

Salmonell-Lysotypie, ein epidemiologisches Instrument

Autor(en): **Fey, H.**

Objektyp: **Article**

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

Band (Jahr): **108 (1966)**

Heft 12

PDF erstellt am: **06.08.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-593386>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Aus dem Veterinär bakteriologischen Institut der Universität Bern
 Direktor: Prof. Dr. H. Fey

Salmonella-Lysotypie, ein epidemiologisches Instrument

Von H. Fey

Epidemiologie ist ein vielschichtiges Gebiet. Dazu gehört die möglichst umfassende Kenntnis des Erregers in bezug auf seine biochemischen, biologischen und serologischen Eigenschaften; das Verständnis der *Pathogenese*, vor allem in bezug auf Eintritts- und Austrittswege im Körper, auf Vektoren und allfällige Zwischenwirte. Es gehört dazu die Kenntnis des *immunologischen* Verhaltens des Wirtsorganismus, und endlich ist die *Ökologie* entscheidend, d. h. das Verhalten des Mikroorganismus in seiner mikroskopischen und makroskopischen Umwelt, welches weitgehend für seine Tenazität im lebenden Wirt und auf unbelebten Stoffen verantwortlich ist.

Alle diese Studien sind nur denkbar, wenn Methoden zur Verfügung stehen, welche die einwandfreie Identifizierung eines Erregers auf seinem Weg durch Menschen und Tiere und durch die freie Natur gestatten. Man bedenke, daß dieser Weg beim direkten Kontakt zwischen Individuen sehr kurz sein kann – daß er aber unter Umständen um die ganze Welt führt. (Ich erwähne zum Beispiel den Import salmonellahaltigen Eipulvers aus China oder von anthraxsporenhaltigem Knochenmehl aus Argentinien.)

Bei den Salmonellen erlaubt die international organisierte serologische Antigenanalyse nach dem Kauffmann-White-Schema die Identifikation von Typen (etwa 1000), die man heute auch *Spezies* nennt (Kauffmann). Dies ist aber nicht die letzte Einheit: mit biochemischen Tests lassen sich die Spezies in *Biotypen* von praktisch genügender Stabilität unterteilen, und gelegentlich wird auch das *Antibiogramm* zum Ausschluß der Identität verschiedener Salmonellastämme der gleichen Spezies beigezogen.

Diese Subtypisierung wird an Präzision aber bei weitem übertroffen durch die *Lysotypie*, die bei gewissen Salmonellaspezies und Staphylokokken internationale Verwendung findet. Die letzte Einheit im Genus *Salmonella* ist somit der sero-fermentative Phagtyp der serologisch, vergärungsmäßig und mit Phagen definiert ist (Kauffmann).

Die Lysotypie beruht auf der Feststellung der unterschiedlichen Resistenz verschiedener Salmonellastämme desselben Typs gegenüber zahlreichen standardisierten Bakteriophagen. Dies gilt vor allem für *S. typhi*, *S. paratyphi B* und *S. typhi murium*, aber auch für *S. enteritidis* und eine Reihe von Lebensmittelvergiftern (noch im Experimentalstadium). Die Ausführung der Lysotypie obliegt in jedem Land einem anerkannten Referenzlaboratorium.

Wie bei jeder Typisierung müssen auch an die Lysotypie eine Reihe von strengen Anforderungen gestellt werden, ohne deren Erfüllung jede Diffe-

renzierung ihren Wert als epidemiologisches Instrument verlöre (Anderson [2]):

1. Der Typ muß stabil sein. Er darf im Verlaufe einer Epidemie seine Eigenschaften nicht wechseln.
2. Eine optimale Anzahl von Typen sollte nicht unter- und auch nicht überschritten werden.
3. Die Technik sollte einfach, schnell und standardisierbar sein. Sie muß also in verschiedenen Laboratorien reproduzierbare Resultate liefern.
4. Die Reagenzien, in unserem Falle die Phagenpräparate, müssen stabil sein und wenn möglich von einer zentralen Stelle geliefert werden.
5. Die Typisierung muß sich unter praktischen Feldverhältnissen bewähren, was bei der Salmonella-Lysotypie der Fall ist.

