

Aus dem Department für
Nutztiere und öffentliches Gesundheitswesen in der Veterinärmedizin
der Veterinärmedizinischen Universität Wien
Universitätsklinik für Schweine
(Leiterin: Univ.-Prof. Dr. med. vet. Andrea Ladinig, Dipl. ECPHM)

**Erhebung von Veränderungen der Harnparameter
sowie Ausscheidung von *Leptospira Icterohamorrhagiae*
im Harn und Vaginalsekret bei Jungsauen nach
experimenteller Infektion**

Diplomarbeit

Veterinärmedizinische Universität Wien

Vorgelegt von

Sarolta Takacs

Wien, im Mai 2022

Betreuerin:

Dr.med.vet. Christine Unterweger, Dipl. ECPHM

Universitätsklinik für Schweine

Veterinärmedizinische Universität

Veterinärplatz 1, 1210 Wien, Österreich

Gutachter/in:

Ass.-Prof. Karen Wagener

Universitätsklinik für Wiederkäuer, Abteilung Bestandsbetreuung

Department für Nutztiere und öffentliches Gesundheitswesen in der Veterinärmedizin

Veterinärmedizinische Universität

Veterinärplatz 1, 1210 Wien, Österreich

Danksagung

Meinem Partner und meinen Eltern,
die mir dieses Studium ermöglicht haben

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
Tab.	Tabelle
°C	Grad Celsius
Ca	Calcium
Cl	Chlor
cm	Zentimeter
cm ³	Kubikzentimeter
g	Gramm
g/l	Gramm pro Liter
HCO ₃	Bicarbonat
HPO ₄	Phosphorsäure
ID	Identifikation
K ⁺	Kalium
KBE/ml	Gesamtkeimzahl pro Milliliter
KM	Körpermasse
KM/d	Körpermasse pro Tag
KM/h	Körpermasse pro Stunde
l	Liter
MAT	Mikroagglutinationstest
µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter
µmol/L	Mikromol pro Liter
µm	Mikrometer
Mg	Magnesium
mg/dL	Milligramm pro Deziliter
mg/kg	Milligramm pro Kilogramm
mg/ml	Milligramm pro Milliliter

ml	Milliliter
ml/kg	Milliliter pro Kilogramm
Na	Natrium
NH ₄	Ammonium
SO ₄	Sulfat
s	Sekunde
UPC	Protein/Kreatinin-Verhältnis

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
2. Literaturübersicht	4
2.1. Allgemeine Eigenschaften und Taxonomie	4
2.2 Morphologie	4
2.3. Epidemiologie	5
2.4. Pathogenese und Ausscheidung	6
2.5 Leptospirose der Schweine.....	7
2.6 <i>Leptospira Icterohaemorrhagiae</i> Infektion der Schweine	9
2.7 Diagnostischen Methoden und für die Studie relevanten Harnparameter	10
2.8 Therapie und Prophylaxe	16
3. Material und Methoden	18
3.1. Versuchsaufbau	18
3.2 Durchführung der Probenentnahme und Verarbeitung der Proben	21
3.2.1 Makroskopische Untersuchung	22
3.2.2 Harnuntersuchung mittels Combur [®] -Tests	22
3.2.3 Bestimmung des pH-Wertes mittels pH-Messgerätes	24
3.2.4 Kultivierung	25
3.2.5 qPCR-Untersuchung der Harnpellets und Vaginaltupfer	26
3.2.6 Labordiagnostische Untersuchung	27
3.2.7 Sektion und Histologie	28
4. Ergebnisse	29
4.1 Ergebnisse der makroskopischen Harnuntersuchung.....	29
4.2 Ergebnisse des Combur-Tests [®] und Darstellung der Laborparameter	30
4.3 Ergebnisse des pH-Wertes	33
4.4 Ergebnisse der Kultivierung	34
4.5 Ergebnisse der qPCR-Untersuchungen	34
4.6 Ergebnisse der Sektion und der histologischen Untersuchung.....	34
5. Diskussion	36
6. Zusammenfassung.....	40
7. Summary	42
8. Literaturverzeichnis.....	44
9. Tabellenverzeichnis.....	51
10. Abbildungsverzeichnis	52

1. Einleitung

Die Leptospirose ist als weltweit auftretenden Zoonose bekannt (Adler und de la Peña Moctezuma 2010) und wird bei Schweinen insbesondere mit Reproduktionsstörungen in Verbindung gebracht. Das Krankheitsbild wird hauptsächlich durch pathogene Serovare der Spezies *Leptospira interrogans* hervorgerufen. Die meisten Infektionen mit Leptospiren verlaufen beim Schwein subklinisch und sind von endemischer Natur (Fennestad und Borg-Petersen 1966). Werden Leptospiren jedoch das erste Mal in eine empfängliche Herde eingebracht oder ist die Herdenimmunität geschwächt, können massive Verluste durch Aborte, Geburt toter oder lebensschwacher Ferkel oder Infertilität entstehen (Strutzberg-Minder und Kreienbrock 2011). Die Diagnosestellung einer Leptospirose im Fall von Aborten und Geburten lebensschwacher Ferkel bedeutet oft eine große Herausforderung für die betreuenden Tierärzte. Dies liegt zum einen daran, dass die Infektion und klinische Symptomatik zeitverzögert auftreten und zum anderen, dass der Nachweis in den Föten oder lebensschwachen Ferkeln nur selten gelingt (Unterweger et al. 2018). Noch größer ist die Herausforderung jedoch in nicht-trächtigen Tieren, da die Ausscheidung nach einer geschätzt sieben Tage langanhaltenden bakteriämischen Phase mit anschließender Besiedelung insbesondere des Urogenitaltraktes und der regionalen Lymphknoten, sowie darauffolgender Persistenz in den proximalen Nierentubulis der Nierenrinde nur intermittierend über Harn und Genitalflüssigkeit erfolgt (Ellis 2006, Strutzberg-Minder und Kreienbrock 2011). Ein genau definiertes Intervall liegt anhand fehlender Infektionsstudien nicht vor, und es wurde nicht definiert, wann Leptospiren nach Infektion erstmals ausgeschieden werden. Somit ist die Wahrscheinlichkeit, falsch negative Ergebnisse zu bekommen, sehr hoch. Der Nachweis pathogener Leptospiren aus Schweinematerial im Kulturversuch gelang in Österreich tatsächlich schon seit Jahrzehnten nicht mehr (persönliche Kommunikation) und auch in der fachspezifischen Literatur sind darüber keine Berichte bekannt. Auch über Übertragungswege zwischen Schweinen weiß man eher wenig. Sicher ist nur, dass Nager das primäre Reservoir und Hauptwirt für viele Leptospirenservaren wie z.B. Pomona, Bratislava oder München darstellen und sich Schweine über den Kontakt zu den Nagetieren anstecken können

(Steinparzer et al. 2021). Als Infektionswege und Eintrittspforte lassen sich die Schleimhäute und offene Hautverletzungen darstellen und so geht man davon aus, dass sich Schweine durch direkten Kontakt anstecken. Diese Hypothese wurde bisher noch nie im Tierexperiment bewiesen.

Diese fehlenden Informationen über die Erreger erschweren die genaue Diagnosestellung und schränken die Therapiemöglichkeiten in den Schweinebeständen ein. Ziel dieser Studie war es daher, bei Sauen nach experimenteller Infektion mit dem Isolat *Leptospira interrogans* Serogruppe Icterohaemorrhagiae Serovar Icterohaemorrhagiae dieses über einen Zeitraum von vier Wochen aus dem Harn- und Genitaltrakt zu reisolieren, um Aussagen über die Verteilung im Körper sowie Ausscheidungen des Erregers treffen zu können. Gleichzeitig sollten die Harnparameter gemessen werden, um eventuelle Leber- und Nierenwertveränderungen zu erheben. Messungen dieser Art sind bis dato in der Literatur nicht beschrieben. Der Erreger sollte auch nach Euthanasie in den Organen der Tiere nachgewiesen werden.

Es wurden daher folgende Hypothesen aufgestellt:

- Nach experimenteller Infektion von Jungsauen mit *Leptospira* Icterohaemorrhagiae verändern sich aufgrund von Leber- und Nierenschädigung die physiologischen Harnparameter und die Leptospiren DNA kann im Harn sowie Vaginalsekret nachgewiesen werden.
- Bei der pathologischen Untersuchung sind histologische Veränderungen im Urogenitaltrakt und der Erreger in diversen Organen (insbesondere Leber, Niere und Genitaltrakt) nachweisbar.

Zusätzlich sollte im Rahmen der Studie auch geklärt werden, ob sich infizierte Tiere naive Tiere durch direkten Kontakt anstecken können. Dies war aber nicht Teil und Fragestellung der Diplomarbeit.

Der Grund für die Auswahl dieses Erregers war die aktuell vorliegenden sehr hohe Seroprävalenz bei Sauen insbesondere mit Fruchtbarkeitsstörungen aus österreichischen ferkelproduzierenden Betrieben. Über 50 % der positiven serologischen Ergebnisse werden Antikörpertitern gegen das Serovar Icterohaemorrhagiae zugeschrieben (persönliche

Kommunikation). Experimentelle Infektionen mit dem Serovar Icterohaemorrhagiae, insbesondere bei geschlechtsreifen Sauen, sind rar. Über die Serovaren Bratislava und Pomona berichten wesentlich mehr Studien. Ein weiterer Aspekt war, dass Icterohaemorrhagiae innerhalb einer rund drei Wochen langen Zeitspanne angezüchtet und reisoliert werden kann. Im Gegensatz zu den anderen Isolaten, bei denen eine Kultivierung bis zu sechs Monaten lang dauern kann, ist diese Zeitspanne relativ kurz und eine Studie besser planbar. Dies konnte bereits in einer Vorstudie gezeigt werden (Steinparzer et al. 2021).

Diese Studie dient somit insbesondere der Verbesserung der Leptospirendiagnostik.

2. Literaturübersicht

2.1. Allgemeine Eigenschaften und Taxonomie

Leptospiren sind aerobe bis mikroaerophile, aktiv bewegliche gramnegative Schraubenbakterien, die in die Familie der *Spirochaetaceae* einzuordnen sind (Levett 2001). Die Gattung *Leptospira* beinhaltet derzeit 14 verschiedene pathogene Spezies mit mehr als 260 Serovaren (Levett 2015). Nach derzeitigem Wissensstand sind für das Schwein lediglich zwei dieser 14 Spezies – nämlich *L. interrogans* und *L. borgpetersenii* – pathogen. Während es nur wenige Beschreibungen über Infektionen von Schweinen mit *L. borgpetersenii* gibt, wird der Leptospirose, welche durch *L. interrogans* hervorgerufen wird, eine weitaus größere Bedeutung beigemessen (Sykes et al. 2010, Cruz-Romero et al. 2018). *L. interrogans* hat wiederum zahlreiche Serovaren, welche in einzelne Serogruppen zusammengefasst werden können (Tab. 1).

2.2 Morphologie

Die saprophytischen sowie die pathogenen Arten der Leptospiren sind Spirochäten mit einem Durchmesser von etwa 0,1 µm. Die Länge kann zwischen 3 und 60 µm variieren (Adler und de la Peña Moctezuma 2010). Die Leptospiren besitzen eine gewundene, schraubenartige Form und ausgeprägte, hakenförmige und knopfartig verdickte Enden. Das verleiht ein „spazierstockartiges“ Aussehen, dem man einen Zusammenhang mit Virulenz zuschreibt (Faine et al. 1999). Für die Motilität sind zwei periplasmatische, einander gegenüberliegende Flagellen zuständig (Adler und de la Peña Moctezuma 2010). Die kontraktilen Axialfilamente ermöglichen die Rotationsbewegungen sowie die Vor- und Rückwärtsbewegungen (Zuelzer 1918, Rolle und Mayr 2006). Sie weisen eine typische Doppelmembranstruktur auf, in der die zytoplasmatische Membran und aus Peptidoglykan bestehende Zellwand in enger Verbindung stehen und noch von einer äußeren Membran überlagert sind (Cullen et al. 2005). Innerhalb der äußeren Membran liegen die Lipopolysaccharide, die sich als Hauptantigen bei den Leptospiren darstellen. Strukturell und immunologisch sind die Lipopolysaccharide der Leptospiren ähnlich

den Lipopolysacchariden, die sich in anderen gramnegativen Bakterien befinden, aber sind relativ ungiftig für die Zellen oder Tiere (Faine et al. 1999). Zu weiteren wichtigen Strukturen der äußeren Membran gehören die integralen Membranproteine wie das Porin OmpL1 (Shang et al. 1995) und das Sekretin GspD (Rodríguez Reyes et al. 2005). Diese zeigen ein antigenähnliches Verhalten.

2.3. Epidemiologie

Leptospiren sind fähig, in einer feuchten Umgebung, leicht alkalischem pH-Wert und Temperaturen über 18 °C sogar monatelang zu überleben. Im Regenwasser sind sie bis zu 18 Tage lang, in dem Flusswasser bis zu mehr als drei Monate lang überlebensfähig und können den infektiösen Charakter behalten (Horsch et al. 1970). Eine rasche Abtötung ist mit Hilfe von üblichen Desinfektionsmitteln, ebenfalls durch Aussetzen mit Sonnenlicht über zwei bis drei Stunden möglich (Faine et al. 1999, Rolle und Mayr 2006). Das Überleben wird durch die Austrocknung stark vermindert. Es gibt charakteristische Assoziationen zwischen bestimmten Serovaren und bestimmten Tierarten, aber das Grundverständnis dieser Assoziationen ist nicht beschrieben (Emanuel et al. 1964, Chernukcha et al. 1974). Das Schwein kann sich prinzipiell mit jedem pathogenen Serovar infizieren und dient als Reservoir hauptsächlich für die Serovaren Pomona, Bratislava und Tarassovi (Strutzberg-Minder und Kreienbrock 2011).

Die Ausbreitung hängt zum einen von den geografischen und klimatischen Faktoren ab. Eine wichtige Rolle spielt ebenso die Tatsache, welche Tierspezies für das jeweilige Serovar als Reservoirwirt gilt (Faine et al. 1999). Die Mäuse (*Mus musculus* und andere *Mus* Spezies) und Ratten (hauptsächlich *Rattus norvegicus* und *Rattus rattus*) dienen als Reservoir für ihre wirtsbezogene Serovaren (die Mäuse für Icterohaemorrhagiae und die Ratten für Copenhageni) (Bharti et al. 2003). Sie zeigen normalerweise keine Symptome, ihre Niere sind aber hochgradig mit Leptospiren befallen, was sie zu einer der wichtigsten Infektionsquellen für Menschen und Tiere macht (Adler und de la Peña Moctezuma 2010). Die pathogenen Leptospiren besiedeln insbesondere die Epithelzellen der proximalen Nierentubuli der Trägartiere, obwohl auch andere Gewebe oder Organe als potenzielle Infektionsquelle dienen können. Aus den Nieren werden die Leptospiren durch Urin ausgeschieden und kontaminieren die Umgebung. Als

Schlüsselkomponente gilt die oben beschriebene persistierende Infektionsquelle in den Nieren, die somit eine zentrale Bedeutung für die Epidemiologie hat (Adler und de la Peña Moctezuma 2010).

2.4. Pathogenese und Ausscheidung

Leptospirose ist eine systemische Erkrankung des Menschen und der Haustiere, hauptsächlich für Hunde, Rinder und Schweine, gekennzeichnet durch Fieber, Nieren- und Leberinsuffizienz, pulmonale Manifestationen und Reproduktionsstörungen. Klinische Symptome äußern sich sehr variabel, die meisten Fällen verlaufen wahrscheinlich inapparent. Sie sind mit den wirtsadaptierten Serovaren, wie Canicola bei den Hunden, Bratislava bei den Pferden und Schweinen, Hardjo bei den Rindern und Australis und Pomona bei den Schweinen assoziiert (Ellis et al. 1986, Bernard 1993, André-Fontaine 2006, Grooms 2006). Andererseits können die anderen Serovaren auch an den schwerwiegenden Erkrankungen beteiligt sein. Die Symptome der landwirtschaftlichen Nutztiere sind oft unspezifisch, aus diesem Grund kann die Diagnostik noch schwieriger sein (Adler und de la Peña Moctezuma 2010). Bei den Rindern und Schweinen ist eine Infektion mit Reproduktionsstörungen wie Aborten, Totgeburten, fetalen Mumifizierungen, lebensschwachen Kälbern oder Ferkeln assoziiert.

