

7. Zusammenfassung

Erfahrungen zum Einsatz verschiedener *E. coli*-Inaktivativakzine bei Legehennen im alternativen Haltungssystem unter Feldbedingungen

Durch *E. coli* hervorgerufene Erkrankungen zählen zu den häufigen Ursachen für erhöhte Mortalitätsraten in der alternativen Legehennenhaltung. Aufgrund der ausgesprochen begrenzten therapeutischen Möglichkeiten bei Legehennen sind prophylaktische Maßnahmen beispielsweise in Form von Impfungen von großer Bedeutung.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden verschiedene bestandsspezifische *E. coli*-Inaktivativ-Impfstoffe sowie ein für Mastelterniere zugelassener *E. coli*-Impfstoff bei 7.196 Legehennen im alternativen Haltungssystem geprüft. Die Legehennen waren in 4 Versuchsgruppen und eine ungeimpfte Kontrollgruppe unterteilt und sowohl während der Aufzucht als auch der Legeperiode gleichen Bedingungen jeweils im gleichen Stall ausgesetzt. Die für die bestandsspezifischen Vakzine verwendeten Stämme wurden aus an Kolibakteriose verendeten Legehennen isoliert, serotypisiert und mittels PCR auf das Vorhandensein 7 APEC spezifischer, virulenzassoziierter Gene (*astA*, *irp-2*, *fyua*, *iucD*, *tsh*, *fim C*, *pap C*) untersucht. Letztendlich wählte man nach dem Pathogenitätstest im embryonierten Hühnerei 3 von 25 isolierten *E. coli*-Stämmen für die Impfstoffherstellung aus, wovon 2 Isolate der O-Gruppe O1 und ein Isolat der O-Gruppe O18 zuzuordnen waren. Sie verfügten über 5, 6 bzw. 7 der virulenzassozierten Gene. Daraus wurden 2 Impfstoffe hergestellt, die alle 3 Stämme enthielten, sich aber in ihrem Keimgehalt (10^8 bzw. 10^9 KbE pro ml) unterschieden. Diese wurden den Tieren ein- bzw. zweimal während der Aufzucht s.c. appliziert. Die Erfolgskontrolle der zu prüfenden Impfstoffe erfolgte anhand der klinischen Untersuchung der Tiere, der Mortalitätsrate, durch pathologisch-anatomische und bakteriologische sowie serologische Untersuchungen, die mittels selbst hergestelltem indirektem ELISA-Testsystem durchgeführt wurden. Klinisch konnten zu keiner Zeit Abweichungen von dem für das Alter zu erwartenden Gesundheits- und Allgemeinzustand der Tiere beobachtet werden. Die Mortalität während der Legeperiode lag im Mittel bei 7,38 %, wobei die Werte zwischen 6,54 % (ungeimpften Kontrollgruppe) und 8,35 % (einmalige Impfung mit $0,5 \text{ ml} \times 10^9 \text{ KbE/ml}$ in der 12. LW) schwankten. Während des gesamten Untersuchungszeitraumes konnten keine Unterschiede zwischen den geimpften Gruppen und der ungeimpften Kontrollgruppe hinsichtlich der klinischen Erscheinungen sowie die Mortalität festgestellt werden. Bakteriologisch ließen sich 36 *E. coli*-Stämme isolieren, wovon 21 serotypisiert und auf virulenzassozierte Gene untersucht wurden. Während über die Serotypisierung lediglich 4 (19,0 %) *E. coli*-Isolate dem Serotyp O2 zugeordnet werden konnten, war mit Hilfe des molekularbiologischen Nachweisverfahrens in allen untersuchten *E. coli*-Stämmen

mindestens ein APEC-spezifisches, virulenzassoziiertes Gen [(*iss* (95,2 %), *iucD* (52,4 %), *irp2* (33,3 %), *astA* (33,3 %), *tsh* (23,8 %), *papC* (4,8 %)] zu detektieren. Insbesondere die hohe Prävalenz des nicht über den Impfstoff abgedeckten Anti-Wirtsabwehrsystems *Iss* (increased serum survival; *iss*: 95,2%) deutet auf dessen wichtige Rolle in der Pathogenese der Kolibakteriose hin.

Die serologische Verlaufsuntersuchung ergab einen Anstieg der Serumtiter bis zur 19. LW, wobei der Vergleich der Mittelwerte aus den Messwerten der 12. und 16. LW der Impfgruppen untereinander (Mehrfachvergleiche-Scheffé-Prozedur), einen signifikanten Unterschied ($P \leq 0,05$) im Anstieg der Titer zwischen der doppelt geimpften Versuchsgruppe ($2 \times 0,5 \text{ ml} \times 10^9 \text{ KbE/ml}$) und der ungeimpften Kontrollgruppe ergab. Mit der 20. LW beginnend fiel der Antikörperspiegel stetig ab und wies in der 50. LW seinen niedrigsten gemessenen Wert in der Legeperiode auf. Für die diagnostische serologische Untersuchung von Hühnerseren wurde die Spezifität des verwendeten indirekten ELISA zum Nachweis von Antikörpern gegen *E. coli* nachgewiesen und die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse durch die Intra- und Interassay-Differenzen belegt.

Zum Ende der Legeperiode erfolgte ein Belastungstest bei je 50 Tieren pro Gruppe. Dazu verabreichte man je 25 Tieren pro Gruppe intratracheal 0,5 ml einer keimhaltigen Tryptose-Phosphat-Bouillon (10^7 KbE bzw. 10^8 KbE). Die belasteten Tiere wurden beobachtet und der zeitliche Verlauf ihrer Mortalität dokumentiert. Die Ergebnisse des Belastungstests zeigten, daß die Gruppen mit der höheren Challenge-Dosis unabhängig von der Versuchsgruppe auch die höheren Verlustraten aufwiesen. Bei der höheren Infektionsdosis lagen sie zwischen 68-80 %, bei der niedrigen Infektionsdosis zwischen 48 und 68 %. Von einem Einfluss der *E. coli*-Impfung auf den Verlauf der Mortalität bzw. einem Impfschutz bis zum Nutzungsende der Legehennen, kann also nicht ausgegangen werden.

Im Ergebnis dieser Arbeit war kein messbarer Einfluss der *E. coli*-Impfung auf die Entwicklung produktionsrelevanter Parameter, wie beispielsweise die Mortalität der Legehennen in und zwischen den Versuchsgruppen zu verzeichnen. Nimmt man jedoch, wie unter Praxisbedingungen üblich, die Bestandsgesundheit als Grundlage der Erfolgskontrolle, zeichnet sich durch die Entwicklung der Gesamtmortalität (7,38 %) im Vergleich zu den Vorherden (25-30 %) ein deutlich positiver Trend ab. Allerdings kann der Einsatz von bestandsspezifischen *E. coli*-Impfstoffen nur dann ein Erfolg versprechendes Mittel zur Kontrolle von APEC-Infektionen sein, wenn im Vorfeld ausreichende Untersuchungen zur Erregeridentifizierung, insbesondere den vorhandenen Virulenzfaktoren, erfolgt sind. Unerlässlich für eine effiziente Prophylaxe ist jedoch nicht nur die ordnungsgemäße Applikation einer wirksamen *E. coli*-Vakzine, sondern in jedem Fall die Optimierung aller Managementparameter (Haltung, Fütterung und Biosecurity).