

## 6 Zusammenfassung

Die Kolibazillose, verursacht durch aviäre pathogene *E. coli* (APEC), ist eine akute Erkrankung des Geflügels, die mit einer hohen Morbidität und Mortalität einhergeht und weltweit erhebliche wirtschaftliche Verluste in der Geflügelindustrie verursacht. Ein großes Problem stellt die eindeutige Identifizierung und damit verbunden die Differenzierung der APEC-Wildtypstämme von den apathogenen *E. coli* dar, die als Kommensale im Darmtrakt der Tiere leben. Dies ist einer der Gründe dafür, dass nur wenige epidemiologische Daten über APEC-Infektionen vorliegen. Weiterhin ist trotz zahlreicher in vitro- und in vivo-Untersuchungen die Rolle einzelner Virulenzfaktoren aviärer pathogener *E. coli* im Krankheitsbild der Kolibazillose unzureichend geklärt. Aus diesen Gründen wurden 150 *E. coli*-Wildtypstämme, die während eines Zeitraums von 11 Jahren im gesamten Bundesgebiet aus den inneren Organen von an Kolibazillose verendeten Geflügel isoliert wurden, sero- und genotypisiert sowie mittels Makrorestriktionsanalyse auf klonale Verwandtschaften untersucht.

Lediglich die Hälfte der untersuchten Isolate ließen sich den in enger Assoziation mit der Erkrankung beschriebenen O-Gruppen O1 (6,0 %) und O2 (28,7 %) sowie dem Serovar O78:K80 (14,7 %) zuordnen. Um nähere Aufschlüsse über die Verteilung und das Vorkommen virulenzassoziierter Gene zu erhalten, wurden die 150 *E. coli*-Isolate weiterhin mittels DNS-DNS-Hybridisierung und Polymerase-Kettenreaktion (PCR) auf das Vorkommen der folgenden Gene untersucht: *fimC*, *papC*, *fyuA*, *irp2*, *iucD*, *iss*, *tsh*, *astA*, *hlyE* und *stx2f*. Die für Typ1- und P-Fimbrien kodierenden Gene *fimC* und *papC* waren zu 92,7 % bzw. 23,3 % vorhanden, die Gene, deren Genprodukte zur Eisenaquirierung essentiell sind (*fyuA* und *irp2*) konnten zu jeweils 71,3 %, das *iucD* zu 77,3 % nachgewiesen werden. Insgesamt wiesen 71,3 % der Isolate eine Kombination von *fyuA* und *irp2* auf, während 66,0 % über alle drei Gene zur Eisenaquirierung verfügten. Neben dieser für die Vermehrung der APEC im Wirtsorganismus essentiellen Aufnahme von Spurenelementen deutet auch die hohe Prävalenz des Anti-Wirtsabwehrsystems *Iss* (increased serum survival; *iss*: 80,7 %) bei den untersuchten APEC auf eine wichtige Rolle in der Pathogenese der Kolibazillose hin. Weiterhin besaßen 72,0 % der Stämme das für ein Temperatur-sensitives Hämagglutinin kodierende *tsh*, welches wie das *Iss* als spezifischer APEC-Marker angesehen werden kann. Von geringerer bzw. ohne Bedeutung scheinen die Toxine EAST-1 (*astA*: 20,7 %), Hämolysin E (*hlyE*: 2,7 %) sowie das für *E. coli*-Stämme von Tauben spezifische Shiga-toxin (*stx2f*: 0 %) zu sein.

Auf der Basis dieser Untersuchungsergebnisse konnte eine Multiplex-PCR etabliert werden, die als diagnostisches Werkzeug eine sichere, schnelle und kostengünstige Identifizierung und Charakterisierung von *E. coli*-Wildtypstämmen erlaubt. Weiterhin belegte die Makrorestriktionsanalyse der APEC-Stämme eine enge Verwandtschaft und das Vorliegen nur weniger Klone.

Die Untersuchungsergebnisse geben Einblicke bzgl. des Vorkommens und der Verteilung virulenzassoziierten Gene in aviären pathogenen *E. coli*. Aufgrund dieses Wissens konnte mit der Multiplex-PCR erstmals ein spezifisches Diagnostikum etabliert werden, das zudem gleichzeitig Aussagen bzgl. der Virulenz eines APEC-Stammes erlaubt. Insbesondere wurde die äußerst geringe Sensitivität der Serotypisierung als APEC-Diagnostikum eindrücklich belegt. Durch die etablierte Multiplex-PCR können weiterhin pathogene *E. coli*-Isolate in einem Bestand identifiziert werden, welche z. B. als Grundlage für einen Impfstoff dienen können. Außerdem ist es möglich, nähere Aufschlüsse über evtl. Zooanthroponose-Erreger zu erhalten, denn humane und aviäre pathogene *E. coli*-Isolate können mittels der hier etablierten Makrorestriktionsanalyse miteinander verglichen werden. Auch ist nun durch Anwendung der etablierten Werkzeuge eine Infektkettenforschung möglich, die zur Aufklärung von Infektionswegen innerhalb und zwischen Geflügelbeständen beiträgt. So können z. B. entsprechende vorbeugende Maßnahmen gegen eine Ausbreitung der APEC-Isolate frühzeitig eingeleitet werden. Die in dieser Arbeit ermittelten Ergebnisse bilden schließlich die Grundlage für weitergehende epidemiologische Untersuchungen und nun anstehende in vivo- (Huhn) und in vitro- (Zellkultur) Infektionsversuche, mit deren Hilfe neue und entscheidende Einblicke in die Pathogenese der Kolibazillose des Geflügels gewonnen werden können.