

6.1 ZUSAMMENFASSUNG

Unter dem Blickwinkel diagnostischer Brauchbarkeit wurden Treponemenisolate aus dem Darmkanal von Schweinen, Hunden, Mäusen und Ratten hinsichtlich biochemischer und serologischer Eigenschaften mit Hilfe unterschiedlicher Methoden untersucht, wofür 90 Stämme sowie Typstämme für *Treponema hyodysenteriae* Serotyp 1-4 und *Treponema innocens* zur Verfügung standen.

Der Anteil fruktosefermentierender Isolate stieg von 9,1 % bei Verwendung von Pepton-Hefe-Bouillon über 58,2 % bei Pepton-Hefe-Bouillon mit Kälberserumzusatz auf 96,4 % bei Prüfung eines mit Rinderblut, Hefeextrakt und Dithiothreitol supplementierten Trypticase-Soja-Agars, sodaß die Aussagekraft der Fruktosefermentation als Kriterium zur Unterscheidung von *Treponema hyodysenteriae* und *Treponema innocens* in Frage gestellt werden muß.

Die Fähigkeit einiger Treponemenisolate, Hippurat zu spalten, wurde in vier verschiedenen Verfahren geprüft. Hierbei zeigte nur einer der vier Typstämme für *Treponema hyodysenteriae* das für diese Spezies vorgeschlagene, typische Verhalten; der Anteil hippuratspaltender Isolate variierte zwischen 28,1 und 53,1 %. Indol bildeten 27,3 % der Isolate, Treponemenstämme vom Hund zeigten mit 41,7 % den höchsten Prozentsatz an positiven Reaktionen.

Das mithilfe des API ZYM^R-Testes untersuchte enzymatische Spektrum der Treponemenisolate wies keine für eine Tierart charakteristische Variation auf. 42,9 % der untersuchten Isolate besaßen keine alpha-Galaktosidase-Aktivität, darunter 90,9% der Treponemenisolate aus dem Darm der Maus.

Unter Verwendung von 12 Kaninchenhyperimmunseren wurden Objektträger- und Mikrotiteragglutinationen sowie Wachstumshemmungsteste durchgeführt. Dabei lieferte die Mikrotiteragglutinationstechnik gegenüber den anderen Techniken reproduzierbarere Ergebnisse: 16,3 % der untersuchten Isolate ließen sich serotypisieren, 22,4 % zeigten Spontanagglutinationen und 46,9 % wiesen Kreuzreaktionen auf, die häufig Hyperimmunseren gegen den Typstamm für *Treponema innocens* (B256), die Isolate FM4 und DM19 aus der Maus und DR4 aus der Ratte miteinbezogen. Eine serologische Verwandtschaft dieser Treponemenstämme zeigte sich in allen serologischen Verfahren.

Polyacrylamidgelelektrophoretisch (SDS-PAGE) aufgetrennte Ganzzellpräparationen von Treponemen verschiedener Tierarten wiesen ein weitgehend einheitliches Bild auf: Hauptproteine lagen im Molekulargewichtsbereich von 38 bis 45 kDa, 69 und 85 kDa; die serologisch nahe verwandten Stämme FM4 und DR4 sowie vier weitere Mäusestämme zeigten darüberhinaus kräftige Banden bei 22 und 25 kDa.

Die Untersuchung auf lektinvermittelte Agglutinationen erfolgte unter Einsatz von 20 verschiedenen Lektinen. Neben anderen wurden häufig Agglutinationen mit Concanavalin A und dem *Limulus polyphemus*-Lektin gefunden. Drei der vier Serotypen für *Treponema hyodysenteriae* zeigten ein identisches Agglutinationsmuster, welches sich insbesondere bei Treponemenisolaten aus dysenterieverdächtigen Fällen wiederfand. Der Typstamm für den Serotyp 2 von *Treponema hyodysenteriae* sowie der Typstamm für *Treponema innocens* wiesen keine lektinvermittelte Agglutinationen auf.

Auf der Basis dieser Ergebnisse wird eine Einteilung intestinaler Treponemen in Lektinagglutinationsgruppen vorgeschlagen.

6.1. SUMMARY

Gero Theo Beckmann

Compared biochemical and serological investigations of *Treponema* isolates from the gut of pigs, dogs, mice and rats.

Looking at diagnostical usefulness biochemical and serological properties of *Treponema* isolates from the gut of pigs, dogs, mice and rats were investigated with different methods. 90 strains and type strains of *Treponema hyodysenteriae* and *Treponema innocens* were available.

The degree of fructose fermenting strains increased from 9.1% by using peptone-yeast-bouillon to 58.2% with calve serum supplement, to 96.4% by testing a trypticase-soja-agar supplemented with bovine blood, yeast extract and dithiothreitol. Therefore it should be doubted that results of the fructose fermentation procedure are of any value for the differentiation of *Treponema hyodysenteriae* and *Treponema innocens*.

The ability of some *Treponema* isolates to cleave hippurate was investigated using four different methods. Only one out of four *Treponema hyodysenteriae* type strains behaved in a manner proposed for this species. The degree of hippurate cleaving isolates varied from 28.1% to 53.1%.

27.3% of the isolates produced indole, *Treponema* strains of the dog showed the highest percentage (41.7%) of positive reaction. Using the API ZYM^R test no characteristic pattern in enzyme spectrum of *Treponema* isolates was seen with regard to the animal species. 42.9% of the isolates investigated did not show any activity of alpha-galactosidase, among them 90.9% of the *Treponema* isolates of mice guts.

Using 12 rabbit hyperimmune sera slide- and microtiter agglutination test as well as growth inhibition test were performed. Compared with the other techniques, the microtiter agglutination test yielded in reproducible results. Of the isolates tested 16.3% could be serotyped, 22.4% showed agglutination spontaneously and 46.9% were cross reactive even with hyperimmune sera against the type strain of *Treponema innocens* (B 256), the strain FM 4 and DM 19 from mice and DR 4 from a rat. These strains were shown to be related in all the serological tests performed.

Whole cell preparations of treponemes from different animal species showed mostly a homogenous picture when separated by polyacrylamid gel electrophoresis (SDS-PAGE). Major proteins were found in molecular weight ranges from 38 to 45 kDa, 69 kDa and 85 kDa. Moreover, the serologically related strains FM 4 and DR 4 and four more mouse strains were shown to have decent bands at 22 and 25 kDa.

For testing lectin mediated agglutination 20 different lectins have been used. Among others, agglutination with Concanavalin A and the *Limulus polyphemus*-lectin were found frequently. Three out of four serotypes of *Treponema hyodysenteriae* showed identical agglutination pattern, which could be found as well in *Treponema* isolates from cases suspicious of dysentery. The *Treponema innocens* type strain and the serotype 2 type strain of *Treponema hyodysenteriae* did not agglutinate with any of the lectins tested.

A division of intestinal *Treponema* strains in lectin agglutination groups is proposed based on the results obtained.