

# Klassische Serologie in der modernen Labordiagnostik

- Die Serumschnellagglutination (SSA) am Beispiel der serologischen Diagnostik der aviären Mykoplasmosen

**Joachim Borgwardt**

**Vortrag zur Fortbildungsveranstaltung  
der Länder 12. und 13. Mai 2014**



**Landesamt für Verbraucherschutz - Fachbereich Veterinärmedizin Stendal**  
**Antrag auf virologische/serologische Untersuchung (Geflügel, Pferde, Kleintiere, Sonstige)**

Seite 1 Probenanzahl 63 Entnahmedatum 16.04.14 Auftr.-Nr.: **4214015060**  
 LAV Sachsen-Anhalt  
 FB Veterinärmedizin

**Tierhalter**  
 (Registrier-Nr.): \_\_\_\_\_  
 (vollständige Anschrift): \_\_\_\_\_  
 PLZ: \_\_\_\_\_ Landkreis (St.): \_\_\_\_\_

**Einsender/Tierarzt**  
 (Registrier-Nr.): \_\_\_\_\_  
 (vollständige Anschrift): \_\_\_\_\_  
 PLZ: \_\_\_\_\_ Landkreis (St.): \_\_\_\_\_

**Probenart:**  
☒ Blut Serum ☐ Kot  
☐ Tupfer ☐ sonstige

**Tierart (Art/Rasse):**  
 Huhn

**Untersuchungsgrund:**  
☒ systematische Kontrolluntersuchung ☐ Nachuntersuchung  
☐ Herd-untersuchung ☐ klinischer Verdacht  
☐ Quarantäneuntersuchung

**Ergebnis an:**  
☒ Besitzer ☒ Tierarzt ☒ VIDA ☐ sonstige AB1

**Besitzer:**  
 (Name): \_\_\_\_\_  
 (Adresse): \_\_\_\_\_

**Untersuchung auf:**  
☐ Chlamydien Abt./Ag\* ☐ SAV Abt./Ag\*  
☐ Avian Infl. Abt./Ag\* ☐ EHV-1/4 Abt./Ag\*  
☐ ND Abt./Ag\* ☐ VAE (Gaggle Test) ☐ MG  
☐ Salmonellen Abt. ☒ Mykoplasma Abt./Ag\*

**Verbleibt / weitere Hinweise zu den Untersuchungsaufträgen:**  
 Farm: \_\_\_\_\_  
 Stall: \_\_\_\_\_  
 LW: \_\_\_\_\_

Nr.	Tierarteneintragung / Barcode-Coubeide (Bei Verwendung von Barcode-Röhrchen)	Nr.	Tierarteneintragung / Barcode-Coubeide (Bei Verwendung von Barcode-Röhrchen)
1		11	
2		12	
3		13	
4		14	
5		15	
6		16	
7		17	
8		18	
9		19	
10		20	

LAV LSA FB4 Standort Stendal  
 Hafenbreiter Weg 132-135  
 39576 Stendal  
 Tel. (03931) 631-0  
 Fax (03931) 631-153  
 E-Mail: [fb4@lav.ms.sachsen-anhalt.de](mailto:fb4@lav.ms.sachsen-anhalt.de)

Stempel: Datum/Unterschrift des Einsenders

**Landesamt für Verbraucherschutz Sachsen-Anhalt**  
**Fachbereich 4 - Veterinärmedizin**



Landesamt für Verbraucherschutz Sachsen-Anhalt, Fachbereich 4 Veterinärmedizin  
 Postfach 10 14 61, 39554 Stendal

Betriebsnummer:



Landesamt für Verbraucherschutz Sachsen-Anhalt, Fachbereich 4 Veterinärmedizin  
 Postfach 10 14 61, 39554 Stendal

Veterinäramt:  
 Landkreis



Stendal, den 22.04.2014

**Befundmitteilung zur Auftragsnummer 4214015060 vom 17.04.2014**

Protokoll-Nr.:

Tierart: Huhn (Haustier)

Untersuchungsgrund: Kontrolluntersuchung

Probenart: Blutserum (geronnen)

Beginn der Untersuchung: 17.04.2014

Probenanzahl: 63

Ende der Untersuchung: 22.04.2014

**Ergebnis der Untersuchung:**

Prüfmethode	Anzahl	negativ	positiv	davon verdächtig	nicht auswertbar	kein Material
SSA Mycoplasma gallisepticum	63	63	0	0	0	0

