

Untersuchungen zur Pathovar-Prävalenz beim Escherichia coli- bedingten Durchfall neugeborener Saugferkel in ökologisch wirtschaftenden Ferkelerzeugerbetrieben

Studies on pathovar prevalence of Escherichia coli isolates in diarrhoea of newborn suckling piglets in organic pig production

FKZ: 08OE180

Projektnehmer:

Universität Kassel (FB 11)
Fachgebiet Tierernährung und Tiergesundheit
Nordbahnhofstraße 1a, 37213 Witzenhausen
Tel.: +49 5542 98 1707
Fax: +49 5542 98 1581
E-Mail: cwerner@uni-kassel.de
Internet: <http://www.uni-kassel.de>

Autoren:

Seeger, Helga; Zschöck, Michael; Werner, Christina

Gefördert vom Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz
im Rahmen des Bundesprogramms Ökologischer Landbau und andere Formen nachhaltiger
Landwirtschaft (BÖLN)

Abschlussbericht

**Thema:
„Untersuchungen zur Pathovar-Prävalenz beim
Escherichia coli- bedingten Durchfall
neugeborener Saugferkel in ökologisch-
wirtschaftenden Ferkelerzeugerbetrieben“**

Förderkennzeichen: 2808OE180

Ausführende Stelle: Universität Kassel
Fachbereich Ökologische Agrarwissenschaften
Fachgebiet Tierernährung und Tiergesundheit
Dr. Christina Werner
Nordbahnhofstr. 1a
37213 Witzenhausen

in Kooperation mit

Landesbetrieb Hessisches Landeslabor
Abteilung Veterinärmedizin
Dr. Michael Zschöck
Schubertstr. 60
35392 Gießen

Projektdurchführung:
Tierärztin Helga Seeger (geb. Plümpe)

Laufzeit des Vorhabens: 01.11.2009 bis 31.12.2011

Gliederung des Abschlussberichts

1 Ziele und Aufgabenstellung des Projekts

- 1.1 Planung und Ablauf des Projekts
- 1.2 Wissenschaftlicher und technischer Stand zu Projektbeginn

2 Material und Methoden

- 2.1 Auswahl der teilnehmenden Ferkelerzeuger
- 2.2 Datenerfassung auf den Ferkelerzeugerbetrieben
- 2.3 Probenentnahme auf den Ferkelerzeugerbetrieben
- 2.4 Bakteriologische Untersuchung
 - 2.4.1 Kulturelle Isolierung von *Escherichia coli* und *Clostridium perfringens*
 - 2.4.2 Molekularbiologische Differenzierung von *Escherichia coli*
 - 2.4.3 Molekularbiologische Differenzierung von *Clostridium perfringens*
- 2.5 Virologische Untersuchung
- 2.6 Parasitologische Untersuchung
- 2.7 Genotypisierung von *Clostridium perfringens* Isolaten
 - 2.7.1 Randomly amplified polymorphic DNA (RAPD)
 - 2.7.2 Multilocus sequence typing (MLST)
- 2.8 Auswertung

3 Ergebnisse

- 3.1 Wichtigste Ergebnisse des Projekts
 - 3.1.1 Datenerfassung auf den Ferkelerzeugerbetrieben
 - 3.1.2 Nachweis relevanter Erreger von Saugferkeldurchfällen
 - 3.1.2.1 Erregernachweis aus Proben von erkrankten Saugferkeln
 - 3.1.2.2 Erregernachweis aus Proben von gesunden Saugferkeln
 - 3.1.2.3 Erregernachweis aus Proben von Sauen
 - 3.1.3 Genotypisierung von *Clostridium perfringens* Isolaten
 - 3.1.4 Ausarbeitung von betriebsindividuellen Hygieneplänen
 - 3.2 Verwertbarkeit der Ergebnisse
 - 3.3 Schlussfolgerungen für die landwirtschaftliche Praxis

4 Zusammenfassung

5 Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen

- 5.1 Studienvorbereitung
- 5.2 Datenerfassung auf den Ferkelerzeugerbetrieben
- 5.3 Probenentnahme auf den Ferkelerzeugerbetrieben
- 5.4 Nachweis relevanter Erreger von Saugferkeldurchfällen
- 5.5 Genotypisierung von *Clostridium perfringens* Isolaten
- 5.6 Auswertung der Ergebnisse
- 5.7 Ausarbeitung von betriebsindividuellen Prophylaxeempfehlungen
- 5.8 Publikation der Ergebnisse

6 Literaturverzeichnis

7 Im Berichtszeitraum realisierte Veröffentlichungen zum Projekt

8 Anhang

- 8.1 Fragebogen zur Datenerhebung auf den Ferkelerzeugerbetrieben
- 8.2 Probenbegleitformular zur Erhebung der Anamnesedaten für die beprobten Würfe
- 8.3 Primersequenzen für molekularbiologische Untersuchungen
- 8.4 MLST *Clostridium perfringens*: Darstellung des identifizierten Allels im Vergleich zur Sequenz von *Clostridium perfringens* strain 13
- 8.5 Allgemeine Prophylaxeempfehlung
- 8.6 Betriebsindividuelle Prophylaxeempfehlungen

1 Ziele und Aufgabenstellung des Projekts

Ziel des Forschungsvorhabens ist eine Untersuchung der Prävalenz von Durchfallerregern bei Saugferkeln in ökologisch wirtschaftenden Ferkelerzeugerbetrieben. Ursprünglich sollten dabei das Auftreten von enterotoxischen *Escherichia (E.) coli* in differentialdiagnostischer Abgrenzung zu anderen Keimen sowie eine molekularbiologische Bestimmung der Virulenzfaktoren von *E. coli* im Vordergrund stehen. Im Zuge des Projekts zeigte sich, dass entgegen den ersten Erwartungen nach mikrobiologischer und molekularbiologischer Untersuchung der Kottupferproben vorwiegend β 2-toxische *Clostridium (Cl.) perfringens* Typ A nachgewiesen werden konnten. Um die Rolle dieses Erregers bei Saugferkeldurchfällen auf ökologisch wirtschaftenden Betrieben besser einschätzen zu können, wurde das Forschungsvorhaben um die Untersuchung von Vergleichsproben gesunder Saugferkel und Sauen sowie eine Genotypisierung der *Cl. perfringens* Isolate erweitert. Zusätzlich zur Erregerdiagnostik sollten mögliche Risikofaktoren hinsichtlich der Haltungsbedingungen und des Hygienemanagements auf den Betrieben erfasst werden. Die dabei erzielten Ergebnisse sollen dazu beitragen, die Gesundheitsvorsorge durch Verbesserungen sowohl der Umweltbedingungen als auch der Wirksamkeit von Impfmaßnahmen in ökologischen Betrieben zu optimieren.

Somit unterstützt das Forschungsvorhaben die Ziele des Bundesprogramms Ökologischer Landbau bezüglich der Entwicklung von Strategien zur Identifizierung und Lösung von Hygieneproblemen sowie der Entwicklung und Verbesserung präventiver Tiergesundheitskonzepte.

1.1 Planung und Ablauf des Projekts

Im Rahmen des beantragten Projekts sollten auf 20 ökologisch wirtschaftenden Ferkelerzeugerbetrieben die Durchfallerkrankungen bei Saugferkeln auf enterotoxische *E. coli* (ETEC), *Cl. perfringens*, Rotavirus und *Isospora suis* untersucht werden. Die Untersuchung auf Coronaviren wurde aufgrund des nur noch seltenen Auftretens der Transmissiblen Gastroenteritis (TGE) (Prange, 2004a) in diesem Vorhaben nicht durchgeführt. Die teilnehmenden Betriebe sollten die Anforderungen der EG-ÖKO-Basisverordnung Nr. 834/2007 und der Durchführungsverordnung Nr. 889/2008 erfüllen und eine für ökologische Betriebe regional-typische Bestandsgröße aufweisen. Ein initialer Betriebsbesuch diente der Erfassung aller durchfallrelevanten Anamnesedaten sowie der Einweisung der Betriebsleiter in die Probennahme. Die Praxisphase sollte sich über den Zeitraum von mindestens einem Jahr erstrecken, um dem jahreszeitlichen Einfluss auf das Infektionsgeschehen Rechnung zu tragen.

Wurden Ferkel eines Wurfes als an Durchfall erkrankt identifiziert, sollten pro erkranktem Wurf mindestens 2 Saugferkel vor Behandlungsbeginn durch

Projekt-Nr. BLE 2808 OE 180

Untersuchungen zur Pathovar-Prävalenz beim *Escherichia coli*- bedingten Durchfall neugeborener Saugferkel in ökologisch- wirtschaftenden Ferkelerzeugerbetrieben -Abschlussbericht-

Mitarbeiter des Betriebs beprobt werden. Die Betriebsleiter wurden weiterhin zu einer zeitnahen und exakten Datendokumentation über die Zahl der erkrankten Ferkel/Wurf, die Wurfgröße, das Alter der Ferkel, die Schwere des Ferkeldurchfalls, den Geburtsverlauf, das Vorliegen einer MMA- Problematik bei der Sau sowie über die Kolostrumversorgung der Ferkel nach der Geburt angehalten. Von Saugferkeln bzw. Sauen entnommene Kotproben sollten noch am Tag der Probennahme zur mikrobiologischen Untersuchung an das Fachgebiet bakteriologische und mykologische Diagnostik der Abteilung Veterinärmedizin am Landesbetrieb Hessisches Landeslabor, Gießen versandt bzw. gebracht und unmittelbar nach Eintreffen im Labor der bakteriologischen, parasitologischen und virologischen Untersuchung zugeführt werden. Auf Grundlage der bis Mai 2011 vorliegenden ersten Ergebnisse wurde der Untersuchungsumfang bei den zwischen Juli und September 2011 gezogenen Proben auf eine bakteriologische Untersuchung in Hinblick auf Anaerobier reduziert (s. Antrag auf Umwidmung und Entsperrung von Projektmitteln vom 24. Mai 2011). Um eine ausreichende Anzahl an Proben (insbesondere Vergleichsproben gesunder Ferkel und Sauen) in die Untersuchungen einbeziehen zu können, wurden im Projektverlauf weitere Bestandsbesuche zur gezielten Probennahme durch Projektmitarbeiter angesetzt (s. Antrag auf Umwidmung und Entsperrung von Projektmitteln vom 24. Mai 2011).

Im Anschluss an die primäre Erregerdiagnostik sollten gemäß Änderungsantrag vom 7. Oktober 2010 direkt weiterführende Untersuchungen der *Cl. perfringens* Typ A Isolate angeschlossen werden. Das Wissen um ein Vorliegen von möglicherweise mehreren Erregertypen in einem Wurf oder Bestand ist essentiell, um geeignete Vorsorgemaßnahmen etablieren zu können. Daher sollten nicht nur die Isolate von kranken Ferkeln, sondern auch die *Cl. perfringens* Typ A-Isolate von gesunden Ferkeln und Sauen weiter differenziert werden. Diese Untersuchungen dienen der Beantwortung der Frage, ob gegebenenfalls unterscheidbare Stämme an der Ätiologie des Saugferkeldurchfalls durch *Cl. perfringens* Typ A beteiligt sind oder ob jeder Typ A-Stamm prinzipiell in der Lage ist, das Krankheitsbild des Saugferkeldurchfalls hervorzurufen. Dabei ist davon auszugehen, dass unterschiedliche Genotypen auch unterschiedliche Oberflächenantigene aufweisen. Diese Genotypen können z.B. im Rahmen einer intra species-Typisierung mittels RAPD (randomly amplified polymorphic DNA) - PCR der *Cl. perfringens* Typ A-Isolate nachgewiesen werden. Bei (auf Grundlage von Anamnesedaten, Toxinnachweisen und RAPD-Profilen) ausgewählten *Cl. perfringens* Typ A-Isolaten sollte sich in Einzelfällen eine MLST (Multi-locus sequence typing) zur genaueren Typisierung anschließen.

Nach Abschluss der Laboruntersuchungen sollten die Resultate mit den literaturbekannten Prävalenzdaten und den Impfstoffkomponenten der aktuell zugelassenen *E. coli*- und *Cl. perfringens*-Saugferkelvakzinen bzw. Muttertiervakzinen verglichen werden. Weiterhin werden alle relevanten Isolate von *E. coli* und *Cl. perfringens* asserviert, um ggf. weitere Untersuchungen mit den

**Untersuchungen zur Pathovar-Prävalenz beim *Escherichia coli*- bedingten Durchfall neugeborener Saugferkel in ökologisch- wirtschaftenden Ferkelerzeugerbetrieben
-Abschlussbericht-**

Isolaten durchführen zu können. Hinsichtlich der Identifizierung von Risikofaktoren sollen die Analyseergebnisse ferner im Kontext zu den erhobenen Betriebsdaten ausgewertet werden. Auf Grundlage dieser Ergebnisse sollten nicht nur Rückschlüsse auf allgemeingültige Prophylaxemaßnahmen, sondern auch betriebsindividuelle Empfehlungen zur Vorbeugung von Saugferkeldurchfällen für alle teilnehmenden Ferkelerzeugerbetriebe erstellt werden.

1.2 Wissenschaftlicher und technischer Stand zu Projektbeginn

Die Analyse der vorliegenden Literatur zeigt, dass in Deutschland sowohl in der konventionellen als auch in der ökologischen Schweinehaltung z. T. erhebliche Defizite bezüglich der Tiergesundheit bestehen (Sundrum et al., 2004). Auf ökologisch wirtschaftenden Ferkelerzeugerbetrieben stellen Ferkeldurchfälle eine der am häufigsten auftretenden Erkrankungskomplexe dar (Leeb & Baumgartner, 2000; Vaarst et al., 2000; Löser & Deerberg, 2004). In einer Befragung in Österreich gaben mehr als ein Drittel aller befragten Landwirte an, Probleme mit Saugferkeldurchfall zu haben (Baumgartner et al., 2003).

Saugferkeldurchfälle treten in der Regel während der ersten Lebenswoche auf und können durch Tierverluste, Wachstumsdepressionen sowie den zusätzlichen therapeutischen Aufwand die Aufzucht und die Produktionskosten beeinträchtigen.

Neben der Infektion mit pathogenen Keimen spielen hygienische Mängel sowie Mängel in der Haltung, Fütterung (v. a. Trinkwasser) und der Gesundheitsüberwachung eine wichtige Rolle. Häufig wird durch Vakzinierung der Mutter- oder Jungtiere dem Problem zu begegnen versucht. Bei Nichtansprechen von Prophylaxemaßnahmen werden in der konventionellen Landwirtschaft häufig Antiinfektiva metaphylaktisch oder therapeutisch eingesetzt. Auf ökologisch wirtschaftenden Ferkelerzeugerbetrieben ist der Einsatz von Chemotherapeutika hingegen durch die Vorgaben der EG-VO (EWG Nr. 889/2008) dahingehend eingeschränkt, dass Tiere, deren produktiver Lebenszyklus weniger als ein Jahr beträgt, nur einmal eine tierärztliche Behandlung mit chemisch-synthetischen allopathischen Tierarzneimitteln oder Antibiotika erhalten dürfen, um ökologisch vermarktet werden zu können.

Ätiologie des Saugferkeldurchfalls

Das Krankheitsbild des Ferkeldurchfalls gehört zu dem Komplex der multifaktoriell bedingten Faktorenkrankheiten, die heute die vorherrschenden Gesundheitsstörungen in der Schweinehaltung darstellen. Neben unzureichenden Haltungs- und Fütterungsbedingungen ist ein defizitäres Hygiene- und Gesundheitsmanagement die primäre Ursache für das Auftreten von Faktorenkrankheiten (Sundrum et al., 2004). Die Haltungsbedingungen der Sauen und Saugferkel in der Abferkelbucht unterscheiden sich in der ökologischen Nutztierhaltung (Stroheinstreu, Auslauf etc.) erheblich von denen in

Untersuchungen zur Pathovar-Prävalenz beim *Escherichia coli*- bedingten Durchfall neugeborener Saugferkel in ökologisch- wirtschaftenden Ferkelerzeugerbetrieben
-Abschlussbericht-

konventionellen Betrieben (feste Sauenstände mit Spaltenboden) und erfordern daher ein angepasstes Hygieneregime. Unzureichende Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen der planbefestigten Dungflächen können auch in der ökologischen Aufstallungsform zu einer Bakterianreicherung auf dem Boden führen, die in dieser Form in konventionellen Betrieben mit Spaltenboden nicht auftritt. Da die Infektion der Saugferkel mit *E. coli* über den fäkal-oralen Weg erfolgt (Selbitz, 2006), ist die Gefahr der Ansteckung in Betrieben mit planbefestigter Dungfläche demzufolge als höher einzuschätzen.

Hinsichtlich des Gesundheitsmanagements in der ökologischen Schweinehaltung wurde bei Betriebsleiterbefragungen festgestellt, dass auf den Betrieben in der Regel wenig intensive diagnostische Bemühungen stattfinden, um letztendlich den genannten Krankheitsursachen auf den Grund zu gehen. Nur 35% der Betriebe im CoreOrganicPig-Project (2011) veranlassten trotz vorhandener Gesundheitsstörungen in der Vergangenheit eine Diagnostik zur Saugferkelsterblichkeit, obwohl im Mittel 19,2% (6-32%) Saugferkelverluste zu verzeichnen waren.

Nach Prange (2004) sind 30-50% der Ferkelverluste in der Säugezeit dem Krankheitsbild der Saugferkeldurchfälle geschuldet, an denen eine Reihe von Krankheitserregern beteiligt sind. Als infektiöse Agenzien sind ETEC, *Cl. perfringens* Typ A und C, Rota- und Coronaviren sowie *Isospora suis* beschrieben (Driesen et al., 1993; Heinritzi, 2006). Von diesen gelten ETEC-Stämme als häufigste Ursache für Durchfälle bei neugeborenen Ferkeln in der ersten Lebenswoche mit hoher Krankheits- und Sterblichkeitsrate (Straw et al., 1999).

Die Erreger von Durchfallerkrankungen verursachen entweder durch die gebildeten Toxine (ETEC) eine Abgabe von Wasser in den Darm oder schädigen Darmschleimhaut und Darmzotten (*Cl. perfringens*, Rotaviren, Kokzidien), was außer zum Verlust von Flüssigkeit auch zu einer reduzierten Verwertung der mit Milch und Futter aufgenommenen Nährstoffe führt (Waldmann & Plonait, 2004). Flüssigkeitsverlust und Mangel an Nährstoffen wiederum führen zu einem verminderten Wachstum der Ferkel sowie einer Schwächung des Immunsystems. Diese wirkt sich nicht nur negativ auf das Ausheilen der Durchfallerkrankung aus, sondern begünstigt auch Folgeerkrankungen (z.B. Gelenkentzündungen oder Atemwegsinfektionen).

ETEC können mittels Adhärenzfaktoren am Darmepithel anhaften und über Toxinwirkungen massive, choleraähnliche Durchfälle bei den Saugferkeln hervorrufen (Nabuurs, 1998; Nagy & Fekete, 1999). In der Kultur weisen diese ETEC-Stämme häufig ein schleimiges Kolonienwachstum (A-Typ-Kapsel) und meist keine Hämolyse auf. Die Serovare O8, O9, O20, O64 und O101 wurden in der Vergangenheit im Zusammenhang mit neonatalen Saugferkeldurchfällen häufig nachgewiesen (Sojka, 1971; Fairbrother et al., 1988). Diese *E. coli*-Stämme wurden als atypische „Klasse 2“ ETEC klassifiziert. Sie besitzen die Fimbrienantigene F4, F5, F6 oder F41. Das thermolabile Enterotoxin (LT) wird

Untersuchungen zur Pathovar-Prävalenz beim *Escherichia coli*- bedingten Durchfall neugeborener Saugferkel in ökologisch- wirtschaftenden Ferkelerzeugerbetrieben
-Abschlussbericht-

generell nicht gebildet. Die Isolate aus früheren Untersuchungen zu Saugferkeldurchfällen waren allerdings ST (thermostabiles Enterotoxin) positiv (Sojka, 1971; Fairbrother et al., 1988; Söderlind et al., 1988; Harel et al., 1991). Bei älteren Saugferkeln und Absatzferkeln älter als 12 Wochen werden häufig hämolysierende ETEC-Stämme nachgewiesen (Fahy et al, 1987). Diese Stämme gehören oftmals den klassischen Serovaren O8, O138, O139, O145, O141, O149 und O157 an und werden als „Klasse 1“ ETEC bezeichnet (Sojka, 1971; Fahy et al., 1987). Sie bilden in der Regel das F4 Fimbrienantigen in Assoziation mit dem LT allein oder in Kombination mit ST (STa oder STb) aus (Moon & Whipp, 1970; Smith und Gyles, 1970; VSN International, 2003). Durch spezifische Kombinationen der verschiedenen Virulenzgene, die die unterschiedlichen Virulenzfaktoren wie Enterotoxine und Adhäsine kodieren, sind diese Stämme eindeutig gekennzeichnet und können mittels PCR identifiziert werden.

Ein weiterer wichtiger bakterieller Durchfallerreger bei Saugferkeln ist *Cl. Perfringens* als wichtigster Vertreter clostridialer Enteritiden bei Haustieren. Mittels sogenannter „major toxins“ (alpha [CPA], beta [CPB], epsilon [ETX] und iota [ITX]) kann der Erreger durch Bildung von insgesamt 5 unterschiedlichen Toxintypen wie folgt unterteilt werden: Während Typ A nur das alpha Toxin bildet, wird bei Typ B das alpha-, beta- und epsilon-Toxin nachgewiesen (Songer & Uzal, 2005). Typ C ist durch alpha- und beta-Toxin, Typ D durch alpha- und epsilon-, sowie Typ E durch alpha- und iota-Toxinbildung charakterisiert (Songer & Uzal, 2005). Zwei weitere Toxintypen, nämlich CPE und beta2-Toxin (CPB2) können zusätzlich von allen vorgenannten *Cl. perfringens* Typen produziert werden und eignen sich somit nicht zur Typisierung der Isolate (Songer & Uzal, 2005). Die einzelnen Toxine können entweder direkt oder indirekt (Nachweis des jeweiligen Gens) mittels geeigneter Verfahren nachgewiesen werden.

Clostridien-bedingte Durchfallerkrankungen bei der Nutztierspezies Schwein werden häufig durch die *Cl. perfringens* Typen A und C hervorgerufen, wobei die Krankheit bei Vorliegen von Typ C i. d. R. besonders schwer verläuft (nekrotisierende Enteritis der Saugferkel) (Songer 1996; Songer & Uzal, 2005). *Cl. perfringens* Typ A ist hingegen ein Darmkommensale, der auch bei gesunden Tieren nachweisbar ist (Mansson und Smith, 1962; Chai et al. 2007). Dennoch ist er bereits weltweit als Krankheitserreger bei der Saugferkeldiarrhoe (Nabuurs et al., 1983; Collins et al., 1989; Gibert et al., 1997; Klaasen et al., 1999; Bueschel et al., 2003; Kühn, 2007), gelegentlich auch bei der Diarrhoe der Absatzferkel (Jestin et al., 1985) beschrieben worden. Gerade bei porcinen Isolaten scheint dem β 2-Toxin (CPB2) eine besondere ätiologische Bedeutung zuzukommen, da bei fast allen Typ A-Kulturen zusätzlich die Bildung von CPB2 nachgewiesen werden kann (Garmory et al., 2000; Waters et al., 2003). Dies wird auch durch Untersuchungen von Jost et al. (2005) bestätigt, die sich mit einem atypischen *cpb2*- Gen bei *Cl. perfringens* befassen. Bei 88,5% der untersuchten nicht-porcinen *Cl. perfringens* Isolate konnte dieses atypische *cpb2*-Gen nachgewiesen werden, während bei *Cl. perfringens* Typ A und C Isolate porcinen Ursprungs überwiegend die typische

**Untersuchungen zur Pathovar-Prävalenz beim *Escherichia coli*- bedingten Durchfall neugeborener Saugferkel in ökologisch- wirtschaftenden Ferkelerzeugerbetrieben
-Abschlussbericht-**

Variante des *cpb2*-Gens auftritt. Stämme, die das atypische *cpb2*-Gen tragen, bilden *in vitro* kein β - Toxin (Jost et al. 2005). In Untersuchungen an klinisch erkrankten Tieren verschiedener Spezies mit Verdacht auf eine *Cl. perfringens* Infektion wurde darüber hinaus für porcine *Cl. perfringens* Isolate eine starke Assoziation zwischen dem Vorkommen von *cpb2* und *cna* auf einem Plasmid beschrieben. Das *cna*-Gen von *Cl. perfringens* codiert pCpCna, welches eine große Ähnlichkeit zu CNA von *Staphylococcus aureus* aufweist (Shimizu et al. 2002). Aufgrund der Eigenschaft Kollagene zu binden und damit die Kolonisierung von tierischem (und menschlichem) Gewebe zu begünstigen, ist dieses Protein als potentieller Virulenzfaktor zu sehen (Shimizu et al. 2002, Jost et al. 2006a).

Bekämpfung des Saugferkeldurchfalls

Um die gesundheitlichen Folgen für die erkrankten Ferkel (und damit auch die wirtschaftlichen Verluste für den Landwirt) möglichst gering zu halten, ist es wichtig, dass die Flüssigkeits-, Elektrolyt- und Energieverluste, die mit der Diarrhoe einhergehen, ausgeglichen werden. Ähnlich der Rezeptur der sog. „WHO-Lösung“ zur oralen Rehydratationstherapie (World Health Organisation, 2006) zusammengesetzte, kommerziell erhältliche oder auch selbst hergestellte Glukose-Elektrolyttränken, die den Ferkeln zusätzlich zur Milch angeboten werden, tragen dazu bei, Ferkelverluste und Wachstumsdepressionen in Folge der Erkrankung zu verringern (Schmid & Walser 1990; Waldmann & Plonait, 2004; Nienhoff, 2011; Gotter, 2011a). Bei neugeborenen Kälbern hat sich diese Maßnahme in weitreichenden Untersuchungen bewährt (Doll, 2002).

In der Prophylaxe des Saugferkeldurchfalls nehmen Impfmaßnahmen einen großen Stellenwert ein. Gegen *E. coli*-Enteritiden bei Schweinen waren nach Angaben des Paul-Ehrlich-Instituts im März 2009 in Deutschland 7 Impfstoffe zugelassen, die unterschiedliche *E. coli*-Pathovare und teilweise zusätzlich Toxoidkomponenten (v. a. β -Toxin) von *Cl. perfringens* Typ C enthalten. Gerade in der ökologischen Landwirtschaft sollte nach Artikel 14 der EG-VO (EWG Nr. 834/2007) der Krankheitsprophylaxe eine besondere Bedeutung zukommen. Aufgrund der Unterschiede in Haltung und Management zwischen den beiden Bewirtschaftungssystemen bestehen Zweifel, ob eine Vakzine, die aus Bakterienkulturen konventioneller Betriebe entwickelt wurde, uneingeschränkt auch auf Öko-Betrieben wirksam ist. Es besteht Forschungsbedarf für die Identifizierung geeigneter immunprophylaktischer Maßnahmen, um optimale Vorsorgemaßnahmen in der ökologischen Ferkelaufzucht zu gewährleisten. Zur Immunprophylaxe von Saugferkeldurchfällen wird i.d.R. eine Muttertier-vakzinierung durchgeführt. Grundgedanke hierbei ist die Induktion spezifischer, sogenannter maternalen Antikörper, welche von den Saugferkeln mit dem Kolostrum aufgenommen werden. Auf diese Weise wird ein passiver Schutz über den Zeitraum der immunologischen Inkompetenz der Ferkel gewährleistet. Da ein Transfer von Antikörpern über die Plazenta bei Schweinen (*Placenta epitheliochorialis*) nicht möglich ist (Schnorr & Kressin, 2001; Gotter, 2011 a), ist

**Untersuchungen zur Pathovar-Prävalenz beim *Escherichia coli*- bedingten Durchfall
neugeborener Saugferkel in ökologisch- wirtschaftenden Ferkelerzeugerbetrieben
-Abschlussbericht-**

eine ausreichende Kolostrumversorgung in den ersten Lebensstunden Voraussetzung für eine erfolgreiche Übertragung maternaler Antikörper auf die Ferkel (Gotter, 2011 a).

