

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Retrospektive Untersuchung zum Vorkommen unterschiedlicher
Serotypen von *Haemophilus parasuis*
bei Hausschweinen in Deutschland

von Andreas Frank
aus Berlin

München 2015

Aus dem Zentrum für Klinische Tiermedizin
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Lehrstuhl für Krankheiten des Schweines

Arbeit angefertigt unter Leitung von: Univ.-Prof. Dr. Mathias Ritzmann

Mitbetreuung durch: Dr. Matthias Eddicks

**Gedruckt mit der Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München**

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Joachim Braun

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Mathias Ritzmann

Korreferent: Prof. Dr. Armin M. Scholz

Tag der Promotion: 18.07.2015

Für meine Familie

INHALTSVERZEICHNIS

I.	EINLEITUNG	1
II.	LITERATURÜBERSICHT	3
1.	Ätiologie der Glässer'schen Krankheit	3
1.1.	Morphologie von <i>Haemophilus parasuis</i>	3
1.2.	Virulenzfaktoren bei <i>Haemophilus parasuis</i>	4
1.3.	Typisierung von <i>Haemophilus parasuis</i>	5
1.3.1.	Methoden der Serotypisierung	5
1.3.2.	Molekularbiologische Methoden der Typisierung	7
1.4.	Resistenzsituation bei <i>Haemophilus parasuis</i>	9
2.	Epidemiologie der Glässer'schen Krankheit	10
3.	Pathogenese der Glässer'schen Krankheit	12
4.	Klinik der Glässer'schen Krankheit	14
5.	Pathomorphologische Befunde	16
5.1.	Beobachtungen in Infektionsstudien	17
5.2.	Beobachtungen in Feldstudien	18
6.	Diagnostik	19
6.1.	Indirekter Erregernachweis	19
6.2.	Direkter Erregernachweis	19
6.2.1.	Immunhistochemie	19
6.2.2.	In-Situ-Hybridisierung	20
6.2.3.	Polymerase-Chain-Reaction	20
6.2.4.	Anzucht	20
6.2.5.	Beprobung	21
6.3.	Differentialdiagnostik	22
7.	Therapie und Prophylaxe	23
7.1.	Therapie	23
7.2.	Prophylaxe	23
III.	MATERIAL UND METHODEN	25
1.	Ziel der Studie	25

2.	Ausgewertete Fälle	25
3.	Sektion	27
4.	Bakteriologie.....	27
5.	PCR.....	28
6.	Serotypisierung	28
7.	Statistik	30
IV.	ERGEBNISSE.....	31
1.	Ergebnisse aller betrachteten Fälle	31
1.1.	Zusammensetzung des Tiermaterials.....	31
1.2.	Auswertung der Sektionsbefunde	33
1.3.	Ergebnisse der Auswertung der Beprobungsorte.....	36
2.	Ergebnisse der Serotypisierung	37
2.1.	Ergebnisse bei Monoinfektion	40
2.2.	Zusammensetzung des Tiermaterials.....	41
2.3.	Pathomorphologische Befunde	43
2.4.	Ergebnisse zu Vorkommen und Verteilung einer Serositis	47
2.5.	Ergebnisse bei der Betrachtung der Beprobungsorte.....	49
V.	DISKUSSION.....	51
VI.	ZUSAMMENFASSUNG	61
VII.	SUMMARY	63
VIII.	LITERATURVERZEICHNIS.....	65
IX.	DANKSAGUNG.....	80
X.	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	81
XI.	TABELLENVERZEICHNIS.....	83

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

AGPT	Agargelpräzipitationstest
At.	Arthritis
°C	Grad Celsius
EBa.	Erguss Bauchhöhle
EBr.	Erguss Brusthöhle
ERIC	Enterobacterial-Repetitiv-Intergenic-Consensus
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
EPk.	Erguss Perikard
<i>H. parasuis</i>	<i>Haemophilus parasuis</i>
IHA-Test	indirekter Hämagglutinationstest
ISH	In-situ-Hybridisierung
kg	Kilogramm
MALDI-TOF MS	Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry
n	Anzahl
NAD	Nicotinamidadenindinukleotid
n.t.	nicht typisierbar
PBS	Phosphate-buffered saline
PCR	Polymerase-Chain-Reaction
Pl.	Pleuritis
Pk.	Perikarditis
Pn.	Pneumonie
PPLO	Pleuropneumonia-like-organisms
SPF	spezifisch-pathogenfrei

S.s.H. Sammeltpfer der serösen Häute

µl Mikroliter

I. EINLEITUNG

Die 1910 beschriebene Erkrankung von Schweinen, die mit einer Serositis und Arthritis einhergeht und im Zusammenhang mit einem gramnegativem Bakterium steht, ist heute als „Glässer’sche Krankheit“ bekannt. Ihr auslösendes Agens ist das zu den *Pasteurellaceae* gehörende Bakterium *Haemophilus parasuis* (*H. parasuis*) (KIELSTEIN und LEIRER, 1990; ARAGON et al., 2012). Ausprägungen der Infektion mit *H. parasuis* lassen sich in allen Altersklassen finden und sind in der Regel gekennzeichnet durch eine Polyserositis, Arthritis, Meningitis, Flüssigkeitsansammlungen in den großen Körperhöhlen, sowie einer Pneumonie (AMANO et al., 1994; BLANCO et al., 2004; BLANCO et al., 2008). Dies kann zu schweren oder milden klinischen Verläufen führen, die dann durch Kümern der Tiere und mangelnde Tageszunahmen gekennzeichnet sind (RITZMANN und HEINRITZI, 2005). Für die sichere Diagnosestellung steht die labordiagnostische Identifikation des Erregers im Vordergrund. Hierbei ist die Anzucht auf Schafblutagar unter Verwendung einer Nicotinamidadenindinukleotid (NAD)-Quelle der Goldstandard (SEGALES et al., 1997; ARAGON et al., 2012). Auch wenn die Verwendung einer Polymerase-Chain-Reaction (PCR) für die Identifizierung in den letzten Jahren an Bedeutung gewonnen hat, ist die Anzucht des Erregers unerlässlich um die Virulenz, und damit die Bedeutung im aktuellen klinischem Geschehen, abschätzen zu können (ANGEN et al., 2007; TURNI und BLACKALL, 2010). Für die Abschätzung der Virulenz wird der Serotyp des Isolates herangezogen. Die durch das Kielstein-Rapp-Gabrielson-Schema definierten Serotypen 1-15 zeigten in Untersuchungen verschiedener Autoren für die Serotypen 1, 5, 10, 12, 13 und 14 eine hohe Virulenz, für die Serotypen 2,4 und 15 eine mittlere Virulenz, den Serotyp 8 eine niedrige Virulenz, während die Serotypen 3, 6, 7, 9 und 11 als avirulent gelten (RAPP-GABRIELSON et al., 1992; AMANO et al., 1994, 1996; TADJINE et al., 2004; ARAGON et al., 2012). Die Serotypen, die aus klinischen Fällen in Deutschland am häufigsten isoliert werden konnten, waren 1998 die Serotypen 5 und 4 (KIELSTEIN und WUTHE, 1998). In einer aktuelleren Betrachtung des Vorkommens der Serotypen in Deutschland konnten STRUTZBERG-MINDER et al. (2010) zeigen, dass die Serotypen 1, 2 und 13 am häufigsten nachweisbar sind.

Diese Betrachtung erfolgte allerdings ohne klinischen Hintergrund der Proben.

Die nachfolgende Arbeit ist eine retrospektive Betrachtung klinischer Fälle aus den Jahren 2010-2012, bei denen durch klinische oder pathomorphologische Befunde die Verdachtsdiagnose „Glässer'sche Krankheit“ formuliert wird. In allen hier betrachteten Fällen ist es möglich, *Haemophilus parasuis* in einer bakteriologischen Untersuchung anzuzüchten. Die nachfolgende Spezies-Polymerase-Chain-Reaction (Spezies-PCR) bestätigt das Anzuchtsergebnis. Im Anschluss an die Nachweise werden alle positiven Proben serotypisiert. Dies geschieht mittels des indirekten Hämagglutinationstests. Vorrangiges Ziel ist es, das Aufkommen der Serotypen 1-15 in Deutschland zu aktualisieren. Ein weiteres Ziel ist es, die vorhandenen Daten dahingehend auszuwerten, einen Zusammenhang zwischen den nachgewiesenen Serotypen mit der Betriebsart aus der das Tier stammt, der Altersgruppe des Tieres und dem Isolationsort herzustellen. Weiterhin wurden die Daten untersucht, um einen Zusammenhang zwischen den Serotypen aus klinischen Fällen und pathomorphologischen Befunden bei den untersuchten Tieren zu ermitteln.

Bedingt durch eine Expansion des Tierverkehrs und einer Intensivierung der Haltungsbedingungen ist davon auszugehen, dass es bei dieser aktualisierten Betrachtung der Verbreitung der Serotypen eine Veränderung im Auftreten gegeben hat, wobei evaluiert werden muss, ob die grundlegende Veränderung wie bei STRUTZBERG-MINDER et al. (2010) beschrieben, auch für Isolationen mit klinischen Hintergrund gilt. Von einer Assoziation der Serotypen und den ausgewerteten Parametern ist, aufgrund der teils schon divergierenden Beschreibung in der internationalen Literatur, nicht auszugehen.

II. LITERATURÜBERSICHT

1. Ätiologie der Glässer'schen Krankheit

Der Erreger der Glässerschen Krankheit, *Haemophilus parasuis* (*H. parasuis*), erfährt durch Karl Glässer 1910 seine erstmalige Beschreibung (GLÄSSER, 1910). Glässer beschreibt ein gramnegatives Bakterium im Zusammenhang mit einer akut verlaufenden serofibrinösen Serositis und Arthritis beim Schwein. Die Isolation dieses Bakteriums gelingt erst 1922 Schermer und Ehrlich (LITTLE, 1970). Lewis und Shope beschrieben daraufhin 1931 eine Abhängigkeit dieses Bakteriums von den Wachstumsfaktoren X und V (LEWIS und SHOPE, 1931). Als Folge führte dies zur Benennung *Haemophilus influenza variety suis*. Durch Untersuchungen, die eine Unabhängigkeit des Bakteriums vom Wachstumsfaktor X darstellen konnten, erfolgte die Umbenennung des Bakteriums in *Haemophilus parasuis* (BIBERSTEIN und WHITE, 1969).

1.1. Morphologie von *Haemophilus parasuis*

Haemophilus parasuis gehört der Familie der *Pasteurellaceae* an (KIELSTEIN und LEIRER, 1990; ARAGON et al., 2012). Es zeigt sich als unbewegliches, mikroaerophiles, gram-negatives Bakterium, das sowohl eine kokkoide, als auch eine filamentöse Struktur annimmt (NEDBALCOVA et al., 2006). Neben der von MOROZUMI und NICOLET (1986a) beschriebenen Kapsel aus Polysacchariden, konnten MUNCH et al. (1992) die Bildung von Fimbrien nachweisen. Diese zum Teil ausgeprägte Pleomorphie zeigt eine Abhängigkeit vom Alter der untersuchten Kolonie und dem eingesetztem Nährmedium (KILIAN, 1976). Bei Anzucht auf Agar präsentiert sich *H. parasuis* bei einer Wachstumszeit von 24-48h als kleine, lichtdurchlässige, nicht hämolysierende Kolonien (SEGALES et al., 1997; ARAGON et al., 2012).

1.2. Virulenzfaktoren bei *Haemophilus parasuis*

Im Laufe der Jahre wurden bei *H. parasuis* eine Reihe von möglichen Virulenzfaktoren identifiziert und beschrieben. Ihre Bedeutung in Bezug auf die Virulenz von Stämmen wird kontrovers diskutiert. Morphologische Strukturen bildeten hierbei die ersten nachgewiesenen Faktoren, die eine Virulenz ausmachen können. Obgleich RAPP-GABRIELSON et al. (1992) zeigen, dass Virulenz unabhängig ist von der Bildung einer Kapsel, ist es doch beschrieben, dass es zu einer Umbildung der Kapsel durch virulent-klassifizierte Stämme nach der Inkubation mit Alveolarmakrophagen kommt (RAPP-GABRIELSON und GABRIELSON, 1992; OLVERA et al., 2009). Mit der Entdeckung der Fimbrien bei *H. parasuis* vermuten MUNCH et al. (1992) mit ihnen einen Mechanismus für die Anheftung virulenter Stämme identifiziert zu haben. METCALF und MACINNES (2007) weisen hingegen nach, dass Fimbrien bei allen Stämmen zu finden sind, somit auch in denen, die nicht mit einer erhöhten Virulenz in Zusammenhang gebracht werden. Der Nachweis von Lipooligosacchariden blieb ebenfalls nicht nur auf Stämme begrenzt, die mit einer höheren Virulenz assoziiert werden (ZUCKER et al., 1996). MULLINS et al. (2011) zeigen, dass *H. parasuis*-Stämme eine Immunglobulin A-Protease exprimieren, welche zur Spaltung des für die lokale Abwehr der Schleimhaut wichtigen Immunglobulin A führt. Die nachgewiesene Protease steht im Zusammenhang mit der Resistenz von *H. parasuis* gegen das Komplementsystem. Diese Resistenz wird als wichtiger Faktor bei systemischen Infektionen von *H. parasuis* gesehen (CERDAS-CUELLAR und ARAGON, 2008). LICHTENSTEIGER und VIMR (2003) gelang es, eine Neuraminidase aus der äußeren Membran zu identifizieren und zu isolieren. Obwohl mit dem Nachweis der Neuraminidase ein Zusammenhang für die Bereitstellung von Nährstoffen vermutet wird, scheiterte es bisher, eine Verbindung zwischen Vorkommen der Neuraminidase und einer bestimmten Klinik zu zeigen (COSTA-HURTADO et al., 2013). Vergleichbares gilt für den Nachweis von Eisenrezeptoren in der äußeren Membran (METCALF und MACINNES, 2007).

1.3. Typisierung von *Haemophilus parasuis*

1.3.1. Methoden der Serotypisierung

Eine international anerkannte Möglichkeit, die Virulenz abschätzen zu können, erfolgt über die Bestimmung des Serotyps des isolierten Stammes. Anhand des Serotyps lässt sich ein Bezug zwischen dem isolierten *H. parasuis*-Stamm und der in der Herde auftretenden Klinik herstellen. Bei *Haemophilus parasuis* lassen sich die Serotypen 1-15 unterscheiden (TADJINE et al., 2004), wobei es Isolate gibt, die sich mit den heutigen Techniken keinem bekannten Serotyp zuordnen lassen. Dieser Anteil schwankt in den Untersuchungen, abhängig von Untersuchungsmethode und Untersuchungsmaterial, und beträgt zwischen 9% (DEL RIO et al., 2003) bis 44% (TURNI und BLACKALL, 2005) der in den Studien untersuchten Isolate. Die weltweit am häufigsten isolierten Serotypen sind 4, 5, 13 und 7 (NEIL et al., 1969; BLACKALL et al., 1996; DEL RIO et al., 2003; TADJINE et al., 2004; CAI et al., 2005; TURNI und BLACKALL, 2005). In Europa werden ebenfalls die Serotypen 4, 5 und 13 vorrangig isoliert (RUBIES et al., 1999; ANGEN et al., 2004; DIJKMAN et al., 2012; LUPPI et al., 2013), wobei abweichend davon in Großbritannien Serotyp 10 der am häufigsten isolierte Serotyp ist (MORRIS et al., 2006). Sind in Deutschland 1998 noch der Serotyp 5, gefolgt von Serotyp 4, die am häufigsten isolierten Serotypen (KIELSTEIN und WUTHE, 1998), stellen STRUTZBERG-MINDER et al. (2010) dar, dass Serotyp 1 gefolgt von 2 und 13 mittlerweile häufiger isolierten werden. Jedoch ist bei KIELSTEIN und WUTHE (1998) stets ein klinischer Hintergrund gegeben, beziehungsweise gibt es einen pathomorphologischen Befund bei den untersuchten Tieren, während über den klinischen Hintergrund der Isolate bei STRUTZBERG-MINDER et al. (2010) keine Aussagen getroffen werden. Weiterhin zeigt sich, dass es eine teils hohe Heterogenität von festgestellten Serotypen in klinischen Fällen und teilweise sogar innerhalb einer Herde, beziehungsweise eines Tieres gibt (ARAGON et al., 2010a; ARAGON et al., 2012; DIJKMAN et al., 2012; BOERLIN et al., 2013).

Eine Assoziation von Serotypen und der mit ihnen verbundenen Virulenz war in der Vergangenheit häufig Gegenstand von Untersuchungen (ARAGON et al., 2012). Aus ihnen ergab sich, dass die Serotypen 1, 5, 10, 12, 13 und 14 als hochvirulent eingestuft werden. In Infektionsversuchen führen sie bei intraperitonealer Applikation bei spezifisch pathogen-freien (SPF)-Schweinen

innerhalb von vier Tagen zum Tod (KIELSTEIN und RAPP-GABRIELSON, 1992; AMANO et al., 1994; ARAGON et al., 2010a). Die Serotypen 2, 4 und 15 werden als virulent klassifiziert, da es nach Inokulation zu Polyserositiden und Polyarthritiden bei den Tieren kommt. Die Tiere versterben aber nicht (AMANO et al., 1994; OLIVEIRA und PIJOAN, 2004). Serotyp 8 ist als leicht virulent klassifiziert, da es zu oberflächlichen Läsionen und gering ausgeprägten klinischen Symptomen kommt. Die Serotypen 3, 6, 7, 9 und 11 gelten als avirulent aufgrund der fehlenden Ausprägung einer klinischen Symptomatik bei SPF-Schweinen im Infektionsversuch (KIELSTEIN und RAPP-GABRIELSON, 1992; OLIVEIRA und PIJOAN, 2004). ARAGON et al. (2010a) geben dabei aber zu bedenken, dass bei den Versuchen zur Virulenz nur Referenzstämme benutzt worden sind, während sich Feldstämme dieser Serotypen unterschiedlich verhalten können. So konnten ARAGON et al. (2010a) mit der Inokulation eines Feldisolates des Serotyps 7 einen Ausbruch der Glässer'schen Krankheit bei einem Tier reproduzieren. ARAGON et al. (2012) ist daher der Auffassung, dass eine klare Korrelation zwischen Serotyp und Virulenz nicht bewiesen ist.

Mittels Langsam-Agglutination konnten BAKOS et al. (1952) die Serotypen A-D voneinander abgrenzen. Dafür wurden als Antigen Ganzzellen und Antiserum gegen Ganzzellen verwendet. SCHIMMEL et al. (1985) ergänzten auf Grundlage dieser Technik die Serotypen Jena 1-3. Mit der Einführung des Agargelpräzipitationstests (AGPT) durch MOROZUMI und NICOLET (1986b) verwendete man nun anstelle der Ganzzellen hitzestabile, lösliche Bakterienextrakte. Als Grundlage der serotypspezifischen Reaktionen im AGPT gelten nach ROSNER et al. (1991) Polysaccharide. Mittels AGPT gelang es unter Zuhilfenahme serotypspezifischer Immunsereen, sieben Serotypen zu definieren (MOROZUMI und NICOLET, 1986b). KIELSTEIN et al. (1991) ergänzten die Serotypen Jena 6-12. Unter Verwendung des AGPT und hitzestabiler Antigene gelang es KIELSTEIN und RAPP-GABRIELSON (1992) 15 Serotypen zu differenzieren. Damit etablierten sie das noch heute anerkannte Kielstein-Rapp-Gabrielson-Schema für die Einteilung von *H. parasuis* nach Serotypen. Trotz des Anteils nicht typisierbarer Isolate, die auch in neueren Untersuchungen noch bis zu 40% (TURNI und BLACKALL, 2005) beziehungsweise 41% (RAFIEE und BLACKALL, 2000) betragen, ist der AGPT nachwievor eine international anerkannte Methode für die Serotypisierung von *H. parasuis* (OLIVEIRA, 2007).

Aufgrund der hohen Anteile nicht typisierbarer Isolate griffen TADJINE et al. (2004) und DEL RIO et al. (2003) auf eine Methode zurück, die MITTAL et al. (1983) beschrieben. Bei der indirekten Hämagglutination (IHA) werden erhitzte Bakteriezellen, als Antigen fungierend, durch Schaferythrozyten adsorbiert und mit serotypspezifischen Antiseren aus hyperimmunisierten Kaninchen zusammengebracht. Dabei zeigt sich bei einer positiven Reaktion eine Koagulation. Mit dieser Methode konnten DEL RIO et al. (2003) 91% ihrer Isolate serotypisieren, während TADJINE et al. (2004) über 90% der untersuchten Isolate serotypisieren konnten. Neben der IHA nutzten DEL RIO et al. (2003) einen Koagglutinationstest für die Serotypisierung. Obwohl der Koagglutinationstest als einfach durchzuführen, spezifisch und sensitiv beschrieben wird, erhält er keine Empfehlung als Methode für die Serotypisierung aufgrund der hohen Anzahl an Kreuzreaktionen (DEL RIO et al., 2003).

Sowohl der Koagglutinationstest als auch der indirekte Hämagglutinationstest zeigen in der Auswertung eine subjektive Komponente, weshalb es zu unterschiedlichen Ergebnissen in der Serotypisierung der Isolate kommen kann. Zudem sind auftretende Kreuzreaktionen und Schwankungen in den Ergebnissen durch Unterschiede in der angewandten Methodik, den verwendeten Antisera und den reagierenden Antigenen eine Problematik bei der Serotypisierung (ARAGON et al., 2012).

1.3.2. Molekularbiologische Methoden der Typisierung

Neben der Einteilung anhand des Serotyps haben sich in den letzten Jahren weitere Methoden für die Typisierung von *H. parasuis*-Stämmen etabliert. Hier untersucht man vor allem Unterschiede im Genom und in der Proteinexpression der Stämme, um damit möglichst exakte Aussagen über die Virulenz treffen zu können. Eine Verknüpfung zwischen der Expression von Genen und einem als virulent eingestufte Serotyp führte bis jetzt zu keinem eindeutigen Ergebnis. Unter anderem auch, weil verschiedene Virulenzgene wiederholt auch bei Isolaten festgestellt werden, bei denen es zu keiner klinischen Erkrankung gekommen ist oder keine pathomorphologischen Befunden erhoben worden sind (DE LA PUENTE REDONDO et al., 2003; METCALF und MACINNES, 2007; BOERLIN et al., 2013).

Auch der Zusammenhang zwischen untersuchten Genen und Serotyp oder

Isolationsort liefern keine endgültigen Ergebnisse (ANGEN et al., 2004; NEDBALCOVA et al., 2006; ARAGON et al., 2010a; BOERLIN et al., 2013). Bis jetzt wurde nur die Serotypisierung im Zusammenhang mit der Virulenz gebracht (ARAGON et al., 2012). Daher bleibt sie neben den neueren Methoden nach wie vor ein unverzichtbarer Bestandteil einer umfassenden Diagnostik.

Die Restriction-length-polymorphism-PCR nutzt Ampflifivate der transferrin-binding-protein-A-, 16S-ribosomalen-Ribonukleinsäure- und aroA-Gene. (ARAGON et al., 2012). Damit lassen sich unterschiedliche Isolate deutlich voneinander abgrenzen. Aussagen über die Virulenz oder Assoziation mit einem Serotyp sind nicht möglich. Eine Besonderheit ist, dass sie eine Anwendung ohne vorherige Erregerisolierung ermöglichen.

Bei der Enterobacterial-Repetitive-Intergenic-Consensus (ERIC)-PCR wird ein genetischer Fingerabdruck erstellt. Das ermöglicht die Durchführung epidemiologischer Studien mit einem hohen Grad der Unterscheidung (ARAGON et al., 2012). Auch beim Multilocus-Sequence-Typing lassen sich Verwandtschaftsbeziehungen einzelner Stämme exakt darstellen. In Folge dessen wurden zwei Cluster definiert, bei denen sich ein Cluster vorwiegend aus Stämmen zusammensetzt, die aus dem oberen Respirationstrakt gesunder Tiere isoliert sind und ein Cluster vorwiegend aus Isolaten besteht, die aus systemischen Lokalisationen isoliert wurden (OLVERA et al., 2006; ARAGON et al., 2010a; ARAGON et al., 2012).

Eine weitere Methode ist die Multilocus-Enzyme-Electrophoresis. Auch hier können zwei Gruppen differenziert werden. Die Serotypen 4 und 13 lassen sich beiden Gruppen zuordnen. Auch hier ist die vorgenommene Einteilung in Gruppen und die beobachtete Virulenz in keinem Zusammenhang zu sehen (BLACKALL et al., 1997).

Unter Verwendung der Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) gelang es ZHOU et al. (2009) für den Serotyp 5 eine Proteom-Karte zu erstellen und virulenzassoziierte Proteine zu beschreiben. YU et al. (2015) konnten mit der gleichen Technik 15 immunoreaktive Proteine bei einem Serotyp 5-Isolat feststellen. ZHOU et al. (2009) sehen in der MALDI-TOF MS ein neuartige diagnostische Möglichkeit für die Unterscheidung von virulenten und avirulenten Isolaten.

Zusammenfassend ist zu allen molekularbiologischen Typisierungsmethoden zu sagen, dass sie ein geeignetes Mittel für die epidemiologische Aufarbeitung darstellen. Sie differenzieren sehr exakt Isolate und Stämme voneinander und verwandtschaftliche Verhältnisse können ausgesprochen gut dargestellt werden. Ein weiterer Vorteil ist, dass die Fraktion der nicht typisierbaren Isolate vollständig entfällt (ARAGON et al., 2012).

1.4. Resistenzsituation bei *Haemophilus parasuis*

Der Nachweis eines virulenten Stammes *H. parasuis* passend zum aktuellen Krankheitsgeschehen in einer Herde gebietet es, eine Behandlung des Erregers mit antimikrobiell wirksamen Substanzen in Betracht zu ziehen. Daher ist es, spätestens durch die intensivierte Diskussion bezüglich der Verwendung von Antibiotika in der Tiermedizin, dringend geraten, sich über die grundsätzliche Resistenzlage zu informieren (BUNDESTIERÄRZTEKAMMER, 2015).

Untersuchungen bezüglich der Resistenzlage von *H. parasuis* kommen zum Teil zu sehr kontroversen Ergebnissen. Eine Übereinstimmung zeigt sich dahingehend, dass Tulathromycin, Enrofloxacin und Florfenicol bisher keine Resistenzen bei Feldisolaten zeigen (AARESTRUP et al., 2004; NUTSCH et al., 2005; HEINRITZI, 2006; DE LA FUENTE et al., 2007; PALZER et al., 2007).

