

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)

**Seroprävalenzerhebung von *Lawsonia intracellularis*
in österreichischen Schweinemastbetrieben**

Diplomarbeit

Veterinärmedizinische Universität Wien

vorgelegt von

Plank Corinna

Wien, August 2020

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

Gutachter: PD Dr. Joachim Spargser, Dipl. ECVM

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Literaturübersicht	3
2.1	Pathogenese	3
2.2	Klinische Symptome	4
2.3	Ausscheidung, Antikörperbildung und Zeitpunkt der Serokonversion	6
2.4	Diagnostik	6
2.5	Therapie	8
2.6	Prophylaxe	9
2.7	Seroprävalenzen	10
3	Material und Methode	12
3.1	Svanovir® <i>L. intracellularis</i> / Ileitis- Antibody (AB) Testprinzip	14
3.2	Auswertung	15
3.3	Statistik	16
4	Ergebnisse	17
4.1	Tierebene	17
4.2	Betriebsebene	17
4.3	Landesebene	18
4.4	Seroprävalenz innerhalb der Herde	20
5	Diskussion	23
6	Zusammenfassung	26
7	Summary	27
8	Abkürzungsverzeichnis	28
9	Literaturverzeichnis	30
10	Abbildungsverzeichnis	36

11 Tabellenverzeichnis	37
------------------------------	----

1 Einleitung

Lawsonia intracellularis (*L. intracellularis*) ist ein in der Schweinehaltung weltweit verbreitetes Bakterium (Arnold et al. 2019, Corzo et al. 2005, Resende et al. 2015, Wu et al. 2014) und gilt als Auslöser der porzinen proliferativen Enteropathie (PPE) (McOrist et al. 1995a). Hierbei handelt sich um ein gramnegatives, obligat intrazelluläres Bakterium (McOrist et al. 1995a, McOrist 2005). Die Erkrankung führt aufgrund der verminderten Gewichtszunahmen und Leistungsminderungen zu großen wirtschaftlichen Verlusten (Brandt et al. 2010, Reiner 2015), welche man in Großbritannien auf £2-£4 Millionen pro Jahr schätzte (McOrist et al. 1997).

Neben Hamstern sind Schweine die am meisten betroffenen Spezies (Lawson und Gebhart 2000). Um sich ein Bild von der Verbreitung von *L.intracellularis* in Schweineherden zu machen, wurden weltweit über die Jahre hinweg Prävalenzstudien durchgeführt. Insbesondere der indirekte Nachweis von gegen *L.intracellularis* gerichteten Antikörpern (Magtoto et al. 2014, Wu et al. 2014) wurde dafür gewählt. In Europa lag die Seroprävalenz auf Herdenebene bei 91,7% und bei Mastschweinen bei 64,4% (Arnold et al. 2019). In Korea wurden bei 100% der getesteten Betriebe und 59,4% der Mastschweine Antikörper gegen *L. intracellularis* nachgewiesen (Lee et al. 2001). In Kanada lag die Seroprävalenz der Herden zwischen 50% und 87,5% (Paradis et al. 2007). Mastschweine stellten sich als die effektivsten Beprobungstiere heraus. Bei Ferkeln von seropositiven Sauen konnten Antikörper, die übers Kolostrum aufgenommen wurden, bis zur 5. Lebenswoche nachgewiesen werden (Guedes et al. 2002a). Zu Beginn der Aufzucht liegt die Seroprävalenz somit sehr niedrig. Laut Wendt et al. (2006) wurden die niedrigsten Seroprävalenzen bei Aufzuchtferkeln unter 30 kg (29,4%) gefunden, während die Seroprävalenzen bei Ebern bei 87,5%, bei Sauen bei 96,6% und bei Endmastschweinen bei 88,9% lagen. Das zeigte, dass die Anzahl an seropositiv getesteten Tieren kontinuierlich mit dem Anstieg der Lebenswochen zunahm (Wendt et al. 2006). Die ersten Antikörper nach Kontakt mit einem pathogenen Isolat wiesen Guedes und Gebhart (2003) neun bis 14 Tage später nach. Bei Sauen, die sich von einer porzinen hämorrhagischen Enteropathie (PHE) erholten, wurden bis zu drei Monate danach noch Antikörper nachgewiesen (Guedes et al. 2002a). Der Höhepunkt der Ausscheidung wurde zwei Wochen nach der

Infektion gemessen, wobei es nach einem positiven Erregernachweis im Kot nicht zwangsweise zu einer Serokonversion kommen muss (Guedes et al. 2002a).

Die letzte Erhebung der Seroprävalenz fand in Österreich Anfang der 2000er Jahre statt. Damals konnten 51.4% der Serumproben mittels indirektem Immunofluoreszenz-Antikörper-Test (IFAT) positiv auf Antikörper getestet werden (Untersperger 2001). Inzwischen ist seit vielen Jahren ein Lebendimpfstoff am Markt erhältlich, mit dem klinische Ausbrüche reduziert werden können und ein neuer Impfstoff wurde erst 2019 am Markt eingeführt. Daher war es von großem Interesse und auch Ziel dieser Arbeit, die aktuelle Seroprävalenz von *L.intracellularis* auch in österreichischen Schweinebetrieben zu erheben, zumal es aktuelle Daten aus den umliegenden Ländern gibt. Konkret wurden Seren von Endmastschweinen untersucht, basierend auf der Annahme, dass in dieser Altersgruppe die höchste Prävalenz zu finden ist.

Wir stellten zum einen die Hypothese auf, dass man, nachdem in aktuellen Studien weltweit Seroprävalenzen zwischen 50% und 90% nachgewiesen werden, in Österreich ähnliche Seroprävalenzen vorfinden kann. Wir gingen außerdem der Annahme nach, dass die 2001 erhobene Seroprävalenz von 51,4% wesentlich niedriger ist also die zu erhebende Seroprävalenz der Jahre 2016-2018.

2 Literaturübersicht

L. intracellularis wurde in den 1990er Jahren als Auslöser der porzinen proliferativen Enteropathie (PPE) unter dem Namen *Ileal Symbiont intracellularis (IS intracellularis)* identifiziert (McOrist et al. 1993). 1995 kam man zu der Erkenntnis, dass es sich bei dem Bakterium *IS intracellularis*, welches in Schweinen gefunden wurde, um eine neue Gattung und Spezies handelt, für die der Name *L. intracellularis* vorgeschlagen wurde (McOrist et al. 1995a). *L. intracellularis* ist ein gramnegatives, obligat intrazelluläres Bakterium (McOrist et al. 1995a, McOrist 2005). Das Bakterium bzw. die dagegen gerichteten Antikörper wurden bis dato weltweit bei Schweinen nachgewiesen, wie zum Beispiel in Europa (Arnold et al. 2019), Brasilien (Resende et al. 2015), China (Wu et al. 2014) und Australien (Holyoake et al. 2010). Die Erkrankung führt zu großen wirtschaftlichen Verlusten, welche in Großbritannien auf £2-£4 Millionen pro Jahr geschätzt wurden (McOrist et al. 1997). In den USA wurden von Verlusten von USD 5,98 bis USD 17,34 pro vermarktes Schwein berichtet (Holtkamp 2019). Diese wirtschaftlichen Verluste treten insbesondere bei der subklinischen Form auf, welche durch die verminderte tägliche Gewichtszunahme, schlechte Futterverwertung und Auseinanderwachsen der Tiere gekennzeichnet sind (Große Beilage und Wendt 2013). Generell können Infektionen mit *L. intracellularis* sowohl bei Absetzferkel und Mastschweinen als auch bei Sauen und Ebern nachgewiesen werden (Arnold et al. 2019). Die Symptome der Erkrankung variieren je nach Verlaufsform – chronisch, subklinisch, akut - von verminderten Zunahmen, Kümmern, blutiger Durchfall bis hin zum perakuten Versterben (Zimmermann et al. 2019).

2.1 Pathogenese und pathologische Veränderungen

Der Erreger wird über den Kot ausgeschieden und oral aufgenommen (Guedes und Gebhart 2003, Jacobs et al. 2019, Reiner 2015). Das Bakterium wandert in die Epithelzellen des Ileums, Jejunums, Zäkums und Kolons, wo es dann zu einer Vermehrung im Zytoplasma kommt (Große Beilage und Wendt 2013). Die Bakterien stören die Zellzyklusregulation der Darmzellen (Reiner 2015). Das verhindert eine Reifung der betroffenen Zellen, resultiert in einer Proliferation der unreifen Enterozyten (Große Beilage und Wendt 2013) und es entstehen

adenomatöse Veränderungen (Reiner 2015). Die pathologischen Veränderungen sind im Regelfall im Ileum zu finden. Sie zeigen sich als unregelmäßige Ödeme in der Subserosa mit nekrotischem Material an der Oberfläche (Lawson und Gebhart 2000). Die verdickte Schleimhaut äußert sich makroskopisch durch hirnwindungsartige Längs- und Querspalten, die besonders bei der chronischen Form auftreten und histologisch durch vergrößerte Kryptenzellen, Proliferation von undifferenzierten Enterozyten und eine Reduktion der Becherzellen (McOrist et al. 1999, Zimmermann et al. 2019). In einer Studie von McOrist et al. (1993) waren die Ileum- und Kolonschleimhaut von Schweinen nach oraler Applikation einer Reinkultur von *L. intracellularis* zwar nur mild verdickt, histologisch jedoch war die Abwesenheit von Becherzellen und proliferierenden Epithelzellen auffällig (McOrist et al. 1993). Ein weiterer wesentlicher, kritischer Punkt für die Übertragung von *L. intracellularis* ist der Kontakt mit Nagetieren, da sie infektiöse *L. intracellularis* ausscheiden können und ein Risiko für naive Schweine darstellen (Collins et al. 2011). Eine gründliche Reinigung und Desinfektion der Buchten sowie interne und externe Biosecurity sind daher wichtig, um den Erregerdruck zu senken (Collins et al. 2013).

2.2 Klinische Symptome

Es werden drei Formen der Erkrankung unterschieden, die akute, chronische und subklinische Form (Reiner 2015, Zimmermann et al. 2019).

