

# Vergleich zweier ELISA Systeme zum Nachweis von Antikörpern gegen IBR/IPV sowie gegen EBL

Autor(en): **Roskopf, M. / Staub, Evelyne / Ackermann, M.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Schweizer Archiv für Tierheilkunde SAT : die Fachzeitschrift für Tierärztinnen und Tierärzte = Archives Suisses de Médecine Vétérinaire ASMV : la revue professionnelle des vétérinaires**

Band (Jahr): **136 (1994)**

Heft 2

PDF erstellt am: **05.08.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-589395>

## **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

## **Haftungsausschluss**

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

# Vergleich zweier ELISA Systeme zum Nachweis von Antikörpern gegen IBR/IPV sowie gegen EBL

M. Roskopf, Evelyne Staub, M. Ackermann

## Zusammenfassung

Sensitivität und Spezifität zweier ELISA Systeme zum Nachweis von Antikörpern gegen IBR/IPV wurden getestet und miteinander verglichen. Die Prüfung mit Hilfe von 214 Seren mit bekanntem Wahrheitswert ergab eine Sensitivität von mindestens 98% für ELISA1 (HerdCheck®:Anti-IBR) und von 94–99,3% für ELISA2 (Checkit®:Trachitest). Die Spezifität von ELISA1 betrug 96,9%, während für ELISA2 81,5 bis 98,5% berechnet wurde. Beide Tests stimmten bei der Anwendung in Routineuntersuchungen hervorragend überein. Mit jedem Test wurden nur 3 der insgesamt geprüften 1431 Serumproben kontradiktorisch bewertet. Die Nachprüfung ergab, dass es sich dabei mit grosser Wahrscheinlichkeit um falsch-positive Resultate handelte. Ähnlich gut übereinstimmende Resultate wurden bei der Untersuchung von Milchproben erreicht.

Die Serum- und Milchproben aus den Routineuntersuchungen wurden auch mit den ELISA der gleichen Hersteller zum Nachweis von EBLV Antikörpern eingesetzt. Weil zuwenig Material mit bekanntem Wahrheitswert zur Verfügung stand, konnte nur die Übereinstimmung der beiden Tests, nicht aber deren Sensitivität und Spezifität untersucht werden. Nur gerade 6 von 1431 untersuchten Serumproben ergaben sich widersprechende Ergebnisse.

Alle vier untersuchten Testkits wurden als qualitativ hochstehend beurteilt, wobei jedoch auch technische und organisatorische Mängel aufgedeckt wurden.

**Schlüsselwörter:** ELISA – IBR/IPV –  
Enzootische Bovine Leukose – Sensitivität –  
Spezifität

## Comparison of two ELISA systems for detection of antibodies against IBR/IPV and against Bovine Leukemia virus

Sensitivity and specificity of two ELISA systems for the detection of antibodies to Bovine Herpesvirus 1 (BHV1; IBR/IPV) were tested by using 214 sera of cattle with predetermined history of BHV1 infection and freedom from BHV1 infection, respectively. With these sera as «gold-standard», the sensitivity of ELISA1 (HerdCheck®: Anti-IBR) appeared to exceed 98%, whereas for ELISA2 (Checkit®:Trachitest) a sensitivity of between 94 and 99,3% was determined. The specificity of ELISA1 amounted to at least 96,9%, whereas for ELISA2 it ranged apparently from 81,5 to 98,5%. When applied in routine testings of serum samples, the two ELISA systems correlated extremely well. With each test, only 3 of 1431 samples gave contradictory results. In all these cases, alternative tests suggested that the contradictions represented false-positive reactions. A similar correlation was observed when milk samples in the place of sera were probed. The serum and milk samples were additionally tested using two corresponding ELISA systems (obtained from the same manufacturers) for the detection of antibodies to Bovine Leukemia virus (BLV). The sensitivity and specificity of these tests could not be determined because of lack of samples with known history of infection. The results of the tests, however, correlated very well. Only 6 of 1431 sera reacted in a contradictory way. These observations indicate that the kits tested in this study, both for the detection of antibodies to BHV1 and to BLV, meet high quality standards. Possibilities to improve the kits were still detected.

**Key words:** ELISA – IBR/IPV –  
Bovine Leukemia virus – sensitivity –  
specificity

## Einleitung

Die Infektiöse Bovine Rhinotracheitis/Infektiöse Pustulöse Vulvovaginitis (IBR/IPV) war die erste virale Infektionskrankheit der Rinder, welche systematisch auf der Basis gesamtschweizerischer, serologischer Übersichtsuntersuchungen bekämpft wurde. Zur Tilgung der Seuche wurden seropositive Tiere als Virusträger betrachtet und laut geltender Gesetzgebung ausgemerzt. Diese Strategie erwies sich als äusserst effizient, sodass die IBR/IPV in der Schweiz heute praktisch als getilgt betrachtet werden darf (Ackermann et al., 1989; 1990b). Ähnlich günstig erscheint aufgrund gesamtschweizerischer serologischer und milchserologischer Untersuchungen die Situation bezüglich Enzootischer Boviner Leukose (EBL), wobei diese seit 1985 anzeigepflichtige Infektion offensichtlich in der Schweiz schon immer nur wenig verbreitet war (Mitteilungen des Bundesamtes für Veterinärwesen).

Ein wichtiger Faktor in einer erfolgreichen Seuchenprävention und -bekämpfung ist eine zuverlässige und schnelle Diagnostik. Im Falle von IBR/IPV und EBL beruht diese auf eigens dazu entwickelten ELISA zum Nachweis der entsprechenden Antikörper in Serum und Milch (Bommeli et al., 1980; Stuker et al., 1980).

Die Anforderungen an den Test zum Nachweis der IBR/IPV Antikörper wandelten sich im Laufe der erfolgreichen Bekämpfung. In einer ersten Phase war die Schnelligkeit und Spezifität der Labordiagnose wichtig. Die Entscheidung, ob ein Bestand IBR/IPV verseucht war oder nicht, sollte so rasch als möglich gefällt werden, damit entsprechende Massnahmen verfügt oder aufgehoben werden konnten. Später rückte die Sensitivität des Tests in den Vordergrund, denn mit fortschreitender Bekämpfung flauten akute Ausbrüche ab und infolgedessen sanken auch die Antikörperspiegel der noch nicht erfassten, latent infizierten Tiere, sodass deren Erkennung immer schwieriger aber auch wichtiger wurde.

