

# Zur Überimpfung von Einzelkolonien bei *Erysipelothrix insidiosa*

Autor(en): **Walzl, H.L. / Hunyady, G.**

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): **109 (1967)**

Heft 1

PDF erstellt am: **21.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-588124>

## **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 wissenschaftlichen Laboratorium der Dr. E. Gräub AG, Bern

## Zur Überimpfung von Einzelkolonien bei *Erysipelothrix insidiosa*

Von H. L. Walzl und G. Hunyady

Das Wachstum eines Rotlaufstammes in der Rauhform und mikroskopische Involutionsformen beobachtete erstmals Sabella (1924). Die Dissoziation von Rotlaufstämmen in *R*- und *S*-Formen als solche wurde von Stryszak und Szymanowski (1929) beschrieben, während Schöning, Gochenour und Gray (1938) neben anderen (Byrne, Cornell, Frank und Moynihan 1952, Ewald 1954, Meyn 1931) weitere Untersuchungen in dieser Richtung anstellten. Diese Autoren teilten die Rotlaufvarianten in *R*-, *S*- und Intermediär-Formen ein. Die mikroskopische Morphologie der Rotlaufkeime ließ gleichfalls Unterschiede zwischen Individuen der drei Koloniefornen erkennen. Die *S*-Kolonien bestanden aus wohldefinierten Einzelformen, die Keime der übrigen Kolonie-Varianten zeigten verschiedene Grade der Fadenbildung und andere Involutionsformen. Man fand weiter, daß frische Bakterienisolate, sofern sie nicht von chronischen Rotlaufveränderungen beim Schwein stammten, immer in der *S*-Form wuchsen. Lang aufbewahrte Stammkulturen hingegen bestanden überwiegend aus *R*-Formen. Es konnte festgestellt werden, daß feste Nährböden die Entwicklung von *R*-Formen begünstigten und diese bei einem pH unter 7,2 sowie durch lange Intervalle zwischen den Überimpfungen einseitig gefördert wurden.

Ewald (1954) fand den Agargehalt des Nährbodens für die Kolonieforn von entscheidender Bedeutung. Bei einem Agargehalt des Nährbodens über 5% wiesen Rotlaufkolonien nur noch die *R*-Form auf, unter 0,85% hingegen kamen nur noch glatte Kolonien vor.

Die besondere Neigung von Rotlaufstämmen zur Dissoziation veranlaßten Roots und Venske (1952) zur Erzielung von *S*-Kolonien Passagen in Tryptonbouillon durchzuführen und anschließend daran die Koloniemorphologie auf 1,5%igem Tryptonagar zu überprüfen. Nach 4 bis 12 Passagen im flüssigen Nährboden war am Agar ein fast reines Wachstum in der *S*-Form regelmäßig zu beobachten, hingegen erlaubten Mäusepassagen keine Überführung der *R*- in die *S*-Variante.

Um *R*-Formen bei Rotlaufstämmen zu eliminieren, empfiehlt Hars (1959) die Überimpfung von auf Pferdeblutagar gewachsenen Einzelkolonien in Serumbouillon. Die weitere Propagierung der Stämme soll jedoch in serumfreiem Medium vorgenommen werden, weil, wie auch Roots und Venske (1952) angeben, ein Serumzusatz die Dissoziation von Rotlaufstämmen fördert.

Nachdem in unserem Institut die Überimpfung von Einzelkolonien auf Serumbouillon unbefriedigende Resultate ergab, wurde versucht, einen geeigneteren Nährboden ausfindig zu machen und hierbei nach Möglichkeit gänzlich auf einen Serumzusatz zum flüssigen Milieu zu verzichten, worüber im folgenden berichtet wird.

### Material und Methoden

Bei 16 Stämmen von *Erysipelothrix insidiosa* wurde die Überimpfung von Einzel-

kolonien 1- bis 4mal durchgeführt. Die serologische Gruppenzugehörigkeit war von 3 Stämmen, die alle zur Gruppe *B* gehörten, bekannt.