Bei der akuten Form, auch porcine hämorrhagische Enteropathie (PHE) genannt, zeigen die Tiere blutigen Durchfall, schwarzen Kot, blasse (Schleim-)Häute und perakutes Verenden (Mauch und Bilkei 2005, Reiner 2015). Diese Form tritt meistens bei Mast Schweinen oder Jungsau nach Erstkontakt auf (Reiner 2015, Zimmermann et al. 2019).

Die chronische Form, auch porcine intestinale Adenomatose (PIA) genannt, führt bei den Tieren zu Durchfall, Kümern, Apathie und somit zu einer Leistungsminderung (Mauch und Bilkei 2005). Der Durchfall ist meistens von wässriger Konsistenz (McOrist et al. 1999). Betroffen sind Schweine in der Aufzucht und Mast im Alter von sechs bis 20 Wochen (Zimmermann et al. 2019).

Die subklinische Form betrifft meistens Aufzuchtferkel und Mastschweine und führt zu einer verminderten Gewichtszunahme und Leistungsminderung (Reiner 2015, Zimmermann et al. 2019). Durch die veränderte Darmschleimhaut ist eine Verdauung und Resorption der Nährstoffe nicht mehr möglich (Reiner 2015). Die verminderten täglichen Gewichtszunahmen betragen bei infizierten Tieren unter acht Wochen bis zu 50g/Tag (Brandt et al. 2010). Vor, während und nach der Ausscheidung des Bakteriums kam es zu einer Reduktion der durchschnittlichen Gewichtszunahme und erst zwei bis vier Wochen vor Ende der Ausscheidung wieder zu einer Zunahme der Wachstumsrate (Stege et al. 2004). Die Studie von Collins und Barchia (2014) zeigte, dass es bei experimentell infizierten Tieren zu einer Reduktion der täglichen Gewichtszunahme kam, wenn sie mehr als 10^7 *L. intracellularis* per Gramm Kot ausschieden.

Bei seropositiven Zuchtsauen wurden Auswirkungen auf die Fruchtbarkeit festgestellt, die sich in einer niedrigeren Konzeptionsrate und Abferkelrate, sowie einer niedrigeren Anzahl an Lebendgeborenen und verminderter Wurfgröße äußern können (Mauch und Bilkei 2005).

Schweine schieden auch *L. intracellularis* aus, ohne dabei klinische Symptome zu zeigen (Collins et al. 2011). Die erste Ausscheidung von *L. intracellularis* wies man bei Aufzuchtschweinen vier Wochen nach dem Absetzen, in der achten Lebenswoche, nach (Stege et al. 2004). Guedes und Gebhart (2003) zeigten in ihrer Studie, dass die Erregerausscheidung über den Kot in der ersten Woche nach der Infektion begann und intermittierend bis zur zwölften Woche nach der Infektion andauerte. Andere Studien kamen zu dem Ergebnis, dass die Erregerausscheidung sechs bis acht Wochen dauerte (Stege et al. 2004) bzw. größtenteils zwischen der 13. und 16. Lebenswoche stattfand (Guedes et al. 2002a). Die Studie von Jensen et al. (2005) zeigte, dass die Schweine das Bakterium schon zwei bis sechs Wochen vor der Serokonversion ausschieden. Aber auch wenn die Tiere den Erreger ausschieden, bedeutete es nicht, dass sie Antikörper bildeten (Guedes et al. 2002a).

2.3 Antikörperbildung und Zeitpunkt der Serokonversion

Seropositive Sauen übertragen übers Kolostrum maternale Antikörper, die den Ferkeln einen zeitlich begrenzten Schutz bieten (Barna und Bilkei 2003). Bei zwei bis vier Wochen alten Ferkeln sah man die nachgewiesenen Antikörper gegen *L. intracellularis* als maternale Antikörper an (Guedes et al. 2002b, Guedes et al. 2002a, Jensen et al. 2005). Die niedrigste Seroprävalenz mit 0% bis 6% war zwischen der sechsten und 13. Lebenswoche vorhanden (Jensen et al. 2005). Bei Sauen fand man Antikörpertiter von 1:1920 und bei Aufzucht- und Mastschweinen von 1:60, die nur drei Wochen nachweisbar waren (Guedes et al. 2002a).

Auch bei dem Zeitpunkt der Serokonversion kamen die einzelnen Studien zu unterschiedlichen Ergebnissen (Brandt et al. 2010, Guedes et al. 2002a, Stege et al. 2004, Walter et al. 2004). Den frühesten Zeitpunkt einer Serokonversion wies man sechs Wochen nach dem Absetzen, in der zehnten Lebenswoche nach, wobei die meisten Tiere eine Serokonversion zwischen der achten und 14. Wochen nach dem Absetzen, in einem Alter von zwölf bis 18 Lebenswochen, zeigten (Stege et al. 2004). 81,7% der Tiere aus einem Betrieb mit subklinischen *L. intracellularis* Infektionen serokonvertierten zwischen der achten und elften Lebenswoche (Brandt et al. 2010). Bei einer Schweineherde, die man nach einem PHE Ausbruch in einen gereinigten und desinfizierten Stall umstellte, lag der Zeitpunkt der Serokonversion der Ferkel bzw. Jungtiere zwischen der 19. und 22. Lebenswoche (Guedes et al. 2002a). In der Studie von Walter et al. (2004) serokonvertierten die Tiere zwei bis vier Wochen nach der Infektion.

Bei der Interpretation und dem Vergleich der Prävalenzstudien ist zu beachten, dass unterschiedliche Testsysteme für den Antikörpernachweis (siehe 2.4.) verwendet wurden (Wendt et al. 2006).

2.4 Diagnostik

Für den direkten und indirekten Nachweis stehen mehrere Methoden zur Verfügung, die sich durch pathoanatomische sowie pathohistologische Untersuchung komplettieren lassen (Jacobson et al. 2011, Jensen et al. 2005, Magtoto et al. 2014, Pedersen et al. 2012). Bei

Schweinen mit Durchfall korrelierte die Schwere der Krankheit bezogen auf die morphologischen sowie histologischen Läsionen mit dem Nachweis von *L. intracellularis* im Kot (Pedersen et al. 2012).

Für den direkten Nachweis stehen die Polymerase-Kettenreaktion (PCR), eine histologische Färbung wie die Silberfärbung oder immunhistochemische Färbungen (IHC) zur Verfügung (Collins und Barchia 2014, McOrist et al. 1999, Pedersen et al. 2012). Eine kulturelle Anreicherung auf Standardnährmedien ist derzeit routinemäßig nicht möglich (Lawson und Gebhart 2000). Als Probenmaterial kann Kot oder ein Schleimhautgeschabsel verwendet werden, wobei die Nachweisgrenze beim Kot (10^2 bis 10^3 Bakterien pro Gramm Kot) und dem Schleimhautgeschabsel aus dem Darm (10^1 Bakterien pro Gramm Schleimhautgeschabsel) unterschiedlich ist (Große Beilage und Wendt 2013). *L. intracellularis* kann intermittierend ausgeschieden werden (Guedes und Gebhart 2003). Die Sensitivität der real time PCR lag bei 99% und die Spezifität bei 97% (Collins et al. 2011). Mittels qPCR kann gleichzeitig mit dem Nachweis auch die Quantität von *L. intracellularis* im Gewebe oder Kot ermittelt werden (Pedersen et al. 2012). Die PCR stellt eine gute Möglichkeit dar, um eine frühe Infektion zu erkennen und den wirtschaftlichen Verlust, der bei einem Fehlen der Behandlung auftreten würde, zu minimieren (Collins und Barchia 2014). Die Sensitivität ist bei der quantitativen PCR am höchsten und bei der einfachen PCR am niedrigsten (Große Beilage und Wendt 2013). Mittels Silberfärbung bzw. immunhistochemischer Färbung kann man die Lawsonien im Zytoplasma von proliferierenden Zellen nachweisen (McOrist et al. 1999). Dies erweist sich in der Diagnostik als vorteilhaft, da die Erreger direkt in den Läsionen gefunden werden und sie somit auch als auslösenden Agens bewiesen sind.

Für den Nachweis von gegen Lawsonien gerichtete Antikörper wurden Nachweismethoden wie der indirekte Immunfluoreszenz-Antikörper-Test (IFAT) (Jensen et al. 2005), der Enzym-linked-immuno absorbent Assay (ELISA) (Jacobson et al. 2011) oder der immuno-peroxidase monolayer assay (IPMA) entwickelt (Magtoto et al. 2014). Beim Vergleich verschiedener am Markt erhältlichen ELISAs variierte die Sensitivität von 72% bis 91% und die Spezifität von 83% bis zu 100% (Collins et al. 2012, Jacobson et al. 2011, Magtoto et al. 2014). Bei Schweinen, die sich auf natürlichem Weg mit dem Bakterium infizierten, war die Sensitivität des IFAT mit 73% und die Spezifität mit 100% angegeben (Jensen et al. 2005). In der Studie

von Magtoto et al. (2014) erreichte der IPMA eine Sensitivität und Spezifität von 100%. Der Immunperoxidase Test erzielte eine Sensitivität von nahezu 90% am 21. Tag nach der Infektion (Guedes et al. 2001).

Die Ergebnisse der verschiedenen Tests können aufgrund dieser unterschiedlichen Sensitivitäten und Spezifitäten unterschiedlich gut miteinander verglichen werden (Collins et al. 2012, Jacobson et al. 2011, Magtoto et al. 2014). Der ELISA und der IFAT zeigten in der Studie von Lebret et al. (2013) eine Übereinstimmung der Ergebnisse von 96%; der IFAT konnte auch noch vorhandene maternale Antikörper in der 5. Lebenswoche nachweisen, was mit dem ELISA nicht gelang. IFAT und IPMA erreichten 98,6% Übereinstimmung bei experimentell infizierten Schweinen (Guedes et al. 2002b). Die Übereinstimmung zwischen einem positiven Ergebnis mit immunhistochemischen Färbemethoden und dem Vorkommen von makroskopischen Läsionen, ausgelöst durch *L. intracellularis*, betrug 82,5% (Guedes et al. 2001). In der Studie von Jacobson et al. (2011) zeigte der IFAT eine höhere Sensitivität bei Tieren und Herden mit schlechter Leistung als der ELISA.