Tabelle 1: Vergleich der beiden geprüften IBR ELISA

	ELISA 1 (HerdCheck®-Anti-IBR)	ELISA 2 (Chekit® Trachitest)
Testlayout	1 Delle pro Serum	4 Dellen pro Serum, davon 2 Dellen Kontrollantigen und 2 Dellen Virusantigen
Testseren pro Platte	92 (bei doppeltem Ansatz 46)	22
Kontrollseren	4 Dellen pro Platte. Zwei Referenzseren, je ein positives und ein negatives. Ansatz im Doppel. Das erste Paar wird zu Beginn der Serumabfüllphase, das zweite Paar am Ende eingefüllt.	8 Dellen pro Platte. Zwei Referenzseren, je ein positives und ein negatives
Inkubationszeiten pro Test	90 Minuten für Serum, 30 Minuten Konjugat, 15 Minuten Substrat	90 Minuten für Serum, 90 Minuten Konjugat, 10-30 Minuten Substrat
Substrat	Tetramethylbenzidin (TMB)	Azino-di-[3-äthyl-benzthiazolinsulfonat(6)] (ABTS)
Ablesung	Absorption bei 650 nm	visuell und/oder Absorption bei 405 nm
Testauswertung	Augenablesung nicht möglich, Reader erforderlich	Augenablesung sehr einfach, Auswertung mit Reader möglich
Berechnung der Reaktion	Die Messresultate werden mit den Werten der positiven und der negativen Kontrollen wie folgt in Relation gesetzt:*) $P/PK = \frac{OD(Probe) - \bar{N}}{\bar{P} - \bar{N}}$	Die Absorptionsdifferenz (Delta OD) wird folgendermassen gemittelt: $\Delta OD = \frac{\sum OD(Virusantigene) - \sum OD(Kontrollantigene)}{2}$
Beurteilung der Reaktion	Proben mit P/PK < 0.250 sind negativ; Proben mit P/PK ≥ 0.250 bis < 0.500 werden als «fraglich» eingestuft und einem Bestätigungstest unterworfen; Proben mit P/PK ≥ 0.500 sind positiv	Die gemittelte Absorptionsdifferenz der positiven Kontrolle wird als 100% gesetzt: Δ OD (pos. Ref.) = 100% Darauf basierend werden die Probeseren wie folgt beurteilt: <30% = negativ; 30-70% = nicht interpretierbar (NIP); >70% = positiv
Testgültigkeit	Für jede Platte automatisch ermittelt: Der Test ist gültig, wenn $\bar{N} \geq 0.150$ sowie $\bar{P} - \bar{N} \geq 0.200$	Für die automatische Ablesung mit dem Fotometer wird die Farbreaktion nach 10 bis 30 Minuten gemessen. Die Nettoextinktion (ΔOD) des Kontrollserums muss 0.200 bis 0.800 betragen.

\*) OD(Probe) = Absorption der Probe;  $\bar{N}$  = Mittelwert (MW) der neg Kontrollen;  $\bar{P}$  = Mittelwert der positiven Kontrollen



Heute, nach der Eliminierung der Virusträger, rückt eher die Spezifität des Tests wieder in den Mittelpunkt des Interesses, weil mit dem Verschwinden der «echt-positiven» Tiere sogenannte «falsch-positiv» auftreten und bei Besitzern und den für die Seuchenbekämpfung zuständigen Behörden Unruhe verursachen.

Mit der Ausrottung der IBR/IPV hat sich die epidemiologische Situation in der Schweiz in den letzten zehn Jahren grundsätzlich geändert. Die nun vorherrschende geringe Prävalenz positiver Tiere verlangt vom Testsystem eine hohe Sensitivität und Spezifität. Deshalb schien es wichtig, die verfügbaren Tests dahingehend zu prüfen. Auch im Hinblick auf die zukünftige Entwicklung in Europa stellte sich die Frage nach der Qualität unserer diagnostischen Mittel, zumal IBR/IPV in der EG ein ungelöstes Problem darstellt (Müller H.K., nicht publiziert; Ackermann et al., 1990a).

Aus diesen Gründen wurden zwei indirekte, bezüglich Antigenbeschichtung und Testdurchführung unterschiedliche ELISA Systeme zum Nachweis von IBR/IPV Antikörpern geprüft. Die Eigenheiten der beiden Tests sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

In einer ersten Testserie wurden 214 gut charakterisierte Seren parallel mit beiden Tests untersucht. Diese Seren stammten einerseits aus früheren Infektionsversuchen (Probst et al., 1985) und andererseits aus serologischen und virologischen Abklärungen an ausgewählten Rindern mit und ohne Antikörper gegen verschiedene bovine Herpesviren (Spirig et al., 1989). Da man bei diesen Seren aufgrund der früheren Untersuchungen einen «Wahrheitswert» (goldener Standard) als bekannt voraussetzen konnte, war es möglich Sensitivität und Spezifität der beiden ELISA zu bestimmen. Die Übereinstimmung der beiden Systeme wurde in einer zweiten Serie mit 1431 Seren und 439 Milchproben aus dem Routinebetrieb untersucht. Traten widersprüchliche Ergebnisse auf, so wurden die entsprechenden Seren einem Alternativverfahren, dem Virusneutralisationstest, unterzogen. Abschliessend wurde auch die Reproduzierbarkeit der beiden Tests untersucht und deren Kriterien für die Gültigkeit evaluiert. Zu diesem Zweck wurden die im Verlaufe der Studie ermittelten Werte der jeweiligen Referenzseren herangezogen (Palatini, 1988).

In einer parallel geführten Studie wurden auch die ELISA beider Hersteller zum Nachweis von Antikörpern gegen die Enzootische Bovine Leukose (EBL) einander gegenübergestellt. Da wir hierbei jedoch über zu wenig Material mit bekanntem «Wahrheitswert» verfügten, konnte nur das Mass der Übereinstimmung, nicht aber die eigentliche Sensitivität und Spezifität der beiden Tests ermittelt werden.

Es zeigte sich, dass alle vier geprüften ELISA zum Nachweis von Antikörpern gegen IBR/IPV und gegen EBL sehr gut übereinstimmende Resultate lieferten.

## Material und Methoden

### ELISA1

HerdCheck<sup>®</sup> Anti-IBR (IDEXX Laboratories Inc., Westbrook, Maine, U.S.A.), ein ELISA zum Nachweis von Antikörpern gegen IBR/IPV, ist in der Schweiz noch nicht registriert. Ein Hauptziel der vorliegenden Untersuchungen bestand darin, festzustellen, ob sich dieser Test bezüglich Sensitivität, Spezifität und Übereinstimmung der Resultate mit dem unten beschriebenen ELISA2 messen konnte. Der Test wurde nach den Vorschriften des Herstellers durchgeführt. Mehrere Plattenlots kamen zur Anwendung. ELISA1 wird vorderhand nur als komplettes Kit geliefert, d.h. alle Ingredientien inklusive Waschlösungen und Verdünnernflüssigkeiten kommen in abgepackten Mengen. Aus diesem Grunde konnten die unter ELISA2 beschriebenen Automaten (Pipettiermaschine und Waschstation) nicht verwendet werden. Alle Pipettierschritte wurden von Hand ausgeführt. Die Ablesung erfolgte bei 650 nm mit einem ANTHOS Reader 2001 (Kontron Instruments AG, Zürich). Die Daten wurden mit dem dazugehörigen Datenerfassungsprogramm (ARCOM) auf einen Personal Computer (IBM PS/2 50) transferiert und mit einem speziell angefertigten Berechnungsprogramm (Ingenieurbüro Ph. Merz, Basel) nach den Angaben des Herstellers ausgewertet. Die Untersuchung von Serum- und von Milchproben erfolgte mit dem gleichen Kit.