Nach 24 Stunden Bebrütung bei 37 °C in 1% Pferdefleischpeptonbouillon pH-7,2 wurden die Stammkulturen bei 4 °C aufbewahrt. Zur Erzielung von Einzelkolonien erfolgte die Aussaat auf Pferdeserum (10%)-Pepton (1%)-Agar (2%) in Plastik-Petrischalen. Die Beurteilung der Koloniemorphologie und die Kennzeichnung von Einzelkolonien geschah frühestens nach 48 Stunden unter einem *Leitz-Ortholux*-Mikroskop mit Auflichteinrichtung (Obj. 3,8×, Okular 10×, 1,25 Tubusfaktor) bei Anwendung einer Mischlichtbeleuchtung, die durch nur teilweises Einschieben des Umlenkspiegels erzielt werden konnte. Jede Einzelkolonie wurde in ein Thioglycollatbouillonröhrchen (*T.G.B.*) (*B.B.L.* Nr. 01,140) eingebracht und pro Stamm 2 Kolonien übertragen. Die Subkulturen in 1%-Peptonbouillon erfolgten nach 48 Stunden und nach je 24 Stunden weitere 3- bis 4mal. Die regelmäßige Nachkontrolle der Stämme geschah durch Überimpfung auf Serumagar.

### Resultate

Durch die Verwendung von Plastikpetrischalen und des nahezu klaren Serumagars war die Beurteilung der Koloniemorphologie nach 48 Stunden gut möglich.

*R*-Kolonien zeichneten sich durch zackige oder kurzgelockte, flache Ränder aus. Das Koloniezentrum war granuliert und mit einem Nippel versehen.

*S*-Kolonien wiesen scharfe Ränder und eine feinkörnige, zum Koloniezentrum hin mäßig gröber granuliert Oberfläche auf. Mikroskopisch bestanden die Kolonien aus wohldefinierten Einzelformen.

Die Kolonien der Intermediärform waren durch lappige Ränder oder speziell durch segmentweise, lockige Ausläufer an den sonst glatten Kolonierändern gekennzeichnet.

Die Abimpfung von Einzelkolonien ist abgesehen von Vorversuchen 74mal durchgeführt worden und dabei 9mal mißlungen. Die Methode wurde bei 7 Stämmen 4mal wiederholt und hierbei 56 Subkulturen von Einzelkolonien angelegt. Das Ausbleiben des Wachstums in der *T.G.B.* war immer nur auf eines der beiden Röhrchen (bis auf einen Fall) pro Stamm beschränkt.

Das Wachstum in der *T.G.B.* war nach 24 Stunden zartflockig und erinnerte an das Gläserbürstenwachstum. Es beschränkte sich auf die oberen Nährbodenschichten, und die kleinen Flocken waren blaßgrau und leicht transparent.

Die Überprüfung der Einheitlichkeit der Kulturen hinsichtlich der Koloniemorphologie erfolgte nach der dritten Pepton-Bouillon-Passage. Bei einem Stamm fanden sich zu diesem Zeitpunkt am festen Nährboden einzelne Intermediärformen. Dieser und ein zweiter Rotlaufstamm wiesen bei neuerlicher Überimpfung auf den festen Nährboden nach mehrwöchiger Lagerung bei 4 °C wieder eine größere Zahl *R*- und Intermediärformen auf. Die übrigen Stämme ließen auch bei längeren Intervallen zwischen den Subkulturen auf Serumagar nur vereinzelt ein Koloniewachstum in der intermediären Form erkennen. Reine *R*-Formen konnten nicht festgestellt werden.

## Diskussion

Die besprochene Methode erlaubt selbst bei längere Zeit aufbewahrten Produktionsstämmen auch ohne Tierpassagen weitgehend *R*-Formen zu eliminieren. Nur zwei der untersuchten Stämme zeigten eine deutliche Neigung zur Dissoziation, wobei es aber möglich war, zumindest kurzzeitig das Überwiegen der *S*-Varianten in der Kultur sicherzustellen. Der Zusatz von Serum zum flüssigen Medium konnte vermieden werden, jedoch ist ein Urteil bezüglich der Notwendigkeit dieses Vorgehens zur Erhaltung der *S*-Form nicht möglich. Ein Serumzusatz (etwa 10%) hingegen wird vor allem bei Untersuchungen über das biochemische Verhalten von Rotlaufkeimen notwendig (Woodbine 1950, Sikes 1965), weil lediglich unter diesen Bedingungen Kohlehydrate angegriffen werden. Diejenigen Eigenschaften von Rotlaufstämmen, die mit dem Vorliegen der *S*-Form vergesellschaftet sind, bestehen einmal in der Virulenz der Stämme, die zumindest im Mäuseversuch mehrmals experimentell überprüft wurde, (Schöning und Mitarb. 1938, Sikes 1965). Die Bildung der immunogenen Substanz erfolgt ebenfalls nur von *S*-Varianten (Schöning 1938). Eine von Ewald (1954, 1955) festgestellte *O*-*o*-Variante von *Erysipelothrix insidiosa* findet unter den angewandten Versuchsbedingungen morphologisch ihren Niederschlag in einem Wachstum der *o*-Variante, einer Verlustvariante, in der *R*-Form (2% Agar), und sie kann daher sicher bei Abimpfung von Einzelkolonien ausgeschaltet werden.