2.5 Therapie

Für die Therapie von klinisch kranken Tieren stehen Antibiotika wie z. B. Tylosin zur Verfügung, die *in vitro* auf Darmzellen von Ratten getestet wurden (McOrist et al. 1995b, Yeh et al. 2011). Eine 14-tägige Behandlung kann mit z.B. Tylosin, Chlortetrazyklin, Tiamulin und Valnemulin über das Futter oder Trinkwasser gemacht werden, wobei eine parenterale Behandlung von akut kranken Tieren, die folglich keine Nahrung aufnehmen, zu bevorzugen ist (Große Beilage und Wendt 2013). Mit Tylosin behandelte Tiere zeigten im Vergleich zu den unbehandelten Tieren weniger Tage mit Durchfall sowie eine bessere Gewichtszunahme und Futteraufnahme (Otoni et al. 2019). Auch Yeh et al. (2011) kamen zu dem Ergebnis, dass Tylosin eine gute Wirksamkeit gegen *L. intracellularis* hat. Chlortetrazyklin in den Dosen von 300ppm und 600ppm verhinderte eine klinische Erkrankung (McOrist et al. 1999). In der *in vitro* Studie von McOrist et al. (1995) waren Wirkstoffe wie Chlortetrazyklin und Erythromycin gut wirksam und Tiamulin moderat wirksam. In einer neueren *in vitro* Studie zeigten Tiamulin und Valnemulin eine gute, Tylosin eine moderate und Chlortetrazyklin und Lincomycin eine

geringe intrazelluläre Aktivität, wohingegen die extrazelluläre Wirksamkeit bei Tiamulin und Valnemulin am höchsten, Chlortetrazyklin und Tylosin moderat und Lincomycin am niedrigsten war (Wattanaphansak et al. 2019).

2.6 Prophylaxe

In Österreich sind derzeit (Stand August 2020) zwei Impfstoffe gegen *L. intracellularis* zugelassen, der Lebendimpfstoff Enterisol® Ileitis (Böhringer Ingelheim, Deutschland) und der inaktivierte Impfstoff Porcilis® Lawsonia (Intervet, Österreich) (Arzneispezialitätenregister Stand April 2020). Bei Enterisol® Ileitis (Böhringer Ingelheim, Deutschland) handelt es sich um einen attenuierten Lebendimpfstoff, der oral ab der 3. Lebenswoche verabreicht wird (Fachinformation Enterisol® Ileitis). Porcilis® Lawsonia (Intervet, Österreich) ist ein inaktivierter Impfstoff, der intramuskulär ab der 3. Lebenswoche appliziert wird. Die Impfung gegen *L. intracellularis* soll drei bis vier Wochen vor der vermutlichen Infektion verabreicht werden, um eine gute Immunität aufzubauen (Walter et al. 2004).

Bei der Verwendung des Lebendimpfstoffes ist zu bedenken, dass zum Zeitpunkt der Vakzination (drei Tage vorher und nachher) eine Antibiotikagabe kontraindiziert ist, da die lebenden Lawsonien indirekt mitbehandelt werden und somit die Wirksamkeit der Impfung beeinträchtigt wird (Jacobs et al. 2019, Riber et al. 2015). Die Möglichkeit der Antibiotikagabe zum Zeitpunkt der Vakzination ist bei Applikation des inaktivierten Impfstoffes gegeben (Roerink et al. 2018). Bei geimpften Tieren waren die pathologischen und histologischen Veränderungen sowie die klinischen Symptome reduziert und die Tiere schieden weniger Bakterien aus (Roerink et al. 2018). Des Weiteren verbesserte sich die tägliche Gewichtszunahme vom Absetzen bis zur Schlachtung um 46g/d, die Mastdauer war acht Tage kürzer, das Gewicht der Schlachtkörper war um 1,25kg höher und der Verbrauch von Antibiotika bei vakzinierten Tieren war um 79% niedriger als bei nicht geimpften Tieren (Bak und Rathkjen 2009).

Zusätzlich zählt zur Prophylaxe ein gut ausgereiftes Hygienemanagement. Corzo et al. (2005) fanden heraus, dass die Herdenprävalenz bei kontinuierlicher Belegung bei 76% lag und bei

Herden mit Rein-Raus-Verfahren auf 19,5% gesenkt wurde. Außerdem gibt verschiedene Desinfektionsmittel, die unterschiedlich gut gegen *L. intracellularis* wirken (Wattanaphansak et al. 2010). Eines der wirksamsten Desinfektionsmittel ist Virkon® S, das die Anzahl von *L. intracellularis* reduziert und die Übertragung auf naive Schweine verhindert (Collins et al. 2013). Sehr gut in vitro abgeschnitten haben quaternäre Ammoniumverbindungen sowohl allein als auch in Kombination mit Glutaraldehyden bzw. Formaledehyden, und Desinfektionsmittel mit Oxidationswirkung. Phenole und auf Jodbasis basierende Desinfektionsmittel schnitten am schlechtesten ab (Wattanaphansak et al. 2010). Auch eine Reinigung vor der Desinfektion zeigt eine positive Wirkung auf die Prävalenz einer Herde (Resende et al. 2015). Des Weiteren sollte auf die Hygiene des Personals und der Geräte geachtet werden. Bei Kontakt mit unterschiedlichen Altersgruppen sollte auf Händedesinfektion geachtet werden. Auch eine Desinfektionswanne für Stiefel zwischen den Ställen bzw. Stallabteilungen ist sinnvoll, um die Übertragung zu minimieren. Es sollten für die verschiedenen Abteilungen eigene Geräte verwendet werden (Große Beilage und Wendt 2013). Außerdem ist an eine Schadnagerbekämpfung zu denken, da sie bei der Übertragung von *L. intracellularis* eine Rolle spielen können (Collins et al. 2011).

2.7 Seroprävalenzen

Weltweit wurden in den letzten Jahren Studien zur Seroprävalenz von *L. intracellularis* durchgeführt (Wu et al. 2014, Corzo et al. 2005, Arnold et al. 2019, Holyoake et al. 2010). In China wurden 445 Mastschweinen untersucht und eine Seroprävalenz von 81% mittels ELISA ermittelt (Wu et al. 2014). In der Studie von Lee et al. (2001) aus Korea wurden 220 Mastschweine mittels IFAT getestet und davon waren 59,4% der Mastschweine seropositiv. In Australien wurden mit einem ELISA 100% der Betriebe positiv auf Antikörper gegen *L. intracellularis* getestet und die Seroprävalenz innerhalb der Herde betrug 84,2% (Holyoake et al. 2010). Resende et al. (2015) aus Brasilien untersuchten 2999 Serumproben von Sauen, Saugferkeln, Absetzferkeln und Mastschweinen mittels IPMA. Bei Mastschweinen ermittelte man die höchste Seroprävalenz mit 74,28% und bei Saugferkeln die niedrigste Seroprävalenz mit 12,14% (Resende et al. 2015). Bei einer Studie aus Kanada wurden 613 Mastschweineseren

mittels IFAT untersucht. Die Prävalenz auf Einzeltierbasis lag bei 56% und die Herdenprävalenz bei 62,3% (Corzo et al. 2005). In Europa findet sich eine ähnliche Situation (Arnold et al. 2019). Bae et al. (2013) untersuchten 780 Mastschweine aus England mit einem ELISA auf Antikörper gegen *L. intracellularis* und kam zu dem Ergebnis, dass 93,3% der 24 Wochen alten Tiere positiv waren. Die Studie zeigte auch, dass die Seroprävalenz mit Zunahme des Alters kontinuierlich von 24,72% bei 11 Wochen alten Tieren auf 93,33% bei 24 Wochen alten Tieren anstieg (Bae et al. 2013). Diesen Zusammenhang sah man auch bei Wendt et al. (2006), wo in der 10. Lebenswoche 19,3%, in der 16. Lebenswoche 61% und in der 25. Lebenswoche 79,6% der untersuchten Tiere mit dem IFAT positiv auf Antikörper gegen *L. intracellularis* getestet wurden. Bei Mastschweinen über 50kg lag die Seroprävalenz bei 88,9% (Wendt et al. 2006).

Arnold et al. (2019) untersuchten Kot- und Blutproben mittels qPCR und IFAT von Mastschweinen aus Deutschland, Dänemark, Spanien, Frankreich, den Niederlanden und Großbritannien. Der Direktnachweis mittels qPCR zeigte eine 90,3%ige Herdenprävalenz und die Prävalenz innerhalb der Herde lag bei Mastschweinen bei 27,8%. Hingegen lag die Herdenseroprävalenz bei 91,7% und die Seroprävalenz innerhalb der Mastschweinpopulation 64,5%. Die Herdenprävalenz, ermittelt mit qPCR und ELISA, unterschieden sich nicht signifikant voneinander, die Prävalenz innerhalb der Herde schon. Die höchste Seroprävalenz innerhalb der Herde hatte Dänemark (80%), gefolgt von Frankreich (76,0%), den Niederlanden (62,8%), Deutschland und Großbritannien (58,0%) sowie Spanien (53%).

3 Material und Methode

Für diese Arbeit wurden retrospektiv 357 Serumproben mit dem Svanovir® *L. intracellularis*/Ileitis- Antibody (AB) (Boehringer Ingelheim Svanova, Uppsala, Schweden) auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen *L.intracellularis* untersucht, die auf der Universitätsklinik für Schweine der Veterinärmedizinischen Universität Wien bei -20°C asserviert wurden. Sie stammten aus 36 verschiedenen Betrieben aus Niederösterreich (n=17), Oberösterreich (n=8), der Steiermark (n=9) und dem Burgenland (n=2) und wurden im Rahmen eines Routinescreenings zur Überprüfung des porcinen reproduktiven und respiratorischen Syndrom Virus (PRRSV)-Status zwischen 2016 und 2018 von den Betreuungstierärzten entnommen. Alle Serumproben der vorliegenden Studie stammten ausschließlich von Tieren der Endmast, rund 5 Wochen vor der Schlachtung. Es liegen keine Informationen über die jeweiligen Betriebe und somit auch nicht über Klinik und den Impfstatus vor.

Die Proben, die bei -20°C an der Universitätsklinik für Schweine asserviert waren, wurden über Nacht im Kühlschrank aufgetaut. Zuerst wurden sie gevortext und eine Minute lang mit 8000 revolutions per minute (rpm) abzentrifugiert (Abb. 1).



