbetrieben eine regelmäßige Entwurmung der Zuchttiere zweimal im Jahr statt, was die möglichen Schäden, die durch *A. suum* entstehen können, an sich minimiert. Nebenbei ist es aufgrund der diagnostischen Möglichkeiten schwierig, bestimmte Verluste auf diesen Parasiten zurückzuführen. Denn beim ELISA kann es sich wie bereits erwähnt um falsch positive Ergebnisse handeln. Hierbei kann die koproscopische Untersuchung mittels Flotationsverfahren weiterhelfen, jedoch sollte nicht nur der Nachweis von Eiern gewertet werden, sondern auch die Anzahl. Wird z.B. in einer Kotprobe eine große Anzahl an Eiern nachgewiesen (>500), so kann man von einem akuten Geschehen ausgehen. Sind aber lediglich geringe Zahlen an ausgeschiedenen Eiern nachweisbar, so können diese Eier aufgrund von Koprophagie in die Kotprobe gelangt sein.

Nur wenn eine Eradikation von *A. suum* an einem Betrieb vorgenommen werden soll oder ein negativer Status aufrecht erhalten werden soll, ist der ELISA das diagnostische Tool der Wahl.

Die Eradikation eines Zuchtbetrieb stellt sich als schwierig dar, vor allem wenn der Betrieb Jungsaue zukaft. Als Grundvoraussetzung, um den Betrieb von *A. suum* frei zu bekommen, ist ein striktes Rein-Raus-Belegen der einzelnen Bereiche im Stall notwendig sowie ein konsequentes Hygienemanagement, welches nicht nur das Anwenden von gegen *A. suum* wirksamen Desinfektionsmitteln beinhaltet, sondern auch für jeden Bereich des Stalls eine eigene Kleidung, zumindest aber ein eigenes Schuhwerk vorsieht. Als schwierigster Bereich stellt sich bei einem solchen Verfahren der Wartestall heraus, da hier die Sauen die meiste Zeit in einem Stallbereich verbringen und dieser auch flächenmäßig den größten Teil des Stalls in Anspruch nimmt. Der Wartestall ist auch jener Bereich, der kaum frei von Tieren wird, und der daher schwierig im Rein-Raus-Verfahren zu belegen ist und ebenso schwierig zu reinigen und zu desinfizieren ist. Hat der Betrieb zusätzlich eine variable, also nicht festgelegte Gruppenbildung, so ist es beinahe unmöglich den Wartebereich zufriedenstellend zu reinigen und zu desinfizieren. Grundsätzlich kann eine Eradikation folgendermaßen stattfinden: Wichtig ist der Zukauf oder die Nachzucht von Tieren, die frei von *A. suum* sind, die also negativ im ELISA und mittels koproskopischer Flotationsverfahren getestet wurden. Bevor aber die zugekauften bzw. selbst nachgezogenen Tiere in den Betrieb gelangen, muss gewährleistet sein, dass sich diese Tiere nicht im Stall infizieren können. Weswegen das Hygienemanagement eine bedeutende Rolle spielt. Ebenso entscheidend wie das Hygienemanagement ist, dass die bereits vorhandenen Tiere keine *A. suum* Eier ausscheiden. Dies kann durch ein regelmäßiges Entwurmen im 5 Wochen Intervall und einer Überprüfung durch häufigere Untersuchung von Sammelkotproben mittels Flotationsverfahren gewährleistet werden. Vor allem beim Zukauf von Zuchttieren ist eine Quarantäne erforderlich und an diese sollte anschließend ein ELISA durchgeführt werden. Zusätzlich sollten zugekaufte Tiere am Ende der Quarantäne entwurmt werden.

