

Vom NÖ Tiergesundheitsdienst¹, Schillerring 13, 3130 Herzogenburg
und der Fa. Ingenetix², Simmeringer Hauptstrasse 24, 1110 Wien

Erreger von Kälberdurchfall Detektion mit Real-Time-PCR

W.Roßmanith¹, I. Korschineck² und E. Wilhelm¹



Gliederung

- Ziel des Projektes
- Durchfallerreger der Kälber
- Untersuchungsmethoden, Proben
- Ergebnisse und deren Auswertung
- Schlussfolgerung

Ziel des Projektes

- Vergleich von drei Methoden zum Nachweis bestimmter Durchfallerreger in klinisch verdächtigen und unverdächtigen Kotproben:
 1. Immunchromatographischer Schnelltest
 2. ELISA
 3. Real-Time-PCR
- Bewerten der Methoden für bestimmte Erreger
- Real-Time-PCR Methoden etablieren, die noch nicht erhältlich sind

Wichtige Durchfallerreger der Kälber

Bovine Viren:

Rotavirus (BRV)

Coronavirus (BCoV)

Torovirus (BToV)

Norovirus (BNoV)

Nebovirus

(Diarrhoevirus
BVDV)

Bakterien:

Escherichia coli
Enterotox. (ETEC)

Salmonella
Serovar Dublin, Typhi-
murium

Clostridium perfringens
A:α; B:α,β,ε; C:α,β
D:α,ε; E:α,ι

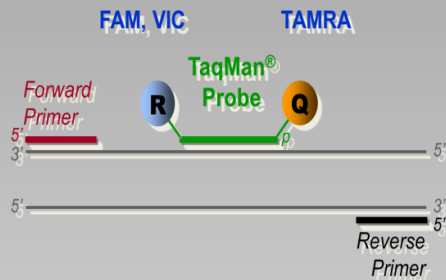
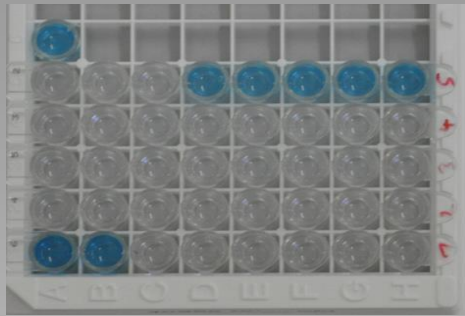
Protozoa:

Cryptosporidium parvum

Eimeria bovis
Eimeria zuernii
Eimeria alabamensis
(Coccidiose)

Giardia bovis

Untersuchungsmethoden



ELISA:

Rotavirus (BRV)

Coronavirus (BCoV)

E. coli (K99)

C. parvum

Real-Time-PCR:

Rotavirus (BRV)

Coronavirus (BCoV)

Torovirus (BToV), C. parvum

Immunchromatographie:

Rotavirus (BRV)

Coronavirus (BCoV)

E. coli (K99), C. parvum



Keimisolation
und Antibiogramm

Flotationstechnik für
Eimeria-Oozysten

Untersuchungsmaterial

Insgesamt 190 Kotproben aus NÖ Rinderbetrieben

Davon 125 verdächtige Proben, verändert in Konsistenz, Farbe oder Geruch

Anzahl von 65 unverdächtigen Kotproben, jedoch nicht von gnotobiotischen Kälbern mit definierter Erregerfreiheit

Ergebnisse: Methodenvergleich

Test-systeme (+)	Verdächtige Kotproben: n=125			Unverdächtige Kotproben : n= 65		
	BRV	BCoV	COP	BRV	BCoV	COP
I	41	16	38	8	12	9
E	35	15	34	7	8	16
P	52	29	36	9	6	6
I u. E u. P	32	9	28	6	1	5
Nur I u. P	5	3	1	1	0	0
Nur I u. E	0	0	0	0	1	2
Nur E u.P	3	4	2	1	3	1
Nur I	4	4	9	1	10	2
Nur E	0	2	4	0	3	8
Nur P	12	13	5	1	2	0

Vergleich von positiven Testergebnissen: IC.-Schnelltest (I), ELISA (E) und Real-Time-PCR (P) bei verdächtigen und unverdächtigen Kotproben Bovines Rotavirus (BRT), bovines Coronavirus (BCoV), Cryptosporidium parvum (COP)