Zur Untersuchung wurden eingesandt Blutproben von der Farm: ☒  
 Lebenswoche:

Stall:

i.A. Dr. Borgwardt  
 Prüfleiter

Diese Befundmitteilung wurde maschinell erstellt. Sie ist ohne Unterschrift und nur mit der als Anlage beigefügten Kopie des Untersuchungsantrags gültig. Das Prüfergebnis bezieht sich auf die vorgelegte Probe bzw. den vorgelegten Probenposten. Für tierärztliche Maßnahmen sind ausschließlich die im Untersuchungsantrag angegebenen Tierkennzeichen heranzuziehen. Diese Befundmitteilung darf ohne schriftliche Genehmigung des LAV Sachsen-Anhalt nicht auszugsweise vervielfältigt werden.

Auftragsnummer: 4214015060

Postfach 101461  
 39554 Stendal

Hafenbreiter Weg 132-135  
 39576 Stendal

Seite 1 von 2

Tel: 03931/631-0  
 Fax: 03931/631-153

**LAV, FB 4: Serologische Untersuchungen von Blutproben von Hühnern und Puten  
mittels Serumschnellagglutination (SSA), Zeitraum Jan. – Dez. 2013**

<b>Untersuchungs- auftrag</b>	<b>Standard- Methode</b>	<b>Zul.-Nr. (Standard- Methode)</b>	<b>Alternativ- Methode</b>	<b>Probenzahl</b>
<b>Mycoplasma gallisepticum</b>	<b>SSA*</b>	<b>FLI-B 512</b>	<b>Ab-ELISA</b>	<b>26.382</b>
<b>Mycoplasma synoviae</b>	<b>SSA*</b>	<b>FLI-B 513</b>	<b>Ab-ELISA</b>	<b>370</b>
<b>Mycoplasma meleagridis</b>	<b>SSA*</b>	<b>-</b>	<b>Ab-ELISA ?</b>	<b>310</b>
<b>Salmonella pullorum/gallinarum</b>	<b>SSA*</b>	<b>-</b>	<b>Ab-ELISA</b>	<b>1.560</b>

SSA = Methode mit hoher Sensitivität aber geringer Spezifität

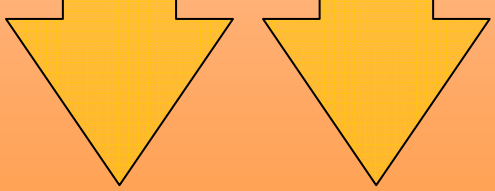


## Begriffe der klassischen mikrobiologischen Testtheorie (KTT) als Grundlage von Testbewertungen

- Sensitivität und Spezifität
- Objektivität und Robustheit
- Validität und Reliabilität
- Positive und negative Prädiktion
- Prävalenz und Inzidens
- Affinität und Avidität
- Korrelationskoeffizient



Möglichkeit von  
Testvergleichen

		Krankheit / Goldstandard		
		ja	nein	
Test- ergebnis	positiv	a	b	a+b
	negativ	c	d	c+d
		a+c	b+d	
				
		<b>Sensitivität = <math>a/(a+c)</math></b>		<b>Spezifität = <math>d/(d+b)</math></b>



# Einsatzmöglichkeiten sensitiver und spezifischer Tests in der Serologie

## Anwendung sensitiver Tests, falls

- kein spezifisch Antikörper-positiver Fall übersehen werden soll
- spezifisch Antikörper-positive Fälle ausgeschlossen werden sollen
  - Ausschluss-Tests „sicher negatives Ergebnis gesucht, Rule-Out“
  - Screening-Tests, Überwachungsuntersuchungen
  - Testsituation mit mehrheitlich geringer spezifischer Seroprävalenz

## Anwendung spezifischer Tests, falls

- kein spezifisch Antikörper-negativer Fall übersehen werden soll
- positive und verdächtige Fälle bestätigt / überprüft werden sollen
  - Such-Tests „sicher positives Ergebnis gesucht, Rule-In“
  - Bestätigungs-Tests, Verlaufsuntersuchungen, Impfkontrollen
  - Testsituation mit mehrheitlich hoher spezifischer Seroprävalenz

