Hauptvirulenzfaktoren bei Escherichia coli-Isolaten von über zwei Wochen alten Schweinen mit Ödemkrankheit und/oder Colidiarrhöe

Autor(en): **Sarrazin, E. / Fritzsche, C. / Bertschinger, H.U.**

Objekttyp: **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): **142 (2000)**

Heft 11

PDF erstellt am: **14.05.2024**

Persistenter Link: https://doi.org/10.5169/seals-593603

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.

Ein Dienst der *ETH-Bibliothek*
ETH Zürich, Rämistrasse 101, 8092 Zürich, Schweiz, www.library.ethz.ch

http://www.e-periodica.ch

Hauptvirulenzfaktoren bei *Escherichia coli*-Isolaten von über zwei Wochen alten Schweinen mit Ödemkrankheit und/oder Colidiarrhöe

E. Sarrazin, C. Fritzsche, H.U. Bertschinger

Institut für Veterinärbakteriologie der Universität Zürich

Zusammenfassung

Von 113 Fällen von Ödemkrankheit und/oder Colidiarrhöe wurden die isolierten *Escherichia coli* mit Hämolyse in Bezug auf die OK-Antigene und die Fimbrien des Typs F4 serologisch untersucht. Mittels PCR wurden die Gene für die Enterotoxine LT, STIa und STII, für Shigatoxin Stx2e sowie für die Fimbrien F18 bestimmt. Die Antigenvarianten F18ab und F18ac wurden mithilfe der indirekten Immunfluoreszenz in Ausstrichpräparaten sowohl vom Darm als auch von speziellen Kulturen identifiziert. Adhäsive Fimbrien liessen sich dank der Kombination verschiedener Techniken bei jedem Fall bzw. Isolat feststellen. Am häufigsten wurde die Serogruppe O149:K91 mit den Fimbrien F4ac (K88ac) und den Genen für die Enterotoxine LT und STII nachgewiesen. Sie wurde gefolgt von O139:K12 mit den Fimbrien F18ab und dem Gen für Stx2e. Bedeutend seltener waren die Serogruppen O141ab:K- und O141ac:K- mit den Fimbrien F18ac und Genen für Stx2e, STII und häufig auch LT. Erstmals für die Schweiz wurde auch ein Isolat der Serogruppe O147:K89 mit Fimbrien F18ac sowie STIa und STII entdeckt.

Schlüsselwörter: Schwein – Colidiarrhöe – Colienterotoxämie – Fimbrien – Toxine

Major virulence factors of *Escherichia coli* isolated from pigs over two weeks of age with oedema disease and/or diarrhoea

The OK antigens and the fimbriae F4 of *E. coli* with haemolysis isolated from 113 cases of oedema disease and/or diarrhoea were identified serologically. The genes for F18 and for enterotoxins LT, STIa and STII as well as Shigatoxin Stx2e were determined by PCR. Fimbrial variants F18ab and F18ac were distinguished by means of indirect immunofluorescence on smears prepared from the intestinal mucosa and from cultures grown under appropriate conditions. Adhesive fimbriae were detected with every case or isolate, respectively, by means of at least one out of the techniques mentioned above. The serogroup O149:K91 with fimbriae F4ac (K88ac) and genes for the enterotoxins LT and STII was most prevalent. Serogroup O139:K12 with fimbriae F18ab and the gene for Stx2e was second, whereas serogroups O141ab and O141ac with fimbriae F18ac and genes for Stx2e, STII and often LT were much less prevalent. The serogroup O147:K89 with fimbriae F18ac, and genes for STIa and STII was detected for the first time in Switzerland.

Key words: pig – *E. coli* diarrhoea – enterotoxaemia – fimbriae – toxins

Einleitung

Ödemkrankheit und Colidiarrhöe führen nach wie vor zu bedeutenden Verlusten in der Schweinehaltung (Bertschinger und Fairbrother, 1999). Im Hinblick auf die weitere Zunahme der Resistenzen gegen antimikrobielle Wirkstoffe wird in Zukunft neuen Prophylaxeverfahren, wie der Züchtung genetisch resistenter Schweine (Baker et al., 1997; Vögeli et al., 1997) sowie der aktiven (Bertschinger et al., 2000) oder passiven (Zuniga et al., 1997) Immunisierung gegen die Darmbesiedlung vermehrte Bedeutung zukommen. In beiden Fällen ist die exakte Kenntnis der adhäsiven Fimbrien eine wichtige Voraussetzung.