Prinzip der Lysotypie

a) *Aufbau und Vermehrungsweise von Bakteriophagen* (Adams, Kozloff, Hershey und Chase, Kellenberger).

Auf Einzelheiten kann in diesem Zusammenhang nicht eingegangen werden; diese wurden hauptsächlich an Coliphagen der T-Serie gewonnen.

Der Phag besteht aus einem hexagonalen oder runden Kopf und einem Schwanz, beide aus Protein. Im Kopf ist Desoxyribonucleinsäure eingepackt, welche die genetische Information des Phagen repräsentiert (Abb. 1a und 1b).

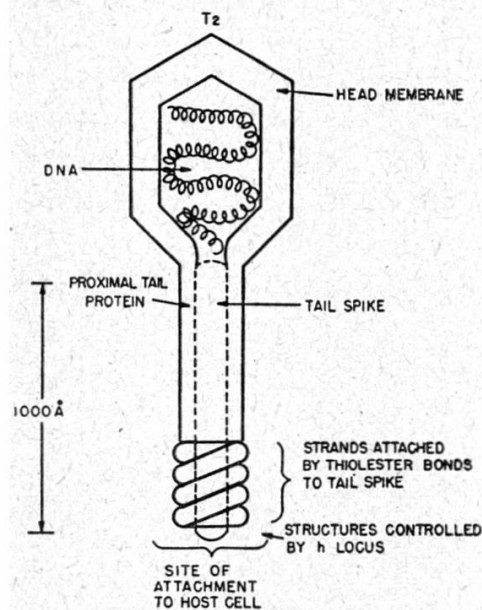


Abb. 1a Struktur des Coli-Bakteriophagen T 2. nach Kozloff, Lute und Henderson: *J. Biol. Chem.* 228, 511 (1957)

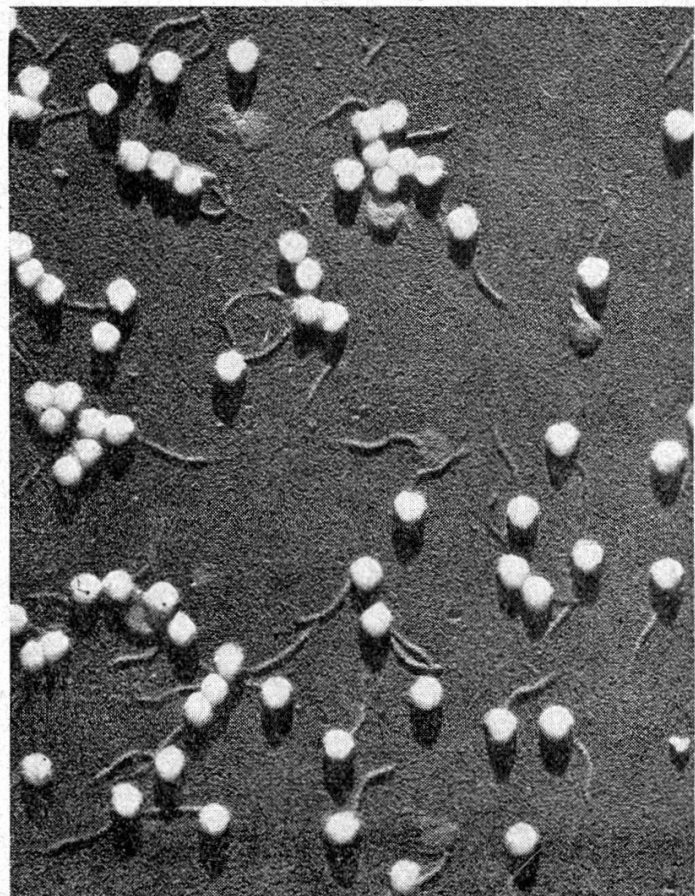


Abb. 1b Coli-Bakteriophag T 5. Elektronenaufnahme mit Beschattung. 40 000 \times . Kellenberger E.: *Nova Acta Leopoldina* 19, 55 (1957).

