

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

Herausgeber: Gesellschaft Schweizer Tierärztinnen und Tierärzte

Band: 142 (2000)

Heft: 3

Artikel: Vorkommen verotoxinbildender Escherichia coli (VTEC) in Kottupfern von Schlachtrindern und Schlachtschafen : eine Betrachtung aus fleischhygienischer Sicht

Autor: Stephan, R. / Ragettli, S. / Untermann, F.

DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-590223>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 29.03.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Vorkommen verotoxinbildender *Escherichia coli* (VTEC) in Kottupfern von Schlachtrindern und Schlachtschafen – eine Betrachtung aus fleischhygienischer Sicht

Institut für Lebensmittelsicherheit und -hygiene der Universität Zürich

R. Stephan, S. Ragettli, F. Untermann

Zusammenfassung

Zwischen Januar und Juni 1999 wurden von 544 Schlachtrindern und 140 Schlachtschafen Kottupfer nach einem Direktausstrich auf Mac-Conkey-Agar bzw. nach Anreicherung in Brillantgrün-Galle-Laktose-Bouillon mittels PCR auf das Vorkommen von VTEC untersucht. Bei Rindern erwiesen sich 6.1% (nach Anreicherung 14%) und bei Schafen 10% (nach Anreicherung 29.2%) der Proben positiv. Auffällig war bei Rindern eine altersabhängig veränderte Prävalenz.

Bis anhin wurden von 5 Rinder- und 6 Schafproben zudem VTEC-Stämme isoliert und weitergehend charakterisiert. Erwartungsgemäss befanden sich darunter auch Stämme mit zusätzlichen Virulenzfaktoren (Intimin, EHEC-Hämolysin), die grundsätzlich als humanpathogen einzustufen sind. Der Einhaltung und der Überwachung der Schlachthygiene kommt eine zentrale Bedeutung zu.

Schlüsselwörter: VTEC – Häufigkeit – Rind – Schaf – Schlachttiere

Prevalence of verotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC) in feces of healthy beef cattle and sheep in Switzerland

Fecal samples from 544 beef cattle and 140 sheep were investigated by PCR for verotoxin (VT)-producing *Escherichia coli* (VTEC) without and with an enrichment step. 6.1% (after enrichment 14%) of cattle samples and 10% (after enrichment 29.2%) of sheep samples were VT-PCR-positive. Moreover, a noticeable age-dependent prevalence in cattle was found.

Eleven VTEC strains isolated from fecal samples of 5 cattle and 6 sheep were taken for further characterization. None of the strains belonged to serogroup O157. But, as reported previously, we also found in this study strains with virulence genes that are associated with increased pathogenicity.

The importance of slaughter hygiene and of bacteriological monitoring of carcass contamination has to be pointed out.

Key words: VTEC – prevalence – cattle – sheep – animals for slaughter

Einleitung

Seit der ersten Beschreibung einer lebensmittelbedingten Infektion mit verotoxinbildenden *E. coli* (VTEC) des Serovars O157:H7 (Riley et al., 1983) haben auch der Serovar O157:H- und andere Serogruppen wie z.B. O111, O26, O103, O22 und O118 bei VTEC-bedingten Erkrankungen des Menschen an Bedeutung gewonnen (Bockemühl und Karch, 1996). Und laufend wird die Liste der bisher über 200 beschriebenen Serotypen länger. In den letzten Jahren traten zudem weltweit auch häufiger Lebensmittelinfektionsfälle grösseren Ausmasses auf (z.B. USA 1991, Japan 1996, Schottland 1996). Neben der Fähigkeit, Verotoxine zu bilden, besitzen diese VTEC meistens zusätzliche Virulenzfaktoren, die entweder chromosomal oder auf Virulenzplasmiden codiert sind.

Als Hauptreservoir für VTEC gelten fast weltweit grosse und kleine Wiederkäuer (Karmali, 1989; Wilson et al., 1992; Rios et al. 1998). Für die

Schweiz wurde von Burnens et al. (1995) bei der Untersuchung von 4 Betrieben eine Herdenprävalenz von 14.8–58.8% beschrieben. Im Mittel waren 21% der 147 untersuchten Tiere aus diesen Betrieben positiv. In einer anderen Arbeit zur schweizerischen Situation, in der 208 Rinder aus wesentlich mehr unterschiedlichen Betrieben untersucht wurden, wurde dagegen nur eine Prävalenz von 5.3% gefunden (Steinmann und Kennel, 1995). Diese Autoren untersuchten zudem noch 54 Schafe, bei denen sie eine Prävalenz von 27.8% fanden. Busato et al. (1998) fanden bei 395 Kälbern aus 67 schweizerischen Betrieben eine Prävalenz von 38.2%.