Abbildung 1: Zentrifuge und Vortex

Anschließend wurden die Proben in Reagenzgläser umgefüllt und in den Reiter für den Dynex DS2[®] Roboter (Dynex Technologies, USA) gestellt (Abb. 2).



Abbildung 2: Reiter mit umgefüllten Proben

Der Dynex DS2[®] (Dynex Technologies, USA) wurde vor der Inbetriebnahme auf seine Funktionsfähigkeit überprüft. Nach dem Spülen wurde nach Anleitung der Dynex Software ((Dynex Technologies, USA) (Abb. 3) vorgegangen, welche zuvor aus der Svanovir[®] Anleitung (Dynex Technologies, USA) eingespeichert wurde. Dann wurde nach der Reihenfolge, die vom Roboter vorgegeben wurde, das Gerät bestückt.

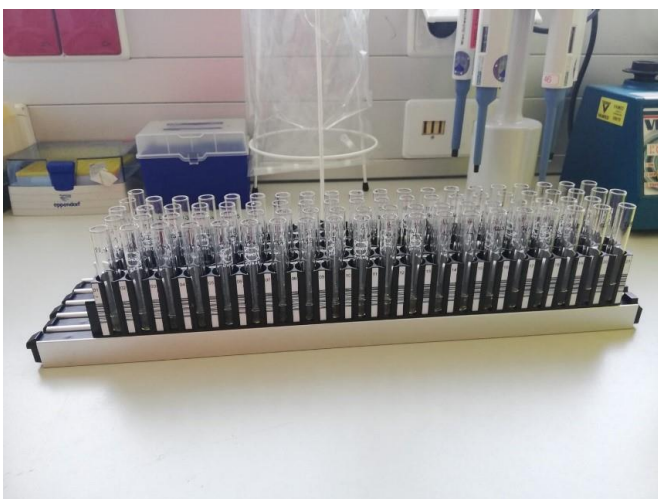


Abbildung 3: Dynex DS2[®]Roboter

3.1 Svanovir® *L. intracellularis*/ Ileitis- Antibody (AB) Testprinzip

Bei diesem Test handelt es sich um einen blocking ELISA, mit dem Antikörper gegen *L. intracellularis* nachgewiesen werden. In der 96- Well Platte befindet sich ein nicht infektiöses *L. intracellularis* Antigen. Wenn Antikörper gegen *L. intracellularis* im Serum vorhanden sind, kommt es zur Bindung an das Antigen. Wenn keine Antikörper im Serum enthalten sind, bleibt es frei. Im nächsten Schritt wird Horseradish peroxidase (HRP) hinzugegeben, welches an die freien *L. intracellularis* Antigene bindet. Material, welches nicht gebunden wird, wird durch das Waschen entfernt. Danach wird das Substrat hinzugegeben und die Farbe ändert sich zu blau. Die Reaktion wird mit der Zugabe der Stopp Lösung beendet. Hierbei handelt es sich um eine zwei molare Schwefelsäure, die zu einem Farbwechsel zu gelb führt (Abb. 4). Mittels eines Fotometers wird die optische Dichte (OD) bei 450nm gemessen. Bevor die Reagenzien laut Anleitung in den Roboter eingestellt werden können, muss ein Teil davon verdünnt werden. Der PBS Tween Buffer wird 1:20 mit destilliertem Wasser verdünnt. Das HRP Konjugat wird 1:100 verdünnt. Der Roboter wird nach der im Testkit beiliegenden Anleitung programmiert. Zuerst werden die Reagenzien auf Zimmertemperatur gebracht. 90µl des Sample Dilution Buffer wird in jedes Well gegeben, in die später Serumproben sowie die Positiv- und Negativkontrolle dazu pipettiert werden. Als nächstes werden 10µl der Positivkontrolle und 10µl der Negativkontrolle in ein Well hinzugegeben. Danach pipettiert man 10µl der Serumproben in die Wells. Dann wird die Platte geschüttelt und 60 Minuten lang bei 37°C inkubiert. Im nächsten Schritt wird die Platte 3-mal mit PBS Tween Buffer gewaschen. Jetzt werden 100µl des vorher verdünnten HRP Konjugates hinzugegeben und wieder 60 Minuten lang bei 37°C inkubiert. Nun wird die Platte wieder 3-mal mit PBS Tween Buffer gewaschen. Jetzt werden 100µl vom Substrat hinzugegeben und 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Die Zeitrechnung beginnt mit der Befüllung des ersten Wells. Die Reaktion wird mit je 50µl Stopp Lösung beendet. Die Reihenfolge ist wie bei dem Schritt darüber einzuhalten. Zum Schluss wird die optische Dichte bei 450nm gemessen. Die Messung soll innerhalb von 15 Minuten nach Zugabe der Stopp-Lösung erfolgen.

3.2 Auswertung

Es werden die OD Werte von allen Proben und den Kontrollen gemessen. Danach wird der prozentuale Inhibitionswert (PI) - Wert der Positivkontrolle und der Serumproben mit der folgenden Formel berechnet:

$$PI = [(OD_{\text{Negativkontrolle}} - OD_{\text{Serumprobe oder Positivkontrolle}}) / OD_{\text{Negativkontrolle}}] * 100$$

Um die Validität des Testes zu gewährleisten, müssen folgende Kriterien eingehalten werden. Der OD Wert der Negativkontrolle sollte $\geq 0,5$ und der PI der Positivkontrolle $\geq 40\%$ sein. Wenn ein Kriterium davon nicht erfüllt ist, ist die Validität des Tests nicht gegeben. Für die Interpretation gilt, dass Werte mit einem $PI < 30$ negativ und Werte ≥ 30 positiv sind. PI Werte zwischen 20 und 30 sollten als fraglich bezeichnet werden.

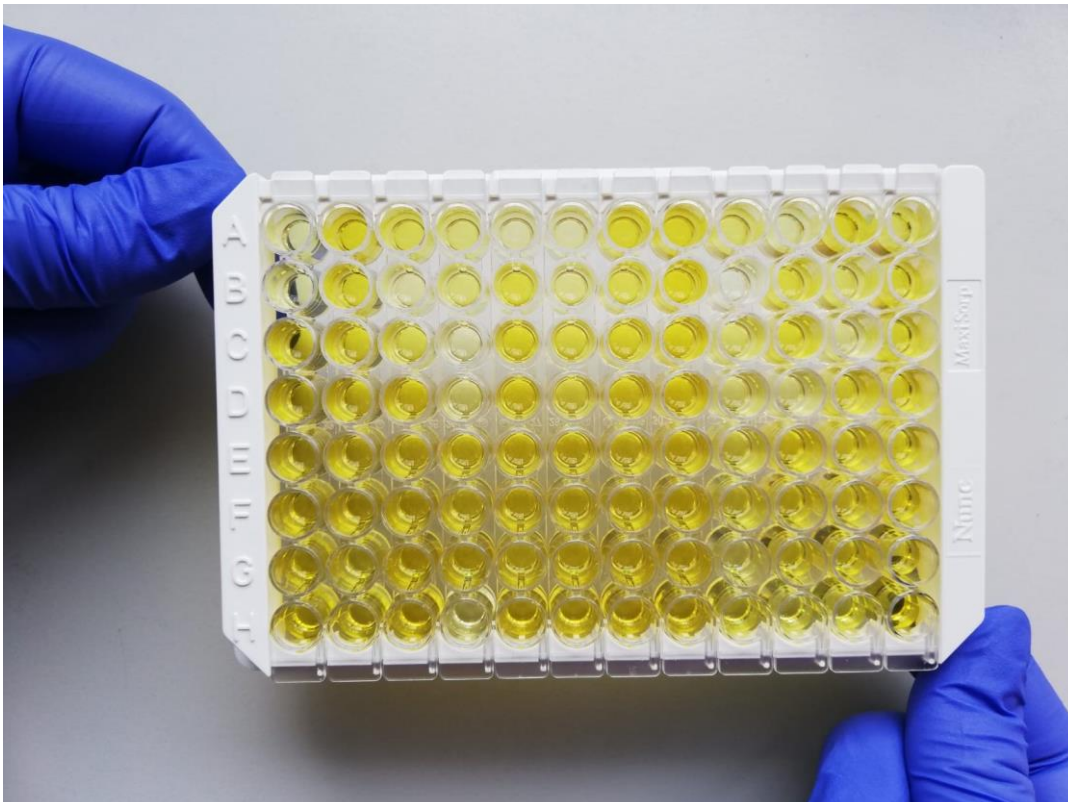


Abbildung 4: 96-Well Platte nach einem durchgeführten Test

3.3 Statistik

Die erhobenen Werte werden in eine Excel-Tabelle (2016, Microsoft, USA) eingetragen und mittels deskriptiver Statistik analysiert.

4 Ergebnisse

Für die Seroprävalenzerhebung wurden 357 Serumproben von Mastschweinen aus 36 Betrieben mittels ELISA auf Antikörper untersucht. Die Betriebe befanden sich in Niederösterreich (n=17), Oberösterreich (n=9), der Steiermark (n=8) und dem Burgenland (n=2). Die Ergebnisse wurden auf Tier- und Betriebsebene sowie nach Bundesländern ausgewertet.

4.1 Einzeltierebene

113 der 357 Mastserumproben waren negativ (32%), 211 positiv (59%) und 33 fraglich (9%) (Abb. 5).