Phagen können sich als Bakterienviren nur innerhalb der Wirtszelle, dem Elternstamm, vermehren (parent strain, propagating strain). Dieser Mechanismus verläuft in verschiedenen Stadien, über die man noch ungenügend Bescheid weiß und die für jeden Phagen gesondert studiert werden müssen (Abb. 2). Zuerst adsorbiert der Phag mit seiner Schwanzspitze an

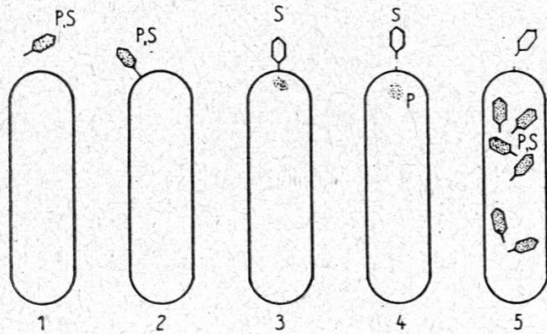


Abb. 2 Umwandlung eines infizierenden Phagenpartikels (Nach Luria S. E.: General Virology. J. Wiley & Sons, Inc., New York, 1953). P = P^{32} - markierte DNS; S = S^{35} - markiertes Protein.

den passenden Rezeptoren der Zellwand der sensiblen Zelle. Dabei lösen sich spiralig angeordnete Fasern vom Schwanz ab und geben einen zentralen Stift frei, der sich wahrscheinlich mit fermentativen Mitteln in die Zellwand einbohrt (Abb. 3).

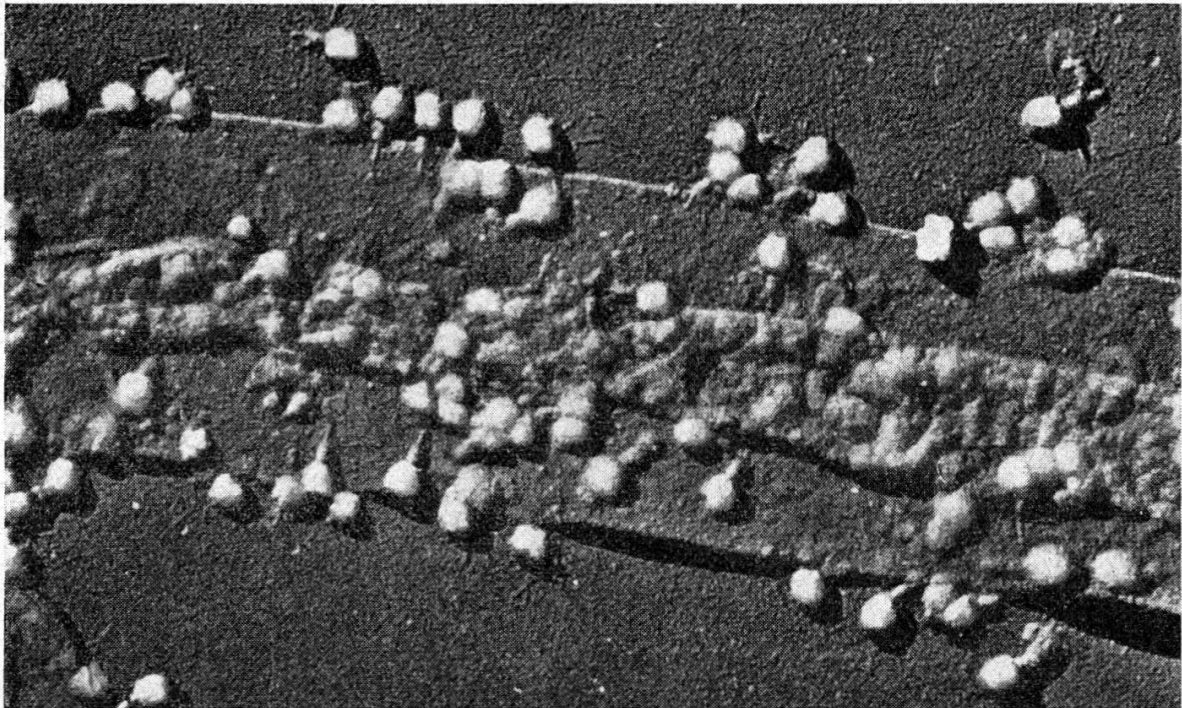


Abb. 3 Zellwand Coli B mit Bakteriophagen T 2. Kellenberger E. Z. Naturforschg. 10b, 698 (1955). Zahlreiche Phagen haben sich mit dem Schwanz an die Zellwand angeheftet. An der Spitze des Schwanzes ist der zentrale Dorn freigelegt. Dieser dringt etwas in die Zellwand ein wie die Kanüle einer Injektionspritze. $35\ 000\times$.