Neben der Eradikation kann der ELISA in einem Zuchtbetrieb im Bereich der Ferkelaufzucht Anwendung finden, aber nur bedingt, da die Ferkel bis zur vierten Lebenswoche, bei einer Säugetzeit von vier Wochen durch Antikörper geschützt sind und daher eine Infektion frühestens ab der fünften Lebenswoche erfolgen kann. Das Zeitfenster für die Diagnose und die Therapie ist aber gering, da mindestens sechs Wochen notwendig sind, um einen für den ELISA ausreichend hohen Antikörpertiter zu bilden und die Tiere nach diesen sechs Wochen kurz vor dem Verkauf stehen. Aufgrund der Präpatenz von sechs bis acht Wochen, ist auch die

koproskopische Untersuchung mittels Flotationsverfahren nicht zielführend. Die effektivste Vorgehensweise zur Bekämpfung von *A. suum* im Aufzuchtstall eines Ferkelzüchters ist einerseits ein konsequentes Reinigen und Desinfizieren des Stalls mit wirksamen Mitteln gegen *A. suum* Eier und andererseits hat das Belegen und Ausstallen des Stalls im strikten Rein-Raus-Verfahren zu erfolgen. Zusätzlich sollte auch die Zuchtsau vor dem Einstellen in die Abferkelbucht gereinigt werden, um so die mechanische Übertragung von *A. suum* Eiern auf die Saugferkel und den Abferkelstall zu verhindern. Durch die Kombination dieser Maßnahmen kann gewährleistet werden, dass *A. suum* freie Saugferkel in einen *A. suum* freien Abferkelstall gelangen und sich dadurch nicht mit *A. suum* infizieren. Eine weitere Möglichkeit stellt die prophylaktische Entwurmung dar, um zu vermeiden, dass früh infizierte Tiere zumindest im Aufzuchtstall zu keinen Ausscheidern werden. Jedoch kann im Aufzuchtstall und im Abferkelstall durch ein konsequentes und gutes Hygienemanagement dieses Ziel ebenfalls erreicht werden und zusätzlich beugt man nicht nur gegen *A. suum*, sondern gegen viele andere wichtige bakterielle oder virale Erreger vor. Das Hygienemanagement ist jedoch nicht nur für den Aufzuchtstall entscheidend, sondern auch in sämtlichen anderen Bereichen der Schweineproduktion. Lediglich im Mastbetrieb, wo die Herkunft der Tiere unterschiedlich sein kann und der Hygienestatus, die Haltungsform und das Produktionsverfahren von den einzelnen Betrieben, von denen die Ferkel bezogen wurden, meist unbekannt ist, kann neben dem Hygienemanagement auch eine regelmäßige Entwurmung auf Basis einer zuverlässigen Diagnostik entscheidend sein, um die bereits beschriebenen Verluste, die durch eine *A. suum* Infektion entstehen, zu vermeiden.

Der Zeitaufwand, welcher notwendig ist, um einen ganzen Bestand zu untersuchen, fällt beim Antikörpernachweis geringer aus, da bei der Schlachtkörper- und Organbeurteilung alle gelieferten Tiere des Betriebes untersucht werden und beim ELISA lediglich zehn Tiere beprobt und untersucht werden. Schlussfolgernd kann man die Annahme treffen, dass der Zeitaufwand je Probe bei der Schlachtkörper- und Organbeurteilung geringer ist, jedoch der Zeitaufwand zur Beurteilung eines gesamten Bestandes beim ELISA geringer ausfällt. Letzteres ist bei dieser Thematik von größerem Interesse. Betrachtet man hingegen die Kosten, so hat die Schlachtkörper- und Organbeurteilung einen klaren Vorteil. Diese muss aufgrund der gesetzlichen Rahmenbedingungen ohnedies durchgeführt werden. Die entsprechend festgestellten Abweichungen von der physiologischen Norm (inklusive des Anteils an Lebern

mit Milkspots) werden dann über die Schlachtabrechnung an den Landwirt oder die Landwirtin übermittelt.

Bezüglich der Kosten fallen beim Antikörpernachweis Kosten für die Entnahme der Blutprobe durch den Tierarzt, das Versenden der Probe und die Durchführung des ELISAs an. Jedoch halten sich die Kosten für den ELISA in Grenzen. Die Untersuchung einer Probe mit dem ELISA kostet ca. 10 € pro Probe. Die Empfehlung der Anzahl an Proben für den ELISA liegt bei zehn Proben je Stall. Da die Kosten für eine Probe 10 € betragen, fallen insgesamt Kosten in Höhe von ca. 100 € für den Antikörpernachweis je Stall an.