Weitere untersuchte antimikrobiell wirksame Substanzen beinhalteten Ampicillin, Ceftiofur, Ciprofloxacin, Erythromycin, Penicillin, Spectinomycin, Tetrazyklin, Tiamulin, Tilmicosin, Tylosin, Sulfadimidin+Trimetoprim, Gentamycin und Clindamycin. Bei diesen Wirkstoffen sind sowohl teils weitverbreitete Resistenzen, als auch eine gute Wirksamkeit beschrieben (KIELSTEIN, 1985; TRIGO et al., 1996; AARESTRUP et al., 2004; HEINRITZI, 2006; DE LA FUENTE et al., 2007; SAN MILLAN et al., 2007).

2. Epidemiologie der Glässer'schen Krankheit

Die Glässer'sche Krankheit ist eine weltweit vorkommende Infektionserkrankung in Schweineherden. In den vergangenen Jahren lässt sich ein Ansteigen der Fallzahlen beobachten (OLIVEIRA und PIJOAN, 2004). Ursachen für den Anstieg sehen RITZMANN und HEINRITZI (2005) in der Intensivierung der Haltungsbedingungen, dem Zusammenbringen verschiedener Altersklassen, dem Absetzen der Ferkel mit unter 28 Lebenstagen und im zunehmenden Tierverkehr in Folge der örtlich getrennten Phasen der Schweineproduktion. Als weitere Ursache sehen DE LA FUENTE et al. (2007) den vermehrten Aufbau von SPF-Herden und den hierdurch nachfolgenden Kontakt von naiven Tieren mit Tieren, die mit *H. parasuis* infiziert sind, auch wenn es noch zu keiner klinischen Erscheinung gekommen ist. Auch die Verbreitung von PRRS in den 1990er Jahren wird von DEE (1997) zu den Ursachen eines „Auflebens“ der Glässer'schen Krankheit gezählt.

Historisch als Krankheit von Saugferkeln angesehen, zeigt die Glässer'sche Krankheit heute ein Auftreten in allen Altersgruppen (LAHRMANN und PLONAIT, 2004; ARAGON et al., 2012). Zuchtsauen gelten als Reservoir innerhalb einer Herde (HAEDKE, 2008), wobei die von Zuchtsauen ausgeschiedene Erregermenge sehr gering und die Pathogenität der ausgeschiedenen Stämme zum Teil sehr unterschiedlich ist (NEDBALCOVA et al., 2006). Innerhalb einer Herde ist es so möglich, mehrere verschiedene Stämme von *H. parasuis* zu isolieren. Sogar innerhalb eines Tieres lassen sich mehrere verschiedene Stämme nachweisen. So konnten in einer Herde über einen Zeitraum von sechs Monaten bis zu 16 verschiedene *H. parasuis*-Stämme isoliert werden (CERDA-CUELLAR et al., 2010). Ein Ausbruch der Glässer'schen Krankheit hingegen, ist laut RAFIEE und BLACKALL (2000) in der Regel immer auf einen Stamm zurückzuführen.

Da es bis jetzt nicht gelungen ist, *H. parasuis* aus der Vagina einer Sau zu isolieren, ist davon auszugehen, dass sich Saugferkel in den ersten Tagen post partum bei der Sau infizieren (ARAGON et al., 2012). So zeigen Studien von

PIJOAN und OLIVEIRA (2003), dass es bereits fünf Tage post partum möglich ist, *H. parasuis* in Saugferkeln nachzuweisen. Während REINER et al. (2010) in ihrer Untersuchung bei Wildschweinen keine Geschlechtsspezifität zeigen konnten, zeigten ZHANG et al. (2014) in ihrer Untersuchung, dass die Prävalenz einer Infektion mit *H. parasuis* bei männlichen Tieren höher ist.

Die Infektion erfolgt durch direkten Tier-zu-Tier-Kontakt (AMANO et al., 1996). *H. parasuis* wird heute als Kommensale des oberen Respirationstraktes (MOLLER und KILIAN, 1990) gesehen und lässt sich als solcher in der Lunge, den Nasennebenhöhlen und Tonsillen klinisch unauffälliger Schweine nachweisen (MOLLER und KILIAN, 1990; KIRKWOOD et al., 2001; OLIVERA et al., 2006; PALZER et al., 2008).

Mit der Aufnahme von Kolostrum lässt sich eine kolostrale Immunität bei den Saugferkeln erzeugen (BLANCO et al., 2004; NEDBALCOVA et al., 2006). Dabei ist aber eine Kreuzimmunität zwischen einzelnen Stämmen und Serotypen nicht zwangsläufig gegeben (BAK und RIISING, 2002; OLIVEIRA und PIJOAN, 2002).

Sind Ferkel zusätzlich zum Abfallen der kolostralen Antikörper in der fünften bis sechsten Lebenswoche, Stressoren in Form von Lüftungsfehlern, Futterwechseln, schwankenden Raumtemperaturen, Einträgen neuer Infektionserreger in den Bestand oder Transport ausgesetzt, kann es zu einem Ausbruch der Glässer'schen Krankheit kommen (SOLANO-AGUILAR et al., 1999; BLANCO et al., 2004; ZIMMERMANN, 2008). Als Zeichen dafür steht das für die Krankheit typische Alter der Tiere (NEDBALCOVA et al., 2006). Ein weiterer Risikofaktor ist das Zusammenstellen von Tieren, die mit unterschiedlichen Stämmen in Kontakt gekommen sind (ARAGON et al., 2012). Durch die fehlende Ausbildung einer Kreuzimmunität zwischen den Stämmen kann dies somit auch zu einem Ausbruch der Glässer'schen Krankheit führen. Selbiges gilt für komplett naive Tiere, denn durch die Zirkulation von teilweise mehreren Stämmen unterschiedlicher Pathogenität innerhalb einer Herde, kann nicht davon ausgegangen werden, dass sich jedes Ferkel mit jedem Stamm während der Säugephase infiziert und eine belastbare Immunität ausbildet (SOLANO-AGUILAR et al., 1999; OLIVEIRA und PIJOAN, 2002; PIJOAN und OLIVEIRA, 2003; OLIVEIRA et al., 2004; ARAGON et al., 2012).

Bei *Sus scrofa domestica* seit 1910 bekannt, zeigen neuere Untersuchungen von OLVERA et al. (2007b) und REINER et al. (2010), dass *H. parasuis* auch bei Wildschweinen gefunden werden kann. Die mittels PCR ermittelte Prävalenz betrug 4,8% in Spanien und 74,2% in Deutschland. Trotz des Nachweises von *H. parasuis* konnte ein klinisches Erscheinungsbild der Glässer'schen Krankheit bei Wildschweinen bis jetzt nicht beobachtet werden und auch pathologisch-anatomische Läsionen, die auf Glässer'sche Krankheit hindeuten, konnten bei den beprobten Tieren nicht nachgewiesen werden (OLVERA et al., 2007b; REINER et al., 2010).

3. Pathogenese der Glässer'schen Krankheit

Die Infektion erfolgt aerogen (KIELSTEIN et al., 1994). Eine initiale Kolonisation findet im oberen Respirationstrakt statt. Trotz diverser Infektionsversuche ist nicht eindeutig geklärt, an welcher exakten Lokalisation des oberen Respirationstraktes es zu der initialen Kolonisation durch *H. parasuis* kommt (NEDBALCOVA et al., 2006). Die Infektion mit *H. parasuis* geht einher mit Zilienvverlust. Somit kommt es zu Schäden an der Nasal- und Trachealschleimhaut. Daraufhin folgt eine purulente Rhinitis mit Zelluntergang (VAHLE et al., 1997). Mit ihrem Versuchsaufbau konnten VAHLE et al. (1995) zeigen, dass bei ihrer experimentellen Infektion mit *H. parasuis*, 12 Stunden post infectionem der Erreger sowohl in Nasenhöhle als auch Trachea nachweisbar ist. Die Bildung eines Biofilms, der vor allem für die Besiedlung des oberen Respirationstraktes durch apathogene Stämme von Bedeutung sein könnte, wurde durch JIN et al. (2006) nachgewiesen; dies wird vornehmlich als Mechanismus für die kommensalische Besiedlung des Respirationstraktes apathogener Stämme gesehen. Die Eigenschaft, einen effektiven Biofilm bilden zu können, ist bei apathogenen Stämmen ausgeprägter als bei virulenten Stämmen (BELLO-ORTI et al., 2014).

Anschließend an die initiale Besiedlung folgt bei virulenten Stämmen die Invasion von Endothelialzellen. Folge ist die Induktion von Apoptose und die Freisetzung von Interleukin-6 und Interleukin-8. Dies wird vor allem im Bereich der

Meningen als Grund für die Initiierung von Entzündungsprozessen gesehen (VANIER et al., 2006; BOUCHET et al., 2008; ARAGON et al., 2010b).

36 Stunden post infectionem kommt es zu einer Septikämie mit vereinzelter Infiltration der Lunge (VAHLE et al., 1995). In der Lunge zeigen vor allem als virulent eingestufte Stämme eine erhöhte Widerstandskraft gegen die Phagozytose von Alveolarmakrophagen (OLVERA et al., 2009). Als Folge der Septikämie kommt es vor allem an den serösen Häuten, Meningen und den Gelenken zu entzündlichen Prozessen mit Ansammlung von Fibrin und Körperflüssigkeiten (RITZMANN und HEINRITZI, 2005; ARAGON et al., 2012; COSTA-HURTADO et al., 2013). Zu beobachten sind dann die typischen pathomorphologischen Befunde und die charakteristische Klinik der Glässer'schen Krankheit. Ausschlaggebend für die Variation der Symptome ist nach RITZMANN und HEINRITZI (2005) und ZIMMERMANN und MÜLLER (2004) der Immunstatus der Herde, die Virulenz des Stammes und die aufgenommene Erregerdosis. Auch der Zusammenhang mit anderen Stressfaktoren muss in Erwähnung gezogen werden, ebenso die Resistenz, beziehungsweise die Immunkompetenz des Einzeltieres, die nach Ansicht von KIELSTEIN et al. (1994) eine Rolle spielen. Sie konnten zeigen, dass Ferkel in der Lage sind, hohe Infektionsdosen zu tolerieren, ohne dass es zu einem Ausbruch der Glässer'schen Krankheit kommt (KIELSTEIN et al., 1994).

Für die Immunkompetenz des Tieres ist auch die Infektion mit anderen Erregern entscheidend. Hier scheint vor allem die parallele Infektion mit dem *Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus* von Bedeutung zu sein. Haben beide Erreger das Tier gleichzeitig infiziert, so kommt es zu vermehrten klinischen Erscheinungen und ausgeprägteren pathomorphologischen Veränderungen (SOLANO et al., 1997; SOLANO et al., 1998). BROCKMEIER (2004) zieht zudem anhand ihrer Untersuchungen den Schluss, dass eine Infektion mit *Bordetella bronchiseptica* eine Kolonisation des oberen Respirationstraktes durch *H. parasuis* erleichtert. Bei einem zeitgleichen Nachweis von *H. parasuis* und *Mycoplasma hyorhinis* konnten PALZER et al. (2006) eine stärkere klinische Symptomatik bei den von ihnen untersuchten Tieren feststellen. Das zeitgleiche Vorkommen von *H. parasuis* und dem *Porcine Circovirus Typ 2* konnte von LI et al. (2009) gezeigt werden, ohne dass eine Auswirkung beschrieben worden ist.

4. Klinik der Glässer'schen Krankheit

Das Krankheitsbild der Glässer'schen Krankheit zeichnet sich vor allem durch eine Polyserositis und eine Polyarthrititis aus. Prinzipiell sind alle Altersklassen von der Krankheit betroffen, wenn naive Tiere mit pathogenen *H. parasuis*-Stämmen in Kontakt kommen (LAHRMANN und PLONAIT, 2004). Klinisch zu beobachtende Erscheinungen nach einer Infektion mit virulenten Stämmen von *H. parasuis* betreffen aber vor allem Ferkel im Alter von vier bis acht Wochen (SOLANO-AGUILAR et al., 1999; OLIVEIRA und PIJOAN, 2002). Aber auch ältere Läufer, bevorzugt nach der Umstellung in die Mast, gehören zu den typisch erkrankten Tieren (ZIMMERMANN, 2008).

Die Angaben zur Inkubationszeit wurden unter Nutzung spezifisch-pathogen-freier Tiere und einer experimentellen Infektion gewonnen. Die Angaben umfassen einen Zeitraum von weniger als 24h bis hin zu drei bis fünf Tagen (ARAGON et al., 2010a). Diese zeitlichen Angaben sind abhängig von der Virulenz des *H. parasuis*-Stammes.

Anhand ihres klinischen Verlaufs lassen sich eine perakute, eine akute und eine chronische Form der Krankheit abgrenzen. Der perakute Verlauf ist durch plötzliche Todesfälle ohne typische Veränderungen einer Polyserositis gekennzeichnet. Eine disseminierte intravasale Koagulation und Mikrohämmorrhagien gehören zu den charakteristischen Läsionen (PEET et al., 1983; AMANO et al., 1997). Die Erhöhung der Körperinnentemperatur auf 40 bis 41°C, verbunden mit Anorexie und einem aufgekrümmten Rücken, kennzeichnen den akuten Verlauf der Glässer'schen Krankheit. Zusätzlich sind beim akuten Verlauf akustische Schmerzáußerungen wahrzunehmen (RILEY et al., 1977; VAHLE et al., 1995; WIEGAND et al., 1997). Die zu beobachtende Polyarthrititis äußert sich in Lahmheiten (RITZMANN und HEINRITZI, 2005), wobei die Gelenke vermehrt gefüllt sind und bei Palpation fluktuieren (RITZMANN und HEINRITZI, 2005). Als Lokalisation, bei denen dieses Phänomen vermehrt auftritt, werden die Tarsalgelenke genannt (RITZMANN und HEINRITZI, 2005). Die einsetzende Dyspnoe erzeugt ein reibendes Atemgeräusch, welches durch

Auskultation festgestellt werden kann (RITZMANN und HEINRITZI, 2005). Bei Entzündung der Meningen kommt es zusätzlich zu zentralnervösen Ausfallserscheinungen in Form von Inkoordination, Zittern und Krämpfen (ARAGON et al., 2012).

Milde Verläufe gehen oft in einen chronischen Zustand über. Sie sind gekennzeichnet durch Kümern der Tiere, Husten, Dyspnoe, Lahmheiten, ein struppiges und raues Haarkleid. Damit verbunden sind verminderte Leistungen, wie zum Beispiel die Tageszunahmen (RITZMANN und HEINRITZI, 2005). In endemisch infizierten Herden kann die klinische Symptomatik vollständig auf den Respirationstrakt beschränkt bleiben (OLIVEIRA und PIJOAN, 2002). Als gesonderte Erscheinungen bei Zuchttieren sind vor allem Arthritiden und Aborte bei Jungsauen sowie chronische Arthritiden bei Zuchtebern beschrieben (ARAGON et al., 2012). Seltene klinische Erscheinungen umfassen Zyanosen an der Rüsselscheibe, den Gliedmaßen und Ohren, sowie Festliegen und Konjunktivitiden (ZIMMERMANN und MÜLLER, 2004). Eine Panniculitis der Ohren und eine Myositis des Musculus masseter gehören zu den in Einzelfällen erhobenen Befunden (HOEFLING, 1991; DROLET et al., 2000).

Die Morbidität und Mortalität sind zum Teil sehr stark abhängig von der Verlaufsform. Sie werden in naiven Herden mit 75% und in konventionellen Herden mit 5-10% angegeben (ARAGON et al., 2012). RITZMANN und HEINRITZI (2005) geben für experimentelle Infektionen eine Morbidität von 50%-75%, bis zu teilweise >90% und eine Mortalität von 10% an.

5. Pathomorphologische Befunde

Das pathomorphologische Bild einer systemischen Infektion mit *H. parasuis* zeigt eine seröfibrinöse bis fibrinopurulente Peritonitis, Pleuritis, Perikarditis, Polyarthrititis und Meningitis (AMANO et al., 1994; BLANCO et al., 2004; BLANCO et al., 2008). Ablagerungen von fibrinösem Exsudat werden an Pleura, Perikard und Peritoneum beschrieben (BLANCO et al., 2004). TURNI und BLACKALL (2007) beobachteten auch fibrinöse Verwachsungen der Organe des Gastrointestinaltraktes, beziehungsweise aller Organe des Abdomens. Unterschiedliche Ausprägungen eines Hydrothorax, Hydropericards und eines Hydroperitoneums werden beschrieben (RILEY et al., 1977; VAHLE et al., 1995; OLIVEIRA et al., 2003b; BLANCO et al., 2004). Das Auftreten von Petechien und Hämorrhagien in Leber, Milz, Niere und Meningen (AMANO et al., 1994) steht ebenso im Zusammenhang mit septikämischen Verläufen und plötzlichen Todesfällen, wie Zyanosen, subkutane Ödeme und Lungenödeme (RILEY et al., 1977; AMANO et al., 1994). In einzelnen Fällen ist es möglich, eine purulente Bronchopneumonie (SOLANO-AGUILAR et al., 1999; OLIVEIRA et al., 2003b), eine purulente Rhinitis (VAHLE et al., 1995) und eine Fascitis beziehungsweise Myositis (HOEFLING, 1991) feststellen zu können.

Das histopathologische Bild zeichnet sich durch das Auftreten granulozytärer, lymphonzytärer und histiozytärer Infiltrate aus. Zusätzlich sind mittelgradige Gehalte an Fibrin nachweisbar (VAHLE et al., 1995; NEDBALCOVA et al., 2006; ARAGON et al., 2010a). Vor allem bei septikämischen Verläufen lassen sich nach AMANO et al. (1994) Petechien, Hämorrhagien und Mikrothromben in multiplen Organen beobachten (AMANO et al., 1994). Thromben aus fibrinösem Material gehören ebenfalls zum dem histopathologischen Bild und lassen sich in den Glomeruli der Niere, den Lebersinusoiden und Alveolarkapillaren feststellen. Als Ursache wird eine disseminierte intravasale Gerinnung gesehen (AMANO et al., 1994). In ihrer Untersuchung stellen MARTIN DE LA FUENTE et al. (2009) Nekrosen der Nierentubuli fest, die mit Kalzifikation und nicht-eitrigen interstitiellen Nephritiden einhergehen. PALZER et al. (2015) beschreiben außerdem das Auftreten von Pyelitis bei Schweinen in einem Infektionsversuch.

5.1. Beobachtungen in Infektionsstudien

Die Zuordnung von pathomorphologischen Befunden zu einzelnen Serotypen ist vor allem in Monoinfektionsstudien vollzogen worden.

In den Infektionsversuchen von AMANO et al. (1994) zeigte eine Infektion mit Serotyp 1 bei den Tieren Serositis (vor allem Perikarditis), eine fibrinopurulente Meningitis und Arthritis, sowie eine Regression des lymphatischen Gewebes. RAPP-GABRIELSON et al. (1992) stellten Bronchopneumonien, Perikarditiden und purulente Pleuritiden fest.

Die Infektion mit Serotyp 2 kennzeichnete sich während des gleichen Versuchs durch das Auftreten einer Bronchopneumonie, Perikarditis, fibrinopurulenter Peritonitis und einer Kongestion der roten Milzpulpa.

Weiterhin wurden Tiere mit Serotyp 3 infiziert. Hier zeigte sich eine fibrinopurulente Peritonitis, eine Myokarditis und eine Lyse der weißen Milzpulpa (RAPP-GABRIELSON et al., 1992).

Infektionsversuche mit Serotyp 4 erzeugten in den infizierten Tieren fibrinöse Pneumonie, fibrinöse Perikarditis, wie Peritonitis. Ebenso wurden Nephritiden, ein Erguss im Perikard, eine Polyserositis und eine fibrinöse Hepatitis festgestellt (RAPP-GABRIELSON et al., 1992; TURNI und BLACKALL, 2007). AMANO et al. (1994) konnten in ihrem Versuch nur ein Tier mit einer Polyserositis und Arthritis beobachten. Andere, ebenfalls mit Serotyp 4 inokulierte Tiere, zeigten keine pathomorphologischen Veränderungen (AMANO et al., 1994).

AMANO et al. (1994) und RAPP-GABRIELSON et al. (1992) infizierten in ihren Versuchen auch Tiere intranasal, beziehungsweise intraperitoneal mit Serotyp 5. Nach Beendigung der Infektionsversuche wurden bei den folgenden pathomorphologischen Untersuchungen purulente Bronchopneumonien, Perikarditis, Myokarditis und fibrinopurulente Meningitiden festgestellt. Zudem fanden sich in der histologischen Untersuchung fibrinöse Thromben in Niere, Lunge und Leber. In ihrem Infektionsversuch, in welchem die Tiere intratracheal mit Serotyp 5 infiziert wurden, stellte AUSTIN-BUSSE (2010) bei den untersuchten Tieren Flüssigkeitsansammlungen in Brust- und Bauchhöhle, sowie dem Perikard fest. Des Weiteren stellte AUSTIN-BUSSE (2010) eine Pleuritis, Perikarditis und Peritonitis mit unterschiedlichem Schweregrad bei den untersuchten Tieren fest. Zusätzlich konnte in der histopathologischen

Untersuchung eine Synovitis, Meningitis und Pyelitis festgestellt werden.

Die Infektion mit Serotyp 6 erzeugt lediglich eine Bronchopneumonie und die Infektion mit Serotyp 7 erzeugt keine pathomorphologischen Befunde (RAPP-GABRIELSON et al., 1992).

Bei den Untersuchungen von TURNI und BLACKALL (2007) zeigt sich, dass ein Monoinfektionsversuch mit Serotyp 12 eine fibrinöse Pneumonie, einen Erguss des Perikards, ein Hydrothorax, Arthritis und Perihepatitis auslösen kann. In ihrem Versuch befanden sich zudem zwei mit Serotyp 12 infizierte Schweine, die keinerlei pathomorphologische Befunde aufwiesen.

5.2. Beobachtungen in Feldstudien

Aus Felduntersuchungen, die zu diesem Thema durchgeführt worden sind, zeigt sich ein indifferentes Bild. Hier bildet sich eine teilweise starke Diskrepanz zwischen in Infektionsstudien festgestellter Virulenz und nach Feldinfektionen entstandenen pathomorphologischen Befunden.

So stellten KIELSTEIN und WUTHE (1998) fest, dass Pneumonien ohne Beteiligung der Serosa, Arthritis und Polyserositis bei allen Serotypen zu finden sind. Selbst 30% der Tiere, bei denen die als avirulent geltenden Serotypen 3, 6, 7 und 9 diagnostiziert wurden, zeigten eine Polyserosits beziehungsweise Polyarthritis (KIELSTEIN und WUTHE, 1998). Auch LUPPI et al. (2013) konnten in ihrer Studie zeigen, dass der Befund einer Polyserositis bei den Serotypen 3, 6, 7, 8, 9, 10 und 11 nicht zu finden war. Des Weiteren stellten sie bei den Serotypen 1, 14 und 15 keine Bronchopneumonien fest (LUPPI et al., 2013).

6. Diagnostik

Bei Beobachtung von Erkrankungen dienen epidemiologischen Daten sowie klinische und pathomorphologische Befunde als Verdachtsmoment für eine Infektion mit *H. parasuis* (RITZMANN und HEINRITZI, 2005). Hierbei sollte darauf geachtet werden, dass vergleichbare Befunde auch von anderen Erregern verursacht werden (RITZMANN und HEINRITZI, 2005; ARAGON et al., 2012). In akuten Fällen nennen RITZMANN und HEINRITZI (2005) die diagnostische Therapie als Möglichkeit der Festigung des Anfangsverdachts, bevor Befunde aus den Untersuchungslabors ausgewertet werden können. Bei Untersuchungen mittels labordiagnostischer Möglichkeiten muss eine Unterscheidung bezüglich des indirekten respektive des direkten Erregernachweises getroffen werden.

6.1. Indirekter Erregernachweis

Der Nachweis von Antikörpern gegen *H. parasuis* erfolgt über einen kommerziell erhältlichen Enzyme-Linked-Immunosorbent-Assay (ELISA). Auch der Complement-Fixation-Test ist als Alternative zum Nachweis von Antikörpern zu nennen (NEDBALCOVA et al., 2006). Der indirekte Hämagglutinationstest kann neben dem vorwiegendem Einsatz in der Serotypisierung auch für einen Antikörpernachweis in der Diagnostik verwendet werden (MINIATS et al., 1991; NEDBALCOVA et al., 2006). Der Nachweis von Antikörpern ist kostengünstig, jedoch nicht dafür geeignet, eine belastbare Immunität gegen *H. parasuis* vorherzusagen (MINIATS et al., 1991).

6.2. Direkter Erregernachweis

Ein Bestimmen des momentanen Vorhandenseins vom Erreger im Tier wird durch die Methoden des direkten Erregernachweises ermöglicht.

6.2.1. Immunhistochemie

Die Immunhistochemie erzeugt einen direkten visuellen Nachweis von Bakterien-Antigen in Phagozyten und somit eine direkte Assoziation des Erregers mit geschädigtem Gewebe. Da mit polyklonalen Antikörpern Kreuzreaktionen mit *Actinobacillus pleuropneumoniae* beobachtet werden und monoklonale

Antikörper für *H. parasuis* selten und teuer sind, ist die Immunhistochemie kein probates Mittel für die Routinediagnostik (AMANO et al., 1997; SEGALLES et al., 1997; VAHLE et al., 1997; OLVERA et al., 2007a).

6.2.2. In-Situ-Hybridisierung

Bei der In-situ Hybridisierung (ISH) ist, ähnlich wie in der Immunhistochemie, eine direkte Assoziation von *H. parasuis* mit geschädigtem Gewebe möglich. Dabei werden jedoch nicht solche Kreuzreaktionen erzeugt, die mit polyklonalen Antikörpern in der Immunhistochemie auftreten können (OLVERA et al., 2007a). Nichtsdestotrotz werden Kreuzreaktionen mit *Actinobacillus indolicus*, *Actinobacillus porcinus* und *Actinobacillus minor* beobachtet. Daher ist vom Einsatz der ISH in der Routinediagnostik bisher abzuraten (OLVERA et al., 2007a).

6.2.3. Polymerase-Chain-Reaction

Mit der von OLIVEIRA et al. (2001) für den *H. parasuis*-Nachweis entwickelten Polymerase-Chain-Reaction (PCR) gelang es, die Nachweisgrenze von *H. parasuis* auf 100 kolonieformende Einheiten zu senken. Damit steht eine äußerst sensitive Methodik in der Diagnostik zur Verfügung (OLIVEIRA et al., 2001). Nachteil ist hingegen, dass auch Vertreter von *Actinobacillus indolicus* ein positives Ergebnis liefern. ANGEL et al. (2007) entwickelten daher mit den Referenzstämmen der 15 Serotypen eine modifizierte PCR, die bei gleicher Sensitivität, wie bei der von OLIVEIRA et al. (2001) entwickelten PCR, eine Spezifität von 100% zeigt.