Ergebnisse: Methodenvergleich

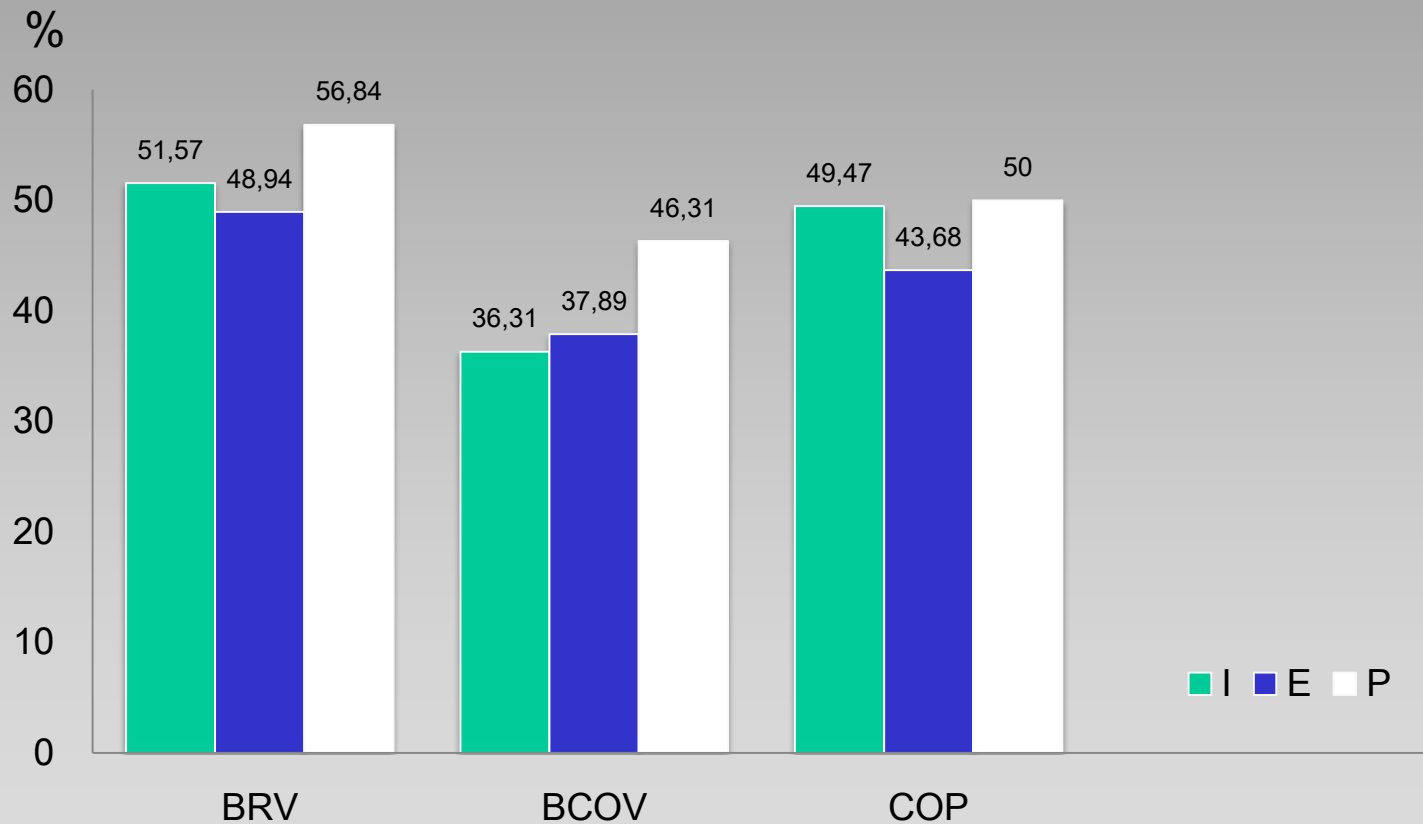
Die Real-Time-PCR erzielt bei BRT und BCoV deutlich mehr positive Ergebnisse bei den verdächtigen Proben

Über die höhere Sensitivität einer in Ames entwickelten Real-Time-PCR wurde berichtet (Cho YI, et al., 2010)