Die genauen Kosten für die Organbeurteilung zu definieren, ist etwas schwieriger, da nicht nur die Leber, sondern der Schlachtkörper und weitere Organe beurteilt werden. Darum kann hier nur eine grobe Einschätzung angegeben werden. Die Arbeit eines amtlichen Tierarztes / amtlichen Tierärztin kostet in Oberösterreich 60 € pro Stunde (Oö. Fleischuntersuchungsgebühren-Verordnung 2008, Fassung vom 29.08.2020), in einer Stunde dürfen 50 bis max. 72 geschlachtete Schweine begutachtet werden, da die minimale Untersuchungszeit pro Tier 72 Sekunden beträgt, welche aber durch bestimmte Umstände auf 50 Sekunden reduziert werden kann (Fleischuntersuchungsverordnung 2006 Anl. 1, Fassung vom 29.08.2020). Das bedeutet wiederum, dass die Kosten der Organbeurteilung von 0,83 € je Tier bis max. 1,2 € je Tier schwanken, das aber für den gesamten Schlachtkörper und nicht nur für die Leber. In der Fleischuntersuchungsverordnung sind für die Innereien und Darm 25 Sekunden als minimale Begutachtungszeit vorgesehen. Nimmt man nun an, dass von den 25 Sekunden 5 Sekunden für die Leber aufgewendet werden, so würden sich die Kosten dann auf 0,08 € je Leber reduzieren. Natürlich fallen auch andere Kosten wie z.B. für die Betäubung, die Beurteilung des lebenden Tieres, das Ausnehmen etc. an, jedoch das mit einzubeziehen und zu bewerten stellt sich als schwierig dar, da diese Kosten nicht nur bei der Organbeurteilung anfallen, sondern generell bei der Fleischerzeugung. Dennoch betrachtet man nur die Kosten, die der amtliche Tierarzt / die amtliche Tierärztin verursacht, so sind die Kosten pro Tier für die *A. suum* Diagnostik mittels Organbeurteilung sehr gering.

Die Preise der Diagnostik mittels koproskopischer Flotationsverfahren sind unterschiedlich. Bei der veterinärmedizinischen Universität Wien kostet die Untersuchung einer Kotprobe mittels Flotationsverfahren 15 € je Kotprobe. Zur Untersuchung werden Sammelkotproben

verwendet. Dabei wird aus jeder Bucht eine Sammelkotprobe genommen und zur Untersuchung eingesendet. Geht man davon aus, dass ein durchschnittlicher Schweinemast Betrieb in Österreich ca. 10 Buchten hat, so würde die Untersuchung eines durchschnittlichen österreichischen Betriebes 150 € ausmachen.

Anhand eines Beispiels soll die Wirtschaftlichkeit der Untersuchungsmethoden näher beleuchtet werden. Angenommen der Landwirt / die Landwirtin verkauft 100 Mastschweine. Laut den Resultaten dieser Studie werden extrapolierend gesehen 20 dieser Tiere Milkspots haben und 47 Tiere einen ausreichend hohen Antikörper-Titer, die aber von der Organbeurteilung nicht als infiziert erkannt werden. Geht man davon aus, dass die Antikörper-positiven Tiere mit *A. suum* infiziert sind bzw. waren, so haben diese Tiere eine schlechtere Futterverwertung, schlechtere Tageszunahmen, einen geringeren Magerfleischanteil und eine höhere Anfälligkeit gegenüber Lungenpathogenen und die damit verbundenen medizinischen Kosten (Kipper et al. 2011; Knecht et al. 2011; Boes et al. 2010; Vlaminck et al. 2015; Ózsvári 2018; Stewart und Hale 1988; Hale et al. 1985). Angenommen die Kosten für die Verluste wären 5 € pro Tier, so wäre der Gesamtverlust für den Landwirt, nur für die unentdeckten Spulwurminfektionen insgesamt 235 € hoch. Die Kosten des ELISAs wären bei 100 €. Die Kosten der Organbeurteilung sind zwar um einiges geringer, wie bereits erwähnt, jedoch erkennt diese auch bedeutend weniger Tiere als positiv und das auch erst nachdem der Schaden bereits entstanden ist. Ähnlich ist es auch bei der koproskopischen Untersuchung mittels Flotationsverfahren, bei der die Untersuchung einer Sammelkotprobe einer Bucht 15 € kostet. Die Wahrscheinlichkeit, dass ein positives Ergebnis erreicht wird, bei Vorhandensein von *A. suum* infizierten Tieren in der Bucht, hängt stark vom Infektionsstatus und der Eiausscheidung ab. Daraus folgernd muss ein negatives Ergebnis mit Vorsicht interpretiert werden.