6.2.4. Anzucht

Die direkte Erregeranzucht stellt beim Nachweis von *H. parasuis* den Gold-Standard dar. *H. parasuis* wächst nach einer Bebrütungszeit von 24-48h bei 37°C unter 5% Kohlenstoffdioxidspannung in Schokoagar als kleine, grau-braune Kolonie. *H. parasuis* ist auf die Anwesenheit des Wachstumsfaktors Nicotinamidadenindinukleotid (NAD) angewiesen, daher benötigt man für die Anzucht auf Blutagar einen Ammenstamm. Hierfür eignen sich NAD-produzierende *Staphylokokken* Species-Stämme oder alternativ können auch *Escherichia-coli*, *Mikrokokken* und *Pseudomonaden* genutzt werden (SHIFRINE und BIBERSTEIN, 1960). Hier zeigt sich dann das so genannte Satellitenphänomen mit kleinen farblosen Kolonien (OLIVEIRA, 2007). Die

Anzucht kann auch mit Pleuropneumonia-like-organism (PPLO)-Flüssigmedium unter separater Zugabe von NAD erfolgen (OLIVEIRA und PIJOAN, 2004). Unabhängig von der Wahl des Nährmediums wird eine zusätzliche Applikation von Antibiotika wie Lincomycin oder Bacitracin empfohlen, da es wegen des verhaltenen Wachstums von *H. parasuis* zu einer Überwucherung mit anderen Keimen kommen kann (OLIVEIRA und PIJOAN, 2004).

Da auch andere Vertreter der Familie *Pasteurellaceae* ein vergleichbares Wachstum wie *H. parasuis* zeigen, muss für die exakte Ansprache eine biochemische Testreihe durchgeführt werden (OLVERA et al., 2007a). *H. parasuis* ist Urease negativ, Oxidase negativ und Katalase positiv. Des Weiteren zeigt *H. parasuis* eine Fermentation der Kohlenhydrate Glucose, Galaktose, Mannose, Fructose, Saccharose und Malose. Ein negatives Ergebnis bei der Untersuchung auf die Produktion von Indol sowie eine Reduktion von Nitrat ist ebenfalls zu beobachten (KIELSTEIN et al., 2001). Erschwert wird die Anzucht durch die Hitzempfindlichkeit des Bakteriums, wodurch es bei dem Transport der Probe in das untersuchende Institut notwendig ist, eine Probentemperatur von 4-8°C zu gewährleisten (OLVERA et al., 2007a). Zusätzlich wird der Transport in einem Amies-Medium empfohlen (OLVERA et al., 2007a).

Aufgrund der anspruchsvollen Anzucht und der Hinweise, die es beim Transport zu beachten gilt, verläuft die Isolation aus klinischen Proben nicht immer erfolgreich (ZIMMERMANN und MÜLLER, 2004). Bemühungen sollten dennoch angestrebt werden, da ein anschließender Resistenztest, vor allem in Zeiten des restriktiven Einsatzes von Antibiotika, unbedingt anzuraten ist (BUNDESTIERÄRZTEKAMMER, 2015).

6.2.5. Beprobung

Die Entnahme von Proben sollte ausschließlich aus Tieren erfolgen, die nicht antibiotisch vorbehandelt sind und akute Krankheitsanzeichen zeigen (OLIVEIRA, 2004). Dafür eignen sich besonders Tiere mit umfangsvermehrten Gelenken, respiratorischer Symptomatik und/oder zentralnervösen Symptomen. Genutzt werden können auch frisch euthanasierte Tiere (OLVERA et al., 2007a). Ebenfalls für Untersuchung geeignet sind nach RITZMANN und HEINRITZI (2005) Proben aus fibrinösen Auflagerungen, Bauchhöhlenflüssigkeit, Synovia und Liquor (RITZMANN und HEINRITZI, 2005). Auch Proben von Pleura,

Perikard, Peritoneum, Gelenken, Meningen, Leber und Milz eignen sich für die Untersuchung auf *H. parasuis* (NEDBALCOVA et al., 2006; OLIVEIRA, 2007).

Als Probenmaterial eignen sich nach TURNI und BLACKALL (2007) sowohl direkte Organproben für die Anzucht, als auch Tupfer von Körperflüssigkeiten und Organen. Im Vergleich zwischen Nachweis durch PCR oder Anzucht sehen TURNI und BLACKALL (2007) einen Vorteil bei der Anzucht vor allem darin, dass auch geringe Mengen des Erregers so besser nachgewiesen werden können. PALZER et al. (2006) hingegen konnten eine deutlich verbesserte Nachweisrate von *H. parasuis* gegenüber der Anzucht feststellen, wenn eine PCR von Sammelrockentupfern der Pleura, Perikard, Peritoneum, Milz, Leber, Gelenken oder Meningen entnommen wurde.

6.3. Differentialdiagnostik

Differentialdiagnostisch zeigt *Mycoplasma hyorhinis* gleichartige Läsionen bei der pathologisch-anatomischen Untersuchung und dementsprechend eine vergleichbare Klinik. Auch das Alter, in dem durch *Mycoplasma hyorhinis* ausgelöste Erkrankungen klassischerweise auftreten, 3.-10. Lebenswoche, ähnelt dem von *H. parasuis*. Daher sollte bei der beschriebenen klinischen Ausprägung, trotz der aufwendigen Anzucht, parallel auf *Mycoplasma hyorhinis* untersucht und gegebenenfalls behandelt werden (NEDBALCOVA et al., 2006; ARAGON et al., 2012).

Bei septikämische Erscheinungen, die bei einer Infektion mit *H. parasuis* auftreten können, muss differentialdiagnostisch eine Infektion mit *Streptococcus suis*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *Salmonella choleraesuis*, *Escherichia coli* und *Porcine Influenza* ausgeschlossen werden (NEDBALCOVA et al., 2006; ARAGON et al., 2012).

Auftretende Polyarthritiden lassen an *Mycoplasma hyosynoviae* denken. Bei purulenten Verlaufsformen kann es sich auch um eine Infektion mit *Streptokokken* oder *Tuerperella pyogenes* handeln (RITZMANN und HEINRITZI, 2005).

Im Falle von zentralnervösen Erscheinungen ist eine Infektion mit *Streptococcus suis* zu berücksichtigen (RITZMANN und HEINRITZI, 2005; ARAGON et al., 2012).

7. Therapie und Prophylaxe

7.1. Therapie

Ein Mittel für die Therapie der Glässer'schen Krankheit stellen geeignete Antibiotika dar. Nach Möglichkeit sollte dazu im Vorfeld der Behandlung ein Resistenztest vorliegen (ARAGON et al., 2012). Dabei es spielt keine Rolle, ob die Antiinfektiva oral oder parenteral verabreicht werden. Entscheidend ist eine ausreichende Konzentration des Wirkstoffes, um eine Diffusion in die Cerebrospinalflüssigkeit und Gelenke gewährleisten zu können (NEDBALCOVA et al., 2006). Eine Kombinationstherapie mit einem nichtsteroidalen Entzündungshemmer wird von VIEHMANN et al. (2013) angeraten.

Da es aufgrund der Teils schwerwiegenden Erkrankung zu einem gestörten Allgemeinbefinden mit reduzierter Futter- und Wasseraufnahme kommt, ist die parenterale Verabreichung vorzuziehen, damit die notwendige Wirkstoffmenge im Tier ankommt (ARAGON et al., 2012).

7.2. Prophylaxe

Umweltfaktoren spielen bei der Entstehung der Glässer'schen Krankheit eine wichtige Rolle. Um das Risiko eines Krankheitsausbruches zu minimieren, sollte das Management und die Hygiene des betroffenen Bestandes hinsichtlich der Risikofaktoren überprüft werden (NEDBALCOVA et al., 2006; ARAGON et al., 2012). Dabei ist vor allem auf die Vorgänge beim Absetzen, Transportstress, Fehler in der Luftführung, Fehler in der eingestellten Temperatur und Mängel in der Fütterung zu achten (ZIMMERMANN, 2008). Auch das Ausschalten der genannten prädisponierenden Faktoren, die zu einem Ausbruch der Krankheit führen können, sollte in Betracht gezogen werden.

In verschiedenen Studien konnte gezeigt werden, dass die maternale Immunität bei der klinischen Ausprägung der Glässer'schen Krankheit eine Rolle spielt. Der Gehalt an Antikörpern gegen *H. parasuis* im Kolostrum beeinflusst sowohl die Besiedlung im oberen Respirationstrakt, als auch die Schwere der Erkrankung bei den Tieren, vor allem in den ersten Lebenswochen (SOLANO-AGUILAR et al.,

1999; BLANCO et al., 2004; CERDA-CUELLAR et al., 2010). Die Durchführung einer Vakzination ist eine weitere Prophylaxemaßnahme. Der Gehalt von maternalen Antikörpern im Blut bei Ferkeln ist höher, wenn sie von einer geimpften Sau abstammen (SOLANO-AGUILAR et al., 1999; ZIMMERMANN, 2008). Für die Impfung können sowohl kommerzielle als auch bestandsspezifische Vakkzine genutzt werden (NEDBALCOVA et al., 2006; ZIMMERMANN, 2008; ARAGON et al., 2012). Entscheidend ist, dass die in den Impfstoffen enthaltenen Serotypen möglichst homolog zu den auf dem Betrieb vorkommenden Serotypen sind. Nur so kann ein möglichst vollständiger Schutz induziert und der Behandlungserfolg sichergestellt werden (RITZMANN und HEINRITZI, 2005; NEDBALCOVA et al., 2006; ARAGON et al., 2012). Für NEDBALCOVA et al. (2006) sind bevorzugt Tiere mit zentralnervösen Erscheinungen, bedingt durch eine Infektion mit *H. parasuis*, zu beproben, um den Erreger für die Herstellung einer bestandsspezifischen Vakzine zu gewinnen. Hier ist gewährleistet, dass eine ausreichende Erregermenge isoliert werden kann. Zusätzlich weisen reine Lungenisolate eine hohe Heterogenität auf und der Zusammenhang zu den klinischen Erscheinungen ist nicht zwangsläufig gegeben (NEDBALCOVA et al., 2006).

RITZMANN und HEINRITZI (2005) empfehlen folgende Impfschemata: erstens für Zuchtsauen eine produktionsorientierte Grundimmunisierung acht bis fünf Wochen ante partum und drei bis zwei Wochen ante partum. Laut Angabe in der Fachinformation wird bei Sauen, die in der vorherigen Trächtigkeit zweimal geimpft worden sind, eine einmalige Impfung vier bis zwei Wochen ante partum empfohlen (INTERVET DEUTSCHLAND GMBH, 2009). Zusätzlich, oder stattdessen, kann auch eine Impfung bei Ferkeln erfolgen, die zweimalig im Abstand von zwei Wochen ab einem Alter von fünf Wochen durchzuführen ist (RITZMANN und HEINRITZI, 2005). Auch eine Vakzination der Ferkel in der dritten Lebenswoche mit Revakzination in der fünften Lebenswoche zeigt nach PALZER et al. (2007) eine Erhöhung der Tageszunahmen und eine Verbesserung der klinischen Situation. Vergleichbare Ergebnisse bezüglich der Erhöhung der Tageszunahmen stellen OH et al. (2013) fest, die in ihrem Versuch die Ferkel in der ersten Lebenswoche vakziniert haben und in der dritten Lebenswoche revakziniert.

III. MATERIAL UND METHODEN

1. Ziel der Studie

Ziel der Studie ist es, bei Schweinen nachgewiesene *Haemophilus parasuis* Feldstämme hinsichtlich ihrer Serotypen und deren Vorkommen in unterschiedlichen Altersgruppen, sowie unterschiedlichen pathomorphologischen Befunden zu charakterisieren. Dazu wurden retrospektiv Fälle ausgewertet, bei denen anhand des klinischen Bildes oder pathomorphologischer Veränderungen der Verdacht auf Glässer'sche Krankheit bestand und der Nachweis von *Haemophilus parasuis* mittels bakteriologischer und molekularbiologischer Untersuchungen bestätigt wurde.

2. Ausgewertete Fälle

Bei den in dieser Studie ausgewerteten Fällen handelt es sich um Tiere, bei denen in der bakteriologischen Untersuchung und molekularbiologischen Speziesidentifizierung mittels PCR, *Haemophilus parasuis* festgestellt werden konnte. Berücksichtigt werden Fälle aus den Jahren 2010-2013.

Insgesamt wurden die Untersuchungen von 225 Tieren ausgewertet, die aus 140 Betrieben stammen. Die geographische Verteilung der Betriebe ist in Abbildung 1 dargestellt.

Das Spektrum der Betriebe umfasst Ferkelerzeuger, Mastbetriebe, kombinierte Betriebe und Ferkelaufzüchter. Exakte Vorberichte über die in den Betrieben aufgetretenen klinischen Symptome sind nicht vorhanden. Die zur Verfügung stehenden Vorberichte beschreiben ein vermehrtes Auftreten von respiratorischen Erscheinungen, Gelenkserkrankungen und vermehrtes Kümern der Tiere.

Die Einteilung der Tiere in Altersgruppen und Gewichtsklassen wird nach Tabelle 1 vorgenommen. Die genauen Gewichte der einzelnen Tiere wurden, sofern vorhanden, den Sektionsbefunden entnommen.

Tabelle 1: Einteilung der Gewichts- und Altersgruppen

Altersgruppe	Gewichtsklasse	Gewicht in kg
Saugferkel	1	≤ 10
Aufzuchtferkel	2	10-15
Aufzuchtferkel	3	15-20
Aufzuchtferkel	4	20-25
Mastschwein	5	25-30
Mastschwein	6	≥ 30



Abbildung 1: Darstellung der geographischen Herkunft der ausgewerteten Tiere in Deutschland. Die Größe der Kreise spiegelt die in den Kreisen angegebene Anzahl der Betriebe wieder. Grundlage der Erstellung sind die Postleitzahlen der Tierbesitzer. Zwei Postleitzahlen waren nicht eindeutig zuzuordnen und entfallen in der Darstellung (Quelle: <http://www.easymapmaker.com/>)

3. Sektion

Die Sektion wurde von der nach DIN Norm EN/IEC ISO 17025 akkreditierten Außenstelle für Epidemiologie der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover durchgeführt. Die dokumentierten pathomorphologischen Befunde wurden im Hinblick auf die Zielsetzung der Arbeit ausgewertet. Hier wurde vor allem auf Befunde der serösen Häute, der Gelenke, des ZNS und auf vorhandene Ergüsse von Brust- und Bauchhöhle und Herzbeutel geachtet. Eine Einteilung der Befunde erfolgte hinsichtlich der Lokalisation und des Schweregrades. Insgesamt wurden bei der Sektion 1103 Proben entnommen und ausgewertet. Hierbei handelte es sich um Tupfer von Bronchusepithel, Lunge, Meningen, Gelenken, Pleura, Peritoneum, Perikard, Herzklappe und Sammelupfer der serösen Häute. Tabelle 2 zeigt die Aufteilung der Probenanzahl auf die Beprobungsorte. Zusätzlich ist die prozentuale Verteilung der Gesamtprobenzahl auf die Beprobungsorte dargestellt.

Tabelle 2: Verteilung der entnommenen Proben auf die Beprobungsorte. Die angegebenen Prozepte beziehen sich auf die Gesamtprobenzahl n=1103. S.s.H.=Sammeltupfer der serösen Häute

Beprobungsort	n	%
Bronchusepithel	224	20,31
Lunge	224	20,31
Meningen	103	9,34
Gelenke	118	10,7
Pleura	164	14,87
Peritoneum	83	7,52
Perikard	156	14,14
Herzklappe	15	1,36
S.s.H.	16	1,45
Gesamt	1103	100

4. Bakteriologie

In der Sektion gewonnene Proben werden von dem bakteriologischen Labor der nach DIN Norm EN/IEC ISO 17025 akkreditierten Außenstelle für Epidemiologie der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover durchgeführt.

5. PCR

Isolate, die in der mikrobiologischen Untersuchung als *Haemophilus parasuis* verdächtig angesprochen wurden, werden von der nach DIN Norm EN/IEC ISO 17025 akkreditierten IVD GmbH, Hannover, einer speziesspezifischen PCR unterzogen. Die Extraktion der Desoxyribonukleinsäure erfolgt mit Hilfe des MagMAX™ Express 96 (Thermo Fisher Scientific Inc, Waltham, USA) laut Herstellerangaben. Die durchgeführte Multiplex-PCR beruht auf Grundlage eines Protokolls, welches in der IVD, Hannover, entwickelt und validiert wurde. Mittels dieser Multiplex-PCR werden spezifische Genabschnitte von *H. parasuis* nachgewiesen. Die Multiplex-PCR wird mit Hilfe des Qiagen® Multiplex PCR Kits (Qiagen, Hilden, Deutschland) durchgeführt. Ein Ansatz von 25 µl enthält 2,5 µl Template-DNA, 1 µl interne Amplifikationskontrolle auf Grundlage des EGFP-Plasmids, 12,5 µl 2xQ-Puffer, 0,225 µl Primer-Mix (100pmol/µl Primer-Stammlösung) und 8,8 µl destilliertes Wasser. Das folgende Temperatur-Zeit-Profil der PCR bestand aus der initialen Denaturierung bei 95°C für 900 Sekunden, gefolgt von 39 Zyklen mit Denaturierung bei 94°C für 40 Sekunden, der Anlagerung bei 62°C für 50 Sekunden und der Synthese bei 72°C für 30 Sekunden in einem Thermocycler (Mastercycler®, Firma Eppendorf, Hamburg, Deutschland). Die Produkte der PCR werden einer Gelelektrophorese unterzogen und in einem 2% Agarosegel, unter Zugabe von 7µl Ethidiumbromid bei 240 Volt nach 80-90 Minuten Laufzeit, mittels ultravioletten Lichts sichtbar gemacht.

6. Serotypisierung

Die Typisierung der Isolate erfolgt von der nach DIN Norm EN/IEC ISO 17025 akkreditierten IVD GmbH, Hannover, im indirekten Hämagglutinationstest.

Die Durchführung des indirekten Hämagglutinationstest erfolgt wie bei TADJINE et al. (2004) beschrieben. Verwendete Referenzseren sind Antiseren gegen *H. parasuis* Referenzstämme, die von der BioGenes GmbH, Berlin, in Anlehnung

der bei MITTAL et al. (1982) beschriebenen Protokolle hergestellt wurden, wobei kein formalininaktiviertes Antigen verwendet wurde. In Vorbereitung für den indirekten Hämagglutinationstest wird das verwendete Antigen bei 95°C für 30 Minuten erhitzt (Heater MBT-250, ETGmbH, Ilmenau, Deutschland) und dann bei 2000g für 10 Minuten zentrifugiert (Heraeus Pico 17 Centrifuge, Thermo Fisher Scientific Inc, Waltham, USA). Die verwendeten Schaferythrozyten wurden nach Entnahme für 10-14 Tage bei einer Temperatur von 5-8°C gelagert, bevor sie verwendet werden. Sie werden 2-fach mit PBS gewaschen und bei 1700g für 3 Minuten zentrifugiert. Der Überstand wird verworfen. Bevor die Referenzseren verwendet werden können, muss eine Inaktivierung bei 56°C für 30 Minuten erfolgen. Anschließend werden ihnen in einer Verdünnung von 1:10 die gewaschenen Schaferythrozyten zugegeben und der Ansatz bei Raumtemperatur für 60 Minuten inkubiert, um heterophile Antikörper zu entfernen. Es folgt eine Zentrifugation bei 2900g für 5 Minuten. Der Überstand wird abgenommen. Die so behandelten Seren werden mit PBS in einem Verhältnis von 1:5 verdünnt. Schaferythrozyten werden nun in einem Verhältnis von 1:10 dem *H. parasuis*-Antigen zugegeben. Die Sensibilisierung der Schaferythrozyten erfolgt nun bei 37°C für 60-120 Minuten. Eine weitere Zentrifugation erfolgt bei 325g für 5 Minuten und der Überstand wird verworfen. Das Erythrozyten/Antigen-Gemisch wird zu einer 0,5%igen Erythrozyten/Antigen-Lösung mit PBS verdünnt. Anschließend folgt die Durchführung des indirekten Hämagglutinationstest. Dafür werden in einer Round-Well-Plate 50µl PBS vorgelegt. Dazu werden 50µl der jeweiligen Referenzseren (der 1:5 Verdünnung) gegeben. Nun erfolgt eine Titration mit jeweils 50µl des Serum-PBS-Gemisches in Form einer geometrischen Verdünnungsreihe. Anschließend erfolgt die Zugabe von 50µl der 0,5% Erythrozyten/Antigen-Lösung. Anschließend werden die Platten bei 37°C für 120 Minuten inkubiert. Durchgeführte Kontrollen schließen eine Serumkontrolle (nicht sensibilisierte Schaferythrozyten mit Referenzserum), eine Antigenkontrolle (sensibilisierte Schaferythrozyten mit Referenzisolaten) und eine Negativkontrolle (sensibilisierte Schaferythrozyten mit PBS) ein. Die Auswertung des Tests erfolgt durch das Ablesen der eingetretenen Agglutination im Vergleich mit der Negativkontrolle. Bewertet werden Verdünnungen mit einem Titer von 1:20. Als Positiv wurden dabei nur deutliche punktförmige Agglutinationen, beziehungsweise komplett dissoziierte, berücksichtigt. Auf veröffentlichten

Befunden werden nur klar anzusprechende Serotypen angegeben. Als negativ für den getesteten Serotyp kennzeichnen sich Proben durch eine fehlende respektive eine undeutliche Agglutination. Auftretende Kreuzreaktionen mit anderen Serotypen werden erfasst.

7. Statistik

Statistische Einheit waren die einzelnen Tiere beziehungsweise Fälle. Eine prozentuale Auswertung findet erst bei einer Gruppengröße von $n=30$ statt. Für die Erfassung der Befunde wird das Programm Microsoft® Office Excel® 2007 für Windows verwendet. In diesem Programm werden die Daten erfasst und in nominale sowie ordinale Variablen umkodiert. Die deskriptive Auswertung der so erhobenen Daten erfolgt mittels der Statistik-Software IBM® SPSS® Statistics Version 22. Die grafische Darstellung dieser Ergebnisse erfolgt mittels Microsoft® Office Excel® 2007 für Windows. Um eine mögliche Abhängigkeit der Verteilung der Tiere beziehungsweise Fälle von den zur Auswertung herangezogener Parametern zu berechnen (zum Beispiel Altersgruppe), wurde der χ^2 -Test, sowie der exakte Test nach Fisher genutzt. Das Signifikanzniveau für die vorliegende Untersuchung wurde mit $p \leq 0,05$ festgelegt. Bei Mehrfachvergleichen erfolgte eine Adjustierung des Signifikanzniveaus nach Bonferroni-Holm.

IV. ERGEBNISSE

1. Ergebnisse aller betrachteten Fälle

1.1. Zusammensetzung des Tiermaterials

Insgesamt wurden 225 Fälle im Rahmen dieser Untersuchung ausgewertet. Sie verteilen sich auf die in Abbildung 2 dargestellten Betriebsstrukturen (Abbildung 2).

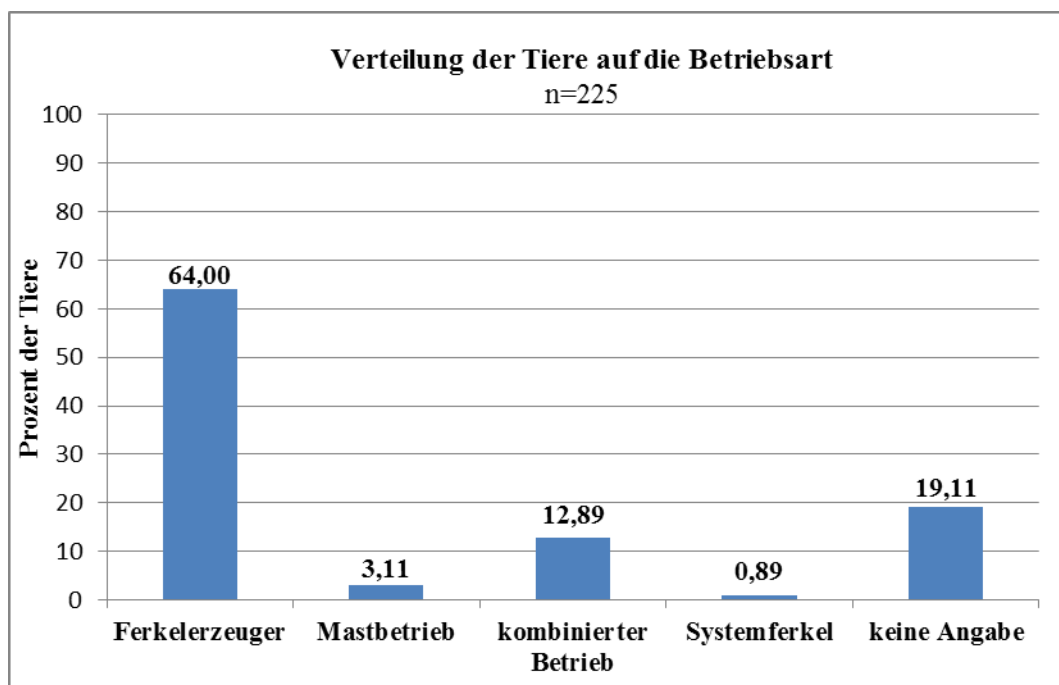


Abbildung 2: Die Verteilung der ausgewerteten Fälle auf die unterschiedlichen Betriebsstrukturen. Die Angabe erfolgt in Prozent. Die Menge der ausgewerteten Fälle beträgt insgesamt n=225.

In Abbildung 3 ist die Verteilung der Tiere auf Altersgruppen dargestellt. Dem Bereich „Aufzuchtferkel“ lassen sich mit 62,22% (140/225) signifikant mehr Tiere ($p < 0,001$) zuordnen als den übrigen Altersgruppen. Der Kategorie „Saugferkel“ wurden 29,78% (67/225) der Tiere der Kategorie zugeordnet, während 8,00% (18/225) der Kategorie Mastschwein zuzuordnen sind ($p < 0,001$).