Bei Ödemkrankheit und Colidiarrhöe werden die pathologischen Vorgänge durch Toxine bedingt, die von den *E. coli*-Bakterien im Dünndarm produziert werden (Bertschinger und Fairbrother, 1999). Im Falle der Ödemkrankheit tritt das früher als Ödemtoxin und heute als Shigatoxin 2e (Stx2e) bezeichnete Toxin aus dem Darm ins Gefässsystem über, weshalb die Krankheit auch den Enterotoxämien zugeordnet wird. Bei der Colidiarrhöe hingegen wird die Funktionsstörung durch ein Enterotoxin oder mehrere Enterotoxine lokal im Darmepithel induziert. Man unterscheidet das hitzelabile Enterotoxin I (LTI) von den hitzestabilen Enterotoxinen Ia (STIa) und II (STII). Die Produktion wirksamer Toxinkonzentrationen setzt hohe Bakterienzahlen

voraus. Diese können im Dünndarm nur erreicht werden, wenn die Bakterien an der Schleimhautoberfläche haften und sich hier vermehren können. Daher sind neben den Toxinen auch die adhäsiven Fimbrien wichtige Virulenzfaktoren (Bertschinger und Fairbrother, 1999).

Beim mehr als 2 Wochen alten Schwein werden hauptsächlich Fimbrien der Typen F4 (K88) und F18 gefunden. Bei beiden kennt man antigenetische Varianten, die als F4ab, F4ac und F4ad bzw. F18ab und F18ac bezeichnet werden. Deren Unterscheidung ist bei F4 mittels serologischer Methoden, beispielsweise der Schnellagglutination der in Kultur angezüchteten Bakterien einfach und schnell möglich. Bei F18 hingegen sind die Fimbrien unter üblichen Kulturbedingungen schwach oder gar nicht ausgebildet, weshalb für ihre Identifikation spezielle Methoden erforderlich sind. Für die Unterscheidung der beiden F18-Varianten stehen serologische Verfahren im Vordergrund, wobei die Bakterien unter ganz besonderen Bedingungen anzuzüchten sind. Wegen der gelegentlichen Probleme mit spontaner Agglutination kommt neben der Schnellagglutination (Hide et al., 1995; Wittig et al., 1995) oft auch die Immunfluoreszenz (Imberechts et al., 1994a; Nagy et al., 1999) zum Einsatz. Demgegenüber werden molekulargenetische Methoden, wie die PCR mit anschliessender Sequenzanalyse der Amplifikationsprodukte (Imberechts et al., 1994b) oder die Analyse des Konformationspolymorphismus der DNS-Einzelstränge (Bosworth et al., 1998) zu diagnostischen Zwecken kaum eingesetzt.

In der vorliegenden Untersuchung wurden die adhäsiven Fimbrien und ihre Varianten bestimmt und ihr Vorkommen zusammen mit den klassischen Serogruppen und den verschiedenen Toxinmustern dargestellt.

Material und Methoden

Als Untersuchungsmaterial dienten Segmente von Duodenum, Jejunum und Ileum von 113 Schweinen im Alter über 2 Wochen. Die untersuchten Schweine waren entweder verendet, oder sie waren krankheitshalber getötet worden. Sie wurden zwischen Herbst 1991 und Sommer 1993 an eines von drei diagnostischen Laboratorien in der Region Zürich eingesandt, wo aufgrund des makroskopischen Sektionsbefundes die Diagnosen Ödemkrankheit und/oder Colidiarrhöe gestellt wurden. Aus dem ursprünglich umfangreicheren Material (Fritzsche, 1997) standen für die eingehendere Studie die nach Aufbewahrung als Stichagarkultur überlebenden Isolate zur Verfügung. Von jedem Herkunftsbetrieb wurde nur ein Fall einbezogen. Ferkel mit Mischinfektionen mit mehreren Serogruppen wurden ebenso ausgeschlossen wie Ferkel, von denen nicht zumindest vom Darmausstrich oder von der Kultur ein beurteilbares Immunfluoreszenzpräparat zur Verfügung stand.

Von jedem der drei Darmabschnitte wurde eine Schafblutagarplatte (Agargehalt zur Hemmung des Schwärmens von *Proteus spp.* auf 2,5% erhöht) beimpft und über Nacht aerob bei 37 °C bebrütet. Ausgehend von frischen Kulturen auf Blutagar wurden bei sechs *E. coli*-verdächtigen Kolonien mit Hämolyse mithilfe der Schnellagglutination in OK-Antiseren die OK-Serogruppe und allfällige Fimbrien F4 bestimmt (Bertschinger, 1968).