Ein weiterer wichtiger Sachverhalt, der aus dieser Arbeit hervorgeht, ist, dass die derzeit gängige Methode zur Diagnose von *A. suum* in Österreich sehr viele Fälle nicht erkennt und das tatsächliche Auftreten von *A. suum* in österreichischen Betrieben viel häufiger ist als es die Schlachtkörper und Organbeurteilung darstellt. Bezogen auf die Resultate dieser Arbeit hatten von 177 getesteten Tieren laut ELISA 122 Tiere (69%) einen messbaren Antikörper Titer im Blut (ohne fraglichen Befund) und 39 Tiere (22%) wiesen bei der Organbeurteilung Milkspots an der Leber auf. Das bedeutet wiederum, dass 83 Tiere (47%) eine *A. suum* Infektion hatten,

diese aber von der Organbeurteilung nicht entdeckt wurden. Es ist zwar aufgrund von persistierenden maternalen Antikörpern möglich, dass die Tiere vom ELISA als positiv gewertet werden, obwohl sie weder Symptome zeigen noch mit dem Erreger infiziert sind, jedoch ist es aufgrund des Alters der Tiere eher unwahrscheinlich, weshalb man von einer nicht allzu lang vergangenen Infektion ausgehen kann. Rechnet man nun dieses Zahlenbeispiel hoch auf ganz Österreich, wo im Jahr 2017 5,1 Millionen Schweine geschlachtet wurden (Bundesministerium für Nachhaltigkeit und Tourismus), so würde das bedeuten, dass im Jahr 2017 2,397 Millionen Mastschweine in Österreich einen für die Diagnostik ausreichend hohen Antikörper Titer ausgebildet haben, aber dabei keine Milkspots aufwiesen. Nimmt man nun an, dass alle Tiere die einen ausreichend hohen Titer hatten, auch an *A. suum* erkrankt sind, so würde das unter der Annahme, dass die Kosten je Tier 5 € betragen, insgesamt einen Verlust von 11,985 Millionen Euro für die österreichische Schweineproduktion bedeuten. Die entscheidende Frage, die sich dadurch ergibt, ist ob die Tiere an *A. suum* erkrankt waren und sich die Milkspots wieder zurückgebildet haben oder ob das Niveau der Infektion zu gering für die Bildung von Milkspots und damit verbundener Schäden war. Mit großer Wahrscheinlichkeit kann angenommen werden, dass die Milkspots sich bereits wieder zurückgebildet hatten.

Obwohl es beim ELISA nicht nur einen positiven und negativen Befund gibt, sondern auch einen fraglichen, war der Anteil der fraglichen Befunde eher gering und der überwiegende Teil aller getesteten Tiere war positiv. Letzteres wirft die Frage auf, ob einerseits die Schlachtkörper und Organbeurteilung ausreicht, um die *A. suum* Prävalenz in Österreich sichtbar zu machen und andererseits ob man sich bezüglich der Therapiewürdigkeit von *A. suum* in einem Betrieb auf die Daten der Schlachtkörper und Organbeurteilung verlassen kann bzw. soll, da diese Daten scheinbar die Notwendigkeit einer Therapie oder das Einleiten von Änderungen im Parasitenmanagement nicht suggerieren. Ansonsten wären in dieser Arbeit nicht 69% der untersuchten Tiere positiv getestet worden. Aufgrund der schwierigen Diagnostik und die Fehleinschätzung der *A. suum*-Prävalenz, die die alten Testmethoden suggerieren, sollte der ELISA der neue Goldstandard der *A. suum*-Diagnostik werden. Wie man aber letztendlich mit den Ergebnissen der Schlachtauswertung umgeht und ob weitere Maßnahmen zur *A. suum* Diagnostik in einem Bestand notwendig sind, obliegen aber letztendlich immer noch dem Tierhalter und dem betreuenden Tierarzt.