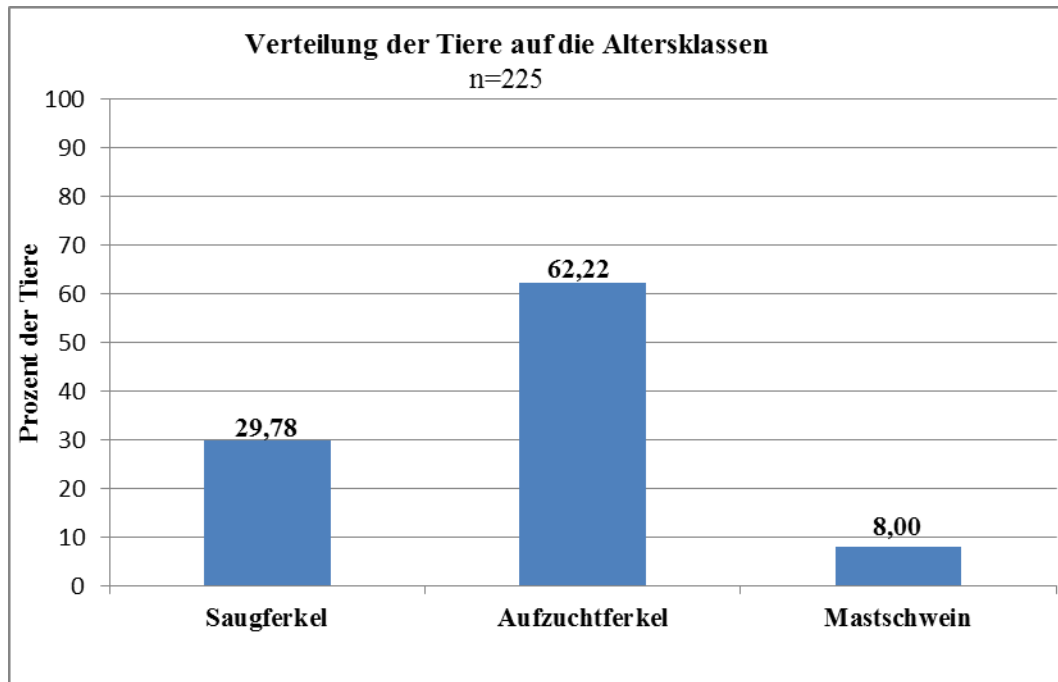


Abbildung 3: Prozentuale Verteilung der ausgewerteten Tiere auf Altersklasse. Die Menge beträgt n=225.

Tabelle 3 zeigt die Aufteilung der ausgewerteten Tiere auf die unterschiedlichen Gewichtsklassen. Dabei wurde ein Gewicht unter 15kg bei 68,89% (155/225) der Tiere festgestellt. Gewichte über 15kg wurden bei 22,22% (50/225) festgestellt. In Gewichtsklassen $\leq 8\text{kg}$ und 8kg-15kg befinden sich signifikant mehr Tiere ($p < 0,001$), als in den restlichen Gewichtsklassen.

Tabelle 3: Verteilung der Fälle auf Gewichtsklassen n=225

Gewichtsklassen	n	%
$\leq 8\text{kg}$	67	29,78
8kg-15kg	88	39,11
15kg-20kg	19	8,44
20kg-25kg	19	8,44
25kg-30kg	5	2,22
$\geq 30\text{kg}$	7	3,11
keine Zuordnung	20	8,89
Gesamt	225	100,00

Bezüglich der Verteilung der Geschlechter auf die ausgewerteten Fälle ergab sich kein signifikanter Unterschied ($p=0,096$) zwischen männlichen und weiblichen Tieren, wobei 15,11% der Tiere (34/225) ohne Zuordnung sind.

Tabelle 4: Verteilung der untersuchten Tiere auf das Geschlecht. n=225

Geschlecht	n	%
männlich	107	47,56
weiblich	84	37,33
keine Zuordnung	34	15,11
Gesamt	225	100,00

1.2. Auswertung der Sektionsbefunde

In Abbildung 4 sind die pathomorphologischen Befunde der beurteilten Tiere dargestellt, wobei es möglich ist, bei den Tieren zum Teil multiple Befunde zu erheben. Die Auswertung der Sektionsbefunde ergab in der makroskopischen Untersuchung bei 86,66% (175/225) der Tiere Pneumonien, bei 46,22% (104/225) Arthritiden und bei 34,66% (78/225) Pleuritiden. Ein Erguss in der Brusthöhle konnte bei 5,77% (13/225) der Tiere festgestellt werden.

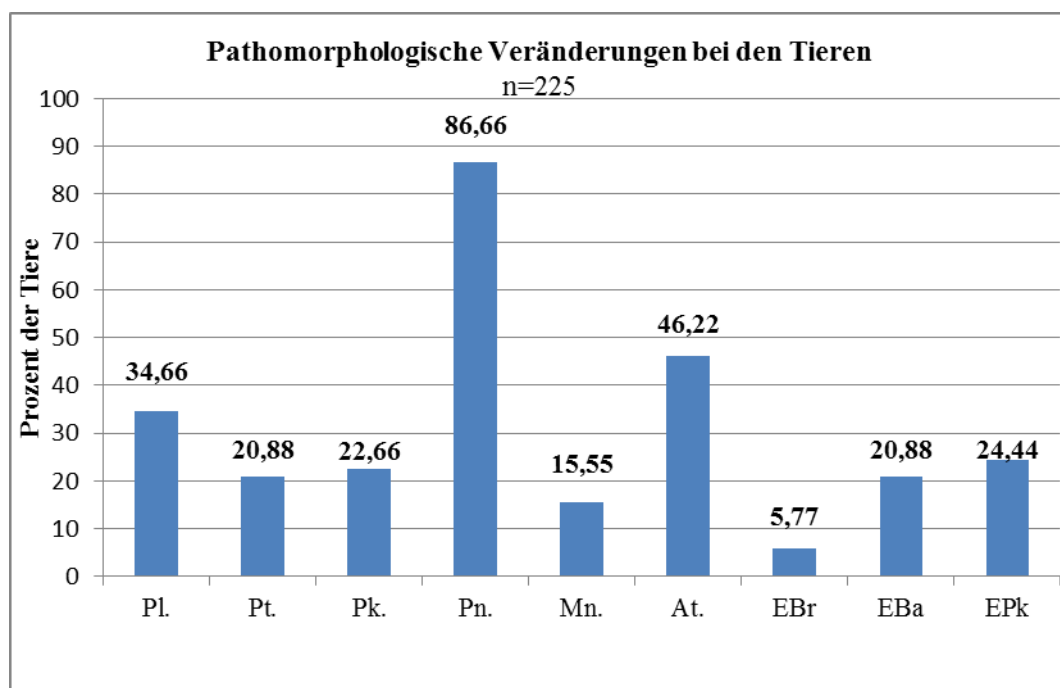


Abbildung 4: Pathomorphologisch erhobene Befunde bei den ausgewerteten Tieren in %. Pl.=Pleuritis, Pt.=Peritonitis; Pk.=Perikarditis, Pn=Pneumonie, Mn.=Meningitis, At.=Arthritis, EBr=Erguss Brusthöhle, EBa=Erguss Bauchhöhle, EPk=Erguss Perikard. Die Tierzahl beträgt n=225.

Bei 91 von 225 (40,44%) der untersuchten Tieren wird eine Serositis in der makroskopischen Untersuchung festgestellt. Tiere ohne Serositis treten signifikant häufiger auf ($p=0,004$, 59,55%, 134/225) als Tiere, bei denen eine Serositis festgestellt wird.

Bei 23,11% der Tiere (52/225) ist es möglich, eine Polyserositis von einer Monoserositis 17,33% (39/225) abzugrenzen (Tabelle 5). Betrachtet man die Häufigkeit des Auftretens zwischen einer Monoserositis und einer Polyserositis bei den Tieren, lässt sich kein signifikanter Unterschied feststellen ($p=0,173$).

Tabelle 5: Vorkommen einer Monoserositis oder Polyserositis bei den ausgewerteten Tieren. Die Gesamtprobenzahl beträgt $n=225$.

Monoserositis	39/225	17,33%
Polyserositis	52/225	23,11%
Serositis gesamt	91/225	40,44%
Keine Serositis	134/225	59,55%
Gesamt	225	100,00%

In Abbildung 5 ist die Verteilung der pathomorphologischen veränderten serösen Häute für Tiere dargestellt, bei denen in der pathomorphologischen Untersuchung eine Serositis diagnostiziert worden ist.

In der pathomorphologischen Untersuchung ist bei 69,23% (27/39) der Tiere, die eine Monoserositis haben, wird eine Pleuritis festgestellt. Eine Peritonitis wurde bei 25,64% (10/39) der Tiere diagnostiziert und eine Perikarditis bei 5,13% (2/39). Bei Tieren, bei denen eine Monoserositis festgestellt wurde, ist signifikant häufiger eine Pleuritis (69,23%; 27/39), als eine Peritonitis (25,64%; 10/39) ($p=0,005$) oder Perikarditis ($p<0,001$) diagnostiziert worden. Beim Auftreten einer Peritonitis im Vergleich zu einer Perikarditis wurde die Peritonitis (25,64%; 10/39) signifikant häufiger ($p=0,021$) diagnostiziert als die Perikarditis (5,13%, 2/39).

Bei Tieren mit Polyserositis wurde in der pathomorphologischen Untersuchung bei 9,61% (5/52) der Tiere eine Pleuritis mit einer Peritonitis festgestellt. Eine Pleuritis mit Perikarditis wurde bei 28,85% (15/52), eine Kombination aus Pleuritis mit Peritonitis und Perikarditis bei 55,77% (29/52) und eine Peritonitis mit Perikarditis bei 5,77% (3/52) der Tiere festgestellt.

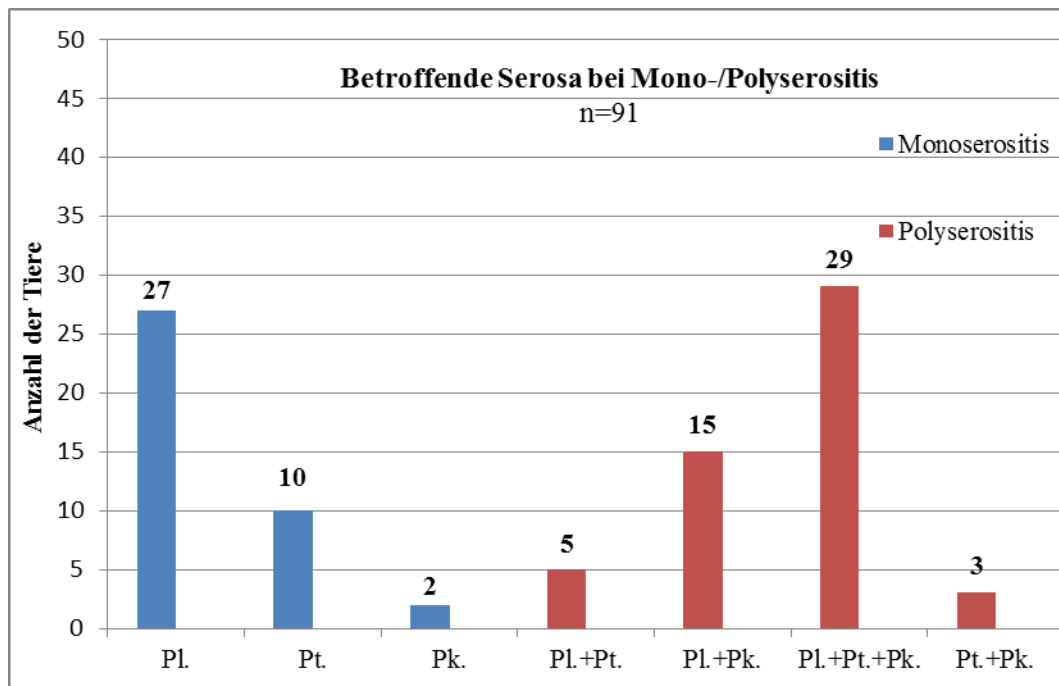


Abbildung 5: Diagnostizierte Veränderungen der serösen Häute Pleura (Facies costalis und pulmonalis), Peritoneum und Perikard bei den ausgewerteten Tieren mit Mono- und Polyserositis. Pl=Pleuritis, Pt.=Peritonitis, Pk=Perikarditis. Die Zahl der Tiere beträgt n=91.

Wurde bei den Tieren eine Polyserositis diagnostiziert, ist eine Kombination aus Pleuritis mit Peritonitis und Perikarditis signifikant häufiger festgestellt ($p=0,035$) worden, als eine Pleuritis in Kombination mit einer Perikarditis beziehungsweise eine der anderen festgestellten Kombinationen ($p<0,001$). Einen signifikanten Unterschied bezüglich Häufigkeit bei Tieren mit Polyserositis ergab die Konstellation Pleuritis mit Perikarditis im Vergleich Pleuritis mit Peritonitis ($p=0,025$) beziehungsweise im Vergleich mit dem Auftreten einer Peritonitis in Kombination mit einer Perikarditis ($p=0,005$). Betrachtet man dagegen die Häufigkeit einer Peritonitis mit einer Perikarditis im Vergleich zu einer Pleuritis mit Peritonitis bei den oben genannten Tieren, so lässt sich keine signifikante Häufung feststellen ($p=0,48$).

1.3. Ergebnisse der Auswertung der Beprobungsorte

Die Tabelle 6 zeigt die Auswertung der Lokalisationen, von denen die Proben abstammen, die anschließend auf *Haemophilus parasuis* untersucht worden sind.

Insgesamt wurden aus neun verschiedenen Beprobungsorten 1103 Proben gewonnen und auf *H. parasuis* untersucht. Der Nachweis mittels Anzucht und anschließender Spezies-PCR gelang aus 33,72% (372/1103) der Proben. Die Verteilung der Nachweise auf die Beprobungsorte ist in Abbildung 6 und Tabelle 6 dargestellt.

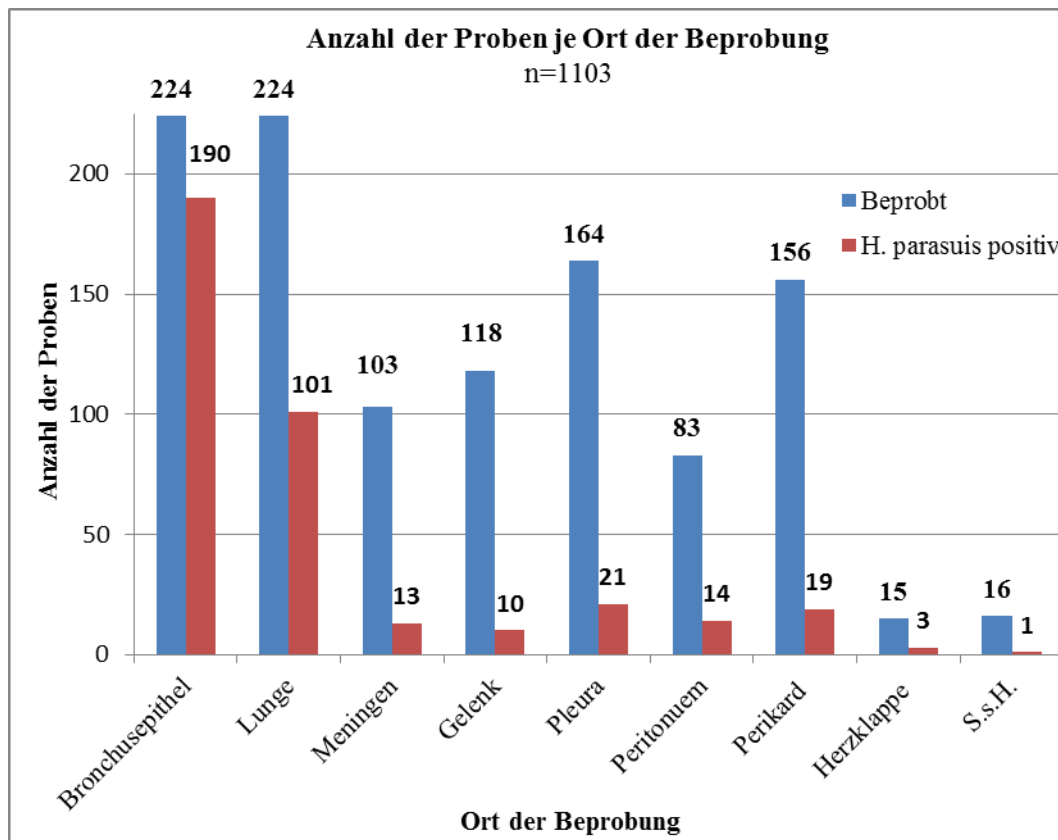


Abbildung 6: Anzahl der Gesamtpuben auf die jeweiligen Beprobungsorte und die jeweilige Anzahl der *H. parasuis* positiven Proben je Beprobungsort. S.s.H.=Sammeltupfer seröse Häute; n=1103.

Tabelle 6: Prozentuale Anteile der Nachweise von *H. parasuis* je Beprobungsort. n=372

Probenmaterial	Nachweis <i>H. parasuis</i> von % der Proben	Anteil an den positiven Proben (n=372)
Bronchusepithel (n=224)	84,82 (n=190)	51,07%
Lunge (n=224)	45,09 (n=101)	27,15%
Meningen (n=103)	12,62 (n=13)	3,49%
Gelenke (n=118)	8,47 (n=10)	2,69%
Brustfell (n=164)	12,80 (n=21)	5,64%
Bauchfell (n=83)	16,87 (n=14)	3,76%
Perikard (n=156)	12,18 (n=19)	5,11%
Herzklappe (n=15)	20,00 (n=3)	0,80%
Sammeltupfer seröse Häute (n=16)	6,25 (n=1)	0,27%

Bei 99,55% (224/225) der Tiere wurden sowohl das Bronchusepithel, als auch die Lunge beprobt. Das Brustfell wurde bei 72,88% (164/225) und das Perikard bei 69,33% (156/225) der Tiere beprobt.

Aus Proben des Bronchusepithels gelang in 84,82% (190/224) der Fälle ein Nachweis. Bei Proben von Sammeltpuffer der serösen Häute waren es 6,25% (1/16) der Fälle und bei Beprobungen der Herzklappen 20,00% (3/15).

Die Nachweisraten von Proben aus den Meningen liegen bei 12,62% (13/103), aus dem Gelenk bei 8,47% (10/118), dem Brustfell bei 12,80% (21/164) und dem Perikard bei 12,17% (19/156).

H. parasuis Nachweise aus respiratorisch-assoziierten Lokalisationen liegen bei 78,22% (291/372). Bei den übrigen Geweben konnte eine Nachweisrate von 21,77% (81/372) festgestellt werden.

2. Ergebnisse der Serotypisierung

Bei den ausgewerteten Fällen (n=225) war es möglich, 15 unterschiedliche Serotypen mittels des indirekten Hämagglutinationstests festzustellen. Dabei konnte in 232 Fällen ein Serotyp einem Tier zugewiesen werden. Bei 88,88%

(200/225) der Schweine konnte ein Serotyp je Tier isoliert werden, während es bei 11,11% (25/225) der Tiere möglich war bis zu drei unterschiedliche Serotypen je Tier nachweisen zu können. In 20 Fällen war es nicht möglich, die isolierten *H. parasuis*-Stämme, mit der angewandten Methodik, zu typisieren. Die Auflistung der Serotypen ist Abbildung 7 zu entnehmen.

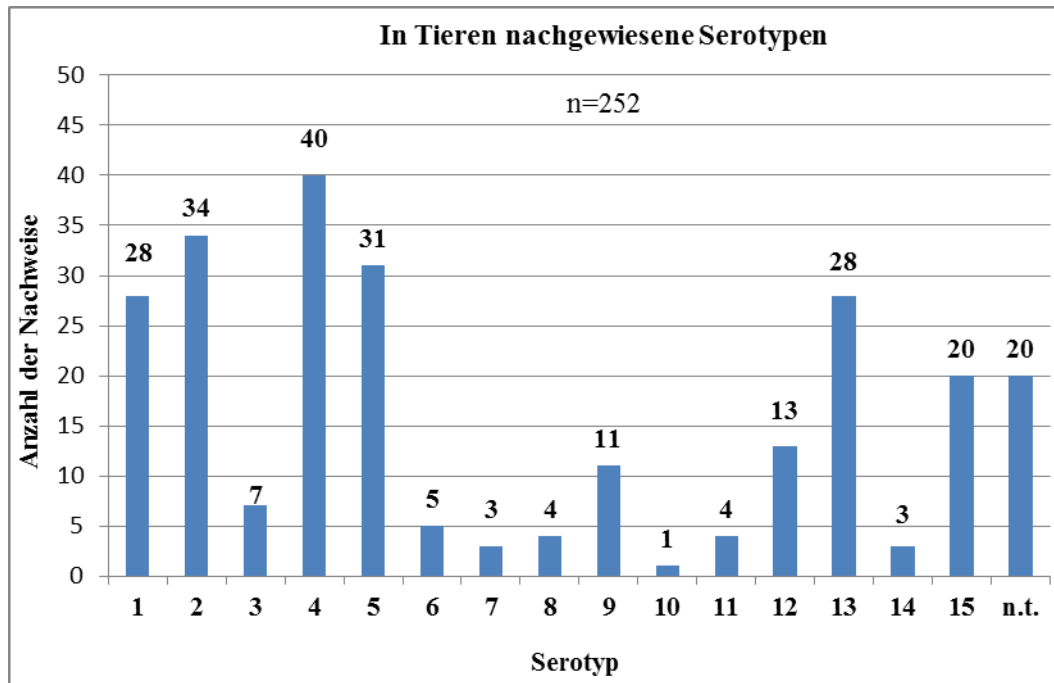


Abbildung 7: In den ausgewerteten Tieren mittels indirektem Hämagglutinationstest nachgewiesene Serotypen. In einem Tier können mehrfache nachgewiesene Serotypen vorkommen. n=252.

Der Serotyp 4 wurde bei 17,77% (40/225) der Tiere nachgewiesen. Serotyp 2 konnte bei 15,11% (34/225) der Tiere und Serotyp 5 bei 13,77% (31/225) der Tiere nachgewiesen werden. Die Serotypen 1 12,44% (28/225) und 13 12,44% (28/225) konnten bei der gleichen Anzahl von Tieren nachgewiesen werden. Bei einem Tier konnte der Serotyp 10 detektiert werden. Bei den anderen Serotypen zeigte sich folgende Verteilung. Der Serotyp 3 konnte bei 3,11% (7/225), 6 bei 2,22% (5/225), 7 bei 1,33% (3/225), 8 bei 1,77% (4/225), 9 bei 4,88% (11/225), 11 bei 1,77% (4/225), 12 5,77% (13/225) und Serotyp 14 bei 1,33% (3/225) der Tiere nachgewiesen werden. Die durch den IHA nicht zu typisierende Proben betrugen 7,94% (20/252) der Probenzahl.

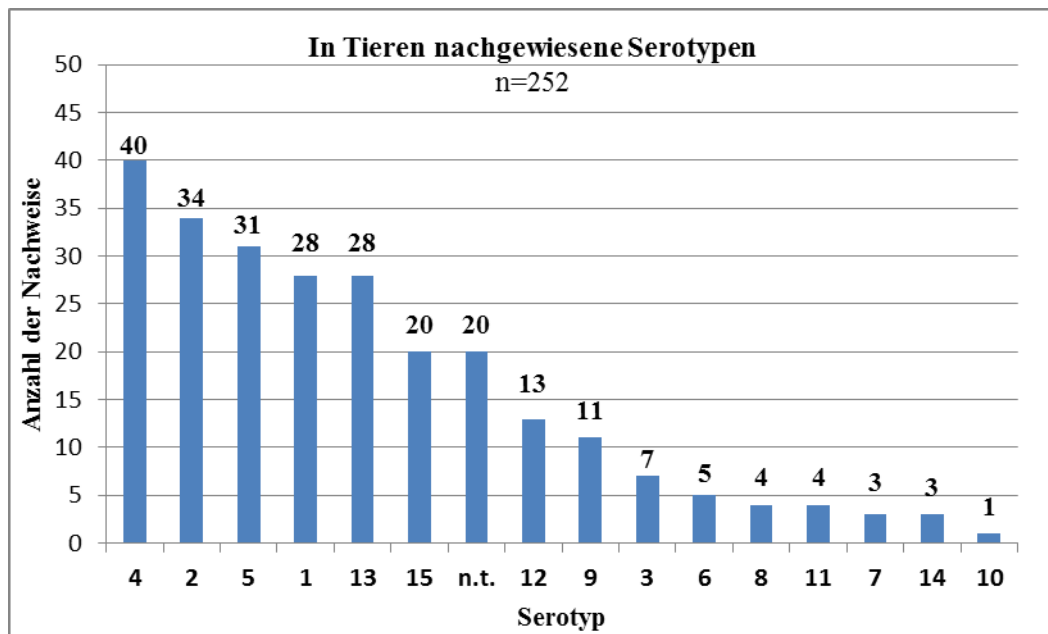


Abbildung 8: In den ausgewerteten Tieren mittels indirektem Hämagglutinationstest nachgewiesene Serotypen, absteigend mit der Anzahl der Nachweise. In einem Tier können mehrfache nachgewiesene Serotypen vorkommen. n=252.

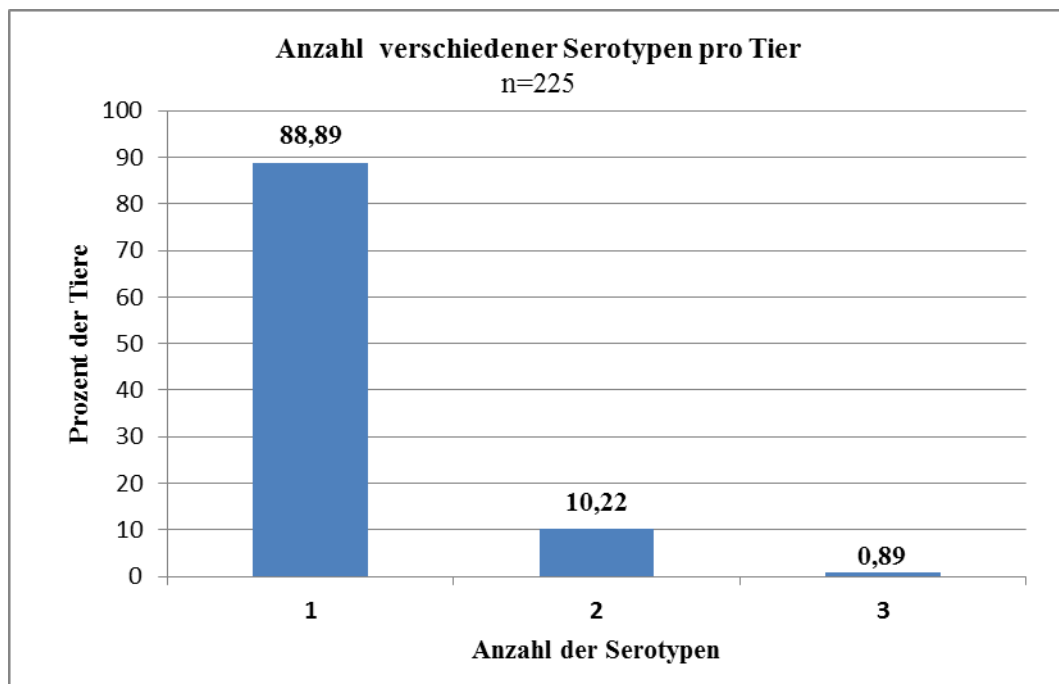


Abbildung 9: Anzahl der nachzuweisenden Serotypen je Tier. Die Gesamtzahl der ausgewerten Fälle beträgt n=225.