Gleichzeitig mit der Anzüchtung wurden vom Inhalt aus jedem Darmabschnitt 6 Ausstrichpräparate für die indirekte Immunfluoreszenz angefertigt. Als primäre Antikörper fanden selbst hergestellte Kaninchenseren gegen F18ab, F18b, F18ac und F18c (Rippinger, 1993), gegen die Serogruppe des Isolates (positive Kontrolle) und Serum eines nicht immunisierten Kaninchens (negative Kontrolle) Verwendung. Als sekundärer Antikörper diente ein mit FITC konjugierter, gegen Kaninchen-Immunglobuline gerichteter Ziegenantikörper (Nordic Immunology, Tilburg, NL). Zur Verbesserung des Kontrastes wurde mit Evan's Blue gegengefärbt.

Weil die erwähnte Technik ungenügend validiert war, wurden die F18-Varianten nach der Isolierung der Colistämme nochmals überprüft. Zur Anzüchtung kam der von Wittig et al. (1994) empfohlene Iso-Sensitest-Agar (Oxoid, Basingstoke, GB) mit Zusatz von Alizaringelb 0,0625% (Fluka, Buchs/SG, CH) in einer Atmosphäre von 40% CO_2 bei 0,2 atm Unterdruck zur Anwendung. Unter diesen Kulturbedingungen bilden F18 exprimierende Bakterien deutlich kleinere Kolonien als Bakterien ohne Fimbrienexpression (Wittig et al., 1994). Durch gezielte Subkultur kleiner Kolonien wurde deren Anteil im Bedarfsfall erhöht. Die Fimbrienantigene wurden ebenfalls mittels indirekter Immunfluoreszenz bestimmt. Dabei wurden die Bakterien zur besseren Kontrastbildung auf fixierte Abklatschpräparate von normalen Schweinenieren aufgebracht (Fritzsche, 1997). Bei den Fällen, wo Fimbrien des Typs F4 nachgewiesen wurden, unterblieb die Untersuchung auf die Varianten von F18 mittels indirekter Immunfluoreszenz.

Zur Bestimmung der Toxingene bedienten wir uns der PCR. Drei Einzelkolonien jedes Isolates wurden in 450 µl Lysis-Puffer (Tris-HCl pH 8,5 100 mM, Tween20 0,05%, Proteinase K 0,24 mg/ml) im Wärmeblock bei 60 °C während 60 Min. gefolgt von 97 °C während 15 Min. lysiert. 5 µl des so hergestellten Templates wurden mit 45 µl der PCR-Mischung (170 µM dNTP, 2 µM von jedem Primer (Tab. 1) und 1,25 U DNA-Taq-Polymerase in

Tabelle 1: Mit Hilfe der PCR bestimmte Virulenzfaktoren; verwendete Primer und Reaktionsbedingungen

Virulenzfaktor	Primer für Sequenz	Grösse des Produkts	Anzahl Zyklen	Amplifikationszyklen		
				Denaturierung °C/Zeit	Hybridisierung °C/Zeit	DNS-Synthese °C/Zeit
Fimbrien F18	*fedA*[1]	510 bp	25	94/ 1 Min.	55/1 Min.	72/ 2 Min.
Enterotoxin STIa	*stIa*[2]	130 bp	25	94/30 Sek.	47/1 Min.	72/ 2 Min.
Enterotoxin STII	*stII*[3]	93 bp	30	94/30 Sek.	50/1 Min.	72/ 2 Min.
Enterotoxin LT	*ltIb*[4]	314 bp	25	94/ 1 Min.	55/1 Min.	72/ 2 Min.
Shigatoxin Stx	*slt*[5]	520 bp	35	94/30 Sek.	52/1 Min.	74/ 1 Min.
Shigatoxin Stx2e	*stx2e*[6]	ca. 300 bp	30	94/30 Sek.	53/1 Min.	72/40 Sek.

[1] Imberechts et al., 1992
[2] So and MacCarthy, 1980
[3] Picken et al., 1983
[4] Yamamoto and Yokota, 1983
[5] Burnens et al., 1995
[6] Rüssmann et al., 1995

1xTaq-Polymerase-Puffer (Stratagene, La Jolla, Kalifornien)) versetzt. Die für das Shigatoxin-Gen verwendeten Primer erkennen eine Sequenz, die in den Genen für Stx1, Stx2 und Stx2e vorkommt (Burnens et al., 1995). Wir verwenden hier dennoch die Bezeichnung Stx2e, weil andere Shigatoxine bei Isolaten vom Schwein nicht gefunden werden (Osek, 1999). Zudem erwiesen sich bei der stichprobenweisen Überprüfung einiger Isolate mit Stx2e-spezifischen Primern (Rüssmann et al., 1995) alle als Stx2e. Nach initialer Denaturierung bei 94 °C folgten 25 bis 35 Amplifikationszyklen gemäss der Tabelle 1. Nach Gelelektrophorese in 1,2% Agarose wurden die Amplifikationsprodukte durch Färbung mit Ethidiumbromid unter UV-Licht sichtbar gemacht.