Ebenso legen die Ergebnisse dieser Arbeit nahe, dass hinsichtlich des Therapiemanagements von *A. suum* in Österreich klare Änderungen notwendig sind. Gerade der Einsatz von Kresolhaltigen Desinfektionsmitteln kann die Situation diesbezüglich verbessern (Mielke und Hiepe 1998), ebenso wie das Entwurmen. Unter der Annahme, dass die ELISA positiv getesteten Tiere, eine *A. suum*-Infektion durchgemacht haben, ist die Dunkelziffer der Tiere mit einer *A. suum*-Infektion um ein Vielfaches höher, als derzeit angenommen wird und damit verbunden auch der wirtschaftliche Schaden, der dadurch entsteht.

6 Zusammenfassungen

6.1 Zusammenfassung

Der weltweit häufigste Schweineparasit ist der Schweinespulwurm *Ascaris suum*. Die derzeit gängige Methode den Schweinespulwurm in Österreich zu überwachen ist die Untersuchung der Leber auf Milkspots am Schlachthof. Neben dieser Methode gibt es noch die koproskopische Untersuchung mittels Flotationsverfahren, in der *A. suum* Eier im Kot detektiert werden. Seit einigen Jahren gibt es nun eine weitere Methode für den Nachweis von *A. suum* beim Schwein. Einen kommerziellen indirekten ELISA, mit dem man Antikörper, die gegen das *A. suum*-Hämoglobin gerichtet sind, nachweisen kann. Diese Antikörper sind spätestens sieben Wochen *post infectionem* nachweisbar. Diese Methode weist eine höhere Sensitivität als die anderen üblichen Testmethoden auf und da der Hersteller angibt, dass es ausreicht bei zehn Tieren je Stall Blut zu entnehmen, um die *A. suum* Situation im Stall darzustellen, ist diese Methode nicht nur sensitivier, sondern auch arbeitsextensiver. Da es derzeit unüblich ist mit der Hilfe eines serologischen Verfahrens *A. suum* zu detektieren und die praktischen Tierärzte und Tierärztinnen sowie die Landwirte und Landwirtinnen sich auf das Rückmeldesystem der Milkspot Untersuchung am Schlachthof verlassen, um die *A. suum* Situation am Betrieb einzuschätzen, dient diese Arbeit nicht nur zur Demonstration der hohen Sensitivität des neuen ELISAs, sondern sie soll auch zeigen wie viele *A. suum* Infektionen in Österreich bei der Organbeurteilung unentdeckt bleiben. Darum wurden im Rahmen dieser Arbeit bei 18 zufällig ausgewählten Betrieben am Schlachthof, von zehn Tieren je Betrieb, jeweils eine Blut- und Kotprobe entnommen und die Leber des beprobten Tieres auf Milkspots untersucht. Die Resultate bestätigten einerseits die hohe Sensitivität des ELISAs (Sensitivität der Organbeurteilung: 23,5-27,0%; Flotation: 8,5-9,0%; ELISA: 99,5%) und andererseits zeigte sich auch, dass ein hoher Anteil an *A. suum* Infektionen von der gängigen Organbeurteilung am Schlachthof unentdeckt blieb. Insgesamt wurden 177 Tiere beprobt, 69% wurden vom ELISA als positiv detektiert und lediglich 22% wiesen bei der Organbeurteilung am Schlachthof Milkspots auf. Die Ergebnisse dieser Arbeit legen nahe, dass die gängige Methode der Spulwurm-Diagnostik zu hinterfragen ist und gegebenenfalls die Untersuchung von Mastferkeln, die am Beginn der Mastperiode stehen, auf Antikörper mittels ELISA-Test als Standardverfahren zu etablieren. Dadurch werden die Ergebnisse zuverlässiger und das

wiederum ist notwendig für eine objektive Beurteilung der *A. suum* Situation in Österreich und eines einzelnen Betriebes. Nur dadurch können der Landwirt/die Landwirtin und der Tierarzt/die Tierärztin sichere und zuverlässigere Entscheidungen bezüglich der Notwendigkeit einer Therapie oder Änderungen im Parasitenmanagement treffen.