Voraussetzung für jegliche immunprophylaktische Maßnahme ist eine Diagnostik, die auf mikrobiologischen Untersuchungen basiert, um die ursächlichen Erreger der zu bekämpfenden Krankheit zu identifizieren. Anhand der Befunde kann dann entweder ein zugelassener Impfstoff oder eine „bestandsspezifische“ Vakzine zum Einsatz kommen. Nach §1 Nr. 15 der Tierimpfstoff-Verordnung (Neufassung 2006) sind „bestandsspezifische Impfstoffe: inaktivierte Impfstoffe, die unter Verwendung eines in einem bestimmten Bestand isolierten Krankheitserregers hergestellt worden sind und nur in diesem Bestand angewendet werden“ (dürfen). Das Tierseuchengesetz (TierSG, Stand 2004, §17c) beschränkt den Einsatz bestandsspezifischer Impfstoffe ausdrücklich nur auf Fälle, in denen zugelassene Impfstoffe nicht zur Verfügung stehen. Die Funktion bestandsspezifischer Impfstoffe besteht darin, Lücken im Portfolio zugelassener Impfstoffe zu schließen und damit die prophylaktischen Möglichkeiten zu erweitern (Selbitz, 2008). Bei dem Auftreten von ungewöhnlichen *E. coli*-Stämmen, deren Antigenspektrum durch Handelspräparate nicht abgedeckt wird, stellen sie daher eine Möglichkeit zur Immunitätssteigerung der Schweine dar (Selbitz, 2006). Um eine hohe Qualität von Bestandsvakzinen gewährleisten zu können, muss eine wissenschaftlich begründete Auswahl der Erregerstämme erfolgen, die auf einer exakten Diagnostik des jeweiligen Krankheitsgeschehens basiert (Selbitz, 2006; Tschentscher, 2006). Einschätzungen zu den Erfolgsaussichten, unter den genannten Voraussetzungen mithilfe eines bestandsspezifischen Impfstoffes die Erkrankungsrate in einem Tierbestand zu senken, liegen bislang nur in Form von Praxisberichten bzw. von Berichten der Schweinegesundheitsdienste vor. Wissenschaftliche Studien zum Wirksamkeitsnachweis der Bestandsvakzine fehlen bislang.

Fazit

Die folgenden Fragestellungen ergeben sich aus dem Stand des Wissens zum Projektbeginn sowie den ersten Ergebnissen der eigenen Untersuchungen (s. Änderungsantrag vom 7. Oktober 2010):

- Welche Erreger sind am Krankheitsbild des neonatalen Durchfalls in ökologisch wirtschaftenden Ferkelerzeugerbetrieben hauptsächlich beteiligt?
- Wie stellt sich die aktuelle Prävalenzsituation der *E. coli*-Pathovarietäten beim Saugferkeldurchfall in ökologisch wirtschaftenden Ferkelerzeugerbetrieben dar?

**Untersuchungen zur Pathovar-Prävalenz beim *Escherichia coli*- bedingten Durchfall neugeborener Saugferkel in ökologisch- wirtschaftenden Ferkelerzeugerbetrieben
-Abschlussbericht-**

- Sind unterscheidbare Stämme an der Ätiologie des Saugferkeldurchfalls durch *Cl. perfringens* Typ A beteiligt oder ist jeder Typ A-Stamm prinzipiell in der Lage ist, das Krankheitsbild des Saugferkeldurchfalls hervorzurufen?
- Sind die kommerziell verfügbaren Impfstoffkomponenten nach wie vor geeignet, um optimale prophylaktische Maßnahmen in der ökologischen Ferkelaufzucht zu gewährleisten?

2 Material und Methoden

2.1 Auswahl der teilnehmenden Ferkelerzeuger

Einschlusskriterium für die teilnehmenden Ferkelerzeuger war eine Erfüllung der Anforderungen der EG-ÖKO-Basisverordnung Nr. 834/2007 und der Durchführungsverordnung Nr. 889/2008. Es wurden 20 Ferkelerzeuger gefunden, auf die diese Kriterien zutreffen und die sich bereit erklärt haben, an dem Projekt teilzunehmen. Aus diesem Grund wurden diese Betriebe Anfang 2010 ohne weitere Vorauswahl in die Studie aufgenommen.

Die Betriebsleiter zweier weiterer Betriebe erklärten sich bereit, an der Studie teilzunehmen, wenn ohne sie keine 20 Ferkelerzeuger für die Studie gefunden werden könnten. Aufgrund von geringen Probenzahlen in den ersten Monaten 2010 wurden diese beiden Betriebe nochmals angefragt und einer konnte zur Teilnahme an der Studie von Oktober 2010 bis März 2011 gewonnen werden, so dass nachträglich noch ein 21. Ferkelerzeuger aufgenommen wurde.

2.2 Datenerfassung auf den Ferkelerzeugerbetrieben

Zur Datenerfassung auf den teilnehmenden Betrieben wurde zunächst ein geeigneter Erhebungsbogen (siehe Anhang 8.1) erstellt, der anschließend für alle Betriebe verwendet wurde. Hierbei erfasste Inhalte sind Leistungsdaten, Angaben zu Haltung, Hygiene, Fütterung und Krankheitsprophylaxe sowie ein Vorbericht zum Auftreten von Durchfällen bei neugeborenen Ferkeln. Diese Angaben wurden jeweils im Zuge des Erstbesuchs auf den teilnehmenden Ferkelerzeugerbetrieben erhoben.

Um Anamnesedaten zu den beprobten Würfen zu erfassen, wurde ein spezielles Probenbegleitformular entworfen (siehe Anhang 8.2) und den Betrieben zusammen mit den Probengefäßen in ausreichender Anzahl ausgehändigt. Die im Probenbegleitformular abgefragten Angaben beziehen sich auf die Wurfgröße, das Alter der Ferkel, die Schwere des Ferkeldurchfalls, den Geburtsverlauf, das Vorliegen einer Metritis- Mastitis-Agalaktie-Problematik (MMA) bei der Muttersau und die Kolostrumversorgung der Ferkel nach der Geburt. Die Betriebsleiter wurden angehalten, die entsprechenden Daten für jeden beprobten Wurf

Projekt-Nr. BLE 2808 OE 180

Untersuchungen zur Pathovar-Prävalenz beim *Escherichia coli*- bedingten Durchfall neugeborener Saugferkel in ökologisch- wirtschaftenden Ferkelerzeugerbetrieben -Abschlussbericht-

einzutragen und die ausgefüllten Probenbegleitformulare zusammen mit den Proben einzuschicken.

2.3 Probenentnahme auf den Ferkelerzeugerbetrieben

In der 1. Probennahmephase waren die Mitarbeiter auf den Ferkelerzeugerbetrieben angehalten, von jeweils 2 erkrankten Ferkeln aus jedem betroffenen Wurf Kottupfer zu nehmen. Ab November 2010 sollten auf 10 der teilnehmenden Betriebe zusätzlich 2 Vergleichsproben gesunder Saugferkel aus jedem erkrankten Wurf gezogen werden. In der 2. Probennahmephase wurden die Probenzahlen im Vorfeld festgelegt. Die Probenzahlen bei Sauen wurden für jeden angefahrenen Betrieb nach den Vorgaben von Cannon und Roe (1982) für eine Prävalenzschätzung mit 95% Sicherheit ($\pm 5\%$) bei einer angenommenen Prävalenz von 50% berechnet. Zusätzlich wurden weitere Vergleichsproben gesunder Saugferkel genommen, deren Anzahl sich nach den bis Ende März 2011 eingegangenen Proben von gesunden und erkrankten Saugferkeln richtete. Von jedem der 2011 erneut angefahrenen Betriebe wurde die gleiche Anzahl an Proben von gesunden und erkrankten Saugferkeln untersucht. Traten zum Zeitpunkt des Bestandbesuchs Saugferkeldurchfälle auf, wurden auch weitere erkrankte Saugferkel beprobt, wobei sich jeweils auch die zuvor berechnete Zahl an Vergleichsproben erhöhte.

Zur Probennahme wurden Tupfer ohne Medium (Abstrichbesteck mit Aluminium - Watteträger steril, Copan Innovation Ltd., Brescia, I) verwendet. Dabei wurden steril entnommene Rektaltupfer erkrankter Ferkel bevorzugt. Wenn keine Möglichkeit bestand, einzelne Ferkel zu fangen und zu fixieren, wurden auch Kottupfer, die ohne Berührung von Boden oder Einstreu aus frischem Durchfallkot genommen wurden, akzeptiert. Zusätzlich wurde eine Sammelkotprobe jedes erkrankten Wurfes erbeten, um eine ausreichende Probenmenge (min. 4 g) für parasitologische und virologische Untersuchungen zu erhalten. Diese wurde mit frischen Einweg-Untersuchungshandschuhen vom Boden der Bucht aufgesammelt und in einem verschlossenen Kotbecher (Stuhlröhre mit Schraubverschluss, 76x20mm, Sarstedt AG & Co., Nümbrecht) zusammen mit den Kottupfern und dem Begleitformular verschickt. Der Probenversand erfolgte entsprechend Europäischem Übereinkommen über die Beförderung gefährlicher Güter auf der Straße (in flüssigkeitsdichtem Primär- und Sekundärgefäß verpackt und von außen als „Freigestellte Probe“ gekennzeichnet).

2.4 Bakteriologische Untersuchung

2.4.1 Kulturelle Isolierung von *Escherichia coli* und *Clostridium perfringens*

Zur kulturell-bakteriologischen Untersuchung wurden die Kottupfer zunächst auf kommerzielle Columbia-Schafblut-, Gassner und Schaedler-Agarplatten (Oxoid®, Wesel) ausgestrichen. Es folgte eine Bebrütung bei 37 °C in aerober (Columbia-Schafblut- und Gassner-Agar) bzw. anaerober (Schaedler-Agar) Atmosphäre.

Die präsumtive Auswertung der inkubierten Festnährmedien wurde nach 24- und 48-stündiger Bebrütung vorgenommen. Dazu wurden phänotypisch (Kulturmorphologie, Hämolyseverhalten) unterschiedliche Kolonien von *E. coli* subkultiviert. Auf Schaedler-Agar aufgrund einer Doppelzonenhämolyse als *Cl. perfringens*-verdächtige Kulturen wurden ebenfalls reinkultiviert. Zweifelhafte Ergebnisse wurden mittels Subkultur auf Eigelb-Laktose-Agar (Heipha®, Eppelheim) bestätigt.

2.4.2 Molekularbiologische Differenzierung von *Escherichia coli*

Die anhand morphologischer Kriterien (Kulturmorphologie, Hämolyseverhalten auf Schafblutagar) zur Subkultivierung ausgewählten *E. coli* Isolate wurden mittels PCR auf verschiedene, bei der Spezies Schwein relevante Virulenzfaktorgene untersucht. Mit der eingesetzten Multiplex-PCR (Bosworth & Casey, 1997) werden die Anheftungsfaktorgene für F 41, F 4 (K 88), F 5 (K99), F 6 (P 987), F 18 ab und F 18 ac, die Enterotoxingene LT Ia und LT-Ib (thermolabile Enterotoxine), ST1a und ST2 (thermostabile Enterotoxine) sowie das STX2e-Gen (Vero- oder Shiga-Toxin) nachgewiesen.

Die DNA-Extraktion erfolgte mittels Lysis-by-boiling Verfahren. Dabei wird von den vorbereiteten Proben jeweils Kolonien mit einer sterilen Impföse abgenommen und in einem Probengefäß in 50µl Wasser für die Molekularbiologie (Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe) suspendiert. Anschließend werden die Proben 15 Minuten bei 100°C gekocht und sofort auf Eis oder im Gefrierschrank abgekühlt. Diese Thermolysate wurden bis zur Durchführung der PCR bei -20°C gelagert. Nach dem Auftauen werden Proben und Kontrollen 5 Minuten bei 14 000 UpM zentrifugiert. Die DNA befindet sich im Überstand. In der Multiplex-PCR nach Boswoth und Casey (1997) werden 9 Primerpaare (Eurofins MWG Operon, Ebersberg; Primersequenzen s. 8.3) aufgeteilt auf 2 Multiplex-Ansätze für jede Probe verwendet. Reaktionsansatz 1 enthält die Primer zum Nachweis der Gene für F 5, F 18, F 41, St-Ia, StII sowie Stx2e und Reaktionsansatz 2 Primer zum Nachweis von der Gene für F 4, F 6, St-Ia, St II sowie LT-1. Für beide PCR-Ansätze wird ein kommerziell erhältliches Mastermix (2x Multiplex PCR Master Mix, Qiagen GmbH, Hilden) in der vom Hersteller empfohlenen Konzentration verwendet. Weiterhin eingesetzt werden 10 pmol/Primer, 2,0 µl Probe (bzw. positive oder negative Kontrolle) und Wasser für die Molekularbiologie ad 20 µl.

Projekt-Nr. BLE 2808 OE 180

Untersuchungen zur Pathovar-Prävalenz beim *Escherichia coli*- bedingten Durchfall neugeborener Saugferkel in ökologisch- wirtschaftenden Ferkelerzeugerbetrieben -Abschlussbericht-

Die PCR erfolgte in einem T3000 Thermocycler (Biometra GmbH, Göttingen). Dabei wird eine initiale Denaturierung über 15 Minuten bei 95°C durchgeführt, gefolgt von 35 Zyklen mit je 1 Minute Denaturierung bei 94°C, 1 Minute Primer-Annealing bei 57°C und 1 Minute Elongation bei 72°C und einer finalen Elongation über 10 Minuten bei 72°C. Bei jeder PCR-Untersuchung werden zusätzlich zu den Proben 4 Kontrollstämme, in denen alle nachgewiesenen Virulenzfaktorgene repräsentiert sind, als positive Kontrollen und eine negative Kontrolle (Wasser für die Molekularbiologie) eingesetzt, um den korrekten Testablauf zu verifizieren. Die PCR-Amplifikate werden mittels Gelelektrophorese aufgetrennt und mittels Etidiumbromidfärbung nachgewiesen. Die Gelelektrophorese wird in einem 2,0%igen Agarosegel (Seakem LE Agarose, Biozym Scientific GmbH, Hess. Oldendorf) mit 1x TBE Puffer (selbst angemischt) durchgeführt. Zur Bestimmung der Amplifikatgrößen wird ein Längenstandard eingesetzt (pBR 328-Marker, SERVA Electrophoresis GmbH, Heidelberg). Bei einem Elektrodenabstand von 18 cm und einer Trennstrecke von 5 cm erfolgt die Elektrophorese über 70 Minuten bei 90 Volt (Spannungsquelle: Power Pac 300, Bio-Rad Laboratories GmbH, München) in 1x TBE Puffer. Anschließend wird das Gel 20 Minuten in 0,05%iger Etidiumbromidlösung, hergestellt aus Aqua dest. und Etidiumbromid-Lösung 1% (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen), gefärbt. Der Nachweis der Amplifikate erfolgt mittels UV-Durchleuchtung in einem Gel-Doc 1000 Gel-Dokumentationssystem (Bio-Rad Laboratories GmbH, München). Abbildung 1 (Abb. 1) zeigt das Ergebnis der *E. coli*-Differenzierung am Beispiel von 6 Proben.

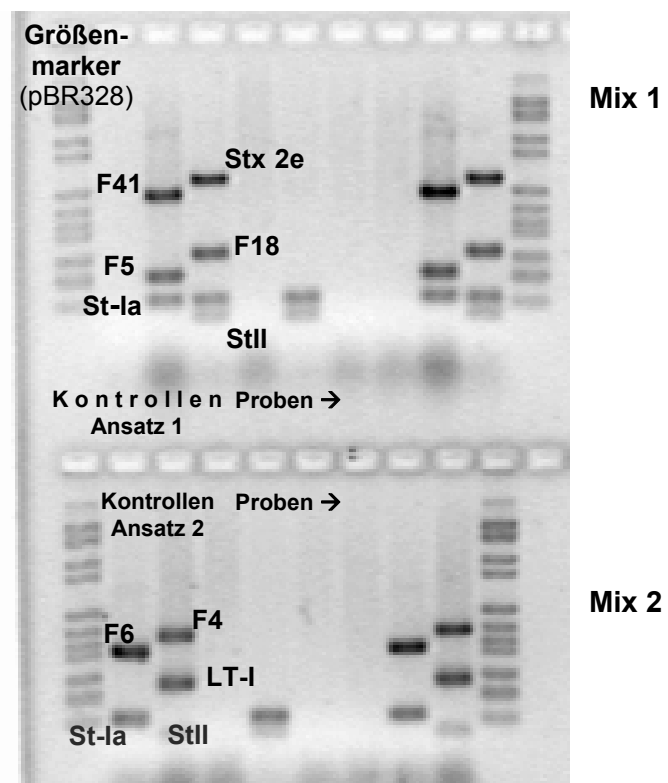


Abbildung 1:
Darstellung der PCR
Amplifikate der
molekularbiologischen
Differenzierung porciner
E. coli Isolate nach
Bosworth und Casey (1997).

Untersuchungen zur Pathovar-Prävalenz beim *Escherichia coli*- bedingten Durchfall neugeborener Saugferkel in ökologisch- wirtschaftenden Ferkelerzeugerbetrieben
-Abschlussbericht-

2.4.3 Molekularbiologische Differenzierung von *Clostridium perfringens*

Eindeutig als *Cl. perfringens* identifizierte Feldstämme wurden mittels PCR (Meer & Songer, 1997; Herholz et al., 1999) auf Gene der die Majortoxine CPA (*cpa*), CPB (*cpb*), ETX (*etx*) und ITX (*iA*) untersucht und entsprechend der Ergebnisse den unterschiedlichen Typen von *Cl. perfringens* zugeordnet (Typ A: *cpa*; Typ B: *cpa*, *cpb*, *etx*; Typ C: *cpa*, *cpb*; Typ D: *cpa*, *etx*; Typ E *cpa*, *iA*). Das Vorhandensein von Genfragmenten des β 2- Toxingens (*cpb2*) und des Enterotoxingens (*cpe*) wurde zusätzlich zu den Typeinteilungen bestimmt. In der Multiplex-PCR zur molekularenbiologischen Differenzierung von *Cl. perfringens* werden 6 Primerpaare (Eurofins MWG Operon, Ebersberg) verwendet. Die Primersequenzen sind im Anhang unter 8.3 aufgeführt. Die DNA-Extraktion aus *Cl. perfringens* Isolaten erfolgte ebenfalls mittels Lysis-by-boiling Verfahren (s. 2.4.2). Die DNA-Extrakte wurden bis zur Durchführung der PCR zur *Cl. perfringens* Differenzierung nach Toxintyp bzw. RAPD-PCR oder MLST bei -20°C gelagert. Bei jeder Toxingen-PCR werden zusätzlich zu den Proben Kontrollstämme aller 5 Toxintypen von *Cl. perfringens* als positive Kontrollen und eine negative Kontrolle (Wasser für die Molekularbiologie) eingesetzt um den korrekten Testablauf zu verifizieren. Die Kontrollstämme werden so ausgewählt, dass in jeweils einer Kontrolle auch die Toxingene *cpb2* und *cpe* auftreten. Für die PCR und den Nachweis der jeweiligen PCR-Amplifikate werden die gleichen Geräte und (mit Ausnahme der spezifischen Primer) die gleichen Reagenzien wie für die molekularenbiologische Differenzierung von *E. coli* verwendet (s. 2.4.2). Von den Primern zum Nachweis der Gene *cpa*, *cpb*, *cpe* und *cpb2* enthält das Reaktionsmix jeweils $0,5\ \mu\text{M}$, von den Primern für *iA* $0,2\ \mu\text{M}$ und von den Primern für *etx* jeweils $2\ \mu\text{M}$. Das Thermoprofil der Reaktion beinhaltet eine initiale Denaturierung über 15 Minuten bei 95°C , gefolgt von 35 Zyklen mit je 30 Sekunden Denaturierung bei 94°C , 1,5 Minuten Primer-Annealing bei 55°C und 1 Minute Elongation bei 72°C und einer finalen Elongation über 10 Minuten bei 72°C . Die Auftrennung der Amplifikate mittels Elektrophorese wird in einem 2,0%igen Agarosegel über 60 Minuten bei 90V durchgeführt (s. Abb. 2).

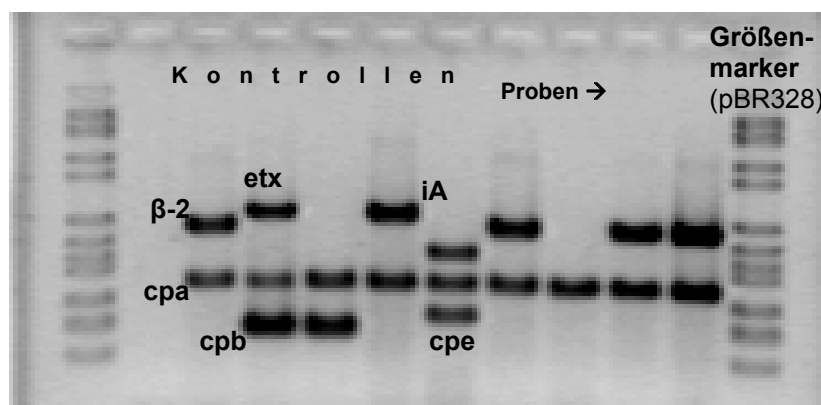


Abbildung 2: Darstellung der Amplifikate der *Cl. perfringens*-Differenzierung am Beispiel von 4 Typ A- Isolaten (davon 3 mit β 2-Toxin).

Untersuchungen zur Pathovar-Prävalenz beim *Escherichia coli*- bedingten Durchfall
neugeborener Saugferkel in ökologisch- wirtschaftenden Ferkelerzeugerbetrieben
-Abschlussbericht-

2.5 Virologische Untersuchung

Der Nachweis von Rotavirus erfolgte mittels eines kommerziellen Testsystems (FASTest Rota- Strip[®], MegaCOR GmbH, Hörbanz, A) entsprechend der Herstellervorschrift.

Der Test ermöglicht den immunologischen Nachweis von Rotavirus-Antigen mittels Membran- bzw. Latexpartikel-gebundener monoklonaler Antikörper. Positiver bzw. negativer Reaktionsausfall wird durch unterschiedliche Farbreaktionen sichtbar gemacht.

2.6 Parasitologische Untersuchung

Zum Nachweis der Kokzidien-Ozysten wurde die parasitologische Routine- methode der Flotation (Rommel et al., 2000) angewandt. Als Flotationsmedium eingesetzt wurde eine 55%ige, mit Formalin konservierte Zuckerlösung mit einem spezifischen Gewicht von 1,264 (Hinaidy et al., 1988). Jeweils 3 g jeder Sammelkotprobe wurden mit 25 ml des Flotationsmediums verrührt und 30 Minuten ruhig stehen gelassen. Anschließend wurde die Suspension durch ein Teesieb in ein Zentrifugenröhrchen überführt und 5 Minuten bei 2000 UpM zentrifugiert. Mehrere Tropfen der Suspensionsoberfläche wurden mit einer Drahtöse auf einen Objektträger überführt und mit einem Deckglas abgedeckt. Das Präparat wurde zunächst bei 35-40facher Vergrößerung, anschließend bei 100 bis 400facher Vergrößerung auf Parasitenstadien durchgemustert.

2.7 Genotypisierung von *Clostridium perfringens* Isolaten

2.7.1 Randomly amplified polymorphic DNA (RAPD)

Für die durchgeführte RAPD-PCR wurde der Primer A3 (5'-TGGACCCTGC-3') (Bougnoux et al., 1994) eingesetzt. Leflon-Guibout et al. (1997) ermittelten für diesen RAPD-Primer in Bezug auf *Cl. perfringens* einen Gaston & Hunter's Index (= discriminatory index) von 0,97.

25 µl Reaktionsmix für die RAPD-PCR enthalten: 2,5 U DreamTaq[™] DNA Polymerase (Fermentas, St. Leon-Rot), 10 pmol Primer A3 (Eurofins MWG Operon, Ebersberg), je 0,12 µM dNTPs (dATP, dCTP, dGTP + dTTP premixed dNTP solution 2,5 mM each; Epicentre Biotechnologies, Madison, USA; Vertrieb in Deutschland: Biozym Scientific GmbH, Hess. Oldendorf), 3 mM MgCl₂ (Fermentas, St. Leon-Rot), 2,5 µl 10x DreamTaq[™] Puffer (Fermentas, St. Leon-Rot) und 1 µl Probe (bzw. positive oder negative Kontrolle). Das Thermoprofil der Reaktion beinhaltet eine initiale Denaturierung über 4 Minuten bei 95°C, gefolgt von 45 Zyklen mit je 30 Sekunden Denaturierung bei 94°C, 30 Sekunden Primer-

Untersuchungen zur Pathovar-Prävalenz beim *Escherichia coli*- bedingten Durchfall neugeborener Saugferkel in ökologisch- wirtschaftenden Ferkelerzeugerbetrieben
-Abschlussbericht-

Annealing bei 36°C und 2 Minuten Elongation bei 72°C. Die Auftrennung der Amplifikate mittels Elektrophorese wird in einem 1,5%igen Agarosegel mit einer Trennstrecke von 10 cm über 120 Minuten bei 100V durchgeführt. Bei jeder RAPD-PCR werden zusätzlich zu den Proben je eine positive Kontrolle (Probe mit bekanntem RAPD-Profil) und eine negative Kontrolle (Wasser für die Molekularbiologie) eingesetzt um den korrekten Testablauf zu verifizieren (s. Abb. 3). Für den Nachweis der jeweiligen PCR-Banden werden die gleichen Geräte und Reagenzien verwendet wie unter 2.4.2 beschrieben.