Ergebnisse

In der Untersuchungsperiode dominierten die beiden Serogruppen O149:K91 und O139:K12, die zusammen 90,3% der Isolate ausmachten (Tab. 2). Die Hälfte aller Isolate trug Fimbrien des Typs F4ac, der ausschliesslich bei der Serogruppe O149:K91, hier aber bei jedem Isolat vorkam. Die Antigenvariante F18ab wurde nur bei der Serogruppe O139:K12 gefunden, während F18ac bei den z.Z. selteneren Serogruppen O141ab:K-, O141ac:K- und O147:K89 nachgewiesen wurde. Die Ergebnisse der indirekten Immunfluoreszenz von Darmausstrichen und von Kulturen stimmten vollständig überein. Das in anderen Berichten beschriebene Vorkommen von F4 und F18 beim selben Isolat wurde in unserem Material nicht beobachtet. Auch kamen Fimbrien F18 nie bei der Serogruppe O149:K91 vor.

Von den 57 Isolaten mit Fimbrien F18 wurden durch die fluoreszenzserologische Untersuchung von Darmausstrichen 10 nicht erfasst (Tab. 3), hauptsächlich wegen unspezifischer Fluoreszenz oder zu geringer Keimzahl im Präparat. Die indirekte Immunfluoreszenz ausgehend von Kulturen fiel in 3 Fällen negativ aus und war in weiteren 11 Fällen nicht zweifelsfrei zu beurteilen. Nicht selten waren für ein positives Resultat mehrere Anzüchtungsversuche von kleinen Kolonievarianten unter den erwähnten Anzüchtungsbedingungen erforderlich. Demgegenüber lieferte die PCR bei 55 der 57 insgesamt F18-positiven Isolate ein positives Ergebnis.

Tabelle 3: Ausbeute bei Anwendung verschiedener Methoden zum Nachweis von Fimbrien des Typs F18

Fimbrienvariante	Anzahl Fälle bzw. Isolate[1]	Immunfluoreszenz		PCR
		Darm	Kultur	
F18ab	46	37	41	44
F18ac	11	10	2	11
Total	57	47	43	55

[1] Bei Berücksichtigung aller Methoden

Tabelle 2: Ergebnisse der serologischen und der molekulargenetischen Charakterisierung von 113 hämolysierenden E. coli-Isolaten von Ferkeln mit Ödemkrankheit und/oder Colidiarrhöe

Anzahl Isolate	Serologie		PCR				
	OK-Serogruppe	Fimbrien	F18	STIa	STII	LT(B)	Stx2e
46	O139:K12	F18ab	44	0	0	0	43
8	O141ab:K-	F18ac	8	1	8	6	8
2	O141ac:K-	F18ac	2	0	1	0	2
1	O147:K89	F18ac	1	1	1	0	0
56	O149:K91	F4ac	0	2	53	54	0

Die Gensequenz für Stx2e, also das Ödemtoxin, wurde mit wenigen Ausnahmen bei den Serogruppen O139:K12, O141ab:K- und O141ac:K- nachgewiesen, während sie bei der Serogruppe O149:K91 nie festgestellt wurde (Tab. 2). Bei der Serogruppe O139:K12 kamen keine Enterotoxingene vor, wogegen alle Isolate der Serogruppe O141ab:K- neben dem Ödemtoxin auch Gene für hitzestabiles Enterotoxin STII und in 6 von 8 Fällen auch für das hitzelabile Enterotoxin LT aufwiesen. Die mit nur 2 Isolaten vertretene Serogruppe

O141ac:K- war ebenfalls positiv für Stx2e, nicht aber für LT. Das hitzestabile Enterotoxin STIa wurde bei nur 4 Isolaten nachgewiesen, die 3 verschiedenen Serogruppen angehörten. Beinahe alle Isolate der Serogruppe O149:K91 wiesen die Gensequenzen für die beiden Enterotoxine LT und STII auf. Neu für die Schweiz war das Vorkommen der Serogruppe O147:K89 mit Fimbrien F18ac anstelle der früher gefundenen F4. Wie Tabelle 2 zeigt, kam Stx2e nur bei Isolaten mit Fimbrien F18 vor, nie bei solchen mit F4. Das Stx2e-Gen wurde bei 43 der 46 Isolate mit F18ab und bei 10 der 11 Isolate mit F18ac festgestellt. Das klinisch besonders wirksame Enterotoxin LT hingegen fand sich sowohl bei Isolaten mit F4 als auch bei solchen mit F18, hier allerdings immer vergesellschaftet mit F18ac.