Der Nachweis nur eines Serotyps je Tier war signifikant häufiger ($p < 0,001$; 200/225) als der Nachweis mehrerer Serotypen je Tier. Konnten mehrere

Serotypen je Tier nachgewiesen werden, war das Auftreten zweier Serotypen signifikant häufiger ($p < 0,001$; 23/25) als das Auftreten von drei Serotypen (2/225) je Tier.

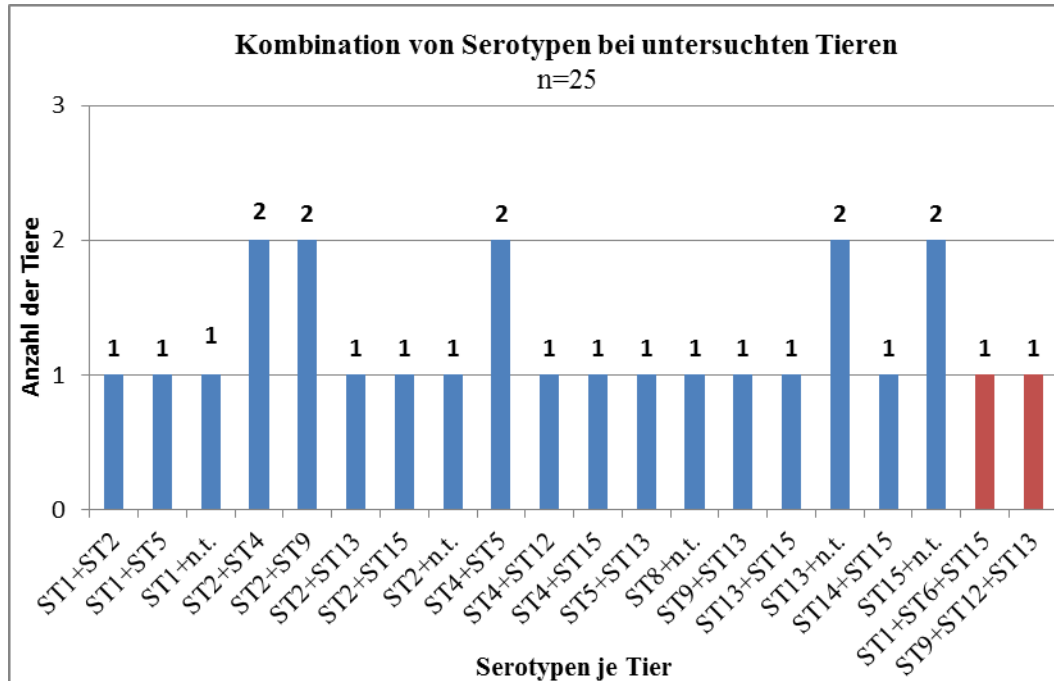


Abbildung 10: Mittels indirektem Hämagglutinationstest nachgewiesene Kombinationen von Serotypen bei den untersuchten Tieren. Die Probenzahl beträgt n=25. In rot sind Kombinationen aus drei unterschiedlichen Serotypen dargestellt, die in einem Tier festgestellt werden konnten.

2.1. Ergebnisse bei Monoinfektion

Berücksichtigt man ausschließlich die Tiere, bei denen der Nachweis eines Serotyps aus dem Tier möglich war, ergibt sich die Aufstellung in Abbildung 11.

Betrachtet man die Verteilung der Serotypen bei den ausgewählten Tieren, ergibt sich, dass Serotyp 4 bei 17,00% (34/200), Serotyp 5 bei 13,50% (27/200) und Serotyp 2 bei 13,00% (26/200) nachgewiesen wurden. Der Anteil der mittels IHA nicht typisierbaren Proben beläuft sich auf 6,50% (13/200). Serotyp 4 wurde bei 17,00% (34/200) der Tiere nachgewiesen. Der Serotyp 5 wurde 13,50% (27/200), 2 bei 13,00% (26/200), 1 bei 12,00% (24/200) und 13 bei 10,50% (21/200) der Tiere detektiert.

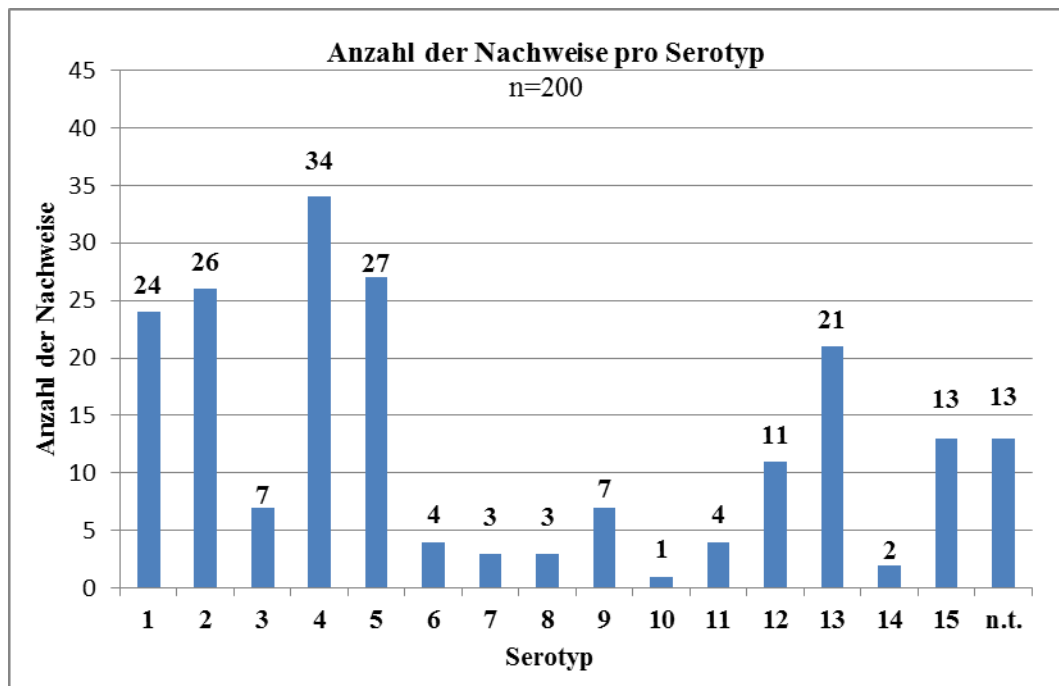


Abbildung 11: Mittels indirektem Hämagglutinationstest nachgewiesene Serotypen, Nachweis nur eines Serotyp pro Tier; n=200.

2.2. Zusammensetzung des Tiermaterials

Um eine möglichst sichere Assoziation von Serotypen zu Betriebsart, Altersgruppe, pathomorphologischen Befunden und Isolationsort zu ermöglichen, werden für die folgenden Betrachtungen nur die Tiere herangezogen, aus denen sich nur ein einzelner Serotyp nachweisen lässt.

Betrachtet man die Verteilung der Serotypen auf die einzelnen Betriebsarten, ergibt sich Abbildung 11. Dabei ist von 200 Tieren, bei denen sich nur ein Serotyp pro Tier nachweisen lässt, bei 161 Tieren die Betriebsart, aus dem das Tier stammt, angegeben.

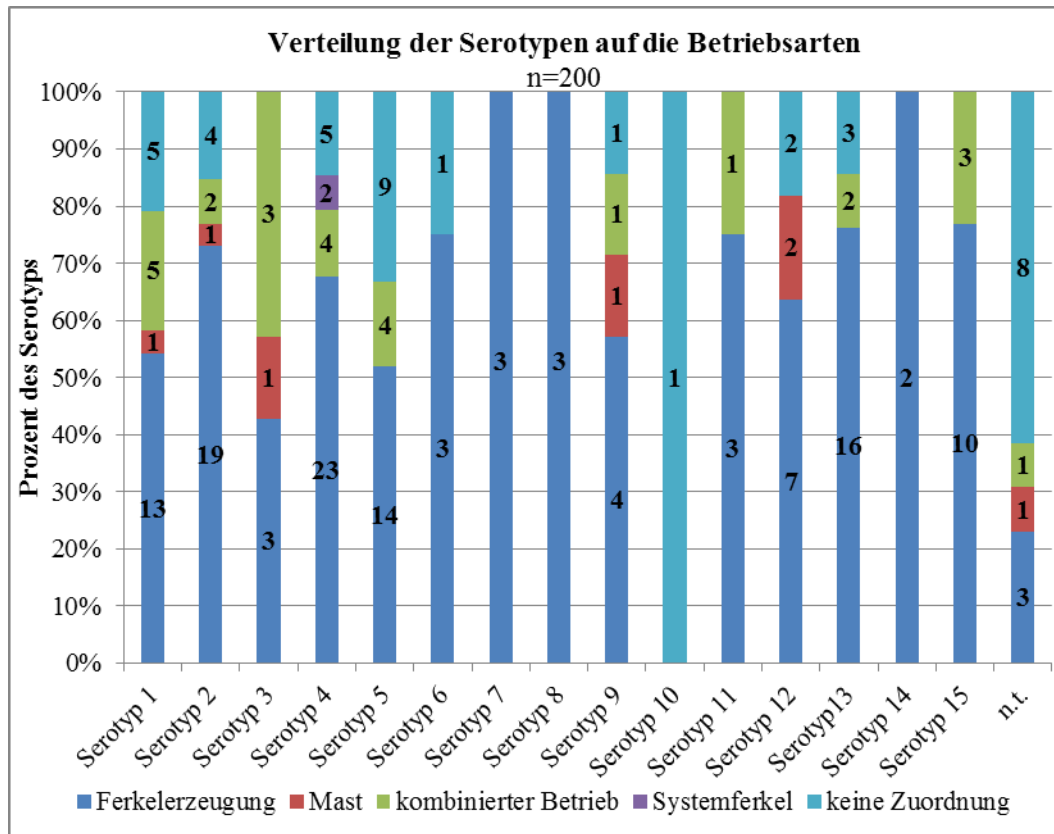


Abbildung 12: Die Verteilung der Serotypen auf die Betriebsart. Dabei ist jeweils nur ein Serotyp pro Tier nachgewiesen worden; n=200. In den Säulen angegebene Zahlen bezeichnen die Anzahl des jeweiligen Serotyps.

Die Serotypen 2 ($p < 0,001$), 4 ($p < 0,001$) und 13 ($p = 0,001$) sind signifikant häufiger bei der Betriebsart „Ferkelerzeugung“ nachzuweisen, als bei anderen Betriebsarten. Die Serotypen 7, 8 und 14 sind nur bei der Betriebsart „Ferkelerzeugung“ aufgetreten.

Um die prozentuale Aufteilung der Altersgruppen innerhalb jedes Serotyps darzustellen, ist Abbildung 13 angefügt. Die Zahl innerhalb der Balken gibt die Anzahl der Nachweise wieder.

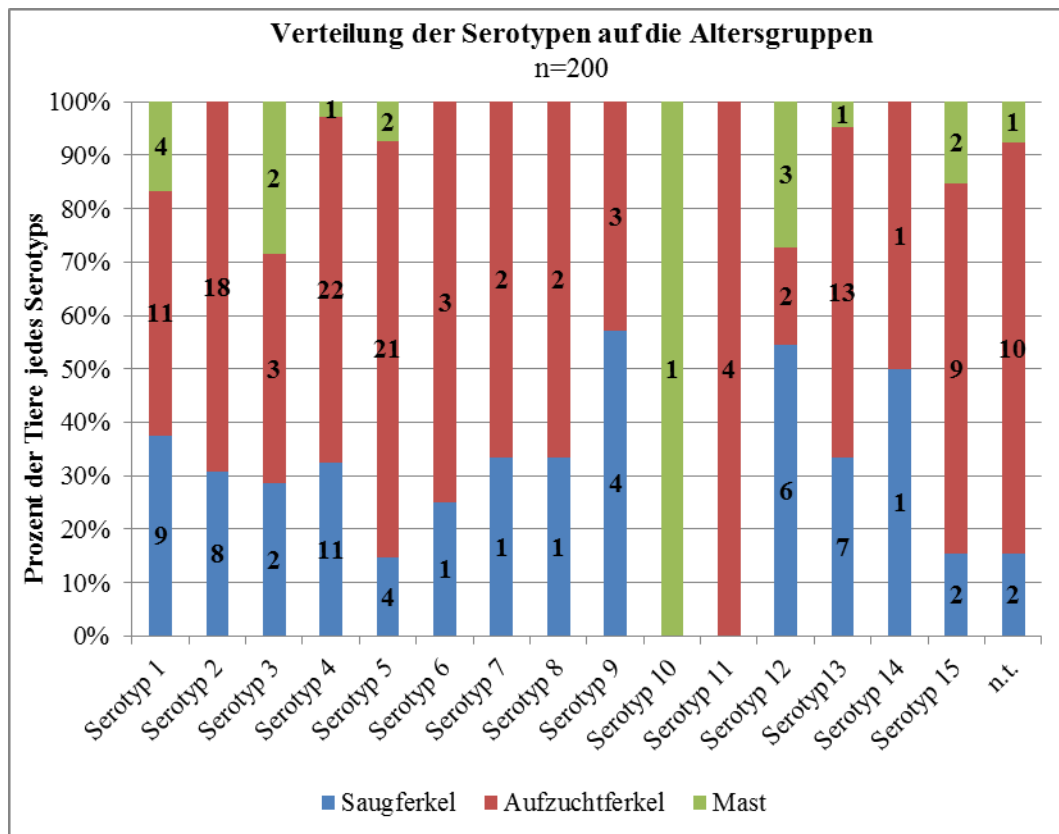


Abbildung 13: Nachweis der Serotypen aufgeteilt nach Altersgruppen. Dabei ist jeweils nur ein Serotyp pro Tier nachgewiesen worden; n=200.

In der Altersgruppe „Saugferkel“ lassen sich mit Ausnahme von Serotyp 10 und 11 alle Serotypen nachweisen. Ausschließlich in der Altersgruppe „Mast“ lässt sich Serotyp 10 (1/200, 0,50%) nachweisen, während der Serotyp 11 (4/200, 2,00%) bei der Gruppe „Aufzuchtferkel“ zu finden ist.

Vergleicht man das Auftreten der Serotypen bei den Altersgruppen, so lässt sich bis auf die „Aufzuchtferkel“ keine signifikante Häufung innerhalb einer Altersgruppe feststellen. „Aufzuchtferkel“ waren signifikant häufiger mit *H. parasuis* Serotyp 5 ($p=0,001$) infiziert, im Vergleich zur Altersgruppe „Saugferkel“ oder „Masttiere“.

2.3. Pathomorphologische Befunde

In den Abbildungen 14, 15, 16 und 17 ist das Auftreten von pathomorphologischen Veränderungen bei Nachweis der Serotypen dargestellt. Dabei wurden nur Tiere berücksichtigt, bei denen mittels des indirekten

Hämagglutinationstest (IHA) nur ein Serotyp pro Tier zu ermitteln ist und der ermittelte Serotyp eindeutig ist. Somit wurden die Tiere nicht berücksichtigt, bei denen im IHA-Test bei der Serotypisierung Kreuzreaktionen zu beobachten waren.

Bei 130 von 225 Tieren konnte einem Tier eindeutig ein Serotyp zugewiesen werden. Dadurch ist es möglich, einen Zusammenhang zwischen pathomorphologischen Veränderungen und identifiziertem Serotyp herzustellen. Bei 13 Tieren gelang es nicht, mittels IHA-Tests einen Serotyp nachzuweisen. Dementsprechend wurden sie in der nachfolgenden Betrachtung nicht berücksichtigt.

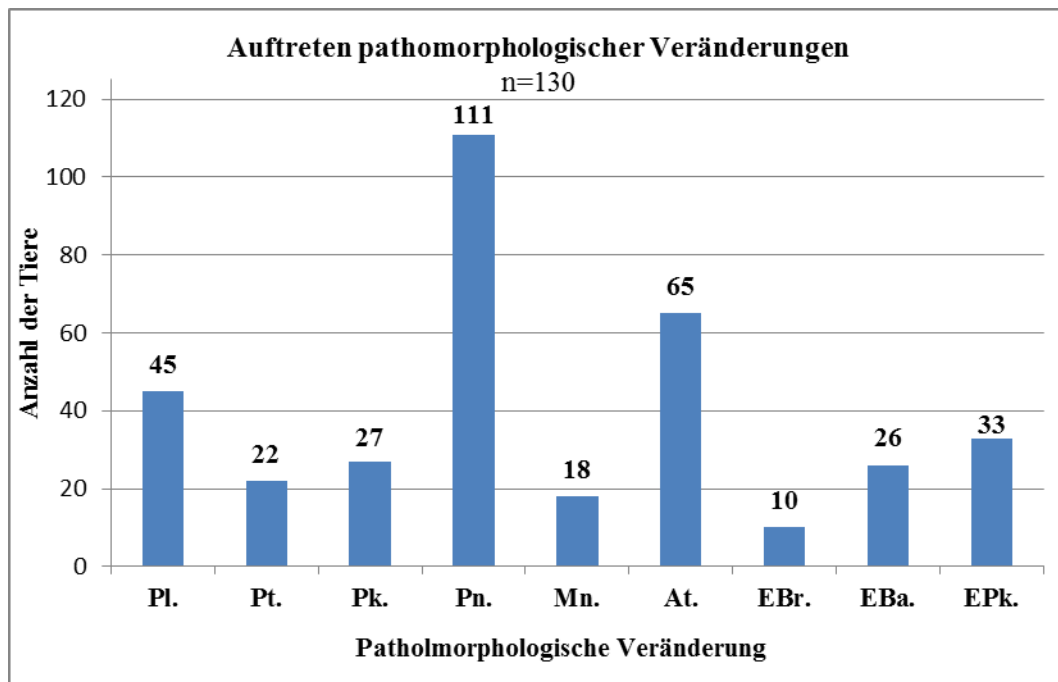


Abbildung 14: Auftreten von pathomorphologischen Veränderungen bei Tieren mit Nachweis nur eines Serotyp. Pl.=Pleuritis, Pt.=Peritonitis; Pk.=Perikarditis, Pn=Pneumonie, Mn.=Meningitis, At.=Arthritis, EBr=Erguss Brusthöhle, EBa=Erguss Bauchhöhle, EPk=Erguss Perikard. Die Gesamtzahl beträgt n=130.

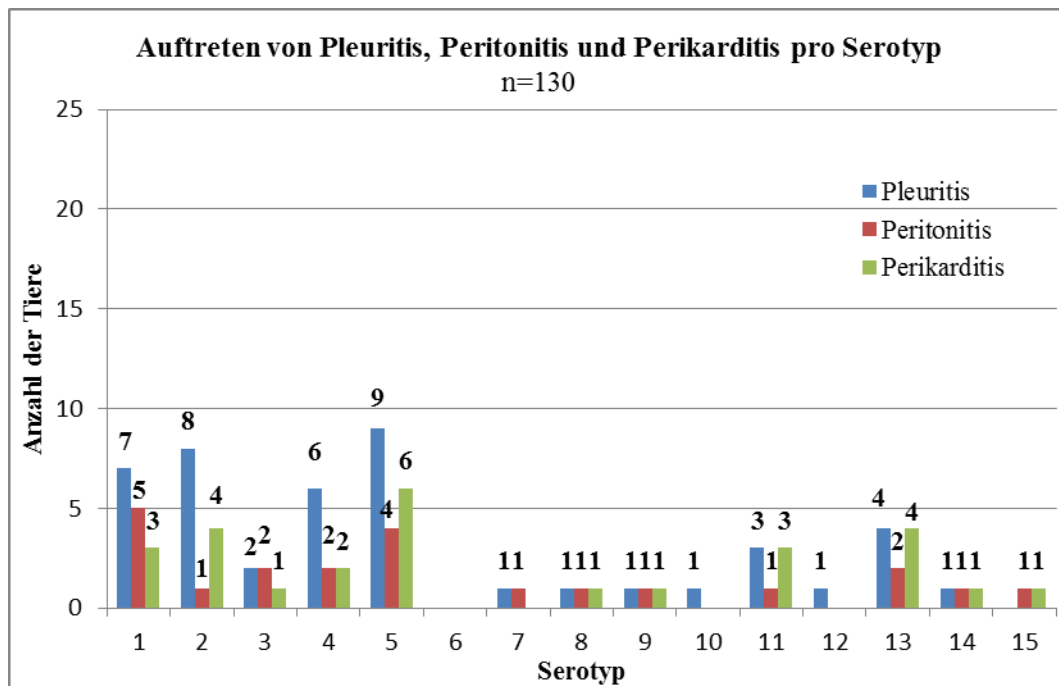


Abbildung 15: Pathomorphologische Veränderung bei makroskopischer Befundung. Dabei ist jeweils nur ein Serotyp pro Tier nachgewiesen worden, Serotypen mit Kreuzreaktionen im indirektem Hämagglutinationstest nicht berücksichtigt; n=130.

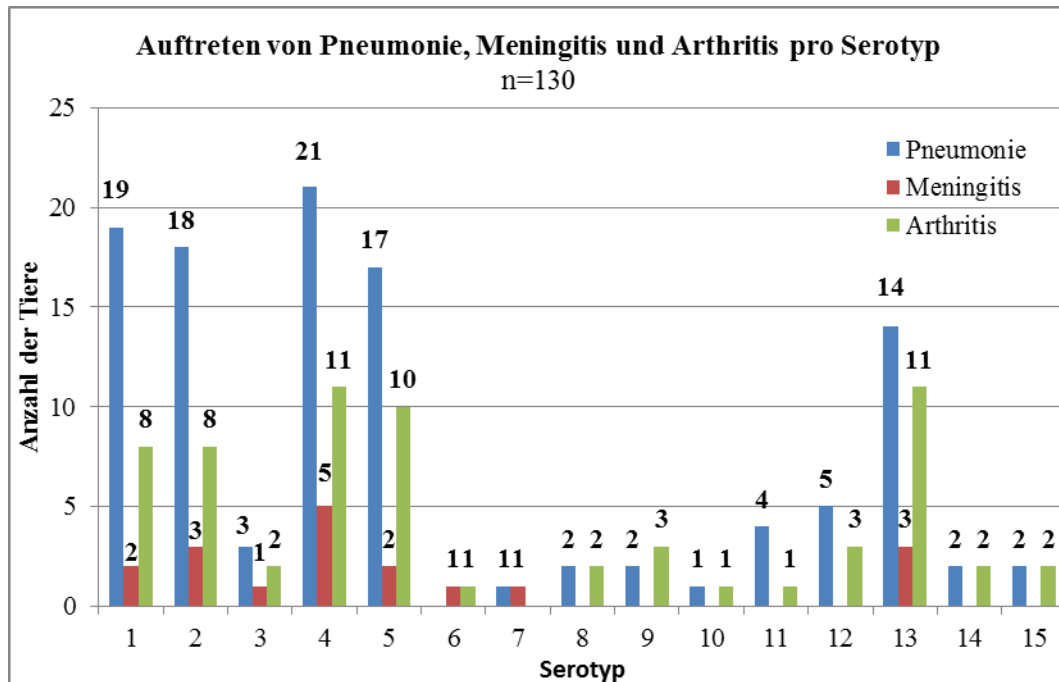


Abbildung 16: Pathomorphologische Veränderung bei makroskopischer Befundung. Dabei ist jeweils nur ein Serotyp pro Tier nachgewiesen worden; Serotypen mit Kreuzreaktionen im indirektem Hämagglutinationstest nicht berücksichtigt; n=130.

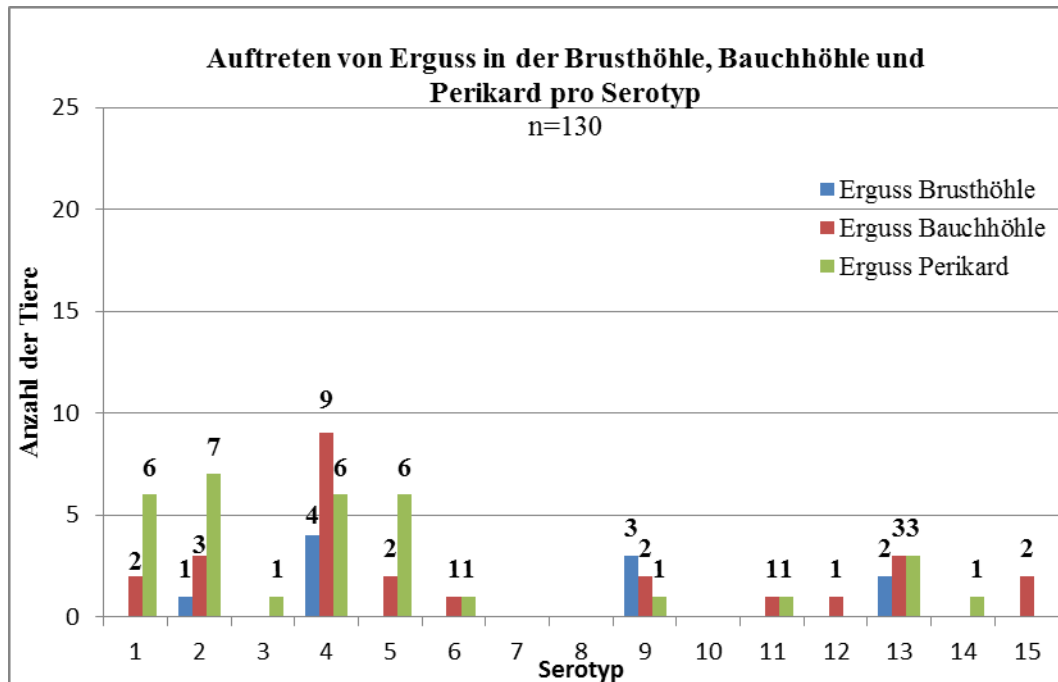


Abbildung 17: Pathomorphologische Veränderung bei makroskopischer Befundung. Dabei ist jeweils nur ein Serotyp pro Tier nachgewiesen worden; Serotypen mit Kreuzreaktionen im indirekten Hämagglutinationstest nicht berücksichtigt; n=130

Den Abbildungen lässt sich entnehmen, dass mit Ausnahme von Serotyp 6 bei allen Serotypen eine Pneumonie zu verzeichnen war. Serotyp 6 ist auch der einzige Serotyp, dem keine Serositis in der makroskopischen Untersuchung zugewiesen werden konnte. Tiere mit einer Infektion mit Serotyp 7 zeigten in keinem der hier betrachteten Fälle eine Arthritis oder einen Erguss in Brusthöhle, Bauchhöhle oder Herzbeutel. Bei Tieren mit einer Infektion der Serotypen 8 oder 10 war ebenfalls kein Erguss festzustellen. Neben Serotyp 8 und 10 konnte auch bei Tieren mit einer Infektion mit den Serotypen 9, 11, 14 oder 15 keine Meningitis festgestellt werden. Bis auf Serotyp 7 lässt sich allen Serotypen eine Arthritis zuweisen. Bei Tieren mit einer Infektion mit Serotyp 15 lässt sich, neben der Infektion Serotyp 6, als einziger Serotyp keine Pleuritis zuweisen.