### ELISA2

Checkit<sup>®</sup> Trachitest (Dr. Bommeli AG, Liebefeld-Bern), der bislang einzige in der Schweiz registrierte ELISA zum Nachweis von Antikörpern gegen IBR/IPV, wurde als Vergleichstest herangezogen (Bommeli et al., 1980; Stucker et al., 1980). Die Proben wurden nach der Vorschrift des Herstellers verarbeitet, wobei die Verdünnungen mit einem automatischen Pipettiergerät (Tecan RSP 8015, TECAN AG, Hombrechtikon) erfolgten. Zwischen den einzelnen Schritten wurden die Platten in einem automatischen ELISA Waschgerät (SLT 225 Vac, TECAN AG, Hombrechtikon) gewaschen. Die Ablesung erfolgte visuell sowie bei 405 nm mit dem oben beschriebenen ANTHOS Reader 2001. Da dieser Test als Standard-Feldtest diente, wurde mit Absicht auf die Verwendung eines speziell vorgeprüften, einheitlichen Lots von Antigenplatten verzichtet. Vielmehr kamen mehrere Plattenlots zur Anwendung und die Testdurchführung erfolgte genau gleich wie bei den täglichen Routineuntersuchungen. Die Untersuchung von Serum- und von Milchproben erfolgte mit identischen Reagentien.

### ELISA3

HerdCheck<sup>®</sup> Anti-BLV (IDEXX Laboratories Inc., Westbrook, Maine, U.S.A.) wurde analog zu ELISA1 für den Nachweis von Antikörpern gegen Enzootische Bovine Leukose (EBL) geprüft. Die Arbeitsschritte erfolgten nach den Vorschriften des Herstellers. Für die Untersuchung von Serum- und von Milchproben waren separate Kits erforderlich.



**ELISA4**

Checkit® Leucotest (Dr. Bommeli AG, Liebefeld-Bern) diente genau gleich wie ELISA2 als Vergleichstest für den entsprechenden ELISA von IDEXX. Die Durchführung erfolgte analog zu ELISA2 nach den Angaben des Herstellers. Die Untersuchung von Serum- und von Milchproben erfolgte mit identischen Reagentien.

**Serum- und Milchproben**

Für die Berechnung der Sensitivität und der Spezifität der ELISA zum Nachweis von Antikörpern gegen IBR/IPV standen 214 Seren mit bekanntem «Wahrheitswert» aus früheren Studien zur Verfügung (Probst et al., 1985; Spirig et al., 1989). Für die vergleichenden Untersuchungen der Tests zum Nachweis von Antikörpern gegen IBR/IPV und gegen EBLV wurden 1431 Blut- und 439 Milchproben verwendet. Das Untersuchungsmaterial stammte aus dem Einzugsgebiet unseres eigenen Routinelabors, sowie aus Einsendungen an das Institut für Veterinärvirologie der Universität Bern, an die Diavet AG (Bäch, SZ) und die Veterinaria AG (Zürich).

**Verifikationstests**

Für die Verifikation fraglicher oder positiver Resultate mit den ELISA 1 und 3 standen die in den Kits mitgelieferten Verifikationstests zur Verfügung. Bei unklaren oder widersprüchlichen Ergebnissen in den beiden IBR-ELISA wurde jedoch auch der Serumneutralisationstest eingesetzt und zwar genau so wie er bei Lazarowicz et al. (1983) beschrieben ist. Für die Verifikation von unklaren Ergebnissen mit den beiden EBL-ELISA stand neben dem weniger sensitiven Agar-Gel-Immundiffusions-Test (AGID) kein adäquater Test zur Verfügung.

**Resultate****Untersuchungen zur Sensitivität und Spezifität der beiden IBR-ELISA Systeme**

In einer ersten Testserie wurden 214 Seren mit bekanntem Wahrheitswert zur Bestimmung der Sensitivität und Spezifität herangezogen und mit beiden Systemen geprüft. Die Untersuchungen mit ELISA1 (Screening gefolgt von Verifikationstest) ergaben die in Tabelle 2 zusammengefassten Resultate. Die Ergebnisse mit ELISA2 sind in Tabelle 3 dargestellt.

Aus diesen Zahlen liessen sich Sensitivität (Anzahl durch den Test korrekt erkannte positive Seren, dividiert durch die Anzahl «in Wahrheit» positive Tiere) und Spezifität (Anzahl durch den Test korrekt erkannte negative Seren, dividiert durch die Anzahl «in Wahrheit» negative Tiere) der beiden Tests bestimmen. Durch die Kategorie «nicht interpretierbar» in ELISA2 erschienen Sensitivität und Spezifität gegenüber ELISA1 erniedrigt. Aus seuchenpolizeilichen Gründen war jedoch nicht in erster Linie die absolute Richtigkeit der Resultate aus dem Screeningtest wichtig, sondern die Gewähr, dass falsch negative Tiere nicht unerkannt blieben und dass nicht falsch positive Tiere geschlachtet wurden. Nicht interpretierbare Resultate zogen automatisch weitere Untersuchungen nach sich, die entsprechenden Tiere wurden also erfasst, wenn auch nicht einer definitiven Gruppe zugeteilt. Pragmatischerweise, wenn auch nach den Lehrbüchern der Epidemiologie nicht absolut korrekt, konnte man in der Berechnungsformel den Begriff «Anzahl durch den Test korrekt erkannte positive Seren» durch «Anzahl durch den Test korrekt erkannte nicht-negative Seren» ersetzen. Dadurch erhöhte sich die Sensitivität auf einen korrigierten Wert. Dieselbe Korrektur konnte bei der Spezifität gemacht werden, wenn der Begriff «Anzahl durch den Test korrekt erkannte negative Seren» durch «Anzahl durch den Test korrekt erkannte nicht-positive Seren» ersetzt wurde. Diese Ergebnisse sind einander in Tabelle 4 gegenübergestellt.

Tabelle 2: Werte zur Berechnung der Sensitivität und der Spezifität von ELISA1.

ELISA1	Wahrheit/	positiv	negativ	Total
positiv		146	2	148
negativ		3	63	66
Total		149	65	214

Tabelle 3: Werte zur Berechnung der Sensitivität und der Spezifität von ELISA2.

ELISA2	Wahrheit/	positiv	negativ	Total
positiv		140	1	141
nicht interpretierbar		8	11	19
negativ		1	53	54
Total		149	65	214

### Vergleich der beiden IBR-ELISA in Routineuntersuchungen von Serum- und Milchproben

Um zu überprüfen, ob die beiden Testsysteme bei routinemässigen Untersuchungen übereinstimmende Resultate erzielen, wurden die laufend eintreffenden Proben während mehrerer Monate parallel mit beiden ELISA Systemen untersucht. Die Gegenüberstellung der Resultate ergab das in Tabelle 5 dargestellte Bild.

Tabelle 4: Vergleich der Sensitivität und der Spezifität der Testsysteme.