6.2 Summary

Comparative investigation of different detection methods for the determination of roundworm infections in Austrian domestic pig herds

One of the most important pig parasite worldwide with economic impact is the large roundworm or *A. suum*. The most common method of monitoring the pig roundworm in Austria is to examine the liver for milk spots at the slaughterhouse. Another routine diagnostic method is coproscopic examination using flotation, for the detection of *A. suum* eggs in the feces. For some years now there exists another method to detect an *A. suum* infection in pigs - a commercial indirect ELISA which can be used to detect antibodies directed against *A. suum* haemoglobin. These antibodies are detectable seven weeks after the infection. Compared to the commonly used techniques, the ELISA has a higher sensitivity. According to the manufacturer it is sufficient to take blood from ten animals per pig unit to represent the *A. suum* situation in the whole stable. Besides the high sensitivity of the test, another advantage is the low number of animals which is necessary for the ELISA test. Furthermore, this method needs also less time than for example liver inspection. At the current state it was uncommon to detect *A. suum* with the help of a serological method in Austria since the practitioners and farmers rely on the feedback system of the liver inspection at the slaughterhouse to assess the *A. suum* situation on the farm. Therefore, this study not only gives a view of the high sensitivity of the ELISA test, but also highlights the huge number of *A. suum* infections in Austrian pigs, which are still undetected through the common methods. Blood and faecal samples were taken from 18 randomly selected slaughter pig batches of different farms at the slaughterhouse, from ten animals per batch. Moreover, the livers of the sampled animals were examined for milk spots. The results confirmed on the one hand the high sensitivity of the ELISA (sensitivity of the liver assessment: 23.5-27.0%; flotation: 8.5-9.0%; ELISA: 99.5%) and on the other hand it was also shown that a high percentage of *A. suum* infections remained undetected by the standard liver assessment at the slaughterhouse. A total of 177 animals were sampled, 69% were detected as positive by the ELISA and only 22% of livers had milk spots at the slaughterhouse. The results suggest that the current method of roundworm diagnostics should be rethought and, if necessary, the testing for antibodies of fatteners which is at the beginning of the fattening period

by using an ELISA test should be established as the standard procedure. This gives more reliable results which are necessary for an objective assessment of the *A. suum* situation in the Austrian pig production as well as on individual farms. Moreover, this is important for the farmer and the veterinarian to make safe and reliable decisions regarding the need for therapy or changes in parasite management.

7 Literaturverzeichnis

- Boes, J.; Kanora, A.; Havn, K. T.; Christiansen, S.; Vestergaard-Nielsen, K.; Jacobs, Jos; Alban, L. (2010): Effect of *Ascaris suum* infection on performance of fattening pigs. *Veterinary Parasitology* 172 (3-4), 269–276. DOI: 10.1016/j.vetpar.2010.05.007.
- Boes, J.; Nansen, P.; Stephenson, L. S. (1997): False-positive *Ascaris suum* egg counts in pigs. *International Journal for Parasitology* 27 (7), 833–838. DOI: 10.1016/S0020-7519(97)00054-4.
- Bundesministerium für Nachhaltigkeit und Tourismus: Grüner Bericht 2018. Online verfügbar unter <https://gruenerbericht.at/cm4/jdownload/send/2-gr-bericht-terreich/1899-gb2018>, zuletzt geprüft am 28.08.2020.
- Deplazes, P.; Eckert, J.; von Samson-Himmelstjerna, G.; Zahner, H. (2013): Lehrbuch der Parasitologie für die Tiermedizin. 3., überarbeitete Auflage. Stuttgart: Enke Verlag.
- Eriksen, L.; Andersen, S.; Nielsen, K.; Pedersen, A.; Nielsen, J. (1980): Experimental *Ascaris suum* infection in pigs. Serological response, eosinophilia in peripheral blood, occurrence of white spots in the liver and worm recovery from the intestine. *Nordisk Veterinærmedicin* 32 (6), 233–242.
- Gruss, A. (2004): Schweinebestandsbetreuung und Erlössteigerung. *Grosstierpraxis* 5:12, 6-9.
- Hale, O. M.; Stewart, T. B.; Marti, O. G. (1985): Influence of an experimental infection of *Ascaris suum* on performance of pigs. *Journal of Animal Science* 60 (1), 220–225. DOI: 10.2527/jas1985.601220x.
- Joachim A, Dülmer N, Dauschies A, Roepstorff A.: Occurrence of helminths in pig fattening units with different management systems in Northern Germany. *Vet Parasitol.* 2001 Mar 20;96(2):135-46. doi: 10.1016/s0304-4017(00)00431-3.
- Joachim, A. (2006): Helminthosen des Schweines. In Schnieder T. (Hrsg.): *Veterinärmedizinische Parasitologie*, 369-398.
- Jungersen, G.; Eriksen, L.; Nansen, P.; Fagerholm, H. P. (1997): Sex-manipulated *Ascaris suum* infections in pigs: implications for reproduction. *Parasitology* 115 (Pt 4), 439–442. DOI: 10.1017/s003118209700142x.