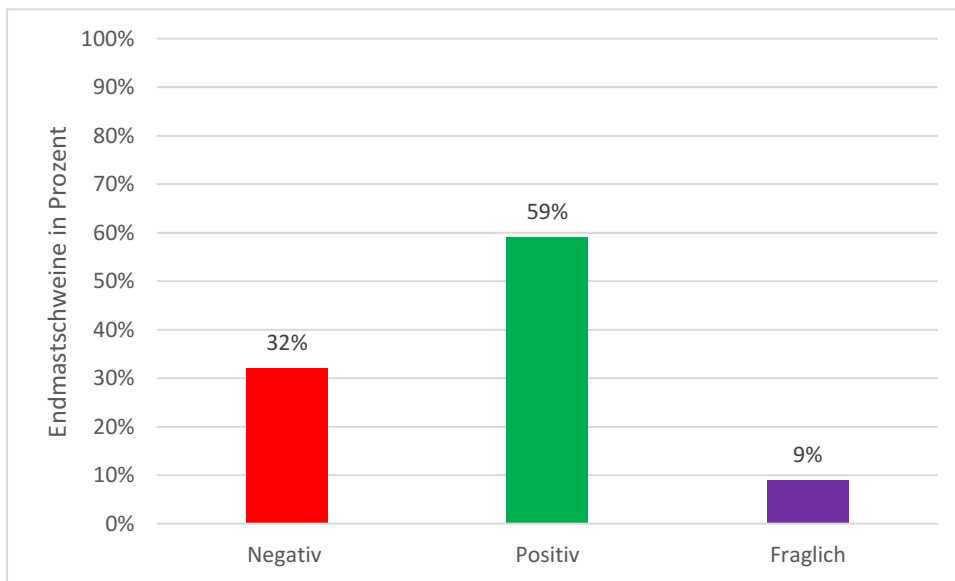


Abbildung 5: Anteil der im ELISA negativ, positiv und fraglich getesteten Mastschweine in Prozent

4.2 Betriebsebene

Die Betriebe wurden nach ihren Ergebnissen in die Kategorien positiv, negativ und fraglich eingeteilt. Ein Betrieb galt als positiv, wenn mindestens ein Tier positiv getestet wurde. Als

negativ galt ein Betrieb, wenn alle getesteten Tiere ein negatives Ergebnis hatten. Ein Betrieb galt als fraglich, wenn mindestens ein Tier als fraglich getestet wurde und es keine positiven Tiere gab. Es wurden 36 Betriebe beprobt und davon waren 31 positiv (86%), vier negativ (11%) und einer fraglich (3%) (Abb.6).

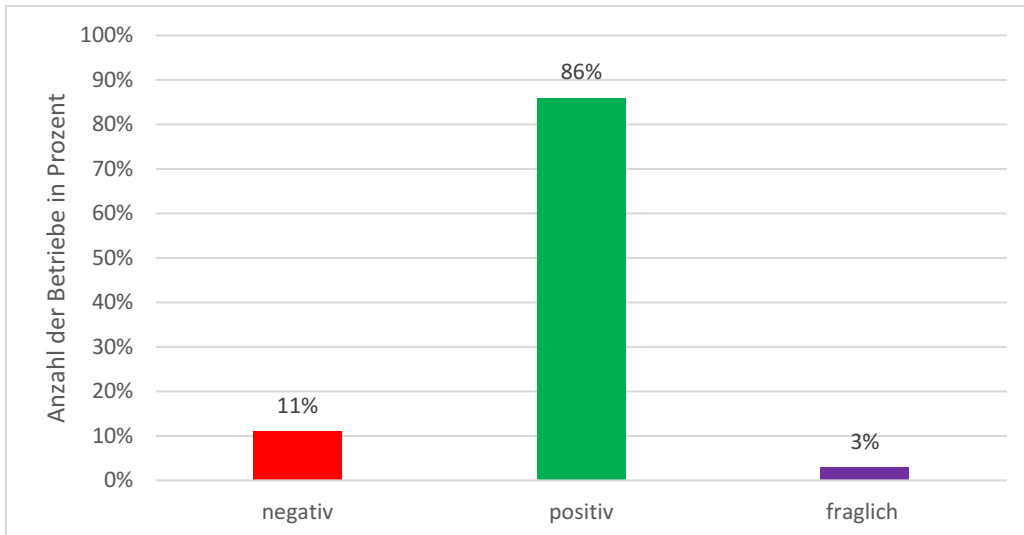


Abbildung 6: Anteil der serologisch negativen, positiven und fraglichen Schweinemastbetriebe in Prozent

4.3 Bundesländerebene

Es wurden 17 Betriebe aus Niederösterreich, neun Betriebe aus der Steiermark, acht Betriebe aus Oberösterreich und zwei aus dem Burgenland in die Studie einbezogen (Tab. 1).

Tab. 1: Übersicht über Verteilung der einbezogenen Betriebe auf die Bundesländer

Bundesländer	Anzahl der untersuchten Betriebe
Niederösterreich	17
Steiermark	9
Oberösterreich	8
Burgenland	2

Alle niederösterreichischen und burgenländischen Betriebe (100%), 78% der steirischen Betriebe und 63% der oberösterreichischen Betriebe waren seropositiv, während 11% der steirischen und 37% der oberösterreichischen Betriebe negativ waren. 11% der steirischen Betriebe waren als fraglich einzustufen, da bis auf ein fragliches Tier alle negativ waren.

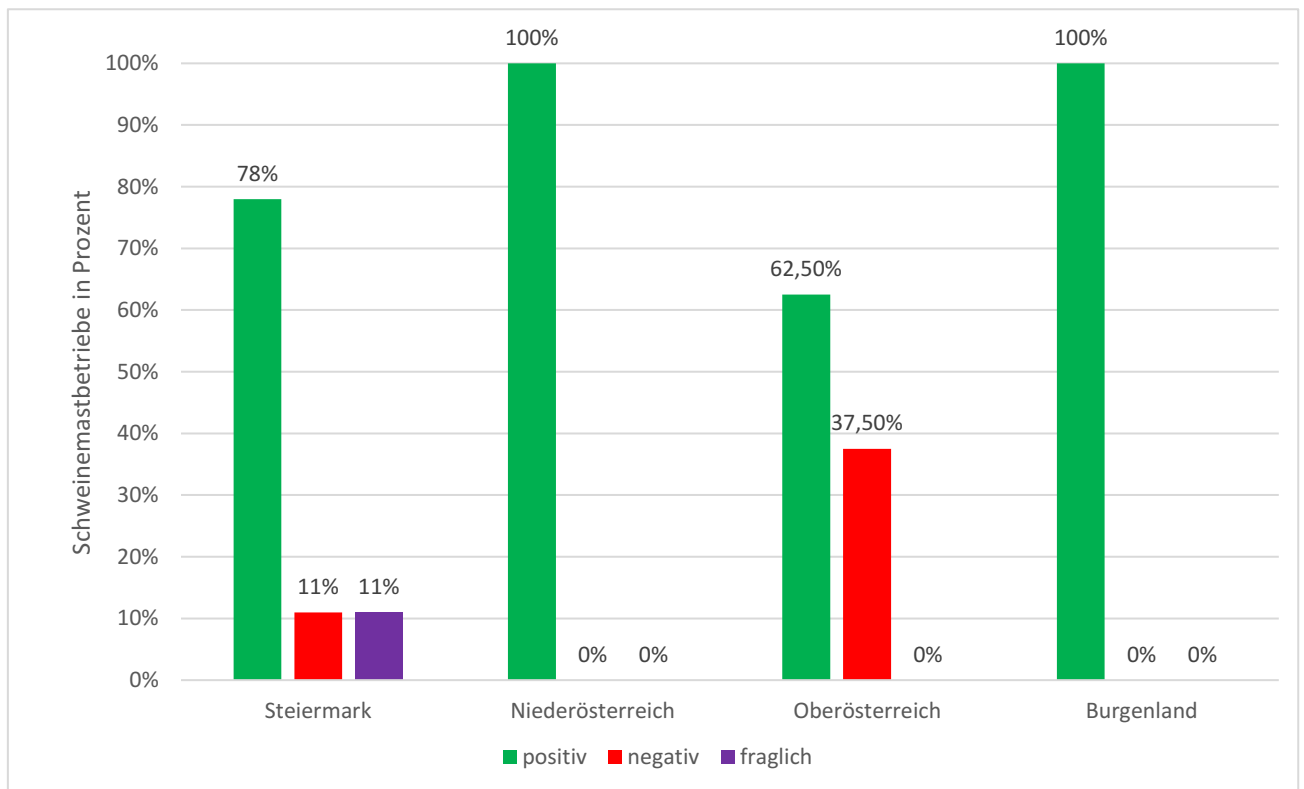


Abbildung 7: Anteil serologisch positiver, negativer und fraglicher Betriebe in vier Bundesländern

In Abb. 8 ist die Anzahl der positiven, negativen und fraglichen Tiere in den jeweiligen Bundesländern dargestellt. Die meisten positiven Tiere mit 76% wurden in Niederösterreich gefunden. In der Steiermark waren 53%, im Burgenland 45% und in Oberösterreich 31% positiv. Die meisten negativ getesteten Tiere waren in Oberösterreich mit 64%. Im Burgenland waren 40%, in der Steiermark 39% und in Niederösterreich 12% negativ. Die Anzahl der

fraglichen Tiere lag im Burgenland bei 15%, in Niederösterreich bei 12%, in der Steiermark bei 8% und in Oberösterreich bei 5%.

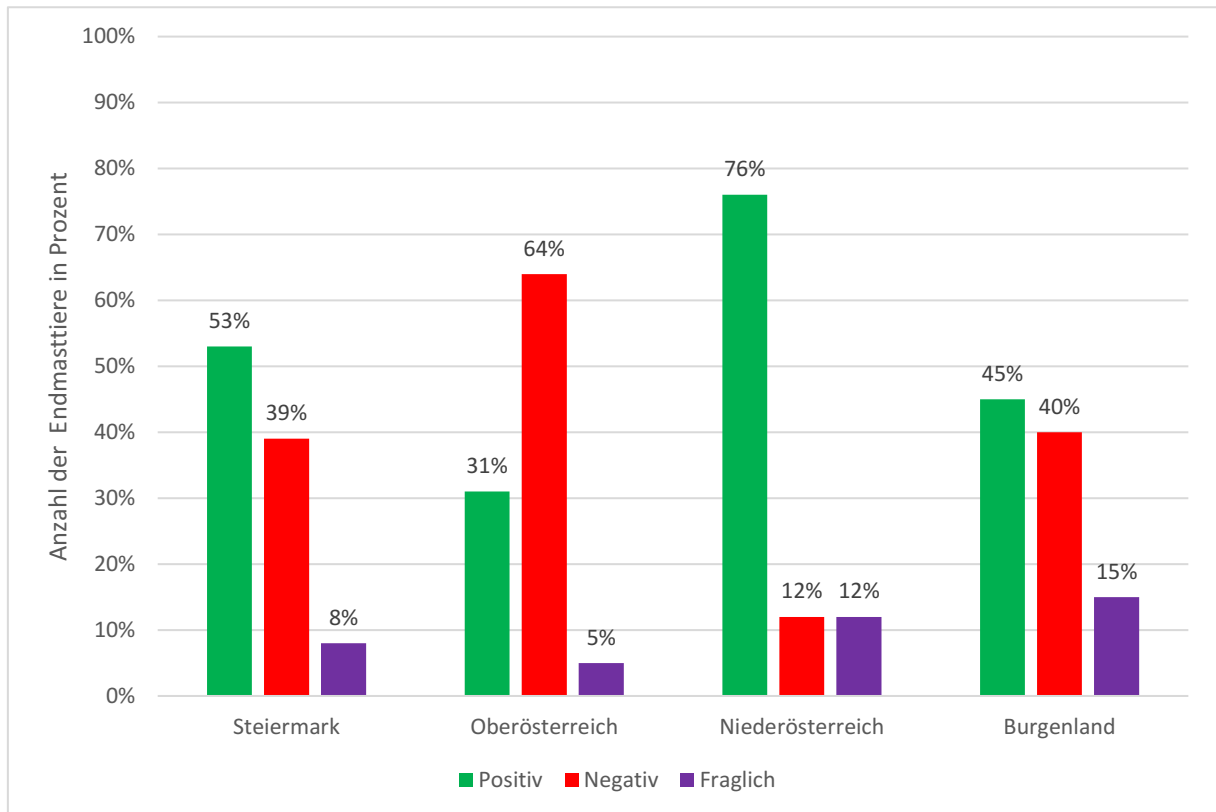


Abbildung 8: Anzahl der im ELISA positiv, negativ oder fraglich getesteten Endmasttiere in den vier in die Untersuchung einbezogenen Bundesländern