Jetzt wird die Desoxyribonucleinsäure (DNS) durch den zentralen Stift in die Bakterienzelle injiziert und inkorporiert sich dort im Genom. Die Wirtszelle erhält damit die genetische Information zur Produktion von

neuen Phagen. Diese Phagenvermehrung erfolgt in einem Verhältnis von etwa 100:1 und beginnt mit der Kondensation der neuen Phagen-DNS (Abb. 4), die anschließend mit Kopf- und Schwanzprotein versehen und damit zu frischen infektionstüchtigen Phagen komplettiert wird. Jetzt platzt die Zelle und fällt der Lyse anheim (Abb. 5).

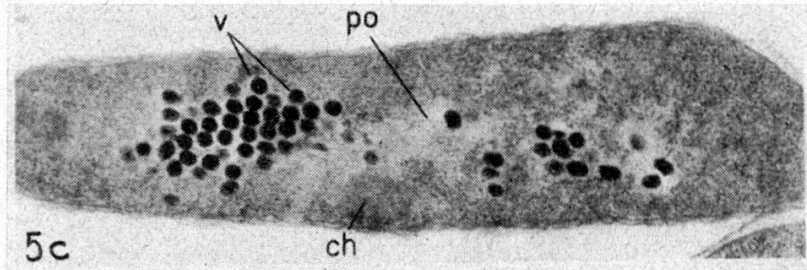


Abb. 4 *E. coli* B infiziert mit Phag T 2. Kellenberger et al., *Biophys J.: Biochem. Cytol.* 4, 671 (1958). Nach der Kondensation von Phagen-DNS haben sich polyedrische Phagenköpfe gebildet (v).

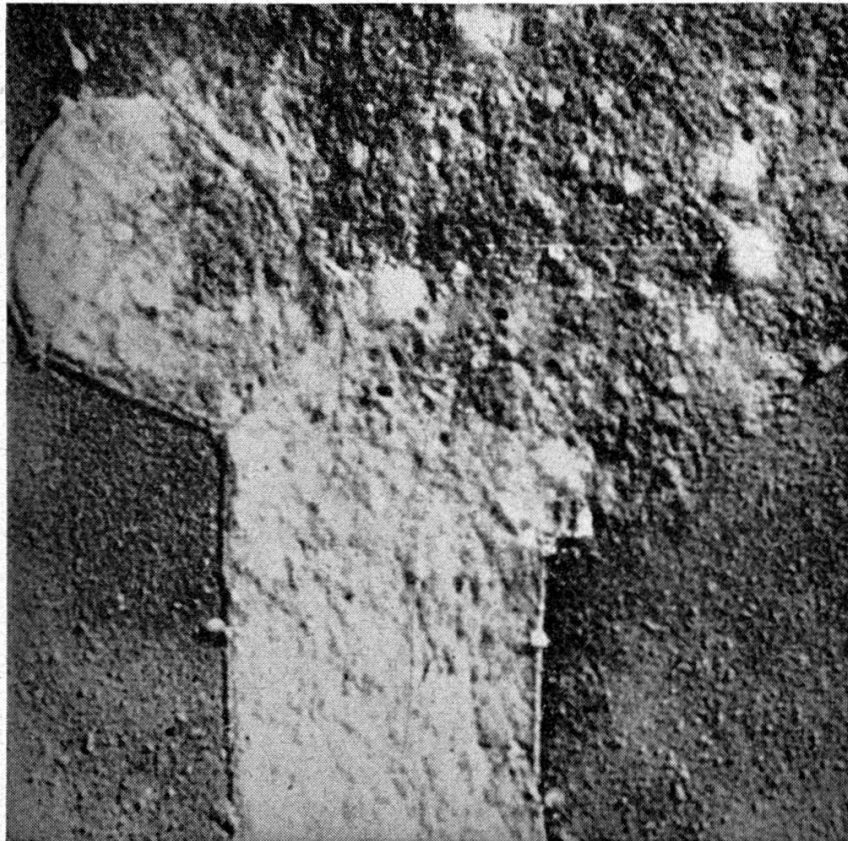


Abb. 5 Durch Phagwirkung zerstörte Colizelle. Protoplasma und Phagmaterial treten aus. Kellenberger E.