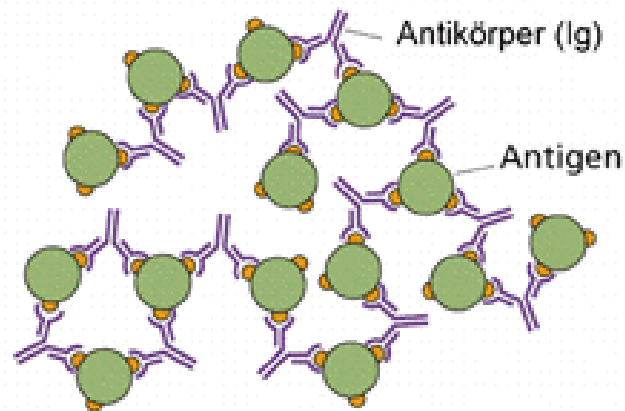


## Methode: Serumschnellagglutination (SSA), Antikörper gegen aviäre Mycoplasma

### Testprinzip:

- Korpuskuläre Antigene (komplette oder inkomplette Mycoplasmenzellen) werden durch die Bindung mit agglutinierenden O-Antikörpern vernetzt, es entstehen partikuläre, sichtbare, diagnostisch verwertbare Verklumpungen = Agglutinate.
- Dabei müssen Antigene und Antikörper sowie ihre Testvolumina in einem definierten Mengenverhältnis zueinander stehen.
- Die Agglutination kann wechselseitig als Antigennachweis und auch als Antikörpernachweis diagnostisch genutzt werden.

### Agglutination



SACHSEN-ANHALT

Quelle: [www.biokurs.de/Skripten/12/bs12-53.htm](http://www.biokurs.de/Skripten/12/bs12-53.htm) (2014)







## Methode: Serumschnellagglutination (SSA), Antikörper gegen aviäre Mycoplasma

### Testmaterialien:

- Zentrifuge, Schüttler, Kühlschrank, Glasplatte, Glasstäbe, Kolbenhubpipette und Spitzen, Lupe

### Testreagentien:

- Untersuchungsmaterial (Blutserum)
- Antigen, gelöst, dichteingestellt oder nach einem Standardserum geeicht, attenuiert (0,5% Phenol) und gefärbt (Kristallviolett, Bengalrot, Sudanschwarz)
- Kontrollsystem, resuspendierte, validierte und stabilisierte (0,01% Natriumazid)  
Positiv- und Negativkontrollen



## Methode: Serumschnellagglutination (SSA), Antikörper gegen aviäre Mycoplasma

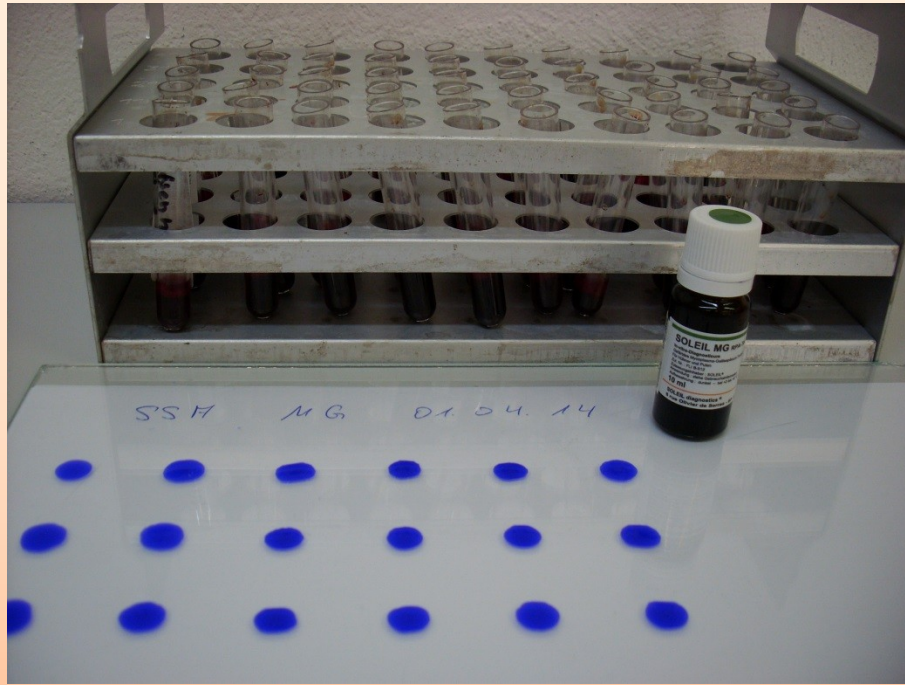
### Testansatz:

- Alle Testreagentien auf Zimmertemperatur erwärmen !
- 25 µl Blutserum-Tropfen auf einer Glasplatte vorlegen (Probenidentifikation !)
- Kontrollsystem (PK und NK), gem. Prüfmethode ansetzen
- jeweils 25 µl Antigen-Tropfen hinzufügen
- Mischen von Blutserum und Antigen (Glasstab, Pipettenspitze)
- Glasplatte mit Serum-Antigen-Gemisch 2 min. schwenken (Inkubationszeit !)

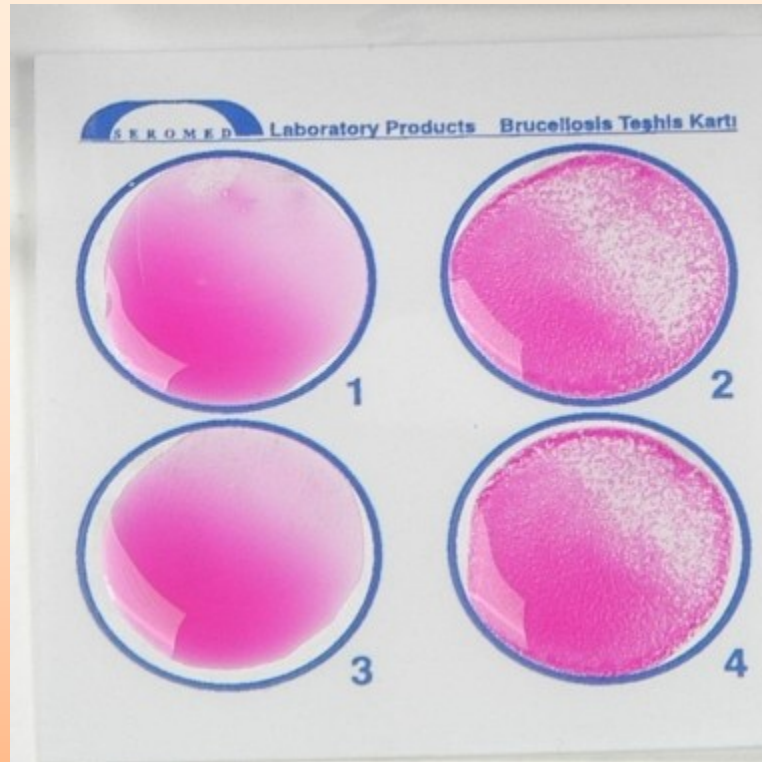
### Visuelle Testauswertung:

- Positive Reaktion: Bildung von sichtbaren, einheitlichen Agglutinaten innerhalb der Inkubationszeit
- Negative Reaktion: Der Testansatz bleibt während der Inkubationszeit homogen (unverändert)
- Zweifelhafte Reaktion: Der Testansatz zeigt während der Inkubationszeit grobschollige, unterschiedlich große oder schlierige Verklumpungen
  - **Konsequenz = Testwiederholung und/oder andere Testmethode**









## Workshop: Rose-Bengal-Test (RBT)

## **Literaturhinweise zur Serumschnellagglutination**

- **Mayr, A. et al, Virologische Arbeitsmethoden, Band 2, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York, 1977**
- **Jawetz E., Melnick J.L. & Adelberg E.A.. (1973). Medizinische Mikrobiologie. Berlin: Springer Verlag.**
- **Thomas, L. (1992). Labor und Diagnose. Hamburg: Medizinische Verlagsgesellschaft.**
- **Deutsche Norm: Serodiagnostik von Infektionskrankheiten. DIN 58 969, Teil 10, Ausgabe Juli 1989; Beuth Verlag GmbH, Burggrafenstraße 6, Berlin**
- **Laborheft Serologie im Bayerischen Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit**
- **[www.infektionsnetz.at](http://www.infektionsnetz.at) (2014)**
- **[www.biokurs.de/Skripten/12/bs12-53.htm](http://www.biokurs.de/Skripten/12/bs12-53.htm) (2014)**
- **[www.Laborwissen.de/wiki](http://www.Laborwissen.de/wiki) (2014)**