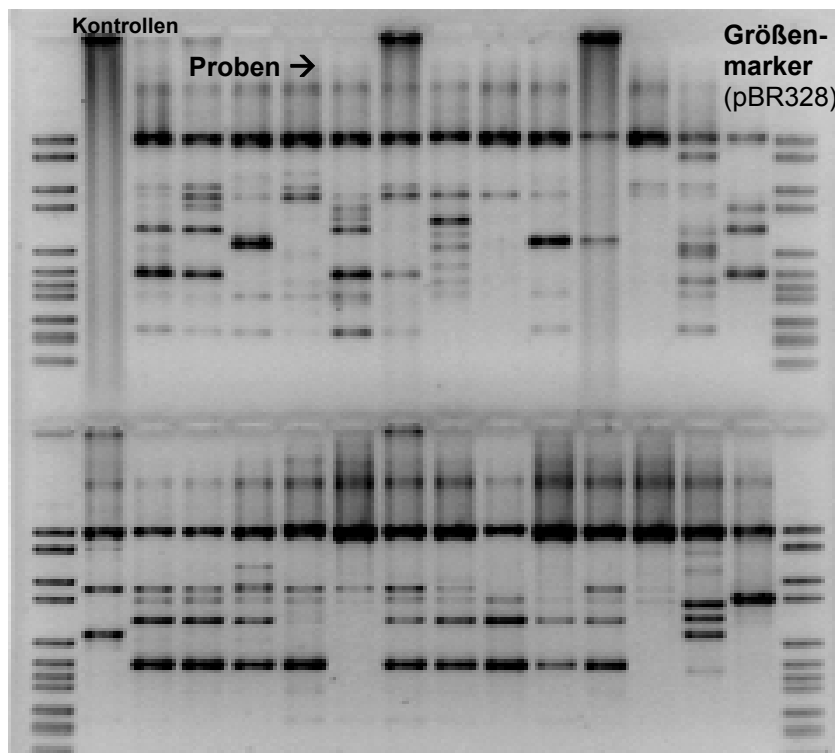


Abbildung 3
Darstellung der RAPD-Profile von 26 Projektproben (inkl. Kontrollen).

2.7.2 Multilocus sequence typing (MLST)

In die von Jost et al. (2006b) publizierte Methodik zur MLST werden neben dem alpha-Toxingen (*plc*) 7 Strukturgene von *Cl. perfringens* einbezogen: *ddlA* (D-Alanine-D-Alanine Ligase), *dut* (Deoxyuridine-Triphosphatase), *glpK* (Glycerol-Kinase), *gmk* (Deoxyguanylate-Kinase), *recA* (Rekombinase A), *sod* (Superoxid-Dismutase) und *tpi* (Triose-Phosphat-Isomerase).

Zunächst wurde jeder dieser 8 Loci (untersuchte Bereiche des jeweiligen Gens) mittels PCR amplifiziert. Das jeweils für die Amplifikation verwendete Reaktionsmix enthält 1,25 U DreamTaq™ DNA Polymerase (Fermentas, St. Leon-Rot), je 50 pmol der eingesetzten Primer (Eurofins MWG Operon, Ebersberg), je 0,2 mM dNTPs (dATP, dCTP, dGTP + dTTP premixed dNTP solution 2,5 mM each; Epicentre Biotechnologies, Madison, USA; Vertrieb in Deutschland: Biozym Scientific GmbH, Hess. Oldendorf), 2 mM MgCl₂, 5 µl 10x DreamTaq™ Puffer (Fermentas, St. Leon-Rot), 5 µl Probe (bzw. positive oder negative Kontrolle) und

Projekt-Nr. BLE 2808 OE 180

Untersuchungen zur Pathovar-Prävalenz beim *Escherichia coli*- bedingten Durchfall neugeborener Saugferkel in ökologisch- wirtschaftenden Ferkelerzeugerbetrieben -Abschlussbericht-

Wasser für die Molekularbiologie ad 50 µl. Das Thermoprofil für alle 8 Reaktionen beinhaltet 35 Zyklen mit je 1 Minute Denaturierung bei 94°C, Primer-Annealing bei 50°C und Elongation bei 72°C, gefolgt von einer finalen Elongation über 5 Minuten bei 72°C. Die Auftrennung der Amplifikate mittels Elektrophorese wird in einem 1,5%igen Agarosegel mit einer Trennstrecke von 5 cm über 60 Minuten bei 80V durchgeführt. Für den Nachweis der jeweiligen PCR-Amplifikate (s. Abb. 4) werden die gleichen Geräte und Reagenzien verwendet wie unter 2.4.2 beschrieben.

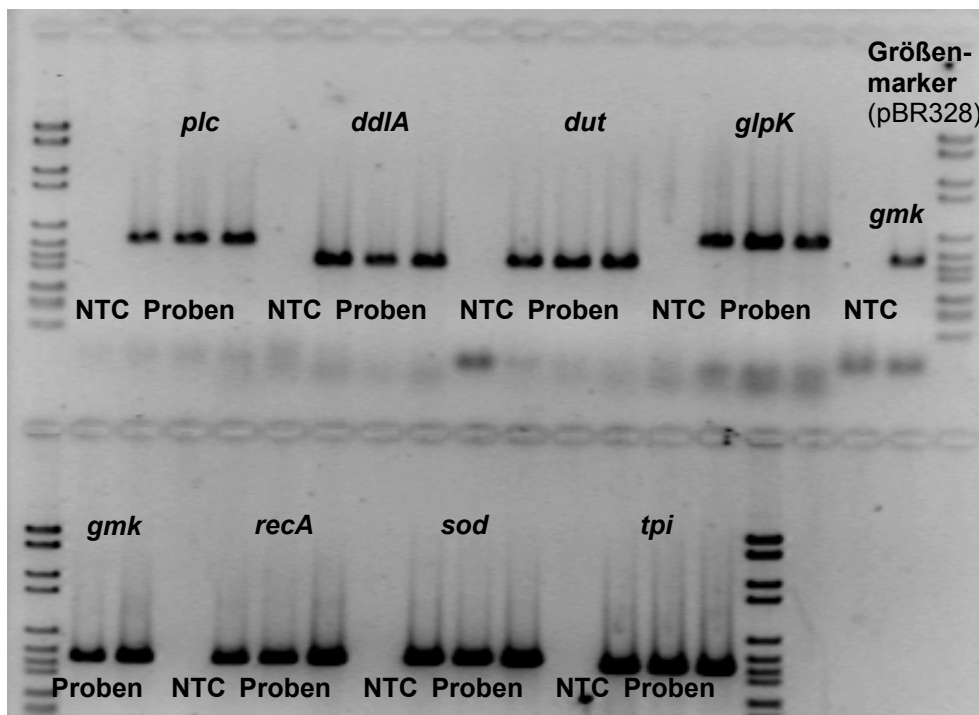


Abbildung 4: PCR-Amplifikate für alle 8 Loci zur MLST von *Cl. perfringens* Isolaten am Beispiel von je 1 negativen Kontrolle (NTC) und 3 Proben.

Die erhaltenen Amplifikate wurden mit einem kommerziell erhältlichen Kit (E.Z.N.A.TM MicroEluteTM Cycle-Pure Kit, Omega Bio-tek, Inc.; Vertrieb in Deutschland: VWR International GmbH, Darmstadt) entsprechend der Herstellerempfehlung von überschüssigen dNTPs und Oligonukleotiden (PCR-Primer) gereinigt. Anschließend wurde die Konzentration an doppelsträngiger DNA photometrisch (bioPhotometer 6131, Eppendorf AG, Hamburg) bestimmt. Die Durchführung der Sequenzierungen wurde bei einem Fremdlabor (Sequence Laboratories Göttingen GmbH, Göttingen) in Auftrag gegeben. In die Sequenzierung eingesetzt wurde entsprechend der Vorgaben von Sequence Laboratories Göttingen die in Tabelle 1 angegebene Menge an aufgereinigtem PCR-Amplifikat, 20 pmol von einem der beiden spezifischen PCR-Primer und Tris-Puffer 10mM, pH 8,5 ad 7 µl.

Projekt-Nr. BLE 2808 OE 180

Untersuchungen zur Pathovar-Prävalenz beim *Escherichia coli*- bedingten Durchfall neugeborener Saugferkel in ökologisch- wirtschaftenden Ferkelerzeugerbetrieben -Abschlussbericht-

Tabelle 1: Zur MLST von *Cl. perfringens* Isolaten in die Sequenzierungen der jeweiligen Amplifikate einzusetzende DNA-Menge.

| Gen | <i>plc</i> | <i>ddlA</i> | <i>dut</i> | <i>glpK</i> | <i>gmK</i> | <i>recA</i> | <i>sod</i> | <i>tpi</i> |
|-----------------------------|------------|-------------|------------|-------------|------------|-------------|------------|------------|
| gereinigtes Amplifikat (ng) | 136,00 | 107,25 | 110,25 | 136,75 | 118,75 | 118,75 | 118,75 | 112,75 |

Die Analyse der erhaltenen Sequenzen erfolgte mit dem Programm ChromasPro Version 1.5 (Technelysium Pty Ltd, Brisbane, AU). Die Variante der 8 einbezogenen Gene, die der Sequenz von *Cl. perfringens strain 13* (Accession: NC_003366; Shimizu et al., 2002) entspricht, wurde jeweils als Allel 1 bezeichnet. In Abbildung 5 ist ein direkter Sequenzvergleich am Beispiel eines Abschnittes des Gens *ddlA* dargestellt.

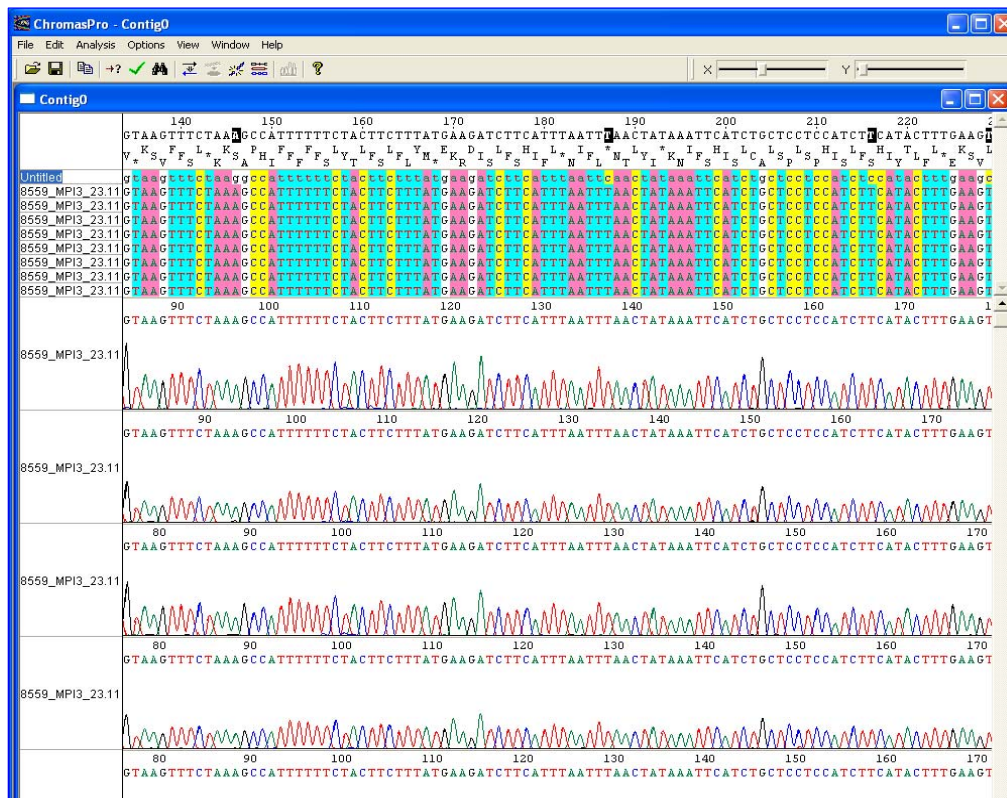


Abbildung 5: Vergleich der Sequenzen von Projektproben mit der Sequenz von *Cl. perfringens strain 13* (Shimizu et al., 2002) am Beispiel des Gens *ddlA* (bp 200-295).

2.8 Auswertung

Die statistischen Berechnungen sowie die Erstellung der verwendeten Diagramme erfolgten mit dem Programm Microsoft® Office Excel 2003 (Copyright © 1985-2003 Microsoft Corporation; Vertrieb in Deutschland: Microsoft Deutschland GmbH, Unterschleißheim). Zur Signifikanzprüfung bei Ergebnissen dichotomer Fragestellungen wurde der χ^2 -Test eingesetzt.

3 Ergebnisse

3.1 Wichtigste Ergebnisse des Projekts

3.1.1 Datenerfassung auf den Ferkelerzeugerbetrieben

An der Studie haben 21 ökologisch wirtschaftende Ferkelerzeuger teilgenommen, darunter 18 Stall- und 3 Freilandhaltungen. 3 der Betriebe produzierten im Nebenerwerb. Von 19 Ferkelerzeugern lagen detaillierte Angaben zum Betrieb vor. Die Betriebsgröße lag im Durchschnitt bei 122 Sauen (Min.: 24; Max.: 610; konventionell: 196). 11 der teilnehmenden Ferkelerzeuger hielten die Sauen mit ihren Würfen ab der 3. Lebenswoche in Gruppenhaltung. 8 der Betriebe setzten eine Muttertiervakzine zur Vorbeugung von *E. coli*- bzw. *E. coli*- und *Cl. perfringens* Typ C- bedingten Saugferkeldurchfällen ein.

Leistungsdaten der teilnehmenden Betriebe:

Die durchschnittliche Leistung der Sauen betrug 2,01 Würfe/Sau/Jahr (Min.: 1,7; Max.: 2,2) bei 12 lebendgeborenen Ferkeln/Wurf (Min.: 9,00; Max.: 14,94) und 1,1 totdgeborenen Ferkeln/Wurf (Min.: 0,10; Max.: 2,30). Die angegebenen Saugferkelverluste lagen im Durchschnitt bei 19,7% (Min.: 3,9; Max.: 31,3). Die tatsächlichen Ferkelverluste sind wahrscheinlich höher einzuschätzen, da aufgrund schlechter Geburtsüberwachung oft nicht zwischen Totgeburten und kurz nach der Geburt gestorbenen Ferkeln unterschieden werden konnte.

Hygienemaßnahmen und allgemeines Tiergesundheitsmanagement:

Insgesamt fiel auf, dass allgemein empfohlene Maßnahmen zur Gesunderhaltung der neugeborenen Ferkel nur selten umgesetzt wurden (s. Tabelle 1). Dazu gehören eine Minimierung des Erregereintrages (Rein-Raus-Prinzip mit gründlicher Reinigung und Desinfektion zwischen den Durchgängen und Waschen der Sauen vor Umstallung) (Eich, 1982; PIC Deutschland GmbH, 2000; Krapoth et al., 2009; Oslage 2009; Nathues 2010; Nienhoff, 2011; Gotter, 2011b) sowie eine konsequente Überwachung von Geburtsverlauf und Kolostrumaufnahme (Eich, 1982; PIC Deutschland GmbH, 2000; Prange 2004b; Krapoth et al., 2009; Nienhoff, 2011; Gotter, 2011a). Außerdem sollte in den ersten Tagen nach der Geburt routinemäßig die Körpertemperatur der Sauen gemessen werden, um eine beginnende MMA-Erkrankung möglichst früh zu erkennen (Prange 2004b; Krapoth et al., 2009; von Berg et al., 2011). Nur auf 2 der teilnehmenden Betriebe wurde auch ohne „besondere Gefahrenlage“ eine Desinfektionsmatte am Stalleingang benutzt. Keiner der teilnehmenden Betriebe stellte Händedesinfektionsmittel im Umkleide- und Waschbereich zur Verfügung. Auch andere Studien auf ökologisch

Projekt-Nr. BLE 2808 OE 180

**Untersuchungen zur Pathovar-Prävalenz beim *Escherichia coli*- bedingten Durchfall neugeborener Saugferkel in ökologisch- wirtschaftenden Ferkelerzeugerbetrieben
-Abschlussbericht-**

wirtschaftenden Betrieben offenbaren einen Verbesserungsbedarf bei der Umsetzung der notwendigen Stallhygiene, insbesondere in Hinblick auf Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen sowie die Frequenz des Ausmistens (Naumann & Hempler, 2009).

Wurden Saugferkeldurchfälle auf den Betrieben beobachtet, blieben diese scheinbar häufig unbehandelt. Genaue Angaben über den Anteil an den erkrankten Saugferkeln, deren Durchfallerkrankung behandelt wurde, liegen von keinem der teilnehmenden Betriebe vor. Im Falle eines Therapieversuchs kommen zumeist Antibiotika zum Einsatz. So gaben 12 von 17 Betrieben (= 70,6%) an, Antibiotika einzusetzen, wenn sie Saugferkeldurchfälle behandeln. Vor dem Hintergrund, dass bezüglich der ätiologischen Abklärung in den einzelnen Betrieben große Defizite bestanden und teilweise weiter bestehen (s. 3.1.1: „Vorbericht zur Durchfallproblematik“), wäre hier eine konsequentere Umsetzung der Leitlinien für den sorgfältigen Umgang mit antibakteriell wirksamen Tierarzneimitteln wünschenswert. Gelegentlich wurde versucht, den Behandlungsbeschränkungen auf ökologisch wirtschaftenden Betrieben durch den Einsatz fragwürdiger Maßnahmen, die nicht als Behandlung mit „chemisch-synthetischen allopathischen Tierarzneimitteln oder Antibiotika“ gemäß Verordnung EWG Nr. 889/2008 gelten, zu begegnen (z.B. Verfütterung von Torf oder verdünnter Milch). Eine Substitution von Flüssigkeits-, Energie- und Elektrolytverlusten mit geeigneten Lösungen zur oralen Rehydrierung, deren Nutzen höher einzuschätzen ist, als der einer antibiotischen Therapie ohne ausreichende Erregerdiagnostik, wurde nur selten eingesetzt (s. Tab. 2).

Tabelle 2: Allgemein anerkannte Maßnahmen zur Gesunderhaltung neugeborener Ferkel*.

| Maßnahme | ja | nein |
|---|-----------|-------------|
| Belegung Abferkelstall nach „Rein-Raus“- Prinzip | 7 | 9 |
| Waschen der Sauen vor Umstallung in den Abferkelstall | 6 | 10 |
| Grundreinigung vor <u>jeder</u> Neubelegung | 11 | 5 |
| Desinfektion vor <u>jeder</u> Neubelegung | 5 | 11 |
| Ferkelwache/ häufige Rundgänge (auch nachts!) um den erwarteten Geburtszeitpunkt herum | 5 | 11 |
| Überwachung der Kolostrumaufnahme unmittelbar nach Geburt bei <u>allen</u> Würfen | 3 | 13 |
| Routinemäßige Überwachung Körpertemperatur der Sauen in ersten Tagen <i>post partum</i> | 7 | 9 |
| Wiegen der Ferkel bei Geburt und Absetzen | 1 | 15 |
| (gelegentlich) Anbieten einer Glukose- Elektrolyttränke bei Beobachtung von Durchfällen | 3 | 13 |
| Anfüttern der Ferkel mit geeignetem Prestarter ab 7. Lebenstag | 4 | 12 |
| > 5 der o.g. Maßnahmen konsequent umgesetzt | 3 | 13 |

*Einbezogen wurden nur Betriebe mit Stallhaltung, die zu den jeweiligen Punkten im Zuge des Erstbesuchs Angaben machen konnten/wollten. Dies erklärt, warum die Zahl der jeweils angegebenen Antworten zu den einzelnen Fragen mit 16 unter der Gesamtzahl der Betriebe (n=21) liegt.

Untersuchungen zur Pathovar-Prävalenz beim *Escherichia coli*- bedingten Durchfall neugeborener Saugferkel in ökologisch- wirtschaftenden Ferkelerzeugerbetrieben
-Abschlussbericht-

Vorbericht zur Durchfallproblematik bei Saugferkeln:

Den Angaben bei Erstbesuch entsprechend waren hauptsächlich Würfe in den ersten beiden Lebenswochen von Durchfallerkrankungen betroffen (14 von 17 Betrieben, die Angaben hierzu machen konnten). Dies spiegelt sich auch in den Probeneinsendungen wieder, allerdings weniger deutlich wie bei der ersten Befragung der Betriebsleiter (s. Diagramm 1).

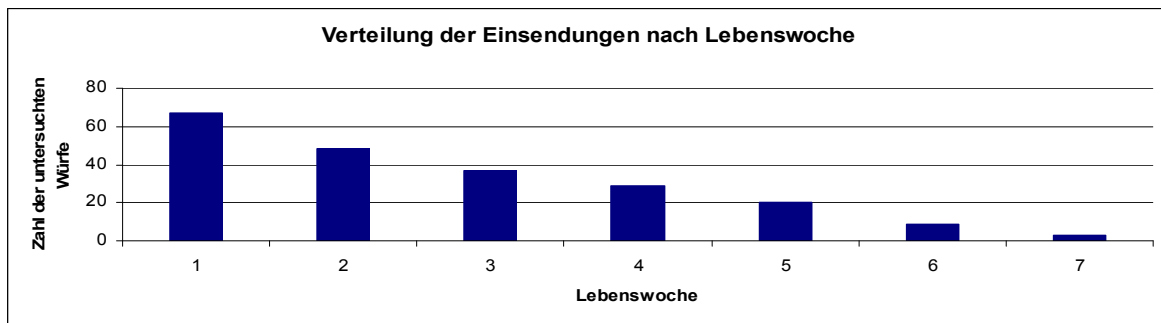


Diagramm 1: Einsendung von Proben erkrankter Saugferkel zwischen Januar 2010 und März 2011 nach Alter

In durchschnittlich 21,5% aller Würfe erkrankte mindestens ein Ferkel während der Sägezeit. In Bezug auf die Inzidenz auf Wurfebene ergaben sich jedoch hohe Schwankungen zwischen den einzelnen Betrieben (Min.: 4%; Max.: 50%). Innerhalb eines betroffenen Wurfs erkrankte i. d. R. mindestens die Hälfte der Ferkel. 7 Betriebsleiter gaben an, dass Saugferkeldurchfälle auf ihren Betrieben nicht mit Störungen des Allgemeinbefindens einhergingen während auf 4 Betrieben über die Hälfte der erkrankten Ferkel ein gestörtes Allgemeinbefinden zeigten (auf 2 dieser Betriebe 100%). Die Verluste durch Saugferkeldurchfälle wurden von den teilnehmenden Betrieben auf durchschnittlich 3,3% geschätzt. 10 Betriebe gaben im Vorfeld an, dass bei ihnen keine Ferkelverluste infolge von Durchfallerkrankungen auftreten. 6 Betriebe konnten keine Angaben zur Höhe der durch Durchfälle verursachten Saugferkelverluste machen.

Eine Prophylaxe von Saugferkeldurchfällen mittels Muttertiervakzinierung wurde von 8 der teilnehmenden Ferkelerzeuger eingesetzt. Auf 5 dieser Betriebe wurde ein handelsüblicher kombinierter *E. coli* & *Cl. perfringens* Typ C Impfstoff verwendet, 2 Betriebe impften die Sauen vor Geburt mit einer handelsüblichen *E. coli*-Vakzine und ein Betrieb setzte einen bestandspezifischen Impfstoff ein. Während des Projektverlaufs stellte einer dieser Betriebe von einer handelsüblichen *E. coli* & *Cl. perfringens* Typ C Vakzine auf einen (vom Hoftierarzt in einem anderen Labor in Auftrag gegebenen) bestandspezifischen Impfstoff um. Infolge dieser Umstellung konnte keine Veränderung in der Nachweishäufigkeit der einzelnen Durchfallerreger festgestellt werden. Diese Aussage kann jedoch nicht als repräsentativ angesehen werden, da sie sich nur auf 21 Würfe aus einem

Projekt-Nr. BLE 2808 OE 180

Untersuchungen zur Pathovar-Prävalenz beim *Escherichia coli*- bedingten Durchfall neugeborener Saugferkel in ökologisch- wirtschaftenden Ferkelerzeugerbetrieben -Abschlussbericht-

Betrieb (von denen 11 vor und 10 nach dem Wechsel des Impfstoffs beprobt wurden) bezieht. Ein weiterer Betrieb, der bei Aufnahme in das Projekt keine Muttertierimpfungen durchgeführt hatte, setzte aufgrund der ersten Untersuchungsergebnisse (Nachweis von ETEC in 6 von 11 beprobten Würfen) ab Anfang 2011 einen handelsüblichen *E. coli*-Impfstoff ein. In 4 Würfen von geimpften Sauen aus diesem Betrieb wurde keiner der untersuchten Durchfallerreger nachgewiesen. Betrachtet man die beprobten Würfe aus allen teilnehmenden Betrieben, so zeigen sich (schwach) signifikante ($p < 0,05$) Unterschiede in der Nachweishäufigkeit von ETEC. In erkrankten Würfen ungeimpfter Sauen ($n=51$) wurden zu 13,7 % ETEC nachgewiesen, welche nur in 3,3% der Würfe geimpfter Sauen ($n= 150$) auftraten (davon 2x Fimbrientyp F 18, der hauptsächlich bei Absetzern vorkommt (Selbitz, 2002) und in den handelsüblichen Impfstoffen zur Muttertierimpfung nicht enthalten ist. Erwartungsgemäß ergaben sich keine signifikanten Unterschiede in der Nachweishäufigkeit von *Cl. perfringens* Typ A zwischen Würfen von Sauen, die während der Trächtigkeit mit einer *Cl. perfringens* Typ C Vakzine geimpft wurden und Würfen ungeimpfter Sauen.

Nur 8 der teilnehmenden Betriebe haben in der Vergangenheit mindestens einmalig eine Erregerdiagnostik in Hinblick auf Saugferkeldurchfall durchführen lassen. Keiner der Betriebe ließ vor diesem Projekt regelmäßig Kotproben auf Durchfallerreger untersuchen. Auch im Zuge der durchgeführten Studie, in welcher die Erregerdiagnostik den Landwirten kostenfrei angeboten wurde, wurden auf 15 der teilnehmenden Betriebe weniger als 7 % aller Würfe beprobt. Aus 3 der teilnehmenden Betriebe wurden gar keine Proben eingesandt. Die 6 Betriebe mit einem höheren Anteil an beprobten Würfen haben im Durchschnitt 25,8% (Min.: 14,8%; Max.: 52,6%) aller Würfe als erkrankt erkannt und beprobt.

3.1.2 Nachweis relevanter Erreger bei Saugferkeldurchfallerkrankungen

Bis zum Projektabschluss sind insgesamt 1487 Proben eingegangen. Davon wurden 733 in der ersten Projektphase eingeschickt und 754 im Zuge der von Juli bis September 2011 durchgeführten zusätzlichen Bestandsfahrten genommen. Tabelle 2 enthält die Zahl untersuchter Proben im Projektverlauf, aufgeteilt in Einzelproben von Sauen, gesunden und erkrankten Ferkeln sowie Sammelproben erkrankter Würfe.

Tabelle 3: Zahl untersuchter Proben im Projektverlauf

| | |
|---|-------------|
| Kottupfer erkrankter Saugferkel | 513 |
| Sammelkotproben erkrankter Saugferkel | 184 |
| Darminhalt (Sektionsproben erkrankter Saugferkel) | 2 |
| Kottupfer gesunder Saugferkel | 419 |
| Einzelkotproben Sauen | 369 |
| untersuchte Proben gesamt | 1487 |

Untersuchungen zur Pathovar-Prävalenz beim *Escherichia coli*- bedingten Durchfall neugeborener Saugferkel in ökologisch- wirtschaftenden Ferkelerzeugerbetrieben
-Abschlussbericht-

3.1.2.1 Erregernachweise aus Proben erkrankter Saugferkel

Cl. perfringens Typ A

Der am häufigsten nachgewiesene Durchfallerreger ist *Cl. perfringens* Typ A. Dieses Bakterium wurde in 39,5% aller erkrankten Würfe diagnostiziert (s. Tabelle 3). Besonders auffällig ist, dass die Nachweishäufigkeit in den ersten 3 Lebenswochen am höchsten war und ab der 4. Woche deutlich abnahm (s. Diagramm 2). Bei 89,7% der *Cl. perfringens* Typ A Isolate wurde zusätzlich das β 2-Toxigen nachgewiesen (s. Tabelle 4). In der seit Erstbeschreibung des β 2-Toxins publizierten Fachliteratur aus verschiedenen Ländern werden Nachweisraten von *cpb2* in bis zu 90,9 der Typ A Isolate von Ferkeln mit Enteritis berichtet (Bueschel et al., 2003), während in anderen Studien zwischen 60% und 70% der porcinen *Cl. perfringens* Typ A Isolate das β 2-Toxigen tragen (Garmory et al., 2000; Waters et al., 2003; Kühn, 2007, Jäggi et al., 2009).