Zur Titration wird das Phagenpräparat in 10er Potenzen verdünnt und auf einen Rasen des sensiblen Bakterienstammes aufgetropft. Dabei entstehen in hohen Konzentrationen große Flächen von Bakterienlyse (confluent lysis), bei fortschreitender Verdünnung kleine Löcher = Plaques, die teilweise konfluieren (semiconfluent lysis) und endlich einzelne Plaques, die theoretisch von einem Viruspartikel ausgehen (Abb. 6). Ein guter Phag enthält etwa 10^8 – 10^{11} Viruspartikel/ml (plaques forming units).

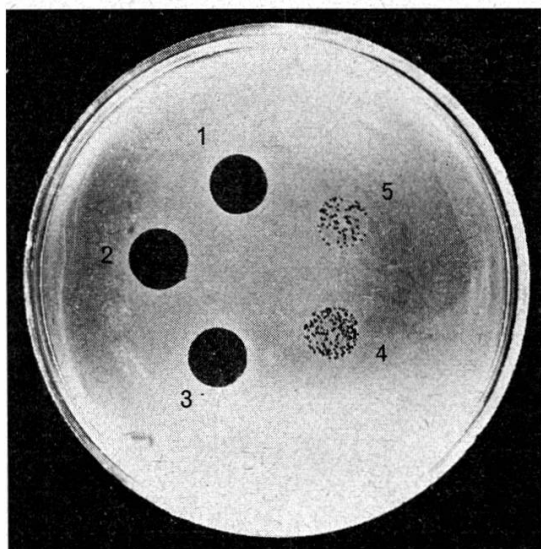


Abb. 6

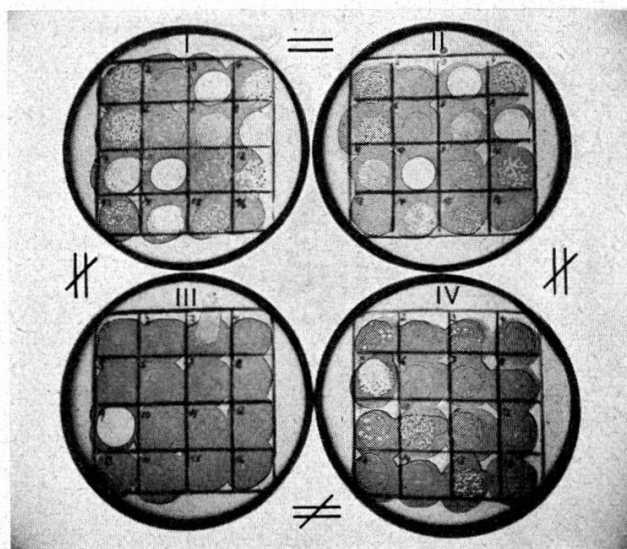


Abb. 7

Abb. 6 Titration eines Phagen auf dem sensiblen Bakterienstamm. 1, 2 = konfluierende Lysis; 3 = konfluierende Lysis mit etwas sekundärem Wachstum; 4 = zahlreiche plaques, teilweise konfluierend; 5 = einzelne plaques, theoretisch ausgehend von je einem Phagenpartikel.

Abb. 7 Beispiel einer Lysotypie von 4 Stämmen I, II, III und IV. Die Stämme I und II zeigen ein identisches Verhalten gegen 16 Phagen (z. B. konfluierende Lysis mit den Phagen 3, 8, 9, 10, 14). Sie stammen deshalb mit Wahrscheinlichkeit aus der gleichen Quelle. Die Stämme III und IV haben ein anderes Phagenbild und sind mit Sicherheit nicht identisch unter sich und mit I und II.

b) Technik der Lysotypie

Von der zu untersuchenden Salmonellakultur wird eine Bouillonkultur angelegt und davon Agarplatten beimpft, so daß ein dünner Bakterienrasen entsteht. Darauf werden die verschiedenen Phagenpräparationen in geeigneter Verdünnung aufgetropft (für *S. typhi* etwa 80 Phagen, für *S. paratyphi B* und *S. typhi murium* 11 Phagen) und beides zusammen bebrütet. Der gegebene Stamm wird nun von einem oder von einer ganzen Serie verschiedener Phagen in unterschiedlicher Stärke gelöst.