Testsystem	Sensitivität	Spezifität
ELISA1	98,0%	96,9%
ELISA2*	94,0%	81,5%
ELISA2 (korrigiert)*	99,3%	98,5%

\*) vgl. Erläuterungen im Text

Tabelle 5: Gegenüberstellung der IBR-ELISA-Systeme 1 und 2 anhand der Resultate von (a) Seren und (b) Milchproben, die zur routinemässigen Untersuchung auf IBR/IPV Antikörper eingesandt worden waren.

#### a) Serum

ELISA2	ELISA1/	positiv	negativ	Total
positiv		0	3	3 (im SNT negativ)
nicht interpretierbar		0	6	6 (im SNT negativ)
negativ		3	1419	1422
Total		3 (im SNT negativ)	1428	1431

#### b) Milch

ELISA2	ELISA1/	positiv	negativ	Total
positiv		0	0	0
nicht interpretierbar		1*	0	1
negativ		0	439	439
Total		1	439	440

\*) vgl. Erläuterungen im Text

Die Übereinstimmung beider Tests war sowohl mit Serum- als auch mit Milchproben sehr hoch. Bei den Seren wurden insgesamt 12 Ausnahmen von dieser Übereinstimmung gefunden. Die entsprechenden Seren wurden im Neutralisationstest nachuntersucht. Die von ELISA2 als nicht interpretierbar eingestufteten Seren wiesen keine neutralisierenden Antikörper auf. Die von ELISA1 ermittelten Resultate (negativ) waren also korrekt, diejenigen von ELISA2 mindestens nicht falsch. Je 3 Seren reagierten kontradiktorisch in einem Test positiv und im anderen negativ. Diese 6 Seren zeigten alle keine neutralisierende Aktivität gegenüber dem IBR/IPV Virus. Da der Neutralisationstest die Referenzmethode darstellt, sind die ELISA Werte als falsch-positiv einzustufen.

Bei den Milchproben ergab sich nur ein einziges nicht übereinstimmendes Resultat. Bei dieser Probe handelte es sich um ein in negativer Milch verdünntes, positives Serum. Dieses reagierte in ELISA1 klar positiv, während ELISA2 es in der vorliegenden Verdünnung als nicht interpretierbar einreichte.

### Untersuchungen zur Reproduzierbarkeit und zur Testgültigkeit

Als Mass für die Reproduzierbarkeit konnten Testwiederholungen, sowie die Reaktionen der Referenzseren, die während der ganzen Versuchsreihe auf jeder Platte mit

geführt worden waren, herangezogen werden. Je etwa ein Drittel der Tests wurde wiederholt. Bei ELISA2 rutschten einzelne Proben von der nicht interpretierbaren in eine definitive (positiv oder negativ) Kategorie oder umgekehrt. Ansonsten liessen sich die vorgängigen Resultate reproduzieren (Einzelheiten nicht gezeigt). Die zusammengestellten Reaktionen der Referenzseren mit ELISA1 sind in Abbildung 1, diejenigen mit ELISA2 in Abbildung 2 dargestellt. Für ELISA1 lässt sich aus diesen Werten auch die Evaluation der Kriterien für die Testgültigkeit herauslesen. Gemäss den Anforderungen des Herstellers müsste die Reaktion der Negativkontrolle immer unter der Linie (b) der Abbildung 1 bleiben, während die Differenz zwischen den Reaktionen der Positivkontrolle und der Negativkontrolle immer die Linie (a) übersteigen müsste. Offensichtlich erfüllte der Test seine eigenen Qualitätskriterien bei 10 von 25 Testplatten nicht. Die teilweise starken Schwankungen der Werte waren eindeutig mit bestimmten Plattenlots korreliert (Daten nicht gezeigt).

Aus der Darstellung in Abbildung 2 kann man ablesen, dass bei ELISA2 starke Schwankungen in der Nettoaktivität sowohl des positiven als auch des negativen Referenzserums mit den Testantigenen auftraten. Aus diesen Gründen mussten auch bei diesem Test 16 von 100 Platten wiederholt werden. Obwohl nicht völlig ausge-

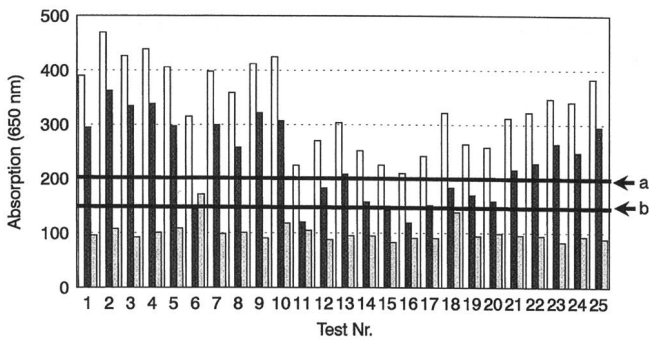


Abbildung 1: Darstellung der Reaktion der Referenzseren im Verlaufe der Untersuchungen mit ELISA1. Auf der x-Achse ist die Testnummer angegeben, während auf der y-Achse die Reaktion der Referenzseren (Absorption bei 650 nm) dargestellt ist. Die leeren Balken repräsentieren die Reaktion des positiven Referenzserums, die grauen Balken die Reaktion des negativen Referenzserums. Die schwarzen Balken stellen die Differenz zwischen Reaktion des positiven und des negativen Serums dar. Damit ein Test gültig ist, muss diese Differenz  $\geq 0,2$  OD (650 nm) betragen. Die Linie a muss also überschritten sein. Die Reaktion des negativen Referenzserums hingegen muss unterhalb der Linie b (0,15 OD) bleiben.

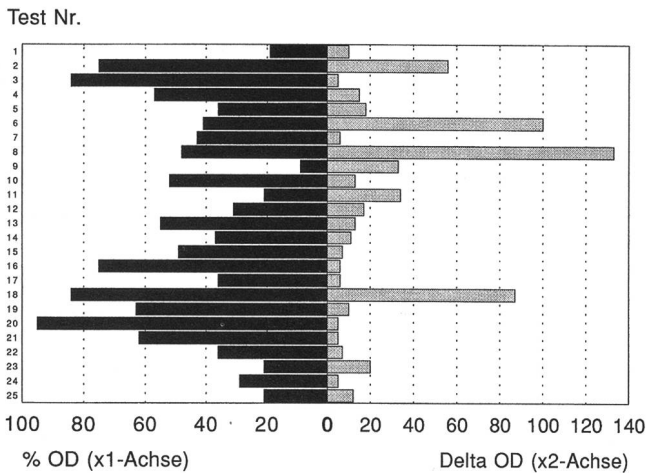


Abbildung 2: Variabilität der Reaktion der Referenzseren im Verlaufe der Untersuchungen mit ELISA2. Die x-Achse ist im Zentrum (0) zweigeteilt. Nach links verläuft die Achse x1. Darauf sind die Reaktionen des positiven Referenzserums für jeden am gleichen Tag ausgeführten Test als Prozentwerte in Relation zum für jede Serie berechneten Mittelwert dargestellt (%OD). Die Länge der Balken zeigt die prozentuale Differenz zwischen der minimalen und der maximalen Reaktion dieses Serums auf den gleichzeitig angesetzten Platten an. Vom Zentrum (0) nach rechts verläuft die x2-Achse. Die Länge der Balken entspricht der Differenz zwischen der minimalen und der maximalen Nettoabsorption (Delta OD) des negativen Referenzserums auf den gleichzeitig angesetzten Platten. Auf der y-Achse sind die Testnummern aufgeführt.

geschlossen werden kann, dass ein Teil der beobachteten Schwankungen auf ungleichmässige Verdünnung der Referenzseren beim Pipettieren zurückzuführen war (Nachmessungen ergaben, dass die Abfüllmengen pro Platte um maximal 1,3% variierten), konnten auch hier bessere und weniger gute Plattenlots unterschieden werden (Daten nicht gezeigt).