Ziel dieser Untersuchungen war es, über einen Zeitraum von einem halben Jahr Daten zur Häufigkeit und Altersabhängigkeit asymptomatischer Ausscheider bei Schlachtrindern und Schlachtschafen zu erheben, die z.B. als Grundlage für Schlachthygienemonitoring-Programme, die nach

Artikel 30 der schweizerischen Fleischhygieneverordnung (FHygV) vom 1. März 1995, aber auch immer häufiger von Seiten der Abnehmerbetriebe als Selbstkontrollmassnahmen gefordert werden, dienen könnten.

Tiere, Material und Methoden

Insgesamt wurden im Zeitraum von Januar 1999 bis Juni 1999 von 544 Schlachtrindern (38 Kälber, 39 Fresser, 84 Rinder, 129 Kühe und 254 Mastmunis) und 140 Schlachtschafen an einem grossen schweizerischen Schlachthof Kottupferproben entnommen. Die Probenentnahme erfolgte direkt am Schlachtband, wobei darauf geachtet wurde, Tiere aus möglichst unterschiedlichen Betrieben und bei Rindern auch unterschiedlichen Altersgruppen (Kälber, Fresser, Rinder/Mastmunis, Kühe) auszuwählen. Die Proben wurden unverzüglich ins Labor gebracht und am selben Tag weiterverarbeitet.

Die Tupferproben wurden zunächst als Direktausstrich auf MacConkey-Agar (Difco 1818-17-1) ausgestrichen. Anschliessend wurde der Tupfer in Brillantgrün-Galle-Laktose-Bouillon (BBL 4311080) verbracht und beide Nährmedien 18 Stunden bei 37 °C bebrütet, wobei die Anreicherung zusätzlich bei 100 rpm geschüttelt wurde. Die Anreicherung wurde danach auf Schafblutagar ausgestrichen und noch einmal 24 Stunden bei 37 °C bebrütet. Für den VTEC-Nachweis wurden die Abschwemmungen (mit 2 ml 0.85% NaCl-Lösung) von MacConkey-Agar und Blutagar mittels Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR) und dem von Burnens et al. (1995) beschriebenen Primerpaar auf das Vorkommen verotoxinbildender *E. coli* gescreent.

Um VTEC-Stämme zu isolieren, wurden jeweils 20 PCR-positive Abschwemmungen von Rindern und Schafen noch einmal ausplattiert und jeweils bis zu 18 Einzelkolonien mit demselben PCR-Protokoll überprüft. Die biochemische Identifizierung der Isolate erfolgte über die Säurebildung aus Mannit, den ONPG-Test, den Ureasenachweis, die H₂S-

und Indolbildung und den Nachweis der Lysin-decarboxylase. Ein Stamm pro Probe wurde dann für die weitergehende Differenzierung verwendet. Mit der PCR wurden die Stämme mit entsprechenden Primern (Tab. 1) auf die Art des Verotoxins sowie das Vorkommen des *eae* und des EHEC-*Ehly* untersucht. Über den Fluorocult-Agar (Merck 4036) wurde die Sorbitfermentation und die β -D-Glucuronidase-Aktivität bestimmt. Die Überprüfung der Zugehörigkeit der Stämme zur Serogruppe O157 erfolgte mittels Latexagglutination (Wellcolex *E. coli* O157, Murex).