4.4 Seroprävalenz innerhalb der Herde

Es waren nicht nur alle niederösterreichischen Betriebe auf Herdenbasis positiv, es gab dort auch die meisten positiv getesteten Tiere innerhalb der Herden: Durchschnittlich 85% der Tiere in einer Herde sind positiv auf Antikörper gegen *L. intracellularis* getestet worden. In der Steiermark sind im Durchschnitt 58% und im Burgenland 54% der Tiere in einer Herde positiv. In Oberösterreich sind durchschnittlich 33% der Tiere in einer Herde positiv getestet worden (Abb. 9).

Tab. 2 zeigt die Verteilung an positiven Proben pro Betrieb. Bei acht Betrieben waren alle zehn untersuchten Proben positiv und bei sieben Betrieben waren acht Proben positiv. Fünf Betriebe hatten keine positive Probe und waren somit negativ.

Tabelle 2: Gegenüberstellung der Anzahl an positiven Proben pro Betrieb und Anzahl der Betriebe

Anzahl der positiven Proben pro Betrieb	Anzahl der Betriebe
0/10	5
1/10	2
2/10	1
3/10	2
4/10	2
5/10	4
6/10	1
7/10	2
8/10	7
9/10	2
10/10	8

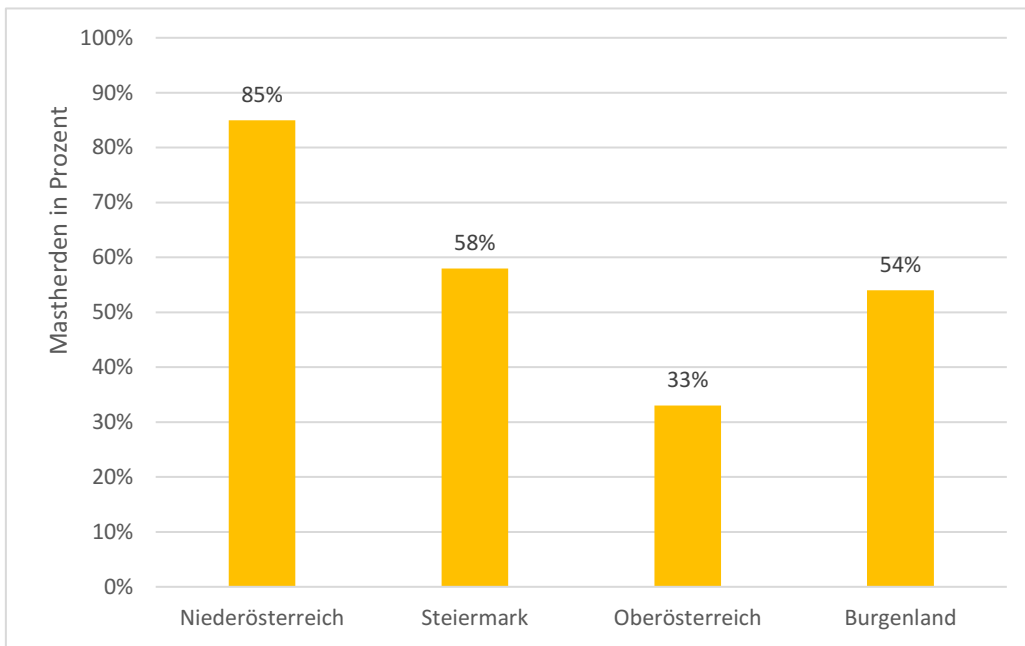


Abbildung 9: Herdenprävalenz in den verschiedenen Bundesländern

5 Diskussion

Das Ziel dieser Diplomarbeit war eine Seroprävalenzerhebung von *L. intracellularis* in Schweinemastbetrieben in den Bundesländern Niederösterreich, Oberösterreich, Steiermark und dem Burgenland. Die hierfür verwendeten Proben wurden im Rahmen eines PRRSV-Screenings entnommen und gemeinsam mit den Antikörpertestkits von der Firma Boehringer Ingelheim zur Verfügung gestellt. Aus diesem Grund war die Probenanzahl (n=357) vorgegeben und lag zwischen denen anderer Prävalenzstudien, wie z.B. 1817 Mastschweine in Australien (Holyoake et al. 2010), 613 Mastschweinen in Ontario (Corzo et al. 2005) und 138 Mastschweinen in Korea (Lee et al. 2001). Aufgrund der Studie von Untersperger (2001) wurde eine Seroprävalenz von über 50% angenommen und daraus wurde die Probenanzahl ermittelt. Es liegen keine Informationen über die Betriebe sowie vorkommende intestinale klinische Symptomatik vor und aus diesem Grund war die Probenauswahl unbeeinflusst. Über den Impfstatus liegt auch keine Information vor. Des Weiteren wurden nur Mastschweine am Ende der Mastperiode untersucht, um maternale Antikörper auszuschließen. Es wurden durchschnittlich zehn Proben aus den 36 Betrieben untersucht. Wendt et al. (2006) untersuchte durchschnittlich 10,9 Proben pro Betrieb und Pascu et al. (2015) 15 Proben pro Betrieb.

Die durchschnittliche (österreichische) Seroprävalenz der in dieser Arbeit untersuchten Proben lag bei 59%. Die höchste Seroprävalenz mit 76% gab es in Niederösterreich, gefolgt von der Steiermark (53%), dem Burgenland (45%) und Oberösterreich (31%). 32% der Serumproben waren negativ, 64% davon aus Oberösterreich. Der Grund dafür ist nicht klar. In der Literatur schwanken die Seroprävalenzen, welche mit einem IFAT oder ELISA erhoben wurden, bei Mastschweinen von 56%- 93,33% (Bae et al. 2013, Corzo et al. 2005). Die Seroprävalenz aus der Steiermark (53%) ist der aus Kanada (56%) ähnlich (Corzo et al. 2005). Die Zahlen aus dem Burgenland (45%) und Oberösterreich (31%) sind niedriger als der Durchschnitt mit 56%- 93,33% (Bae et al. 2013, Corzo et al. 2005). Die Werte aus Niederösterreich (76%) sind ähnlich wie die aus Brasilien mit 74,28% (Resende et al. 2015). Mehrere Autoren fanden bei Schweinen in der Endmast höhere Seroprävalenzen als bei jüngeren Tieren (Bae et al. 2013, Wendt et al. 2006). Bae et al. (2013) fand mit dem ELISA bei 24,72% der elf Wochen alten Tieren und bei 93,33% der 24 Wochen alten Tieren Antikörper gegen *L. intracellularis*. Ähnliche Ergebnisse erzielte die Studie von Wendt et al. (2006) mit dem IFAT, wo 19,3% der zehn Wochen und

79,6% der 25 Wochen alten Schweine positiv getestet wurden. Bei Lebret et al. (2013) zeigten der ELISA und der IFAT eine Übereinstimmung der Ergebnisse von 96%.

In 86% der Betriebe konnten Antikörper gegen *L. intracellularis* detektiert werden. In den Bundesländern Niederösterreich und dem Burgenland waren jeweils 100% der untersuchten Betriebe positiv. Ähnliche Ergebnisse wurden z.B. auch in Australien nachgewiesen, wo 100% der Betrieb mit dem ELISA positiv auf Antikörper gegen *L. intracellularis* getestet wurden (Holyoake et al. 2010). Aufgrund der Anzahl der Betriebe je Bundesland ist ein Vergleich mit allen Bundesländern nicht möglich, da in Niederösterreich 17 und im Burgenland nur zwei Betriebe untersucht wurden. In der Steiermark (n=9) und in Oberösterreich (n=8) war die Anzahl der untersuchten Betriebe ähnlich. 78% von neun untersuchten Betrieben in der Steiermark waren positiv. In Oberösterreich waren 62,5% der acht Betriebe positiv. Insgesamt waren 11% der Betriebe seronegativ, die meisten in Oberösterreich (37,5%). Eine Erklärung hierfür ist aufgrund der fehlenden Informationen über die Betriebe nicht möglich. Es gab einen Betrieb aus der Steiermark, der als fraglich eingestuft wurde, da bis auf ein Schwein mit einem PI- Wert von 23,943 alle negativ getestet wurden. Bei PI-Werten unter 30, geht man davon aus, dass die Tiere gerade eine Serokonversion durchmachen (Lebret et al. 2013).

Bei der Seroprävalenz innerhalb der Herde schwankten die Ergebnisse der mittels ELISA untersuchten Proben von 64,5% bis 84,2% (Arnold et al. 2019, Holyoake et al. 2010). In Niederösterreich lag die Seroprävalenz innerhalb der Herde bei 85% und in der Steiermark bei 58%. Diese Werte sind vergleichbar mit Studien Australien (84,2%) und Europa (64,5%) (Arnold et al. 2019, Holyoake et al. 2010). Die Werte aus dem Burgenland (54%) und Oberösterreich (33%) lagen darunter.