Leptospiren dringen durch Hautverletzungen, wie kleine Schnittwunden, Abschürfungen oder über die Schleimhäute, wie Bindehaut und nasale Schleimhaut, in den Körper. Sie zirkulieren im Blutkreislauf und die bakteriämische Phase dauert bis zu sieben Tage (Shiokawa et al. 2019). Nachdem ein kritisches Antigenlevel im Blut und Gewebe erreicht wird, treten die Läsionen auf. Sie werden durch toxische Zellbestandteile oder undefinierte leptospirale Toxine verursacht. Die primäre Läsion ist die Schädigung des Endothels der kleinen Blutgefäße. Das führt zu einer lokalisierten Ischämie in den Organen, die die charakteristischen Nekrosen in den Nierentubuli, Leber- und Lungenschäden, Meningitis, Myositis und Plazentitis verursachen können. In der Regel bestehen eine leichte Granulozytose und Splenomegalie. Sobald die zirkulierenden Antikörper erscheinen, werden die Leptospiren aus dem Kreislauf und Gewebe mittels Opsonophagozytose eliminiert. Die Gewebsschäden können reversibel sein und es kann eine vollständige Reparatur des Nieren- und Lebergewebes erfolgen. Diese Läsionen können

makroskopisch als weiße Punkte oder Flecken der Organe beobachtet werden (Medeiros et al. 2010).

Die Tiere, die sich von der Leptospirose erholen, können zu asymptomatischen Trägern werden, da die virulenten Leptospiren in den Nierentubulis für eine längere Zeit persistieren und in bestimmten Perioden immer wieder infektiöse Leptospiren in die Umwelt ausgeschieden werden können (Levett 2001). Die Dauer und Intensität kann je nach Art und von Tier zu Tier variieren und hängt von dem infizierenden Serovar ab (Adler und de la Peña Moctezuma 2010). Die genauen pathologischen Mechanismen sind nicht genau definiert. Die zelluläre und molekulare Grundlage der Virulenz ist nur teilweise verstanden und beschrieben (Adler und de la Peña Moctezuma 2010). Es wurde beispielsweise nachgewiesen, dass sich virulente Leptospiren an den kultivierten renalen tubulären Epithelzellen anhaften (Chappel et al. 1985), aber das dafür verantwortliche Adhäsion wurde nicht identifiziert. Ein 36 kDa Fibronectin-bindendes Protein wurde in einem virulenten Stamm von *Icterohaemorrhagiae* identifiziert, was jedoch in einer avirulenten Variante und in einem saprophytären Stamm gefehlt hat (Merien et al. 1998).

Die Infektion kann nicht nur mit massiven wirtschaftlichen Verlusten in engen Zusammenhang gebracht werden, sondern stellt auch durch das Zoonosepotenzial eine große Gefahr für den Menschen dar. Der Kontakt mit den potenziell infektiösen Körperflüssigkeiten wie Harn oder Kot stellt ein erhöhtes Risiko dar (National Association of State Public Health Veterinarians, 2010). Der Auftritt von fieberhaften Erkrankungen muss mit der Hilfe eines Humanmediziners abgeklärt werden (Bundesministerium für Risikobewertung 2014).

2.5 Leptospirose der Schweine

Leptospirose gehört zu den wichtigsten Differentialdiagnosen bei Reproduktionsstörungen und Aborten bei Schweinen. Die Krankheit verläuft biphasisch, wobei die Tiere in den ersten sieben Tagen in der Regel hohes Fieber aufgrund der Bakteriämie aufweisen. Die Erreger verbreiten und vermehren sich in den parenchymatösen Organen. Primär werden die Organe des Urogenitaltraktes und die regionalen Lymphknoten befallen, und die Leptospiren sind während

der bakteriämischen Phase im Blut nachweisbar. Eine diaplazentare Infektion des Fötus und ein damit verbundener Fruchttod ist auch möglich. Die zweite Phase kommt nach einer kurzen fieberfreien Pause und wird als toxische Phase bezeichnet (Krauss 1977, Rolle und Mayr 2006). Zu den Symptomen gehören neben dem Fieber noch Ikterus, Hämaturie und Anämie (Strutzberg-Minder und Kreienbrock 2011), was als Folge der durch bakterielles Hämolysin hervorgerufenen Schädigung entstehen kann (Horsch et al. 1970, Rolle und Mayr 2006). Die Bakteriämie endet ungefähr nach fünf bis zehn Tagen. Die Leptospiren werden durch die frei zirkulierenden Antikörper eliminiert, die sich mit dem Agglutinationstest nachweisen lassen (Hanson und Tripathy 1986). Die Erreger werden je nach Phase diskontinuierlich über den Harn und Vaginalsekrete ausgeschieden (Ellis et al. 1986). Die Inkubationszeit ist von der Erregerdosis und Immunität des Tieres abhängig und variiert zwischen zwei und 30 Tagen (Faine et al. 1999).

Bestimmte Serovaren sind an bestimmte Tiere angepasst und kommen bei diesen aus diesem Grund gehäuft vor. Regionale Unterschiede bestehen auch. Beim Schwein werden meistens Infektionen mit den Serovaren Pomona, Australis, Tarassovi, Grippotyphosa, Icterohaemorrhagiae, Canicola und Bratislava beschrieben. Die klinischen Symptome sind aber zu den einzelnen Serovaren nicht genau zugeordnet, aus diesem Grund ist es schwierig, die klinischen Manifestationen der Serovare zu unterscheiden (Strutzberg-Minder und Kreienbrock 2011, Steinparzer et al. 2021). Die beim Schwein vorkommenden Leptospiren sind in Tab. 1 aufgelistet.

Durch eine Infektion mit *L. Bratislava* werden Spätaborte, Umrauschen, und Unfruchtbarkeit hervorgerufen. Es handelt sich um ein an Schweine adaptiertes Serovar und verursacht in den meisten Fällen keine klinischen Symptome. Der Erreger persistiert im oberen Genitaltrakt der Sauen und Eber und eine geschlechtliche Übertragung spielt bei dieser Infektion eine wichtige Rolle (Ellis et al. 1986). Eine Infektion mit *L. Tarrassovi* und *L. Pomona* kann zu Totgeburten und lebensschwachen Ferkeln führen (Levett 2001). Da zwei von den oben genannten Serovaren – nämlich die Serovaren Pomona und Bratislava- in den europäischen Ländern häufig vorkommen, gibt es vermehrt Studien über diese (Bertelloni et al. 2018, Strutzberg-Minder et al. 2018). Das Serovar Tarrassovi kommt eher in den tropischen und subtropischen Gebieten vor (Lee et al. 2017, Fernandes et al. 2020).

Tab. 1: Auflistung der beim Schwein vorkommenden Leptospiren und ihre antigenetische Verwandtschaft (Ellis 2006 und Levett 2001).

Mit den Serogruppen assoziierte Spezies	Serogruppen	Serovar
Schwein gilt als Reservoirwirt		
<i>L. interrogans</i> , <i>L. noguchii</i> , <i>L. borgpetersenii</i> , <i>L. kirschneri</i>	Australis	Australis, Bratislava, Muenchen
<i>L. santarosai</i> , <i>L. kirschneri</i> , <i>L. interrogans</i> , <i>L. noguchii</i>	Pomona	Pomona
<i>L. noguchii</i> , <i>L. weilii</i> , <i>L. santarosai</i> , <i>L. borgpetersenii</i> , <i>L. inadai</i>	Tarassovi	Tarassovi
Weitere Serovare als Infektionsquelle für Schwein		
<i>L. interrogans</i> , <i>L. inadai</i> , <i>L. kirschneri</i>	Canicola	Canicola
<i>L. interrogans</i> , <i>L. santarosai</i> , <i>L. kirschneri</i>	Grippotyphosa	Grippotyphosa
<i>L. interrogans</i> , <i>L. weilii</i> , <i>L. inadai</i> , <i>L. kirschneri</i>	Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae, Copenhageni
<i>L. interrogans</i> , <i>L. weilii</i> , <i>L. santarosai</i> , <i>L. borgpetersenii</i> , <i>L. meyerii</i>	Sejroe	Sejroe, Hardjo

2.6 *Leptospira Icterohaemorrhagiae* Infektion der Schweine

In einer Studie ist beschrieben, dass eine Infektion mit *L. Icterohaemorrhagiae* schwerwiegende Symptome auslösen, da das Serovar nicht schweineadaptiert ist (Ellis et al. 1986). Hier spielt eher die Übertragung über den Harn eine wichtigere Rolle (Hathaway 1985). Im Rahmen von einer Studie wurden Sauen, die mit verschiedenen Serovaren (Pomona, Sejroe, Icterohaemorrhagiae und Saxkoebing) infiziert wurden, untersucht. Es wurde festgestellt, dass die Aborte nur bei den Sauen ausgelöst wurden, die mit den Serovaren Pomona und Sejroe infiziert waren. Die Sauen, die mit den Serovaren Icterohaemorrhagiae und Saxkoebing infiziert waren, entwickelten keine Symptome (Fennestad und Borg-Petersen 1966).

Das Serovar Icterohaemorrhagiae wurde in vielen Ländern mit indirekten serologischen Methoden nachgewiesen. Allerdings wurden nie Isolate direkt aus den infizierten Schweinen gewonnen (Hathaway 1985). In Mitteleuropa ist Icterohaemorrhagiae -nach Serovar Bratislavadas am zweithäufigsten vorkommende Serovar (Strutzberg-Minder et al. 2018), in Österreich sogar das am häufigsten vorkommende Serovar (persönliche Kommunikation) Als Hauptreservoir gilt die Wanderratte (*Rattus norvegicus*), die auch eine große Bedeutung für die Kontamination und Einbringen der Leptospiren in die Tierbestände hat. Eine direkte Übertragung zwischen den Schweinen ist kaum möglich (Hathaway 1985). Eine Infektion mit dem Serovar Icterohaemorrhagiae äußert sich in den meisten Fällen mit einer akuten Verlaufsform. Zu den typischen Symptomen gehören Fieber, Ikterus, Oligurie, Hämaturie, Meningitis, Hypotonie und Bradykardie (Krauss 1977, Selbitz und Bisping 1995). Nach der akuten Erkrankung wird meistens eine spontane Verbesserung des Gesundheitszustandes beobachtet (Hathaway 1985). Die Beschreibungen in der Literatur sind jedoch divers und es liegen nur vereinzelte Informationen für die genaue Pathogenität und klinische Symptome vor. Die Studien, die eine experimentelle Infektion beschreiben, sind hauptsächlich sehr alt und beziehen sich auf eine Infektion mit der Serogruppe Icterohaemorrhagiae, aber nicht mit einem Serovar Icterohaemorrhagiae. Aus diesem Grund sind kaum Informationen zu der Pathogenität von *L. Icterohaemorrhagiae* bei Schweinen vorhanden und das allgemeine Wissen über die Pathogenität und Epidemiologie der Leptospiren sind nicht auf das Serovar Icterohaemorrhagiae übertragbar.

Einige Autoren (Schnurrenberger et al. 1970) vertraten den Standpunkt, dass die durch natürliche Mechanismen infizierten Schweine den Erreger über den Harn weniger als 35 Tage lang ausscheiden können. Andere Autoren (Fennestad und Borg-Petersen 1966) konnten gar keine Erregerausscheidung im Rahmen einer experimentellen Infektion beobachten.

2.7 Diagnostischen Methoden und für die Studie relevanten Harnparameter

Die Durchführung der Anamnese und der klinischen Untersuchung sowie die pathologischen und histologischen Untersuchungen und Befunde der betroffenen Tiere ermöglichen in den meisten Fällen nur eine Verdachtsdiagnose, da die klinischen Symptome recht vielfältig sind

(Rolle und Mayr 2006). Zu den Methoden, die die Erreger labordiagnostisch nachweisen können, gehören einerseits der direkte Erregernachweis und andererseits der Nachweis von Serumantikörpern (indirekter Nachweis) (Ellis 1992, OIE 2010). Zu den etablierten Methoden gehören vor allem der Antikörpernachweis mittels Mikroagglutinationstest (MAT) und Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) (Steinparzer et al. 2021). Die Nachweismethode mit MAT ist die am meisten verbreitete Möglichkeit und gilt als Goldstandard (OIE 2010). Sie hat den Vorteil, dass sich die spezifischen Serovaren oder mindestens Serogruppen unterscheiden lassen. Es ermöglicht allerdings keine Unterscheidung zwischen Impf- und Feldantikörpern. Eine Einschränkung der MAT besteht außerdem darin, dass eine Kreuzreaktion der Antikörper gegen Serovaren, die derselben oder anderen Serogruppen angehören, vorkommen kann (Adler und de la Peña Moctezuma 2010).

Der Nachweis von Leptospiren mittels Kultur ermöglicht eine sehr aussagekräftige Diagnose. Wegen der langsamen Wachstumsrate der meisten Leptospirenstämme stellt dieser Weg jedoch eine zeitliche Herausforderung dar. Eine erfolgreiche Isolierung der Leptospiren erfordert außerdem frische Gewebe-, Blut- oder Urinproben (Thiermann 1984, Langston und Heuter 2003). Die Menge der vorhandenen Leptospiren und die Dauer ihrer Ausscheidung im Harn kann individuell sehr stark variieren und hängt vom Infektionszeitpunkt ab (Bal et al. 1994). Wenn die Kultivierung richtig durchgeführt wird, liegt die Sensitivität des Nachweisverfahrens je nach Verlauf der Krankheit und dem verwendeten Material bei 5,0–50 % und die Spezifität bei 100 % (Levett 2001). Die Ursachen für die falsch negativen Ergebnisse sind vor allem die Vorbehandlung mit Antibiotika und Kontamination durch andere Bakterien, wofür die Kulturen sehr anfällig sind (Turner 1970). Eine lange Inkubation bis zu 13 Wochen bei 30 °C mit wöchentlich durchgeführter Untersuchung mittels Dunkelfeldmikroskopie ist notwendig, bevor die Kulturen als negativ gewertet werden können. Aus diesem Grund ist die Kultivierung des Erregers nicht als Routinetest zur Diagnose von einzelnen Patienten geeignet, bleibt aber als wichtige Option für epidemiologischen Zwecke (Adler und de la Peña Moctezuma 2010). Bei Schweinen stehen nur ganz wenige ältere Studien zur Verfügung, die eine erfolgreiche Isolierung von Leptospiren beschreiben. Die Isolierung von *L. interrogans* Serogruppe Icterohaemorrhagiae und Hebdomadis aus Gewebeproben (Niere) der Schweine war in England erfolgreich (Hathaway et al. 1981). Serogruppe Icterohaemorrhagiae, Hebdomadis, Australis und Autumnalis wurden aus abortierten Feten in Nordirland (Ellis et al. 1986), Serovar

Bratislava aus Schweinenieren in Deutschland (Schönberg et al. 1992), Serovar Bratislava und Hardjo aus den Nieren und aus dem Genitaltrakt der Schweine in Iowa, USA (Bolin et al. 1992), Serovar Grippotyphosa und Kennewicki aus abortierten Feten in Iowa, USA (Miller et al. 1990) und Serovar Pomona aus dem Genitaltrakt, der Leber und Nieren der Schweine in Brasilien (Miraglia et al. 2008) wurden erfolgreich nachgewiesen. Serogruppe Australis wurde aus dem Urin eines Schweines in Brasilien erfolgreich isoliert (Hamond et al. 2015).

Eine weitere diagnostische Methode ist die Polymerase-Kettenreaktion-Untersuchung (PCR), mit derer Hilfe bestimmte Teile der DNA des Erregers amplifiziert werden. Die Methode ermöglicht, dass auch die wenig vorhandene Menge an Erreger detektiert werden kann (Saiki et al. 1985). Ein Nachteil besteht allerdings darin, dass eine Aussage über den aktuellen Status (lebend oder tot) sowie die Infektiösität des Erregers nicht ermöglicht wird. Die Spezifität, die für die Nachweismethode angegeben ist, liegt zwischen 93 % und 100 %. Zum Nachweis von DNA pathogener Leptospiren eignen sich auf dem Gen *lipL32* basierende PCRs (Levett et al. 2005, Ahmed et al. 2009). Aus diesem Grund wird diese PCR am häufigsten verwendet (OIE 2010). Als Probenmaterial eignen sich insbesondere Urin und Sperma (Masri et al. 1997), Vollblut, Liquor (Brown et al. 1995), Serum (Gravekamp et al. 1993) und vor allem Nierenmaterial (Savio et al. 1994). Da die Harnproben in großen Mengen und nicht invasiv gesammelt werden können, sind sie vor allem für die Diagnose mittels PCR sehr gut geeignet (Bal et al. 1994). Die Leptospiren sind rund sieben Tagen *post infectionem* im Harn nachweisbar. Damit wird eine frühere Diagnostik nach Infektion neben der Kultivierung des Erregers ermöglicht (Bal et al. 1994).