Der pathomorphologische Befund „Pneumonie“, war der signifikant häufigste Befund bei Tieren mit Nachweis von Serotyp 1 ($p < 0,001$), Serotyp 2 ($p = 0,007$), Serotyp 4 ($p = 0,02$), Serotyp 5 ($p < 0,001$) und Serotyp 13 ($p = 0,003$), im Vergleich zu anderen pathomorphologischen Befunden.

Des Weiteren konnte festgestellt werden, dass es einen signifikanten

Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Serotyp 4 und der Diagnose „Erguss Bauchhöhle“ ($p=0,036$) gibt. Ein signifikanter Zusammenhang konnte zwischen dem Auftreten von Serotyp 11 und der Diagnose „Perikarditis“ ($p=0,026$) festgestellt werden. Weitere signifikante Zusammenhänge waren nicht zu ermitteln.

2.4. Ergebnisse zu Vorkommen und Verteilung einer Serositis

Bei 40,76% (53/130) der Tiere, denen eindeutig ein Serotyp je Tier mittels indirekten Hämagglutinationstest zugewiesen werden konnte, zeigte sich in der pathomorphologischen Untersuchung das Bild einer Serositis.

Bei der Ermittlung zum Vorkommen einer Serositis pro Serotyp zeigte sich, dass bei Infektionen mit Serotyp 6 ($n=1$) keine Serositis festgestellt werden konnte. Bei Infektionen mit Serotyp 7 ($n=1$) oder 10 ($n=1$) hingegen konnte eine Serositis festgestellt werden.

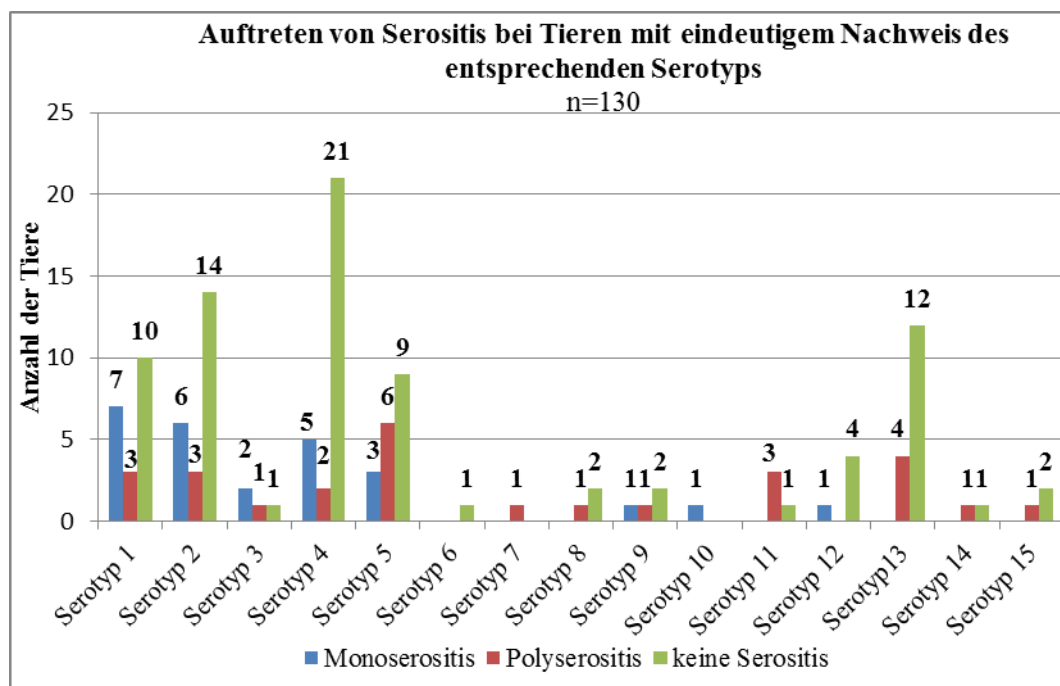


Abbildung 18: Vorkommen einer Serositis bei Tieren mit Nachweis der angegeben Serotypen. Ermittelt mittels IHA, beim Nachweis nur eines Serotyps pro Tier; n=130.

Tiere, bei denen in der pathomorphologischen Untersuchung keine Veränderung an der Serosa festgestellt werden konnte, sind signifikant häufiger ($p=0,024$), als

Tiere mit einer Serositis.

Ein signifikanter Unterschied im Auftreten einer Monoserositis (49,05%, 26/53) im Vergleich zum Auftreten einer Polyserositis (50,94%, 27/53) ist nicht feststellbar ($p=0,891$). In Tabelle 7 ist die Verteilung auf die Serotypen dargestellt.

Tabelle 7: Pathomorphologischer Befund an der Serosa je Serotyp. Nachweis des Serotyps mittels indirektem Hämagglutinationstest, bei nur einem Serotyp je Tier $n=58$; Pl=Pleuritis, Pt.=Peritonitis, Pk=Perikarditis, ST=Serotyp

Serotyp	Pl.	Pt.	Pk.	Pl.+Pt.	Pl.+Pk.	Pl.+Pt.+Pk.	Pt.+Pk.
ST 1	5	2	0	0	0	2	1
ST 2	5	0	1	0	2	1	0
ST 3	1	1	0	0	0	1	0
ST 4	4	1	0	0	1	1	0
ST 5	3	0	0	0	2	4	0
ST 6	0	0	0	0	0	0	0
ST 7	0	0	0	1	0	0	0
ST 8	0	0	0	0	0	1	0
ST 9	0	1	0	0	1	0	0
ST 10	1	0	0	0	0	0	0
ST 11	0	0	0	0	2	1	0
ST 12	1	0	0	0	0	0	0
ST 13	0	0	0	0	2	2	0
ST 14	0	0	0	0	0	1	0
ST 15	0	0	0	0	0	0	1
Gesamt	20	5	1	1	10	14	2

Das Auftreten einer Mono- oder Polyserositis zeigt keine statistisch signifikante Abhängigkeit zum Nachweis eines bestimmten Serotyps. Ein statistisch signifikanter Zusammenhang kann bei Tieren mit einer Monoserositis gezeigt werden. Hier ist eine Pleuritis signifikant häufiger ($p=0,003$) zu diagnostizieren als eine Peritonitis oder Perikarditis.

2.5. Ergebnisse bei der Betrachtung der Beprobungsorte

Bei Tieren, bei denen maximal ein Serotyp nachweisbar war (n=200), konnte in 303 Proben *H. parasuis* nachgewiesen werden. Es war möglich, bei einigen Tieren mehrfach *H. parasuis*-Stämme desselben Serotyps aus verschiedenen Lokalisationen zu isolieren.

Bei den Serotypen 3 (n=7), 7 (n=3) und 10 (n=1) konnten bei allen Tieren, bei denen die vorher genannten Serotypen nachgewiesen wurden, aus der Lokalisation „Bronchusepithel“ ein positiver *H. parasuis*-Nachweis erbracht werden. Hingegen gelang bei Serotyp 8 (n=3) kein Nachweis aus dem Bronchusepithel.

Serotyp 11 ist in der Lunge und im Bronchusepithel, bei 3 von 4 Tieren, bei denen der genannte Serotyp detektiert werden konnte, nachweisbar. Serotyp 1 ist bei 22 von 24 Tieren im Bronchusepithel und bei 13 von 24 Tieren in der Lunge nachweisbar, während Serotyp 2 im Bronchusepithel bei 21 von 26 und in der Lunge bei 13 von 26 Tieren nachweisbar ist.

Aus Sammeltupfern der serösen Häute (n=15), die auf *H. parasuis* untersucht wurden, ist in keinem der Tiere ein positiver Nachweis gelungen.

In Tabelle 8 befindet sich die Auflistung der Serotypen mit den Lokalisationen, aus denen sie nachgewiesen worden sind. Bei der Anzahl handelt es sich um die Menge der positiven Proben aus dem jeweiligen Beprobungsort. Die Prozentangabe der Nachweishäufigkeit sind auf die Anzahl der Tiere bezogen, bei denen der bestimmte Serotyp festgestellt worden ist.

Tabelle 8: Verteilung der *H. parasuis* positiven Proben (n=303) auf die unterschiedlichen Beprobungsorte je Serotyp. Mittels indirektem Hämagglutinationstest jeweils nur maximal ein festgestellter Serotyp je Tier; Angegeben sind die Anzahl der Tiere mit dem jeweiligen Serotyp. Mehrfachnennungen sind möglich. S.s.H.=Sammeltupfer seröser Häute

Serotyp	Isolationsort positiv	Bronchus- epithel	Lunge	Meningen	Gelenk	Pleura	Peritoneum	Perikard	Herzklappe	S.s.H.	Gesamt
1	n=24	22/24	13/24	0	0	2/24	2/24	2/24	0	0	41
2	n=26	21/26	13/26	1/26	1/26	1/26	1/26	0	0	0	38
3	n=7	7/7	2/7	0	0	0	0	0	0	0	9
4	n=34	32/24	16/34	0	0	2/34	1/34	0	0	0	51
5	n=27	24/27	10/27	5/27	2/27	3/27	0	0	0	0	44
6	n=4	1/4	1/4	1/4	0	0	0	1/4	0	0	4
7	n=3	3/3	1/3	0	0	0	1/3	1/3	0	0	6
8	n=3	0	0	0	0	1/3	0	2/3	0	0	3
9	n=7	4/7	2/7	0	3/7	1/7	0	1/7	0	0	11
10	n=1	1/1	1/1	0	0	0	0	0	0	0	2
11	n=4	3/4	3/4	0	0	0	1/4	0	0	0	7
12	n=11	10/11	3/11	0	0	0	0	1/11	0	0	14
13	n=21	19/21	8/21	2/21	1/21	1/21	2/21	1/21	1/21	0	35
14	n=2	1/2	1/2	0	0	0	0	0	0	0	2
15	n=13	10/13	5/13	0	0	1/13	2/13	1/13	0	0	19
n.t.	n=13	9/13	4/13	1/13	0	0	0	1/13	1/13	1/13	17
Gesamt		167	83	10	7	12	10	11	2	1	303

V. DISKUSSION

In der vorliegenden Studie wurde das Auftreten der Serotypen 1-15 von *Haemophilus parasuis* bei Fällen aus den Jahren 2010-2013 untersucht, bei denen der Verdacht Glässer'sche Krankheit bestand und *Haemophilus parasuis* nachweisbar war. Dies geschah unter Berücksichtigung der Betriebsstrukturen, aus denen die untersuchten Tiere stammen und den Altersgruppen der Schweine. Bei den Tieren festgestellte pathomorphologische Befunde wurden in Verbindung mit den nachgewiesenen Serotypen gebracht. Anschließend wurde eine Assoziation der festgestellten Serotypen zu ihrem Isolationsort untersucht.

H. parasuis wurde signifikant häufiger ($p < 0,001$; 62,22%; 140/225) in der Altersgruppe „Aufzuchtferkel“ nachgewiesen, als in der Altersgruppe „Saugferkel“ (29,78%, 67/225). Der Altersgruppe „Mast“ konnten nur 8% (18/225) der Tiere zugeordnet werden. Dabei stammen 76,89% (173/225) der Tiere aus Betrieben, die sich auf Ferkelerzeugung spezialisiert haben, beziehungsweise aus kombinierten Betrieben. Bei der Verteilung auf die Gewichtsklassen verteilten sich 29,77% (67/225) der Tiere auf die Säugephase, während sich 61,33% (138/225) im Bereich der Aufzucht bis 30kg befanden. Die in dieser Studie nachgewiesene Verteilung auf die Altersgruppen verhält sich wie in Studien anderer Autoren weltweit gezeigt werden konnte. In anderen Studien konnte gezeigt werden, dass Aufzuchtferkel im Alter von vier bis sechs Wochen vorrangig von Infektionen mit *H. parasuis* und Ausprägung der Glässer'schen Krankheit betroffen sind, während ältere Tiere selten eine typische Ausprägung zeigen (OLIVEIRA und PIJOAN, 2002; TURNI und BLACKALL, 2010; ARAGON et al., 2012). PALZER et al. (2005) zeigten, dass bei Tieren aus der Vormast signifikant häufiger *H. parasuis* isoliert werden kann, als bei anderen Altersgruppen. Während in der vorliegenden Untersuchung die Tiere anhand ihres Gewichts und der Angaben auf Untersuchungsbefunden in Altersgruppen aufgeteilt sind, ist bei PALZER et al. (2005) die genaue Anzahl der Lebensstage bekannt. Dadurch kann es zu Verschiebungen in den Ergebnissen kommen, da eventuell kümmernde Tiere in der jetzigen Studie nicht berücksichtigt wurden. Des Weiteren stammen die Proben von PALZER et al. (2005) von Tieren ohne

Verdacht der Glässer'schen Krankheit und der Nachweis von *H. parasuis* erfolgte ausschließlich aus dem Respirationstrakt der Tiere, in dem *H. parasuis* als Kommensale gilt (MOLLER und KILIAN, 1990; KIRKWOOD et al., 2001; OLVERA et al., 2006). *H. parasuis* lässt sich schon bei Saugferkeln nachweisen und führt selbst in diesem Altersbereich zu pathomorphologischen Veränderungen mit Ausprägung der Glässer'schen Krankheit (BLANCO et al., 2004). Dennoch scheint vor allem die Belastung der Tiere, die durch das Absetzen vom Muttertier entsteht, ein maßgeblicher Einflussfaktor für eine klinische Ausprägung der Krankheit zu sein. Weiterhin sind zumeist Tiere betroffen, die einer Belastungssituation ausgesetzt sind, sei es Transport, Umstallung oder sozialer Stress, der durch neue Buchtengenossen entsteht (SOLANO-AGUILAR et al., 1999; ZIMMERMANN, 2008; ARAGON et al., 2012). Weitere prädisponierende Faktoren für eine klinische Manifestation der Infektion mit *H. parasuis* ist der Umfang der Infektion innerhalb der Herde mit dem Erreger und die Immunkompetenz des Einzeltieres, welche durch unter anderem die unzureichende Versorgung mit maternalen Antikörpern, Transport der Tiere und Koinfektionen negativ beeinflusst wird (SOLANO-AGUILAR et al., 1999; RITZMANN und HEINRITZI, 2005; ZIMMERMANN, 2008; NEDBALCOVA et al., 2011). In der vorliegenden Untersuchung sind die vorher genannten Faktoren nicht eingehender betrachtet worden. Die Tendenz, die sich in dieser Studie zeigt, *H. parasuis* vor allem bei Saugferkeln und Absetzferkeln im Zusammenhang mit pathomorphologischen Veränderungen nachzuweisen, spricht für eine Bestätigung der Ergebnisse der vorher genannten Autoren. In der vorliegenden Studie ist keine signifikante Häufung ($p=0,096$) bei der Verteilung von männlichen zu weiblichen Tieren feststellbar, wobei bei 15,11% (34/225) keine Geschlecht angegeben werden kann. Das Geschlecht des Tieres sehen ZHANG et al. (2014) hingegen als weiteren Risikofaktor für eine Infektion mit *H. parasuis*. In ihrer Studie untersuchten ZHANG et al. (2014) jedoch die Seroprävalenz und ermittelten die Infektion nicht mittels Anzucht. Eine Untersuchung bei Wildschweinen von REINER et al. (2010) ergab ebenfalls, dass kein Zusammenhang zwischen einer Infektion mit *H. parasuis* und dem Geschlecht der Tiere feststellbar ist. Das Auswerten früherer Studien bezüglich der Geschlechtsverteilung und einer Infektion von *H. parasuis*, verbundenen mit der Ausprägung klinischer Symptome, könnte weitere Aufschlüsse über eine

Geschlechtsspezifität geben.

Bezüglich der pathomorphologischen Befunde der hier untersuchten Tiere zeigte sich bei 86,66% (195/225) eine Pneumonie. Arthritis wurde bei 46,22% (104/225) diagnostiziert, während 40,44% (91/225) Tiere eine Serositis aufwiesen und lediglich 15,55% (35/225) eine Meningitis. Eine signifikante Häufung von Schweinen mit Serositis war nicht zu beobachten ($p=0,173$), dennoch lässt sich bei 23,11% (52/225) der Tiere eine Polyserositis nachweisen, während 17,33% (39/225) eine Monoserositis hatten. Bei Ausprägung einer Monoserositis war die Pleura signifikant häufiger betroffen als Peritoneum ($p=0,005$) und Perikard ($p<0,001$). Wurde eine Polyserositis festgestellt, konnte häufiger eine Pleuritis in Kombination mit einer Peritonitis und Perikarditis gefunden werden als die Konstellation Pleuritis mit Peritonitis ($p=0,035$) beziehungsweise die restlichen festgestellten Kombination ($p<0,001$). BLANCO et al. (2004) konnten in ihrer Infektionsstudie zeigen, dass in 25% der infizierten Ferkel eine Arthritis nachweisbar war und 62,5% der Tiere Veränderungen wie Pleuritis, Peritonitis, Perikarditis und Meningitis zeigten, wobei nicht alle Veränderungen parallel in den Tieren zu beobachten waren. In einer Studie aus Osteuropa stellten DOCIC und BILKEI (2004) bei 32,91% der untersuchten Tiere eine Leptomeningitis und bei 100% der Tiere eine Pneumonie fest. Weiterhin wurden bei 87,28% der Tiere Veränderungen an den Gelenken aufgeführt. In ihren Untersuchungen konnte jeweils, zumindest bei einem Teil der Tiere, Koinfektionen mit anderen Erregern festgestellt werden, die in den eigenen Untersuchungen nicht mit berücksichtigt wurden. Bezüglich des Nachweises von *H. parasuis*, im Zusammenhang mit einer Serositis, dokumentierten PALZER et al. (2006) mit 38% vergleichbare Ergebnisse. KIELSTEIN und WUTHE (1998) zeigten in ihrer Untersuchung einen Nachweis von Tieren mit Pneumonie ohne Beteiligung der serösen Häute von 66,7%, während bei 33,3% der Tiere eine Polyserositis mit Arthritis festgestellt werden konnte. Die Tendenz *H. parasuis* in Verbindung mit Serositis, Arthritis, Meningitis und Pneumonie zu finden, wurde in dieser Studie bestätigt. Eine Verknüpfung bezüglich des Nachweises von *H. parasuis* und dem Auftreten pathomorphologischer Veränderung Bestandsebene, ist nur dann möglich, wenn Koinfektionen nicht nachgewiesen werden können und auch hinsichtlich des klinischen und epidemiologischen Bildes unwahrscheinlich sind. Auch etwaige Vorbehandlungen, die die Anwesenheit anderer pathogener Erreger maskieren

könnten, sollten ausgeschlossen werden. Vorbehandlungen wurden nur bei PALZER et al. (2006), nicht aber bei anderen Studien die sich mit Proben aus der Praxis beschäftigen, weitestgehend ausgeschlossen, sodass es auch hier mögliche Fehlerquellen gibt, wenn es um die Interpretation von pathomorphologischen Befunden im Zusammenhang mit dem Nachweis *H. parasuis* geht. Weiterhin ist auch darauf zu achten, geeignete Mittel für die Diagnostik zu wählen, da es im Umkehrschluss durchaus möglich ist, auftretende Veränderungen nicht in den Zusammenhang mit *H. parasuis* zu bringen, da der Erreger unter anderem aufgrund ungeeigneter Auswahl der Proben nicht nachgewiesen werden kann (OLIVEIRA, 2004; TURNI und BLACKALL, 2010).

Bei der Auswertung der Nachweisrate von *H. parasuis* aus den verschiedenen Beprobungsorten zeigt sich, dass das Bronchusepithel in den hier untersuchten Fällen bei 84,82%, der an diesem Ort entnommenen Proben, einen positiven Nachweis von *H. parasuis* aufweist. Die anderen Lokalisationen zeigen zum Teil sehr niedrige Nachweisraten. Trotz der relativ hohen Anzahl der festgestellten Arthritiden gelang nur bei 8,47% der untersuchten Gelenkproben ein positiver Nachweis. Die beprobten Herzklappen (n=15) zeigen eine relativ hohe Anzahl positiver Proben im Vergleich mit den anderen beprobten Lokalisationen, die in dieser Studie ausgewertet wurden, wobei die totale Anzahl der Beprobungen der Herzklappen gering war. In einer Infektionsstudie von TURNI und BLACKALL (2007) wurde gezeigt, dass bei 93,75% der infizierten Tiere eine positive Anzucht von *H. parasuis* aus der Trachea gelungen ist. Weiterhin war in 68,75% der Fälle eine Isolation aus der Lunge möglich. Aus den Gelenken gelang ein Nachweis in 62,5% der beprobten Tiere. PALZER et al. (2005) konnten in ihren Untersuchungen von Tieren mit Pneumonie eine Nachweisrate mittels Anzucht von *H. parasuis* in bronchoalveolären Lavagen von circa 50% zeigen, während die Nachweisrate mittels nonaplex-PCR auf ungefähr 85% stieg. Diese doch teils schwankenden Nachweisraten von *H. parasuis* aus den unterschiedlichen Geweben sind sowohl der Methodik als auch der Vorauswahl der Fälle geschuldet. Während in dieser Studie ausschließlich Tiere verwendet worden sind, bei denen anhand der klinischen Untersuchung oder pathomorphologischer Veränderungen ein Verdacht auf Glässer'sche Krankheit gestellt wurde, waren bei PALZER et al. (2005) nur Tiere mit der Diagnose „Pneumonie“ Teil der Untersuchung. Bei TURNI und BLACKALL (2007) handelte es sich um einen

gezielten Infektionsversuch, bei dem die Tiere mit virulenten Serotypen infiziert wurden. Des Weiteren ist, zumindest in den Studien mit Feldstämmen (RAPP-GABRIELSON und GABRIELSON, 1992; KIELSTEIN und WUTHE, 1998; ANGEL et al., 2004; CAI et al., 2005; TURNI und BLACKALL, 2010; LUPPI et al., 2013), ungeklärt inwieweit eine Vorbehandlung stattgefunden hat oder wie die Qualität der Proben und die Chronizität der Erkrankung einzustufen sind (OLIVEIRA und PIJOAN, 2002; OLIVEIRA, 2004; OLIVEIRA, 2007). Nachweise in anderen Studien stützen sich auch vorwiegend auf den Nachweis mittels PCR, während in dieser Studie die Anzucht des Erregers Grundstein weiterführender labordiagnostischer Maßnahmen war. Weiterhin können die differierenden Nachweisraten dadurch erklärt werden, dass über die Qualität des Probenmaterials in dieser Studie, bei Ankunft in der Sektion, keine verlässliche Aussage getroffen werden kann. Hier ist damit zu rechnen, dass nicht alle Tiere akut erkrankt und unmittelbar vor der Sektion euthanisiert worden sind, wie von OLIVEIRA und PIJOAN (2002) empfohlen, sondern zu einem großen Teil nicht lebendig angeliefert wurden. Eine verlässliche Aussage über eine Vorbehandlung der Tiere kann für diese Studie nicht getroffen werden, wodurch es, im Falle einer Vorbehandlung ebenfalls zu einer Verringerung der Nachweisraten kommen kann (OLIVEIRA und PIJOAN, 2002). Weiterhin ist die Relevanz einer *H. parasuis*-Anzucht für den jeweiligen klinischen Fall zu sehen. Dadurch ergibt sich, dass die Anzuchtrate im Bronchusepithel zwar vergleichsweise hoch ist, aber da *H. parasuis* als Kommensale des Respirationstraktes gilt (MOLLER und KILIAN, 1990), muss die Bedeutung für die klinische Relevanz im Einzelfall, auch unter Berücksichtigung des nachgewiesenen Serotyps, bewertet werden (OLIVERA et al., 2007a). Vergleichbares gilt für den Nachweis des Erregers der ausschließlich mittels PCR erfolgt. Da eine PCR grundsätzlich die Anwesenheit von Genomfragmenten nachweist, müssen die Ergebnisse kritisch hinterfragt werden und in den Zusammenhang mit den klinischen Erscheinungen und den pathomorphologischen Befunden gebracht werden. Anders verhält es sich mit der Isolation aus Geweben, die nicht mit dem Respirationstrakt direkt assoziiert sind. Hier deutet der Nachweis von *H. parasuis* auf eine Beteiligung, wenn nicht sogar Ursache, bei klinischen oder pathomorphologischen Veränderungen hin und kann damit diagnostisch wertvoller sein als der Nachweis aus dem Respirationstrakt (OLIVEIRA und PIJOAN, 2002).

Der Schwierigkeitsgrad der Interpretation der Anzuchtergebnisse mit Serotypisierung erhöht sich, wenn mehrere Serotypen innerhalb eines Tieres nachzuweisen sind. In dieser Studie wurden bei 10,22% (23/225) der Tiere zwei unterschiedliche Serotypen nachgewiesen. Bei den Mehrfachnachweisen wurden bei 30,43% (7/23) der Tiere Isolate mit nicht typisierbar klassifiziert, wodurch die Anwesenheit nur eines Serotypen nicht ausgeschlossen werden kann. Bei 0,79% (2/25) der Tiere wurden sogar drei Serotypen festgestellt. In mehreren Studien konnten auf Herdenebene zum Teil mehrere Serotypen nachgewiesen werden (OLVERA et al., 2007c; CERDA-CUELLAR et al., 2010). ARAGON et al. (2012) beschrieb das Vorkommen mehrerer Serotypen bei Isolationen aus dem oberen Respirationstrakt. In der vorliegenden Untersuchung war es möglich, unterschiedliche Serotypen aus unterschiedlichen Isolationsorten innerhalb eines Tieres nachzuweisen. Für die Interpretation der mehrfachen Nachweise sei an das Vorkommen von *H. parasuis* als Kommensale des oberen Respirationstraktes erinnert. Dementsprechend kann vermutet werden, dass es zu einer Veränderung des Eindringvermögens der verschiedenen Serotypen und Stämme kommt, wie im Zusammenhang mit der Bildung eines Biofilms von JIN et al. (2006) beschrieben wird.

