

## 6. ZUSAMMENFASSUNG

Drei kommerziell verfügbare Antigen-Capture-ELISA wurden zum Nachweis von Antigenen des klassischen Schweinepest-Virus (KSPV) im Vergleich zur Virusisolierung evaluiert. Bei den ELISA handelte es sich um einen indirekten Ag-C-ELISA (Ingelvac ESP Diagnostikum Antigentest®), der das KSPV-spezifische Antigen im Vollblut nachweist, einen direkten Ag-C-ELISA (Chekit CSF-Virus®), der das Hüllglykoprotein E<sup>TM</sup> im Serum und Vollblut nachweist, und einen indirekten Ag-C-ELISA (Serelisa ESP Antigen®), zum Nachweis des nichtstrukturellen Proteins p120 im Vollblut. Die Tests wurden anhand der Proben von KSPV-infizierten Versuchsschweinen und nichtinfizierten Schweinen bezüglich ihrer Sensitivität, Spezifität sowie ihrer Vorhersagewerte überprüft.

Die Sensitivität der ELISA wurde bei Schweinen mit verschiedenen Verlaufsformen und während der unterschiedlichen Infektionsstadien der KSP ermittelt. Die Sensitivität der ELISA war bei den verschiedenen Verlaufsformen der KSP unterschiedlich. Bei den Proben von chronisch erkrankten Tieren lag die Sensitivität zwischen 71 % und 93 %, bei den akut-letal erkrankten Tieren zwischen 49 % und 81 % und bei den akut-transient erkrankten Schweinen bei etwa 39 %. Im frühen Stadium der Krankheit war die Sensitivität gering. Ihr Anstieg wurde erst nach Auftritt der Krankheitssymptome beobachtet. Sie lag für Blut- bzw. Serumproben, die aus der Inkubationsphase stammten, bei 17 % - 29 % und für die Proben aus der Krankheitsphase zwischen 51 % und 88 %. Der Nachweis des KSPV-Antigen mittels ELISA gelang in der Regel 2 - 3 Tage nach der ersten Virusisolierung aus Blutleukozyten. Der erste positive Nachweis war am 6. Tag post infectionem (p.i.) im Blut und am 7. Tag p.i. im Serum. Ein deutlicher Anstieg der positiven Ergebnisse wurde vom 9. bis zum 15. Tag p.i. bei Proben von akut-letal und chronisch erkrankten Tieren festgestellt. Der Ingelvac ESP Diagnostikum Antigentest® erkannte Proben von chronisch kranken Schweinen beim Vorhandensein von Antikörpern im Gegensatz zum Chekit CSF-Virus® nicht.

Die ELISA hatten einen positiven Vorhersagewert von 98 % - 100 % und einen negativen Vorhersagewert von 48 %-73 %. Die Spezifität wurde anhand von Proben von nichtinfizierten Schweinen ermittelt und lag zwischen 92 %-100 %.

Der Chekit CSF-Virus® wurde nach zwei verschiedenen Gebrauchsanweisungen und Chargen durchgeführt. Beide Varianten dieses ELISA wurden miteinander verglichen.

Die ELISA wurden bezüglich ihres Arbeitsaufwandes, der Extinktionswerte der Proben und Wiederholbarkeit ihrer Ergebnisse miteinander verglichen. Außerdem wurden die Überlegungen über die Einsatzmöglichkeiten diskutiert.

## 7. SUMMARY

### Natal EROL

#### **Comparison of different Enzyme-linked Immunosorbent Assays (ELISA) for the detection of antigen of classical swine fever virus**

Three commercially available Antigen-Capture-ELISA have been evaluated for the detection of antigens of Classical Swine Fever Virus (CSFV) compared with virus isolation.

The ELISAs were an indirect Ag-C-ELISA (Ingelvac ESP Diagnostikum Antigentest®), which detects CSFV-specific antigen in blood, a direct Ag-C-ELISA (Chekit CSF-Virus®), which detects the envelop glycoprotein E<sup>TM</sup> in serum, and an indirect Ag-C-ELISA (Serelisa ESP Antigen®) which detects the non-structural protein NS 2-3 (p120) in blood. The tests were analysed using samples from experimental pigs inoculated with CSFV and from non-infected pigs. Their sensitivity, specificity and predictive values have been analysed.

The sensitivity of the ELISAs was determined using experimentally infected pigs with different courses of CSF and during different phases of infection, respectively. The sensitivity with respect to different courses of CSF was variable. Sensitivity for the samples from pigs with a chronic infection was between 71 % and 93 % and for the samples from acute-lethal infected pigs between 49 % and 81 %. In acute-transient infected pigs, which became reconvalescent, sensitivity was approximately 39 %. The sensitivity was lower in earlier periods of infection compared to the clinical phase. It has been determined for blood and serum samples, which originated from the incubation phase, at 17 % - 29 % and for the samples from the clinical phase between 51 % and 88 %. The detection of CSFV-Antigen by ELISA was usually successful 2-3 days after virus isolation. The first detection was at 6 day post infection (d p i) in blood and at 7. d p.i. in serum. An increase of positive results was observed with samples collected from 9 up to 15. d p.i. from animals showing acute-lethal and chronic course of

infection. The Ingelvac ESP Diagnostikum Antigentest® did not recognise samples of chronically sick pigs at the presence of CSF specific antibodies in contrast to the Chekit CSF-Virus®

The ELISAs scored a positive predictive value of 98 %-100 % and a negative predictive value of 48 %-73 %. The specificity was determined using samples of non-infected pigs and was between 92 %-100 %

The Chekit CSF-Virus® was available with two different instructions and batches. Both variants of this ELISA were compared with each other.