Der Erreger der nekrotisierenden Enteritis, *Cl. perfringens* Typ C, wurde in keinem der untersuchten Würfe diagnostiziert. Die handelsüblichen, gegen Clostridien-durchfälle eingesetzten Muttertier-Vakzinen sind nur wirksam gegenüber *Cl. perfringens* Typ C, nicht jedoch gegenüber Typ A. Da bislang kein *Cl. perfringens* Typ A Impfstoff zugelassen ist, muss zur Immunprophylaxe von *Cl. perfringens* Typ A bedingten Saugferkeldurchfällen ausschließlich auf bestandsspezifische Impfstoffe zurückgegriffen werden.

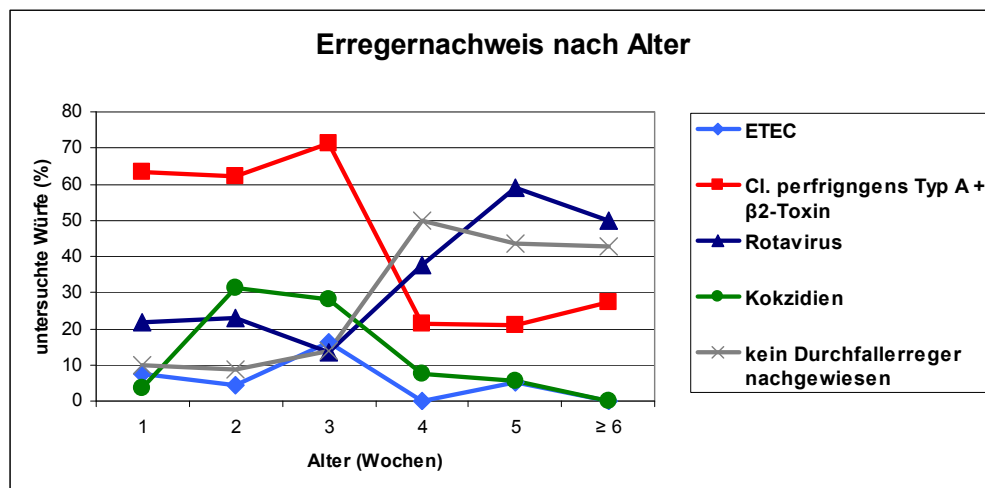


Diagramm 2: Häufigkeit der Erregernachweise in % der untersuchten Würfe, aufgeschlüsselt nach der Lebenswoche.

ETEC

Als ETEC bezeichnet werden *E. coli* mit Toxinbildung und mind. einem schweinespezifischen Anheftungsfaktor. Dieser Durchfallerreger wurde in 7,7 % der untersuchten Würfe nachgewiesen. Zum Vorkommen von ETEC bei Ferkeln

Projekt-Nr. BLE 2808 OE 180

Untersuchungen zur Pathovar-Prävalenz beim *Escherichia coli*- bedingten Durchfall neugeborener Saugferkel in ökologisch- wirtschaftenden Ferkelerzeugerbetrieben -Abschlussbericht-

findet man in der Literatur sehr unterschiedliche Prävalenzen zwischen 2% (Katsuda et al. 2006) und 60% (Kim et al., 2010). Guscetti et al. (1994) kamen in einer Studie an gesunden und erkrankten Ferkeln in der Schweiz auf annähernd gleiche Prävalenzen (7,8%) wie sie auch im hier vorgestellten Projekt festgestellt wurden. Costinar et al. (2010) berichten über den Nachweis von ETEC in 9,9% der untersuchten Proben von Ferkeln mit Durchfall in Rumänien. In einer Untersuchung an erkrankten Ferkeln aus konventionell wirtschaftenden Betrieben in Deutschland wurden in 17,6% der Fälle ETEC diagnostiziert (Wieler et al., 2001)

In der vorliegenden Studie wurden ETEC Stämme, gegen die die gängigen kommerziell erhältlichen Muttertiervakzinen unwirksam sind, nur in Ausnahmefällen nachgewiesen (s. auch 3.1.1). Dabei handelte es sich um 2 *E. coli* Isolate mit dem Fimbrien-Antigen 18 (F 18), welche i. d. R. nur im Zusammenhang mit Absetzer-Durchfällen auftreten (Selbitz, 2002). Diese wurden auf 2 unterschiedlichen Studienbetrieben isoliert. Der Einsatz einer handelsüblichen *E. coli*-Vakzine zur Impfung der tragenden Sauen kann demnach auch für ökologisch wirtschaftende Betriebe, auf denen ETEC bedingte Saugferkeldurchfälle auftreten, empfohlen werden.

Rotaviren

In 27,6% der erkrankten Würfe wurden Rotaviren nachgewiesen. Auffällig ist, dass die Nachweishäufigkeit in der zweiten Hälfte der Säugezeit höher war, als bei jüngeren Saugferkeln (s. Diagramm 2). In den oben bereits genannten Untersuchungen von Cotinar et al. (2010) wurden für Rotaviren mit 26,9% der untersuchten Proben ähnliche Prävalenzen bei Ferkeln mit Diarrhoe ermittelt, während Wieler et al. (2001) nur in 4% und Guscetti et al. (1994) nur in 2,6% der untersuchten Fälle Rotaviren als ursächlichen Durchfallerreger nachwiesen.

Coccidia sp.

Kokzidien wurden in 20% der Würfe nachgewiesen, Würfe mit hochgradigem Befall in einer Sammelkotprobe der Ferkel waren jedoch selten (2,5%).

Die Literaturangaben zum Vorkommen von Kokzidien bei an Durchfall erkrankten Ferkeln differieren ebenfalls in Bezug auf die publizierten Nachweishäufigkeiten für Kokzidien. Guscetti et al. (1994) fanden Kokzidienoozysten in 44,5% und Driesen et al. (1993) in 53,8% der untersuchten Proben, während die Angaben von Morin et al. (1983) mit 15,3%, Costinar et al. (2010) mit 18,8% und Wieler et al. (2001) mit 26,9% ungefähr der Nachweishäufigkeit in der vorliegenden Studie entsprechen.

Untersuchungen zur Pathovar-Prävalenz beim *Escherichia coli*- bedingten Durchfall neugeborener Saugferkel in ökologisch- wirtschaftenden Ferkelerzeugerbetrieben
-Abschlussbericht-

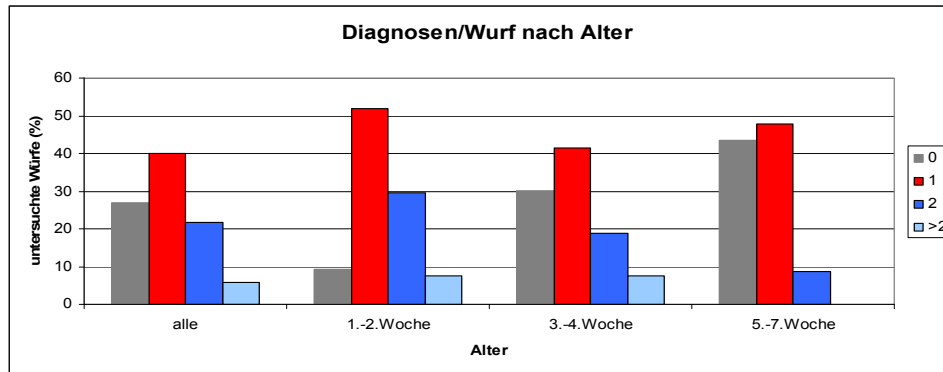


Diagramm 3: Anzahl nachgewiesener Durchfallerreger/Wurf

Zahl nachgewiesener Durchfallerreger/ Wurf:

In der Mehrzahl der untersuchten Würfe (40,13%) wurde ein Durchfallerreger diagnostiziert. In etwa 35% der Würfe traten 2 Erregertypen auf. Gleichzeitige Nachweise von 3 (5,26%) oder 4 (0,66%) der untersuchten Erreger innerhalb eines erkrankten Wurfs waren selten. In 28% der erkrankten Würfe konnte keiner der untersuchten Durchfallerreger nachgewiesen werden. Besondere Erregerkombinationen waren nicht auffällig.

3.1.2.2 Erregernachweis aus Proben von gesunden Saugferkeln

Nachweis von *Cl. perfringens* Typ A:

Cl. perfringens Typ A wurde in 58,9% der Proben von gesunden Saugferkeln diagnostiziert. Bei 96,92% dieser *Cl. perfringens* Typ A Isolate wurde das β 2-Toxigen nachgewiesen (s. Tabelle 4). Die Nachweishäufigkeit von β 2-Toxin lag damit bei gesunden Saugferkeln sogar über der bei Saugferkeln mit Durchfall ($p < 0,05$). In Bezug auf den Nachweis von *Cl. perfringens* Typ A im Allgemeinen waren die festgestellten Unterschiede zu erkrankten Saugferkeln statistisch nicht signifikant verschieden.

Klaasen et al. (1999) wiesen in 53,3% der untersuchten Ferkel mit Diarrhoe aus den Niederlanden β 2-toxische *Cl. perfringens* nach, während diese in Proben von Ferkeln mit anderen Erkrankungen nur zu 18,8% vorkamen. Waters et al. (2003) stellten in keinem von 6 und Garmory et al. (2000) in keinem von 7 *Cl. perfringens* Typ A Isolaten von gesunden Ferkeln β 2-Toxin fest.

Untersuchungen zur Pathovar-Prävalenz beim *Escherichia coli*- bedingten Durchfall neugeborener Saugferkel in ökologisch- wirtschaftenden Ferkelerzeugerbetrieben
-Abschlussbericht-

3.1.2.3 Erregernachweis aus Proben von Sauen

Nachweis von *Cl. perfringens* Typ A:

Cl. perfringens wurde aus Kotproben von klinisch- gesunden Sauen mit 38,4% seltener kulturell angezüchtet als aus Proben von Saugferkeln ($p < 0,005$). In 2 Betrieben konnten im Sauenkot keine Clostridien nachgewiesen werden. Fast alle bei Sauen isolierten *Cl. perfringens* wurden auf Grundlage der PCR-Ergebnisse ebenfalls Typ A (*cpa*-Nachweis) zugeordnet. In einem Isolat wurden die Toxingene *cpa* und *iA* nachgewiesen; es handelt sich demnach um Typ E. Besonders auffällig ist, dass nur 8,6% der *Cl. perfringens* Typ A Isolate von Sauen das β 2-Toxingen trugen, welches in 94,2% aller Isolate von Saugferkeln (gesund und erkrankt) nachgewiesen wurde ($p < 0,001$) (s. Tabelle 3).

In den Untersuchungen von Bueschel et al. (2003) lag der Anteil *cpb2*-positiver Isolate an allen untersuchten *Cl. perfringens* Isolaten aus Kotproben gesunder älterer Schweine mit 11,1% ebenfalls deutlich unter den ermittelten Werten für Ferkel (83,9% aller untersuchten Isolate, unabhängig vom Gesundheitsstatus der Ferkel; 91,8% aller Typ A und C-Isolate erkrankter Ferkel; 90,9% aller Typ A Isolate erkrankter Ferkel). Literaturangaben zum *cpb2*-Nachweis bei *Cl. perfringens* Typ A Isolaten von Sauen liegen bislang nicht vor.

Diese Erkenntnis spricht gegen die verbreitete Annahme, dass sich die Saugferkel durch den Kot der Sauen mit *Cl. perfringens* Typ A infizieren. Eine weitere und nach den vorliegenden Ergebnissen die wahrscheinlichste Infektionsquelle für neugeborene Ferkel sind somit Kontaminationen im Abferkelstall aus den vorherigen Durchgängen. Diese Gefahr kann durch eine gründliche Reinigung und Desinfektion der Abferkelställe zwischen den Durchgängen deutlich verringert werden. Wie aus den Befragungen der Betriebsleiter hervorgeht, bestanden bei den teilnehmenden ökologisch wirtschaftenden Ferkelerzeugern allerdings große Defizite in Hinblick auf die Umsetzung von grundlegenden Hygienemaßnahmen wie Rein-Raus-Prinzips, Reinigung der Buchten zwischen den Durchgängen und ganz besonders bei der Durchführung von Desinfektionsmaßnahmen (s. 3.1.1).

Tabelle 4: *Cl. perfringens* Typ A Nachweise (in % der Proben)

| | <i>Cl. perfringens</i> Typ A | ...davon mit β 2-Toxingen |
|--------------------------|---------------------------------|------------------------------------|
| Saugferkel gesamt | 49,28 % | 94,21 % |
| Saugferkel erkrankt | 39,45 % | 89,71 % |
| Saugferkel gesund | 58,88 % | 96,92 % |
| Sauen gesamt | 38,55 % | 8,57 % |
| Sauen Abferkelstall | 34,12 % | 34,78 % |
| Sauen Wartestall | 39,56 % | 1,1 % |

3.1.3 Genotypisierung von *Cl. perfringens* Typ A Isolaten

RAPD-PCR

Im Zuge der RAPD-Typisierung der Projektproben traten insgesamt bei den untersuchten *Cl. perfringens* Typ A Isolaten 20 Banden unterschiedlicher Länge auf, anhand deren Vorhandensein bzw. Fehlen die Profile näher typisiert wurden. Die Auswertung dieser RAPD-Profile ergab eine hohe Diversität der untersuchten Isolate, sowohl insgesamt betrachtet, als auch innerhalb einzelner Betriebe. Insgesamt wurden 184 verschiedene RAPD-Profile identifiziert. Nur 16 RAPD-Profile traten 5x oder häufiger auf. Diese 16 Profile wurden v. a. in Proben der 2. Probennahmeperiode gefunden. Eine mögliche Erklärung hierfür ist, dass im Zuge der Bestandsfahrten relativ viele Proben aus einem Bestand zum gleichen Zeitpunkt genommen wurden. Dem häufigsten dieser 16 Profile konnten 41 Isolate zugeordnet werden. Fünf dieser Isolate wurden auch mittels MLST untersucht. Unter diesen 16 häufiger auftretenden RAPD-Profilen wurde nur eines identifiziert, welches ausschließlich bei erkrankten Saugferkeln auftrat. Diesem Profil konnten insgesamt 5 Isolate aus 4 Betrieben zugeordnet werden. Drei dieser Isolate aus 3 unterschiedlichen Betrieben wurden zur weiteren Typisierung in die MLST-Untersuchungen aufgenommen.

Fast alle Isolate wiesen in der RAPD-PCR eine kräftige Bande der Länge von 2200 bp bzw. 2000 bp auf. Bei allen Isolaten, in denen das β 2-Toxigen nachgewiesen wurde, zeigte sich die 2200 bp Bande, nicht aber die Bande bei 2000 bp. Isolate ohne β 2-Toxigen zeigten zu 73,0% eine Bande der Länge von 2000 bp. Diese Beobachtung stellt auch den deutlichsten Unterschied zwischen Isolaten von Sauen und Saugferkeln dar. Nur drei Isolate aus Saugferkelproben zeigten diese Bande bei 2000 bp und nur ein Isolat (Sau, Wartestall, kein β 2-Toxin) wies beide Banden auf.

MLST

Alle mittels MLST genauer charakterisierten *Cl. perfringens* Typ A Isolate wiesen in allen 8 untersuchten Loci identische Allele auf. Diese unterschieden sich in jeweils 2-9 Positionen von Strain 13, dem ersten *Cl. perfringens* Isolat, dessen gesamtes Genom entschlüsselt und publiziert wurde (Shimizu et al., 2002). Eine Übersicht der im Zuge des Projekts identifizierten Allele für alle 8 einbezogenen Loci befindet sich im Anhang (s. 8.4).

Das Auftreten mehrerer RAPD-Profile innerhalb eines MLST-Profiles kann dadurch erklärt werden, dass zur MLST eine begrenzte Anzahl an Strukturgenen des jeweils untersuchten Organismus herangezogen wird (Maiden, 1998), während zur RAPD-PCR eingesetzte Primer an verschiedenen, zufällig über das gesamte Genom (inkl. Plasmide und andere besonders variable Bereiche) verteilten Positionen mit unterschiedlicher Affinität binden (Power, 1996). Von diesen

**Untersuchungen zur Pathovar-Prävalenz beim *Escherichia coli*- bedingten Durchfall neugeborener Saugferkel in ökologisch- wirtschaftenden Ferkelerzeugerbetrieben
-Abschlussbericht-**

potentiellen Bindungsstellen ausgehend werden Abschnitte unterschiedlicher Länge mit unterschiedlicher Effektivität amplifiziert. Diese lassen sich nach elektrophoretischer Auftrennung als „genetischer Fingerabdruck“ aus Banden unterschiedlicher Größe und Färbungsintensität darstellen (s. Abbildung 3) (Power, 1996). Generell ist davon auszugehen, dass Typisierungsmethoden, die sehr variable Genomregionen heranziehen (z.B. RAPD, Pulsed-field gel electrophoresis oder Ribotyping) besonders zur epidemiologischen Beschreibung einzelner Krankheitsausbrüche geeignet sind, während sich durch Vergleich von MLST-Sequenztypen „größere“ epidemiologische Zusammenhänge identifizieren lassen (Maiden et al., 1998).

3.1.4 Ausarbeitung von betriebsindividuellen Prophylaxeempfehlungen

Auf Grundlage der auf den Betrieben erhobenen Daten und den Ergebnissen der Erregerdiagnostik bei erkrankten Saugferkeln wurden betriebsindividuelle Empfehlungen zur Prophylaxe von Saugferkeldurchfällen erstellt. Für jeden Betrieb wurden 4-7 Maßnahmen (Ø 5) identifiziert, die ohne bauliche Veränderungen des Stalls umgesetzt werden können und die Immunität der Ferkel unterstützen bzw. den Infektionsdruck im Stall senken. In Tabelle 5 ist dargestellt, wie häufig die einzelnen Maßnahmen (nach Zielsetzung der jeweiligen Maßnahme und zeitlicher Einordnung in den Betriebsablauf in 8 Gruppen zusammengefasst) angeraten wurden. Dabei ist auch aufgeschlüsselt, in welcher Rangfolge die einzelnen Prophylaxemaßnahmen in den Empfehlungen genannt wurden. Auch in dieser Aufstellung zeigt sich, dass vor allem in den Bereichen Reinigung und Desinfektion als auch in der konsequenten Überwachung Geburtsverlauf und Kolostrumaufnahme, welche 9 bzw. 8 mal als eine der beiden wichtigsten einzuführenden/zu optimierenden Maßnahmen identifiziert wurden, Verbesserungsbedarf besteht. Als unterstützende Maßnahme auf mittlerer bis hinterer Position in der Rangfolge der Maßnahmen für die einzelnen Betriebe wurde 18 von 19 Ferkelerzeugern eine Zufütterung der Saugferkel mit Ferkelmilch im Falle einer MMA-Erkrankung der Sau oder großen Würfen, bei denen kein Wurfausgleich möglich ist, angeraten, um einem Energiedefizit bei den schwächeren Ferkeln sowie Stress und Verletzungen durch Rankämpfe am Gesäuge vorzubeugen. Über die betriebsindividuellen Prophylaxeempfehlungen hinaus wurde allen Betriebsleitern bei erneutem Auftreten von Ferkeldurchfällen zum Einsatz einer oralen Rehydratations-Lösung geraten.

Für 2 Betriebe konnte aufgrund fehlender Probeneinsendungen und Angaben zum Management nur eine allgemeine Empfehlung gegeben werden. Aus diesem Grund sind nur 19 Betriebe in diese Auswertung eingegangen.

Projekt-Nr. BLE 2808 OE 180

Untersuchungen zur Pathovar-Prävalenz beim *Escherichia coli*- bedingten Durchfall neugeborener Saugferkel in ökologisch- wirtschaftenden Ferkelerzeugerbetrieben -Abschlussbericht-

Tabelle 5: Empfehlungen für Prophylaxe-Maßnahmen für 19 ökologisch wirtschaftende Ferkelerzeuger, aufgegliedert anhand der Priorität der jeweiligen Maßnahmen

| Maßnahme | gesamt | als Maßnahme __. Priorität genannt | | | | | | |
|---|--------|------------------------------------|----|----|----|----|----|----|
| | | 1. | 2. | 3. | 4. | 5. | 6. | 7. |
| Reinigung & Desinfektion (verbessern) | 17 | 6 | 3 | 3 | 1 | 3 | 1 | 0 |
| Geburt & Kolostrumaufnahme überwachen | 15 | 1 | 7 | 3 | 4 | 0 | 0 | 0 |
| Zufütterung bei Milchmangel/großen Würfen | 18 | 2 | 0 | 3 | 6 | 5 | 2 | 0 |
| Einführung/Veränderung Muttertierimpfung | 13 | 0 | 5 | 4 | 3 | 0 | 1 | 0 |
| Kontakt der Ferkel zu Sauenkot reduzieren | 11 | 1 | 2 | 4 | 1 | 2 | 1 | 0 |
| Weitere (labordiagnostische) Abklärung | 9 | 3 | 0 | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 |
| Kokzidien-Metaphylaxe | 8 | 5 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| Fütterung eines geeigneten Prestarters | 5 | 1 | 1 | 0 | 1 | 2 | 0 | 0 |

3.2 Verwertbarkeit der Ergebnisse

Mit den nunmehr vorliegenden Ergebnissen wurde ein wichtiger Betrag zur Aktualisierung der Erregerprävalenz bei der Saugferkel-Diarrhoe geleistet. Für die ökologische Landwirtschaft ist die vorliegende Erhebung die erste ihrer Art. Die Resultate geben wichtige Hinweise bezüglich des Auftretens bakterieller, viraler und parasitärer Krankheitserreger und sind für die Auswahl effizienter Prophylaxemaßnahmen von hoher Wichtigkeit.

Entgegen der allgemeinen Annahme und der ursprünglichen Zielrichtung des vorliegenden Forschungsvorhabens spielen ETEC aktuell in diesem Bereich eine untergeordnete Rolle. Die Identifizierung der ETEC-Virulenzfaktoren ergab bis auf einige wenige Ausnahmen, dass hier keine wesentlichen Unterschiede zu den bisher bekannten Typen zu verzeichnen waren. Somit sind auch die kommerziell verfügbaren Vakzine mit ihren EHEC Komponenten nach wie vor gut geeignet, um eine optimale, möglichst spezifische Immunprophylaxe in diesem Teilbereich durchzuführen. Dennoch kommen Stämme mit abweichender Virulenzfaktor-Ausstattung vor. Dies wiederum unterstreicht die Notwendigkeit einer ätiologischen Diagnostik bei Auftreten erster Erkrankungsfälle innerhalb eines Betriebes. Mit der auch in dieser Studie verwendeten Multiplex-PCR lassen sich wichtige Virulenzfaktor-Gene kostenmäßig moderat nachweisen. Die daraus gewonnenen Informationen sichern den Einsatz der jeweils optimalen immunprophylaktischen Maßnahme. Treten neue Typen oder Kombinationen auf, steht mittels des Einsatzes der stallspezifischen Vakzinierung eine Alternative zu kommerziellen Impfstoffen zur Verfügung.

Ähnlich wie in Ferkelerzeugerbetrieben der konventionellen Landwirtschaft konnten Rotaviren in nicht unerheblichem Umfang nachgewiesen werden. Da hier kein zugelassener Impfstoff für den Bereich „Schwein“ vorhanden ist, kann hier nur durch allgemeine Hygienemaßnahmen sowie durch spezifische Desinfektionsmaßnahmen eine Verbesserung der Situation in den betroffenen Betrieben erreicht werden.

Untersuchungen zur Pathovar-Prävalenz beim *Escherichia coli*- bedingten Durchfall
neugeborener Saugferkel in ökologisch- wirtschaftenden Ferkelerzeugerbetrieben
-Abschlussbericht-

Die Nachweisrate bei den Coccidien war mit 20% ebenfalls relativ hoch. Überwiegend betrafen diese Nachweise allerdings Co-Infektionen. Infektionen mit dem Nachweis hochgradiger Befallsstärken traten jedoch nur selten auf. Auch hier sollten durch Optimierung der Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen allgemein eine Verbesserung der Gesundheitssituation erreicht werden.

Von besonderer Bedeutung für die Ergebnisbewertung des vorliegenden Forschungsvorhabens sind die vermehrten Nachweise β 2-Toxigen tragenden *Cl. perfringens* Typ A Isolate. Diese traten mit unerwartet hoher Prävalenz sowohl bei durchfall-kranken, als auch bei gesunden Ferkeln auf. Lediglich bei den Sauen waren die Nachweisraten geringer. In den aktuell verfügbaren wissenschaftlichen Publikationen zu diesem Thema finden sich keine Daten zum Auftreten von β 2-Toxigen tragenden *Cl. perfringens*-Isolaten bei gesunden Muttersauen. Somit konnte mit der vorliegenden Studie erstmals Ergebnisse zur Prävalenz dieser Erreger in der Population klinisch gesunder Muttersauen vorgelegt werden. Diese Befunde geben einerseits wichtige Hinweise auf die Infektionsquellen in den Ferkelerzeugerbetrieben. Andererseits wird durch diese Resultate die für das vorliegende Forschungsvorhaben wichtige Frage beantwortet, weshalb trotz des Einsatzes immunprophylaktischer Maßnahmen dem Saugferkeldurchfall in den Betrieben nach wie vor eine große Bedeutung zukommt. Entgegen den bisherigen Annahmen scheint zumindest der Muttersau in diesem Infektionsgeschehen, insbesondere deren Bedeutung als Infektionsquelle, eher eine geringere als bisher angenommene Bedeutung zu zukommen. Offensichtlich sind unzureichende Desinfektionsmaßnahmen gegenüber diesen Sporenbildenden und gegenüber Umwelteinflüssen resistenten Bakterien nach der Buchtenräumung eines Durchganges die Hauptursache für ein neues Infektionsgeschehen innerhalb eines Folgedurchganges. Die Situation wird noch dadurch verschärft, dass geeignete Impfstoffe mit einer *Cl. perfringens* Typ A Komponente derzeit nicht verfügbar sind. Berichte über den erfolgreichen Einsatz stallspezifischer Impfstoffe aus der konventionellen Landwirtschaft bestätigen die Notwendigkeit dieser immunprophylaktischen Maßnahme. Neben den in Zusammenhang mit der Stammauswahl stehenden gesetzlichen Bestimmungen ist der Impferfolg allerdings immer von einer geeigneten Auswahl der in dem betreffenden Betrieb vorkommenden Krankheitserreger abhängig. Auf die bereits oben angeführte Notwendigkeit der Laboruntersuchung zur ätiologischen Ursachenklärung wird hier erneut verwiesen.

