

6.1. ZUSAMMENFASSUNG

An 108 Serpulinenstämmen des Schweines, einschließlich Typstämmen für *S. hyodysenteriae* und *S. innocens*, wurden im Hinblick auf eine mögliche diagnostische Verwendung einerseits Hämolyseintensität, Enzymmuster und lektinvermittelte Agglutinationen auf ihren Nutzen zur Charakterisierung von Serpulinen untersucht, andererseits wurden, über die Bestimmung der in vitro-Aktivität von Tiamulin, Dimetridazol und Ronidazol, der Agardiffusionstest sowie der QUICKMIC-Test (nach RONNE u. SZANCER 1990) auf ihre Brauchbarkeit zur Resistenzprüfung von Serpulinen geprüft.

34 % der untersuchten Serpulinenstämme, die *S. innocens*-Referenzstämme eingeschlossen, zeigten eine alpha-Galactosidase-Aktivität. Die restlichen 66 % , einschließlich der *S. hyodysenteriae*-Referenzstämme besaßen dieses Enzym nicht. Alle Stämme mit alpha-Galactosidase hämolysierten zudem schwach und sämtliche stark hämolysierenden Stämme waren alpha-Galactosidase-negativ. Jedoch wiesen 10 der schwach hämolysierenden Serpulinen-Stämme keine alpha-Galactosidase auf.

Bei der Untersuchung der lektinvermittelten Agglutination reagierten 27 der verwendeten 42 Lektine mit mindestens einem der untersuchten 108 Serpulinenstämme. Die Lektine CIC, ARA, DAT und PHV agglutinierten nur alpha-Galactosidase-negative, die Lektine BAU, COD, PIS, PHC, SAM, TET und MOM dagegen nur alpha-Galactosidase-positive Serpulinenstämme. 3 der 4 mitgeführten *S. hyodysenteriae*-Typstämme zeigten nur mit dem Lektin LIM, der *S. hyodysenteriae*-Typstamm B 204 sowie der *S. innocens*-Typstamm B 256 mit keinem der Lektine eine Agglutinationsreaktion. 86 % der alpha-Galactosidase-negativen Serpulinenfeldstämme sowie 5 der 6 *S. hyodysenteriae*-Typstämme werden von LIM und/oder CIC agglutiniert. Mit Hilfe von Lektinkombinationen wurden die Serpulinen in Lektinagglutinationsgruppen eingeteilt.

Die über das Agardilutionsverfahren ermittelten MHK_{90} -Werte für die 108 Serpulinenstämme betragen für Tiamulin $4 \mu\text{g/ml}$ sowie für Dimetridazol und Ronidazol $\geq 256 \mu\text{g/ml}$. Demnach waren 6 % bzw. 41 % der alpha-Galactosidase-negativen Stämme als resistent gegen Tiamulin bzw. Dimetridazol, jedoch sämtliche alpha-Galactosidase-positiven Stämme als sensibel gegen die beiden Chemotherapeutika einzustufen.

Im Agardiffusionstest zeigten sich erhebliche Schwankungen der Hemmhofdurchmesser und hohe Fehlerraten von 37 % für Tiamulin und 42 % für Dimetridazol. Diese Methode scheint daher für die Resistenzprüfung von Serpulinen wenig geeignet zu sein.

Als mögliche Alternative zur routinemäßigen Resistenzprüfung von Serpulinen mittels Agardiffusionstest wurde ein verkürztes Agardilutionsverfahren nach dem Vorschlag von RONNE und SZANCER (1990) (QUICKMIC-Test) geprüft. 7 % bzw. 45 % der 71 alpha-Galactosidase-negativen Serpulinenstämme wurden mit diesem Verfahren als resistent gegen Tiamulin bzw. Dimetridazol bewertet. Von den alpha-Galactosidase-positiven Stämmen wurden 97 % bzw. 100 % als sensibel gegen Tiamulin bzw. Dimetridazol eingestuft. Die Ergebnisse des QUICKMIC-Testes wichen damit nur geringgradig von den Werten des Agardilutionstestes ab.

Aufgrund der guten Handhabbarkeit und der vergleichsweise geringen Fehlerraten von 7 % für Tiamulin und 9 % für Dimetridazol muß der QUICKMIC-Test derzeit als Methode der Wahl zur Resistenzprüfung von Serpulinen in der Routinediagnostik angesehen werden.

6.2. SUMMARY

Andreas Ruffer

Investigations of the characterization and susceptibility testing of *Serpulina* strains from pigs

The diagnostical usability of haemolytic pattern, enzymatical properties and lectin mediated agglutination for the characterization of *Serpulina* spp. were investigated with 108 *Serpulina* strains of pigs including type strains of *S. hyodysenteriae* and *S. innocens*. Based on the MIC determination for tiamulin, dimetridazol and ronidazol the applicability of the agar diffusion method and the QUICKMIC test (according to RONNE and SZANCER 1990) in the routine diagnostic were proved.

34 % of the investigated *Serpulina* strains including the reference strains of *S. innocens* possessed an alpha-galactosidase activity. The other 66 % including the *S. hyodysenteriae* type strains did not have this enzyme. All strains with alpha-galactosidase activity showed a weak hemolysis. On the other hand all strains with strong haemolysis were alpha-galactosidase negative. But 10 strains without the alpha-galactosidase demonstrated a weak haemolysis.

In the investigation of the lectin mediated agglutination 27 of the 42 used lectins reacted with at least one of the 108 *Serpulina* strains. The lectins CIC, ARA, DAT and PHV agglutinated only alpha-galactosidase negative strains, the lectins BAU, COD, PIS, PHC, SAM, TET and MOM only alpha-galactosidase positive strains. 3 of the 4 *S. hyodysenteriae* type strains only reacted with LIM, the *S. hyodysenteriae* type strain B 204 and the *S. innocens* type strain B 256 remained without any agglutination. LIM and/or CIC agglutinated 86 % of the alpha-galactosidase negative *Serpulina* field strains and 5 of 6 *S. hyodysenteriae* type strains. Based on the agglutination

patterns the *Serpulina* strains were divided into lectin agglutination groups.

The MIC₉₀ values of tiamulin respectively dimetridazol and ronidazol determined in the agardilution method were 4 µg/ml respectively \geq 256 µg/ml for the 108 *Serpulina* strains. Therefore the degree of resistant strains amounted to 6 % respectively 41 % of the alpha-galactosidase negative strains for tiamulin respectively dimetridazol. But all strains with alpha-galactosidase activity were sensitive against both chemotherapeutics.

In the agardiffusion method appeared large fluctuations of the inhibition zone diameter and great error rates of 37 % for tiamulin and 42 % for dimetridazol. Therefore this method seems not to be available for the susceptibility testing of *Serpulina* sp..

As possible alternative to the agardiffusion test for the susceptibility testing of *Serpulina* spp. a short agardilution method according to RONNE and SZANCER (1990) (QUICKMIC test) was investigated. Using this method 7 % respectively 45 % of the alpha-galactosidase negative strains were classified as resistant and 97 % respectively 100 % of the alpha-galactosidase positive strains were classified as sensitive against tiamulin respectively dimetridazol. Thereby these results differ slightly from the values of the agardilution test.

Based on the good handling and the comparatively low error rate of 7 % for tiamulin and 9 % for dimetridazol the QUICKMIC test must be supposed as the method of choice today for the susceptibility testing of *Serpulina* spp. in the routine diagnostic.