Die Untersuchung des Harnes ermöglicht wichtige Schlüsse auf den gesundheitlichen Zustand des Tieres, wobei die quantitativen sowie qualitativen (Geruch und Farbe) Ergebnisse erfasst werden können (Baumgartner et al. 2017). Für die meisten Fragestellungen ist das Sammeln der Spontanharnproben ausreichend. Wenn die Funktion der Niere untersucht werden soll, ist es empfohlen, den Morgenharn zu sammeln. In dem Fall werden beeinflussenden Faktoren wie Bewegung, Aufnahme der Futter oder Flüssigkeit, die die Harnwerte modifizieren würden, ausgeschlossen (Baumgartner et al. 2017). Mit der Ausscheidung des Urins werden anorganische und organische Produkte des Stoffwechsels aus dem Körper eliminiert. Zu dem anorganischen Anteil gehören vor allem Kationen (Na, K, Ca, Mg, NH₄) und Anionen (Cl, HCO₃, HPO₄, SO₄). Zu dem organischen Anteil werden hauptsächlich die harnpflichtigen

Substanzen zugeordnet. Zu diesen gehören die Endprodukte des Proteinstoffwechsels wie beispielsweise Harnstoff, Kreatinin, Ammoniak und Aminosäuren (Fromm und Hielholzer 2000, Baumgartner et al. 2017). Die Farbe des Harnes ist physiologisch hellgelb bis dunkelgelb (Moritz et al. 2014), je dunkler, desto konzentrierter. Wenn die Farbe eher durchsichtig erscheint, kann erwartet werden, dass eine niedrige Harndichte vorliegt. Falls die Harnprobe dunkel erscheint, wird eine höhere Dichte erwartet (Kraft et al. 2005). Die Beurteilung des Geruches ist stark von der Wahrnehmung der Person abhängig, die die Untersuchung durchführt (Stirnemann 1984). Als physiologisch ist eine Bezeichnung von „artspezifisch“ angesehen. Der Harn sollte klar und ohne jegliche Trübungen erscheinen. Eine vorliegende Trübung kann ein Hinweis auf das Vorhandensein von Proteinen, Bakterien oder weiteren Beimengungen sein (Berner 1971). Der Harn hat bei einer gesunden Nierenfunktion eine wässrige Konsistenz (Kraft et al. 2005) und ist frei von Proteinen und Leukozyten. Falls Protein im Harn vorliegt, spricht man von Proteinurie, die je nach vorliegenden pathologischen Ursachen in drei Arten eingeteilt werden kann, nämlich in prärenale, renale und postrenale Proteinurie. Die prärenale Proteinausscheidung wird vor allem durch Herzinsuffizienzen und Durchblutungsstörungen in den Nieren sowie Hypotonie verursacht. Eine renale Proteinausscheidung liegt in dem Fall vor, wenn die glomeruläre Filtration gestört bzw. der Rückresorption aus dem Primärharn verhindert wird. Falls eine postrenale Proteinurie besteht, stammen die Proteinmoleküle in der Regel aus den harnableitenden Wegen (Harnblase, Harnröhre). Das kann ein Hinweis auf entzündliche Prozesse dieser Strukturen sein (Baumgartner et al. 2017). Damit eine quantifizierte Aussage über den Proteinverlust durch Harn erzielt werden kann, muss ein Protein/Kreatinin-Verhältnis (UPC) bestimmt werden. Ein Wert von unter 0,5 ist physiologisch angesehen. Bis einen Wert von 2 liegt eine geringgradige Erhöhung vor, die durch Niereninsuffizienzen, wie interstitielle Nephritis oder chronischen Nierenerkrankungen ausgelöst werden können. Bei einem Wert von > 2 können weitere Erkrankungen der Niere, wie z.B. Glomerulonephritis vorliegen (Baumgartner et al. 2017).

Harnstoff wird als ein Endbauprodukt des Proteinstoffwechsels durch Harn aus dem Körper ausgeschieden (White et al. 1973). Eine erhöhte Konzentration kann bei vermehrtem Proteinzufuhr über das Futter (Anderson und Edney 1969) vorliegen oder durch fieberhafte bzw. gewebsschädigende Erkrankungen in Zusammenhang ausgelöst werden (Dossator 1966, Plonait 1980, Kraft und Dürr 2005). Eine verminderte Harnstoffkonzentration wird hingegen

durch eine proteinarme Diät, Leberinsuffizienzen (Kraft und Dürr 2005) und Durchfall (Dossetor 1966) verursacht.

Kreatinin ist ein Abbauprodukt des Muskelstoffwechsels. Ein erhöhter Wert wird durch Muskelabbau und Muskelerkrankungen verursacht. Durch postrenale Störungen kann der Anteil an Kreatinin als auch Harnstoff erhöht sein. Ein erniedrigter Wert hat in der Regel keine klinische Bedeutung (Kraft und Dürr 2005).

Erythrozyten kommen unter physiologischen Bedingungen im Harn nicht vor. Das Vorhandensein von Erythrozyten weist auf eine Verletzung des Harntraktes oder entzündliches Geschehen der Nieren hin (Kraft et al. 2005).

Der Harn sollte unter physiologischen Zuständen auch frei von Bilirubin sein (Moritz 2014) und die Gesamtkeimzahl sollte einen Wert von 10^5 KBE/ml nicht überschreiten.

Tab. 2: Die pH-Werte, die bei den Schweinen entweder mit oder ohne Angabe von weiteren spezifischen Einflussfaktoren als physiologisch angesehen sind

Physiologischer pH-Wert	Autor
pH 5–8	Petersen 1979
pH 6,1–7,3	Vopelius-Feldt 1984
pH 6,5–7,5	Madec und David 1984
pH 5,27–8,11	Ruhrmann et al. 1986
pH 6–7 (abhängig von der Fütterung)	Richter et al. 1992

Wie in Tabelle 2 zu sehen ist, kann der physiologische pH-Wert des Harnes beim Schwein stark variieren. Der Faktor mit der größten Bedeutung ist die Fütterung. Der pH-Wert liegt in einem eher sauren Bereich, wenn die Futterquelle proteinarm ist (Bollwahn und Arnhofer 1989). Zu den weiteren wichtigen Einflussfaktoren zählen Medikamente und Erkrankungen des Stoffwechsels (Kraft et al. 2005).

Die Harnmenge wird von diversen Faktoren beeinflusst wie Fütterung, Wasseraufnahme, körperliche Aktivität, Umgebungstemperatur und innere Körpertemperatur (Kraft et al. 2005).

Tab. 3: Die Menge des physiologischen Harnvolumens für Schwein je nach Angabe des Autors

Physiologisches Harnvolumen	Autor
Ferkel: 0,4–0,5 l/Tag Erwachsenes Schwein: 2,0–4,0 l/Tag	Richter et al. 1992
20–80 ml/kg KM/d 0,8–3,3 ml/kg KM/h	Kraft et al. 2005, Moritz 2014

Es können weitere Parameter des Harnes mittels Teststreifen erfasst werden (Tab. 4). Allerdings wurde die Untersuchung mittels Teststreifen bei einer Diagnose von chronischen Formen der Harnwegserkrankungen bei Schweinen nur bedingt sinnvoll gefunden (Bellino et al. 2013). Der Einsatz der Teststreifen wurde nicht für die Schweine konzipiert und durch das Fehlen von vergleichbaren Studien bei Schweinen, die über die Ergebnisse der Blut- und Harnproben berichten, bietet die Anwendung dieser Testmöglichkeit in der Schweinemedizin kaum Vorteile.

Tab. 4: Auflistung vom Hersteller angegebener Parameter für Combur[®]-Harnteststreifen

PARAMETER	KLINISCHER NUTZEN
Leukozyten	Hinweis auf entzündliche Erkrankungen des Harntraktes, meistens wegen einer bakteriellen Ursache
Nitrit	Ausscheidung von Nitrit (Nitriturie) gehört zu den wichtigsten Symptomen der bakteriellen Infektion
pH	Kann ein Hinweis auf gestörten Säure-Basen-Haushalt sein, aber Speziespezifische Unterschiede sind vorhanden
Protein	Erhöhte Proteinspiegel erfordert eine differentialdiagnostische Abklärung
Glucose	Nachweis der Glukosurien
Keton	Vor allem Ernährungsbedingte speziespezifische Unterschiede sind vorhanden
Urobilinogen	Hinweis auf Lebererkrankungen (akut oder chronisch)
Bilirubin	Hinweis auf Lebererkrankungen, wie Zirrhose oder Ikterus
Erythrozyten	Nachweis der Hämaturie, die vor allem bei diversen Erkrankungen von Nieren und Urogenitaltrakt vorliegt
Hämoglobin	

2.8 Therapie und Prophylaxe

Stallhygiene spielt in den Schweinebetrieben generell eine sehr wichtige Rolle, wobei die Etablierung eines ausreichend guten Stallmanagements unerlässlich ist. Zu den wichtigsten umzusetzenden Maßnahmen gehört die Reinigung und Desinfektion in regelmäßigen Intervallen, Rein-Raus Verfahren, Hygiene der Tränke und des Futters. Da Nager als potentielle Infektionsquelle für Leptospiren angesehen werden, muss eine Nagerbekämpfung etabliert sein und der direkte und indirekte Kontakt zu den Schweinen und der Zugang zu den Futterquellen müssen vermieden werden (Schommer et al. 2021).

Eine effektive Unterbrechung der Übertragung der Leptospirose ist von der Kombination von drei strategischen Methoden abhängig: Management, Impfung und Therapie mit Antibiotika. Es kann oft vorliegen, dass nicht alle drei Methoden miteinander kombiniert werden können, da es Länder gibt, in denen keine zugelassene Impfung zur Verfügung steht (Schommer et al. 2021). Obwohl die Elimination des Erregers mit Hilfe der Impfung nicht erreicht wird (Cargill und Davost 1981, Edwards und Daines 1979, Hodges et al. 1976), spielt die Vakzination mit einem inaktivierten Impfstoff als prophylaktische Maßnahme trotzdem eine entscheidende Rolle (Levett 2001), da die Prävalenz der Infektion mit Leptospiren durch die Impfung deutlich reduziert wird (Wrathall 1975, Kemenes und Suveges 1976). In Österreich steht derzeit eine inaktivierte Impfung für Sauen zur Verfügung (Porcilis® Ery+Parvo+Lepto, MSD Tiergesundheit, Deutschland). Bei den Schweinen muss die Grundimmunisierung erfolgreich abgeschlossen sein und sie sollten mindestens alle sechs Monate geimpft werden (MSD Tiergesundheit, Deutschland 2009-2017).

Im Fall eines Ausbruches einer klinischen Erkrankung kann eine Behandlung der betroffenen Herden mit Streptomycin (Dosierung: 25 mg/kg) oder Oxytetracyclin (40 mg/kg) (Doherty und Baynes, 1967) erfolgen und ein regelmäßiges Impfschema eingeführt werden. In einigen Studien wurde beschrieben, dass die systematische Gabe von Streptomycin mit einer Dosierung von 25 mg/kg Körpergewicht (Dobson 1974, Alt und Bolin 1996) oder eine orale Gabe von Tetracyclinen mit einer Dosierung von 800 g/Tonne Futter (Stalheim 1967) eine Elimination der Erreger aus dem Bestand ermöglicht. Andere Studien gehen nicht von der Möglichkeit einer Eliminierung mittels Antibiotikaeinsatz aus (Doherty und Baynes 1967, Hodges et al. 1979).

Wenn die Hygienemaßnahmen in dem Betrieb nicht etabliert sind, ist eine antibiotische Behandlung allein nicht zielführend (Barwick et al. 1998, Caley und Ramsey 2001, John 2005).

3. Material und Methoden

3.1. Versuchsaufbau

Der Tierversuch wurde von der Ethik- und Tierschutzkommission und der nationalen Behörde gemäß §§ 26ff. des österreichischen Tierversuchsgesetzes 2012 (TVG 2012) genehmigt (Bundesministerium für Bildung, Wissenschaft und Forschung, GZ 2021-0.297.654).

Für die Studie wurden acht etwa 220 Tage alte geschlechtsreife, aber nicht tragende Jungsauen (Hausschwein, Art: *Sus scrofa domesticus*) aus einem Betrieb in Niederösterreich in den Kontumazstall der Veterinärmedizinische Universität Wien eingestallt. Die Jungsauen waren frei von Krankheiten und ihr Gesundheitsstatus wurde vom betriebsbetreuenden Tierarzt regelmäßig überprüft. Vor dem Beginn des Versuches wurden alle Sauen mittels MAT unter anderem auf frei von *L. Icterohaemorrhagiae* Antikörper bestätigt. Die gesamte Studie umfasste einen Zeitraum von fünf Wochen im Jahr 2021, wobei eine Woche vor der Infektion als Eingewöhnungsphase geplant war (Abb. 2). Nach der Eingewöhnungsphase wurden die Sauen zufällig in drei Gruppen unterteilt (Tab. 6).

Tab. 5: Einteilung der Gruppen und deren Beschreibung

Bezeichnung und Anzahl Tiere	Beschreibung	Infektionsstatus	Sau ID:
GRUPPE 1 n=3	Infektion mit <i>Leptospira</i> Icterohaemorrhagiae, intravenös, 10 ⁸ Leptospiren/ml (10 ml)	AKTIV INFIZIERTE GRUPPE	6 8 9
GRUPPE 2 n=3	Es findet keine Infektion statt, die Tiere haben aber einen direkten Kontakt zu den infizierten Gruppe 1 Tieren	KONTAKTGRUPPE	5 13 15
GRUPPE 3 n=2	Getrennt von Gruppe 1 und Gruppe 2	NEGATIV-KONTROLLGRUPPE	4 7

Am Tag 0 der Studie wurden drei spontan ausgewählte Tiere (Gruppe 1) mit dem *Leptospira interrogans* Serogruppe Icterohaemorrhagiae Serovar Icterohaemorrhagiae RGA Isolat humaner Herkunft infiziert. Der Stamm, der über die letzten Jahre als Icterohaemorrhagiae Antigen im MAT verwendet wurde, stammte vom Academic Medical Center (Leptospirosis Reference Centre, Amsterdam, Netherlands) und die aktuelle Passagenummer war unbekannt. Die Durchführung benötigte eine spezielle Schutzkleidung, um eine Infektion der durchführenden Personen zu verhindern. Die Infektion erfolgte nach der Fixierung mit Hilfe einer Oberkieferschlinge, wobei ein Venenkatheter in eine geeignete Ohrvene des Tieres gesetzt wurde (Abb. 1). Die Infektionsdosis betrug 10⁸ Leptospiren/ml (10 ml pro Tier). Nach der Infektion wurde der Venenkatheter wieder aus der Ohrvene entfernt. Weitere drei Sauen wurden zufällig ausgewählt und etwa vier Stunden nach Infektion zu den infizierten Tieren eingestallt. Die restlichen zwei Sauen wurden in einem anderen räumlich getrennten Stall untergebracht und dienten als Kontrolltiere. Es wurde nicht bekanntgegeben, welche Tiere infiziert und welche die Kontakttiere waren. Die Untersucher waren somit verblindet.



Abb. 1: Intravenöse Infektion der Jungsau (Quelle: Universitätsklinik für Schweine).