Ergebnisse und Diskussion

Bei den insgesamt 544 untersuchten Rinderkottupferproben konnten bei den Abschwemmungen der Direktausstriche 6.1% PCR-positive, bei den Abschwemmungen der Anreicherungen jedoch 14% PCR-positive Proben gefunden werden. Ein ähnliches Bild zeigte sich bei den Schafproben. 10% der Proben waren nach Abschwemmung der Direktausstriche PCR-positiv aber 29.2% der Proben nach einer Anreicherung in Brillantgrün-Galle-Laktose-Bouillon. Die zusammengefassten Ergebnisse sind in Abbildung 1 graphisch dargestellt. Diese massiven Unterschiede zeigen, dass Literaturangaben zur Häufigkeit von VTEC bei Tieren

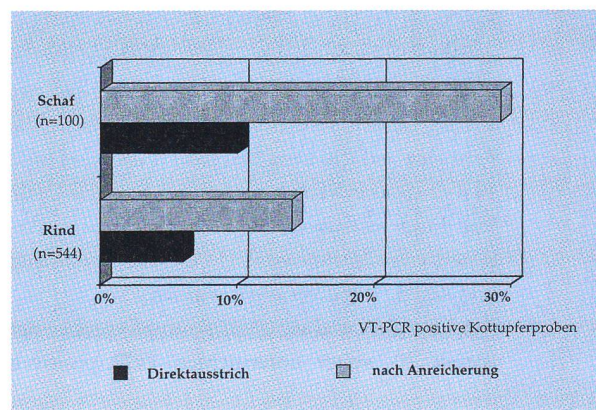


Abbildung 1: Nachweishäufigkeit VT-PCR positiver Tiere in Abhängigkeit der Untersuchungsmethode (Direktausstrich-Anreicherungsverfahren).

Tabelle 1: Genotypische Charakterisierung der VTEC-Stämme mittels PCR

Primer	Virulenzfaktor	Primersequenz	Länge der PCR-Produkte	Literatur
KS7 KS8	VT1	5'-CCC GGA TCC ATG AAA AAA ACA TTATTA ATA GC-3' 5'-CCC GAA TTC AGC TAT TCT GAG TCA ACG-3'	282 bp	Schmidt et al. (1994)
GK5 GK6	VT2	5'-ATG AAG AAG ATG TTT ATG GCG-3' 5'-TCA GTC ATT ATT AAA CTG CAC-3'	270 bp	Schmidt et al. (1994)
SK1 SK2	Intimin	5'-CCC GAA TTC GGC ACA AGC ATA AGC-3' 5'-CCC GGA TCC GTC TCG CCA GTA TTC G-3'	863 bp	Schmidt et al. (1994)
hlyA 1 hlyA 4	Enterohemolysin	5'-GGT GCA GCA GAA AAA GTT GTA-3' 5'-TCT CGC CTG ATA GTG TTT GGT A-3'	1551 bp	Schmidt et al. (1995)

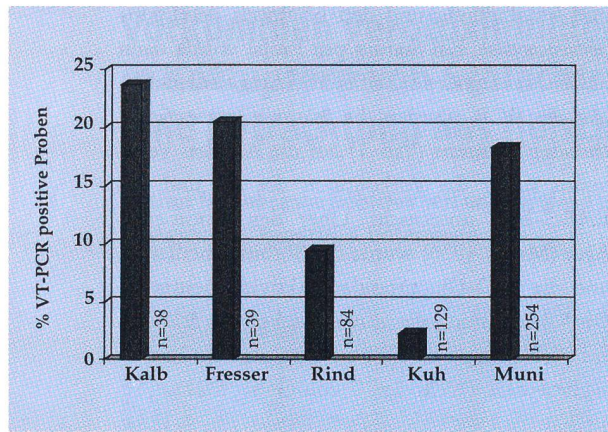


Abbildung 2: Einfluss des Alters auf die Prävalenz von VT-PCR-positiven Kottupferproben beim Rind (n = Anzahl untersuchter Tiere, Ergebnisse nach Anreicherung in Brillantgrün-Galle-Laktose-Bouillon).

nicht ohne Berücksichtigung der verwendeten Methode (mit oder ohne Anreicherung) verglichen werden können. Vergleicht man unter diesen Voraussetzungen die Daten zum Vorkommen von VTEC bei Rindern und Schafen in unseren Nachbarländern, so entsprechen sie den Ergebnissen dieser Untersuchungen (Montenegro et al. 1990; Caprioli et al. 1993; Zschöck et al. 1997).