Stämme gleicher Herkunft zeigen dabei das gleiche Spektrum lytischer Reaktionen und können damit mit Wahrscheinlichkeit als identisch betrachtet werden. Absolut sicher ist, wie im Blutgruppen-Vaterschaftstest, nur der Ausschluß, d. h. die Nicht-Identität, dann, wenn sich 2 Stämme in bezug auf mindestens eine starke lytische Reaktion unterscheiden. In diesem Falle kann entschieden werden, daß der Träger eines solchen Salmonellastammes nicht in Zusammenhang mit einem gegebenen Krankheitsausbruch gebracht werden kann (Abb. 7).

Verwendung der Lysotypie

Der gegebene Salmonella-Lysotyp entspricht den oben aufgestellten, epidemiologischen Forderungen, d. h. er ist genügend stabil in vivo und in vitro (Nicolle [10]). Während der ganzen Dauer der Krankheit oder während jahrelangem Trägertum wird in Blut, Stuhl, Urin usw. auch nach der

Behandlung der gleiche Lysotyp isoliert, desgleichen von allen Patienten, die sich am gleichen epidemiologischen Herd infizierten. Das gibt zum Beispiel die Möglichkeit, Patienten (Mensch und Tier), die unter Umständen im ganzen Land verstreut sind, auf Grund des gleichen Lysotyps mit einem gegebenen Ausbruch von Salmonellose in Zusammenhang zu bringen.

Die Lysotypie wird für lokale, regionale, nationale und internationale epidemiologische Erhebungen eingesetzt (Anderson [2, 5]; Nicolle [10]). Solche sind erst vollständig, wenn der Phagtyp feststeht, weil damit das Maximum der Stammesdifferenzierung geboten wird.

Lokal ergibt sich die Möglichkeit der Quellensuche, vor allem des Hinweises auf eine tierische Quelle, *regional* schafft die routinemäßige Lysotypie möglichst aller anfallenden Stämme eine Übersicht der Typenverteilung in größeren Gebieten. Auf *nationaler* Basis lassen sich Verteilerkanäle ausgehend von Salmonellaherden eruieren (siehe Beispiel Anderson [5]). Der *internationale* Austausch von Lysotypieresultaten hat vor allem für den Typhus Bedeutung und wird beim heutigen Reiseverkehr stets wichtiger. Die Zermatter Typhusepidemie, verursacht durch den Lysotyp E 1, traf Patienten aus mindestens 6 Ländern. Die Lysotypie gestattete die rasche Erkennung von sekundären Infekten.

Allerdings muß noch darauf hingewiesen werden, daß sich die Vorteile der Lysotypie stark vermindern, wenn bei einem Ausbruch ein Phagentyp gefunden wird, der in der Region ohnehin stark dominiert. Es kann dann nicht mehr auf einen exklusiven Herd geschlossen werden. Hier sind der Methode Grenzen gesetzt.

Beispiele

Für *S. typhi murium* gibt es in allen Ländern zahlreiche Reservoirs: Der Mensch, Lebensmittel, bei den Tieren vor allem Kalb, Rind, Huhn, Truthühner, Schwein, Enten; ferner Importfutter und Eierprodukte, Dünger. Anderson [4] berichtet, daß Stämme aus Hühnern vorwiegend zum Lysotyp 14, solche aus Kälbern zum Lysotyp 20a gehören. Wenn nun beim Menschen eine *S. typhi murium*, Phagentyp 14, vorliegt, darf auf eine Geflügelquelle geschlossen werden (z. B. Gefrierei). Ein *S. typhi murium*-Ausbruch vom Lysotyp 20a betraf 90 Personen in 37 Distrikten in und um London. Gleichzeitig wurde von Kälbern der gleiche Lysotyp isoliert. Damit wurde der Zusammenhang vermutet, der sich aus der bloßen Kenntnis des Serotyps *S. typhi murium* nicht ergeben hätte. Die Kälber stammten alle aus einem Verteilzentrum bei Oxford, von wo aus sie in verschiedene Schlachthäuser in den Distrikten gelangten und von dort zu den Konsumenten.