The ELISAs were compared with each other with respect to their handling, optical density of the samples and repetition of their results. In addition the possible use of the tests in CSF diagnosis was discussed.

## 8. ÖZET

Nural EROL

**Farklı komersiyel Enzyme-linked-Immuno-Sorbent Assay (ELISA) testlerinin klasik domuz vebası virus antijenlerinin tespiti için karşılaştırılmaları.**

Klasik domuz vebası virusunun (KSPV) antijenlerinin tespiti için kullanılan üç farklı komersiyel Antigen-Capture (Ag-C) ELISA testi virus izolasyonu ile karşılaştırılmaları olarak diagnozda kullanılabilirliği bu çalışmada araştırıldı. Bu ELISA testlerinden birincisi, KSP virusunun spesifik antijenlerini kanda tespit eden bir indirekt Ag- C ELISA (Ingelvac ESP Diagnostikum Antigentest®) idi. İkinci ELISA zar glükoproteini olan E<sup>TM</sup> i kanda ve serumda tespit eden direkt Ag.C-ELISA (Chekit CSF-Virus®), üçüncü test ise p120 ya da NS 2-3 olarak adlandırılan proteinin kanda tespit edebilen yine bir indirekt Ag-C-ELISA testiydi (Serelisa ESP Antigen®).

Bu testler, KSP-virusu ile inokule edilmiş deney domuzlarından ve KSP-virusuyla hiç bir kontağı olmayan sağlıklı hayvanlardan alınan numunelerin yardımıyla, sensitivite (duyarlılıkları), spesifite ve numuneleri doğru olarak pozitif veya negatif saptayabilme ihtimalleri (predictive values) incelendi.

ELISA testlerinin sensitiviteeleri hastalığın değişik formlarına ve enfeksiyonun farklı dönemlerine göre araştırıldı. Hastalığın değişik formlarına göre ELISA testlerinin sensitiviteeleri farklılık gösteriyordu. Kronik hasta domuzlardan alınan numunelerde sensitivite % 71 ve % 93 arasında hesaplanırken, akut-lethal hasta hayvanlardan alınan numunelerde sensitivite % 49 ve % 81 arasında değişiyordu. Vebaya yakalanan fakat daha sonra iyileşen domuzlardan alınan viruspozitif numunelerde ise sensitivite yaklaşık % 39 olarak hesaplandı.

Testlerin duyarlılığının, hastalığın erken döneminde zayıf olduğu, ancak ilerlemiş dönemlerde, mesela hastalık semptomlarının ortaya çıkmasından sonra arttığı gözlemlendi. Enfeksiyonun inkubasyon döneminden alınan numunelerde sensitivite % 17 - % 29 arasında iken hastalık semptomlarının bulunduğu dönemden alınan numunelerde % 51 - % 88 arasında idi. ELISA testleriyle KSPV-Antijenlerinin tespiti genel olarak virusun kan lökositlerinden hücre kültüründe izole edilmesinden 2-3 gün sonra mümkün olmakta. ELISA testinde en erken enfeksiyonun 6. gününde kan numunesinde ve 7. gününde serumda antijen tespit edilebildi. En yüksek sensitivite, akut ve kronik hasta hayvanlardan 9. ve 15. günler arasında alınan numunelerde olduğu gözlemlendi. Ayrıca kronik hasta hayvanlardaki antikor varlığında antijen tespiti. Chekit CSF-Virus®un aksine, Ingelvac ESP Diagnostikum Antigentest® ile mümkün olmadığı söylenebilir. Testlerin pozitif bulgularının gerçekten pozitif olma ihtimali (positive predictive value) % 98 - % 100 iken, negatif sonuçların gerçekten negatif olma ihtimali (positive predictive value) % 48 ile % 73 arasında olarak tespit edildi. ELISA testlerinin spesifiteeleri % 92 ile % 100 arasında bulunmakta.

Chekit CSF-Virus®'un farklı kullanım talimatları ve Charge numaraları olan iki varyantı birbiriyle karşılaştırıldı. Testler, pratiklikleri, numunelerin testlerdeki optik kalınlıkları ve test sonuçlarının tekrar elde edilebilme ihtimali bakımından incelendi ve karşılaştırıldı. Ayrıca ELISA'ların kullanılma alanları hakkındaki düşüncelere bu çalışmada yer verildi.