Diskussion

Es gibt nur wenige Untersuchungen, in denen alle bisher bekannten Virulenzfaktoren von *E. coli* bestimmt wurden. Insbesondere die Varianten der Fimbrien F18 wurden lediglich von Hide et al. (1995), Wittig et al. (1995) und Nagy et al. (1999) identifiziert. Anders als in diesen Studien gelang in unserem Material bei allen Isolaten bzw. Fällen der Nachweis von adhäsiven Fimbrien. Dies macht das Vorkommen weiterer Fimbrientypen bei Absetzferkeln relativ unwahrscheinlich; solche könnten allerdings in Kombination mit den nun bekannten Fimbrien auftreten. Diese Beobachtung ist vor allem wichtig für eine Prognose bezüglich des längerfristigen Schutzeffekts der Züchtung von genetisch resistenten Schweinen (Vögeli et al., 1997).

Für den Nachweis der Fimbrien F18 war die PCR den serologischen Verfahren eindeutig überlegen. Die indirekte Immunfluoreszenz könnte eine höhere Ausbeute ergeben, wenn es gelingen sollte, primäre und sekundäre Antikörper einzusetzen, die weniger zu unspezifischen Fluoreszenzen führen. Die Agglutinationsreaktion ist zwar schnell und wirtschaftlich, doch ist im Falle der Fimbrien F18 oft ein hoher Aufwand erforderlich, um die Kulturbedingungen zu finden, bei denen die Fimbriation zwar ausgeprägt, aber nicht derart stark ist, dass die Kulturen spontan ausflocken. Der negative Ausfall der F18-PCR bei den 2 phänotypisch positiven Isolaten lässt sich durch den Verlust der F18-Gensequenz während der Aufbewahrung zwischen serologischer und genetischer Untersuchung erklären (Wittig et al., 1994).

Im Einzugsgebiet des Instituts hat sich das Spektrum der OK-Serotypen innerhalb eines Vierteljahrhunderts deutlich verschoben (Bertschinger, 1970). Im Vergleich zu damals hat die Serogruppe O149:K91 von 11 auf 50% zugenommen und zugleich andere Serogruppen mit F4-Fimbrien verdrängt. Ebenso ist die Serogruppe O139:K12 zu Lasten von O141ab:K- häufiger geworden.

Weitgehende Übereinstimmung besteht hingegen mit Ergebnissen aus dem Berner Einzugsgebiet (Boss et al., 1992), wobei dort allerdings auf die Bestimmung der Fimbrien F18 verzichtet wurde.

Das Verhältnis zwischen Isolaten mit Fimbrien F4 und solchen mit F18 schwankt in verschiedenen Schweinepopulationen in hohem Masse. Während in vorliegender Studie der Anteil von Isolaten mit Fimbrien F4 rund die Hälfte ausmacht, liegt er in Sachsen bei nur 14% (Wittig et al., 1995), und in Dänemark und in Australien bei rund einem Drittel (Ojeniyi et al., 1994; Hide et al., 1995), wogegen in Ungarn und in den USA F4 etwas häufiger gefunden wird als bei uns (Nagy et al., 1990; Moon et al., 1999). In den erwähnten Berichten wurden Fimbrien F4 vorwiegend in Verbindung mit der Serogruppe O149 nachgewiesen. Die Zahlen sind allerdings nur beschränkt vergleichbar, weil die Isolate nicht immer nach den gleichen Prinzipien ausgewählt und die Virulenzfaktoren mit verschiedenen Techniken bestimmt wurden. Dies gilt ganz besonders für die relativen Häufigkeiten der Varianten F18ab und F18ac. Am besten vergleichbar ist die Untersuchung von Wittig et al. (1995), wo die Variante F18ac fast ebenso häufig gefunden wurde wie F18ab. In Australien hingegen machten die F18ab-Isolate einen verschwindend kleinen Teil aus (Hide et al., 1995).