Der Vergleich der Ausstattung an Virulenzgenen bei *Cl. perfringens* Isolaten unterschiedlicher Herkunft ergab kaum Unterschiede. Durch die Untersuchung mittels RAPD-PCR konnten jedoch diverse Genotypen identifiziert werden. In der wissenschaftlichen Literatur finden sich nur sehr wenige Untersuchungsergebnisse der RAPD-PCR-Typisierung von *Cl. perfringens* Typ A- Isolaten bei Saugferkeln. Umso interessanter ist der Nachweis eines RAPD-Typs, der ausschließlich bei durchfall-kranken Ferkeln isoliert werden konnte. Inwieweit hier möglicherweise andere, bisher unbekannte Virulenzfaktoren eine Rolle spielen, bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten.

**Untersuchungen zur Pathovar-Prävalenz beim *Escherichia coli*- bedingten Durchfall neugeborener Saugferkel in ökologisch- wirtschaftenden Ferkelerzeugerbetrieben
-Abschlussbericht-**

Mit der RAPD-PCR-Typisierung steht nunmehr ein einfaches, routine-taugliches und praxisnahes Verfahren zu schneller Identifizierung unterschiedlicher Erregertypen zur Verfügung. Mittels dieser Technik lassen sich sowohl innerhalb eines Bestandes häufig vorkommende Erregertypen identifizieren. Diese könnten dann beispielsweise gezielter als Kandidaten für einen stallspezifischen Impfstoff ausgewählt werden. Auch zur Klärung epidemiologischer Zusammenhänge ist das Verfahren brauchbar, wobei für einen Stamm-Vergleich in einem größeren geographischen Maßstab allerdings die MLST die Methode der Wahl darstellt. Durch die hohen Kosten, die die Anwendung verursacht, sollte der Test auf diese Anwendungen beschränkt bleiben. Durch die hohe Standardisierung sind die MLST-Genotypen über eine noch zu erstellende Datenbank labor-unabhängig vergleichbar. Aus diesem Grund ist geplant die MLST-Daten des in der vorliegenden Studie isolierten Genotyps in eine Datenbank ein zu stellen.

Zusammengefasst leisten die gewonnenen Erkenntnisse einen wichtigen Beitrag zum Verständnis der Infektionswege von *Cl. perfringens* auf den Ferkelerzeugerbetrieben und bilden eine Grundlage für weitergehende Untersuchungen an *Cl. perfringens* Typ A im Zusammenhang mit Saugferkeldurchfällen. Dazu gehören insbesondere Studien zur Untersuchung weiterer potentieller Virulenzfaktoren, wie z.B. pCpCna, und die Identifikation geeigneter Antigene für neue Impfstoffe. Weiterhin bilden die Ergebnisse die Grundlage für eine Evaluation von gezielt auf *Cl. perfringens* Typ A bedingte Saugferkeldurchfälle ausgerichteten Prophylaxekonzepten in betroffenen Betrieben. Die verwendeten Genotypisierungsmethoden eignen sich für epidemiologische Untersuchungen von Clostridien-bedingten Durchfällen innerhalb eines Betriebes/einer Erzeugergemeinschaft (insbesondere RAPD). Die MLST ermöglicht auch Vergleiche mit Clostridien-Isolaten „entfernterer Herkunft“ (auch unter Einbeziehung von bereits publizierten Sequenzen), z.B. Isolate aus konventionellen Ferkelerzeugerbetrieben, aber auch Isolate von verschiedenen Tierarten, aus unterschiedlichen Regionen oder aus Lebensmitteln tierischen Ursprungs.

3.3 Empfehlungen für die landwirtschaftliche Praxis

Um der Problematik des Saugferkeldurchfalls wirksam zu begegnen, sind neben erhöhten Aufwendungen für Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen auch diagnostische Maßnahmen zur Identifizierung der am Krankheitsgeschehen beteiligten Keime unerlässlich. Nur anhand einer Keimbestimmung kann beurteilt werden, welche Impfmaßnahme bzw. welche Antibiose erfolgsversprechend ist.

Da es sich bei Saugferkel-Durchfall in der Regel um ein Bestandsproblem handelt, sind bereits wenige Kotproben von erkrankten Saugferkeln hinreichend, um eine belastbare Aussage zu den beteiligten Keimen zu treffen. In Relation zum Informationsgehalt sind die mit der Laboranalyse verbundenen Kosten minimal.

4 Zusammenfassung

Saugferkeldurchfall ist eine Faktorenkrankheit, die durch Tierverluste, Wachstumsdepressionen sowie den zusätzlichen therapeutischen Aufwand zu großen wirtschaftlichen Einbußen in der Ferkelproduktion führt. Im Zuge des vorgestellten Forschungsprojekts wurden 699 Kotproben von klinisch an Durchfall erkrankten Saugferkeln aus 258 Würfen von 18 ökologisch wirtschaftenden Ferkelerzeugerbetrieben auf ETEC, *Cl. perfringens*, Rotaviren und Kokzidien untersucht. Außerdem wurden 369 Kotproben von Sauen und 419 Proben von gesunden Ferkeln auf *Cl. perfringens* untersucht. Eine Genotypisierung von 406 kulturell angezüchteten *Cl. perfringens* Isolaten mittels RAPD-PCR schloss sich an. Bei einzelnen Isolaten wurde zusätzlich eine MLST durchgeführt.

In 39,5% der erkrankten Würfe wurde *Cl. perfringens* Typ A nachgewiesen, welches hiermit der am häufigsten nachgewiesene Durchfallerreger war. 89,7% der *Cl. perfringens* Typ A Isolate wurden positiv auf das β 2-Toxigen getestet. Rotaviren traten in 27,6% und Kokzidien in 20,0% der erkrankten Würfe auf, während ETEC mit 7,7% unerwartet selten diagnostiziert wurden. *Cl. perfringens* Typ C wurde in keiner der untersuchten Proben nachgewiesen. Auffällig ist, dass die Nachweisrate für *Cl. perfringens* Typ A bei gesunden Saugferkeln mit 58,9% über der bei erkrankten Saugferkeln liegt und dass nur 8,6% der *Cl. perfringens* Typ A Isolate von Sauen das β 2-Toxigen tragen, welches in 94,2% aller Isolate von Saugferkeln (gesund und erkrankt) nachgewiesen wurde. Diese Erkenntnis deutet darauf hin, dass die Rolle der Sau als Infektionsquelle für die Saugferkel in Hinblick auf *Cl. perfringens* bisher überschätzt wurde. Eine weitere und nach den vorliegenden Ergebnissen die wahrscheinlichste Infektionsquelle für neugeborene Ferkel sind somit Kontaminationen im Abferkelstall aus den vorherigen Durchgängen. Die RAPD-Typisierung aller *Cl. perfringens* Typ A Isolate offenbart eine hohe Diversität innerhalb der *Cl. perfringens* Population auf den Beständen. 8 mittels MLST näher charakterisierte Isolate aus 4 Betrieben und 2 RAPD-Profilen (davon 2 von gesunden Saugferkeln) zeigten identische Allele in allen 8 untersuchten Loci.

Aus einer Befragung der Betriebsleiter geht hervor, dass auf den meisten der teilnehmenden Betriebe erhebliche Defizite in der Durchführung von Hygienemaßnahmen im Abferkelstall und in der Überwachung von Geburtsverlauf und Kolostrumaufnahme bestehen.

5 Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen

Geplanter und tatsächlicher Projektverlauf sind in Übersicht 1 vergleichend dargestellt.

Übersicht 1: Meilensteinplanung im Vergleich zum tatsächlichen Projektverlauf

| Arbeitsschritte | 2009 | 2010 | | | | 2011 | | | |
|---|------|------|----|-----|----|------|----|-----|----|
| | IV | I | II | III | IV | I | II | III | IV |
| Auswahl der Ferkelerzeugerbetriebe, Studienvorbereitung und Unterweisung der Betriebsleiter in die Probenentnahme | | | | | | | | | |
| Erfassung und Auswertung von Daten mithilfe des erarbeiteten CCP-Konzeptes | | | | | | | | | |
| Probenentnahme auf den Betrieben (kranke und gesunde Ferkel sowie Sauen) | | | | | | | | | |
| Kulturell-bakteriologische Untersuchung eingesandter Kotproben | | | | | | | | | |
| Kulturelle Isolierung verdächtiger Feldstämme | | | | | | | | | |
| Durchführung der <i>Cl. perfringens</i> PCR und Toxingennachweis | | | | | | | | | |
| Durchführung der RAPD-PCR (intra-species Typisierung von <i>Cl. perfringens</i> Typ A) | | | | | | | | | |
| Methodenetablierung MLST und Untersuchung ausgewählter <i>Cl. perfringens</i> - Isolate* | | | | | | | | | |
| Auswertung der Analysedaten in Zusammenhang mit den Betriebsdaten | | | | | | | | | |
| Erstellung des Abschlussberichtes | | | | | | | | | |

* diese Arbeitsschritte wurden der Tabelle „Anpassung und Erweiterung des Projektverlaufs“ im Änderungsantrag vom 07. Oktober 2010 und im Antrag auf Umwidmung und Entsperrung von Projektmitteln vom 24. Mai 2011 nicht gesondert aufgeführt.

Geplanter Projektverlauf

Tatsächlicher Projektverlauf

5.1 Studienvorbereitung

Die Vorbereitungsphase diente gemäß Versuchsplanung dazu, ökologisch wirtschaftende Ferkelerzeuger zu kontaktieren, bei Erfüllung der Einschlusskriterien für die Studie zu gewinnen und die Erstbesuche auf den Betrieben vorzubereiten (inkl. Erstellung des Erhebungsbogens und aller notwendigen Unterlagen für die teilnehmenden Betriebe). Dabei war zunächst vorgesehen, nur Betriebe aufzunehmen, die mehr als 40 Sauen halten, um ausreichend hohe Probenzahlen aus den einzelnen Betrieben untersuchen zu können. Die Aufgabe, 20 ökologisch wirtschaftende Ferkelerzeuger für die Studie

**Untersuchungen zur Pathovar-Prävalenz beim *Escherichia coli*- bedingten Durchfall
neugeborener Saugferkel in ökologisch- wirtschaftenden Ferkelerzeugerbetrieben
-Abschlussbericht-**

zu gewinnen, stellte sich aufgrund eines durchgehend geringen Interesses bei den kontaktierten Betriebsleitern als äußerst schwierig heraus. Häufig genannte Gründe für eine Absage waren, dass von den Betriebsleitern nur selten Saugferkeldurchfälle wahrgenommen werden oder dass die Ferkelerzeugung auf dem jeweiligen Betrieb beendet wurde bzw. gerade ausläuft. Um das Ziel, 20 Betriebe in die Studie einzubeziehen, dennoch zu erreichen, wurde ein Aufruf an interessierte Landwirte zur Weiterleitung durch die Verbände verfasst, der jedoch ebenfalls nicht die erwünschte Resonanz brachte. Auch wurden neue Betriebe, die zuvor noch nicht mit dem Fachgebiet für Tierernährung und Tiergesundheit der Universität Kassel zusammengearbeitet hatten, direkt angesprochen, sofern deren Kontaktdaten über die jeweiligen Erzeugerringe erfragt werden konnten. 3 dieser Betriebe erklärten sich zu einer Studienteilnahme bereit. Dennoch mussten auch 2 Betriebe mit weniger als 40 Sauen aufgenommen werden, um auf die angestrebte Zahl von 20 Betrieben zu kommen. Der Zeitplan für die Studienvorbereitung konnte trotz dieses zusätzlichen Aufwandes bei der Suche nach geeigneten Ferkelerzeugern eingehalten werden. Auch alle Arbeiten zur Vorbereitung der Betriebsbesuche wurden, wie geplant, in der Vorbereitungsphase durchgeführt.

5.2 Datenerfassung auf den Betrieben

Die Erhebung aller Betriebsdaten, die für das Auftreten von Saugferkeldurchfällen relevant sind, ist gemäß Antragstellung für den Erstbesuch auf den teilnehmenden Ferkelerzeugerbetrieben vorgesehen. Diese Daten beziehen sich auf Betriebsgröße, Leistungsniveau, Haltung, Betriebshygiene und das Auftreten von Durchfällen bei Saugferkeln in der Vergangenheit. Die Erstbesuche sollten darüber hinaus auch zur Unterweisung der Betriebsleiter in die Probenentnahmemethodik und den Ablauf der Studie genutzt werden. Gemäß Arbeitsplan sollten im Rahmen der Erstbesuche bereits auch Proben erkrankter Ferkel gezogen werden, wenn zum Zeitpunkt des Betriebsbesuchs Saugferkeldurchfälle auftraten. Im Zuge der Erstbesuche wurden die Betriebsleiter in die Probenahme eingewiesen und alle benötigten Materialien (Probengefäße, Probenbegleitformulare, Versandtaschen, Einweghandschuhe, wasserfeste Stifte zur Probenbeschriftung und eine schriftliche Zusammenfassung der Einweisung) hinterlegt. Weiterhin wurden auf den Betrieben die jeweils vorliegenden Angaben zu Management- und Hygienefaktoren erfasst. 2 Betriebsleiter baten darum, die Bögen später selbst ausfüllen zu dürfen. Beide Fragebögen wurden auch auf mehrmalige Aufforderung hin nicht zurückgeschickt. Nur einer der beiden Betriebe hat im Studienverlauf einmalig Kottupfer eingeschickt, so dass eine Auswertung in Hinblick auf Zusammenhänge zwischen den erfassten Betriebsdaten und dem Auftreten von bestimmten Durchfallerregern für diese Betriebe nicht aussagekräftig wäre. Aufgrund dessen, dass die Anzahl der eingesandten Proben hinter den Erwartungen zurückblieben, wurde, wie bereits erwähnt, im Oktober 2010 nachträglich ein zusätzlicher Betrieb gesucht und in die Studie

**Untersuchungen zur Pathovar-Prävalenz beim *Escherichia coli*- bedingten Durchfall neugeborener Saugferkel in ökologisch- wirtschaftenden Ferkelerzeugerbetrieben
-Abschlussbericht-**

aufgenommen. Die Einweisung des Betriebsleiters in die Probennahme und die Datenerhebung auf dem Betrieb erfolgten im Zuge des Erstbesuchs.

Die Erfassung von Anamnesedaten zu den einzelnen Würfen sollte im weiteren Projektverlauf von den Betriebsleitern bzw. den zuständigen Mitarbeitern im Abferkelstall übernommen werden. Die im Rahmen der Studienvorbereitung erstellten Probenbegleitformulare dienten den Landwirten dabei als Hilfe. Die abgefragten Angaben beziehen sich auf die Wurfgröße, das Alter der Ferkel, die Schwere des Ferkeldurchfalls, den Geburtsverlauf, das Vorliegen einer MMA-Problematik bei der Sau und die Kolostrumversorgung der Ferkel nach der Geburt. Bei 11 der 257 beprobten Würfe wurden von den Betriebsleitern entgegen der Studienplanung keine Anamnesedaten erhoben und dokumentiert. 246 Anamnesebögen zu Würfen in denen eine Durchfallerkrankung aufgetreten ist, sind in die Auswertung eingegangen.

Für gesunde Saugferkel, die im Zuge der 2. Probennahmephase beprobt wurden, sollten Alter und Abweichungen in Bezug auf Geburtsverlauf und Gesundheitstatus der Sau erfasst werden. Bei den beprobten Sauen war eine Dokumentation von Standort im Stall (Abferkel- oder Wartestall) und ein Vermerk, wenn es sich um Jungsauen vor dem ersten Wurf handelte vorgesehen. Diese Daten liegen vollständig vor.

5.3 Probenentnahme auf den Ferkelerzeugerbetrieben

Die Probenentnahme sollte gemäß Projektplanung zunächst im Zuge des Erstbesuchs durch die Projektmitarbeiterin sowie im weiteren Verlauf über den Zeitraum eines Jahres durch Mitarbeiter der teilnehmenden Ferkelerzeugerbetriebe erfolgen. Hierbei wurden von jeweils 2 erkrankten Ferkeln aus jedem betroffenen Wurf Kottupfer genommen. Um eine ausreichende Probenmenge für parasitologische und virologische Untersuchung zu erhalten, wurde zusätzlich zu den gemäß Projektantrag geplanten Kottupfern auch eine Sammelkotprobe jedes erkrankten Wurfes genommen und zusammen mit Tupfern und Begleitformular an die Abteilung Veterinärmedizin des Landesbetriebs Hessisches Landeslabor, Gießen versandt (s. Zwischenbericht vom 27. Juli 2010). Insgesamt wurde mit einem Probenaufkommen von ca. 1300 Proben gerechnet.

Bereits in den ersten Monaten der Probennahme zeigte sich, dass die Zahl der Probeneinsendungen deutlich hinter den Erwartungen der Projektteilnehmer zurückblieb. Daraufhin wurden einige der teilnehmenden Ferkelerzeuger von der Projektmitarbeiterin erneut angefahren, um dort erkrankte Saugferkel zu beproben und den Betriebsleitern nochmals Diagnostik und Probennahme zu demonstrieren. Außerdem wurden alle Landwirte im Projekt 2x angeschrieben, um sie an die Probennahmen zu erinnern. Da sich keine dieser Maßnahmen als geeignet erwiesen hat, die Zahl der Probeneinsendungen durch die Landwirte zu erhöhen, wurde für die im Änderungsantrag vom 7. Oktober 2010 beantragte Untersuchung

Projekt-Nr. BLE 2808 OE 180

Untersuchungen zur Pathovar-Prävalenz beim *Escherichia coli*- bedingten Durchfall neugeborener Saugferkel in ökologisch- wirtschaftenden Ferkelerzeugerbetrieben -Abschlussbericht-

von Vergleichsproben gesunder Saugferkel und Sauen keine Erhöhung der Gesamtprobenzahl einkalkuliert. Seit Eingang des Änderungsbescheides vom 9. November 2010 wurden auch Vergleichsproben gesunder Saugferkel und Sauen untersucht. Aufgrund dessen, dass die Vergleichsproben gesunder Tiere erst in den letzten 4,5 Monaten der ursprünglich vorgesehenen Probennahmephase hinzukamen, ist die Zahl der bis Ende März 2011 (= Ende des ursprünglich zur Probennahme vorgesehenen Zeitraums) eingegangenen Vergleichsproben klinisch gesunder Tiere deutlich hinter der Zahl beprobter Ferkel mit Durchfall zurückgeblieben. Bis zu diesem Zeitpunkt wurden 688 Kotproben erkrankter Saugferkel aus 251 Würfen genommen und zur Untersuchung eingeschickt. Hinzu kommen 42 Vergleichsproben gesunder Saugferkel sowie 3 Kotproben von Sauen im Abferkelstall. Um eine ausreichende Anzahl Vergleichsproben gesunder Tiere untersuchen zu können, wurde der Arbeitsplan um eine 2. Probennahmephase erweitert (s. Umwidmungsantrag vom 24. Mai 2011). Im Zuge dieser 2. Probennahmephase wurden 6 ausgewählte Betriebe erneut angefahren, um weitere Proben von gesunden Saugferkeln und Sauen zu ziehen. Die Auswahl der Betriebe erfolgte auf Grundlage der Probeneinsendungen in der 1. Probennahmephase. Auf 3 dieser Betriebe wurden zum Zeitpunkt des 2. Bestandsbesuchs auch einzelne Würfe mit erkrankten Ferkeln angetroffen und beprobt. Insgesamt wurden in der 2. Probennahmephase 366 Kotproben von Sauen, 377 Kottupfer gesunder Ferkel und 11 Kottupfer erkrankter Ferkel entnommen.

Bis zum Projektabschluss sind insgesamt 1487 Proben eingegangen und untersucht worden. Das vor Projektbeginn geschätzte Probenaufkommen von 1300 Proben wurde demnach um 187 Proben (= 14,4 %) überschritten.

5.4 Nachweis relevanter Erreger von Saugferkeldurchfällen

Kotproben von Saugferkeln bzw. Sauen sollten noch am Tag der Probennahme zur mikrobiologischen Untersuchung an den Landesbetrieb Hessisches Landeslabor in Gießen versandt bzw. gebracht und unmittelbar nach Eintreffen im Labor des Fachgebiets bakteriologische und mykologische Diagnostik der Abteilung Veterinärmedizin der bakteriologischen, parasitologischen und virologischen Untersuchung zugeführt werden. Aus der Kultur isolierte Bakterienkolonien von *E. coli* und *Cl. perfringens* sollten zusätzlich mittels Multiplex-PCR auf die wichtigsten Virulenzfaktorgene untersucht werden. Vorgesehen war weiterhin, alle Probenergebnisse nach Abschluss der einzelnen Untersuchungen in einer Datenbank zu speichern, welche auch die Informationen aus den jeweiligen Probenbegleitzetteln enthält. Auf Grundlage der bis Mai 2011 vorliegenden ersten Ergebnisse, wurde der Untersuchungsumfang bei den zwischen Juli und September 2011 gezogenen Proben auf eine bakteriologische Untersuchung auf Anaerobier reduziert (s. Antrag auf Umwidmung und Entsperrung von Projektmitteln vom 24. Mai 2011).

Untersuchungen zur Pathovar-Prävalenz beim *Escherichia coli*- bedingten Durchfall
neugeborener Saugferkel in ökologisch- wirtschaftenden Ferkelerzeugerbetrieben
-Abschlussbericht-

Die oben angegebenen Laboruntersuchungen wurden entsprechend der Projektplanung durchgeführt. Die Dokumentation der Ergebnisse erfolgte über den gesamten Verlauf der Erregerdiagnostik zeitnah zum Abschluss der Untersuchung der jeweiligen Probe.

5.5 Genotypisierung von *Cl. perfringens* Isolaten

Vor Beginn der RAPD-Typisierungen von Projektproben waren zunächst Vorversuche zur Optimierung der Methodik in Hinblick auf die Typisierung von *Cl. perfringens* erforderlich. Gemäß Projektplanung sollten diese im letzten Quartal 2010 durchgeführt werden. Im Rahmen der Vorversuche sollten 4 RAPD-Primer, welche im Landesbetrieb Hessisches Landeslabor zur Verfügung stehen, mit je 3-5 *Cl. perfringens* Isolaten getestet werden, um das für dieses Bakterium am besten geeignete Testsystem zu identifizieren. Der im Änderungsantrag vom 7. Oktober aufgestellte Arbeitsplan sah weiterhin vor, alle Clostridienisolate mittels RAPD zu typisieren. Auf Grundlage der ersten Studienergebnisse bis September 2010 wurde erwartet, dass ca. 380 Clostridienisolate aus den bis zum Ende der Probenentnahmen eingegangenen Kotproben angezüchtet und subkultiviert sein würden.

Um die RAPD-Typisierung von Clostridien-Isolaten durchführen zu können, wurden dem Arbeitsplan entsprechend zunächst die notwendigen Vorversuche mit 4 RAPD-Primern durchgeführt. Da sich keiner dieser Primer entgegen den Erwartungen unter den für andere Bakterienspezies etablierten Reaktionsbedingungen als geeignet für die Typisierung von *Cl. perfringens* erwiesen hat, musste die Methodik zunächst in allen 4 Testsystemen auf *Cl. perfringens* optimiert werden. Im Zuge dieser Vorversuche zeigte sich Primer A3 (Bougnoux et al., 1994) unter optimierten Reaktionsbedingungen als besonders geeignet für die geplante Typisierung. Mit insgesamt 227 Reaktionsansätzen stellten sich die Vorversuche zur RAPD jedoch erheblich umfangreicher dar, als zunächst im Arbeitsplan angenommen. Nach Abschluss der Vorversuche wurden, wie geplant, alle asservierten *Cl. perfringens* Isolate aus Projektproben mittels RAPD typisiert. Hierfür wurden 406 Typisierungen durchgeführt und ausgewertet.

Nach Auswertung aller RAPD-Ergebnisse sollten ggf. auf Grundlage der Anamnesedaten und der RAPD-Profile besonders interessante Isolate ausgewählt und mittels MLST genauer charakterisiert werden. Zur Auswahl dieser Isolate war vorgesehen, zunächst diejenigen *Cl. perfringens* Isolate zu identifizieren, die in Hinblick auf die Anamnesedaten epidemiologisch von besonderem Interesse sind und häufig auftretende RAPD-Profile aufweisen. Die publizierte Methodik (Jost et al. 2006; Chalmers et al. 2008) war im Landesbetrieb Hessisches Landeslabor zum Zeitpunkt dieser Planungen noch nicht etabliert. Aus diesem Grund war auch die Methodenetablierung der MLST für *Cl. perfringens* Bestandteil des Arbeitsplans. Auf Grundlage guter Erfahrungen mit der Etablierung einer speziellen MLST-Analyse für B-Streptokokken (Jones et al., 2003) wurde damit

**Untersuchungen zur Pathovar-Prävalenz beim *Escherichia coli*- bedingten Durchfall neugeborener Saugferkel in ökologisch- wirtschaftenden Ferkelerzeugerbetrieben
-Abschlussbericht-**

gerechnet, dass eine eher geringe Zahl an Testläufen zur Methodenetablierung notwendig werden würde. Für Methodenetablierung und Untersuchung von Projektproben wurde mit insgesamt ca. 40 Typisierungen gerechnet. Im Fall von *Cl. perfringens* stellte sich die Einführung der Methodik jedoch deutlich aufwendiger dar. Nachdem das in der Literatur angegebene Protokoll nicht die erwünschten Resultate lieferte, wurden verschiedene Modifikationen des Verfahrens mit *Cl. perfringens* Kontrollstämmen in Doppelansätzen getestet. Erst nach 20 Testläufen (=40 Typisierungen) konnten letztendlich erstmals wiederholbare Sequenzierungen erzielt werden. Wie unter 3.1.3 bereits erläutert, wurden anschließend 8 *Cl. perfringens* Isolate für die MLST ausgewählt, die 2 besonders interessanten RAPD-Profilen zugeordnet werden konnten. Die MLST erfolgte planmäßig nach Abschluss der RAPD-Typisierungen im November 2011. Aufgrund dessen, dass zur Methodenetablierung deutlich mehr Ansätze notwendig wurden, als ursprünglich kalkuliert, liegt auch die Gesamtzahl MLST-Untersuchungen mit 48 über der im Änderungsantrag vom 7. Oktober 2010 veranschlagten Zahl von 40 Typisierungen.

5.6 Auswertung der Ergebnisse

Eine Auswertung von Betriebsdaten und Laborergebnissen sollte vorgenommen werden, sobald die jeweils benötigten Daten vorlagen. Von besonderem Interesse waren dabei zunächst die Prävalenzen der einzelnen Durchfallerreger auf ökologisch wirtschaftenden Ferkelerzeugerbetrieben. Diese Daten sollten auch in Hinblick auf mögliche Unterschiede zu konventionellen Haltungen geprüft werden. Auf Grundlage dieser Ergebnisse sollte bewertet werden, ob ggf. auf ökologisch wirtschaftenden Betrieben andere Maßnahmen gegenüber Saugferkeldurchfällen notwendig sind, als in der konventionellen Ferkelproduktion. Die Ergebnisse der Genotypisierung von *Cl. perfringens* Typ A Isolaten sollen Aussagen zur Diversität der Clostridien-Population insgesamt und auf den einzelnen Betrieben ermöglichen. Außerdem sollte beantwortet werden, ob Unterschiede zwischen *Cl. perfringens* Isolaten von gesunden und erkrankten Saugferkeln bzw. verschiedenen Altersgruppen bestehen. Durch den Vergleich mit *Cl. perfringens* Typ A Isolaten von Sauen sollten epidemiologische Zusammenhänge auf den einzelnen Betrieben geprüft werden. Außerdem sollten geeignete Pathogenitätsfaktoren bzw. geeignete Stämme zur Herstellung einer (bestandsspezifischen) Vakzine identifiziert werden, um dem Krankheitsbild des Saugferkeldurchfalls besser begegnen zu können.