### Vergleich zweier ELISA Systeme zum Nachweis von Anti-EBLV-Antikörpern

Da zur Zeit Untersuchungen auf Anti-IBR/IPV-Antikörper meistens simultan mit der Prüfung auf Antikörper gegen das EBL Virus (EBLV) durchgeführt werden, schien es sinnvoll, auch diese Tests einer vergleichenden Untersuchung zu unterziehen. Die Resultate sind in Tabelle 6 dargestellt.

Die Übereinstimmung zwischen den beiden Tests war sehr hoch. Einzig bei sechs Seren ergaben sich nicht deckungsgleiche Resultate. ELISA3 erfasste 4 Seren als positiv, die in ELISA4 negativ reagierten. Andererseits reagierten zwei Seren in ELISA3 negativ, während sie in ELISA4 als nicht interpretierbar beurteilt wurden. Da wir über keine Alternativmethoden zur Ermittlung eines Wahrheitswertes verfügten, wurden die Reaktionen der fraglichen Proben mit den Reaktionen von verschiedenen Verdünnungen eines europäischen Referenzserums (E4/10-Serum) verglichen (EG Richtlinien 64/332, 1988). Da der E4/10 Standard in vorgeschriebener Gebrauchsverdünnung klar stärker als die in Frage stehenden Seren reagierte, müssten diese gemäss europäischer Konvention als negativ eingestuft werden. Aus den gleichen Versuchen konnte aber auch geschlossen werden, dass die beiden ELISA sensitiver und spezifischer reagieren als die europäischen Standardseren es erfordern.

Bei den Milchuntersuchungen wurde eine Probe von ELISA3 als positiv ermittelt, während sie in ELISA4 negativ reagierte. Bei dieser Probe handelte es sich um ein in negativer Milch verdünntes positives Serum, welche offensichtlich von ELISA3 noch erfasst wurde, während sie in ELISA4 bereits unter die Detektionslimite gerutscht war.

### Diskussion

In der vorliegenden Untersuchung wurde ein «neuer» ELISA zum Nachweis von Antikörpern gegen IBR/IPV (ELISA1) mit einem bewährten Testsystem (ELISA2) verglichen. Mit ELISA2 als Diagnostikum konnte die Tilgung der IBR/IPV in der Schweiz erfolgreich abgeschlossen werden (Ackermann et al., 1989; 1990b). Damit war ein Standard für serologische Tests verfügbar, von dem eine für die erfolgreiche Seuchenbekämpfung genügend hohe Sensitivität und Spezifität vorausgesetzt werden konnte, obwohl deren tatsächliche Werte bisher noch nie publiziert worden waren. Das erste Ziel dieser Studie bestand deshalb darin, die entsprechenden Werte für ELISA1 und ELISA2 zu bestimmen. Vom neuen Testsy-



**Tabelle 6: Gegenüberstellung der EBL-ELISA-Systeme 3 und 4 anhand der Resultate von (a) Seren und (b) Milchproben, die zur routinemässigen Untersuchung auf EBLV Antikörper eingesandt worden waren.**

**a) Serum**

ELISA4	ELISA3/	positiv	negativ	Total
positiv		0	0	0
nicht interpretierbar		0	2	2
negativ		4	1425	1429
Total		4	1427	1431

**b) Milch**

ELISA4	ELISA3/	positiv	negativ	Total
positiv		0	0	0
nicht interpretierbar		0	0	0
negativ		1*	439	440
Total		1	439	440

\*) vgl. Erläuterungen im Text

stem (ELISA1) musste mindestens eine dem bewährten System (ELISA2) ebenbürtige Sensitivität und Spezifität gefordert werden.

Bei unserer Prüfung der IBR/IPV Tests konnte auf eine Sammlung von Seren zurückgegriffen werden, bei denen ein «Wahrheitswert» bekannt war (Probst et al., 1985; Spirig et al., 1989). Diese Seren stammten aus früher durchgeführten, experimentellen Infektionsversuchen, sowie aus früheren Abklärungen zur Übereinstimmung von «Wahrheit» und Reaktion im IBR/IPV-ELISA. Speziell bei den Proben, die aus der Arbeit von Spirig et al. (1989) stammten, handelte es sich zum Teil um echte Problemseren, bei denen zur Wahrheitsfindung umfangreiche Untersuchungen notwendig gewesen waren. Unter anderem wurden damals auch Reaktivierungsversuche mit Dexamethason durchgeführt. Die errechneten Werte für Sensitivität (98% für ELISA1 und 94–99,3% für ELISA2), sowie für Spezifität (96,9% für ELISA1 und 81,5–98,5% für ELISA2) schneiden im Vergleich mit anderen Untersuchungen sehr gut ab. Vergleichbare oder tiefere Werte für Sensitivität und Spezifität fanden andere Autoren bei der Untersuchung von ELISAs zum Nachweis von Antikörpern gegen HIV (Spielberg et al., 1989; Behets et al., 1991), Parvovirus B19 (Patou und Ayliffe, 1991), Herpes Simplex Typ 2 (Spiezia et al., 1990) oder auch gegen das Virus der Enzootischen Bovinen Leukose (EBL)(Molloy et al., 1990).

Die anschliessende vergleichende Untersuchung der Proben aus dem Routinebetrieb mit beiden Tests zeigte dann, dass die wahren Werte für Spezifität wahrscheinlich noch höher als errechnet anzusetzen sind. Der Grund für diese Aussage liegt darin, dass man bei einer Spezifität von 98% per definitionem erwarten könnte, dass 2% der untersuchten Proben, also fast 30 der 1431, «falsch-positiv» reagieren würden. Wir stellten jedoch

nur je 3 falsch-positive Seren mit jedem Testsystem fest. Da unser Routineuntersuchungsmaterial, wie aufgrund der Seuchensituation erwartet werden konnte, keine positiven Proben enthielt, lässt sich die analoge Aussage für die Sensitivität nicht machen. Wären jedoch «falsch-negative» Resultate mit grosser Häufigkeit aufgetreten, so hätte die Seuchenbekämpfung sicher nicht so erfolgreich verlaufen können.