Die Probenentnahmen (Mittelstrahlharnproben sowie Vaginaltupfer) erfolgten an den Studientagen 0, 2, 4, 7, 10, 14, 17, 21, 24, und 28 (Abb. 2). Die Harnprobenentnahme wurde durch Auffangen des Spontanharns ohne Fixierung oder Manipulation des Tieres immer zur selben Uhrzeit durchgeführt. Die Gewinnung wurde erleichtert, da die Tiere gleich nach der Nachtruhe aufgetrieben wurden und aufgrund des Harndranges ohne weitere Manipulation Harn absetzten. Für das Sammeln der Harnproben wurde für jedes Tier ein verschließbares, steriles Falcontube verwendet. Der Harn wurde bis zur Weiterverarbeitung und Analyse maximal eine Stunde bei Raumtemperatur gelagert. Möglichst unmittelbar nach der Abnahme des Spontanharnes erfolgte eine pH-Wert Messung mittels pH-Meter. Parallel wurden von jeder Harnprobe mittels Combur[®]-Teststreifen Harnparameter erhoben. Protein, Kreatinin sowie der Protein/Kreatinin-Verhältnis wurden am Zentrallabor der Veterinärmedizinischen Universität Wien durchgeführt. Anschließend wurden die Tiere einzeln mittels Oberkieferschlinge fixiert und es wurde ein steriler Abstrichtupfer (Copan Italia S.p.A., Brescia, Italien) der Vaginalschleimhaut entnommen. Für die Entnahme der sterilen Tupferproben war es erforderlich, dass die Sauen mit Hilfe der Oberkieferschlinge fixiert waren, damit die präzise Durchführung der Arbeit gewährleistet werden konnte. Die Vulva wurde mit trockenem Zellstoff von Kotresten und anderen Schmutzpartikeln vorsichtig gereinigt und mit dem Daumen und Zeigefinger gespreizt. Der sterile Abstrichtupfer wurde aus seiner sterilen

Schutzhülle entfernt und möglichst tief mit kreisenden Bewegungen in die Vulva eingeführt, wobei auf Kontakt mit der Vaginalschleimhaut besonders geachtet wurde. Die Tupferproben wurden analog zu der Gewinnung der Harnproben an denselben Studientagen gewonnen. Der Nachweis der Leptospiren DNA mittels qPCR erfolgte sowohl aus den Harnproben als auch aus den Vaginaltupfern an der AGES Tiergesundheit in Mödling. Eine Kultivierung des Erregers wurde aus den Harnproben ebenso durchgeführt.

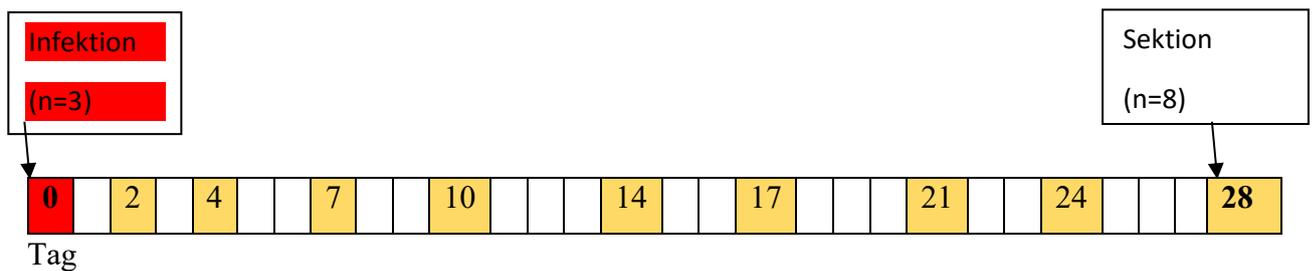


Abb. 2: Zeitintervall von vier Wochen. An den gelb markierten Tagen wurden Harnproben und Vaginaltupfer von allen acht Jungsauen genommen.

Anschließend wurden alle Sauen am Tag 28 der Studie euthanasiert. Dafür wurde den Tieren intravenös eine Kombination von Ketaminhydrochlorid (Narketan[®] 100 mg/ml, Vetoquinol GmbH, Österreich; 10 mg/kg KM) und Azaperon (Stresnil[®] 40 mg/ml, Elanco GmbH, Österreich; 1,3 mg/kg KM) appliziert. Anschließend wurde ein Embutramid (T61[®], MSD-Tiergesundheit, Deutschland) intrakardial injiziert, was die Euthanasie ermöglichte. Im Rahmen der Sektion am Tag 28 wurde der Urogenitaltrakt der einzelnen Sauen für weiterführende qPCR Analysen an der AGES Mödling entnommen.

3.2 Durchführung der Probenentnahme und Verarbeitung der Proben

Es wurde mit der Möglichkeit gerechnet, dass die Harnproben als potenzielle Infektionsquellen dienten. Die Personen, die in unmittelbaren Kontakt mit den eventuell infektiösen Urinproben kamen, trugen die dafür geeignete Schutzausrüstung. Das Personal trug über den gesamten Zeitraum nicht sterile medizinische Einmalhandschuhe, einen langärmeligen Schutzanzug, einen Mund-Nasen-Schutz und eine Schutzbrille als Spritzschutz. Die mit dem Urin befüllten

Gefäße wurden ausschließlich unter dem eingeschalteten Abzug einer Sterilwerkbank geöffnet und bearbeitet.

3.2.1 Makroskopische Untersuchung

Im Rahmen der makroskopischen Untersuchung wurde besonders auf die folgenden Parameter geachtet: Menge, Farbe, Konsistenz, Transparenz, Geruch und Beimengungen der jeweiligen Harnprobe. Im Laufe des Anfangens des Harnes wurden die Auffälligkeiten bezüglich der Menge dokumentiert und während des Harnabsetzens auf jegliche Schmerzen oder pathologischen Auffälligkeiten im Zusammenhang mit dem Allgemeinzustand der Tiere geachtet. Erschwerter Harnabsatz, vermehrt vorliegendes Pressen und Schmerzzeichen wurden dokumentiert. Die Veränderungen wurden nach dem oben genannten Schema dokumentiert und später zusammen mit den weiteren Harnparametern in eine Microsoft Excel Tabelle importiert.

3.2.2 Harnuntersuchung mittels Combur[®]-Tests

Die Untersuchung wurde unmittelbar nach der Sammlung der Urinproben durchgeführt. Für die Untersuchung wurde der Combur-Test[®] (Roche Pharma AG, Deutschland) angewendet. Die Teststreifen wurden einzeln aus der Teststreifenröhre entnommen und in die gesammelte Urinprobe getaucht, wobei ein besonderes Augenmerk daraufgelegt wurde, dass auf den Teststreifen liegende Testfelder mit Urin benetzt werden (Abb. 3).

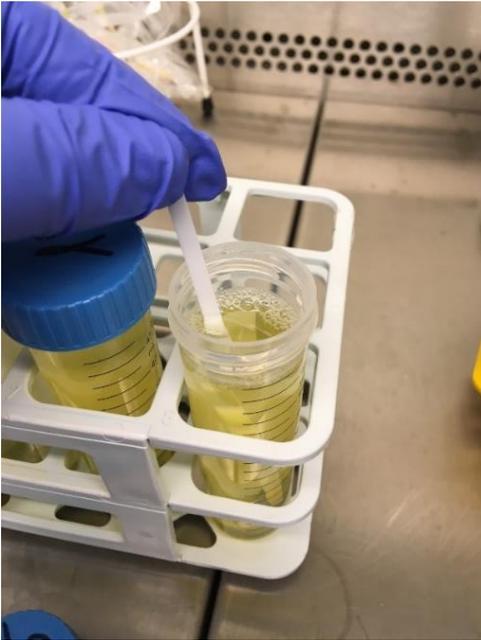


Abb. 3: Alle Testfenster müssen mit dem Urin benetzt werden (Quelle: Universitätsklinik für Schweine).

Um den überschüssigen Urin zu entfernen, wurden die Teststreifen beim Herausnehmen am Rand des Probengefäßes abgestreift (Abb. 4).



Abb. 4: Die Teststreifen wurden aus der Urinprobe vorsichtig entfernt und am Rand die überflüssige Menge abgestreift (Quelle: Universitätsklinik für Schweine).

Die Reaktionsfenster der Teststreifen wurden nach 60 Sekunden (s) mit an der Farbvergleichsskala angegebenen Werten auf der Teststreifenröhre verglichen und das Ergebnis erfasst (Abb. 5). Die am Rand der Testfenster auftretende Farbveränderungen sowie die Farbveränderungen, die nach mehr als zwei Minuten auftraten, hatten keine diagnostische Bedeutung. Der Nachweis von Leukozyten ist für eine veterinärmedizinische Diagnostik nicht geeignet, da vermehrt falsch positive und negative Ergebnisse auftreten können (Baumgartner et al. 2017).

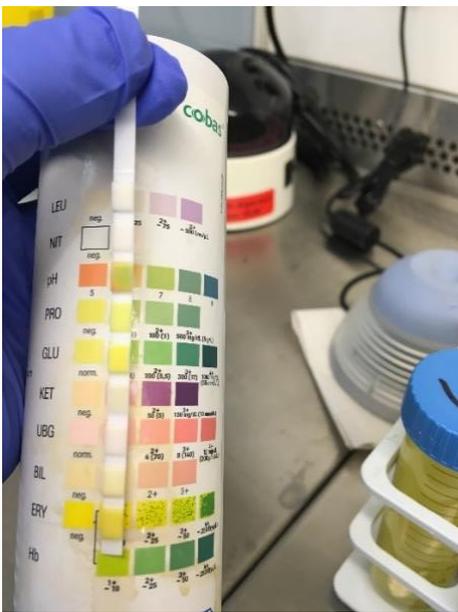


Abb. 5: Die Werte mussten nach der abgegebenen Zeit mit den Referenzwerten verglichen werden (Quelle: Universitätsklinik für Schweine).

3.2.3 Bestimmung des pH-Wertes mittels pH-Messgerätes

Das Gerät (testo 206 pH measuring instrument, TESTO, Deutschland) wurde eingeschaltet und in die Urinprobe eingetaucht (Abb. 6). Die gemessenen Werte (pH und Temperatur) wurden gleichzeitig auf dem Display angezeigt, wobei die Werte zweimal innerhalb von einer Sekunde aktualisiert wurden. Die Endwernerkennung wurde automatisch erfasst, sobald die Messwerte in einem stabilen Bereich waren.

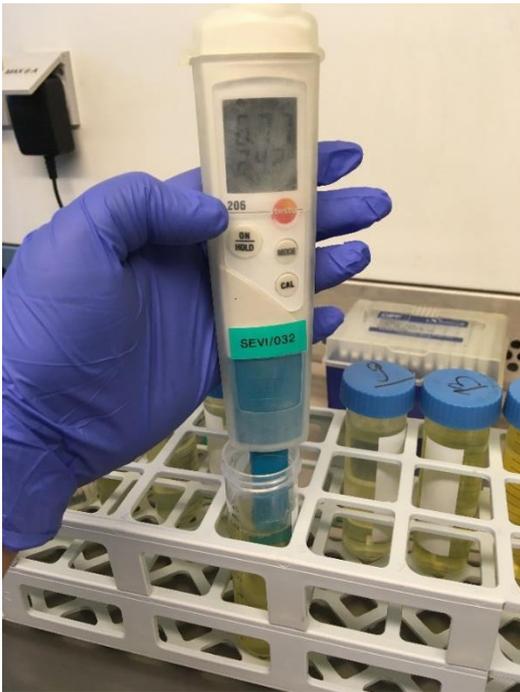


Abb. 6: Die Spitze des pH-Messgerätes wurde in die Urinprobe eingeführt und anschließend wurden die Werte abgelesen und dokumentiert (Quelle: Universitätsklinik für Schweine)

3.2.4 Kultivierung

Das verwendete EMJH-STAFF Medium (Ellinghausen McCullough, Johnson und Harris mit dem Zusatz von fünf antibiotisch wirksamen Substanzen – 40 µg Sulfamethoxazole, 20 µg Trimethoprim, 5 µg Amphotericin, 200 µg Fosfomycin und 100 µg 5-Fluorouracil) musste vor der Verwendung in dem Wärmeschrank bei 29 °C gelagert werden. Für das Medium wurden verschließbare Glasgefäße benutzt, die je nach Identifikationsnummer der Sau beschriftet wurden. Die Harnproben wurden einzeln vorsichtig geschwenkt, damit die Probe genügend durchgemischt und homogen waren. Es wurde jeweils 100 µl von der Harnprobe mit Hilfe von einer Pipette entnommen und auf das flüssige Medium pipettiert (Abb. 7).

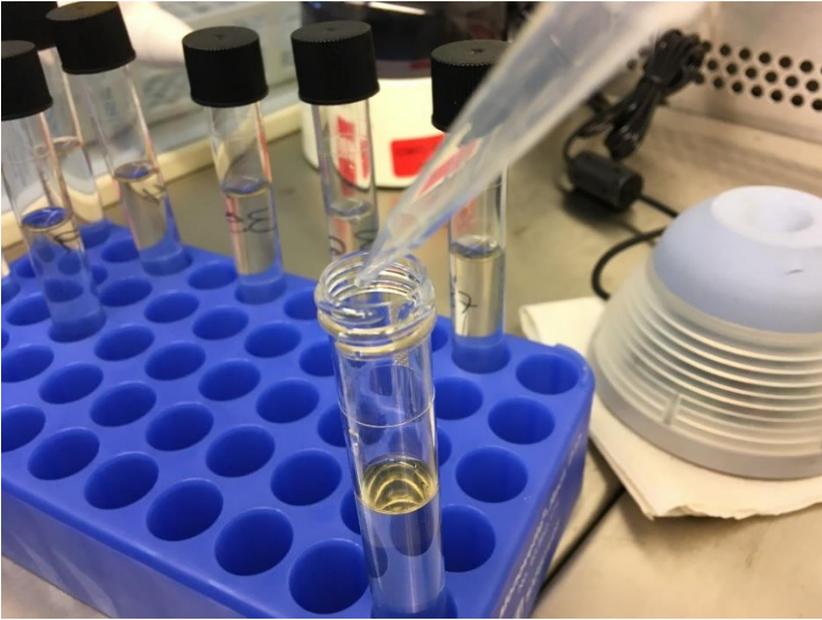


Abb. 7: Die Harnproben wurden einzeln in die beschrifteten Glasröhrchen mit Medium pipettiert und anschließend durch Schwenkung gemischt (Quelle: Universitätsklinik für Schweine).

Dabei wurde besonders darauf geachtet, dass die Pipettenspitze mit dem Medium nicht in Kontakt kam. Die restlichen Harnproben wurden unter dem oben beschriebenen Ablauf bearbeitet. Die Pipettenspitzen wurden zwischen den Harnproben getauscht, um eine Kreuzkontamination zu vermeiden. Die Medien mit den dazugegebenen 100 μ l Harn wurden in einen Wärmeschrank gestellt und bei einer Temperatur von 29 °C inkubiert. Die Proben wurden einmal pro Woche an die AGES Tiergesundheit nach Mödling transportiert, wo sie wöchentlich über einen Zeitraum von 12 Wochen im Dunkelfeldmikroskop bei einer 200 - fachen Vergrößerung auf das Vorhandensein von Leptospiren untersucht wurden.

3.2.5 qPCR-Untersuchung der Harnpellets und Vaginaltupfer

Die Harnpellets und die gewonnenen Tupferproben der Vaginalschleimhaut wurden mittels qPCR auf *Leptospira* spp. DNA getestet. Im Rahmen der Diagnose wurde der Zielsequenz für die äußere Membran-Lipoprotein- lipL32-Gen gesucht (Steinparzer et al. 2021). Für die Gewinnung der Harnpellets wurden jeweils 1,5 ml Urin in ein Eppendorf Tube pipettiert und

über 20 Minuten bei einer maximalen Umdrehungszahl zentrifugiert. Der abzentrifugierte Überstand wurde dekantiert und das Harnpellet in den jeweiligen Eppendorf Tubes bei einer Temperatur von -20 °C bis den Zeitpunkt der qPCR-Untersuchung eingefroren.

Die Reaktionsmischung bestand jeweils aus 0,3 µM von dem Primer LipL32_412F (5'-GAA AGA ATG TCG GCG ATT ATG C-3') sowie LipL32_485Rmod (5'-TCG TYC AAT TTT TGA ACK GGT TT-3') und 0,2 µM von der Fluoreszenzsonde LipL32_438probe-FAM (5'FAM-CCAAATCGCCAAAGCTGCGAAAGC-3'BHQ1) in jeweils 25 µL Reaktionsvolumen (QuantiTect Multiplex PCR NoROX Kit, Qiagen, Hilden, Deutschland).