Für den Kliniker ist vor allem interessant, wie weit man aus der Bestimmung der Serogruppe auf die Ausstattung mit Toxinen rückschliessen kann. Hier gilt es zu beachten, dass *E.-coli*-Isolate aus verschiedenen Schweinepopulationen trotz identischem OK-Serotyp mit unterschiedlichen Virulenzfaktoren ausgestattet sein können. Besonders instruktiv ist das Beispiel von O139:K12. Während in Ungarn (Nagy et al., 1990) und bei uns nur das Toxingen für Stx2e vorhanden ist, besitzt in Sachsen fast die Hälfte der Isolate neben Stx2e das Gen für das Enterotoxin STII (Wittig et al., 1995), wogegen in Australien das Stx2e-Gen bei keinem einzigen Stamm dieser Serogruppe gefunden wurde (Hide et al., 1995). Dementsprechend wird die Serogruppe O139:K12 in Europa bei Ödemkrankheit, in Australien hingegen bei Absetzdurchfall nachgewiesen. Ein anderes Beispiel betrifft die Serogruppe O147:K89, die im vorliegenden Material mit einem einzigen Isolat vertreten ist, das Fimbrien F18ac trägt. In der früheren Übersicht war diese Serogruppe mit 4% deutlich häufiger; sie wurde von Ferkeln mit Durchfall isoliert und bildete Fimbrien des Typs F4 (Bertschinger, 1970). Aus Dänemark und aus Ungarn wurde kürzlich über Stämme die-

ser Serogruppe berichtet, die nicht nur Fimbrien F18ac, sondern sogar Stx2e bilden (Ojeniyi et al., 1994; Nagy et al., 1999).

Im eigenen Material erscheint die Zuordnung der Fimbrienvarianten zu den Serogruppen äusserst homogen. Werden allerdings grössere Zahlen von Isolaten untersucht, so kommen auch hier Ausnahmen vor, worauf insbesondere Wittig et al. (1995) hingewiesen haben. Auch wenn die Variante F18ab vorwiegend bei der Serogruppe O139:K12 mit Bildung von Stx2e vorkommt, wurde sie in Sachsen auch bei Isolaten der Serogruppen O138:K81 und O157:K- festgestellt und war nicht immer mit Stx2e kombiniert (Wittig et al., 1995). Aus der vorliegenden Untersuchung und der Gegenüberstellung mit Daten aus früheren Jahren sowie aus anderen Regionen lässt sich der Schluss ziehen, dass die Korrelationen zwischen Serogruppe und Fimbrien- bzw. Toxinausstattung nur für isolierte Schweinepopulationen und zu einem bestimmten Zeitpunkt Gültigkeit haben. Längerfristig und global gesehen besteht keine Konstanz.

Dank

Die Autoren danken dem Institut für Veterinärpathologie der Universität Zürich (Prof. A. Pospischil), der DIAVET AG, Bäch (Dr. G. Stuker) und der VETERINARIA AG, Zürich (Dr. P. Wegmann) für die Überlassung des Untersuchungsmaterials. Dank schulden sie auch Herrn Dr. L. Corboz und Frau Ulla Pfäffli für die Einführung in die PCR-Technik sowie Herrn Prof. M. M. Wittenbrink für die kritische Durchsicht des Manuskripts.

Literatur

Baker D.R., Billey L.O., Francis D.H.: Distribution of K88 *Escherichia coli*-adhesive and nonadhesive phenotypes among pigs of four breeds. Vet. Microbiol. 1997, 54: 123–132.

Bertschinger H.U.: Zur Technik der serologischen Typisierung von *E. coli*-Kulturen aus Schweinen mit Coli-Enterotoxaemie. Path. Microbiol. 1968, 31: 91–97.

Bertschinger H.U.: Coli-Enterotoxämie beim Absetzferkel: Abhängigkeit der pathologisch-anatomischen Veränderungen vom Coli-Serotyp. Schweiz. Arch. Tierheilk. 1970, 112: 373–384.

Facteurs de virulence importants de souches d'*Escherichia coli* isolées chez des porcs âgés deux semaines et plus atteints de maladie de l'œdème et/ou de diarrhée à coli

Dans 113 cas de maladie de l'œdème et/ou de diarrhée à coli, les souches hémolysantes *d'Escherichia coli* isolées ont éte caractérisées sérologiquement et par mise en évidence au moyen de la PCR des gènes codants pour les entérotoxines LT, STIa et STII, pour la shigatoxine Stx2e et pour les adhésines F18. Les deux variantes F18ab et F18ac ont été déterminées par immunofluorescence indirecte à partir de frottis d'intestin et de colonies cultivées en milieu spécial. La combinaison de plusieurs techniques différentes nous a permis de diagnostiquer les adhésines à coup sûr dans chaque cas et/ou dans chaque culture. Le sérogroupe O149:K91 exprimant les adhésines F4ac (K88ac) et possédant les gènes codants pour LT et STII a été observé le plus fréquemment. Il était suivi par O139:K12 avec les adhésines F18ab et le gène codant pour Stx2e. Les sérogroupes O141ab:K- et O141ac:K- avec les adhésines F18ac et les gènes codant pour Stx2e, STII et souvent aussi pour LT étaient beaucoup moins fréquents. Pour la première fois en Suisse, nous avons isolé une souche du sérogroupe O147:K89 exprimant l'adhésine F18ac et possédant les gènes codant pour STIa et STII.