Desgleichen ist das von Woodbine (1950) beobachtete Hämolysevermögen einzelner Stämme auf die *S*-Form beschränkt.

Die hämagglutinatorischen Eigenschaften von Stämmen der Gruppe *B* (Dinter 1949, 1950, Roots und Venske 1952) sind bei verschiedenen Kulturen ein und desselben Stammes nicht konstant (Dinter 1949). Diese Eigenschaft wird durch den *pH* im Milieu nicht, hingegen nach 48 Stunden Bebrütung durch eine spontane Autolyse, die regelmäßig bei einigen Stämmen beobachtet werden konnte, aufgehoben (Radvila 1953). Die Möglichkeit einer Dissoziation der Bakterienstämme als Ursache für Unterschiede in der Hämagglutinationsaktivität vor Einsetzen einer Autolyse wurde nicht in Betracht gezogen.

Die Überprüfung der Virulenz der von Einzelkolonien abgeimpften Stämme am Schwein und der Maus ist weiteren Untersuchungen vorbehalten.

## Résumé

Les auteurs exposent les raisons qui militent en faveur de la nécessité d'une vaccination préventive contre le rouget du porc. Ils discutent des types de vaccins et des méthodes de leur mise en valeur, puis à l'aide d'un protocole des résultats obtenus chez le porc et chez la souris ils s'étendent sur les limites de la reproduction des tests. La création d'une immunité qui ne provoque pas une réaction identique chez la souris et chez le porc est comparée à une stimulation antigénique de longue durée. La colonisation régulière des amygdales par les germes du rouget à la suite d'une infection par voie orale

est prouvée, de même que l'immunité provoquée par celle-ci. Il s'agirait d'examiner si, dans ces conditions, un vaccin anti-rouget administré par voie orale ne présenterait pas des avantages.

### Riassunto

Sono indicati i motivi che rendono necessaria la vaccinazione contro il mal rossino nel suino. Si discutono inoltre i tipi di vaccino ed i metodi di valutazione. Sulla scorta di protocolli per maiali e per topini si esaminano i limiti dei tests. La capacità di resistenza di un'immunità che, sia nel maiale sia nel topino, non è una reazione costante, è messa in relazione con uno stimolo duratore degli antigeni. Il regolare annidamento di bacilli del mal rossino nelle tonsille in seguito ad infezione orale è stato comprovato, analogamente alla immunità che ne deriva. Sarebbe da provare se, per tali motivi, vaccini orali possono esser impiegati con successo.

### Summary

The reasons why it is necessary to vaccinate pigs against erysipelas are mentioned. Then the different types of vaccines and their methods of utilisation are discussed and by means of evaluation reports, one on the pig, one on the mouse, the limits of the possibilities of reproducing the test are considered. How far an immunity, which entails no stable reaction situation either in the mouse or in the pig, may be put to the test is linked up with an antigen stimulation of long duration. Regular tonsillar colonisation with erysipelas germs after oral infection is proved, and so is an immunity resulting from this. It should be tested whether for these reasons oral erysipelas vaccines might not offer advantages.

### Literatur

Byrne J.L., Cornell R., Frank J.F., Moynihan I.W.: *Canad. J. Comp. Med.* 16, 129 (1952). – Dinter Z.: *Berl. Münch. tierärztl. Wschr.* 63, 177 (1949) – Ders: *Nord. Med. Vet.* 2, 833 (1950). – Dunne H.W.: *Diseases of Swine*, 2nd. Ed., Iowa State University Press (1964). – Ewald F.W.: *Tierärztl. Umschau* 6, 177 (1954). – Ders: *Tierärztl. Umschau* 7, 109 (1955). – Hars E.: *Schriftliche Mitteilung* (1959). – Meyn A.: *Zentralblatt Bakt., I.O.* 122, 507 (1931). – Radvila P.: *Schweiz. Arch. Thkde.* 95, 33 (1953). – Roots E. und Venske W.: *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* 65, 184 und 208 (1952). – Sabella A.: *Zentralblatt Bakt., I.O.* 94, 411 (1925). – Schöning H.W., Gochenour W.S. and Gray C.G.: *J.A.V.A.* 92, 61 (1938). – Sikes D.: *A.J. Vet. Res.* 26, 636 (1965). – Stryzak A. et Szymanowski Z.: *Proc. Socl. Biol. Paris* 100, 1151 (1929). – Watts P.S.: *Jour. Path. 5 Bact.* 50, 355 (1940). – Woodbine M.: *Bact. Rev.* 14, 161 (1950).