Betrachtet man die PCR-positiven Proben bei Rindern in Bezug auf das Alter der Tiere, ergibt sich eine geänderte Verteilungshäufigkeit (Abb. 2). Aufgrund einer Altersprädisposition bezüglich des Ausscheidens ist somit eine Durchschnittsangabe zum Vorkommen von VTEC über die ganze Rinderpopulation nicht aussagekräftig. So konnten bei 129 untersuchten Kühen nur 2.3% PCR-positiv Tiere gefunden werden, bei jüngeren Tieren lag die Prävalenz jedoch zwischen 23.7% (Kälber) und 18.4–20.5% bei Mastmunis bzw. bei Fressern. Diese Ergebnisse bestätigen Tendenzen, die bereits in Arbeiten von Caprioli et al. (1993) und Steinmann und Kenel (1995) vermutet wurden.

Aus 5 Rinder- und aus 6 Schafkottupferproben der jeweils 20 weiter untersuchten PCR-positiven

Screeningproben wurden bis anhin VTEC-Stämme isoliert. Die Charakterisierungsergebnisse dieser Stämme sind in Tabelle 2 zusammengestellt. Alle Stämme gehörten zur Gruppe der non-O157 und waren sowohl Sorbitol- wie auch β -D-Glucuronidase-positiv. Dass in Europa der Serotyp O157 nur in sehr geringem Prozentsatz nachgewiesen werden kann, entspricht im übrigen auch Angaben von Beutin et al. (1993) und Caprioli und Tozzi (1998).

Zwei der 5 Rinderstämme bildeten VT1, 4 Stämme VT2 und 1 Stamm VT1 und VT2; bei den aus Schafen isolierten Stämmen bildeten 50% VT1. Der Nachweis der Virulenzmerkmale *eae* und EHEC-Hly mittels PCR gelang nur bei einem Stamm. Keiner der Stämme besass das *eae*-Gen allein, dagegen war bei 45% der Stämme nur das EHEC-Hly vorhanden. Bei 6 Stämmen liess sich keiner der zusätzlich überprüften Virulenzfaktoren nachweisen. Ähnliche Ergebnisse wurden auch von Beutin et al. (1993, 1995) beschrieben.

Aus fleischhygienischer Sicht lässt sich Folgendes zusammenfassen: VTEC kommen in der Schweiz mit relativ hoher Prävalenz bei Schlachtrindern und Schlachtschafen vor. Auch findet man Stämme mit breiterem Virulenzspektrum, die grundsätzlich als humanpathogen einzustufen sind. Im Rahmen eines Lebensmittelsicherheitskonzeptes bei der Gewinnung von Fleisch kommt somit der strikten Einhaltung der Schlachthygiene als Massnahme zur Verhinderung einer fäkalen Kontamination der Schlachttierkörperoberfläche eine zentrale Bedeutung zu. Eine auf die VTEC-Problematik ausgerichtete Überwachung der Schlachthygiene mittels eines bakteriologischen Schlachttierkörpermonitorings, wie dies z.B. als Selbstkontrolle nach Art. 30 FHgV durchgeführt werden könnte, muss aber im Rahmen eines «risk assessments» die altersabhängige Ausscheidungshäufigkeit mit berücksichtigen. Daher sollten vor allem Tierkörper von Kälbern, Mastmunis und Rindern häufiger und in grösserer Zahl in die Überwachung mit einbezogen werden

Tabelle 2: Genotypische und phänotypische Charakterisierung von 11 VTEC-Stämmen isoliert aus 5 Rinder- und 6 Schafkottupferproben

				Weitere Virulenzfaktoren		
Herkunft		Serotyp	VT-Typ	eae	EHEC-Ehly	S ⁺ G ⁺
Schlachtrinder	Kuh	non-O157	VT1	+	+	+/+
	Rind	non-O157	VT2	-	-	+/+
	Rind	non-O157	VT2	-	+	+/+
	Kalb	non-O157	VT2	-	-	+/+
	Mastmuni	non-O157	VT1/VT2	-	-	+/+
Schlachtschafe		non-O157	VT1	-	+	+/+
		non-O157	VT1	-	+	+/+
		non-O157	VT1	-	+	+/+
		non-O157	VT2	-	-	+/+
		non-O157	VT2	-	-	+/+
		non-O157	VT2	-	-	+/+
S: Sorbitfermentation; G: β-D-Glucuronidaseaktivität; +: positiv; -: negativ						