Die Daten, die im Zuge der Erstbesuche der 20 Bestände erhoben wurden, die im ersten Quartal 2010 in die Studie aufgenommen wurden, sind bereits zur Erstellung des Zwischenberichtes vom 27. Juli 2010 zusammengestellt und wurden für den Vortrag „Untersuchungen zur Durchfallproblematik bei Saugferkeln in ökologisch wirtschaftenden Betrieben,“ auf einem Fachkolloquium der Fachgruppe Nutztierwissenschaften (s. Abschnitt 7) um die Angaben des 21.

**Untersuchungen zur Pathovar-Prävalenz beim *Escherichia coli*- bedingten Durchfall
neugeborener Saugferkel in ökologisch- wirtschaftenden Ferkelerzeugerbetrieben
-Abschlussbericht-**

Betriebes ergänzt. Für den Zwischenbericht, den genannten Vortrag sowie den Posterbeitrag zum FEMS-Kongress 2011 (s. Abschnitt 7) fanden zudem vorab Auswertungen der zum jeweiligen Zeitpunkt bereits vorliegenden Ergebnisse der Erregerdiagnostik bei erkrankten Saugferkeln statt. Nach Abschluss der bakteriologischen Diagnostik an den Proben, die während der 2. Probennahmeperiode gezogenen wurden, lagen letztendlich die unter 3.1.2 präsentierten Endergebnisse vor. Die RAPD-Typisierung aller *Cl. perfringens* Isolate wurde im Oktober 2011 abgeschlossen. Eine erste Auswertung der Ergebnisse (s. 3.1.3) schloss sich unmittelbar an, um Isolate für die MLST auszuwählen. Die in der MLST erhaltenen Sequenzen wurden miteinander und mit der publizierten Sequenz von *Cl. perfringens* strain 13 verglichen.

Eine detaillierte Auswertung der RAPD-Ergebnisse in Hinblick auf die genetischen Beziehungen der einzelnen Isolate eines Betriebes sowie innerhalb der Gesamtheit der Isolate konnte aus zeitlichen Gründen noch nicht umgesetzt werden, soll aber im Zuge der Publikation der Endergebnisse vorgenommen werden.

5.7 Ausarbeitung von betriebsindividuellen Prophylaxeempfehlungen

Nach Abschluss der Erregerdiagnostik bei erkrankten Saugferkeln sollten auf Grundlage dieser Ergebnisse sowie der auf den Betrieben erhobenen Daten nicht nur eine allgemeingültige Prophylaxeempfehlung, sondern auch betriebsindividuelle Empfehlungen zur Vorbeugung von Saugferkeldurchfällen für alle teilnehmenden Ferkelerzeugerbetriebe erstellt werden. Sowohl die Formulierung allgemeiner Prophylaxemaßnahmen in Hinblick auf Saugferkeldurchfälle, als auch die Erstellung von betriebsindividuellen Empfehlungen auf Grundlage der jeweiligen Besonderheiten im Management, der erhobenen Anamnesedaten und Ergebnisse der Erregerdiagnostik wurden dem Arbeitsplan entsprechend realisiert. Die erstellten Empfehlungen für alle 21 teilnehmenden Ferkelerzeuger sind im Anhang unter 8.6 nachzulesen.

5.8 Publikation der Ergebnisse

Die Resultate der Studie sollten sowohl in einer international verbreiteten wissenschaftlichen Zeitschrift, als auch in einem landwirtschaftlichen, den Ferkelerzeugern zugänglichen Fachorgan publiziert werden. Zusätzlich sind Vorträge, sowohl auf einer wissenschaftlichen Tagung, als auch vor Landwirten und landwirtschaftlichen Beratern geplant. Das unter 5.6 bereits erwähnte Fachkolloquium der Fachgruppe Nutztierwissenschaften richtet sich an Agrarwissenschaftler und Student/Innen. Zur Information von Landwirten und landwirtschaftlichen Beratern wurde die Zeitschrift Landwirtschaftliches Wochenblatt („Hessenbauer“) gewählt, in welcher ein Artikel über Ursachen und Prophylaxe von Saugferkeldurchfällen veröffentlicht wurde (s. Abschnitt 7). Eine den

Untersuchungen zur Pathovar-Prävalenz beim *Escherichia coli*- bedingten Durchfall
neugeborener Saugferkel in ökologisch- wirtschaftenden Ferkelerzeugerbetrieben
-Abschlussbericht-

Ferkelerzeugern zugängliche Publikation aus dem Projekt heraus ist also bereits erschienen. Erste Ergebnisse des Projektes wurden auf dem FEMS-Kongress 2011 auch einem internationalen Fachpublikum präsentiert (s. Abschnitt 7).

Eine Publikation in einer internationalen wissenschaftlichen Zeitschrift konnte noch nicht realisiert werden, da die Datenauswertung zum Zeitpunkt des Abschlussberichts noch nicht vollständig abgeschlossen war (s. 5.6). Es ist geplant die abschließend ausgewerteten Ergebnisse des Projektes mit besonderem Schwerpunkt auf die Erkenntnisse zur Rolle von *Cl. perfringens* im Jahr 2012 als wissenschaftliche Publikation bei der Zeitschrift *Veterinary Microbiology* einzureichen.

6 Literaturverzeichnis

- Baumgartner J, Leeb T, Gruber T, Tiefenbacher R** (2003): Husbandry and animal health on organic pig farms in Austria. *Animal Welfare* 12: 631-635.
- Bosworth B, Casey T** (1997): Identification of toxin and pilus genes in porcine *Escherichia coli* using polymerase chain reaction (PCR) with multiple primer pairs. 97th General Meeting of the American Society for Microbiology, Miami Beach, May 4-8.
- Bougnoux ME, Robert F, Beria S, Cassinat B, Nicolas MH, Dupouy-Camet J** (1994): Typage moléculaire d'isolats de *Candida* par random amplified polymorphic DNA. *J Mycol Med* 4:3-8.
- Bueschel DM, Jost, BH, Billington, SJ, Trinh, HT, Songer, JG** (2003): Prevalence of *cpb2*, encoding beta2 toxin, in *Clostridium perfringens* field isolates: correlation of genotype with phenotype. *Vet Microbiol* 94:121-129.
- Cannon, RM, Roe RT** (1982): Livestock disease surveys: A field manual for veterinarians. *Australian Bureau of Rural Science, Canberra*; ins Deutsche übersetzt von **Lorenz RJ** (1990) für *Auswertungs- und Informationsdienst für Ernährung Landwirtschaft und Forsten (AID) e. V., Bonn*.
- Chai T, Wang L, Wang H, Duan H, Müller W, Zucker BA** (2007): Isolation and characterization of *Clostridium perfringens* from apparently healthy animals of the Shandong province of China. *Dtsch Tierärztl Wochenschr* 114:394-396.
- Chalmers G, Bruce HL, Hunter DB, Parreira VR, Kulkarni RR, Jiang Y-F, Prescott JF, Boerlin P** (2008): Multilocus Sequence Typing Analysis of *Clostridium perfringens* Isolates from Necrotic Enteritis Outbreaks in Broiler Chicken Populations. *J Clin Microbiol* 46:3957-3964.
- Collins JE, Bergeland ME, Bouley D, Ducommun AL, Francis DH, Yeske P**: Diarrhea associated with *Clostridium perfringens* type A enterotoxin in neonatal pigs. *J Vet Diagn Invest* 1: 351-353 (1989).
- CoreOrganicPig-Project** (2011) *Epidemiological study concerning the characteristics of organic pig farming in selected European countries* <http://www.icrofs.org/coreorganic/corepig.html>
- Costinar L, Pascu C, Herman V, Sorescu D, Surpat A** (2010): Epidemiological study of enteropathogens (*Rotavirus, Escherichia coli, Coccidia, Balantidium coli*) in suckling piglets with diarrhea. *Proceedings of the 2nd ESPHM, Hannover*.
- Doll K** (2002): "Neugeborenenndiarrhoe". In: **Dirksen G, Gründer H-D, Stöber M** (Hrsg.): Innere Medizin und Chirurgie des Rindes. 4. Auflage. *Parey Buchverlag (im Blackwell Verlag GmbH), Berlin*.
- Driesen SJ, Carland PG, Fahy VA** (1993): Studies on preweaning piglet diarrhoea. *Aust Vet J* 70:259-262.
- Eich K-O** (1982): Handbuch Schweinekrankheiten. *Verlag Hermann Kamlage, Osnabrück*.
- Fahy VA, Connaughton ID, Driesen SJ, Spicer EM** (1987): Postweaning colibacillosis, 189-201. In: **Barnett JL, Batterham ES, Cronin GM, Hansen C, Hemsworth PH, Hennessy DP, Hughes PE, Johnston NE, King RH** (Hrsg.): Manipulating pig production. *Australasian Pig Science Association, Werribee, Victoria, Australia*.

Projekt-Nr. BLE 2808 OE 180

Untersuchungen zur Pathovar-Prävalenz beim *Escherichia coli*- bedingten Durchfall neugeborener Saugferkel in ökologisch- wirtschaftenden Ferkelerzeugerbetrieben -Abschlussbericht-

- Fairbrother JM, Lariviere S, Johnson WM** (1988): Prevalence of fimbrial antigens and enterotoxins in nonclassical serogroups of *Escherichia coli* isolated from newborn pigs with diarrhea. *Am J Vet Res.* 49:1325-1328.
- Garmory HS, Chanter N, French NP, Bueschel D, Songer JG, Titball RW** (2000): Occurrence of *Clostridium perfringens* β 2-toxin amongst animals, determined using genotyping and subtyping PCR assays. *Epidemiol Infect* 124:61-67.
- Gibert M, Jolivet-Renaud C, Popoff MR** (1997): Beta2 toxin, a novel toxin produced by *Clostridium perfringens*. *Gene* 203:65-67.
- Gotter, V.** (2011a): Die neonatale Diarrhö beim Saugferkel. *Der Praktische Tierarzt* 92(suppl. 6): 26-31.
- Gotter, V.** (2011b): Hygienemaßnahmen in der Abferkelung. *Der Praktische Tierarzt* 92(suppl. 6): 32-36.
- Guscetti F, Hoop RK, Steiger R Bürgi E, Bertschinger HU, Pospischil A** (1994): Diarrheal diseases in 1 to 4 week old suckling piglets from problem herds: microbiol spectrum, histology, enzyme histochemistry. *Schweiz Arch Tierheilk* 136: 366-376.
- Harel J, Lapointe H, Fallara A, Lortie LA, Bigras-Poulin M, Larivière S, Fairbrother JM** (1991): Detection of genes for fimbrial antigens and enterotoxins associated with *Escherichia coli* serogroups isolated from pigs with diarrhea. *J Clin Microbiol.* 29:745-752.
- Heinritzi K** (2006): Krankheiten des Verdauungstrakts. In: **Heinritzi K, Gindele HR, Reiner G, Schnurrbusch U**: Schweinekrankheiten. *Verlag UTB, Stuttgart*.
- Hinaidy HK, Keferböck F, Pichler C, Jahn J** (1988): Vergleichende koprologische Untersuchungen beim Rind. *J Vet Med B* 35:557-569.
- Jäggi M, Wollschläger N, Abril C, Albini S, Brachelente C, Wyder M, Posthaus H** (2009): Retrospective study on necrotizing enteritis in piglets in Switzerland. *Schweiz Arch Tierheilk* 151: 369-375.
- Jestin A, Popoff MR, Mahé S** (1985): Epizootiologic investigations of a diarrheic syndrome in fattening pigs. *Am J Vet Res* 46:2149-51
- Jones N, Bohnsack JF, Takahashi S, Oliver KA, Chan M-S, Kunst F, Glaser P, Rusniok C, Crook DWM, Harding RM, Bishrat N, Spratt BG** (2003): Multilocus sequence typing system for group B *Streptococcus*. *J Clin Microbiol* 41:2530-2536.
- Jost BH, Billington SJ, Trinh HT, Bueschel DM, Songer JG** (2005): Atypical cpb2 genes, encoding beta2- toxin in *Clostridium perfringens* isolates of nonporcine origin. *Infect Immun* 73: 652-656.
- Jost BH, Billington SJ, Trinh HT, Songer JG** (2006a): Association of genes encoding beta2 toxin and a collagen binding protein in *Clostridium perfringens* isolates of porcine origin. *Vet Microbiol* 115: 173-182.
- Jost BH, Hien TT, Songer JG** (2006b): Clonal relationships among *Clostridium perfringens* of porcine origin as determined by multilocus sequence typing. *Vet Microbiol* 116:158-165.
- Katsuda K, Kohmoto M, Kawashima K, Tsunemitsu H** (2006): Frequency of enteropathogen detection in suckling and weaned pigs with diarrhea in Japan. *J Vet Diagn Invest* 18:350-354.
- Kim YJ, Kim JH, Hur J, Lee JH** (2010): Isolation of *Escherichia coli* from piglets in South Korea with diarrhea and characteristics of the virulence genes. *Can J Vet Res* 74:59-64.
- Klaasen HLBM, Molkenboer MJCH, Bakker J, Miserez R, Häni H, Frey J, Popoff MR, v d Bosch JF**: Detection of the β 2 toxin gene of *Clostridium perfringens* in diarrhoeic piglets in The Netherlands and Switzerland. *FEMS Immunol Med Microbiol* 24: 325-332 (1999).
- Krapoth J, Presuhn U, Hellwig E-G** (Hrsg.) (2009): Nutztierpraxis Schwein – Handbuch Schweineproduktion – Ein Leitfaden modernen Managements. *AVA Agrar- und Veterinärakademie, Horstmar-Leer*.
- Kühn T** (2007): Serovarverteilung von *Cl. perfringens* beim Saugferkeldurchfall in einer deutschlandweiten Erhebung. *Arbeitskreis für veterinärmedizinische Infektionsdiagnostik (AVID), 26. AVID-Tagung Bakteriologie, Kloster Banz*.
- Leeb T, Baumgartner J** (2000): Husbandry and health of sows and piglets on organic farms in Austria. In: **Alföldi T, Lockeretz W, Niggli U** (Hrsg.) IFOAM 2000 - The world grows organic; *proceedings of the 13th International IFOAM Scientific Conference held in Basel, Schweiz, August 2000, vdf Hochschulverlag, Zürich*.

Untersuchungen zur Pathovar-Prävalenz beim *Escherichia coli*- bedingten Durchfall
neugeborener Saugferkel in ökologisch- wirtschaftenden Ferkelerzeugerbetrieben
-Abschlussbericht-

- Leflon-Guibout V, Pons J-L, Heym B, Nicolas-Chanoine M-H** (1997): Typing of *Clostridium perfringens* strains by use of Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) system in comparison with zymotyping. *Anaerobe* 3:245-250.
- Löser R, Deerberg F** (2004): Ökologische Schweineproduktion: Struktur, Entwicklung, Probleme, politischer Handlungsbedarf. *Schlussbericht des BLE-Projektes Nr. 02OE175*.
- Maiden CJ, Bygraves JA, Feil E, Morelli G, Russel JE, Urwin R, Zhang Q, Zhou J, Zurth K, Caugant DA, Feavers IM, Achtman M, Spratt BG** (1998): Multilocus sequence typing: a portable approach to the identification of clones within populations of pathogenic microorganisms. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95:3140-3145.
- Mansson I, Smith LDS** (1962): Atypical strains of *Clostridium perfringens* from swine. *Acta Pathol Microbiol Scand* 55:342-348.
- Mansson I, Smith LDS** (2007): Atypical strains of *Clostridium perfringens* from swine. *Microbiol* 153:3830-3837.
- Meer RR, Songer JG** (1997): Multiplex PCR method for genotyping *Clostridium perfringens*. *Am J Vet Res* 58:702-705.
- Moon H, Whipp SC** (1970): Development of resistance with age by swine intestine to effects of enteropathogenic *Escherichia coli*. *J Infect Dis* 122:220-223.
- Morin M, Turgeon D, Jollette J, Robinson Y, Phaneuf JB, Sauvageau R, Beauregard M, Teuscher E, Higgins R, Larivière S** (1983): Neonatal diarrhea of pigs in Quebec: Infectious causes of significant outbreaks. *Can J Comp Med* 47: 11-17.
- Nabuurs MJA, Haagsma J, v d Molen, v d Heijden J** (1983): Diarrhea in one to three week-old piglets associated with *Clostridium perfringens* type A. *Ann Rech Vet* 14:408-411.
- Nabuurs MJ** (1998): Weaning piglets as a model for studying pathophysiology of diarrhea. *Vet Q*. 20(Suppl 3):42-45.
- Nagy B, Fekete PZ** (1999): Enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) in farm animals. *Vet Res* 30:259-284.
- Nathues, H.** (2010): Allgemeine betriebshygienische Maßnahmen. In: **Blahe T** (Leitung): E-Learning-Kurs Grundkurs für Tierärzte zur Erlangung des besonderen Fachwissens gemäß § 7 (2) Schweinehaltungshygieneverordnung. www.vetion.de/elearn. *Vetion.de GmbH, Berlin* und *Akademie für tierärztliche Fortbildung, Bonn*.
- Naumann D, Hempler J** (2009): Kleine Schritte mit großer Wirkung. <http://www.oeko-komp.de/index.php?id=3136>. *Kompetenzzentrum Ökolandbau Niedersachsen GmbH (KÖN), Visselhövede*.
- Nienhoff H** (2011): Saugferkeldurchfälle – Optimierte Haltung und Management. *Schwein & Geflügel – Wirtschaftlichkeit und Tiergesundheit*. *Schlütersche Verlagsgesellschaft mbH & Co. KG, Hannover*.
- Oslage I** (Hrsg.) (2009): Reinigung und Desinfektion – Voraussetzung für die Infektionsprophylaxe. In: *Wirtschaftlichkeit durch Tiergesundheit*. *Schlütersche Verlagsgesellschaft mbH & Co. KG, Hannover*.
- PIC Deutschland GmbH** (2000): Saugferkelverluste reduzieren! Aber wie...? *pig-praxis* 6. http://www.picdeutschland.de/picpraxis_6_saugferkelverluste_reduzieren_aber_wie.html. *PIC Deutschland GmbH, Schleswig*
- Power EGM** (1996): RAPD typing in microbiology – a technical review. *J Hosp Infect* 34:247-265
- Prange H** (2004a): Ursachen der Verluste. In: **Prange H** (Hrsg.): *Gesundheitsmanagement Schweinehaltung*. *Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart*.
- Prange H** (2004b): Gesundheit und Leistungen in den Altersgruppen. In: **Prange H** (Hrsg.): *Gesundheitsmanagement Schweinehaltung*. *Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart*.
- Rommel M** (2000): Protozoologische Methoden. In: Rommel, M., Eckert, J., Kutzer, E., Körting, W. Schnieder T: *Veterinärmedizinische Parasitologie*. 5. Auflage. *Parey Buchverlag im Blackwell Wissenschaftsverlag GmbH, Berlin*.
- Schmid G, Walser K** (1990): Erkrankungen der Ferkel. In: **Walser K, Bostedt H** (Hrsg.): *Neugeborenen- und Säuglingskunde der Tiere*. *Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart*.
- Schnorr B, Kressin M** (2001): Embryologie der Haustiere. 4. Auflage. *Enke Verlag, Stuttgart*.
- Selbitz H-J** (2002): Bakterielle Krankheiten der Tiere. In: **Rolle M, Mayr A** (Hrsg.): *Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre*. 7. Auflage. *Enke Verlag, Stuttgart*.
- Selbitz HJ** (2006): Schutzimpfungen beim Schwein - *E. coli*- Infektionen. In: **Selbitz HJ, Moos M** (Hrsg.): *Tierärztliche Impfpraxis*. *Enke Verlag Stuttgart*.

Projekt-Nr. BLE 2808 OE 180

Untersuchungen zur Pathovar-Prävalenz beim *Escherichia coli*- bedingten Durchfall neugeborener Saugferkel in ökologisch- wirtschaftenden Ferkelerzeugerbetrieben -Abschlussbericht-

- Selbitz HJ** (2008): Stallspezifische Vakzine – Alternative oder Ergänzung? *Vortrag auf dem 4. Leipziger Tierärztekongress, 17.-19.01.2008.*
- Shimizu T, Ohtani K, Hirakawa H, Ohshima K, Yamashita A, Shiba T, Ogasawara N, Hattori M, Kuhara S, Hayashi H** (2002): Complete genome sequence of *Clostridium perfringens*, an anaerobic flesh-eater. *Proc Natl Acad Sci USA* 99:996-1001.
- Smith HW, Gyles CL** (1970): The relationship between two apparently different enterotoxins produced by enteropathogenic strains of *Escherichia coli* of porcine origin. *J Med Microbiol* 3:387-401.
- Sojka WJ** (1971): Enteric diseases in new-born piglets, calves and lambs due to *Escherichia coli* infection. *Vet Bull* 41:509-522.
- Songer JG** (1996): Clostridial enteric diseases of domestic animals. *Clin Microbiol Rev* 9:216-234.
- Songer JG, Uzal FA** (2005): Clostridial enteric infections in pigs. *J Vet Diagn Invest* 17:528-536.
- Söderlind O, Thafvelin B, Möllby R** (1988): Virulence factors in *Escherichia coli* strains isolated from Swedish piglets with diarrhea. *J Clin Microbiol* 26:879-884.
- Straw BE, Dewey DE, Wilson MR** (1999): Differential diagnosis of swine diseases. In: **Straw BE, D'Allaire S, Mengeling WL, Taylor DJ** (Hrsg.): Diseases of swine. *Iowa State University Press, Ames.*
- Sundrum A, Benninger T, Richter U** (2004): Statusbericht zum Stand des Wissens über die Tiergesundheit in der Ökologischen Tierhaltung. *Schlussbericht des BLE-Projekts 03OE672.*
- Tschentscher A** (2006): Bestandsspezifische Impfstoffe und ihre Bedeutung in der modernen Veterinärmedizin. Vortrag unter http://www.ivd-gmbh.de/Impfstoffe_und_Ihre_Bedeutung.pdf.
- Vaarst M, Roepsdorff A, Feenstra A, Hogedal P, Larsen A, Lauridsen HB, Hermansen J** (2000): Animal health and welfare aspects of organic pig production. *Proceedings of the 13th International IFOAM Scientific Conference held in Basel, Schweiz, August 2000.* Zürich: vdf Hochschulverlag, 373.
- von Berg S, Hellwig E-G** (Hrsg.), **Hoy S, Johannsen D, Kemper N, Kleine Klausung H, Reiner G** (2011): Nutztierpraxis Schwein – Peripartales Hypogalaktie Syndrom (PHS) der Sau. *AVA Agrar- und Veterinärakademie, Horstmar-Leer.*
- Waldmann K-H, Plonait H** (2004): Erkrankungen der Verdauungsorgane und des Abdomens. In: **Waldmann K-H, Wendt M** (Hrsg.): Lehrbuch der Schweinekrankheiten. 4. Auflage. *Parey Verlag (in MVS Medizinverlage Stuttgart GmbH), Stuttgart.*
- Waters M, Savoie A, Garmory HS, Bueschel D, Popoff MR, Songer JG, Titball RW, McClane BA, Sarker MR** (2003): Genotyping and phenotyping of beta2-toxigenic *Clostridium perfringens* fecal isolates associated with gastrointestinal diseases in piglets. *J Clin Microbiol* 41:3584–3591.
- Wieler LH, Ilieff A, Herbst W, Bauer C, Vieler E, Bauerfeind R, Failing K Klös H, Wengert D, Baljer G, Zahner H** (2001): Prevalence of enteropathogens in suckling and weaned piglets with diarrhoea in southern Germany. *J Vet Med B* 48: 151-159.
- World Health Organization** (2006): Oral Rehydration Salts – Production of the new ORS. *WHO Document Production Services, Genf, CH.*

7 Im Berichtszeitraum realisierte Veröffentlichungen zum Projekt

1. Seeger H: Untersuchungen zur Durchfallproblematik bei Saugferkeln in ökologisch wirtschaftenden Betrieben. Fachkolloquium der Fachgruppe Nutztierwissenschaften, 2. März 2011, Witzenhausen.
2. Seeger H, Werner C, Volmer R, Eisenberg T, Zschöck M: Saugferkeldurchfall hat vielfältige Ursachen. *Landwirtschaftliche Wochenschrift* 13: 11-13. *Landwirtschaftsverlag Hessen GmbH, Friedrichsdorf* (2011).
3. Seeger H, Eisenberg T, Hamann H-P, Nesseler A, Volmer R, Werner C, Sundrum A, Zschöck M: Prevalence of enteropathogens in suckling piglets with diarrhoea in German organic farms. Posterbeitrag FEMS 2011 – 4th Congress of European Microbiologists, 26.-30. Juni 2011, Genf, CH.