Nach dem ersten Denaturierungsschritt bei einer Temperatur von 95 °C über fünf Minuten wurde die qPCR Analyse über 45 Zyklen mit einer Temperatur von 94 °C über eine Minute und anschließend bei einer Temperatur von 60 °C über eine Minute mit der Hilfe von einem CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System (Biorad, Hercules, CA, USA) durchgeführt.

Die entnommenen Vaginaltupfer wurden bis zu dem Zeitpunkt der Analyse mittels qPCR bei -20 °C gelagert. Wie bei der Untersuchung mittels qPCR der Harnproben wurden in dem Fall dieselben Protokolle für die Analyse verwendet und es wurde die Zielsequenz für das lipL32 Gen gesucht (Steinparzer et al. 2021).

3.2.6 Labordiagnostische Untersuchung

Für die weitere Diagnostik wurden unterschiedliche Harnparameter im Zentrallabor an der Veterinärmedizinische Universität Wien erhoben. Für die Untersuchung wurde aus den Harnproben jeweils eine Menge von 1 ml mit einer Pipette entnommen und in ein Eppendorf Tube gefüllt. Die Eppendorftubes wurden je nach Identifikationsnummer der Sau beschriftet. Für die Studie wurden zwei Harnparameter erhoben, Kreatinin und Eiweiß. Die ersten beiden Parameter waren in mg/dl Harn angegeben. Aus dem Verhältnis zwischen den zwei Parametern ergab sich ein Protein/Kreatinin-Quotient, der als dritter Parameter angegeben wurde.

3.2.7 Sektion und Histologie

Im Rahmen der Sektion wurden die Organe der Tiere einzeln zur Beprobung genommen, die mit unserer Fragestellung in engem Zusammenhang stehen konnten, Leber und Harnblase, sowie Uterus, Eileiter, Ovar und Niere von der rechten Seite des jeweiligen Tieres. Die Gewebeproben, die während der Sektion gewonnen wurden, wurden in 7,5%igem Formalin fixiert. Nach der Fixierung wurden die Proben in Paraffin geführt und gekühlt fixiert. Aus den Paraffinblöcken mit den jeweiligen Proben wurden Schnitte mit einem Durchmesser von 3 bis 4 μm hergestellt und anschließend mit zwei histologischen Färbungsmethoden gefärbt, nämlich mit einer Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE) und einer Warthin-Starry-Silberfärbung. Für den Kulturversuch wurden die Organproben (ca. 1 cm^3 groß) jeweils in ein Gefäß mit 10 ml Medium (EMJH-STAFF) gelegt. Die Gewebeproben für die Kultur wurden in einen Homogenisator überführt und über zehn Minuten homogenisiert. Anschließend wurde eine Menge von 100 μl des Homogenats in das EMJH-STAFF Medium (jeweils 10 ml) pipettiert und bei 29 °C inkubiert. Von den gleichen Organen wurden weitere Proben für die qPCR-Diagnostik in Eppendorf-Röhrchen gesammelt und die Analyse wurde wie bei der Verarbeitung der Proben von Harnpellets und Vaginaltupfern durchgeführt.

4. Ergebnisse

Fünf Harnproben von fünf unterschiedlichen Sauen bei unterschiedlichen Studientagen fehlten, da sie an diesen Tagen in dem angegebenen Zeitfenster kein Harn ausschieden.

Analog zu der Entnahme der Harnproben wurden Blutproben bei allen Sauen abgenommen. Mit Hilfe der Blutuntersuchung wurde eine Serokonversion bei allen direkt infizierten Tieren bestätigt, womit zumindest bewiesen war, dass der Körper auf die Inokulation reagiert hatte. Diese Serokonversion fehlte bei den Kontakttieren. Die Ergebnisse über die entwickelten klinischen Symptome, sowie die Veränderungen in den Blutparametern werden im Rahmen einer weiteren Diplomarbeit beschrieben.

4.1 Ergebnisse der makroskopischen Harnuntersuchung

Die Jungsau 8 (infiziertes Tier) setzte über den gesamten Zeitraum sehr konzentrierte und geringe Harnmengen ab. Am Studientag 2 war es besonders auffällig, da die Menge unter 5 ml lag. Im Rahmen der klinischen Beobachtungen stellten wir auch fest, dass die Sau 8 im Laufe des Harnabsetzens vermehrt Presstätigkeit zeigte und einen stark gekrümmten Rücken hatte. Das kann auf vorhandene Schmerzen hindeuten. Abweichungen der Farbe lagen auch vor (Abb.8), die auf die Unterschiede in der Harnkonzentration hinweisen können.



Abb. 8: Harnproben aller Tiere. Makroskopisch fällt sofort auf, dass das mit Nummer 4 (Kontrolltier) gekennzeichnete Röhrchen mit viel hellerem Harn gefüllt ist als die anderen Gefäße (Quelle: Universitätsklinik für Schweine).

4.2 Ergebnisse des Combur-Tests® und Darstellung der Laborparameter

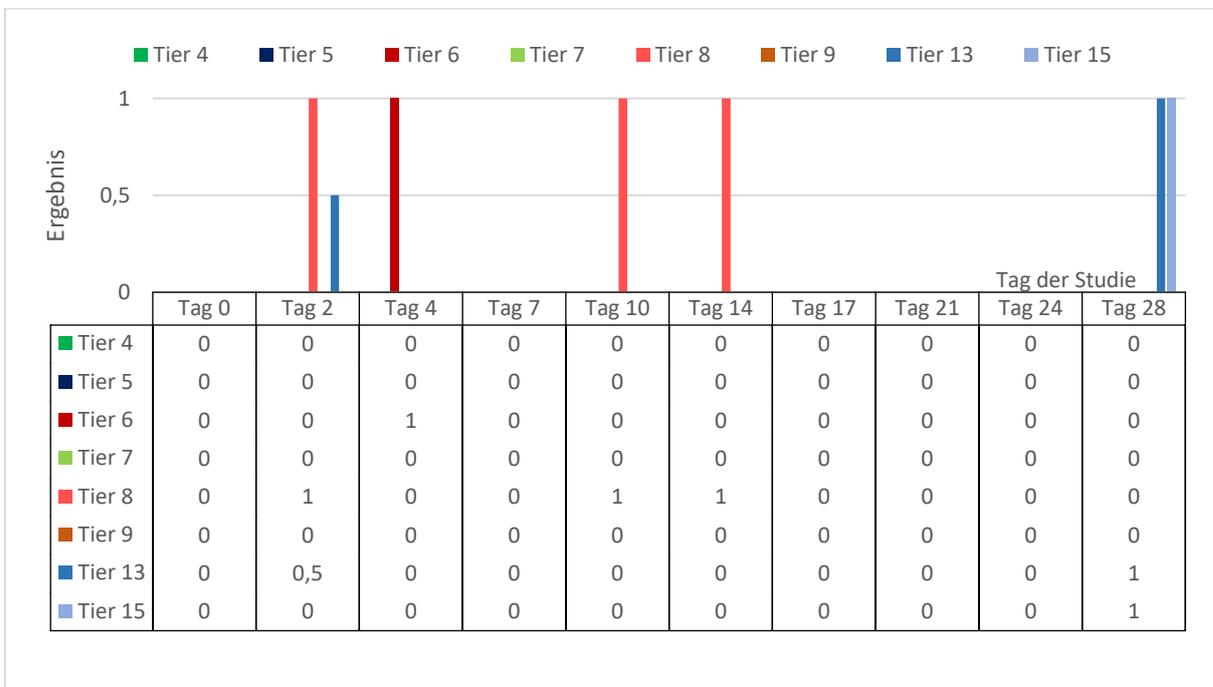


Abb. 9: Der Verlauf der Proteinwerte in den Harnproben, die mittels Combur-Tests® erfasst wurden. Grün=Kontrollgruppe, Blau=Kontaktgruppe, Rot=Infizierte Gruppe.

Der Wert für Protein fiel bei der Sau 8 an den Studientagen von 2, 10 und 14 positiv aus. Der Wert der Sau 6 war an einem Studientag (Tag 4) positiv. Die beiden Tiere gehörten zu der infizierten Gruppe. Der Proteinwert zeigte noch bei zwei weiteren Tieren einen Anstieg. An dem letzten Studientag (Tag 28) waren die Werte der Sau 13 und 15 positiv, wobei bei der Sau 13 an dem zweiten Studientag auch eine schwache Erhöhung vorhanden war. Beide Sauen gehörten in die Kontaktgruppe (Abb. 9). Zwei Harnproben wurden schwach positiv auf das Vorhandensein von Erythrozyten getestet. Beide Harnproben waren am Tag 0 der Studie, nämlich bei der Sau 4 (Kontrolltier) und der Sau 6 (infiziertes Tier) positiv. An den weiteren Studientagen waren die Ergebnisse negativ bei allen Sauen. Analog zu den Erythrozyten war der Wert für Hämoglobin am Tag 0 bei den selben Tieren, bei der Sau 4 und 6, positiv. An den restlichen Tagen wurden die Harnproben aller Tiere negativ auf Hämoglobin getestet. Die restlichen Parameter, wie Glukose, Keton, Urobilinogen und Bilirubin, waren über den gesamten Zeitraum bei allen Tieren negativ.

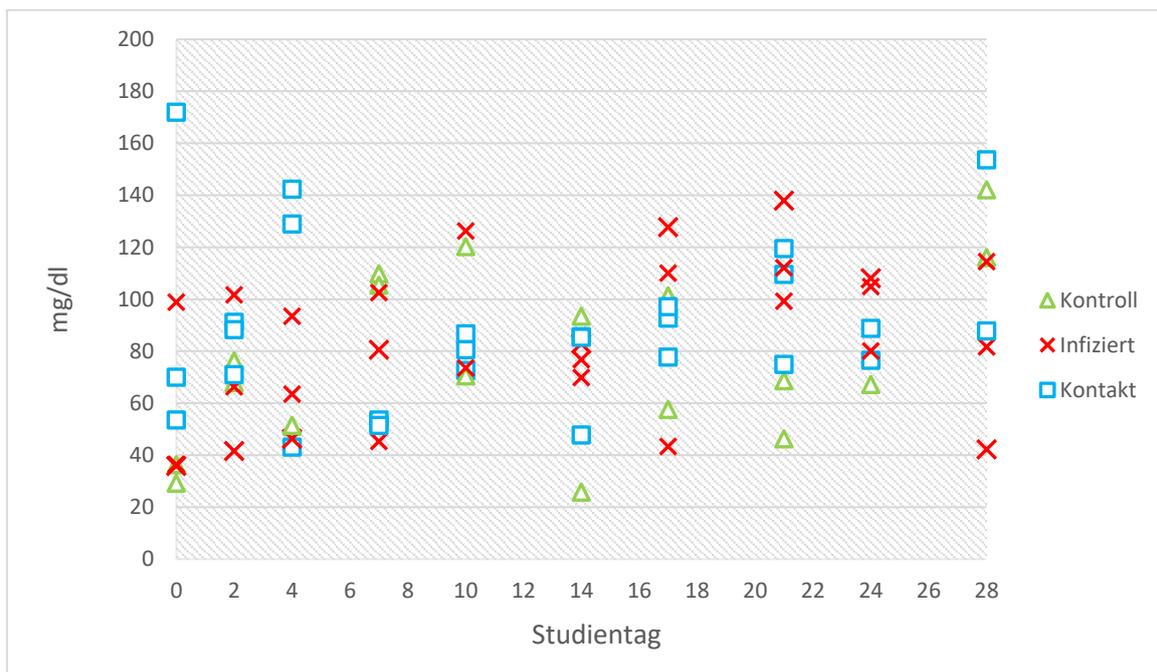


Abb. 10: Der Verlauf der Harnstoffwerte in den Harnproben (gemessen in mg/dl Harn) der Kontrollgruppe (grün), der Kontaktgruppe (blau) und der infizierten Gruppe (rot).

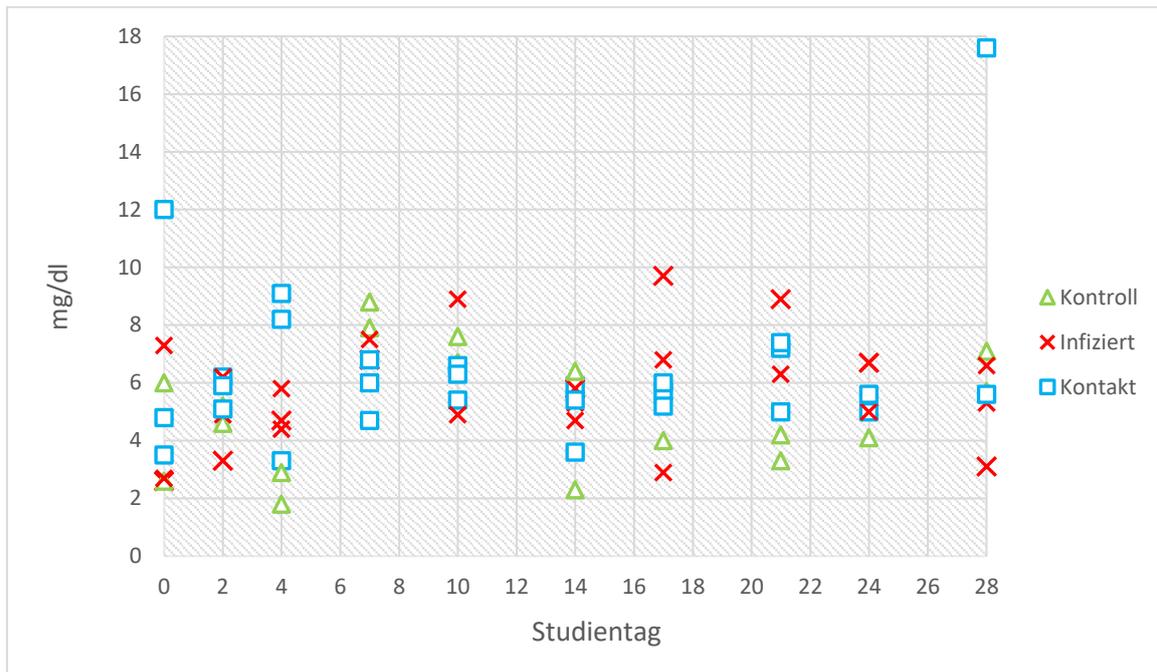


Abb. 11: Der Verlauf der Proteinwerte in den Harnproben (gemessen in mg/dl Harn) der Kontrollgruppe (grün), der Kontaktgruppe (blau) und der infizierten Gruppe (rot).

Die Laborwerte für Protein zeigten Schwankungen zwischen einem Wert von 1,8 mg/dl und 17,6 mg/dl. Sie lagen bei der infizierten Gruppe zwischen 2,6 mg/dl und 9,7 mg/dl (Abb. 11). Die gleichen inkohärenten Ergebnisse lagen bei den Harnstoffwerten auch vor (Abb.10).

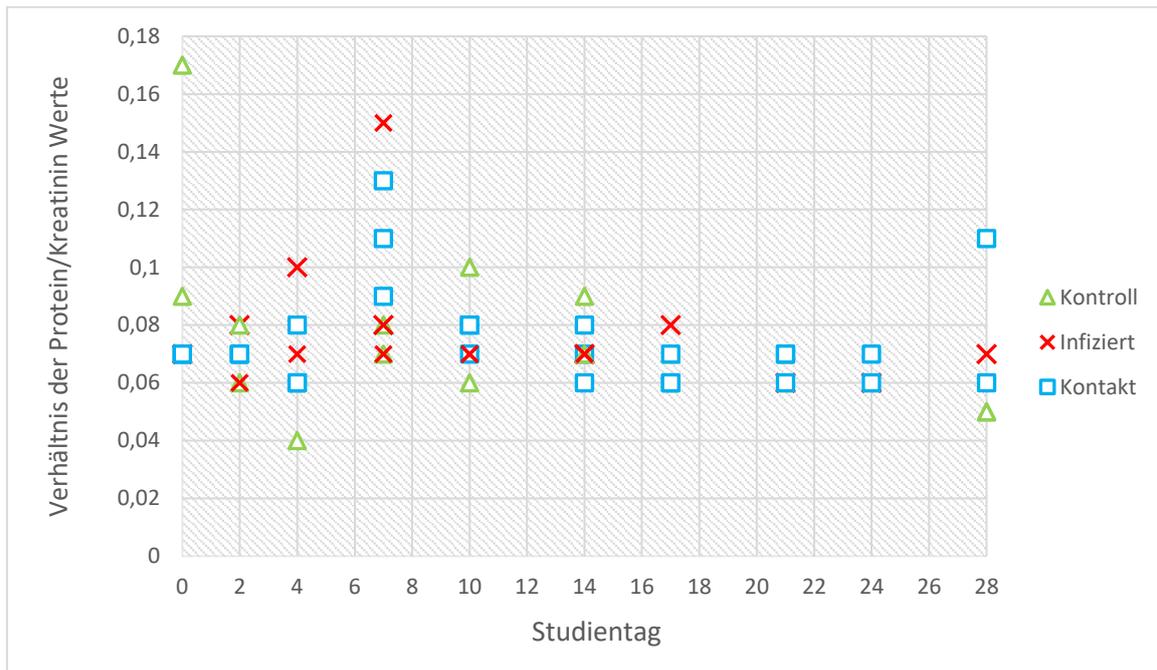


Abb. 12: Der Verlauf des Protein/Kreatinin-Verhältnisses in den Harnproben der Kontrollgruppe (grün), der Kontaktgruppe (blau) und der infizierten Gruppe (rot).