Fey, Nicolet, Böni:

Im Zusammenhang mit der Abklärung eines Familienausbruchs von *S. typhi murium* in Rohrbach im Langetetal isolierten wir aus dem Wasser der Langete bei Häbernbach und etwas oberhalb aus Enten und deren Eiern eines Restaurationsbetriebes *S. paratyphi* B. Die Stämme gehörten zum Lysotyp Taunton, womit der Zusammenhang als wahrscheinlich anzusehen war. Die Enten, deren Eier für die Glaceherstellung im Betrieb dienten, wurden ausgemerzt und damit ein mögliches Unheil verhütet.

In Rohrbach selbst wurden weitere 3, nicht typisierbare Stämme von *S. paratyphi* B im Wasser und in einer Ente gefunden, womit die Existenz eines unbekanntes, zusätzlichen Ausscheiders erwiesen war.

Nicolle:

1954 erfaßte eine Typhusepidemie in Lyon 150 Soldaten und Zivilisten (Lysotyp C 1, Biotyp I). Als Ursache ermittelte man Salat aus einer Gärtnerei, aus dem der gleiche Lysotyp von *S. typhi* zu isolieren war. Es war in dieser Gärtnerei üblich, den Salat dadurch frisch zu erhalten, indem man ihn mit Wasser von benachbarten Latrinen besprengte.

Shearer et al.:

In einer kleinen amerikanischen Stadt traten intermittierend Typhusfälle auf. Man versuchte, den Träger mit der Tamponmethode von Moore ausfindig zu machen. Dabei werden Gazetampons an ausgewählten Stellen ins Abwassersystem einer Siedlung gehängt, nach 48 Stunden gesammelt und aus dem Preßwasser die Salmonellen isoliert. Man fand *S. typhi*-Stämme, die vom Phagen Utrecht 9 gelöst wurden, im Abwasser des Spitals und einer bestimmte Straße, und zwar nicht gleichzeitig.

Dieser Phagentyp wurde bisher nur in Holland nachgewiesen. Nachdem das Spitalwasser negativ geworden war, wurde das Abwasser der Straße wieder positiv. Man schloß daraus, daß der mutmaßliche Ausscheider an dieser Straße wohnte und vorübergehend im Spital Aufenthalt genommen hatte. Man fand anhand der Patientenliste einen 77jährigen Mann, für den diese Annahme zutraf. Er war symptomloser Ausscheider des Phagentyps U 9. Er war vor 50 Jahren in die Staaten eingewandert, hatte selbst nie Typhus, lebte aber danach in Deutschland mit einem Holländer, von dem bekannt war, daß er Typhus hatte. Von dieser Person muß er seinen in Amerika exquisiten Typhus-Phagentyp akquiriert haben.

Die Salmonellen-Lysotypie hat heute ihren festen Platz, aber sie darf nicht als *art pour l'art* betrieben werden. Sie ist ein Instrument, von dem der Epidemiologe bei der Feldabklärung eines Ausbruchs von Typhus oder einer Salmonella-Lebensmittelvergiftung gleich zu Beginn und nicht erst nach Abschluß der Erhebungen den größtmöglichen Gebrauch machen sollte.

Zusammenfassung

Epidemiologische Untersuchungen setzen eine einwandfreie Identifizierung des Erregers auf seinem Weg durch Menschen und Tiere und durch die freie Natur voraus.

Bei den Salmonellen ist der Serotyp (z.B. *S. typhi* murium) nicht die letzte Einheit. Es gibt biochemische Untertypen, und mit Hilfe von international standardisierten Bakteriophagen können sogenannte Lysotypen aufgestellt werden. Salmonellenstämme mit gleicher Herkunft gehören alle zum gleichen Lysotyp.

Die Grundlagen der Bakteriophagenlehre und der Lysotypie werden gegeben und die Lysotypie als epidemiologisches Instrument an Hand von Beispielen von Salmonellosefällen (Typhus und Lebensmittelvergiftungen) vorgestellt.