Neben der Sensitivität und Spezifität interessierte natürlich auch die Übereinstimmung der Resultate in beiden Tests. Bei der Untersuchung der Proben mit bekanntem «Wahrheitswert» wurden 146 der 149 positiven Proben von ELISA1 richtig eingeordnet. ELISA2 teilte nur 140 Proben korrekt als positiv ein. Es ist jedoch festzuhalten, dass weitere 8 «wahr-positive» Proben in der Kategorie «nicht interpretierbar» erschienen, sodass die erwähnten Proben einem alternativen Test unterworfen werden mussten. Die entsprechenden Tiere hätten also nicht unerkannt durch die Maschen der Diagnostik schlüpfen können. Aus diesem Grunde schien es uns gerechtfertigt, wie in Tabelle 4 dargestellt, den entsprechenden Spezifitätswert nach oben zu korrigieren. Auf den gleichen Argumenten beruht auch die Korrektur des Sensitivitätswertes. Bei diesem Vergleich fällt natürlich auf, dass bei ELISA1 die Kategorie «nicht interpretierbar» offensichtlich nicht existiert. Der Grund liegt darin, dass im entsprechenden Testkit (Tabelle 1) zunächst ein Screeningverfahren durchgeführt wird, wobei die klar negativen und klar positiven Proben ausgeschieden werden. Als «fraglich» interpretierte Proben (vgl. Tabelle 1) werden mit einem mitgelieferten Verifikationstest nachuntersucht und definitiv beurteilt. Aufgrund dieses Verfahrens ergeben sich bei ELISA1 ausschliesslich definitive Resultate.

Bei der vergleichenden Untersuchung der Routineproben reagierten nur jeweils 3 der 1431 Serumproben in

jedem Test kontradiktorisch. Interessanterweise handelte es sich dabei um die schlussendlich als «falsch-positiv» beurteilten Proben. Eloit et al. (1991) stellten eine viel geringere Übereinstimmung zwischen verschiedenen Tests zum Nachweis von Antikörpern gegen IBR/IPV fest. Man kann also aus unseren Untersuchungen schliessen, dass die geprüften ELISA Systeme ein erstaunlich hohes Mass an Übereinstimmung der Resultate erreichten.

Für die ELISA Systeme 3 und 4 zum Nachweis von Antikörpern gegen EBL konnten längst nicht so umfangreiche und aussagekräftige Untersuchungen zu Sensitivität und Spezifität durchgeführt werden, weil uns, mit Ausnahme der Referenzseren und des europäischen Standards (E4/10), keine Proben mit bekanntem Wahrheitswert zur Verfügung standen. Da keiner der beiden Tests in gleichem Masse wie ELISA2 für IBR/IPV als Standard für EBL gesetzt werden konnte, war nur ein direkter Vergleich der Resultate möglich. Da dieser Vergleich zudem in einer negativen Population durchgeführt wurde, können aus den vorliegenden Untersuchungen einzig folgende Schlüsse gezogen werden: Die Übereinstimmung der Resultate mit beiden Tests war sehr hoch. Beide Systeme erkannten ihre positiven Referenzseren gegenseitig als positiv (nicht gezeigt) und reagierten klar positiv mit dem europäischen Standard E4/10. Aufgrund von Versuchen mit verdünnten EBL-positiven Seren konnte zudem geschlossen werden, dass die Detektionslimite der beiden geprüften ELISA tiefer anzusiedeln ist, als dies von den europäischen Richtlinien gefordert wird. Um auch die sehr selten vorkommenden (H.K. Müller, persönliche Mitteilung, 1992) schwach-positiven Proben zu erfassen, gilt in der Schweiz folgende Konvention (Institut für Viruskrankheiten und Immunprophylaxe, Mittelhäusern, nicht publiziert): Eine Probe ist als positiv zu beurteilen, sofern sie stärker reagiert als 50% der Reaktion, welche der europäische Standard E4/10 auf der gleichen Platte hervorruft.

Die Untersuchungen zur Reproduzierbarkeit und Gültigkeit der Tests zeigten in erster Linie, dass solche Kontrollen zwar notwendig und wünschbar, jedoch auch sehr schwer zu beurteilen sind. Bei beiden Herstellern wurden quantitativ unterschiedliche Reaktionen der Referenzseren festgestellt. Diese Unterschiede machten sich sowohl in einzelnen Dellen der gleichen Platte, unter den gleichzeitig bearbeiteten Platten, sowie unter den Testansätzen verschiedener Tage bemerkbar (Abbildungen 1 und 2). Während bei ELISA1 und 3 klare Kriterien für die Testgültigkeit definiert sind, fehlen solche Angaben für ELISA2 und 4 weitgehend. Ist dies nun als eindeutiger Mangel zu qualifizieren? Wie aus Abbildung 1 herausgelesen werden kann, war bei ELISA1 zu beanstanden, dass der Test (in Abhängigkeit von den Plattenlots) offensichtlich seinen eigenen Kriterien allzuoft (bei 10 von 25 Tests) nicht genügte. Dass in allen Fällen die Resultate der Proben bei einer Wiederholung in einem «gültigen» Test reproduzierbar waren, ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, dass unsere Abklärungen auf dem Hintergrund einer negativen Population erfolgten.

Möglicherweise waren jedoch auch die Kriterien für die Testgültigkeit vom Hersteller zu starr angesetzt. Die Festsetzung derart starrer Limiten war für ELISA2 und 4 ausgeschlossen, weil ein wichtiges Element im praktischen Einsatz dieser Tests die Forderung war, dass der Test von Auge abgelesen werden konnte. Allerdings ist anzufügen, dass auch 16 von 100 Platten bei ELISA2 aufgrund laboreigener Kriterien den Anforderungen nicht genügten. Aus Abbildung 2 kann entweder geschlossen werden, dass die Antigenbeschichtung auch innerhalb mehrerer Platten des gleichen Lots deutlich variierte, oder aber dass die Schwankungen auf Ungenauigkeiten bei der Pipettierung durch die Pipettierstation zurückzuführen sind. Forscher und Heiseke (1988), die ähnliche Beobachtungen bereits früher gemacht hatten, gebrauchten deshalb die relative Reaktion eines zusätzlichen positiven Serums zum positiven Standard auf der gleichen Platte als weitere Kontrolle. Bei unseren Untersuchungen wurde auf dieses Vorgehen verzichtet, da nicht nur die Testkits an sich, sondern auch die Verhältnisse unter Routinebedingungen geprüft werden sollten. So sehr objektivierbare Kriterien aus der Sicht des Anwenders der Testkits wünschbar wären, muss doch zugegeben werden, dass die Festlegung solcher starrer Regeln auch Nachteile mit sich bringt. Insbesondere müssen die Seuchensituation und die Möglichkeiten der Diagnostik genügend Berücksichtigung finden. Ähnliche Probleme wurden auch schon von anderen Autoren angesprochen, im Zusammenhang mit serologischen Übersichtsuntersuchungen der nationalen Schweineherden auf des Vorliegen verschiedener Seuchen (Palatini, 1988).