Informationen über Biosecurity und Management, wie Rein Raus-Verfahren oder Reinigung und Desinfektion nach dem Ausställen sowie Schädnerbekämpfung liegen ebenso wenig vor wie Informationen zum Einsatz von Vakzinen. Da jedoch sämtlichen Proben aus den Jahren 2016-2018 stammen und zu diesem Zeitpunkt nur der Einsatz von einem oralen Lebendimpfstoff möglich war, kann davon ausgegangen werden, dass die ermittelten Antikörper durch Kontakt mit einem Feldisolat entstanden sind, auch wenn eine Impfung im (Saug-)Ferkelalter durchgeführt wurde. Die Impfung mittels oraler Lebendimpfung führt im Normalfall nicht zu Serokonversion.

Die erste Hypothese, wenn weltweit Seroprävalenzen zwischen 50% und 90% nachgewiesen werden, dann kann man mit ähnlichen Werten in Österreich rechnen, konnte anhand dieser Studie belegt werden, auch wenn die Seroprävalenz von 59% im unteren Bereich liegt. Auch konnte gezeigt werden, dass es in den letzten 15 Jahren in Österreich zu einem Anstieg der Seroprävalenz von 51,4% auf 59% gekommen ist. Lawsonieninfektionen sind somit weiterhin präsent in österreichischen Schweineherden.

6 Zusammenfassung

L. intracellularis ist ein gramnegatives, obligat intrazelluläres Bakterium. Es kommt weltweit in der Schweinehaltung vor und gilt als Auslöser der PPE. Die Erkrankung führt zu verminderten Gewichtszunahmen und Leistungsminderung, die sich in großen wirtschaftlichen Verlusten zeigen. Es werden drei Formen der Krankheit unterschieden, die akute, subklinische und chronische Form. Die Symptome der drei Formen reichen von Leistungsminderung und wässrigen Durchfall über blutigen Durchfall bis hin zu perakuten Verenden. Weltweit wurden Seroprävalenzen mit diagnostischen Tests, wie z.B. ELISA oder IFAT erhoben. Die Seroprävalenzen bei Mastschweinen lagen in Europa bei 64,4%, in Korea bei 59,4% und in China bei 81%. Anfang der 2000er Jahre lag die Seroprävalenz in Österreich bei 51,4%.

Ziel der Arbeit war eine Erhebung über die aktuelle Seroprävalenz in Österreich. Hierfür wurden 357 Serumproben von Mastschweinen aus den Jahren 2016 bis 2018 mit einem ELISA auf das Vorhandensein von Antikörper gegen *L. intracellularis* untersucht. Die Proben stammen von niederösterreichischen, oberösterreichischen, steirischen und burgenländischen Betrieben. In 59% der Serumproben wurden Antikörper gegen *L. intracellularis* nachgewiesen. In Niederösterreich war die Seroprävalenz mit 76% am höchsten. In der Steiermark waren 53%, im Burgenland 45% und in Oberösterreich 31% der Proben positiv. 86% der untersuchten Betriebe hatten mindestens eine positive Probe. In Niederösterreich (n=17) und im Burgenland (n=2) waren alle untersuchten Betriebe positiv. In der Steiermark (n=9) waren 78% und in Oberösterreich (n=8) waren 62,5% positiv. Ein Betrieb aus der Steiermark wurde als fraglich eingestuft, da bis auf eine fragliche Probe alle negativ waren. Die Seroprävalenz innerhalb der Herde lag in Niederösterreich bei 85%, in der Steiermark bei 58%, im Burgenland bei 54% und in Oberösterreich bei 33%. Diese Arbeit zeigt, dass *L. intracellularis* in Österreich nachweisbar ist und die Seroprävalenz in den letzten 15 Jahren gestiegen ist.

7 Summary

L. intracellularis is a gram-negative, obligate intracellular bacterium. It can be found in pig herds all over the world. This bacterium is the causative agent for Porcine Proliferative Enteropathy (PPE). The disease leads to decreased weight gain and performance, which finds expression in enormous economic losses. There are three different forms of the disease: acute, subclinical and chronic form. The clinical signs range from decreased performance and watery diarrhoea to bloody diarrhoea and peracute death. Worldwide, seroprevalences have been determined using diagnostic tests such as ELISA or IFAT. A seroprevalence of 64,4% was found in fattening pigs in Europe, 59,4% in Korea and 81% in China.

The aim of this study was to provide an overview of the current situation in Austria. For this purpose, 357 serum samples from fattening pigs from 2016 to 2018 were examined with an ELISA determining the presence of antibodies against *L. intracellularis*. The samples originated from farms in Lower Austria, Upper Austria, Styria and Burgenland. Antibodies against *L. intracellularis* were detected in 59% of the serum samples. The highest seroprevalence of 76% was found in Lower Austria. In Styria 53% of the samples were positive. Similar values were detected in Burgenland (45%). The lowest seroprevalence was found in Upper Austria with 31%. 86% of the examined farms had at least one positive sample. In Lower Austria (n=17) and Burgenland (n=2) all of the farms were positive. Contrary to this, 78% of the farms in Styria (n=9) and 62,5% in Upper Austria (n=8) were positive. One farm in Styria was classified as questionable because all but one questionable sample were negative. The seroprevalence within the herd was 85% in Lower Austria, 58% in Styria, 54% in Burgenland and 33% in Upper Austria. This work shows that *L. intracellularis* occurs in Austria and that the seroprevalence increased during the last 15 years.

8 Abkürzungsverzeichnis

AB	Antibody
d	Tag
DLI®	Diluted <i>Lawsonia intracellularis</i>
ELISA	Enzym-linked Immunosorbent Assay
HRP	horseradish peroxidase
IFAT	Immun-Fluoreszenz-Antikörper-Test
IHC	Immunhistochemie
IPMA	Immunoperoxidase- Monolayer Assay
<i>IS intracellularis</i>	<i>Ileal Symbiont intracellularis</i>
<i>L. intracellularis</i>	<i>Lawsonia intracellularis</i>
<i>M. hyopneumoniae</i>	<i>Mycoplasma hyopneumoniae</i>
OD	optische Dichte
PBS-Puffer	Phosphate buffered saline
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PCV 2	porzines Circovirus 2
PI	percentage inhibition, Hemmung in Prozent
PIA	porzine intestinale Adenomatose
PHE	proliferative hämorrhagische Enteropathie
PPE	porzine proliferative Enteropathie
ppm	parts per million
PRRSV	porzines reproduktives und respiratorisches Syndrom Virus

qPCR	quantitative Polymerase-Kettenreaktion
rpm	revolutions per minute
Tab.	Tabelle

9 Literaturverzeichnis

- Arnold M, Crienen A, Swam H, Berg S von, Jolie R, Nathues H. 2019. Prevalence of *Lawsonia intracellularis* in pig herds in different European countries. *Porcine health management*, 5: 31-41.
- Bae JK, Wieland B, Sait M, Longbottom D, Smith DGE, Alarcon P, Wheelhouse N. 2013. Risk factors associated with *Lawsonia intracellularis* in English pig farms. *The Veterinary Journal*, 197 (3): 707–711.
- Bak H, Rathkjen PH. 2009. Reduced use of antimicrobials after vaccination of pigs against porcine proliferative enteropathy in a Danish SPF herd. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 51 (1).
- Barna P, Bilkei G. 2003. Effect of gilt seropositivity to *Lawsonia intracellularis* (LI) on their offspring's seropositivity to LI and on diarrhoea after a pure-culture challenge. *Preventive Veterinary Medicine*, 61 (1): 71–78.
- Brandt D. 2008. Untersuchungen zum subklinischen Verlauf einer *Lawsonia intracellularis* Infektion bei Schweinen [Dissertation]. Hannover: Tierärztliche Hochschule Hannover.
- Brandt D, Kaim U, Baumgärtner W, Wendt M. 2010. Evaluation of *Lawsonia intracellularis* infection in a group of pigs in a subclinically affected herd from weaning to slaughter. *Veterinary Microbiology*, 146 (3-4): 361–365.
- Collins A, Gonsalves J, Fell S, Barchia I. 2012. Comparison of a commercial ELISA with an indirect fluorescent antibody test to detect antibodies to *Lawsonia intracellularis* in experimentally challenged pigs. *Australian Veterinary Journal*, 90 (3): 97–99.
- Collins AM, Fell S, Pearson H, Toribio J-A. 2011. Colonisation and shedding of *Lawsonia intracellularis* in experimentally inoculated rodents and in wild rodents on pig farms. *Veterinary Microbiology*, 150 (3-4): 384–388.
- Collins AM, Love RJ. 2007. Re-challenge of pigs following recovery from proliferative enteropathy. *Veterinary Microbiology*, 120 (3-4): 381–386.

- Collins AM, Fell SA, Barchia IM. 2013. Cleaning and disinfection with Virkon S significantly reduces *Lawsonia intracellularis* survival and transmission to naive pigs. *Journal of Swine Health und Production*, 21 (3): 144–147.
- Collins AM, Barchia IM. 2014. The critical threshold of *Lawsonia intracellularis* in pig faeces that causes reduced average daily weight gains in experimentally challenged pigs. *Veterinary Microbiology*, 168 (2-4): 455–458.
- Corzo CA, Friendship RM, Dewey CE, Blackwell T. 2005. Seroprevalence of *Lawsonia intracellularis* in Ontario swine herds. *Journal of Swine Health und Production*, 13 (6): 314–317.
- Große Beilage E, Wendt M. 2013. Diagnostik und Gesundheitsmanagement im Schweinebestand. Band 1. Stuttgart: UTB GmbH: Stuttgart: Ulmer-
- Guedes RMC, Gebhart CJ. 2003. Onset and duration of fecal shedding, cell- mediated and humoral immune response in pigs after challenge with a pathogenic isolate or attenuated vaccine strain of *Lawsonia intracellularis*. *Veterinary Microbiology*, 91 (2-3): 135–145.
- Guedes RMC, Gebhart CJ, Armbruster GA, Roggow BD. 2002a. Serologic follow-up of a repopulated swine herd after an outbreak of proliferative hemorrhagic enteropathy. *The Canadian Journal of Veterinary Research*, 66 (4): 258–263.
- Guedes RMC, Gebhart CJ, Winkelman NL, Mackie- Nuss RAC, Marsteller TA, John D. 2001. Comparison of different methodes for diagnosis of porcine proliferative enteropathy. *The Canadian Journal of Veterinary Research*, 66 (2): 99-107.
- Guedes RMC, Gebhart CJ, Winkelman NL, Mackie-Nuss RA. 2002b. A Comparative Study of an Indirect Fluorescent Antibody Test and an Immunoperoxidase Monolayer Assay for the Diagnosis of Porcine Proliferative Enteropathy. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 14 (5): 420–423.
- Holtkamp D. 2019. Economic losses associated with ileitis. MSD Animal Health. <https://www.lawsonia.net/wp-content/uploads/2019/10/Economic-Impact.pdf>
- Holyoake PK, Emery D, Gonsalves J, Donahoo M, Collins A. 2010. Prevalence of antibodies to *Lawsonia intracellularis* in pig herds in Australia. *Australian Veterinary Journal*, 88 (5): 186–188.