S: Sorbitfermentation; G: β -D-Glucuronidaseaktivität; +: positiv; -: negativ

als Schlachttierkörper von Kühen. Als Untersuchungsstellen am Schlachttierkörper bieten sich hierfür vor allem Stellen an, bei denen häufiger auch Enterobacteriaceae gefunden werden. In Anlehnung an eigene Untersuchungsergebnisse (Untermann et al., 1997) bzw. an die Forderung der USA (Guidelines for *Escherichia coli* Testing for Process Control Verifikation in Cattle and Swine Slaughter Establishments) sind folgende Lokalisationen zu empfehlen: auf der lateralen Seite Hals, Vorderarm, Schulter, Brust und Bauch und auf der medialen Seite Stotzen.

Im Rahmen weiterer Untersuchungen sollen nun Daten zum Vorkommen von VTEC auf Schlachttierkörperoberflächen an unterschiedlichen schweizerischen Schlachthöfen erhoben werden.

Dank

Wir danken Frau Dr. S. Anke und Herrn T. Alter für die Mithilfe bei der Probenentnahme und Herrn Dr. F. Götz und Herrn Dr. Y. Hlobil für die Kooperation von Seiten des Schlachthofes Zürich.

Présence d'*Escherichia coli* producteurs de vérotoxines (VTEC) dans des écouvillons de fèces de bovins et de moutons d'abattage, vue dans l'optique de l'hygiène des viandes

De janvier à juin 1999, on a recherché les VTEC dans des écouvillons de fèces provenant de 544 bovins et de 140 moutons d'abattage, après cultures directes sur MacConkey Agar et enrichissement sur bouillon «vert brillant-bile-lactose» avec la PCR. 6.1% (et respect. 14%) des échantillons de bovins ainsi que 10% (et respect. 29.2%) des fèces de moutons se révélèrent positifs au test d'approche (screening) par PCR. Chez les bovins, on a remarqué que la prévalence dépendait fortement de l'âge des animaux.

Jusqu'à maintenant, 11 souches de VTEC provenant de 5 bovins et 6 moutons ont été isolées et largement différenciées. Comme prévu, on a trouvé parmi ces isolats des souches contenant tous les facteurs de virulence qu'on retrouve chez les souches des patients, ce qui les classe fondamentalement comme pathogènes pour l'homme. De ce fait, il est d'une importance capitale de respecter et de contrôler les règles de l'hygiène d'abattage.

Presenza di *Escherichia coli* produttore verotossina (VTEC) in tamponi di feci di manzi e pecore da macello – una considerazione dal punto di vista dell'igiene delle carni

Nel periodo tra gennaio e giugno 1999 sono stati esaminati tamponi di feci di 544 manzi da macello e di 140 pecore da macello sulla presenza di VTEC secondo uno striscio diretto su agar MacConkey rispettivamente dopo arricchimento in brodo di verde Brilliant-bile-lattosio con la PCR. Il 6.1% (dopo arricchimento 14%) dei campioni di manzi ed il 10% (dopo arricchimento 29.2%) dei campioni di pecore sono risultati positivi nello screening PCR. Vistosa è stata nei manzi una variazione della prevalenza dipendente dall'età.

Di 11 animali sono stati finora isolati e differenziati ceppi di VTEC. Secondo le aspettative sono stati trovati pure ceppi con uno spettro di virulenza completo, i quali sostanzialmente sono da considerare patogeni per l'uomo. Il rispetto ed il controllo dell'igiene durante la macellazione sono quindi di importanza fondamentale.

Literatur

Beutin L., Geier D., Steinrück H., Zimmermann S., Scheut F. (1993): Prevalence and some properties of verotoxin (Shiga-like toxin)-producing *Escherichia coli* in seven different species of healthy domestic animals. J. Clin. Microbiol. 31, 2483–2488.

Beutin L., Geier D., Zimmermann S., Karch H. (1995): Virulence markers of Shiga-like toxin-producing *Escherichia coli* strains originating from healthy domestic animals of different species. J. Clin. Microbiol. 33, 631–635.

Bockemühl J., Karch H. (1996): Zur aktuellen Bedeutung der enterohämorrhagischen *Escherichia coli* (EHEC) in Deutschland (1994–1995). Bundesgesundhbl. 8, 290–296.