Die Notwendigkeit, einen Test infolge Ungültigkeit zu wiederholen, ist deutlich abzugrenzen von der Verifikation einzelner Testergebnisse, weil das Resultat beim Screeningtest von ELISA1 und 3 «fraglich», bzw. bei ELISA2 und 4 «nicht interpretierbar» lautete. Bei der Untersuchung der Proben aus dem Routinebetrieb mit ELISA1 (IBR/IPV) war die Überprüfung mit einem Verifikationstest bei 5 von 1431 Seren (0,35%) und bei drei von 440 Milchproben (0,68%) notwendig. Beim EBL Test (ELISA3) wurden 22 von 1431 Seren (1,54%) und 13 von 440 Milchproben (2,95%) nachgeprüft. Im Vergleich dazu mussten mit ELISA2 (IBR/IPV Test) 6 von 1'431 Seren (0,42%) und eine einzige Milchprobe (0,91%) nachuntersucht werden. Bei ELISA4 (EBL Test) waren 2 von 1431 Seren (0,14%) und keine einzige Milchprobe (0%) zu überprüfen. Tiere während der Serokonversion und andere Tiere mit sehr niedrigen Antikörpertitern, welche infolgedessen im ELISA in der Kategorie «nicht interpretierbar» eingestuft werden, würde man in erster Linie während einer aktiven Ausbreitungsphase einer Seuche oder während ihres Rückganges infolge der Bekämpfung erwarten. Aufgrund der aktuellen Seuchensituation in der Schweiz erstaunt es nicht, dass die Verifikation in Bestätigungstests nur sehr selten notwendig war.

Bei ELISA1 und 3 werden entsprechende Verifikationstests mit dem Kit mitgeliefert. Diese basieren, ähnlich wie ELISA2 und 4 auf der Reaktion der Proben mit Virus-



antigen und mit Kontrollantigen. Ein prozentualer Anteil der Bestätigungstests ist im Kit vorhanden. Im Gegensatz dazu ist die Verifikation von nicht interpretierbaren Ergebnissen bei ELISA2 und 4 nicht vom Hersteller geregelt, sondern dem Benutzer überlassen. In der Schweiz wird diese Lücke geschlossen, indem der Gesetzgeber bei der Untersuchung auf Antikörper gegen IBR/IPV den Virusneutralisationstest, bei EBL den Immundiffusionstest als Referenzmethode vorschreibt. Beide Tests sind bezüglich Sensitivität dem jeweiligen ELISA unterlegen, sodass die «Verifikation» unter Einbezug weiterer Proben erfolgen muss, wenn man nicht eine Fehlinterpretation riskieren will.

Da gesamthaft die Qualität beider Tests sehr hoch war, durften technische und finanzielle Aspekte bei der Evaluation mit berücksichtigt werden. Hier kommen die Unterschiede zwischen den beiden Testsystemen zum Tragen (Tabelle 1). Bei ELISA1 und 3 wird in jeder Delle ein anderes Serum, bzw. eine andere Milchprobe getestet, sodass auf einer einzigen Platte 92 Proben zur Untersuchung gelangen könnten. Allerdings ist hierzu zu bemerken, dass in der Schweiz der Gesetzgeber einen doppel-

ten Probenansatz vorschreibt. Dadurch werden Fehler im Testablauf (speziell falsch negativ durch Fehlmanipulation) eher erkannt. Gerade im Zeitalter der Laborautomatisierung ist dieser Faktor nicht zu vernachlässigen. Für ELISA2 und 4 werden also etwa doppelt so viele antigenbeschichtete Platten wie für ELISA1 und 3 benötigt. Entsprechend fällt natürlich der Verbrauchsanteil anderer Materialien, wie Verdünnungs- und Waschflüssigkeit, Konjugat und Substrat aus.

Zum technischen Ablauf der Untersuchungen ist zu bemerken, dass ELISA2 und 4 problemlos automatisiert und sowohl von Auge abgelesen als auch mit dem Photometer ausgewertet werden können. Bei ELISA1 und 3 ist die Anwendung von Laborautomaten bis jetzt fast unmöglich, weil der Test als komplettes Kit geliefert wird. Alle Zutaten, selbst die Verdünnungs- und Waschlösungen, unterscheiden sich von System zu System und sind nur in ausreichender Menge für die entsprechende Anzahl Untersuchungen vorhanden. Da zudem die Rezepte der Reagentien geheim gehalten werden, können die Tanks der Laborautomaten mit den gelieferten Mengen nicht gefüllt werden. Somit wird die automatische Probenver-

### Comparaison de deux systèmes ELISA pour la détection d'anticorps contre la RBI/VPI et la LBE

La sensibilité et la spécificité de deux systèmes ELISA pour la détection d'anticorps contre la RBI/VPI ont été testées et comparées. L'examen de 214 sérums de valeur connue a démontré une sensibilité d'au moins 98% pour l'ELISA1 (Herd-Check®:anti-IBR) et de 94-99,3% pour l'ELISA2 (Checkit®: Trachitest). La spécificité de l'ELISA1 était de 96,9% alors que celle de l'ELISA2 était de 81,5 à 98,5%. Pour les examens de routine, les deux tests étaient remarquablement en accord. Pour chaque test, seulement 3 des 1431 sérums testés ont donné des résultats contradictoires. Un examen supplémentaire a confirmé qu'il s'agissait très probablement de résultats faux-positifs. Des résultats comparables ont été obtenus lors de l'analyse d'échantillons de lait. Les spécimens de sérum et de lait ont aussi été testés pour les anticorps du virus de la LBE à l'aide d'un ELISA du même fabricant. Parce que trop peu d'échantillons avec une valeur connue étaient à disposition, seulement la comparaison des deux tests mais pas de leur sensibilité et spécificité a été considérée. Seulement 6 de 1431 échantillons de sérum analysés ont donné des résultats contradictoires.

Les 4 tests commerciaux évalués ont été jugés de bonne qualité, malgré les défauts techniques et d'organisation dévoilés.

### Confronto fra due sistemi ELISA per l'accertamento di anticorpi contro IBR/IPV e contro EBL

Sensibilità e specificità di due sistemi ELISA per l'accertamento di anticorpi contro IBR/IPV sono stati analizzati e confrontati fra di loro. L'esame con l'aiuto di 214 sieri dei quali si conosceva il valore dimostrò una sensibilità del 98% per l'ELISA1 (HerdCheck®:anti-IBR) e del 94-99,3% per l'ELISA2 (Checkit®:Trachitest). La specificità dell'ELISA1 era nell'ordine del 96,9%, mentre per l'ELISA2 fu calcolata una specificità che variava dal 81,5 fino al 98,5%. Tutti e due i test davano nell'analisi di routine gli stessi risultati. Solo in tre casi su 1431 sieri si ebbero dei risultati contraddittori. In seguito in un esame supplementare risultarono essere con molta probabilità delle prove positive false. Risultati molto concordi furono pure ottenuti con l'analisi di prove del latte. I sieri e il latte usati nelle analisi di routine furono pure usati per la determinazione degli anticorpi contro EBLV, impiegando l'ELISA degli stessi produttori. Per la mancanza di materiale del quale si conosceva il valore, fu solo possibile determinare la concordanza dei due test, non però la sensibilità e la specificità. Solo 6 dei 1431 sieri diedero risultati discordanti. Tutti e quattro i Test Kit analizzati furono giudicati qualitativamente molto buoni, anche se sono stati scoperti alcuni difetti tecnici e organizzativi.