Eine Serotypisierung kann weiteren Aufschluss darüber geben, ob der nachgewiesene *H. parasuis*-Stamm am beobachteten Geschehen beteiligt ist. Der Nachweis des Serotyps ist weiterführend die Basis für die Auswahl eines geeigneten kommerziellen Impfstoffs oder für die Entscheidung, einen betriebsspezifischen Impfstoff herstellen zu lassen. In der vorliegenden Studie konnten 15 Serotypen unterschieden werden. Am häufigsten konnten die Serotypen 4 (15,87%, 40/252), 2 (13,49%, 34/252), 5 (12,30%, 31/252), 1 (11,11%, 28/252) und 13 (11,11%, 28/252) nachgewiesen werden. Die Serotypen 4 und 5 wurden weltweit in unterschiedlichen Studien als die Serotypen mit der höchsten Prävalenz genannt, wobei es nicht durchweg gelungen ist, in den Untersuchungen alle Serotypen von 1-15 nachzuweisen (RAPP-GABRIELSON und GABRIELSON, 1992; BLACKALL et al., 1996; OLIVEIRA et al., 2003a; TURNI und BLACKALL, 2007). Auch in Europa dominieren die Serotypen 4, 5

und 13 (DEL RIO et al., 2003; ANGEN et al., 2004; LUPPI et al., 2013). Die Angabe der Serotypen mit der höchsten Prävalenz in Deutschland divergiert zwischen den Studien. KIELSTEIN und WUTHE (1998) konnten in ihrer Untersuchung die Serotypen 4, 11 und 5 am häufigsten nachweisen, während bei STRUTZBERG-MINDER et al. (2010) die Serotypen 1, 2, und 13 eine höhere Prävalenz in ihrem Vorkommen zeigten. Hierbei ist zu beachten, dass die Methodik der Serotypisierung nicht bei allen Studien einheitlich ist und auch der Anteil der nicht typisierbaren Isolate zwischen den Studien schwankt. Unabhängig von der Methode liegt der Anteil der nicht zu typisierenden Isolate in den meisten Studien deutlich über 10% der untersuchten Isolate. In der vorliegenden Untersuchung betrug der Anteil lediglich 7,94%. Eine Erklärung der divergierenden Ergebnisse ist, dass mit unterschiedlichen Typisierungsmethoden viele Isolate nicht exakt serotypisiert werden konnten (RAFIEE und BLACKALL, 2000; TURNI und BLACKALL, 2005), wodurch sich die Anzahl der Nachweise je Serotyp verringert. Mit Einführung des indirekten Hämagglutinationstest als valide Testmethode, konnte die Typisierungsrate wesentlich verbessert werden (DEL RIO et al., 2003; TADJINE et al., 2004; STRUTZBERG-MINDER et al., 2010). Daher ist zu erwarten, dass der Anteil der nicht zu typisierenden Isolate in weiteren Untersuchungen noch weiter sinken wird, was eventuell auch zu einer Veränderung der Prävalenz im Auftreten der Serotypen führt. Selbiges könnte zu beobachten sein, wenn die Isolate der vorangegangenen Studien erneut serotypisiert werden würden. Davon abgesehen, wurde schon durch KIELSTEIN und RAPP-GABRIELSON (1992) die Möglichkeit des Vorkommens weiterer, bisher unbekannter, Serotypen angesprochen. Mit dem hier vorliegenden Ergebnis wird erneut gezeigt, dass der indirekte Hämagglutinationstest auch bei Feldstämmen ein probates Mittel für die Serotypisierung von *H. parasuis* ist. Es sollte aber weiterhin beobachtet werden, wie sich die Prävalenz des Nachweises der Serotypen verhält, um adäquat auf eine Veränderung in der Verteilung des Auftretens reagieren zu können.

Auch für epidemiologische Untersuchungen ist die Prävalenz der regional auftretenden Serotypen von Interesse. Dieses gilt auch für die Assoziation von Serotypen mit Betriebsart, Altersgruppe, pathomorphologischen Befunden und Isolationsort.

Die Verteilung der Serotyp auf Altersgruppen und Betriebsarten ist Ausdruck der

Ergebnisse, die in dieser Studie für die Verteilung von *H. parasuis* auf die Altersgruppen und Betriebsarten festgestellt wurde. Eine signifikante Verteilung der Serotypen auf die Betriebsart zeigt sich nur bei den Serotypen 2 ($p < 0,001$),

4 ($p < 0,001$) und 13 ($p = 0,001$), die sich häufiger in Tieren aus der „Ferkelerzeugung“ nachweisen lassen als aus anderen Betriebsformen. Bei den „Saugferkeln“ lassen sich in dieser Untersuchung die Serotypen 10 (0,50%, 1/200) und 11 (2,00%, 4/200) nicht nachweisen. In der Altersgruppe der „Aufzuchtferkel“ zeigen Tiere, bei denen Serotyp 5 nachgewiesen ist, ein signifikant gehäuftes Auftreten ($p = 0,001$). In Folge ihrer Untersuchung konnten TURNI und BLACKALL (2010) den Altersgruppen, die sie beproben, unterschiedliche Serotypen zuweisen und finden auch Serotypen die als hochvirulent gelten bei gesunden Saugferkeln. Eine statistische Einschätzung der Verteilung erfolgt in ihrer Untersuchung nicht (TURNI und BLACKALL, 2010).

In dieser Studie lässt sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Nachweis von Serotyp 1 ($p < 0,001$), Serotyp 2 ($p = 0,007$), Serotyp 4 ($p = 0,02$), Serotyp 5 ($p < 0,001$) und Serotyp 13 ($p = 0,003$) und dem Auftreten einer Pneumonie zeigen. SOLANO-AGUILAR et al. (1999) konnten in ihrer Untersuchung *H. parasuis* als primären Verursacher einer Pneumonie ausmachen. Mit dem Nachweis von Serotyp 4 lässt sich zudem ein signifikanter Zusammenhang mit der Diagnose „Erguss Bauchhöhle“ ($p = 0,036$) finden. Ein gehäuftes Auftreten ($p = 0,026$) von Perikarditis mit dem als avirulent geltenden Serotyp 11 kann ebenfalls festgestellt werden. Bei den anderen Serotypen waren keine signifikanten Zusammenhänge mit dem Auftreten einer pathomorphologischen Veränderung festzustellen.

Bei 40,76% der Tiere (53/130) konnte eine Serositis diagnostiziert werden. Dabei gab es keine statistisch signifikanten Unterschiede im Auftreten einer Monoserositis (49,05%, 26/53) oder einer Polyserositis (50,94%, 27/53) bei den einzelnen Serotypen. Einzig die signifikante Häufung von Pleuritiden ($p = 0,003$) bei Tieren mit Monoserositis lässt sich darstellen. Aber auch diese Verteilung ist unabhängig von den nachgewiesenen Serotypen. Nur bei Tieren mit Serotyp 6 war keine Serositis nachweisbar. LUPPI et al. (2013) konnten in ihrer Untersuchung von Feldisolaten die Serotypen 1, 2, 4, 5, 12, 13, 14 und 15 mit pathomorphologischen Veränderungen verknüpfen. Sie zeigten, dass Serotyp 4

und 13 bei Tieren mit Polyserositis häufiger nachgewiesen worden sind als andere Serotypen, während andere Assoziationen aufgrund der geringen Fallzahlen nicht in Erwägung gezogen wurden. Beim Vergleich des Auftretens pathomorphologischer Veränderungen zeigte sich, dass Serotypen, die als avirulent beziehungsweise wenig virulent eingestuft gelten (RAPP-GABRIELSON et al., 1992; AMANO et al., 1994; ARAGON et al., 2012), dennoch mit pathomorphologischen Veränderungen einhergehen, auch wenn die Veränderungen rein numerisch wesentlich weniger häufig auftreten. KIELSTEIN und WUTHE (1998) konnten in ihrer Untersuchung ebenfalls keinen Zusammenhang zwischen der im Infektionsversuch klassifizierten Virulenz der Serotypen und den beobachteten pathomorphologischen Veränderungen zeigen. TURNI und BLACKALL (2010) ist es ebenfalls möglich, virulent klassifizierte Serotypen in nicht erkrankten Tieren nachzuweisen. Damit decken sich die Ergebnisse von ARAGON et al. (2010a), die zu dem Schluss kamen, dass die Virulenz eines *H. parasuis*-Isolates nicht alleinig durch den Serotyp bestimmt werden kann.

Die Ergebnisse dieser Studie zeigen auch, dass der Serotyp eines Isolates nicht alleinig eine Aussage über die zu erwartenden pathomorphologischen Veränderungen, respektive Virulenz, treffen lässt, sondern auch eventuelle Koinfektionen auszuschließen sowie negative Umwelteinflüsse zu bedenken sind (ARAGON et al., 2012). Die Einschätzung der Virulenz des isolierten Serotyps ist auch davon abhängig, aus welcher Lokalisation der Nachweis erfolgt.

Aus Gewebe, welches mit dem Respirationstrakt assoziiert ist, konnten in der vorliegenden Untersuchung bei der Betrachtung aller Serotypen Nachweisraten von 28,57% bis 100% gezeigt werden. Auffallend war, dass Serotyp 8 weder im Bronchusepithel noch in der Lunge gefunden wurde und hauptsächlich aus dem Perikard (2/3) und den Gelenken (1/3) isoliert wurde. Serotyp 14 wurde hingegen nur in Proben des Bronchusepithels (1/2) und der Lunge (1/2) nachgewiesen.

In dieser Untersuchung war es nicht möglich, einen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen dem Serotyp und einem Isolationsort aufzuzeigen. Auffallend ist aber, dass Serotypen, die als avirulent klassifiziert sind, auch aus Lokalisationen isoliert werden können, die mit einer systemischen Infektion assoziiert sind (Meningen, Gelenke, Pleura, Peritoneum und Perikard). OLIVEIRA et al. (2003a) zeigen in ihrer Untersuchung, dass Serotyp 3

hauptsächlich aus dem oberen Respirationstrakt isoliert wird, während die Serotypen 1, 4, 12, 14 und nicht typisierbare Isolate von respiratorisch-assoziierten Geweben oder Geweben die im Zusammenhang mit einer Septikämie stehen, isoliert werden. Die Serotypen 2, 5 und 13 können sie nur aus Geweben isolieren, die nicht respiratorisch-assoziiert sind. In ihren Untersuchungen belegen CAI et al. (2005) und ANGEN et al. (2004) ebenfalls gute Nachweisraten aus respiratorisch-assoziiertem Gewebe. Sie können, wie RAPP-GABRIELSON und GABRIELSON (1992), avirulent klassifizierte Serotypen aus Geweben isolieren, die mit einer systemischen Infektion assoziiert sind. TURNI und BLACKALL (2007) fanden in ihrer Untersuchung bessere Nachweisraten für Serotyp 4, wenn Proben von der Ergussflüssigkeit der Brusthöhle, Bauchhöhle oder des Perikards, der Lunge oder von Fibrinablagerungen in der Bauchhöhle entnommen werden. Bei Serotyp 12 finden sie bessere Nachweisraten bei Proben aus der Lunge, aus Herzblut, Gelenken und Meningen. In dieser Studie war dies nicht vollständig bestätigbar, was daran liegen kann, dass es sich bei der Studie von TURNI und BLACKALL (2007) um einen Infektionsversuch mit zwei Serotypen handelte und unter kontrollierten Bedingungen ablief, während die vorliegende Studie sich mit der Auswertung von Feldisolaten beschäftigt hat. Größter Einflussfaktor auf die Nachweisrate der verschiedenen Serotypen hat die Qualität des Probenmaterials (OLIVEIRA und PIJOAN, 2002; OLIVEIRA, 2004). Diese kann für die vorliegende Studie nicht eingeschätzt werden. Auch Vorbehandlungen können nicht ausgeschlossen werden und beeinflussen das Ergebnis gegebenenfalls negativ.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

Die vorliegende Studie hat zum Ziel, einen aktuellen Stand für das Vorkommen der *Haemophilus parasuis* Serotypen 1-15 in Deutschland darzustellen. Gleichzeitig sollen Assoziationen zwischen den Serotypen und der Betriebsart, aus dem das Tier stammt, der Altersgruppe, pathomorphologischen Befunden und dem Isolationsort gezogen werden. In die Studie fließen Befunde von Schweinen aus den Jahren 2010-2013 ein. Alle in die Untersuchung eingeschlossenen Tiere haben die Verdachtsdiagnose Glässer'sche Krankheit und sind bakteriologisch sowie in einer spezies-spezifischen PCR *Haemophilus parasuis* positiv. Isolierte *H. parasuis*-Stämme werden mittels des indirekten Hämagglutinationstest serotypisiert. Alle durchgeführten labordiagnostischen Untersuchungen sind Auftragsarbeiten und werden in kommerziellen nach DIN Norm EN/IEC ISO 17025 akkreditierten Laboren durchgeführt. Insgesamt werden 225 Fälle ausgewertet, aus denen 252 *Haemophilus parasuis*-Stämme isoliert werden. In der vorliegenden Untersuchung wird gezeigt, dass die Serotypen 1-15 in Deutschland nachweisbar sind. Dabei haben die Serotypen 4 (15,87%, 40/252), 2 (13,49%, 34/252), 5 (12,30%, 31/252), 1 (11,11%, 28/252) und 13 (11,11%, 28/252) die höchsten Prävalenzen im Auftreten bei den untersuchten Tieren, während der Anteil der nicht typisierbaren Isolate bei 7,94% (20/252) liegt. Bezüglich der Betriebsart zeigt sich, dass 64,00% (144/225) der untersuchten Tiere aus Ferkelerzeugerbetrieben stammen. Am häufigsten wird *H. parasuis* bei Aufzuchtferkeln (62,22%; 140/225) nachgewiesen, gefolgt von Saugferkeln (29,78%, 67/225) und Masttieren (8,00%, 18/225). Eine Auswirkung des Geschlechts auf die Infektion mit *H. parasuis* kann in dieser Studie nicht gezeigt werden. Die häufigsten in dieser Untersuchung festgestellten pathomorphologischen Befunde sind Pneumonien bei 86,66% (175/225) der untersuchten Tiere, Arthritiden (46,22%, 104/225) und Serositiden (40,44%, 91/225), wobei ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Nachweis *H. parasuis* und einer Serositis nicht festgestellt wird. Die Nachweisraten des Erregers in der Anzucht betragen bei Geweben, die mit dem Respirationstrakt assoziiert sind, bis zu 84,82%. Bei 11,11% (25/225) der Tiere ist es möglich, zwei bis drei unterschiedliche Serotypen pro Tier festzustellen. Es besteht ein

signifikanter Zusammenhang zwischen dem Nachweis einer Monoinfektion mit den Serotypen 1, 2, 4, 5, oder 13 und dem Auftreten von Pneumonien. Der pathomorphologische Befund „Bauchhöhlenerguss“ ist mit einer Infektion mit Serotyp 4 signifikant assoziiert, während der pathomorphologische Befund „Perikarditis“ mit einer Infektion mit Serotyp 11 signifikant assoziiert ist. Auffällig war, dass der als hochvirulent geltende Serotyp 14 nur aus dem Bronchusepithel und der Lunge isoliert wird, während der eher als mild-virulent geltende Serotyp 8 ausschließlich aus Perikard und Gelenken isoliert wird.

Die vorliegende Studie kommt zu dem Schluss, dass in Deutschland alle Serotypen von *H. parasuis* auftreten. *Haemophilus parasuis* ist bei Aufzuchtferkeln und Saugferkel mit hohen Nachweisraten, vor allem aus den respiratorisch-assoziierten Geweben, nachzuweisen. Schweine können zeitgleich von unterschiedlichen Serotypen infiziert sein. Des Weiteren lässt sich keine eindeutige Assoziation zwischen Serotyp und Virulenz feststellen.

VII. SUMMARY

The objective of the present study is to determine the prevalence of *H. parasuis* serotypes 1-15 in Germany. Furthermore, associations between the detected serotypes, the type of the farm, age of the pigs, macroscopic pathological-anatomical findings and site of isolation shall be evaluated.

For this purpose cases from 2010 to 2013 with the suspected diagnosis of Glaesser's disease and where bacteriological and molecular biological findings confirmed the presence of *H. parasuis* in the animals are retrospectively analyzed. Laboratory diagnostics including bacteriological, molecular biological examination as well as serotyping using indirect haemagglutination test are carried out in commercial labs accredited according to DIN Norm EN/IEC ISO 17025.

In total 225 animals are included in this study where 252 different *H. parasuis* strains are isolated. The most prevalent serotypes in this study are Serotype 4 (15.87%, 40/252), 2 (13.49%, 34/252), 5 (12.30%, 31/252), 1 (11.11%, 28/252) and 13 (11.11%, 28/252). 7.94% of all isolates could not be serotyped. Regarding the age of the animals, this study shows that *H. parasuis* can be isolated with a prevalence in weaned pigs (62.22%; 140/225) and suckling piglets (28.44%; 64/225) and in a less extend in finishing pigs (8,00%, 18/225). A correlation between *H. parasuis* and the sex of the animal is not shown. The most prevalent macroscopic lesions are pneumonia (86.66%, 175/225), arthritis (46,22%, 104/225) and serositis (40,44%, 91/225), a correlation between an infection with *H. parasuis* and serositis is not shown. Regarding the location of isolation, the highest rate of detection of *Haemophilus parasuis* is possible from tissue of the respiratory-tract (84.82%). In 25 cases more than one serotype was present in the animals. Serotypes 1, 2, 4, 5, or 13 are found to be associated with pneumonia, whereas serotype 4 and serotype 11 are associated with ascites or pericarditis, respectively. Surprisingly, serotype 14 which is classified as a serotype with high virulence, is only isolated from bronchus epithelium, whereas serotype 8, which is classified as either low virulent, is only isolated from the pericard and joints.

In conclusion this study shows that all Serotypes of *Haemophilus parasuis* can

be isolated from German domestic pigs. *H. parasuis* is present with high prevalence in weaned pigs and suckling piglets. Highest rates of detection are possible from tissue of the respiratory tract. Only low numbers of pigs are infected with more than one serotype. No association between serotypes and the virulence can be made.

VIII. LITERATURVERZEICHNIS

Aarestrup FM, Seyfarth AM, Angen O. Antimicrobial susceptibility of *Haemophilus parasuis* and *Histophilus somni* from pigs and cattle in Denmark. *Vet Microbiol* 2004; 101: 143-6.

Amano H, Shibata M, Kajio N, Morozumi T. Pathologic observations of pigs intranasally inoculated with serovar 1, 4 and 5 of *Haemophilus parasuis* using immunoperoxidase method. *J Vet Med Sci* 1994; 56: 639-44.

Amano H, Shibata M, Kajio N, Morozumi T. Pathogenicity of *Haemophilus parasuis* serovars 4 and 5 in contact-exposed pigs. *J Vet Med Sci* 1996; 58: 559-61.

Amano H, Shibata M, Takahashi K, Sasaki Y. Effects on endotoxin pathogenicity in pigs with acute septicemia of *Haemophilus parasuis* infection. *J Vet Med Sci* 1997; 59: 451-5.

Angen O, Svensmark B, Mittal KR. Serological characterization of Danish *Haemophilus parasuis* isolates. *Vet Microbiol* 2004; 103: 255-8.

Angen O, Oliveira S, Ahrens P, Svensmark B, Leser TD. Development of an improved species specific PCR test for detection of *Haemophilus parasuis*. *Vet Microbiol* 2007; 119: 266-76.

Aragon V, Cerda-Cuellar M, Fraile L, Mombarg M, Nofrarias M, Olvera A, Sibila M, Solanes D, Segales J. Correlation between clinico-pathological outcome and typing of *Haemophilus parasuis* field strains. *Vet Microbiol* 2010a; 142: 387-93.

Aragon V, Bouchet B, Gottschalk M. Invasion of endothelial cells by systemic and nasal strains of *Haemophilus parasuis*. *Vet J* 2010b; 186: 264-7.

Aragon V, Segales J, Oliveira S. Glaesser's Disease. In: Diseases of Swine, 10th Edition edn. J. Zimmerman LK, A. Ramirez, K. Schwartz, G. Stevenson, ed. Iowa, USA: John Wiley & Sons, Inc 2012: 760-9.

Austin-Busse R-LK. Evaluation of the efficacy of two different tulathromycin treatments in weaned piglets infected intratracheally with *Haemophilus parasuis* serovar 5. Diss. med. vet. 2010. LMU München.

Bak H, Riising HJ. Protection of vaccinated pigs against experimental infections with homologous and heterologous *Haemophilus parasuis*. Vet Rec 2002; 151: 502-5.

Bakos K, Nilsson A, Thal E. Untersuchungen über *Haemophilus suis*. N Vet Med 1952; 4: 241-55.

Bello-Orti B, Deslandes V, Tremblay YD, Labrie J, Howell KJ, Tucker AW, Maskell DJ, Aragon V, Jacques M. Biofilm formation by virulent and non-virulent strains of *Haemophilus parasuis*. Vet Res 2014; 45: 104.

Biberstein EL, White DC. A proposal for the establishment of two new *Haemophilus* species. J Med Microbiol 1969; 2: 75-8.

Blackall PJ, Rapp-Gabrielson VJ, Hampson DJ. Serological characterisation of *Haemophilus parasuis* isolates from Australian pigs. Aust Vet J 1996; 73: 93-5.

Blackall PJ, Trott DJ, Rapp-Gabrielson V, Hampson DJ. Analysis of *Haemophilus parasuis* by multilocus enzyme electrophoresis. Vet Microbiol 1997; 56: 125-34.

Blanco I, Galina-Pantoja L, Oliveira S, Pijoan C, Sanchez C, Canals A. Comparison between *Haemophilus parasuis* infection in colostrums-deprived and sow-reared piglets. Vet Microbiol 2004; 103: 21-7.

Blanco I, Canals A, Evans G, Mellencamp MA, Cia C, Deeb N, Wang L, Galina-Pantoja L. Differences in susceptibility to *Haemophilus parasuis* infection in pigs. *Can J Vet Res* 2008; 72: 228-35.

Boerlin P, Poljak Z, Gallant J, Chalmers G, Nicholson V, Soltes GA, MacInnes JJ. Genetic diversity of *Haemophilus parasuis* from sick and healthy pigs. *Vet Microbiol* 2013; 167: 459-67.

Bouchet B, Vanier G, Jacques M, Gottschalk M. Interactions of *Haemophilus parasuis* and its LOS with porcine brain microvascular endothelial cells. *Vet Res* 2008; 39: 14.

Brockmeier SL. Prior infection with *Bordetella bronchiseptica* increases nasal colonization by *Haemophilus parasuis* in swine. *Vet Microbiol* 2004; 99: 75-8.

Bundestierärztekammer (2015). Leitlinien für den sorgfältigen Umgang mit antibakteriell wirksamen Tierarzneimitteln. In: Deutsches Tierärzteblatt, Dritte Auflage edn. Bundestierärztekammer.

Cai X, Chen H, Blackall PJ, Yin Z, Wang L, Liu Z, Jin M. Serological characterization of *Haemophilus parasuis* isolates from China. *Vet Microbiol* 2005; 111: 231-6.

Cerda-Cuellar M, Aragon V. Serum-resistance in *Haemophilus parasuis* is associated with systemic disease in swine. *Vet J* 2008; 175: 384-9.

Cerda-Cuellar M, Naranjo JF, Verge A, Nofrarias M, Cortey M, Olvera A, Segales J, Aragon V. Sow vaccination modulates the colonization of piglets by *Haemophilus parasuis*. *Vet Microbiol* 2010; 145: 315-20.

Costa-Hurtado M, Olvera A, Martinez-Moliner V, Galofre-Mila N, Martinez P, Dominguez J, Aragon V. Changes in macrophage phenotype after infection of pigs with *Haemophilus parasuis* strains with different levels of virulence. *Infect Immun* 2013; 81: 2327-33.

de la Fuente AJ, Tucker AW, Navas J, Blanco M, Morris SJ, Gutierrez-Martin CB. Antimicrobial susceptibility patterns of *Haemophilus parasuis* from pigs in the United Kingdom and Spain. *Vet Microbiol* 2007; 120: 184-91.

de la Puente Redondo VA, Navas Mendez J, Garcia del Blanco N, Ladron Boronat N, Gutierrez Martin CB, Rodriguez Ferri EF. Typing of *Haemophilus parasuis* strains by PCR-RFLP analysis of the *tbpA* gene. *Vet Microbiol* 2003; 92: 253-62.

Dee SA. *Haemophilus parasuis* infection: A re-emerging disease of pigs. *Vet Med* 1997; 92: 84.

Del Rio ML, Gutierrez CB, Rodriguez Ferri EF. Value of indirect hemagglutination and coagglutination tests for serotyping *Haemophilus parasuis*. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 880-2.

Dijkman R, Wellenberg GJ, van der Heijden HM, Peerboom R, Olvera A, Rothkamp A, Peperkamp K, van Esch EJ. Analyses of Dutch *Haemophilus parasuis* isolates by serotyping, genotyping by ERIC-PCR and Hsp60 sequences and the presence of the virulence associated trimeric autotransporters marker. *Res Vet Sci* 2012; 93: 589-95.

Docic M, Bilkei G. Prevalence of *Haemophilus parasuis* serotypes in large outdoor and indoor pig units in Hungary/Romania/Serbia. *Berl Munch Tieraerztl Wochenschr* 2004; 117: 271-3.

Drolet R, Germain MC, Tremblay C, Higgins R. Ear panniculitis associated with *Haemophilus parasuis* infection in growing-finishing pigs. 16th Congress of the Pig Veterinary Society 2000. Melbourne, Australia. 528.

Glässer K. Untersuchungen über die Schweineseuche mit besonderer Berücksichtigung ihrer Ätiology und Pathologie. Dtsch Tieraerztl Wochenschr 1910: 729-33.

Haedke K. Untersuchungen zur Diagnostik des Polyserositis-Komplexes beim Schwein. Diss. med. vet. 2008. LMU München.

Heinritzi K. Glässersche Krankheit - Polyserositis (HPS). In: Schweinekrankheiten, 1st Edition edn. Heinritzi K, Gindele H, Reiner G, Schnurrbusch U, eds. Stuttgart: Verlag Eugen Ulmer 2006: 107-23.

Hoeffling DC. Acute myositis associated with *Hemophilus parasuis* in primary SPF sows. J Vet Diagn Invest 1991; 3: 354-5.

Intervet Deutschland GmbH (2009) Fachinformation Porcilis Glässer, Injektionssuspension für Schweine, http://www.vetidata.de/praepview/impfstoff_alleangaben.php?pra=MzkyMw==&reisuche=1

Jin H, Zhou R, Kang M, Luo R, Cai X, Chen H. Biofilm formation by field isolates and reference strains of *Haemophilus parasuis*. Vet Microbiol 2006; 118: 117-23.