Fattori di virulenza importanti in ceppi di *Escherichia coli* isolati da suini di più di due settimane affetti dalla malattia degli edemi e/o di diarrea colibacillare

In 113 casi di malattia degli edemi e/o di diarrea colibacillare è stato possibile determinare sia il sierotipo dei ceppi isolati presentanti emolisi, sia, per mezzo della PCR, i geni delle enterotossine LT, STIa e STII, della shigatossina Stx2e e delle fimbrie F18. Con l'immunofluorescenza indiretta su strisci ottenuti sia dall'intestino che da colture specifiche sono state identificate le varianti antigeniche F18ab e F18ac. In tutti i casi di malattia verificatisi, grazie all'impiego di differenti metodiche è stato reso possibile il riconoscimento di fimbrie adesive in ogni ceppo isolato. Il maggior numero di ceppi isolati è risultato appartenente al sierogruppo O149:K91 con le fimbrie F4ac (K88ac) ed i geni delle enterotossine LT e STII. Il secondo maggior gruppo, in quanto a numero di isolati, era costituito da ceppi O139:K12 con le fimbrie F18ab ed il gene della Stx2e. Molto più raramente sono stati isolati ceppi dei sierogruppi O141ab:K- e O141ac:K-, con le fimbrie F18ac ed i geni della Stx2e, della STII, e, spesso, anche della LT. Per la prima volta in Svizzera è stato isolato, inoltre, un ceppo appartenente al sierogruppo O147:K89 con fimbrie F18ac e con STIa e STII.

Bertschinger H.U., Fairbrother J.M.: Escherichia coli infections. In: Diseases of Swine. Herausg. *B. Straw et al.* Iowa State University Press, Ames, Iowa 1999, 431–468.

Bertschinger H.U., Nief V., Tschäpe H.: Active oral immunization of suckling piglets to prevent colonization after weaning by enterotoxigenic *Escherichia coli* with fimbriae F18. Vet. Microbiol.. 2000, 71: 255–267.

Bosworth B.T., Dean-Nystrom E.A., Casey T.A., Neibergs H.L.: Differentiation of F18ab$^+$ from F18ac$^+$ *Escherichia coli* by single-strand conformational polymorphism analysis of the major fimbrial subunit gene *(fedA)*. Clin. Diagn. Laborat. Immunol. 1998, 5: 299–302.

Boss P., Monckton R.P., Nicolet J., Burnens A.P.: Nachweis von Toxingenen verschiedener *E. coli* Pathotypen beim Schwein mit nicht radioaktiv markierten Sonden. Schweiz. Arch. Tierheilk. 1992, 134: 31–37.

Burnens A.P., Frey A., Lior H., Nicolet J.: Prevalence and clinical significance of Vero-cytotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC) isolated from cattle in herds with and without calf diarrhoea. J. Vet. Med. B 1995, 42: 311–318.

Fritzsche C.: Colidiarrhöe und Colienterotoxämie beim Schwein: Typenspektrum der adhäsiven Fimbrien unter besonderer Berücksichtigung von F18. Dissertation Universität Zürich 1997.

Hide E.J., Connaughton I.D., Driesen S.J., Hasse D., Monckton R.P., Sammons R.G.: The prevalence of F107 fimbriae and their association with Shiga-like toxin II in *Escherichia coli* strains from weaned Australian pigs. Vet. Microbiol. 1995, 47: 235–243.

Imberechts H., De Greve H., Schlicker C., Bouchet H., Pohl P., Charlier G., Bertschinger H.U., Wild P., Vandekerckhove J., Van Damme J., Van Montagu M., Lintermans P.: Characterisation of F107 fimbriae of *Escherichia coli* 107/86, which causes edema disease in pigs, and nucleotide sequence of the F107 major fimbrial subunit gene, *fedA*. Infect. Immun. 1992, 60: 1963–1971.