Ein Hinweis auf das erhöhte Verhältnis lag bei der infizierten Gruppe und bei den Kontakttieren vor. Die Ursache kann ein erhöhter Verlust der Proteine sein, die mit Harn ausgeschieden wurden. Die Daten an jeweiligen Studientagen sind in der Abb. 12 dargestellt.

4.3 Ergebnisse des pH-Wertes

Da eine Messung mit dem pH-Messgerät eine genauere Bestimmung der Werte gewährleisten kann als eine Messung mittels Combur-Tests[®] und eine hohe Übereinstimmung zwischen den gemessenen Werten mit den zwei Methoden vorlag, wurden nur die Werte in der Abbildung dargestellt, die mit dem pH-Messgerät erfasst wurden. Mit wenigen Abweichungen lagen die pH-Werte über den gesamten Zeitraum bei allen Gruppen unter einem Wert von 7,5. Besondere Unterschiede lagen bei den drei Gruppen auch nicht vor (Abb. 13). Die pH-Werte am Tag 0 (erster Tag der Studie) lagen in einem niedrigeren Bereich als an dem Tag 28 (letzter Tag der Studie). Die Ursache kann auch fütterungsbedingt sein.

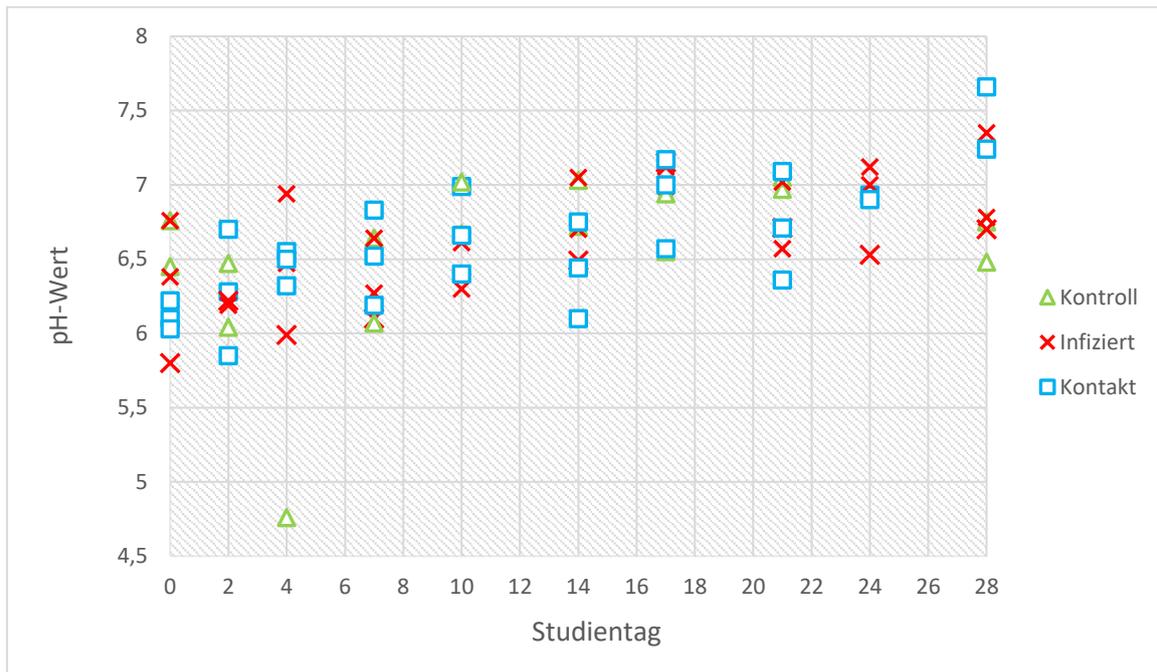


Abb. 13: Verlauf der pH-Werte der Harnproben der Kontrollgruppe (grün), der Kontaktgruppe (blau) und der infizierten Gruppe (rot), gemessen mit dem pH-Meter.

4.4 Ergebnisse der Kultivierung

Die Ergebnisse der Kultivierung aus den Harnproben waren an allen Beprobungstagen bei allen acht Tieren negativ.

4.5 Ergebnisse der qPCR-Untersuchungen

Die Ergebnisse der PCR-Untersuchungen aus den Harnpellets und Vaginaltupfern waren ebenso an allen zehn Beprobungstagen negativ.

4.6 Ergebnisse der Sektion und der histologischen Untersuchung

Die entnommenen Organe wurden makroskopisch untersucht, wobei keine pathologischen Veränderungen, die mit dem Erreger mit *L. Icterohaemorrhagiae* in Zusammenhang gebracht werden könnten, festgestellt wurden. Die einzige pathologische Auffälligkeit, die im Rahmen der makroskopischen Untersuchung erfasst wurde, war eine beidseitige Zystitis bei einem Kontrolltier (Sau Nr. 13). Der Nachweis von *L. Icterohaemorrhagiae* in den diversen Organen, die im Rahmen der Sektion entnommen wurden, war bei allen Sauen und allen Proben negativ.

Im Rahmen der histologischen Untersuchung wurden bei den infizierten Sauen jedoch unterschiedlich stark ausgeprägte, fokale und multifokale, überwiegend lymphozytäre tubulointerstitielle Herde in den Nieren nachgewiesen, die einen Hinweis auf eine vorliegende Nephritis gaben (Abb. 14). Die pathologischen Veränderungen lagen im Bereich des Nierenbeckens und waren nur bei den Gewebeproben der infizierten Sauen vorhanden. Die Entzündungszeichen waren im Bereich des Nierenmarkes stärker ausgeprägt als in den anderen Bereichen und die Sammelrohre waren davon auch betroffen. Mit der Hilfe einer Warthin-Starry-Silber-Färbung wurden keine Spirochäten in dem Nierengewebe nachgewiesen. Ein Hinweis auf epitheliale Veränderungen in den Nierentubuli war auch nicht vorhanden.

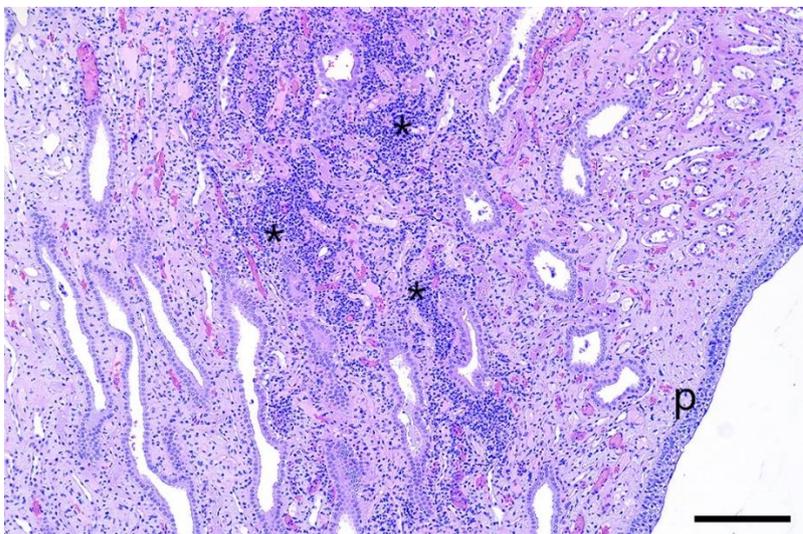


Abb. 14: Vereinzelt vorliegende tubulointerstitielle Nephritis (*) in dem Bereich des Nierenbeckens (p) einer infizierten Jungsau. Hämatoxylin-Eosin-Färbung, Einheit= 200 µm (Quelle: Universitätsklinik für Schweine)

5. Diskussion

Leptospiren konnten in den Harnproben, Vaginaltupfern und Organproben des Harn- und Reproduktionstraktes nicht nachgewiesen werden. Dennoch war das Ergebnis der Studie nicht überraschend, wenn man die Ergebnisse der bisher stattgefundenen Infektionsversuche sowie Fallberichte von anderen Autoren kennt (Klarenbeek und Winsser 1937, Field und Sellers 1963, Schnurrenberger et al. 1970, Jacobs et al. 2015). Auch diese Autoren berichteten vom Ausbleiben von Symptomen sowie erfolglosem direkten Nachweises von Leptospiren aus Harn- und Genitaltrakt.

In früheren Publikationen wurde beschrieben, dass zwar der direkte Nachweis aus Ferkeln mit klinischem Verdacht einer Leptospirose nie gelang, jedoch nach Applikation von Urin bzw. Suspensionen von Nieren und Lebern dieser Schweine in Nagetiere (Meerschweinchen, Gerbils) bei diesen typische Leptospiren-Symptome beobachtet werden und aus diesen Tieren auch die Leptospiren isoliert werden konnten (Klarenbeek und Winsser 1937, Field und Sellers 1963, Schnurrenberger et al. 1970). Ein ähnliches Ergebnis beschrieben Feenestad und Borg-Petersen (1966) im Rahmen einer Infektionsstudie, wobei sie versuchten, das Serovar Icterohaemorrhagiae aus Körperflüssigkeiten und Organen von infizierten trächtigen Sauen zu reisolieren. Die Reisolierung des Erregers war in dem Fall auch nicht möglich.

Neben den allgemeinen Schwierigkeiten einer Reisolierung dieses Serovars kann die Infektiosität des inokulierten Stammes in Frage gestellt werden. Nachdem es sich um ein humanes Isolat handelt – Schweineisolate aus dem Feld sind nicht vorhanden – und noch dazu die Passage dieses Isolates nicht bekannt war, könnte es durchaus sein, dass das Isolat abgeschwächt bzw. überhaupt nicht pathogen für das Schwein gewesen ist. Dieses Bias gäbe es dann allerdings in allen Infektionsstudien, da immer nur humane Stämme inokuliert wurden. Eine Passage in Hamstern vor Inokulation, so wie von anderen Autoren empfohlen, wurde nicht durchgeführt und hätte möglicherweise auch die Pathogenität steigern können. Ein unsicherer Faktor ist auch die ausgewählte Dosierungsmenge, die allerdings an die Studie von Jacobs et al. (2015) angelehnt war.

Ein weiterer möglicher Grund für eine herabgesetzte Infektiosität könnte im gewählten Infektionsweg liegen. Eine Studie zeigte, dass der intravenöse Infektionsweg bei Kälbern weniger wirksam war als eine natürliche Infektion über die Bindehäute (Thiermann und Handsaker 1985). Jacobs et al. (2015) verwendeten daher zusätzlich zur intravenösen Injektionsroute auch noch die mukosale über die Konjunktiven und erreichten eine klarere Infektion als in der vorliegenden Studie.

Die Pathogenität des Serovars könnte möglicherweise bei den Schweinen auch nicht so hoch sein, wie es bisher angenommen wurde. Diese Hypothese ist auch von der Studie von Feenestad und Borg-Petersen (1966) unterstützt, in deren Rahmen die trächtigen Sauen intravenös mit unterschiedlichen Isolaten von Leptospiren infiziert wurden. Während die Pomona infizierten Sauen abortierten, blieben die Icterohaemorrhagiae infizierten Sauen klinisch völlig unauffällig. Das kann wieder ein Hinweis auf die unterschiedliche Pathogenität der jeweiligen Serovaren sein, wobei es nicht ermöglicht wird, eine generelle Aussage über die Symptome zu äußern. Eine Studie bei Hunden konnte deutliche Unterschiede in der Pathogenität verschiedener Serovaren zeigen (Rissi und Brown 2014). Eine allgemeine Vereinheitlichung der vorliegenden Symptome, die bei allen Tierarten zutreffend ist, ist aber nicht möglich.

Die multifokal vorliegende tubulo-interstitielle Nephritis ist ein für eine Infektion mit Leptospiren als typisch beschriebener Befund bei den Schweinen, insbesondere nach Infektion mit dem Serovar Pomona. Im Rahmen der pathomorphologischen Untersuchung sind weiße Flecken im Nierenparenchym häufig feststellbar (Hunter et al. 1987, Boqvist et al. 2003). Die Nieren der Studientiere zeigten jedoch keine auffallenden pathoanatomischen Veränderungen. Obwohl die histologische Untersuchung das Vorliegen einer pathologischen Veränderung bei den aktiv infizierten Sauen bestätigte, war es im Rahmen der Studie jedoch nicht möglich, die Leptospiren im Harn oder in den betroffenen Organen nachzuweisen oder zu kultivieren. Michna und Campbell (1969) und Scanziani et al. (1989) berichteten, dass die Leptospiren in den Nieren nicht immer nachweisbar sind, obwohl eine Infektion vorliegt und sich eine interstitielle Nephritis entwickelte.

Der Genitaltrakt scheint von der Infektion mit dem Serovar Icterohaemorrhagiae nicht betroffen sein, im Gegensatz zu einer Infektion mit den Serovaren Bratislava oder München (Ellis et al. 1986). Für die Schweine existieren kaum Studien, die über die genauen Mechanismen des

Serovars *Icterohaemorrhagiae* berichten, allerdings wurden solche bei anderen Tierarten durchgeführt. Eine Studie zeigte, dass die Mäuse nach der Infektion mit dem Serovar starke pathologische Anzeichen in den Lungen und Nieren entwickelten (Pereira et al. 1998). Bei weiblichen Ratten wurden Läsionen der Gebärmutter im Rahmen der Infektion bisher auch nicht beschrieben (Middleton 1929). Allerdings muss beachtet werden, dass die allgemeinen Aussagen über die Symptome und Infektiosität, die für die Mehrheit der Tiere zutreffend sind, nicht zielführend ist.

Es kann angenommen werden, dass eine Infektion in der Infektionsgruppe stattfand, da sonst bei keinen weiteren Tieren Läsionen in den Nieren ausgeprägt waren. Da der Erreger nicht gefunden werden konnte, können mehrere Hypothesen aufgestellt werden: Möglicherweise war der Zeitpunkt der Sektion nicht optimal gewählt. Eventuell ist es auch erforderlich, die schon vorliegenden und verwendeten Nachweismethoden weiterzuentwickeln, damit die Sensitivität erhöht wird. Eine Übertragung auf die Kontakttiere konnte nicht gezeigt werden, obwohl die Tiere über den gesamten Zeitraum im sehr engen Kontakt miteinander standen. Ein vorliegender Grund könnte das Fehlen eines Zwischenwirtes sein, im Fall des Serovars *Icterohaemorrhagiae* wäre das ein Nagetier wie die Ratte. Es kann sein, dass die Infektion zwischen den Schweinen ohne Vermittlung des Erregers über einen Zwischenwirt nicht so effektiv vorliegt oder einen längeren Zeitraum braucht. Eventuell hätten die Kontakttiere nach einer bestimmten Zeit, die über vier Wochen vorliegt, auch histologisch sichtbare Nierenschaden entwickelt.