8 Anhang

8.1 Fragebogen zur Datenerhebung auf den Ferkelerzeugerbetrieben

Saugferkeldurchfall: Erhebung Betriebsdaten und Management-/Hygienefaktoren

Datum des Betriebsbesuchs:

1.) Allgemeine Betriebsdaten

Betrieb: _____

Betriebsleiter: _____

Adresse: _____

Adresse: _____

Telefon: _____

Fax: _____

Email: _____

Öko-Verband: _____

Umstellung: _____

o Umstellbetrieb seit: _____

o Haupterwerb

o Nebenerwerb

Tierzahlen/Verluste

Anzahl Zuchtsauen: _____

Anzahl Jungsauen: _____

Rasse(n)/Herkunft(e) Sauen: _____

Anzahl Eber auf Betrieb: _____

Rasse(n)/ Herkunft(e) Eber: _____

Mastplätze: _____

o keine eigene Mast

KB o ja

o nein

Abgänge Sauen/Jahr: _____

Eigene Jungsauenaufzucht:

o ja

o nein

Aufgezogene Sauen/Jahr: _____

Zukäufe Sauen:

o ja

o nein

Zahl Zukäufe/Jahr: _____

Fruchtbarkeitsdaten:

Erstbelegungsalter: _____

Nutzungsdauer Sauen: _____

Zwischenwurfzeit: _____

Anzahl Würfe/Sau/Jahr: _____

Produktionsdaten Ferkel: Lebendgeborene Ferkel/Wurf: _____
 Totgeborene Ferkel/Wurf: _____
 Abgesetzte Ferkel/Wurf: _____
 Aufgezogene Ferkel/Wurf: _____
 Absetzalter: _____

Ferkelverluste insgesamt (%): _____
 ...davon: Ferkelverluste Saugferkel (%): _____
 hauptsächlich betroffenes Alter: _____
 Ferkelverluste Absetzer (%): _____

Durchschnittl. Ferkelgewicht zum Geburtszeitpunkt: _____ o nicht gewogen
 Durchschnittl. Ferkelgewicht beim Absetzen: _____ o nicht gewogen
 → Durchschnittliche tägliche Zunahme: _____ o unbekannt

Betriebsmanagement

Dokumentation

Art(en) der Dokumentation: Sauenkarten: o ja o nein
 Bestandsregister: o ja o nein
 EDV : o ja
 sonstiges: _____

Qualität der Dokumentation:
 o vorbildlich o gut o mittelmäßig o mangelhaft

Nutzung für betriebsinternes QM? o ja o nein

Nutzung für externes QM? o ja o nein

Haltungssystem (inkl. Bewertung/Mängel)

→ Wartestall: _____

Gruppengröße: _____

Umstellung in Abferkelstall: Zeitpunkt: _____

Wie bestimmt? _____

→ **Außenklima:** Temperatur: _____
Luftfeuchtigkeit: _____
Helligkeit (Lux): _____
Wetterlage: _____

→ **Abferkelstall:** _____

Stallhaltung Freilandhaltung

Größe/Bucht: _____

Gruppenhaltung? ja nein

Zahl Sauen/Bucht _____

→ Platz/Sau mit Wurf _____

Trennung Funktionsbereiche: vorbildlich gut mittelmäßig mangelhaft

Strukturierung: vorbildlich gut mittelmäßig mangelhaft

Belüftung: Unterdruck Überdruck
Luftzufuhr: auf Tierhöhe oberhalb unterhalb
Luftabzug: auf Tierhöhe oberhalb unterhalb
Effekt: vorbildlich gut mittelmäßig mangelhaft

Stallklima: vorbildlich gut mittelmäßig mangelhaft

Stalltemperatur (Luftraum mittlere Höhe): 1: _____ 2: _____ 3: _____

Luftfeuchtigkeit (Luftraum mittlere Höhe): 1: _____ 2: _____ 3: _____

Beleuchtung: Fenster klar + Lampen Fenster milchig + Lampen Freiland
Sonstiges: _____

Lux: 1: _____ 2: _____ 3: _____
 vorbildlich gut mittelmäßig mangelhaft

Tränke Sau: _____

Sauberkeit: vorbildlich gut mittelmäßig mangelhaft

Erreichbar für Ferkel: ja nein
 bedingt _____

Gesonderte Tränke(n) für Ferkel: ja nein

Fressplatz Sau: _____

Sauberkeit: vorbildlich gut mittelmäßig mangelhaft

Erreichbar für Ferkel: ja nein

Gesonderte Fressplätze für Ferkel: ja nein
bedingt _____

Liegebereich Sau: _____

Boden: Beton Erde Sonstiges: _____

Einstreu: Stroh Sägespäne Sonstiges: _____

Nachstreuen: Frequenz: _____

Menge: _____

Entmistung: Frequenz: _____

Durchführung: _____

Ferkelschutzeinrichtungen: ja nein

Baulicher Zustand: vorbildlich gut mittelmäßig mangelhaft

Sauberkeit: vorbildlich gut mittelmäßig mangelhaft

Auslauf: außen innen Größe: _____

Auch für Ferkel zugänglich? ja nein

bedingt _____

Sauberkeit: vorbildlich gut mittelmäßig mangelhaft

Boden: Beton Erde Sonstiges: _____

Einstreu: Stroh Sägespäne Sonstiges: _____

Nachstreuen: Frequenz: _____

Menge: _____

Entmistung: Frequenz: _____

Durchführung: _____

Baulicher Zustand: vorbildlich gut mittelmäßig mangelhaft

Ferkelnest: _____

Boden: Beton Erde Sonstiges: _____

Einstreu: Stroh Sägespäne Sonstiges: _____

Nachstreuen: Frequenz: _____

Menge: _____
Entmistung: Frequenz: _____
Durchführung: _____

Abdeckung: o ja o nein

Seitliche Abgrenzung: o ja o nein

Schutz _____ vor _____ Zugluft: _____

Wirkung: o vorbildlich o gut o mittelmäßig o mangelhaft
Wärmequelle: _____

Wirkung: o vorbildlich o gut o mittelmäßig o mangelhaft
Temperatur : Nest1: _____ Nest2: _____ Nest3: _____

Sauberkeit: o vorbildlich o gut o mittelmäßig o mangelhaft

Baulicher Zustand: o vorbildlich o gut o mittelmäßig o mangelhaft

Komfortverhalten

Scheuereinrichtungen (Sau): o ja o nein

Welche?: _____

Nestbaumaterial: o nur Einstreu o zusätzl. Stroho andere Materialien: _____

Möglichkeiten zur Thermoregulation (Sau): o ja o nein
o verschieden temperierte Bereiche
o sonstige: _____

Möglichkeiten zur Thermoregulation (Ferkel): o ja o nein
o verschieden temperierte Bereiche
o sonstige: _____

Beschäftigungsmöglichkeiten: _____

Fütterungsmanagement Sauen:

Art der Fütterung: o ad libitum o rationiert
Fütterungen/Tag: _____

Kontrolle Wasser-/Futtermaufnahme: o ja o nein
Wie?: _____

Krafffutter: _____
(Bestandteile) _____

Durchschnittliche Tagesration: _____ kg _____ kJ

Raufutter: _____

Futterumstellung vor der Geburt? o ja o nein
Wann? _____
Umstellungsphase: o ja o nein

Hofeigen: Anteil: _____

Zugekauft: Anteil: _____

Qualität/Analysen: o ja o nein
Ergebnis: _____

Aufstellung liegt vor o ja o nein
Titel: _____

Futterlagerung: _____

Sauberkeit: o vorbildlich o gut o mittelmäßig o mangelhaft

Schutz vor Feuchtigkeit: _____
o vorbildlich o gut o mittelmäßig o mangelhaft

Wasserversorgung: o öffentliche Wasserversorgung o eigener Brunnen
o sonstiges: _____

Sauberkeit: o vorbildlich o gut o mittelmäßig o mangelhaft

Analysen: o ja o nein
Ergebnis: _____

Aufstellung liegt vor o ja o nein
Titel: _____

Fütterungsmanagement Ferkel:

Zufütterung ab: _____
Zusammensetzung: _____

Kontrolle der Futtermittelaufnahme: o ja o nein

Futter Angenommen? o gut o mäßig o kaum

Hygienemaßnahmen

Schutz vor unbefugtem Zutritt:

vorbildlich gut mittelmäßig mangelhaft

Zutritt betriebsfremder Personen: Tierarzt: _____
(Häufigkeit) Anlieferung: _____

Berater: _____

Sonstige: _____

Umkleideraum: ja nein _____

Waschgelegenheit: ja nein
 Dusche Waschbecken

Seife vorhanden: ja nein

Handdesinfektionsmittel vorhanden: ja nein

Sauberkeit: vorbildlich gut mittelmäßig mangelhaft

betriebseigene Schutzkleidung: ja nein

Anzahl/Auswahl: vorbildlich gut mittelmäßig mangelhaft

Zustand: vorbildlich gut mittelmäßig mangelhaft

Stiefelreinigung: ja nein

Spez. Wascheinrichtung Hochdruckreiniger o Schlauch

Stiefeldesinfektion: ja nein _____

Verwendete Desinfektionsmittel:

_____ nach Empfehlung? ja nein

_____ nach Empfehlung? ja nein

_____ nach Empfehlung? ja nein

Trennung der Stallbereiche (Abferkelstall, Absetzer, Wartestall):

getrennte Gebäude getrennte Räume innerhalb eines Gebäudes

innerhalb eines Stallraumes abgetrennt

Abferkelstall:

Rein-/Rausprinzip? ja nein _____

Sauen vor Umstallung gewaschen? ja nein

Reinigungsmittel verwendet? ja nein

Waschbürsten verwendet? ja nein

Fixation Sau: _____

Grundreinigung: ja nein

Wann? / wie oft? _____

Hilfsmittel _____

Reinigung trocken naß naß mit Reinigungsmittel

Verwendete Reinigungsmittel:

_____ nach Empfehlung? ja nein

_____ nach Empfehlung? ja nein

_____ nach Empfehlung? ja nein

Abweichungen: _____

Stalldesinfektion: ja nein

Wann? / wie oft? _____

Wie? _____

Verwendete Desinfektionsmittel:

_____ nach Empfehlung? ja nein

_____ nach Empfehlung? ja nein

_____ nach Empfehlung? ja nein

Abweichungen: _____

Überprüfung Desinfektionserfolg? ja nein

Wie? _____

Tränkeeinrichtungen:

Reinigung: ja nein

Wann? / wie oft? _____

Hilfsmittel _____

Reinigung trocken naß naß mit Reinigungsmittel

Verwendete Reinigungsmittel:

_____ nach Empfehlung? ja nein

_____ nach Empfehlung? ja nein

_____ nach Empfehlung? ja nein

Abweichungen: _____

Desinfektion: ja nein

Wann? / wie oft? _____

Wie? _____

Verwendete Desinfektionsmittel:

_____ nach Empfehlung? ja nein

_____ nach Empfehlung? ja nein

_____ nach Empfehlung? ja nein

Abweichungen: _____

Überprüfung Desinfektionserfolg? ja nein

Wie? _____

Fütterungseinrichtungen:

Reinigung: ja nein
Wann? / wie oft? _____

Hilfsmittel _____

Reinigung trocken naß naß mit Reinigungsmittel

Verwendete Reinigungsmittel:

_____ nach Empfehlung? ja nein

_____ nach Empfehlung? ja nein

_____ nach Empfehlung? ja nein

Abweichungen: _____

Desinfektion: ja nein
Wann? / wie oft? _____

Wie? _____

Verwendete Desinfektionsmittel:

_____ nach Empfehlung? ja nein

_____ nach Empfehlung? ja nein

_____ nach Empfehlung? ja nein

Abweichungen: _____

Überprüfung Desinfektionserfolg? ja nein
Wie? _____

Quarantänestall: ja nein

Abtrennung von restlichen Stallabteilen:

vorbildlich gut mittelmäßig mangelhaft

Nutzung: _____

Prophylaxemaßnahmen

ITB durch Hoftierarzt: ja nein
Besuchsintervalle: _____

Betreuung durch Tiergesundheitsdienst: ja nein
Besuchsintervalle: _____

Betreuung durch andere Berater: ja nein
Wer? _____

Besuchsintervalle: _____

Messung Körpertemperatur Sauen:
Routine: _____

Verdachtsfall: _____

Dokumentation: _____

Messung Körperinnentemperatur Ferkel:
Routine: _____

Verdachtsfall: _____

Dokumentation: _____

Muttertierimpfung o keine Muttertierimpfung durchgeführt

| <i>Erkrankung</i> | <i>Impfschema</i> | <i>Impfstoff</i> |
|----------------------|-------------------|------------------|
| Rota | | |
| Corona | | |
| Kolibakteriose | | |
| Clostridieninfektion | | |
| | | |
| | | |
| | | |

Entwurmungen Sauen o keine Entwurmung durchgeführt

| <i>Medikament</i> | <i>Einsatz</i> | <i>Intervalle</i> |
|-------------------|----------------|-------------------|
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |

Geburtsüberwachung: o ja o nein
Wie? _____

Dokumentation: _____

Überwachung der Kolostrumaufnahme: o ja o nein
Wie? _____

Dokumentation: _____

Wiegen der Ferkel: o ja o nein
Wann? _____

Dokumentation: _____

Eisengabe Ferkel: o ja o nein
Präparat: _____
Wie?: o oral o Injektion _____
Wie oft?: _____ Abstand: _____

Metaphylaxe Kokzidien: o ja o nein

Präparat: _____
 Wie?: _____
 Wann? / Wie oft?: _____

Weitere spezielle Prophylaxemaßnahmen in Bezug auf Saugferkeldurchfall?

Erfolg: _____

Vorbericht Bestandsproblem Saugferkeldurchfall

Betroffene Würfe/Jahr: _____

Betroffene Ferkel/Wurf: _____

Jahreszeitliche Häufung? o ja o nein

Beginn (Lebenstag): _____

Störung Allgemeinbefinden: o ja o nein

Wie viele der betroffenen Ferkel? _____

Verluste nach Durchfallerkrankung: _____

| <i>Kotkonsistenz</i> | <i>In % der Fälle</i> |
|----------------------|-----------------------|
| wachsartig | |
| dünnbreiig | |
| suppig | |
| wässrig | |
| <i>Farbe:</i> | |
| gelb-grün | |
| dunkel | |
| grau | |
| <i>Beimengungen</i> | |
| Blut | |
| Schleim | |
| Fibrin | |
| Nekrot. Gewebe | |

Typischer Verlauf:

Elektrolyttränke angeboten? o ja o nein

Welche? _____

Nach Herstellerempfehlung? o ja o nein

Abweichungen: _____

Angenommen? _____

Erfolg? _____

Frühere Diagnosen (inkl. Labor):

Gesellt von: _____
Diagnose: _____

Gesellt von: _____
Diagnose: _____

Gesellt von: _____
Diagnose: _____

Gesellt von: _____
Diagnose: _____

Gesellt von: _____
Diagnose: _____

Therapieversuche? o ja o nein
Welche?: _____

Erfolg? o ja o nein

8 Anhang

8.2 Probenbegleitformular zur Erhebung der Anamnesedaten für die beprobten Würfe

Probenbegleitformular Projekt „Saugferkeldurchfall“

Proben von nicht vorbehandelten Ferkeln!

Betrieb: _____

Datum der Probennahme: _____

Probeneingangsnummer:
(im LHL ausgefüllt)

Zahl der zeitgleich betroffenen Würfe: _____

...davon beprobte Würfe: _____

Informationen Wurf Nr. _____
(der an o.g. Datum beprobten Würfe)

Sau (Nr.): _____

| | |
|--|--|
| Geburtsdatum des beprobten Wurfes | _____ |
| Anzahl Ferkel im beprobten Wurf | _____ |
| Anzahl milchproduzierender Gesäugekomplexe | _____ O unbekannt |
| Kolostrumaufnahme der Ferkel überwacht? | <input type="radio"/> ja <input type="radio"/> nein |
| Kolostrum von allen Ferkeln aufgenommen? | <input type="radio"/> ja <input type="radio"/> nein |
| Geburt | <input type="radio"/> Frühgeburt <input type="radio"/> berechneter Zeitpunkt |
| Geburtsverlauf | <input type="radio"/> normal <input type="radio"/> verzögert/Schwerg Geburt <input type="radio"/> unbekannt |
| Futtermittelaufnahme Sau | <input type="radio"/> normal <input type="radio"/> vermindert <input type="radio"/> keine <input type="radio"/> unbekannt |
| Körperinnentemperatur Sau – Tag 1 nach Geburt | _____ °C <input type="radio"/> unbekannt |
| Körperinnentemperatur Sau – Tag 2 nach Geburt | _____ °C <input type="radio"/> unbekannt |
| Körperinnentemperatur Sau – Tag 3 nach Geburt | _____ °C <input type="radio"/> unbekannt |
| Allgemeinbefinden Sau | <input type="radio"/> normal <input type="radio"/> gestört |
| Anzahl erkrankter Ferkel in diesem Wurf | _____ |
| ...davon mit gestörtem Allgemeinbefinden | _____ |
| Erste Beobachtung von Durchfall in diesem Wurf | _____ |
| Muttertierimpfung eingesetzt | <input type="radio"/> ja <input type="radio"/> nein Impfstoff: _____ |
| Sonstige Auffälligkeiten | |

Proben:

Kottupfer erkrankter Ferkel (2 Proben aus diesem Wurf)

| Beschriftung | Allgemeinbefinden | Kolostrumaufnahme (falls dokumentiert) |
|--------------|---|---|
| | <input type="radio"/> gestört <input type="radio"/> ungestört | <input type="radio"/> normal <input type="radio"/> vermindert <input type="radio"/> keine |
| | <input type="radio"/> gestört <input type="radio"/> ungestört | <input type="radio"/> normal <input type="radio"/> vermindert <input type="radio"/> keine |

Sammelkotprobe der Ferkel aus diesem Wurf (mind. 4 g):

ja nein

Beschriftung: _____

8 Anhang

8.3 Primersequenzen für molekularbiologische Untersuchungen

Tabelle x: Für molekularbiologische Untersuchungen im Rahmen des

| Methoden | Name | Zielgen | Sequenz (5' → 3') | Quelle |
|---|--------------|-------------------------------|--|----------------------------|
| Molekular- biologische Differenzierung <i>E. coli</i> (Schwein) | STb-1 | <i>est-II</i> | TGC CTA TGC ATC TAC ACA AT | Bosworth & Casey, 1997 |
| | STb-2 | | CTC CAG CAG TAC CAT CTC TA | |
| | STaP-1 | <i>est-Ia</i> | CAA CTG AAT CAC TTG ACT CTT | |
| | STaP-2 | | TTA ATA ACA TCC AGC ACA GG | |
| | K99-1 | <i>fanA</i> | AAT ACT TGT TCA GGG AGA AA | |
| | K99-2 | | AAC TTT GTG GTT AAC TTC CT | |
| | LT-1 | <i>eltB-Ip</i> | GGC GTT ACT ATC CTC TCT AT | |
| | LT-2 | | TGG TCT CGG TCA GAT ATG T | |
| | F18-1 | <i>fedA</i> | TGG TAA CGT ATC AGC AAC TA | |
| | F18-2 | | ACT TAC AGT GCT ATT CGA CG | |
| | P987-1 | <i>fasA</i> | AAG TTA CTG CCA GTC TAT GC | |
| | P987-2 | | GTA ACT CCA CCG TTT GTA TC | |
| | K88-1 | <i>faeG</i> | GAA TCT GTC CGA GAA TAT CA | |
| | K88-2 | | GTT GGT ACA GGT CTT AAT GG | |
| | F41-1 | <i>FimF41a</i> | AGT ATC TGG TTC AGT GAT GG | |
| | F41-2 | | CAA CTA TAA GAG GTT GAA GC | |
| Stx2e-1 | <i>stx2e</i> | AAT AGT ATA CGG ACA GCG AT | | |
| Stx2e-2 | | TCT GAC ATT CTG GTT GAC TC | | |
| Molekular- biologische Differenzierung <i>Cl. perfringens</i> | cpa 1 | <i>cpa</i> | GCT AAT GTT ACT GCC GTT GAT A | Meer & Songer, 1997 |
| | cpa 2 | | TCT GAT ACA TCG TGT AAG | |
| | cpb 1 | <i>cpb</i> | GCG AAT ATG CTG AAT CAT CTA | |
| | cpb 2 | | GCA GGA ACA TTA GTA TAT CTT C | |
| | Beta 1 | <i>cpb2</i> | GAA AGG TAA TGG AGA ATT ATC TTA ATG C | Herholz et al., 1999 |
| | Beta 2 | | GCA GAA TCA GGA TTT TGA CCA TAT ACC | |
| | etx 1 | <i>etx</i> | GCG GTG ATA TCC ATC TAT TC | Meer & Songer, 1997 |
| | etx 2 | | CCA CTT ACT TGT CCT ACT AAC | |
| | iA 1 | <i>iA</i> | ACT ACT CTC AGA CAA GAC AG | |
| | iA 2 | | CTT TCC TTC TAT TAC TAT ACG | |
| cpe 1 | <i>cpe</i> | GGA GAT GGZ ZGG ATA TTA GG | | |
| cpe 2 | | GGA CCA GCA GTT GTA GAT A | | |
| RAPD-PCR <i>Cl. perfringens</i> | A3 | - | TGG ACC CTG C | Bougnoux et al., 1994 |
| MLST <i>Cl. perfringens</i> | plcF | <i>plc</i> | ATA TGA ATG GCA AAG AGG AAA C | Jost et al., 2006 |
| | plcR | | AGT TTT TCC ATC CTT TGT TTT G | |
| | ddlAF | <i>ddlA</i> | ATA ATG GGG GAT CAT CAG TTG C | |
| | ddlAR | | TTA TTC CTG CTG CAC TTT TAG G | |
| | dutF | <i>dut</i> | TTA AGT ATT TTG ATA ACG CAA C | |
| | dutR | | CTG TAG TAC CAA ATC CAC CAC G | |
| | glpKF | <i>glpK</i> | TGG GTT GAG CAT GAT CCA ATG G | |
| | glpKR | | CAC CTT TTG CTC CAA GGT TTG C | |
| | gmkF | <i>gmk</i> | TAA GGG AAC TAT TTG TAA AGC C | |
| | gmkR | | TAC TGC ATC TTC TAC ATT ATC G | |
| | recAF | <i>recA</i> | GCT ATA GAT GTT TTA GTT GTG G | |
| | recAR | | CTC CAT ATG AGA ACC AAG CTC C | |
| | sodF | <i>sod</i> | GAT GCT TTA GAG CCA TCA ATA G | |
| | sodR | | AAT AAT AAG CAT GTT CCC AAA C | |
| tpiF | <i>tpi</i> | AAA TGT GAA GTT GTT GTT TGC C | | |
| tpiR | | CAT TAG CTT GGT CTG AAG TAG C | | |

Projektes BLE 2808OE180 eingesetzte Primer.

8.4 MLST *Clostridium perfringens*: Darstellung des identifizierten Allels im Vergleich zur Sequenz von *Clostridium perfringens* strain 13

Tabelle x: Allelvergleich für *plc* (Projektproben vs. *Cl. perfringens* strain 13).

| | | | | | | | |
|-------------------|---------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| <u><i>plc</i></u> | Position (bp) | 541 | 553 | 634 | 739 | 743 | 758 |
| | stain 13 | A | G | G | T | G | T |
| | Projektproben | G | A | A | C | T | C |

Tabelle x: Allelvergleich für *ddlA* (Projektproben vs. *Cl. perfringens* strain 13).

| | | | | | | | | | |
|--------------------|---------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| <u><i>ddlA</i></u> | Position (bp) | 170 | 212 | 253 | 282 | 295 | 311 | 442 | 473 |
| | stain 13 | C | G | C | C | C | C | T | G |
| | Projektproben | T | A | T | T | T | T | C | A |

Tabelle x: Allelvergleich für *dut* (Projektproben vs. *Cl. perfringens* strain 13).

| | | | | | | |
|-------------------|---------------|-----|-----|-----|-----|-----|
| <u><i>dut</i></u> | Position (bp) | 119 | 120 | 304 | 308 | 385 |
| | stain 13 | G | C | C | G | G |
| | Projektproben | A | A | T | A | A |

Tabelle x: Allelvergleich für *glpK* (Projektproben vs. *Cl. perfringens* strain 13).

| | | | | | | | | | | |
|--------------------|---------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| <u><i>glpK</i></u> | Position (bp) | 195 | 225 | 240 | 294 | 339 | 357 | 399 | 438 | 498 |
| | stain 13 | A | C | C | T | G | A | T | T | T |
| | Projektproben | G | T | T | C | T | G | C | C | C |

Tabelle x: Allelvergleich für *gmk* (Projektproben vs. *Cl. perfringens* strain 13).

| | | | |
|-------------------|---------------|-----|-----|
| <u><i>gmk</i></u> | Position (bp) | 145 | 155 |
| | stain 13 | A | C |
| | Projektproben | T | T |

Tabelle x: Allelvergleich für *recA* (Projektproben vs. *Cl. perfringens* strain 13).

| | | | | |
|--------------------|---------------|-----|-----|-----|
| <u><i>recA</i></u> | Position (bp) | 760 | 781 | 832 |
| | stain 13 | T | A | C |
| | Projektproben | G | G | T |

Tabelle x: Allelvergleich für *sod* (Projektproben vs. *Cl. perfringens* strain 13).

| | | | | | | | | | | |
|-------------------|---------------|-----------------------------|-----------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| <u><i>sod</i></u> | Position (bp) | Insertion zw. 168+169 | Insertion zw. 169+170 | 174 | 234 | 246 | 252 | 465 | 410 | 534 |
| | stain 13 | - | - | T | C | C | T | A | C | T |
| | Projektproben | C | G | C | A | T | C | T | A | C |

Tabelle x: Allelvergleich für *tpi* (Projektproben vs. *Cl. perfringens* strain 13).

| | | | |
|-------------------|---------------|-----|-----|
| <u><i>tpi</i></u> | Position (bp) | 120 | 396 |
| | stain 13 | C | C |
| | Projektproben | T | T |

Projekt „Saugferkeldurchfall“ - BLE-Nr. 2808OE180

Durchfallerkrankungen bei Saugferkeln: Prophylaxeempfehlungen

Die entscheidenden „Stellschrauben“ um das Auftreten von Saugferkeldurchfällen zu verringern sind zum einen das **Senken des Infektionsdrucks** im Stall sowie zum anderen die **Förderung der Erregerabwehr durch das Immunsystem der Ferkel**. Umgekehrt führen auch Durchfallerkrankungen an sich zu einer schlechteren Immunität gegenüber anderen Erkrankungen wie z.B. Atemwegsinfektionen oder Gelenkentzündungen sowie zu geringeren täglichen Zunahmen.

1 Senken des Infektionsdrucks

1.1 Minimierung des Erregereintrags durch die Sauen:

Sauen können Träger von Durchfallerregern für Saugferkel sein ohne selbst zu erkranken. Ein Waschen der Sauen vor Umstallung ist mit einem relativ geringen zusätzlichen Zeitaufwand verbunden und verringert den Eintrag von Krankheitserregern in den Abferkelstall. Wenn kein Waschstand vorhanden ist, sollte das Waschen im Wartestall erfolgen. Auch durch ein häufiges Ausmisten des Sauenkots im Abferkelbereich, am Besten mehrmals täglich (z.B. nach der Fütterung), wird der Infektionsdruck im Stall gesenkt.

1.2 Reinigung und Desinfektion des Abferkelstalls

Um den Infektionsdruck für die neugeborenen Ferkel so gering wie möglich zu halten, sollte der Abferkelstall vor jeder Neueinstellung grundgereinigt und desinfiziert werden. Dabei ist zu beachten, dass sich in Bodenunebenheiten oder schlecht zu reinigenden Ecken Verschmutzungen und Krankheitserreger im Stall halten können. Nur auf gründlich gereinigten Flächen ohne Rückstände des Stallschmutzes kann das aufgebrachte Desinfektionsmittel alle vorhandenen Erreger erreichen. Wichtig ist, die empfohlene Dosierung und Einwirkungszeit einzuhalten. Dabei ist auch zu beachten, dass sich die Einwirkungszeit bei kalten Außentemperaturen verlängert.

Werden die Sauen mit ihren Würfen im Laufe der Säugezeit in Gruppen umgestellt, kommen die Saugferkel mit Krankheitserregern aus den anderen Würfen in der Gruppenbucht in Kontakt. Weiterhin kann die Veränderung der Umgebung bei den Ferkeln zu Stresserscheinungen führen. Um das Erkrankungsrisiko nicht durch Kontakt zu Durchfallerregern aus dem letzten Durchgang zu erhöhen, müssen die Gruppenbuchten vor jeder Neueinstellung genauso gründlich gereinigt und desinfiziert werden, wie der Abferkelbereich.

Bei der Auswahl wirksamer Desinfektionsmittel hilft eine Untersuchung von Kotproben mehrerer typisch erkrankter Ferkel in Hinblick auf den/ die beteiligten Erreger.