Résumé

Des examens épidémiologiques sont conditionnés par l'identification incontestable du germe lors de son passage chez l'homme, les animaux et dans la nature.

Pour les salmonelles le type sérique (p. ex. *S. typhi* murium) n'est pas la dernière unité. Il existe des sous-types biochimiques et, à l'aide de bactériophages standardisés

internazionalmente, on peut faire l'inventaire des lysotypes. Des souches de salmonelles de même provenance appartiennent toutes au même lysotype.

L'auteur expose les bases de l'étude des bactériophages et de la lysotypie et, à l'aide d'exemples de cas de salmonellose (Typhus, intoxications alimentaires), il démontre l'utilité de la lysotypie comme instrument épidémiologique.

Riassunto

Esami epidemiologici sono il presupposto per un'identificazione sicura dell'agente, lungo il suo cammino attraverso l'uomo, gli animali e la libera natura.

Nelle salmonelle non è il sierotipo (per es. *S. typhi* murium) l'ultima unità. Ci sono sottotipi biologici e con l'aiuto di batteriofagi internazionalmente standardizzati, possono essere classificati i lisotipi. Ceppi di salmonelle con eguale origine appartengono allo stesso lisotipo.

Le basi della batteriofagia e della lisotipizzazione sono indicate e questa ultima è presentata come uno strumento epidemiologico, sulla base di esempi in casi di salmonellosi (tifo e intossicazioni alimentari).

Summary

Epidemiological examinations can only be carried out when the germ is definitely identified on its passage through human beings and animals, and through nature at large.

Among the salmonella the serotype (e.g.s. *typhi* murium) is not the ultimate unit. There are biochemical sub-types and with the aid of internationally standardised bacteriophages it is possible to construct so-called lysotypes. Salmonella strains of the same origin all belong to the same lysotype.

The bases of the science of bacteriophages and lysotypes are given and the science of lysotypes is presented as an epidemiological instrument by means of examples of salmonellosis cases (typhus and foodpoisoning).

Literatur

- [1] Adams M.H.: Bacteriophages. Interscience Publ. New York 1959. – [2] Anderson E.S. and Williams R.E.O.: Bacteriophage Typing of Enteric Pathogens and Staphylococci and its Use in Epidemiology. *J. clin. Path.* 9, 94–127 (1965). – [3] Anderson E.S.: Special Methods used in the laboratory for the investigation of outbreaks of Salmonella food poisoning. *Royal Soc. Hlth. J.* 80, 260–267 (1960). – [4] Anderson E.S.: Die Bedeutung der *S. typhi* murium-Phagentypisierung in der Human- und Veterinärmedizin. *Zbl. Bakt. I Orig.* 181, 368–379 (1961). – [5] Anderson E.S.: The phage typing of Salmonellae other than *S. typhi*. In «The World Problem of Salmonellosis» S. 89–110 W. Junk Publ. The Hague 1964. – [6] Fey H., Nicolet J. und Böni R.: Epidemiologische Studie eines Familienausbruchs von Salmonella-Lebensmittelvergiftung. *Schweiz. Med. Wschr.* 93, 1556–1567 (1963). – [7] Hershey A.D. and Chase M.: Independent functions of viral protein and nucleic acid in growth of bacteriophage. *J. Gen. Physiol.* 36, 39 (1952). – [8] Kauffmann F.: Das Kauffmann-White-Schema. In «The World Problem of Salmonellosis». S. 21–66 W. Junk Publ. The Hague 1964. – [9] Moore B., Perry E.L., Chard S.T.: A survey method by the sewage swab method of latent enteric infection in an urban area. *J. Hyg.* 50, 137–156 (1952). – [10] Nicolle P.: La Lysotypie de *S. typhi*. Son principe, sa technique, son application à l'épidémiologie de la fièvre typhoïde. In «The World Problem of Salmonellosis». S. 67–88 W. Junk Publ. The Hague 1964. – [11] Shearer, Leis A., Browne A.S., Gordon R.B. and Hollister A.C.: Discovery of Typhoid carrier by sewage sampling. *J. Amer. Med. Assoc.* 169, 1051–1055 (1959).