teilung und Plattenwaschung verunmöglicht. Überdies ist eine Augenablesung der Resultate nicht möglich. Man ist auf die Ablesung mit einem Photometer und die Berechnung des P/PK Quotienten (vgl. Tabelle 1) mit einem Rechner angewiesen. Im Gegensatz zur früheren, aktiven Seuchenbekämpfungsphase, wo die Augenablesung einen wesentlichen Anteil zur Durchführbarkeit der Kampagne leistete, ist beim heutigen Seuchenstand die Ablesung und Auswertung der Ergebnisse mit einem Photometer und einem Rechner eher als Vorteil denn als Nachteil einzustufen. Durch die Aufnahme der Resultate in Datenbanksysteme können die Ergebnisse leichter wissenschaftlichen Analysen unterworfen werden, was auf lange Sicht der Qualitätssicherung unserer Diagnostik sicher förderlich ist.

Zusammenfassend kann aus den vorliegenden Untersuchungen geschlossen werden, dass die geprüften Diagnostika qualitativ hoch einzustufen sind, dass aber bei beiden Tests weitere Verbesserungen denkbar wären. In jedem Fall muss die Auswahl und Zulassung von solchen Diagnostika in den Gesamtrahmen einer Seuchenbekämpfungsstrategie gestellt werden.

## Literatur

Ackermann M., Müller H.K., Bruckner L., Riggenbach C., Kihm U. (1989): Die Bekämpfung der Infektiösen Bovinen Rhinotracheitis (IBR) in der Schweiz von 1978 bis 1988. Schweiz. Arch. Tierheilk. 131, 397-407.

Ackermann M., Bélat S., Bitsch V., Edwards S., Moussa A., Rockborn G., Thiry E. (1990a): Round table on infectious bovine rhinotracheitis/infectious pustular vulvovaginitis virus infection and control. Vet. Microbiol. 23, 361-363.

Ackermann M., Müller H.K., Bruckner L., Kihm U. (1990b): Eradication of infectious bovine rhinotracheitis in Switzerland: review and prospects. Vet. Microbiol. 23, 365-370.

Bebets F., Disasi A., Ryder R.W., Bisbagara K., Piot P., Kasbamuka M., Kamenga M., Nzila N., Laga M., Vercauteren G., Batier V., Brown C., Quinn T. (1991): Comparison of five commercial enzyme-linked immunosorbent assays and western immunoblotting for human immunodeficiency virus antibody detection in serum samples from Central Africa. J. Clin. Microbiol. 29, 2280-2284.

Bommeli W., Kihm U., Lazarowicz M., Steck F. (1980): Rapid detection of antibodies to bovine rhinotracheitis (IBR) virus by micro ELISA. Proceedings of the 2nd international symposium of veterinary laboratory diagnosticians, Lucerne (CH) II, 235-239.

EG Richtlinien 64/332, Anlage G (1988): Tests zum Nachweis der Enzootischen Rinderleukose. Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaft, (Nr. L) 194, 5-9.

*Korrespondenzadresse: Prof. M. Ackermann, Institut für Virologie, Veterinärmedizinische Fakultät, Winterthurerstrasse 266a, CH-8057 Zürich*

Manuskripteingang: 19. Oktober 1992

Eloit M., Perrin B., Guerin B. (1991): IBR serodiagnosis: from potential heterogeneity of the results to harmonization. Proceedings of the 3rd meeting of A.I. Vets in the EEC, Albi, France, 31-39.

Forschner E., Heiseke D. (1988): ELISA-Ablaufbestimmende Einflussparameter, deren Auswirkungen auf die Testsicherheit und praxisgerechte Prüfmethoden. Tierärztl. Umschau, 43, 786-796.

Lazarowicz M., Steck F., Ackermann M., Kihm U. (1983): Prüfung von zwei Impfstoffen gegen die Infektiöse Bovine Rhinotracheitis. Schweiz. Arch. Tierheilk. 125, 797-808.

Molloy J.B., Walker P.J., Baldock F.C., Rodwell B.J., Cowley J.A. (1990): An enzyme-linked immunosorbent assay for detection of bovine leukemia virus p24 antibody in cattle. J. Virol. Methods 28, 47-57.

Palatini M. (1988): Serologische Untersuchungen über das Vorkommen und die Verbreitung der transmissiblen Gastroenteritis und der Aujeszky'schen Krankheit der Schweine in der Schweiz. Vet.-med. Diss. Zürich.

Patou G., Ayliffe U. (1991): Evaluation of commercial enzyme linked immunosorbent assay for detection of B19 parvovirus IgM and IgG. J. Clin. Pathol. 44, 831-834.

Probst U., Wyler R., Kihm U., Ackermann M., Bruckner L., Müller H.K., Ebrensperger F. (1985): Zur IBR-Virus-Ausscheidung experimentell infizierter Kühe insbesondere in Milch. Schweiz. Arch. Tierheilk. 127, 723-733.

Spielberg E., Kabeya C.M., Ryder R.W., Kifuani N.K., Harris J., Bender T.R., Heyward W.L., Quinn T.C. (1989): Field testing and comparative evaluation of rapid, visually read screening assays for antibody to human immunodeficiency virus. LANCET 1(8638) 580-584.

Spiezia K.V., Dille B.J., Musbabwar I.K., Kifle L., Okasinski G.F. (1990): Prevalence of specific antibodies to herpes simplex virus type 2 as revealed by an enzyme-linked immunoassay and western blot analysis. Adv. Exp. Med. Biol. 278, 231-242.

Spirig Ch., Ackermann M., Müller H.K., Bruckner L., Kihm U. (1989): Serologische und virologische Untersuchungen an ausgewählten Rindern mit Antikörpern gegen Bovine Herpesviren. Schweiz. Arch. Tierheilk. 131, 195-204.

Stuker G., Haab P., Giger T. (1980): Nachweis von IBR/IPV-Antikörpern aus der Milch. Schweiz. Arch. Tierheilk. 122, 707-710.

## Verdankungen

Die Autoren bedanken sich bei Dr. H.K. Müller für die Hilfe bei der Beschaffung und Auswertung der Proben mit «Wahrheitswert», sowie für kritische Anregungen und Ratschläge bei der Durchführung der Arbeit. Bei Professor E. Peterhans, Dr. G. Stuker, sowie bei der Veterinaria AG bedanken wir uns für die Überlassung von Probenmaterial und bei Professor U. Kihm für die kritische Durchsicht des Manuskriptes. Die Firma IDEXX stellte die Kits für ELISA1 und 3 kostenlos zur Verfügung und bezahlte einen Teil der Untersuchungskosten.