Die Harnparameter wiesen eine große Inhomogenität innerhalb der Gruppen und zwischen den Zeitpunkten der Probennahme auf. Die Ergebnisse des Combur[®]-Tests stimmten mit den Ergebnissen der Laborparameter, wie im konkreten Fall des Vorhandensens des Proteins, nicht immer überein. Die Verwendung des Teststreifens erwies sich bei der Diagnose chronischer Formen von Harnwegserkrankungen laut anderer Autoren als unwirksam (Bellino et al. 2013). Der Einsatz der Harnteststreifen wurden nicht für Verwendung bei Schweine konzipiert, außerdem waren zu wenige Tiere in der Studie vorhanden, um verlässliche Aussagen über die Harnparameter treffen zu können. Für die Auswertung der chemischen Untersuchung des Harnes waren außerdem keine Referenzwerte vorhanden.

Studien über Urinanalysen beim Schwein sind kaum und nur in geringem Ausmaß beschrieben und somit gibt es wenig bis keine Vergleichswerte. Es ist möglich, dass Abweichungen der Parameter von der Norm bei Auftreten von deutlichen Symptomen stärker gewesen wären und sich somit auch klar von jenen der Kontrolltiere unterschieden hätten.

Die beiden Hypothesen, dass die Jungsauen nach der Infektion mit *Leptospira Icterohaemorrhagiae* veränderte Harnparameter in Folge beschädigter Organe wie Nieren und Leber aufweisen und Leptospiren DNA durch Harn- und Vaginalsekrete ausscheiden, können zumindest großteils verworfen werden. Histologische Veränderungen in den Nieren wurden schließlich dargestellt. In der Leber und in den Geschlechtsorganen waren keine Veränderungen feststellbar. Das ursprüngliche Ziel der Studie, die Verbesserung der diagnostischen Möglichkeiten im Zusammenhang mit der Infektion Serovar *Icterohaemorrhagiae*, konnte nicht erfüllt werden. Es war nicht möglich, typische Veränderungen in den Harnparameter in den infizierten Tieren zu definieren. Es ist unbedingt erforderlich, weitere Studien über die Infektion mit Leptospiren durchzuführen, die sich für den klinischen Alltag in der Schweinemedizin als sinnvoll erweisen.

6. Zusammenfassung

Leptospiren sind aktiv bewegliche gramnegative Schraubenbakterien, die der Familie der *Spirochaetaceae* gehören. Leptospirose wird durch pathogene Serovare der Spezies *Leptospira interrogans* ausgelöst und ein Krankheitsbild bei Schweinen insbesondere mit Reproduktionsstörungen in Verbindung gebracht. Eine Infektionsquelle für die Schweine bedeuten meistens die Serovaren Pomona, Australis, Tarassovi, Grippotyphosa, Icterohaemorrhagiae, Canicola und Bratislava. In österreichischen Schweinebeständen werden mittels Mikroagglutinationstest insbesondere Antikörper gegen die Serovare Bratislava und Icterohaemorrhagiae gefunden. Eine Unterscheidung der Serovare anhand der klinischen Merkmale ist aber kaum möglich und es sind keine Studien verfügbar, die über die genaue Ausscheidungsintervall- und Menge des Erregers sowie über die Veränderung der Harnparameter im Zusammenhang mit einer Infektion mit dem Serovar Icterohaemorrhagiae berichten. Das Ziel der Studie war die Erweiterung des Wissens über die Erregerausscheidung über Harn und Vaginalsekrete. Gleichzeitig wurde versucht, aus den gewonnenen Harn-, Vaginaltupfer- und Organproben die Erreger zu reisolieren. Im Rahmen der Studie wurden acht geschlechtsreife Jungsauen für das Experiment ausgewählt, die frei von Leptospiren waren. An dem Studientag 0 wurden drei Jungsauen (Nr. 6, 8 und 9) mit dem Isolat *Leptospira interrogans* Serovar Icterohaemorrhagiae intravenös infiziert und mit weiteren drei Kontaktsauen (Nr. 5, 13 und 15) eingestallt. Zwei Sauen (Nr. 4 und 7) wurden in einen räumlich getrennten Stall gebracht, sie dienten als Kontrolltiere. Die Studie umfasste einen Zeitraum von vier Wochen, wobei die Tiere täglich klinisch untersucht wurden und an definierten Studientagen (0, 2, 4, 7, 10, 14, 17, 21, 24 und 28) in den selben Zeitpunkten Harnproben und Vaginaltupfer von der Vaginalschleimhaut gesammelt wurden. Aus den gesammelten Proben wurde jeweils eine Kultivierung und eine Untersuchung mittels qPCR durchgeführt. Die Harnparameter wurden mittels Combur[®]-Harnteststreifen, pH-Messgeräts und labordiagnostischen Untersuchung analysiert und eine makroskopische Untersuchung der Harnproben durchgeführt und dokumentiert. An dem Studientag 28 wurde eine Sektion durchgeführt, wobei alle Organe der Sauen genommen wurden, die für die Fragestellung relevant waren. Die Kultivierung und die qPCR-Untersuchung des Erregers wurde aus den Organproben ebenso wie bei den Harn- und

Tupferproben durchgeführt. Anschließend wurden die Organproben des Harntraktes für die pathohistologische Untersuchung entnommen.

Die Ergebnisse der Kulturversuche und der qPCR-Untersuchungen waren über den gesamten Zeitraum negativ. Die Veränderungen in den Harnparametern konnten mit der Infektion nicht in Zusammenhang gebracht werden und die einzelnen Gruppen zeigten keine nennenswerten Veränderungen und Unterschiede in den Harnparametern. Im Rahmen der pathohistologischen Untersuchung konnte bei den infizierten Sauen eine teilweise hochgradige tubulo-interstitielle Nephritis im Bereich des Nierenbeckens festgestellt werden. Eine weitere Bestätigung für die stattgefundene Infektion lieferte die Blutuntersuchung, wobei eine Serokonversion der infizierten Sauen bestätigt wurde.

Im Zusammenhang mit den Ergebnissen kann gezeigt werden, dass eine Infektion mit dem Erreger *Leptospira interrogans* Serovar Icterohaemorrhagiae stattfand, aber keine klinisch relevanten Änderungen in den Harnparametern auslöste. Eine Reisolation des Erregers aus den Harnproben und Gewebeproben war nicht möglich. Daher sind weitere Schritte in der Forschung über Leptospiren erforderlich, um einen besseren Wissenszustand über die komplexe Krankheit Leptospirose zu erhalten.

7. Summary

Leptospira interrogans is a mobile gram negative spiral shaped bacterium belonging to the *Spirochaetaceae* family. Leptospirosis is caused by pathogenic serovars of the species *Leptospira interrogans* and a clinical picture in sows is often associated with reproductive disorders. An important source of infection for the pigs is usually the serovars Pomona, Australis, Tarassovi, Grippotyphosa, Icterohaemorrhagiae, Canicola and Bratislava. The aim of the study was to expand the knowledge about the excretion of pathogens via urine and vaginal secretions as well as about the transmission mechanisms in the sows. At the same time, an attempt was made to reisolate the pathogens from the obtained urine, vaginal swab and collected organ samples. In this trial eight fertile gilts free of leptospira were selected for the experiment. On study day 0 three gilts (ID 6, 8 and 9) were infected intravenously with the *Leptospira interrogans* serovar Icterohaemorrhagiae isolate and housed with another three contact gilts (ID 5, 13 and 15). Two gilts were housed separately and were referred as control group (ID 4 and 7). The study covered a period of four weeks and urine samples and vaginal swabs from the cervical mucosa were collected on defined study days (0, 2, 4, 7, 10, 14, 17, 21, 24 and 28). From the collected samples a culture test and qPCR was done, additionally the urine parameters were analyzed by using Combur® urine test stripes, pH meter, chemical analysis and by macroscopic examination. The gilts of all three groups were euthanized for necropsy on the last day of trial (day 28). Tissue samples from liver, kidneys, urinary bladder, ovaries, oviducts and uterus were collected for the bacterial culture, qPCR and histologic examination. The results of the bacterial culture and the qPCR studies were negative over the entire period. The changes in urinary parameters could not be associated with the infection and the individual groups did not show massive differences in the urine parameters. Severe tubulo-interstitial nephritis near to the renal pelvis were found by the pathohistological samples of the infected gilts. No tubular alterations were seen in the samples. Assumed to the results, it can be claimed that infection with the *pathogen Leptospira interrogans* serovar Icterohaemorrhagiae does not cause clinically relevant changes in urinary parameters. A reisolation of the pathogen from the urine and tissue samples was not possible. Therefore, further steps in research on *Leptospira* are needed to obtain a better state of knowledge about the complex disease leptospirosis.

8. Literaturverzeichnis

- Adler B., de la Peña Moctezuma A. 2010. *Leptospira* and leptospirosis. *Veterinary Microbiology*, 140(3–4):287–296.
- Ahmed A., Engelberts M. F., Boer K. R., Ahmed N., Hartskeerl R. A. 2009. Development and validation of a real-time PCR for detection of pathogenic *Leptospira* species in clinical materials. *PloS one*, 4(9): e7093.
- Alt D. P., C. A. Bolin. 1996. Preliminary evaluation of antimicrobial agents for treatment of *Leptospira interrogans* serovar pomona infection in hamsters and swine. *American Journal of Veterinary Research* 57(1):59–62.
- Anderson R. S., Edney A. T. B. 1969. Protein intake and blood urea in the dog. *Veterinary Record*, 84, 348–349.
- André-Fontaine G. 2006. Canine leptospirosis—Do we have a problem? *Veterinary Microbiology*, 117(1):19–24.
- Bal A. E., Gravekamp C., Hartskeerl R. A., De Meza-Brewster J., Korver H., Terpstra W. J. 1994. Detection of leptospires in urine by PCR for early diagnosis of leptospirosis. *Journal of Clinical Microbiology*, 32(8):1894–1898.
- Barwick R. S., Mohammed H. O., Atwill E. R., McDonough P. L., White M. E. 1998. The prevalence of equine leptospirosis in New York State. *Journal of equine science*, 9(4):119–124.
- Baumgartner W., Wittek T. 2017. *Klinische Propädeutik der Haus- und Heimtiere*. Neunte Auflage. Stuttgart: Thieme Verlag.
- Bellino C., Gianella P., Grattarola C., Miniscalco B., Tursi M., Dondo A., D'Angelo, A. Cagnasso, A. 2013. Urinary tract infections in sows in Italy: accuracy of urinalysis and urine culture against histological findings. *Veterinary Record*, 172(7):183–183.
- Bernard W. 1993. Leptospirosis. *The Veterinary Clinics of North America*. *Equine Practice* 9, 435–444.
- Berner R. A. 1971. *Principles of chemical sedimentology* (Vol. 240). New York: McGraw-Hill.
- Bertelloni F., Turchi B., Vattiata E., Viola P., Pardini S., Cerri D., Fratini F. 2018. Serological survey on *Leptospira* infection in slaughtered swine in North-Central Italy. *Epidemiology and Infection*, 146(10):1275–1280.
- Bharti A. R., Nally J. E., Ricaldi J. N., Matthias M. A., Diaz M. M., Lovett M. A. Peru—United States Leptospirosis Consortium. 2003. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. *The Lancet infectious diseases*, 3(12):757–771.
- Bolin C.A., Cassells J.A. 1992: Isolation of *Leptospira interrogans* serovars bratislava and hardjo from swine at slaughter. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 4(1):87–89.
- Bollwahn W., Arnhofer G. 1989. The importance of exogenous factors on the composition of the urine of breeding sows. *Tieraerztliche Praxis*, 17(1):43–46.

- Boqvist S., Montgomery J.M., Hurst M., Thu H.T., Engvall E.O., Gunnarsson A., Magnusson U. 2003. *Leptospira* in slaughtered fattening pigs in southern Vietnam: presence of the bacteria in the kidneys and association with morphological findings. *Veterinary Microbiology*, 93(4):361–368.
- Brown P. D., Gravekamp C., Carrington D. G., Van de Kemp H., Hartskeerl R. A., Edwards C. N., Levett P. 1995. Evaluation of the polymerase chain reaction for early diagnosis of leptospirosis. *Journal of medical microbiology*, 43(2):110–114.
- Bundesministerium für Risikobewertung: Leptospirose: eine seltene, aber immer häufiger auftretende Erkrankung. Mitteilung Nr. 040/2014 des BfR und des RKI vom 28. Oktober 2014 Leptospirose - eine seltene, aber immer häufiger auftretende Erkrankung - Mitteilung Nr. 040/2014 des BfR und des RKI vom 28. Oktober 2014 (bund.de)
- Bunnell J. E., Hice C. L., Watts D. M., Montrueil V. I. C. T. O. R., Tesh R. B., Vinetz J. M. 2000. Detection of pathogenic *Leptospira* spp. infections among mammals captured in the Peruvian Amazon basin region. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 63(5):255–258.
- Caley P., Ramsey D. 2001. Estimating disease transmission in wildlife, with emphasis on leptospirosis and bovine tuberculosis in possums, and effects of fertility control. *Journal of Applied Ecology*, 1362–1370.
- Cargill C. F., Davost D. E. 1981. Renal leptospirosis in vaccinated pigs. *Australian Veterinary Journal*, 57(5):236–238.
- Chappel R. J., Adler B., Ballard S. A., Faine S., Jones R. T., Millar B. D., Swainger J. A. 1985. Enzymatic radioimmunoassay for detecting *Leptospira interrogans* serovar Pomona in the urine of experimentally-infected pigs. *Veterinary microbiology*, 10(3):279–286.
- Chernukcha Y. G., Ananyina Y. V., Zenko-vitch N. S. 1974. Pathogenicity of leptospires of various serological types for some species of wild rodents. *Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene, Abt. I (Originale)*, 228(3):388–395.
- Cruz-Romero A., Alvarado-Esquivel C., Romero-Salas D., Alvarado-Félix Á. O., Sánchez-Montes S., Hernández-Tinoco J., Sánchez-Anguiano L. F. 2018. Seroepidemiology of *Leptospira* infection in backyard pigs in Durango State, Mexico, *European Journal of Microbiology and Immunology EuJMI*, 8(3):87–90.
- Cullen P.A., Xu X., Matsunaga J., Sanchez Y., Ko A.I., Haake D.A., Adler B. 2005. Surfaceome of *Leptospira* spp. *Infection and Immunity*, 73(8):4853–4863.
- Dobson K. J. 1974. Eradication of leptospirosis in commercial pig herds. *Australian veterinary journal*.
- Doherty P. C., I. D. Baynes. 1967. "The effects of feeding oxytetracycline on leptospirosis in pigs infected with *leptospira pamona*." *Australian Veterinary Journal*, 43(4):135–137.
- Dossetor J. B. 1966. Creatininemia versus uremia: The relative significance of blood urea nitrogen and serum creatinine concentrations in azotemia. *Annals of Internal Medicine*, 65(6):1287-1299.
- Dritz S.S., Goodband R.D., DeRouchey J.M., Tokach M.D., Woodworth J.C. 2019. Nutrient Deficiencies and Excesses. In *Diseases of Swine* (eds J.J. Zimmerman, L.A. Karriker, A. Ramirez, K.J. Schwartz, G.W. Stevenson and J.Zhang). <https://doi.org/10.1002/9781119350927.ch68>
- Edwards J.D., Daines D. 1979. A leptospirosis outbreak in a piggery. *New Zealand Veterinary Journal*, 27(11):247–248.