Burnens A.P., Frey A., Lior H., Nicolet J. (1995): 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 42, 311–318.

Busato A., Hofer D., Lentze T., Gaillard C., Burnens A. (1998): Prevalence and infection risks of zoonotic enteropathogenic bacteria in Swiss cow-calf farms. Vet. Microbiol. 69, 251–263.

Caprioli A., Nigrelli A., Gatti R., Zavanella M., Blando A.M., Minelli F., Donelli G. (1993): Characterization of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* isolated from pigs and cattle in Northern Italy. Vet. Rec. 25, 323–324.

Caprioli A., Tözzi A. E. (1998): Epidemiology of shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections in continental Europe. In: *Escherichia coli* O157:H7 and other Shiga toxin-producing

E. coli strains, ed. Kaper J.B. and O'Brien A.D., ASM Press, Washington, D.C.

Karmali M.A. (1989): Infection by verocytotoxin-producing *Escherichia coli*. Clin. Microbiol. Rev. 2, 15–38.

Montenegro M.A., Bulte M., Trumpf T., Aleksic S., Reuter G., Bulling E., Helmuth R. (1990): Detection and characterization of fecal verotoxin-producing *E. coli* from healthy cattle. J. Clin. Microbiol. 28, 1417–1421.

Riley L. Q., Remis R.S., Helgeson S.D., McGee H.B., Wells J.G., Davis B.R., Hebert R.J., Olcott E.S., Johnson L.M., Hargrett N.T., Blake P.A., Cohen M.L. (1983): Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. N. Engl. J. Med. 308, 681–685.

Rios M., Prado V., Trucksis M., Arellano C., Borie C., Alexandre M., Fica A., Levine M.M. (1998): Clonal diversity of chilean isolates of enterohemorrhagic *Escherichia coli* from patients with hemolytic-uremic syndrome, asymptomatic subjects, animal reservoirs, and food products. J. Clin. Microbiol. 37, 778–781.

Schmidt H., Rüssmann H., Schwarzkopf A., Aleksic S., Heesemann J. and Karch H. (1994): Prevalence of attaching and ef-

facing *Escherichia coli* in stool samples from patients and controls. Zbl. Bakt. 281, 201–213.

Schmidt H., Beutin L., Karch H. (1995): Molecular analysis of the plasmid encoded hemolysin of *Escherichia coli* 0157:H7 strain EDL 933. Infect. Immun. 63, 1055–1061.

Steinmann E., Kenel D. (1995): Prävalenz von enteropathogenen und Shiga-like Toxin produzierenden *Escherichia coli* bei Rind, Schaf, Ziege, Pferd, Schwein, Huhn, Hund und Katze. Vet. Med. Diss., Zürich.

Untermann F., Stephan R., Dura U., Hofer M., Heimann P. (1997): Reliability and practicability of bacteriological monitoring of beef carcass contamination and their rating within a hygiene quality control programme of abattoirs. Int. J. Food Microbiol. 34, 67–77.

Wilson J.B., McEwen S.A., Clarke R.C., Leslie K.E., Wilson R.A., Waltner T.D., Gyles C.L. (1992): Distribution and characteristics of verocytotoxigenic *Escherichia coli* isolated from Ontario dairy cattle. Epidemiol. Infect. 108, 423–439.

Zschöck M., Hamann H.P., Kloppert B., Wolter W. (1997): Virulenzfaktoren bei verotoxinbildenden *Escherichia coli* – Isolate aus Kotproben laktierender Rinder. Proc. 38. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene, Garmisch-Partenkirchen, 152–161.

Korrespondenzadresse

Dr. R. Stephan
Institut für Lebensmittelsicherheit und -hygiene
Winterthurerstr. 270–72
CH-8057 Zürich

Manuskripteingang: 12. Juli 1999

In vorliegender Form angenommen: 18. November 1999

**DIANA
VETERA**
ZÜRICH FRÄNKFURT LINDAU

INKL. IHREN DATEN*

*ÜBERNAHME IHRER BESTEHENDEN DATEN WENN IMMER MÖGLICH!

SEMIR AG | Vetereinarinformatik | Gutstrasse 3 | CH-8055 Zürich | Telefon 01 450 5454 | Telefax 01 450 5445 | www.diana.ch | office@diana.ch