- Jacobs AAC, Harks F, Hazenberg L, Hoeijmakers MJH, Nell T, Pel S, Segers RPAM. 2019. Efficacy of a novel inactivated *Lawsonia intracellularis* vaccine in pigs against experimental infection and under field conditions. *Vaccine*, 37 (15): 2149–2157.
- Jacobson M, Wallgren P, Nordengrahn A, Merza M, Emanuelson U. 2011. Evaluation of a blocking ELISA for the detection of antibodies against *Lawsonia intracellularis* in pig sera. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 53 (1): 23.
- Jensen TK, Vigre H, Sørensen V, Møller K. 2005. Naturally acquired *Lawsonia intracellularis* infection in pigs studied from weaning to slaughter by indirect immunofluorescence antibody test and polymerase chain reaction on faeces. *Research in Veterinary Science*, 79 (2): 93–98.
- Lawson GH, Gebhart CJ. 2000. Proliferative enteropathy. *Journal of Comparative Pathology*, 122 (2-3): 77–100.
- Lebret A, Auvigne V, Morel Saives A. 2013. Longitudinal evaluation of three commercial diagnostic assays for *Lawsonia intracellularis* infection in pigs. *Veterinary record*, 172 (13): 341.
- Lee SW, Kim TJ, Park SY, Song CS, Chang HK, Yeh JK, Park HI, Kee JB. 2001. Prevalence of Porcine Proliferative Enteropathy and its Control with Tylosin in Korea. *Journal of Veterinary Science*, 2 (3): 209–212.
- Magtoto RL, Vegi A, Wang C, Johnson JK, Ramamoorthy S. 2014. Evaluation and use of a serological assay for the detection of antibodies to *Lawsonia intracellularis* in swine. *International Journal of Veterinary Science and Medicine*, 2 (2): 109–113.
- Mauch C-P, Bilkei G. 2005. Reproductive performance of gilts following an outbreak of acute proliferative enteropathy due to *Lawsonia intracellularis*. *Veterinary Journal*, 170 (1): 128–131.
- McOrist S, Smith SH, Green LE. 1997. Estimate of direct financial losses due to porcine proliferative enteropathy. *The Veterinary record*, 140 (22): 579–581.
- McOrist S, Gebhart CJ, Boid R, Barns SM. 1995a. Characterization of *Lawsonia intracellularis* gen. nov., sp. nov., the obligately intracellular bacterium of porcine proliferative enteropathy. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 45 (4): 820–825.

- McOrist S, Shearn MF, Morgan J. 1999. Control of porcine proliferative enteropathy by oral administration of chlortetracycline. *The Veterinary record*, 144 (2): 48–49.
- McOrist S. 2005. Defining the full costs of endemic porcine proliferative enteropathy. *The Veterinary Journal*, 170 (1): 8–9.
- McOrist S, Jasni S, Mackie RA, MacIntyre N, Neef N, Lawson GHK. 1993. Reproduction of Porcine Proliferative Enteropathy with Pure Cultures of *Ileal Symbiont Intracellularis*. *Infection and Immunity*, 61 (10): 4286–4292.
- McOrist S, Mackie RA, Lawson GHK. 1995b. Antimicrobial Susceptibility of *Ileal Symbiont Intracellularis* Isolated from Pigs with Proliferative Enteropathy. *Journal of Clinical Microbiology*, 33 (5): 1314–1317.
- Otoni LVA, Gabardo MP, Macêdo NR, Wagatsuma MM, Pereira MM, Guedes RMC. 2019. Tylosin injectable for the treatment of porcine proliferative enteropathy in experimentally inoculated pigs. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 39 (3): 168–174.
- Paradis M-A, Gottschalk M, Rajic A, Ravel A, Wilson JB, Aramini J, McClure CA, Dick CP. 2007. Seroprevalence of *Lawsonia intracellularis* in different swine populations in 3 provinces in Canada. *The Canadian Veterinary Journal*, 48 (1): 57–62.
- Pascu C, Costinar L, Mernea I, Tătar D, Herman V. 2015. Prevalence of *Lawsonia intracellularis* Infections in Pig Herds from the Western Romania. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 6 (2015): 378–381.
- Pedersen KS, Stahl M, Guerdes RMC, Angen O, Nielsen JP, Jensen TK. 2012. Association between faecal load of *Lawsonia intracellularis* and pathological findings of proliferative enteropathy in pigs with diarrhoea. *BMC Veterinary Research*, 8: 198 – 204.
- Reiner G. 2015. *Krankes Schwein-kranker Bestand*. Erste Aufl. Stuttgart: UTB GmbH Stuttgart: Ulmer, 150-152.
- Resende TP, Pereira CER, Gabardo MdP, Haddad JPA, Lobato ZIP, Guedes RMC. 2015. Serological profile, seroprevalence and risk factors related to *Lawsonia intracellularis* infection in swine herds from Minas Gerais State, Brazil. *BMC Veterinary Research*, 11: 306-311.

- Riber U, Cordes H, Heegaard PMH, Jensen TK, Jungersen G, Ståhl M. 2015. Vaccination of pigs with attenuated *Lawsonia intracellularis* induced acute phase protein responses and primed cell-mediated immunity without reduction in bacterial shedding after challenge. *Vaccine*, 33 (1): 156–162.
- Roerink F, Morgan CL, Knetter SM, Passat M-H, Archibald AL, Ait-Ali T, Strait EL. 2018. A novel inactivated vaccine against *Lawsonia intracellularis* induces rapid induction of humoral immunity, reduction of bacterial shedding and provides robust gut barrier function. *Vaccine*, 36 (11): 1500–1508.
- Stege H, Jensen TK, Møller K, Vestergaard K, Baekbo P, Jorsal SE. 2004. Infection dynamics of *Lawsonia intracellularis* in pig herds. *Veterinary Microbiology*, 104 (3-4): 197–206.
- Untersperger M. 2001. Untersuchungen über das Vorkommen von *Lawsonia intracellularis* in oberösterreichischen Schweinebetrieben [Dissertation]. Wien: Vet. Med. Univ.
- Walter D, Gebhart C, Kroll J, Holck JT, Chittick W. 2004. Serologic profiling and vaccination timing for *Lawsonia intracellularis*. *Journal of Swine Health und Production*, 12 (6): 310–313.
- Wattanaphansak S, Pereira CER, Kaenson W, Assavacheep P, Tantilertcharoen R, Resende TP, Barrera-Zarate JA, Oliveira-Lee JSV de, Klein U, Gebhart CJ, Guedes RMC. 2019. Isolation and in vitro antimicrobial susceptibility of porcine *Lawsonia intracellularis* from Brazil and Thailand. *BMC Microbiology*, 19 (1): 27.
- Wattanaphansak S, Singer RS, Gebhart CJ. 2010. Evaluation of in vitro bactericidal activity of commercial disinfectants against *Lawsonia intracellularis*. *Journal of Swine Health und Production*, 18 (1): 11–17.
- Wendt M, Schulze JR, Verspohl J. 2006. Epidemiologische Untersuchungen zum Vorkommen von *Lawsonia-intracellularis* -Infektionen in Schweinebeständen. *Tierärztliche Praxis*, 34 (G): 230–239.
- Wu Z, Ling Y, Tian D, Pan Q, Heegaard PMH, He C. 2014. Seroprevalence of *Lawsonia intracellularis* antibodies in intensive pig farms in China. *BMC Veterinary Research*, 10 100 - 104.

Yeh J-Y, Lee J-H, Yeh H-R, Kim A, Lee JY, Hwang J-M, Kang B-K, Kim J-M, Choi I-S, Lee J-B. 2011. Antimicrobial susceptibility testing of two *Lawsonia intracellularis* isolates associated with proliferative hemorrhagic enteropathy and porcine intestinal adenomatosis in South Korea. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 55 (9): 4451–4453.

Zimmermann JJ, Karriker LA, Ramirez A, Schwartz KJ, Stevenson GW, Zhang J. 2019. *Disease of Swine*. Elfte Aufl. Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell.

Arzneispezialitätenregister

https://aspreregister.basg.gv.at/aspreregister/faces/aspreregister.jspx?_afLoop=1108356666267341&_afWindowMode=0&_adf.ctrl-state=1xet7ndty_4 (Zugriff 20.04.2020)

10 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1. Zentrifuge und Vortex

Abb. 2. Reiter mit umgefüllten Proben

Abb. 3. Dynex DS2® Roboter

Abb. 4. 96-Well Platte nach einem durchgeführten Test

Abb. 5. Anteil der im ELISA negativ, positiv und fraglich getesteten Mastschweine in Prozent

Abb. 6. Anteil der serologisch negativen, positiven und fraglichen Schweinemastbetriebe in Prozent

Abb. 7. Anteil serologisch positiver, negativer und fraglicher Betriebe in den vier Bundesländern

Abb. 8. Anzahl der im ELISA positiv, negativ oder fraglich getesteten Endmasttiere in den vier in die Untersuchung einbezogenen Bundesländern

Abb. 9. Herdenprävalenz in den verschiedenen Bundesländern

11 Tabellenverzeichnis

Tab. 1. Übersicht über Verteilung der einbezogenen Betriebe auf die Bundesländer

Tab 2. Gegenüberstellung der Anzahl der positiven Proben pro Betrieb und der Anzahl der Betriebe