- Lassen, B.; Oliviero, C.; Orro, T.; Jukola, E.; Laurila, T.; Haimi-Hakala, M.; Heinonen, M (2017): Effect of fenbendazole in water on pigs infected with *Ascaris suum* in finishing pigs under field conditions. *Veterinary Parasitology* 237, 1–7. DOI: 10.1016/j.vetpar.2017.03.005.
- Mejer, H.; Roepstorff, A. (2006): *Ascaris suum* infections in pigs born and raised on contaminated paddocks. *Parasitology* 133 (Pt 3), 305–312. DOI: 10.1017/S0031182006000394.
- Kanora, A. Effect on productivity of treating fattening pigs every 5 weeks with flubendazole in feed. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift: Supplement* 78.3 (2009): 170-75. Web.
- Kipper, M; Andretta, I; Monteiro, S, Gonzalez; L, Paulo A; Lehnen, C. (2011): Meta-analysis of the effects of endoparasites on pig performance. *Veterinary Parasitology* 181 (2-4), S. 316–320. DOI: 10.1016/j.vetpar.2011.04.029.
- Knecht, D; Popiołek, Ma; Zaleśny, G (2011): Does meatiness of pigs depend on the level of gastro-intestinal parasites infection? *Preventive Veterinary Medicine* 99 (2-4), S. 234–239. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2011.01.009.
- Mielke, D.; Hiepe, T. (1998): Untersuchungen zur Wirksamkeit verschiedener Desinfektionsmittel auf p-Chlor-m-Kresol-Basis gegen *Ascaris suum*-Eier unter Laborbedingungen. *Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift* 111 (7-8), 291–294.
- Müller, E. (2005): Direktor des Schlachthofes in Fulda. Mündliche Mitteilung vom 7. 12. 2005.
- Nansen, Peter; Roepstorff, Allan (1999): Parasitic helminths of the pig: factors influencing transmission and infection levels. *International Journal for Parasitology* 29 (6), 877–891. DOI: 10.1016/S0020-7519(99)00048-X.
- Nejsum, P.; Roepstorff, A.; Jørgensen, C. B.; Fredholm, M.; Göring, H. H. H.; Anderson, T. J. C.; Thamsborg, S. M. (2009): High heritability for *Ascaris* and *Trichuris* infection levels in pigs. *Heredity* 102 (4), 357–364. DOI: 10.1038/hdy.2008.131.
- Ózsvári, L. (2018): Production impact of parasitisms and coccidiosis in swine. *Journal of Dairy, Veterinary & Animal Research* 7 (5). DOI: 10.15406/jdvar.2018.07.00214.

Roepstorff, A.; Eriksen, L.; Slotved, H. C.; Nansen, P. (1997): Experimental *Ascaris suum* infection in the pig: worm population kinetics following single inoculations with three doses of infective eggs. *Parasitology* 115 (Pt 4), 443–452. DOI: 10.1017/s0031182097001480.

Roepstorff, A.; Mejer, H.; Nejsum, P.; Thamsborg, S. M. (2011): Helminth parasites in pigs: new challenges in pig production and current research highlights. *Veterinary Parasitology* 180 (1-2), 72–81. DOI: 10.1016/j.vetpar.2011.05.029.