Imberechts H., Bertschinger H.U., Stamm M., Sydler T., Pohl P., De Greve H., Hernalsteens J.-P., Van Montagu M., Lintermans P.: Prevalence of F107 fimbriae on *Escherichia coli* isolated from pigs with oedema disease or postweaning diarrhoea. Vet. Microbiol. 1994a, 40: 219–230.

Imberechts H., Van Pelt N., De Greve H., Lintermans P.: Sequences related to the major subunit gene *fedA* of F107 fimbriae in porcine *Escherichia coli* strains that express adhesive fimbriae. FEMS Microbiol. Lett. 1994b, 119: 309–314.

Moon H.W., Hoffmann L.J., Cornick N.A., Booher S.L., Bosworth B.T.: Prevalences of some virulence genes among *Escherichia coli* isolates from swine presented to a diagnostic laboratory in Iowa. J. Vet. Diagn. Invest. 1999, 11: 557–560.

Nagy B., Casey T.A., Moon H.W.: Phenotype and genotype of *Escherichia coli* isolated from pigs with postweaning diarrhoea in Hungary. J. Clin. Microbiol. 1990, 28: 651–653.

Nagy B., Wilson R.A., Whittam T.S.: Genetic diversity among *Escherichia coli* isolates carrying F18 genes from pigs with porcine postweaning diarrhea and edema disease. J. Clin. Microbiol. 1999, 37: 1642–1645.

Ojeniyi B., Ahrens P., Meyling A.: Detection of fimbrial and toxin genes in *Escherichia coli* and their prevalence in piglets with diarrhoea. The application of colony hybridization assay, polymerase chain reaction and phenotypic assays. J. Vet. Med. B 1994, 41: 49–59.

Osek J.: Prevalence of shiga toxin genes among *Escherichia coli* strains isolated from pigs. Vet. Record 1999, 145: 557–558.

Picken R.N., Mazaitis A.J., Maas W.K., Rey M., Heyneker H.: Nucleotide sequence of the gene for heat-stable enterotoxin II of *Escherichia coli*. Infect. Immun. 1983, 42: 269–275.

Rippinger P.: Ödemkrankheit und Absetzdurchfall beim Schwein: Antigenvarianten der Fimbrien 107 bei verschiedenen *E. coli*-Stämmen. Diss. Universität Zürich, 1993.

Rüssmann H., Kothe E., Schmidt H., Franke S., Harmsen D., Caprioli A., Karch H.: Genotyping of Shiga-like toxin genes in non-O157 *Escherichia coli* strains associated with haemolytic uraemic syndrome. J. Med. Microbiol. 1995, 42: 404–410.

So M., McCarthy B.J.: Nucleotide sequence of the bacterial transposon Tn1681 encoding a heat-stable (ST) toxin and its identification in enterotoxigenic *Escherichia coli* strains. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1980, 77: 4011–4015.

Vögeli P., Meijerink E., Fries R., Neuenschwander S., Vorländer N., Stranzinger G., Bertschinger H.U.: Ein molekularer Test für den Nachweis des *E. coli*-F18-Rezeptors: ein Durchbruch im Kampf gegen Ödemkrankheit und Absetzdurchfall beim Schwein. Schweiz. Arch. Tierheilk. 1997, 139: 479–484.

Wittig W., Prager R., Stamm M., Streckel W., Tschäpe H.: Expression and plasmid transfer of genes coding for the fimbrial antigen F107 in porcine *Escherichia coli* strains. Zbl. Bakt. 1994, 281: 130–139.

Wittig W., Klie H., Gallien P., Lehmann S., Timm M., Tschäpe H.: Prevalence of fimbrial antigens F18 and K88 and of enterotoxins and verotoxins among *Escherichia coli* isolated from weaned pigs. Zbl. Bakt. 1995, 283: 95–104.

Yamamoto T., Yokota T.: Sequence of heat-labile enterotoxin of *Escherichia coli* pathogenic for humans. J. Bact. 1983, 155: 728–733.

Zuniga A., Yokoyama H., Albicker-Rippinger P., Eggenberger E., Bertschinger H.U.: Reduced intestinal colonization with F18-positive enterotoxigenic *Escherichia coli* in weaned pigs fed chicken egg antibody against the fimbriae. FEMS Immunol. Med. Microbiol. 1997, 18: 153–161.

Korrespondenzadresse

Hans Ulrich Bertschinger
Institut für Veterinärbakteriologie der Universität Zürich
Winterthurerstrasse 270
CH-8057 Zürich
Telefon +41/1 63 58 601, Fax +41/1 63 58 912

Manuskripteingang: 10. Januar 2000
In vorliegender Form angenommen: 8. Mai 2000