- Ellis W.A., McParland P.J., Bryson D.G., Cassells J.A. 1986b. Prevalence of *Leptospira* infection in aborted pigs in Northern Ireland. *The Veterinary Record*, 118(3):63–65.
- Ellis W.A., McParland P.J., Bryson D.G., Thiermann A.B., Montgomery J. 1986c. Isolation of leptospires from the genital tract and kidneys of aborted sows. *The Veterinary Record*, 118(11):294–295.
- Emanuel M. L., Mackerras I. M., Smith D. J. W. 1964. The epidemiology of leptospirosis in North Queensland: I. General survey of animal hosts. *Epidemiology & Infection*, 62(4):451–484.
- Faine S., Adler B., Bolin C.A., Perolat P. 1999. *Leptospira* and Leptospirosis. *MediSci*, 2nd ed., Melbourne, Vic. Australia.
- Fennestad K.L., Borg-Petersen C. 1966. Experimental leptospirosis in pregnant sows. *The Journal of Infectious Diseases*, 57–66.
- Fernandes J.J., Araújo Júnior J.P., Malossi C.D., Ullmann L.S., da Costa D.F., Silva M.L.C.R., Alves C.J., de Azevedo S.S., Higino S.S. dos S. 2020. High frequency of seropositive and carriers of *Leptospira* spp. in pigs in the semiarid region of northeastern Brazil. *Tropical Animal Health and Production*, 52(4):2055–2061.
- Field H. I., Sellers K. C. 1963. *Leptospira icterohaemorrhagiae* infection in piglets. *Veterinary Record*, 63, 78–81.
- Fromm M., K. Hierholzer. 2000. "Epithelien." *Physiologie des Menschen*. Springer, Berlin, Heidelberg, 719–736.
- Gravekamp C., Van de Kemp H., Franzen M., Carrington D., Schoone G. J., Van Eys G. J. J. M., Terpstra W. J. 1993. Detection of seven species of pathogenic leptospires by PCR using two sets of primers. *Microbiology*, 139(8):1691-1700.
- Grooms D. 2006. Reproductive losses caused by bovine viral diarrhoea virus and leptospirosis. *Theriogenology*, 66(3):624–628.
- Hamond C., Martins G., Lilenbaum W., Pinna M., Medeiros M. A. 2015. Infection by *Leptospira* spp. in cattle in a tropical region, Rio de Janeiro, Brazil.
- Hanson L.E., Tripathy D.N. 1986. Leptospirosis. In: Leman AD, Straw B, Glock RD, Mengeling WL, Penny RHC, Scholl E (ed.), *Diseases of Swine*. Iowa State Univ Press, Ames, Iowa, 591–599.
- Hathaway S.C. 1985: Porcine leptospirosis. *Pig News and Information*, 6(1):31–34.
- Hathaway S. C., Little T. W. A., Stevens A. E. 1981. Serological and bacteriological survey of leptospiral infection in pigs in southern England. *Research in Veterinary Science*, 31(2):169–173.
- Hodges R. T., R. P. Stocker, J. R. Buddle. 1976. *Leptospira interrogans* serotype Pomona infection and Leptospiuria in vaccinated pigs. *New Zealand veterinary journal*, 24(3):37–39.
- Hodges R. T., J. Thomson, K. G. Townsend. 1979 Leptospirosis in pigs: The effectiveness of streptomycin in stopping leptospiuria. *New Zealand Veterinary Journal*, 27(6):124–126.
- Horsch F., Klockmann J., Janetzky B., Drechsler H., Löbnitz P. 1970. A Leptospirosis survey in wild animals *Monatshfte für Veterinärmedizin*, Vol.25, 634–639.
- Hunter P., van der Vyver F.H., Selmer-Olsen A., Henton M.M., Herr S., de Lange, J.F. 1987. Leptospirosis as a cause of "white spot" kidneys in South African pig abattoirs. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 54, 59–62.

- Jacobs A., Harks F., Hoeijmakers M., Segers R. P. A. M. 2015. A novel octavalent combined Erysipelas, Parvo and Leptospira vaccine provides (cross) protection against infection following challenge of pigs with 9 different *Leptospira interrogans* serovars. *Porcine health management*, 1(1): 1–7.
- John T. J. 2005. The prevention and control of human leptospirosis. *Journal of postgraduate medicine*, 51(3):205.
- Kemenes F., Suveges T. 1976. Leptospira-induced repeated abortion in sows. *Acta Veterinaria Academiae Scientiarum Hungaricae*, 26(4):395–403.
- Klarenbeek A., Winsser J. 1937. Ein Fall Von Spontaner Weilscher Krankheit bei Ferkeln. *Deutsche tierärztliche Wochenschrift*, 45, 434–435.
- Kraft W. (Ed.). 2005. *Klinische labordiagnostik in der Tiermedizin*. Schattauer Verlag.
- Kraft W., Dürr U. M. 2005. *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin*, 6. Aufl., München und Bremen 2005.
- Krauss N. 1977. Microsymptoms in leptospirosis. *Fortschritte der Medizin*, 95(43):2637–2639.
- Langston C. E., Heuter K. J. 2003. Leptospirosis. A re-emerging zoonotic disease. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 33(4):791–807.
- Lee H.S., Khong N.V., Xuan H.N., Nghia V.B., Nguyen-Viet H., Grace D. 2017. Sero-prevalence of specific *Leptospira* serovars in fattening pigs from 5 provinces in Vietnam. *BMC Veterinary Research*, 13(1):125.
- Leonard F.C., Quinn P.J., Ellis W.A., O'Farrell K. 1992. Duration of urinary excretion of leptospires by cattle naturally or experimentally infected with *Leptospira interrogans* serovar hardjo. *The Veterinary Record*, 131(19):435–439.
- Levett P.N. 2001. Leptospirosis. *Clinical Microbiology Reviews*, 14, 296–326.
- Levett P.N., Morey R.E., Galloway R.L., Turner D.E., Steigerwalt A.G., Mayer L.W. 2005. Detection of pathogenic leptospires by real-time quantitative PCR. *International Journal of Medical Microbiology*, 54(1):45–49.
- Madec F., David F. 1984. Urinary problems in sow herds. *Proc. 8th Int. Congr. Pig Vet. Soc.*, Ghent, Belgium, 148.
- Masri S. A., Nguyen P. T., Gale S. P., Howard C. J., Jung S. C. 1997. A polymerase chain reaction assay for the detection of *Leptospira* spp. in bovine semen. *Canadian journal of veterinary research*, 61(1):15.
- Medeiros R., Spichler A., Athanazio D. A. 2010. Leptospirosis-associated disturbances of blood vessels, lungs and hemostasis. *Acta Tropica*, 115, 155–62.
- Merien F., Truccolo J., Rougier Y., Baranton G., Perolat P. 1998. In vivo apoptosis of hepatocytes in guinea pigs infected with *Leptospira interrogans* serovar icterohaemorrhagiae. *FEMS Microbiology Letters*, 169(1):95–102.
- Michna S.W., Campbell R.S. 1969. Leptospirosis in pigs: epidemiology, microbiology and pathology. *Veterinary Record*, 84(6):135–138.
- Middleton A.D. 1929. *Leptospira icterohaemorrhagiae* in Oxford Rats. *Epidemiology & Infection*, 29(2):219–26.

- Miller D.A., Wilson M.A., Owen W.J., Beran G.W. 1990. Porcine leptospirosis in Iowa. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 2(3):171–175.
- Miraglia F., Moreno A. M., Gomes C. R., Paixão R., Liuson E., Morais Z. M., Vasconcellos, S. A. 2008. Isolation and characterization of *Leptospira interrogans* from pigs slaughtered in São Paulo State, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 39(3):501–507.
- Moritz A. 2014. *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin*. Schattauer GmbH. 7. Auflage.
- MSD Tiergesundheit Deutschland. 2009-2017. *Leptospirose beim Schwein*.
- National Association of State Public Health Veterinarians 2015. *Compendium of Veterinary Standard Precautions for Zoonotic Disease Prevention in Veterinary Personnel*. [VeterinaryStandardPrecautions.pdf \(nasphv.org\)](http://www.nasphv.org/VeterinaryStandardPrecautions.pdf)
- OIE 2010. *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. World Organisation for Animal Health, http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/2008/pdf/2.01.09_LEPTO.pdf
- Pereira M.M., Andrade J., Marchevsky R.S., Ribeiro dos Santos R. 1998. Morphological characterization of lung and kidney lesions in C3H/HeJ mice infected with *Leptospira interrogans* serovar icterohaemorrhagiae: Defect of CD4+ and CD8+ T-cells are prognosticators of the disease progression. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 50(3):191–198.
- Plonait H. 1980. *Labordiagnostik für die tierärztliche Praxis*. Parey.
- Richter et al. 1992. *Grundwerte der Tiergesundheit und Tierhaltung*, Gustav Fischer Verlag Jena, Stuttgart.
- Rissi D.R., Brown C.A. 2014. Diagnostic features in 10 naturally occurring cases of acute fatal canine leptospirosis. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 26(6):799–804.
- Rodríguez Reyes E. A., Cullen P., Bulach D., Adler B., Haake D., de la Peña-Moctezuma, A. 2005. Expression in *Escherichia coli* of the *gspD* I gene of the type II secretion system in *Leptospira borgpetersenii* serovariety hardjo. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 57(1):45–46.
- Rolle M. 2006. *Leptospira*. In: Mayr, A. und Rolle, M. (Eds.): *Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre*. 8. Auflage, Enke, Stuttgart, 399–402.
- Ruhrmann A., H. Hambitzer, E. Bent 1986. Referenzwerte verschiedener Harninhaltsstoffe bei Sauen. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift* 93, 115–120.
- Saiki R. K., Scharf S., Faloona F., Mullis K. B., Horn G. T., Erlich H. A., Arnheim N. 1985. Enzymatic amplification of β -globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science*, 230(4732):1350–1354.
- Savio M. L., Rossi C., Fusi P., Tagliabue S., Pacciarini M. L. 1994. Detection and identification of *Leptospira interrogans* serovars by PCR coupled with restriction endonuclease analysis of amplified DNA. *Journal of Clinical Microbiology*, 32(4):935–941.
- Scanziani, E., Sironi, G., Mandelli, G. 1989. Immunoperoxidase studies on leptospiral nephritis of swine. *Veterinary Pathology*, 26(5):442–444.
- Schnurrenberger P. R., Hanson L. E., Martin R. J. 1970. Leptospirosis: long-term surveillance on an Illinois farm. *American Journal of Epidemiology*, 92(4):223–239.

- Schommer S. K., Harrison N., Linville M., Samuel M. S., Hammond S. L., Wells K. D., Prather R. S. 2021. Serologic titers to *Leptospira* in vaccinated pigs and interpretation for surveillance. *Plos one*, 16(11):e0260052.
- Schönberg A., Hahn-Hey B., Kampe U., Schmidt K., Ellis W.A. 1992. The isolation and identification of *Leptospira interrogans* serovar bratislava from a pig in Germany. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*, 39(1-10):362–368.
- Selbitz H. J., Bisping W. 1995. *Tierseuchen und Zoonosen: alte und neue Herausforderungen*, 25 Tabellen. G. Fischer.
- Shang E.S., Exner M.M., Summers T.A., Martinich C., Champion C.I., Hancock R.E., Haake D.A., 1995. The rare outer membrane protein, OmpL1, of pathogenic *Leptospira* species is a heat-modifiable porin. *Infection and Immunity*, 63(8):3174–3181.
- Shiokawa K., Welcome S., Kenig M., Lim B., Rajeev S. 2019. Epidemiology of *Leptospira* infection in livestock species in Saint Kitts. *Tropical Animal Health and Production*, 51(6):1645–1650.
- Stalheim O. H. 1967. Vaccination against leptospirosis: protection of hamsters and swine against renal leptospirosis by killed but intact gamma-irradiated or dihydrostreptomycin-exposed *Leptospira pomona*. *Agricultural Research Service, Ames, Iowa*, (127):1671–6.
- Steinparzer R., Mair T., Unterweger C., Steinrigl A., Schmoll F. 2021. Influence of Selective Agents (EMJH-STAFF), Sample Filtration and pH on *Leptospira interrogans* Serovar Icterohaemorrhagiae Cultivation and Isolation from Swine Urine. *Veterinary Sciences*, 8(6):90.
- Stirnemann, J. 1984. Acute urinary tract inflammation in sows. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde* 126(11):597–605.
- Strutzberg-Minder K., Tschentscher A., Beyerbach M., Homuth M., Kreienbrock L. 2018. Passive surveillance of *Leptospira* infection in swine in Germany. *Porcine Health Management*, 4(1):10.
- Strutzberg-Minder K., Kreienbrock L. 2011. Leptospireninfektionen beim Schwein: Epidemiologie, Diagnostik und weltweites Vorkommen *Leptospire infections in pigs: epidemiology, diagnostics and worldwide occurrence. Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift*, 124: 9-10, 345-359 (2011):345–359.
- Sykes J. E., Hartmann K., Lunn K. F., Moore G. E., Stoddard R. A., Goldstein R. E. 2011. 2010 ACVIM small animal consensus statement on leptospirosis: diagnosis, epidemiology, treatment, and prevention. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 25(1):1–13.
- Thiermann A.B. 1984. Isolation of leptospire in diagnosis of leptospirosis. *Modern Veterinary Practice*, 65(10):758–759.
- Thiermann A.B., Handsaker A.L. 1985. Experimental infection of calves with *Leptospira interrogans* serovar hardjo: conjunctival versus intravenous route of exposure. *American journal of veterinary research*, 46(2):329–31.
- Turner L. H. 1970. Leptospirosis III. Maintenance, isolation and demonstration of leptospire. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 64(4):623–46.
- Unterweger C., Ruczizka U., Hießberger N., Spargser J., Hennig-Pauka I. 2018. Diagnostic procedure after abortions in sows after simultaneous infection with *leptospira* and *chlamydia*. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde*, 160(7-8):475–480.

Vopelius-Feldt A. V. 1984. Results of physical and clinical examinations of swine urine. A contribution to cystitis diagnosis. Dissertation, Tierärztliche Hochschule München.

Wrathall A. E. 1975. Reproductive disorders in pigs. Slough, UK, Commonwealth Agricultural Bureaux.

Zuelzer M. 1918. Beiträge zur Morphologie und Entwicklung der Weilschen Spirochaete. Arbeiten der Kaiserlichen Gesellschaft Bd. 51, Heft, 1, 159.

9. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Auflistung der beim Schwein vorkommenden Leptospiren und ihre antigenetische Verwandtschaft 9

Tabelle 2: Die pH-Werte, die bei den Schweinen entweder mit oder ohne Angabe von weiteren spezifischen Einflussfaktoren als physiologisch angesehen sind 14

Tabelle 3: Die Menge des physiologischen Harnvolumens für Schwein je nach Angabe des Autors 15

Tabelle 4: Die von dem Hersteller angegebenen Parameter für Combur[®]-Harnteststreifen 15

Tabelle 5: Einteilung der Gruppen und deren Beschreibung 19

10. Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1: Intravenöse Infektion der Jungsau 20
- Abbildung 2: Zeitintervall von vier Wochen. An den aufgelisteten Tagen wurden Harnproben und Vaginaltupfer von allen acht Jungsauen genommen 21
- Abbildung 3: Alle Testfenster müssen mit dem Urin benetzt werden 23
- Abbildung 4: Die Teststreifen wurden aus der Urinprobe vorsichtig entfernt und am Rand die überflüssige Menge abgestreift 23
- Abbildung 5: Die Werte mussten nach der abgegebenen Zeit mit den Referenzwerten verglichen werden 24
- Abbildung 6: Die Spitze des pH-Messgerätes wurde in die Urinprobe eingeführt und anschließend wurden die Werte abgelesen und dokumentiert 25
- Abbildung 7: Die Harnproben wurden einzeln in die beschrifteten Glasröhrchen pipettiert und anschließend durch Schwenkung gemischt 26
- Abbildung 8: Harnproben aller Tiere. Makroskopisch fällt sofort auf, dass das mit Nummer 4 gekennzeichnete Röhrchen mit viel hellerem Harn gefüllt ist, als die anderen Gefäße 30
- Abbildung 9: Der Verlauf der Proteinwerte in den Harnproben, die mittels Combur-Tests[®] erfasst wurden. Grün=Kontrollgruppe, Blau=Kontaktgruppe, Rot=Infizierte Gruppe 30
- Abbildung 10: Der Verlauf der Harnstoffwerte in den Harnproben der Kontrollgruppe (grün), der Kontaktgruppe (blau) und der infizierten Gruppe (rot) 31

Abbildung 11: Der Verlauf der Proteinwerte in den Harnproben der Kontrollgruppe (grün), der Kontaktgruppe (blau) und der infizierten Gruppe (rot) _____ **32**

Abbildung 12: Der Verlauf des Protein/Kreatinin-Verhältnisses in den Harnproben der Kontrollgruppe (grün), der Kontaktgruppe (blau) und der infizierten Gruppe (rot) _____ **33**

Abbildung 13: Verlauf der pH-Werte der Harnproben der Kontrollgruppe (grün), der Kontaktgruppe (blau) und der infizierten Gruppe (rot) _____ **34**

Abbildung 14: Vereinzelt vorliegende tubulointerstitielle Nephritis (*) in dem Bereich des Nierenbeckens (p) einer infizierten Jungsau. Hämatoxylin-Eosin-Färbung, Einheit= 200 µm
_____ **35**