Kielstein P. Zur Glässerschen Krankheit und Chemotherapeutika-Empfindlichkeit ihres Erregers. Mh Vet -Med 1985; 40: 806-9.

Kielstein P, Leirer R. Glässer's Disease of Swine - etiologic - epizootiological studies into spectrum of pathogens. Mh Vet -Med 1990; 45: 577-82.

Kielstein P, Rosner H, Muller W. Typing of heat-stable soluble *Haemophilus parasuis* antigen by means of agargel precipitation and the dot-blot procedure. Zentralbl Veterinarmed B 1991; 38: 315-20.

Kielstein P, Rapp-Gabrielson VJ. Designation of 15 serovars of *Haemophilus parasuis* on the basis of immunodiffusion using heat-stable antigen extracts. *J Clin Microbiol* 1992; 30: 862-5.

Kielstein P, Rassbach A, Pohle D, Johannsen U, Wiegand M, Schafer M. Pathogenesis of *Haemophilus parasuis* -infection of Swine (Glässer's Disease). *Mh Vet -Med* 1994; 49: 71-5.

Kielstein P, Wuthe HH. Isolation of *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Haemophilus parasuis* and related bacteria from the organs of pigs in Schleswig-Holstein. *Tieraerztl Umschau* 1998; 53: 250-8.

Kielstein P, Wuthe H, Angen O, Mutters R, Ahrens P. Phenotypic and genetic characterization of NAD-dependent Pasteurellaceae from the respiratory tract of pigs and their possible pathogenetic importance. *Vet Microbiol* 2001; 81: 243-55.

Kilian M. A taxonomic study of the genus *Haemophilus*, with the proposal of a new species. *J Gen Microbiol* 1976; 93: 9-62.

Kirkwood RN, Rawluk SA, Cegielski AC, Otto AJ. Effect of pig age and autogenous sow vaccination on nasal mucosal colonization of pigs by *Haemophilus parasuis*. *J Swine Health Prod* 2001; 9: 77-9.

Lahrman KH, Plonait H. Gliedmaßen- und Skeletterkrankungen. In: *Lehrbuch der Schweinekrankheiten*, 4th edn. Waldmann KH, M. Wendt, ed. Stuttgart: Parey Verlag 2004: 279-81.

Lewis PA, Shope RE. Swine Influenza: II. A Hemophilic Bacillus from the Respiratory Tract of Infected Swine. *J Exp Med* 1931; 54: 361-71.

Li JX, Jiang P, Wang Y, Li YF, Chen W, Wang XW, Li P. Genotyping of *Haemophilus parasuis* from diseased pigs in China and prevalence of two coexisting virus pathogens. *Prev Vet Med* 2009; 91: 274-9.

Lichtensteiger CA, Vimr ER. Purification and renaturation of membrane neuraminidase from *Haemophilus parasuis*. *Vet Microbiol* 2003; 93: 79-87.

Little TW. *Haemophilus* infection in pigs. *Vet Rec* 1970; 87: 399-402.

Luppi A, Bonilauri P, Dottori M, Iodice G, Gherpelli Y, Merialdi G, Maioli G, Martelli P. *Haemophilus parasuis* serovars isolated from pathological samples in Northern Italy. *Transbound Emerg Dis* 2013; 60: 140-2.

Martin de la Fuente AJ, Gutierrez Martin CB, Perez Martinez C, Garcia Iglesias MJ, Tejerina F, Rodriguez Ferri EF. Effect of different vaccine formulations on the development of Glasser's disease induced in pigs by experimental *Haemophilus parasuis* infection. *J Comp Pathol* 2009; 140: 169-76.

Metcalf DS, MacInnes JI. Differential expression of *Haemophilus parasuis* genes in response to iron restriction and cerebrospinal fluid. *Can J Vet Res* 2007; 71: 181-8.

Miniats OP, Smart NL, Ewert E. Vaccination of gnotobiotic primary specific pathogen-free pigs against *Haemophilus parasuis*. *Can J Vet Res* 1991; 55: 33-6.

Mittal KR, Higgins R, Lariviere S. Evaluation of slide agglutination and ring precipitation tests for capsular serotyping of *Haemophilus pleuropneumoniae*. *J Clin Microbiol* 1982; 15: 1019-23.

Mittal KR, Higgins R, Lariviere S. Determination of antigenic specificity and relationship among *Haemophilus pleuropneumoniae* serotypes by an indirect hemagglutination test. *J Clin Microbiol* 1983; 17: 787-90.

Moller K, Kilian M. V factor-dependent members of the family Pasteurellaceae in the porcine upper respiratory tract. *J Clin Microbiol* 1990; 28: 2711-6.

Morozumi T, Nicolet J. Some antigenic properties of *Haemophilus parasuis* and a proposal for serological classification. J Clin Microbiol 1986a; 23: 1022-5.

Morozumi T, Nicolet J. Morphological variations of *Haemophilus parasuis* strains. J Clin Microbiol 1986b; 23: 138-42.

Morris SJ, Carrington LM, Gutierrez-Martin CB, Jackson G, A.W. T, Slater JD, Maskell DJ, Sargent CA, Galina-Pantoja L. Characterisation of field isolates of *Haemophilus parasuis* from the UK. 19th Congress of the Pig Veterinary Society 2006. Copenhagen, Denmark. 201.

Mullins MA, Register KB, Bayles DO, Butler JE. *Haemophilus parasuis* exhibits IgA protease activity but lacks homologs of the IgA protease genes of *Haemophilus influenzae*. Vet Microbiol 2011; 153: 407-12.

Munch S, Grund S, Kruger M. Fimbriae and membranes on *Haemophilus parasuis*. Zentralbl Veterinaermed B 1992; 39: 59-64.

Nedbalcova K, Satran P, Jaglic Z, Ondriasova R, Kucerova Z. *Haemophilus parasuis* and Glasser's disease in pigs: a review. Vet Med-Czech 2006; 51: 168-79.

Nedbalcova K, Kucerova Z, Krejci J, Tesarik R, Gopfert E, Kummer V, Leva L, Kudlackova H, Ondriasova R, Faldyna M. Passive immunisation of post-weaned piglets using hyperimmune serum against experimental *Haemophilus parasuis* infection. Res Vet Sci 2011; 91: 225-9.

Neil DH, McKay KA, L'Ecuyer C, Corner AH. Glasser's disease of swine produced by the intracheal inoculation of *haemophilus suis*. Can J Comp Med 1969; 33: 187-93.

Nutsch RG, Hart FJ, Rooney KA, Weigel DJ, Kilgore WR, Skogerboe TL. Efficacy of tulathromycin injectable solution for the treatment of naturally occurring Swine respiratory disease. Vet Ther 2005; 6: 214-24.

Oh Y, Han K, Seo HW, Park C, Chae C. Program of vaccination and antibiotic treatment to control polyserositis caused by *Haemophilus parasuis* under field conditions. *Can J Vet Res* 2013; 77: 183-90.

Oliveira S, Galina L, Pijoan C. Development of a PCR test to diagnose *Haemophilus parasuis* infections. *J Vet Diagn Invest* 2001; 13: 495-501.

Oliveira S, Pijoan C. Diagnosis of *Haemophilus parasuis* in affected herds and use of epidemiological data to control disease. *J Swine Health Prod.* 2002; 10: 221-5.

Oliveira S, Blackall PJ, Pijoan C. Characterization of the diversity of *Haemophilus parasuis* field isolates by use of serotyping and genotyping. *Am J Vet Res* 2003a; 64: 435-42.

Oliveira S, Galina L, Blanco I, Canals A, Pijoan C. Naturally-farrowed, artificially-reared pigs as an alternative model for experimental infection by *Haemophilus parasuis*. *Can J Vet Res* 2003b; 67: 146-50.

Oliveira S, Pijoan C, Morris R. Evaluation of *Haemophilus parasuis* control in the nursery using vaccination and controlled exposure. *J Swine Health Prod* 2004; 12: 123-8.

Oliveira S, Pijoan C. *Haemophilus parasuis*: new trends on diagnosis, epidemiology and control. *Vet Microbiol* 2004; 99: 1-12.

Oliveira S. Improving rate of success in isolating *Haemophilus parasuis* from clinical samples. *J Swine Health Prod.* 2004; 12: 308-9.

Oliveira S. *Haemophilus parasuis* diagnostics. *J Swine Health Prod.* 2007; 15: 99-103.

Olvera A, Cerda-Cuellar M, Aragon V. Study of the population structure of *Haemophilus parasuis* by multilocus sequence typing. *Microbiology-Sgm* 2006; 152: 3683-90.

Olvera A, Segales J, Aragon V. Update on the diagnosis of *Haemophilus parasuis* infection in pigs and novel genotyping methods. *Vet J* 2007a; 174: 522-9.

Olvera A, Cerda-Cuellar M, Mentaberre G, Casas-Diaz E, Lavin S, Marco I, Aragon V. First isolation of *Haemophilus parasuis* and other NAD-dependent Pasteurellaceae of swine from European wild boars. *Vet Microbiol* 2007b; 125: 182-6.

Olvera A, Cerda-Cuellar M, Nofrarias M, Revilla E, Segales J, Aragon V. Dynamics of *Haemophilus parasuis* genotypes in a farm recovered from an outbreak of Glasser's disease. *Vet Microbiol* 2007c; 123: 230-7.

Olvera A, Ballester M, Nofrarias M, Sibila M, Aragon V. Differences in phagocytosis susceptibility in *Haemophilus parasuis* strains. *Vet Res* 2009; 40: 24.

Palzer A, Ritzmann M, Wolf G, Heinritzi K. Erregernachweis aus bronchoalveolärer Lavage bei Schweinen mit Atemwegserkrankungen. *Tieraerztl Umschau* 2005; 60: 550-6.

Palzer A, Ritzmann M, Hafner-Marx A, Wolf G, Heinritzi K. Nachweis von *Haemophilus parasuis* und *Mycoplasma hyorhinis* bei Schweinen sowie Assoziation dieser Erreger mit klinischen und pathologisch-anatomischen Befunden. *Dtsch Tieraerztl Wochenschr* 2006; 113: 227-30.

Palzer A, Ritzmann M, Heinritzi K. Frühe Vakzinierung gegen die Glässersche Krankheit mit *Porcilis Glässer* in einem Feldversuch. *Schweiz Arch Tierheilkd* 2007; 149: 389-94.

Palzer A, Ritzmann M, Wolf G, Heinritzi K. Associations between pathogens in healthy pigs and pigs with pneumonia. Vet Rec 2008; 162: 267-71.

Palzer A, Austin-Busse RL, Ladinig A, Balka G, Zoels S, Ritzmann M. Histopathologische Läsionen bei konventionellen Schweinen nach experimenteller Infektion mit *Haemophilus parasuis* Serovar 5. Tierärztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere 2015; 43: Epub ahead of print.

Peet RL, Fry J, Lloyd J, Henderson J, Curran J, Moir D. *Haemophilus parasuis* septicaemia in pigs. Aust Vet J 1983; 60: 187.

Pijoan C, Oliveira S. *Haemophilus parasuis*: trends and new knowledge. J Swine Health Prod. 2003: 401-3.

Rafiee M, Blackall PJ. Establishment, validation and use of the Kielstein-Rapp-Gabrielson serotyping scheme for *Haemophilus parasuis*. Aust Vet J 2000; 78: 172-4.

Rapp-Gabrielson VJ, Gabrielson DA, Schamber GJ. Comparative virulence of *Haemophilus parasuis* serovars 1 to 7 in guinea pigs. Am J Vet Res 1992; 53: 987-94.

Rapp-Gabrielson VJ, Gabrielson DA. Prevalence of *Haemophilus parasuis* serovars among isolates from swine. Am J Vet Res 1992; 53: 659-64.

Reiner G, Fresen C, Bronnert S, Haack I, Willems H. Prevalence of *Haemophilus parasuis* infection in hunted wild boars (*Sus scrofa*) in Germany. Eur J Wildlife Res 2010; 56: 815-8.

Riley MG, Russell EG, Callinan RB. *Haemophilus parasuis* infection in swine. J Am Vet Med Assoc 1977; 171: 649-51.

Ritzmann M, Heinritzi K. Für Studium und Praxis: Klinisches Bild, Diagnostik und Differenzialdiagnostik der Glässer'schen Krankheit. *Tieraerztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere* 2005; 33: 61-4.

Rosner H, Kielstein P, Muller W, Rohrmann B. Relationship between Serotype, Virulence and Sds-Page Protein Profiles of *Haemophilus-Parasuis*. *Dtsch Tieraerztl Wochenschr* 1991; 98: 327-30.

Rubies X, Kielstein P, Costa L, Riera P, Artigas C, Espuna E. Prevalence of *Haemophilus parasuis* serovars isolated in Spain from 1993 to 1997. *Vet Microbiol* 1999; 66: 245-8.

San Millan A, Escudero JA, Catalan A, Nieto S, Farelo F, Gibert M, Moreno MA, Dominguez L, Gonzalez-Zorn B. Beta-lactam resistance in *Haemophilus parasuis* Is mediated by plasmid pB1000 bearing blaROB-1. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51: 2260-4.

Schimmel D, Kielstein P, Hass R. Zur serologische Typisierung von *Haemophilus parasuis*. *Arch Exp Veterinaarmed* 1985; 39: 944-7.

Segales J, Domingo M, Solano GI, Pijoan C. Immunohistochemical detection of *Haemophilus parasuis* serovar 5 in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues of experimentally infected swine. *J Vet Diagn Invest* 1997; 9: 237-43.

Shifrine M, Biberstein EL. Growth Factor for *Haemophilus* Species Secreted by a *Pseudomonad*. *Nature* 1960; 187: 623.

Solano-Aguilar GI, Pijoan C, Rapp-Gabrielson V, Collins J, Carvalho LF, Winkelman N. Protective role of maternal antibodies against *Haemophilus parasuis* infection. *Am J Vet Res* 1999; 60: 81-7.

Solano GI, Segales J, Collins JE, Molitor TW, Pijoan C. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSv) interaction with *Haemophilus parasuis*. *Vet Microbiol* 1997; 55: 247-57.

Solano GI, Bautista E, Molitor TW, Segales J, Pijoan C. Effect of porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection on the clearance of *Haemophilus parasuis* by porcine alveolar macrophages. *Can J Vet Res* 1998; 62: 251-6.

Strutzberg-Minder K, Boehmer J, Goldstein D, Le Galludec H, Homuth M. Serotyping of *Haemophilus parasuis* isolates from German pigs. 21st Congress of the Pig Veterinary Society 2010. Vancouver, Canada. 821.

Tadjine M, Mittal KR, Bourdon S, Gottschalk M. Development of a new serological test for serotyping *Haemophilus parasuis* isolates and determination of their prevalence in North America. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 839-40.

Trigo E, Mendez-Trigo AV, Simonson R. Antimicrobial susceptibility profiles of *Haemophilus parasuis*: A retrospective study from clinical cases submitted during 1994 and 1995 to a veterinary diagnostic laboratory. 14th Congress of the Pig Veterinary Society 1996. Bologna, Italy. 313.

Turni C, Blackall PJ. Comparison of the indirect haemagglutination and gel diffusion test for serotyping *Haemophilus parasuis*. *Vet Microbiol* 2005; 106: 145-51.

Turni C, Blackall P. Comparison of sampling sites and detection methods for *Haemophilus parasuis*. *Aust Vet J* 2007; 85: 177-84.

Turni C, Blackall PJ. Serovar profiling of *Haemophilus parasuis* on Australian farms by sampling live pigs. *Aust Vet J* 2010; 88: 255-9.

Vahle JL, Haynes JS, Andrews JJ. Experimental reproduction of *Haemophilus parasuis* infection in swine: clinical, bacteriological, and morphologic findings. *J Vet Diagn Invest* 1995; 7: 476-80.

Vahle JL, Haynes JS, Andrews JJ. Interaction of *Haemophilus parasuis* with nasal and tracheal mucosa following intranasal inoculation of cesarean derived colostrum deprived (CDCD) swine. *Can J Vet Res* 1997; 61: 200-6.

Vanier G, Szczotka A, Friedl P, Lacouture S, Jacques M, Gottschalk M. *Haemophilus parasuis* invades porcine brain microvascular endothelial cells. *Microbiology-Sgm* 2006; 152: 135-42.

Viehmann M, Postiasi S, Balka G, Spergser J, Palzer A, Hennig-Pauka I, Ritzmann M, Ladinig A. Wirksamkeitsbeurteilung einer Kombinationstherapie aus Antibiose und NSAID nach experimenteller *Haemophilus parasuis*-Infektion bei Absetzferkeln. *Tieraerztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere* 2013; 41: 225-32.

Wiegand M, Kielstein P, Pohle D, Rassbach A. Untersuchungen an primären SPF-Ferkeln nach experimenteller Infektion mit *Haemophilus parasuis*. Klinische Symptomatik, Veränderungen von hämatologischen Parametern und von Parametern des Liquor cerebrospinalis. *Tieraerztl Prax* 1997; 25: 226-32.

Yu Y, Wu G, Zhai Z, Yao H, Lu C, Zhang W. Fifteen novel immunoreactive proteins of Chinese virulent *Haemophilus parasuis* serotype 5 verified by an immunoproteomic assay. *Folia Microbiol (Praha)* 2015; 60: 81-7.

Zhang NZ, Zhou DH, Huang SY, Wang M, Shi XC, Ciren D, Zhu XQ. Seroprevalence and risk factors associated with *Haemophilus parasuis* infection in Tibetan pigs in Tibet. *Acta Trop* 2014; 132: 94-7.

Zhou M, Zhang A, Guo Y, Liao Y, Chen H, Jin M. A comprehensive proteome map of the *Haemophilus parasuis* serovar 5. *Proteomics* 2009; 9: 2722-39.

Zimmermann W, Müller C. Bedeutung und Bekämpfung der „Glässerschen Krankheit“ – Transportkrankheit – *Haemophilus parasuis*-Infektion in der Schweiz. 18th Congress of the Pig Veterinary Society Intervet Satellite Symposium 2004. Hamburg, Germany. 332.

Zimmermann W. *Haemophilus parasuis*-Infektion - die "Glässersche"- oder Transportkrankheit. Praktischer Tierarzt 2008; 89: 948-51.

Zucker BA, Baghian A, Traux R, O'Reilly KL, Storz J. Detection of strain-specific antigenic epitopes on the lipo-oligosaccharide of *Haemophilus parasuis* by use of monoclonal and polyclonal antibodies. Am J Vet Res 1996; 57: 63-7.

IX. DANKSAGUNG

Ich danke Professor Dr. Mathias Ritzmann herzlich für die Überlassung dieses aktuellen und spannenden Themas.

Ein besonderer Dank gilt auch meinem Betreuer Dr. Matthias Eddicks für die Ruhe und Besonnenheit, die er stets vermittelte.

Danken möchte ich auch Frau Dr. Elisabeth Banholzer (Firma Zoetis) für die Initiative und die Bereitstellung der Daten.

Danke an Frau Dr. Strutzberg-Minder und den Mitarbeitern bei der IVD-GmbH, Hannover für die Vermittlung der durchgeführten Methodik.

Danke auch an die Mitarbeiter der Klinik für Schweine für die Hilfe bei den letzten Erledigungen.

Für die Rücksichtnahme und Geduld möchte ich mich bei Lisa Dürr bedanken.

Ein besonderer Dank geht auch an meine Familie für dauernde und immerwährende Unterstützung.

X. ABBILDUNGSVERZEICHNIS

<i>Abbildung 1: Darstellung der geographischen Herkunft der ausgewerteten Tiere in Deutschland. Die Größe der Kreise spiegelt die in den Kreisen angegebene Anzahl der Betriebe wieder. Grundlage der Erstellung sind die Postleitzahlen der Tierbesitzer. Zwei Postleitzahlen waren nicht eindeutig zuzuordnen und entfallen in der Darstellung (Quelle: http://www.easymapmaker.com/).....</i>	<i>26</i>
<i>Abbildung 2: Die Verteilung der ausgewerteten Fälle auf die unterschiedlichen Betriebsstrukturen. Die Angabe erfolgt in Prozent. Die Menge der ausgewerteten Fälle beträgt insgesamt n=225.</i>	<i>31</i>
<i>Abbildung 3:Prozentuale Verteilung der ausgewerteten Tiere auf Altersklasse. Die Menge beträgt n=225.....</i>	<i>32</i>
<i>Abbildung 4: Pathomorphologisch erhobene Befunde bei den ausgewerteten Tieren in %. Pl.=Pleuritis, Pt.=Peritonitis; Pk.=Perikarditis, Pn=Pneumonie, Mn.=Meningitis, At.=Arthritis, EBr=Erguss Brusthöhle, EBa=Erguss Bauchhöhle, EPk=Erguss Perikard. Die Tierzahl beträgt n=225.....</i>	<i>33</i>
<i>Abbildung 5: Diagnostizierte Veränderungen der serösen Häute Pleura (Facies costalis und pulmonalis), Peritoneum und Perikard bei den ausgewerteten Tieren mit Mono- und Polyserositis. Pl=Pleuritis, Pt.=Peritonitis, Pk=Perikarditis. Die Zahl der Tiere beträgt n=91.</i>	<i>35</i>
<i>Abbildung 6: Anzahl der Gesamtproben auf die jeweiligen Beprobungsorte und die jeweilige Anzahl der H. parasuis positiven Proben je Beprobungsort. S.s.H.=Sammeltupfer seröse Häute; n=1103.</i>	<i>36</i>
<i>Abbildung 7: In den ausgewerteten Tieren mittels indirektem Hämagglutinationstest nachgewiesene Serotypen. In einem Tier können mehrfache nachgewiesene Serotypen vorkommen. n=252.</i>	<i>38</i>
<i>Abbildung 8: In den ausgewerteten Tieren mittels indirektem Hämagglutinationstest nachgewiesene Serotypen, absteigend mit der Anzahl der Nachweise. In einem Tier können mehrfache nachgewiesene Serotypen vorkommen. n=252.</i>	<i>39</i>
<i>Abbildung 9: Anzahl der nachzuweisenden Serotypen je Tier. Die Gesamtzahl der ausgewerten Fälle beträgt n=225.....</i>	<i>39</i>
<i>Abbildung 10: Mittels indirektem Hämagglutinationstest nachgewiesene Kombinationen von Serotypen bei den untersuchten Tieren. Die Probenzahl</i>	

<i>beträgt n=25. In rot sind Kombinationen aus drei unterschiedlichen Serotypen dargestellt, die in einem Tier festgestellt werden konnten.</i>	<i>40</i>
<i>Abbildung 11: Mittels indirektem Hämagglutinationstest nachgewiesene Serotypen, Nachweis nur eines Serotyp pro Tier; n=200.</i>	<i>41</i>
<i>Abbildung 12: Die Verteilung der Serotypen auf die Betriebsart. Dabei ist jeweils nur ein Serotyp pro Tier nachgewiesen worden; n=200. In den Säulen angegebene Zahlen bezeichnen die Anzahl des jeweiligen Serotyps.....</i>	<i>42</i>
<i>Abbildung 13: Nachweis der Serotypen aufgeteilt nach Altersgruppen. Dabei ist jeweils nur ein Serotyp pro Tier nachgewiesen worden; n=200.....</i>	<i>43</i>
<i>Abbildung 14: Auftreten von pathomorphologischen Veränderungen bei Tieren mit Nachweis nur eines Serotyp. Pl.=Pleuritis, Pt.=Peritonitis; Pk.=Perikarditis, Pn=Pneumonie, Mn.=Meningitis, At.=Arthritis, EBr=Erguss Brusthöhle, EBa=Erguss Bauchhöhle, EPk=Erguss Perikard. Die Gesamtzahl beträgt n=130.</i>	<i>44</i>
<i>Abbildung 15: Pathomorphologische Veränderung bei makroskopischer Befundung. Dabei ist jeweils nur ein Serotyp pro Tier nachgewiesen worden, Serotypen mit Kreuzreaktionen im indirektem Hämagglutinationstest nicht berücksichtigt; n=130.</i>	<i>45</i>
<i>Abbildung 16: Pathomorphologische Veränderung bei makroskopischer Befundung. Dabei ist jeweils nur ein Serotyp pro Tier nachgewiesen worden; Serotypen mit Kreuzreaktionen im indirektem Hämagglutinationstest nicht berücksichtigt; n=130.</i>	<i>45</i>
<i>Abbildung 17: Pathomorphologische Veränderung bei makroskopischer Befundung. Dabei ist jeweils nur ein Serotyp pro Tier nachgewiesen worden; Serotypen mit Kreuzreaktionen im indirektem Hämagglutinationstest nicht berücksichtigt; n=130</i>	<i>46</i>
<i>Abbildung 18: Vorkommen einer Serositis bei Tieren mit Nachweis der angegeben Serotypen. Ermittelt mittels IHA, beim Nachweis nur eines Serotyps pro Tier; n=130.</i>	<i>47</i>

XI. TABELLENVERZEICHNIS

<i>Tabelle 1: Einteilung der Gewichts- und Altersgruppen.....</i>	<i>26</i>
<i>Tabelle 2: Verteilung der entnommenen Proben auf die Beprobungsorte. Die angegebenen Prozente beziehen sich auf die Gesamtprobenzahl n=1103.</i>	
<i>S.s.H.=Sammeltupfer der serösen Häute.....</i>	<i>27</i>
<i>Tabelle 3: Verteilung der Fälle auf Gewichtsklassen n=225.....</i>	<i>32</i>
<i>Tabelle 4: Verteilung der untersuchten Tiere auf das Geschlecht. n=225.....</i>	<i>33</i>
<i>Tabelle 5: Vorkommen einer Monoserositis oder Polyserositis bei den ausgewerteten Tieren. Die Gesamtprobenzahl beträgt n=225.....</i>	<i>34</i>
<i>Tabelle 6: Prozentuale Anteile der Nachweise von H. parasuis je Beprobungsort. n=372.....</i>	<i>37</i>
<i>Tabelle 7: Pathomorphologischer Befund an der Serosa je Serotyp. Nachweis des Serotyps mittels indirektem Hämagglutinationstest, bei nur einem Serotyp je Tier n=58; Pl=Pleuritis, Pt.=Peritonitis, Pk=Perikarditis, ST=Serotyp.....</i>	<i>48</i>
<i>Tabelle 8: Verteilung der H. parasuis positiven Proben (n=303) auf die unterschiedlichen Beprobungsorte je Serotyp. Mittels indirektem Hämagglutinationstest jeweils nur maximal ein festgestellter Serotyp je Tier; Angegeben sind die Anzahl der Tiere mit dem jeweiligen Serotyp. Mehrfachnennungen sind möglich. S.s.H.=Sammeltupfer seröser Häute.....</i>	<i>50</i>