Bei den **unverdächtigen Proben** sind die positiven Ergebnisse der 3 Methoden ungefähr gleich nur der IC-Schnelltest hat bei BCoV deutlich mehr positive Resultate und der ELISA bei COP

Methodenvergleich

Übereinstimmende Klassifizierung:
Positive Ergebnisse aus verdächtigen Proben + negative Ergebnisse aus
unverdächtigen Proben/Proben-Gesamtzahl in %



Ergebnisse

Vergleich der positiven Resultate (BRV, BCoV und BToV) von 125 verdächtigen und 105 unverdächtigen Proben mit einer konventionellen PCR (Haschek et al., 2006) und der Real-Time-PCR mit 125 verdächtigen und 65 unverdächtigen Proben

	BRV pos. %	BCoV pos %	BToV pos %
Konv. PCR	9,1	25,7	5,2
Real-time-P	32,1	18,42	27,89

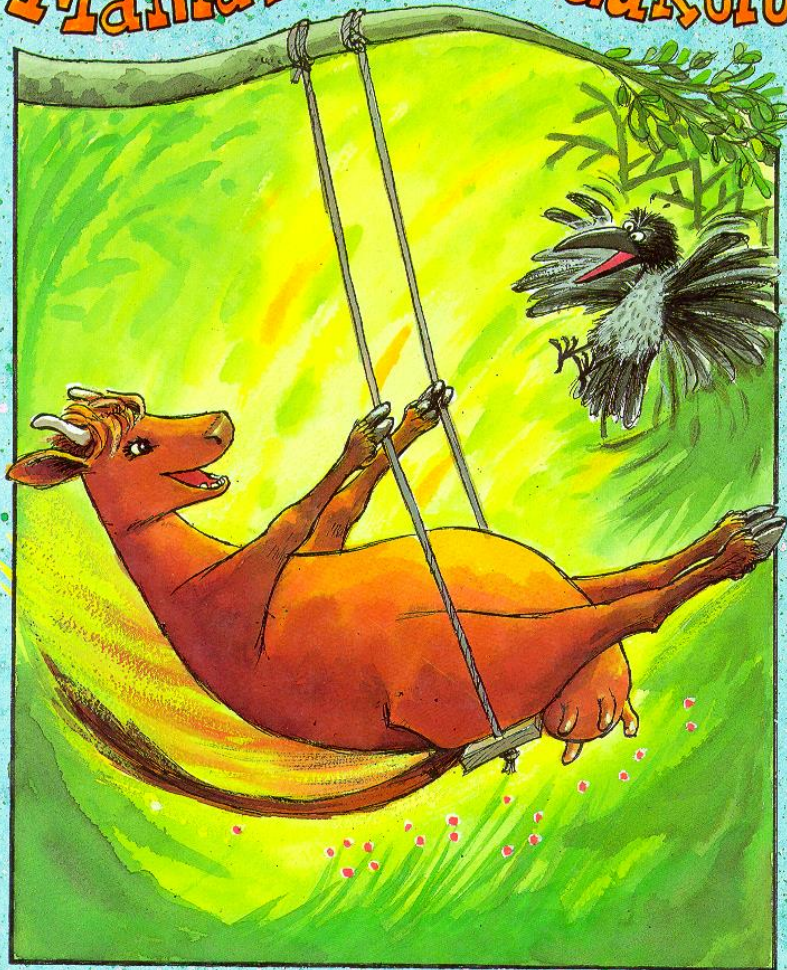
Schlussfolgerung und weitere wichtige Schritte

Real-Time-PCR erkennt mehr Proben als virus-positiv als der immunchromatographische Schnelltest und der ELISA (BRV,BCoV)

Anteil der virus-positiven Proben detektiert durch Real-Time-PCR bei **unverdächtigen Proben** ist nicht höher als im IC-Schnelltest und im ELISA

Weitere Schritte sind die Etablierung der Detektion von Noro.- und Nebovirus, von E. coli-Pathogenitätsfaktoren, von Eimeria spp. sowie die Differenzierung in E. bovis, E. zuernii und E. alabamensis sowie von Giardia bovis

Mama Muh schaukelt



Jujja und Tomas Wieslander • Sven Nordqvist

Oetinger

Den Tierärztinnen und
Tierärzten, dem
Landeskontrollverband

Herzlichen Dank für
Ihre Mithilfe