Roepstorff, A. (2003): *Ascaris suum* in pigs. Population biology and epidemiology. Zugl.: Frederiksberg, Kgl. Veterinær- og Landbohøysk., Afh., 2003. Copenhagen: The Danish National Research Foundation.

Stewart, T. B.; Bidner, T. D.; Southern, L. L.; Simmons, L. A. (1984): Efficacy of fenbendazole against migrating *Ascaris suum* larvae in pigs. *American Journal of Veterinary Research* 45 (5), 984–986.

Stewart, T. B.; Hale, O. M. (1988): Losses to internal parasites in swine production. *Journal of Animal Science* 66 (6), 1548–1554. DOI: 10.2527/jas1988.6661548x.

Urban, J. F.; Romanowski, R. D.; Steele, N. C. (1989): Influence of helminth parasite exposure and strategic application of anthelmintics on the development of immunity and growth of swine. *Journal of Animal Science* 67 (7), 1668–1677. DOI: 10.2527/jas1989.6771668x.

Vandekerckhove, E.; Vlaminck, J.; Sacristán del Pozo, R.; Geldhof, P. (2019): Effect of strategic deworming on *Ascaris suum* exposure and technical performance parameters in fattening pigs. *Veterinary Parasitology* 268, 67–72. DOI: 10.1016/j.vetpar.2019.03.006.

Viera, Anthony J.; Garrett, Joanne M. (2005): Understanding interobserver agreement: the kappa statistic. *Family Medicine* 37 (5), S. 360–363.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15883903/>.

Vlaminck, J.; Düsseldorf, S.; Heres, L.; Geldhof, P. (2015): Serological examination of fattening pigs reveals associations between *Ascaris suum*, lung pathogens and technical performance parameters. *Veterinary Parasitology* 210 (3-4), 151–158. DOI: 10.1016/j.vetpar.2015.04.012.

Vlaminck, J.; Nejsun, P.; Vangroenweghe, F.; Thamsborg, S. M.; Vercruysse, J.; Geldhof, P. (2012): Evaluation of a serodiagnostic test using *Ascaris suum* haemoglobin for the detection of roundworm infections in pig populations. *Veterinary Parasitology* 189 (2-4), 267–273.
DOI: 10.1016/j.vetpar.2012.04.024.

Wurmbefall.pdf (2017). Online verfügbar unter <https://www.svg-rd.de/wp-content/uploads/2017/09/Wurmbefall.pdf>, zuletzt geprüft am 29.09.2020.

8 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 verschiedene Lebern mit unterschiedlicher Anzahl an Milkspots.....	- 11 -
Abbildung 2: Anzahl und Ergebnisse der untersuchten Lebern je Betrieb	- 19 -
Abbildung 3 Positive Ergebnisse der untersuchten Kotproben je Betrieb.	- 20 -
Abbildung 4: Ergebnisse des SERASCA®-Test auf Antikörper der einzelnen Betriebe dargestellt.	- 21 -

9 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Bestimmung von Sensitivität und Spezifität bei Milkspots und ELISA. Fragliche ELISA Ergebnisse als negativ gewertet.	- 23 -
Tabelle 2 Bestimmung von Sensitivität und Spezifität bei Milkspots und ELISA. Fragliche ELISA Ergebnisse als fehlend gewertet.	- 24 -
Tabelle 3: Bestimmung von Sensitivität und Spezifität bei Milkspots und ELISA. Fragliche ELISA Ergebnisse als positiv gewertet.	- 25 -
Tabelle 4: Bestimmung von Sensitivität und Spezifität bei Flotation und ELISA. Fragliche ELISA Ergebnisse als positiv gewertet.	- 26 -
Tabelle 5: Bestimmung von Sensitivität und Spezifität bei Flotation und ELISA. Fragliche ELISA Ergebnisse als negativ gewertet.	- 27 -
Tabelle 6: Bestimmung von Sensitivität und Spezifität bei Flotation und ELISA. Fragliche ELISA Ergebnisse als fehlend gewertet.	- 28 -