2 Unterstützung der Immunabwehr

2.1 Überwachung von Geburtsverlauf und Kolostrumversorgung

Wichtig ist auch die Geburtsüberwachung. Nur wenn die Sauen um den Geburtszeitpunkt herum in regelmäßigen Abständen (auch nachts!) überwacht werden, kann bei Schweregeburten frühzeitig Geburtshilfe geleistet werden, wodurch das MMA-Risiko gesenkt wird. Auch Ferkelverluste um den Geburtszeitpunkt herum werden durch eine sorgfältige Geburtsüberwachung verringert. Ohne eine konsequente Geburtsüberwachung kann die schnelle Erstversorgung der neugeborenen Ferkel nicht gewährleistet werden. Zur Erstversorgung gehört neben Trockenreiben und Nabeldesinfektion auch die Überwachung der Kolostrumaufnahme. Ein gutes Mittel um eine ausreichende Kolostrumversorgung der Ferkel zu gewährleisten ist, alle Ferkel nach der Geburt einzeln anzusetzen. Je früher die Kolostrumaufnahme erfolgt, umso besser werden die schützenden Antikörper aus dem Kolostrum im Darm aufgenommen.

2.2 Nährstoffversorgung der neugeborenen Ferkel

Eine geringe Versorgung der Ferkel mit Nährstoffen kann neben einem verminderten Wachstum auch eine Schwächung des Immunsystems zur Folge haben.

Bedarf für eine Zufütterung von Ferkelmilch besteht bei großen Würfen ohne Möglichkeit zum Wurfausgleich sowie bei einer MMA-Erkrankung der Sau. Liegt eine MMA-Problematik vor, ist nicht nur die Milchproduktion vermindert sondern auch die Qualität der Sauenmilch geringer. Eine Gesäugeentzündung geht mit Schmerzen während des Säugens einher, wodurch sich die Säugezeiten verkürzen. Die Erdrückungsverluste in den ersten Lebenstagen steigen, wenn sich die hungrigen Ferkel vermehrt unter dem Gesäuge aufhalten. Auch bei Zufütterung der Ferkel muss die Behandlung der MMA-Erkrankung umgehend entsprechend der Empfehlungen des Hoftierarztes erfolgen.

2.3 Impfung

Eine Impfung der tragenden Sauen gegen ETEC (enterotoxische *Escherichia coli*; Erreger des „Coli-Durchfalls“) und/oder *Clostridium perfringens* erhöht den Gehalt spezifischer Antikörper im Kolostrum. Geeignete Impfstoffe, die gegen *Clostridium perfringens* Typ C (Erreger der nekrotisierenden Enteritis) und ETEC schützen, stehen zur Verfügung. Für *Clostridium perfringens* Typ A ist zurzeit noch kein kommerzieller Impfstoff erhältlich. Hier kann ein bestandsspezifischer Impfstoff eingesetzt werden.

Auf jeden Fall zu beachten ist, dass eine solche Muttertierimpfung nur dann optimal wirken kann, wenn alle Ferkel in den ersten Lebensstunden ausreichend Kolostrum aufnehmen.

2.4 Ferkelfütterung

Um den Magen-Darm-Trakt der Saugferkel beim Anfüttern mit festem Futter möglichst wenig zu belasten, sollte ein optimal auf die Bedürfnisse der Ferkel abgestimmter Prestarter eingesetzt werden. Vor allem die Beschaffenheit der eingesetzten pflanzlichen Eiweiße und Kohlenhydrate spielt hierbei eine wichtige Rolle. Im Darm verbleibende unvollständig verdaute Anteile und bakterielle Abbauprodukte dieser Futtermittel können Durchfälle auslösen bzw. infektiös bedingte Durchfälle begünstigen. Auf diese Weise begünstigt ein für Saugferkel schlecht verdauliches Futter (z.B. Sauenfutter) das Auftreten von Durchfallerkrankungen. Der Futterplatz der Sau sollte so gestaltet sein, dass die Ferkel das Sauenfutter nicht erreichen können.

Auch wenn der Prestarter in den ersten Tagen nur zögerlich aufgenommen wird, muss das verwendete Futter mindestens 1x täglich entfernt werden. In den Futterresten, v.a. nach Kontakt zu Feuchtigkeit, können sich Bakterien vermehren. Die Ferkel sollten vom ersten Lebenstag an Zugang zu frischem Trinkwasser haben.

Die frühe Gabe eines qualitativ hochwertigen Prestarters ist außerdem wichtig für die Entwicklung des Magen-Darm-Traktes (Sekretion von Magensäure und Verdauungsenzymen sowie Ausprägung der Darmzotten). Mit der Fütterung eines geeigneten Prestarters bei jungen Saugferkeln wird auch das Auftreten von Durchfällen nach dem Absetzen verringert. Der vorgelegte Prestarter soll mehrmals täglich ausgetauscht werden, damit es zu keinem Verderb des Futters im Napf kommt.

Maßnahmen bei Auftreten von Saugferkeldurchfällen

3.1 Orale Rehydratation

Bei der ersten Beobachtung von Durchfällen sollte den Ferkeln immer eine **Glukose-Elektrolyttränke** angeboten werden um die mit einer Durchfallerkrankung einhergehenden Wasser- Elektrolyt- und Energieverluste auszugleichen. Diese Therapie ist bei Auftreten von Durchfallerkrankungen anderen Behandlungen vorzuziehen.

Die Erreger von Durchfallerkrankungen verursachen eine Abgabe von Wasser in den Darm oder eine Schädigung von Darmschleimhaut und Darmzotten, was zu einer reduzierten Verwertung der mit Milch und Futter aufgenommenen Nährstoffe führt. Flüssigkeitsverlust und Mangel an Nährstoffen führen zu einem verminderten Wachstum der Ferkel sowie einer Schwächung des Immunsystems, welche sich nicht nur negativ auf das Ausheilen der Durchfallerkrankung auswirkt, sondern auch Folgeerkrankungen (z.B. Gelenkentzündungen oder Atemwegsinfektionen) begünstigt. Auch ein Verlust von wichtigen Elektrolyten tritt im Zuge von Durchfallerkrankungen auf.

Durch den Einsatz einer Glukose-Elektrolyttränke für Ferkel können die wirtschaftlichen Verluste infolge von Durchfallerkrankungen deutlich reduziert werden.

Die Elektrolyttränke sollte an einem nicht für die Sau zugänglichen Platz, z.B. im Ferkelnest, platziert werden, da sie auch von den Sauen gerne aufgenommen wird.

3.2 Gezielte Therapie

Nach Beratung durch den Hoftierarzt sollte v.a. in schweren Fällen zusätzlich eine gezielte Therapie erfolgen. Diese richtet sich nach dem Infektionserreger, welcher die Durchfallerkrankung auslöst. Eine Untersuchung von Kotproben mehrerer typisch erkrankter Ferkel ist entscheidend für die Auswahl wirksamer Medikamente und Desinfektionsmittel zum Einsatz in den Abferkelbuchten.

Vor einer antibiotischen Behandlung sollten auf jeden Fall Proben zur Abklärung eventueller Resistenzen entnommen und untersucht werden. Zeigt die Erstbehandlung keinen Erfolg, kann beim Wechsel des Antibiotikums auf ein sicher wirksames Präparat zurückgegriffen werden. Die bei Verschreibung gemachten Angaben zu Dosierung, Abstand zwischen den Anwendungen und Gesamtdauer der Behandlung sind unbedingt einzuhalten, auch wenn die Symptome bereits abklingen, um eine Bildung von Antibiotikaresistenzen zu vermeiden.



Projekt „Saugferkeldurchfall“ - BLE-Nr. 2808 OE 180

Prophylaxeempfehlungen für Betrieb X in XY

I. Haltung, Management und Tiergesundheit im Abferkelstall

(Zusammenfassung der Angaben bei Bestandsbesuch vom xx.xx.2010)

Verband: Bioland e.V. Verband für organisch-biologischen Landbau

Haltung im Abferkelbereich:

- Einzelbuchten 7,5 m²/Sau mit Wurf.
- Stallhaltung mit Außenauslauf auf Betonboden mit Stroheinstreu.
- Ferkelnester mit Stroh eingestreut und mit Rotlicht beheizt. Schutz vor Zugluft erhalten die Ferkel durch seitliche Begrenzung und Abdeckung der Ferkelnester.
- Die Abferkelbuchten werden 2x/Tag ausgemistet.
- Grundreinigung der Buchten inkl. Fütterungs- und Tränkeeinrichtungen vor jeder Neubelegung mit Hochdruckreiniger. Zur Desinfektion wird der Stall mit Curoferm Algenmehl ausgestreut.

Haltung im Gruppensäugen:

- Ab dem 10.-14. Tag.
- Gruppenbuchten für 3 Sauen; ca. 10m²/Sau mit Wurf.
- Stallhaltung auf Betonboden mit Stroheinstreu. Zu einer der 3 Gruppenbuchten gehört auch ein Außenauslauf.

Abferkelmanagement:

- Die Belegung des Abferkelstalls erfolgt nach „Rein-Raus-Prinzip“.
- Die Umstallung der Sauen erfolgt 5-7 Tage vor dem errechneten Geburtstermin.
- Die Sauen werden vor Umstallung mit Bürsten und Reinigungsmittel gewaschen. Im Anschluss an das Waschen der Sauen erfolgt eine Ektoparasitenbehandlung mit Sebacil (Wirkstoff Phoxim).
- Bereits ab dem 85. Trächtigkeitstag wird das Krafffutter mit Laktationsfutter verschnitten. Nach der Geburt wird die Ration schrittweise gesteigert.

- Eine Geburtsüberwachung wird bis in den späten Abend hinein durchgeführt. Eine Nachtwache ist nicht eingerichtet.
- Bei großen Würfen werden die Ferkel zur Kolostrumaufnahme in zwei Gruppen geteilt, die nacheinander ans Gesäuge gelassen werden.
- Die Körperinnentemperatur der Sauen wird nach der Geburt sowie bei Auffälligkeiten im Verhalten der Sau gemessen.
- Die Eisengabe für die Saugferkel erfolgt zweimalig am 1. und am 5.-7. Lebenstag.

Zufütterung der Saugferkel:

- In der ersten Woche wird Kuhmilch zugefüttert.
- Ab der 3. Woche wird Bio-Ferkelstarter in Ferkelnäpfen angeboten.
- Der Fressplatz der Sau ist nicht für Ferkel erreichbar.

Die Ferkelverluste vor dem Absetzen liegen bei knapp unter 30 %; der größte Teil dieser Verluste tritt in den ersten 10 Lebenstagen auf.

Saugferkeldurchfallproblematik auf dem Bestand:

- Beginn des Durchfalls meist ab dem 10. Lebenstag, teilweise aber schon am ersten Tag.
- In etwa 15% der Würfe tritt Durchfall auf. Dabei ist jeweils über die Hälfte der Ferkel im Wurf betroffen.
- Bei schwereren Durchfällen zeigen fast alle der erkrankten Ferkel eine Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens. In betroffenen Würfen kommt es trotz Behandlung zu hohen Verlusten von bis zu 20%.
- Therapieversuche wurden in der Vergangenheit mit Cobactan (Wirkstoff Cefquinom), Flußerde und verdünnter Milch unternommen.
- Eine Impfung der tragenden Sauen gegen *Escherichia coli* (*E. coli*) oder *Clostridium perfringens* (*Cl. perfringens*) wird nicht durchgeführt.
- Die Sauen werden 3x/Jahr mit Flubendazol entwurmt.

Ergebnisse der Probenuntersuchung

Beprobte Würfe im Zeitraum vom xx.xx.2010 bis 31. März 2011: **29**

Anzahl Kottupfer erkrankter Ferkel (für bakteriologische Untersuchung): **73**

Anzahl Sammelkotproben erkrankter Ferkel (für bakteriologische, virologische und parasitologische Untersuchung): **4**

Aufgrund der geringen Zahl von Sammelkotproben, sind Aussagen zur Bedeutung von Rotaviren, Kokzidien oder Zwergfadenwürmern für diesen Betrieb nur eingeschränkt möglich.

Vorbericht zu den eingesandten Proben:

- Die Durchfälle treten hauptsächlich in der ersten Lebenswoche, gelegentlich aber auch bei älteren Saugferkeln auf
- I.d.R. ist nur ein Teil des betroffenen Wurfs erkrankt.
- Nur selten wurde eine Störung des Allgemeinbefindes festgestellt.
- Bei 22 der beprobten Würfe wurde die Kolostrumaufnahme beobachtet. In 2 dieser Würfe haben einzelne Ferkel das Kolostrum nur zögerlich oder gar nicht aufgenommen.
- Bei 2 Würfen hatte die Sau innerhalb der ersten 3 Tage nach Geburt mindestens einmal eine Körpertemperatur über 39,5°C; in einem dieser Fälle deuten eine reduzierte von Futtermittelaufnahme und ein gestörtes Allgemeinbefinden zusätzlich auf eine mögliche MMA- Erkrankung hin.

Erregernachweise:

Tupfer und Sammelkotproben:

- kulturelle Anzucht von aeroben und anaeroben Bakterien.
- Bei Wachstum von *Cl. perfringens*: molekularbiologischer Nachweis von Toxingenen zur Unterscheidung der Isolate nach Typ (→ *Cl. perfringens* Typ A, B, C, D oder E) sowie der Toxingene β 2 Toxin und Enterotoxin von *Clostridium perfringens* (*Cl. perfringens*).
- Bei Wachstum von *E. coli*: molekularbiologischer Nachweis von Toxingenen und bei Schweinen relevanter Fimbriengene (F4, F5, F6, F18 und F41) bei *Escherichia coli* (*E. coli*).

Zusätzlich bei Sammelkotproben (Untersuchungen benötigen größere Probenmenge):

- Parasitologische Untersuchung mittels Flotation
- ELISA- Schnelltest auf Rotavirusantigen

| Untersuchte Durchfallerreger | In ... Würfen |
|--|---------------|
| ETEC (= toxinbildende <i>E. coli</i> mit mind. 1 schweinespezifischen Adhäsionsfaktor; Verursacher des „ <i>E. coli</i> -Durchfalls“) | 2 |
| <i>Cl. perfringens</i> Typ A <u>mit</u> β2-Toxin: | 18 |
| <i>Cl. perfringens</i> Typ A <u>ohne</u> β2-Toxin: | 1 |
| Rotaviren | 1 |
| Kokzidien | 0 |
| weitere Parasiten (außer Kokzidien) | 0 |
| Keiner der untersuchten Durchfallerreger nachgewiesen | 10 |

Die gefundenen *E. coli* weisen Anheftungsfaktoren (F4, F5 und F41) auf, die oft bei Saugferkeldurchfall verursachenden *E. coli* Isolaten nachgewiesen werden, ebenso wie das hitzestabile Enterotoxin St-Ia und das hitzelabile Enterotoxin LT-1. Im Allgemeinen verlaufen Durchfälle, die durch ETEC mit dem Fimbriotyp F4 verursacht werden schwerer als bei den Fimbriotypen F5, F6 oder F41.

β 2-Toxin produzierende *Cl. perfringens* können Durchfälle bei Saugferkeln verursachen. Die Ausprägung der Erkrankung ist milder als bei der nekrotisierenden Enteritis, die durch Typ C von *Cl. perfringens* verursacht wird. Doch auch wenn die Ferkelverluste gering bleiben, kommt es in Folge der Durchfallerkrankung zu deutlichen wirtschaftlichen Einbußen durch geringere tägliche Zunahmen und eine erhöhte Infektionsanfälligkeit der betroffenen Ferkel gegenüber anderen Erkrankungen (z.B. Atemwegsinfektionen oder Gelenkentzündungen).

Rotaviren sind häufig an Saugferkeldurchfällen beteiligt. Eine Infektion mit Rotaviren kann die Ansiedlung weiterer Durchfallerreger begünstigen.

III. Empfohlene Maßnahmen zur Prophylaxe von Saugferkeldurchfällen

Die entscheidenden „Stellschrauben“ um das Auftreten von Saugferkeldurchfällen zu verringern sind zum einen das **Senken des Infektionsdrucks** im Stall sowie zum anderen die **Förderung der Erregerabwehr durch das Immunsystem der Ferkel**.

Im Folgenden sind Maßnahmen zur Vorbeugung von Saugferkeldurchfällen auf diesem Betrieb beschrieben. Auswahl und Rangfolge der vorgeschlagenen Maßnahmen richten sich nach den Ergebnissen des Projektes (Laboruntersuchungen, Management im Abferkelstall, bereits durchgeführte Prophylaxemaßnahmen und nähere Angaben zu den beprobten Würfen).

1.) Änderung der Desinfektionsmaßnahmen

Der Abferkelstall sollte weiterhin vor jeder Neueinstellung grundgereinigt und anschließend auch desinfiziert werden um den Infektionsdruck für die neugeborenen Ferkel gering zu halten. Anstelle des Ausstreuens mit Curoferm Algenmehl sollte nach der Reinigung ein Desinfektionsmittel eingesetzt werden. Das eingesetzte Algenmehl eignet sich stattdessen gut zum Trockenreiben der Ferkel und als Einstreumaterial für die Ferkelnester.

Desinfektionsmittel, die gegen *E. coli*, Clostridien und Rotaviren wirksam und nach Bioland-Richtlinie zur Stalldesinfektion zugelassen sind **organische Säuren** (z.B. Peressigsäure oder Ameisensäure) **Laugen** (z.B. Ätznatron, auch als Natronlauge bezeichnet). Peressigsäure ist zusätzlich ein Sauerstoffabspalter und erfasst auch Bakteriensporen (gegenüber Umwelteinflüssen relativ resistente Dauernstadien z.B. von Clostridien) und aus diesem Grund besonders geeignet.

Zu beachten ist weiterhin, dass sich Durchfallerreger in Bodenunebenheiten oder schlecht zu reinigenden Ecken halten können. Nur auf gründlich gereinigten Flächen ohne Rückstände des Stallschmutzes kann das aufgebrauchte Desinfektionsmittel alle vorhandenen Erreger erreichen. Wichtig ist auch, die empfohlene Dosierung und Einwirkungszeit einzuhalten. Diese verlängert sich bei kalten Außentemperaturen.

2.) Impfung

Eine Impfung der tragenden Sauen gegen *E. coli* erhöht den Gehalt spezifischer Antikörper im Kolostrum. Die gängigen Impfstoffe zur Muttertiervakzinierung beim Schwein sind gegenüber den auf diesem Bestand nachgewiesenen *E. coli* Stämmen wirksam. Um den Erfolg der Impfung ist nur gewährleistet, wenn die Ferkel in den ersten Lebensstunden ausreichend Kolostrum aufnehmen.

Eine Muttertiervakzine gegen Typ A von *Cl. perfringens* befindet sich noch in der Testphase. Die derzeit handelsüblichen Clostridien-Impfstoffe für die Muttertiervakzinierung (gegen die durch *Cl. perfringens* Typ C verursachte „nekrotisierende Enteritis“) sind nicht wirksam gegen Typ A von *Cl. perfringens*. Es besteht jedoch die Möglichkeit, in Kooperation mit dem Hoftierarzt einen bestandsspezifischen Impfstoff herstellen zu lassen.

Ein Impfstoff gegen Rotaviren für Schweine ist nicht im Handel erhältlich. Sauen auf betroffenen Betrieben bilden i.d.R. auch ohne Impfung ausreichend kolostrale Antikörper gegen Rotaviren. Es kann jedoch vorkommen, dass einzelne Sauen nur unzureichend Antikörper bilden (v.a. Zukäufe aus Betrieben mit geringerer Durchseuchung mit Rotaviren) oder die Milch so hohe Gehalte an spezifischen Antikörpern aufweist, dass die Ferkel während der Säugeperiode keine eigene Immunität ausbilden und nach dem Absetzen erkranken.

4.) Nährstoffversorgung der Ferkel

Wenn ein Wurfausgleich bei großen Würfen nicht möglich ist oder bei der Sau eine MMA- Erkrankung vorliegt, ist die ausreichende Versorgung der Ferkel mit Nährstoffen nicht gewährleistet. Dies kann neben einem verminderten Wachstum auch eine Schwächung des Immunsystems zur Folge haben. Außerdem steigen die Erdrückungsverluste in den ersten Lebenstagen, da sich die hungrigen Ferkel vermehrt unter dem Gesäuge aufhalten. Durch Rankämpfe beim Saugen kann es zu Verletzungen der Ferkel und des Gesäuges kommen. Aus diesem Grund sollte bei **großen Würfen** oder dem Verdacht auf eine **verminderte Milchbildung** unbedingt kommerziell erhältliche **Ferkelmilch zugefüttert** werden, um die ausreichende Ernährung der Ferkel sicherzustellen. Diese ist Kuhmilch vorzuziehen.

Um eine MMA- Erkrankung rechtzeitig zu erkennen, müssen die Sauen während der Säugeperiode besonders intensiv auf Störungen des Allgemeinbefindens hin beobachtet werden. Sehr hilfreich zum frühzeitigen Erkennen einer MMA- Erkrankung ist es, in den ersten Tagen nach der Geburt täglich die Körpertemperatur der Sau zu messen. Liegt diese über 39,5 °C, ist dies als erster Hinweis auf eine mögliche MMA Problematik zu sehen. Die Behandlung der MMA sollte umgehend entsprechend der Empfehlungen des Hoftierarztes erfolgen.

5.) Überwachung von Geburtsverlauf und Kolostrumversorgung

Wichtig für die Gesundheit der Ferkel ist auch die **Geburtsüberwachung**. Nur wenn die Sauen um den Geburtszeitpunkt herum auch nachts in regelmäßigen Abständen überwacht werden, kann bei Schweregeburten frühzeitig Geburtshilfe geleistet werden. Dies reduziert das Risiko einer MMA- Erkrankung sowie Ferkelverluste um den Geburtszeitpunkt herum. Außerdem ist eine schnelle Erstversorgung der neugeborenen Ferkel nur durch gute Geburtsüberwachung gewährleistet. Zur Erstversorgung gehört neben Trockenreiben und Nabeldesinfektion auch die Überwachung der Kolostrumaufnahme. Ein gutes Mittel um eine **ausreichende Kolostrumversorgung** der Ferkel zu gewährleisten ist, nicht nur bei besonders großen Würfen alle Ferkel nach der Geburt einzeln anzusetzen.

Je früher die Kolostrumaufnahme erfolgt, umso besser werden die Antikörper aus dem Kolostrum im Darm aufgenommen.

IV. Therapieempfehlung

1.) Orale Rehydratation

Bei der ersten Beobachtung von Durchfällen sollte den Ferkeln immer eine **Glukose-Elektrolyttränke** angeboten werden um die mit einer Durchfallerkrankung einhergehenden Wasser-, Elektrolyt- und Energieverluste auszugleichen. Diese Therapie ist bei Auftreten von Durchfallerkrankungen anderen Behandlungen vorzuziehen.

Die Erreger von Durchfallerkrankungen verursachen eine Abgabe von Wasser in den Darm oder eine Schädigung von Darmschleimhaut und Darmzotten, was außer zum Verlust von Flüssigkeit auch zu einer reduzierten Verwertung der mit Milch und Futter aufgenommenen Nährstoffe führt. Flüssigkeitsverlust und Mangel an Nährstoffen wiederum führen zu einem verminderten Wachstum der Ferkel sowie einer Schwächung des Immunsystems. Diese wirkt sich nicht nur negativ auf das Ausheilen der Durchfallerkrankung aus, sondern begünstigt auch Folgeerkrankungen (z.B. Gelenkentzündungen oder Atemwegsinfektionen). Auch ein Verlust von wichtigen Elektrolyten tritt im Zuge von Durchfallerkrankungen auf.

Durch den Einsatz einer Glukose-Elektrolyttränke für Ferkel können die wirtschaftlichen Verluste infolge von Durchfallerkrankungen deutlich reduziert werden.

Die Elektrolyttränke sollte an einem nicht für die Sau zugänglichen Platz, z.B. im Ferkelnest, platziert werden, da sie auch von den Sauen gerne aufgenommen wird

2.) Zusätzliche Therapie schwerer Fälle

An Durchfall erkrankte Ferkel sind anfälliger für andere Infektionserkrankungen. Deswegen sollte in schweren Fällen (nach Untersuchung und Beratung durch den Hoftierarzt) bereits bei ersten Anzeichen einer Begleiterkrankung mit bakterieller Infektion zusätzlich eine Therapie mit Antibiotika erfolgen. Antibiotika dürfen nur nach tierärztlicher Verschreibung eingesetzt werden.

In den Leitlinien für den sorgfältigen Umgang mit antibakteriell wirksamen Tierarzneimitteln der Bundestierärztekammer und der Arbeitsgruppe Tierarzneimittel der Länderarbeitsgemeinschaft Verbraucherschutz wird unter anderem sinngemäß gefordert:

- Vor einer antibiotischen Behandlung sollen Proben zur Bestätigung der gestellten Diagnose und Abklärung eventueller Resistenzen genommen und deren Untersuchung eingeleitet werden. Nur so kann auf ein sicher wirksames Präparat zurückgegriffen werden, wenn ein Wechsel des Antibiotikums notwendig werden sollte.
- Die bei Verschreibung gemachten Vorgaben zu Dosierung, Abstand zwischen den Anwendungen und Gesamtdauer der Behandlung sind unbedingt einzuhalten, auch wenn die Symptome bereits abklingen, um eine Ausbildung von Antibiotikaresistenzen zu vermeiden.

3.) Gezielt gegen den ursächlichen Durchfallerreger gerichtete Therapie

Bei Durchfällen, die von **Cl. perfringens Typ A**, enterotoxischen **E. coli** oder **Rotaviren** ausgelöst werden, reicht eine symptomatische Therapie mit Glukose-Elektrolyttränke in der Regel aus, um die Erholung der Ferkel von der Erkrankung zu unterstützen.

In **schweren Fällen von „E.coli- Durchfällen“** kann zusätzlich eine gezielte Therapie des Erregers erfolgen. Im Allgemeinen gut gegen *E. coli* wirksame Antibiotika sind Colistin, Gentamicin, Cefquinom sowie die auf Bioland-Betrieben nicht zugelassene Gruppe der Flouorchinolone. Gegen Ampicillin und Tetracycline ist der überwiegende Teil der in Deutschland vorkommenden Stämme resistent. Auch hier gelten die oben erwähnten Anmerkungen zum Antibiotikaeinsatz. In Bezug auf *Cl. perfringens* hat sich eine antibiotische Therapie nicht bewährt. Eine gezielte Therapie einer Rotavirusinfektion steht nicht zur Verfügung.

Gießen, 10. August 2011

Helga Seeger

Bestandsbesuch, Labordiagnostik am Landesbetrieb Hessisches Landeslabor (Abteilung Veterinärmedizin) sowie die resultierenden betriebsindividuellen Empfehlungen sind Bestandteil des Projektes „Untersuchungen zur Pathovar-Prävalenz beim *Escherichia coli*- bedingten Durchfall neugeborener Saugferkel in ökologisch wirtschaftenden Ferkelerzeugerbetrieben“, welches durch die Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung im Rahmen des Bundesprogramms Ökologischer Landbau gefördert wird (Förderkennzeichen BLE2808 OE 180).



Hessisches Landeslabor
Standort Gießen

Schubertstraße 60
35392 Gießen
Telefon: 06 41 / 4800 5224
Telefax: 06 41 / 4800 5268
E-Mail: helga.seeger@lhl.hessen.de

U N I K A S S E L
V E R S I T Ä T

Fachgebiet Tierernährung / Tiergesundheit
Nordbahnhofstraße 1a
37213 Witzenhausen
Telefax 05542/ 98 1581
E-Mail: hpluempe@uni-kassel.de