

Bedeutung von *Escherichia coli* O157 beim Schlachtschaf in der Schweiz

C. Zweifel¹, M. Kaufmann¹, J. Blanco², R. Stephan¹

¹Institut für Lebensmittelsicherheit und -hygiene der Universität Zürich, ²Laboratorio de Referencia de *E. coli* (LREC), Departamento de Microbiología e Parasitología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Santiago de Compostela (USC), Lugo, Spain

Zusammenfassung

Shigatoxin-bildende *Escherichia coli* (STEC) gehören zur Gruppe der latenten Zoonose-Erreger, wobei «gesunde» Nutztiere das Reservoir darstellen. Im Rahmen der traditionellen Fleischkontrolle werden diese Tiere nicht erkannt, da keine klinischen Symptome und auch keine pathologisch-anatomischen Veränderungen am Schlachtierkörper und den Organen vorliegen. Da bei der Fleischgewinnung an verschiedensten Schlachtprozessstufen die Gefahr einer Oberflächenkontamination des Schlachtierkörpers besteht, ist es notwendig, das Kontaminationsrisiko durch die Schlachttiere zu kennen. Zwischen Oktober 2004 und Juni 2005 wurden Kotproben von 630 Schlachtschafen nach Anreicherung und immunomagnetischer Separation mittels PCR auf *E. coli* O157 (*rfbE*) untersucht. Sieben (1.1%), über die gesamte Untersuchungsperiode verteilte Proben, erwiesen sich als positiv. Die mittels Koloniehybridisierung isolierten *E. coli* O157-Stämme fermentierten alle Sorbitol, liessen sich vier H-Typen (H7, H12, H38, H48) zuteilen und produzierten aber alle keine Shigatoxine. Bei einem O157:H7-Stamm wurde das Intimin-Gen (*eae*) in Kombination mit *ehxA* sowie *paa* nachgewiesen. Das Schaf hat in der Schweiz im Moment keine Bedeutung als Reservoir für «high pathogenic» *E. coli* O157:H7-Stämme. Eine auf die STEC-Problematik ausgerichtete Überwachung, wie sie im Rahmen des EU Zoonosemonitorings gefordert wird, sollte im Rahmen eines «risikobasierten Ansatzes» dieser Situation Rechnung tragen.

Schlüsselwörter: *E. coli* O157, Schaf, Ausscheiderate, Virulenzfaktoren, Schlachttiere

Prevalence and characteristics of *Escherichia coli* O157 in sheep at slaughter in Switzerland

The importance of latent zoonoses has increased in recent years in view of foodborne diseases: (i) the “healthy” animal represents a reservoir for specific pathogens; (ii) no pathological-anatomical changes in the carcass and its organs show the presence of these pathogens; and (iii) these pathogens may enter the food chain via hygienic weak points in the slaughtering process. To estimate the risks involved and to take appropriate measures, analysis of the slaughtering process should be complemented by collecting data relating to the carriage of the animals of latent zoonotic pathogens. From October 2004 to June 2005, fecal samples from 630 slaughtered sheep were enriched and then examined by IMS technique and by PCR to assess the prevalence of *E. coli* O157 (*rfbE*). Seven samples (1.1%), distributed throughout the whole examination period, were found to be positive. To assess the potential pathogenicity for humans, *E. coli* O157 strains were isolated by colony hybridization and further characterized. The isolated strains fermented Sorbitol, showed four different H types (H7, H12, H38, H48), and were all negative for *stx*. One O157:H7 strain harbored the gene for intimin (*eae*) in combination with *ehxA*, and *paa*. In consequence, the potential health hazard from sheep meat related to O157 STEC seems currently not to be of particular importance in Switzerland. Results emphasize the fact that *E. coli* O157 are not always STEC but may belong to other pathotypes as non-traditional EPEC.

Keywords: *E. coli* O157, sheep, prevalence, virulence factors, slaughter animals

Einleitung

Escherichia coli (*E. coli*) gehören zu den über 100 Bakterienarten, aus denen sich die normale Darmflora von Menschen und Tieren zusammensetzt. Während die meisten *E. coli*-Stämme apathogen sind, können

bestimmte Stammvarianten intestinale oder extraintestinale Krankheiten auslösen. Darmpathogene *E. coli* werden zurzeit in 8 Gruppen eingeteilt (EPEC, ETEC, EIEC, AEEC, DAEC, EDTEC, NTEC, STEC

(VTEC, EHEC)), wobei den Shigatoxin-bildenden *E. coli* (STEC) aus Lebensmittel-hygienischer Sicht eine ganz spezielle Bedeutung zukommt. STEC wurden 1982 in den USA erstmals als «emerging foodborne pathogens» beschrieben und führten seither auch in Europäischen Ländern wie z.B. Belgien, Deutschland, Frankreich, Grossbritannien und Italien zu lebensmittelbedingten Ausbrüchen oder sporadischen Einzelerkrankungen. Die Übertragung auf den Menschen erfolgt hauptsächlich über kontaminierte tierische Lebensmittel, wie beispielsweise Hackfleisch oder Rohmilch. Ebenfalls von Bedeutung sind Schmierinfektionen von Mensch zu Mensch respektive von Tier zu Mensch sowie Infektionen über Schwimmbad- und Trinkwasser (Griffin et al., 1998). Kontaminiertes Trinkwasser scheint auch die Ursache für die im Juli 2005 im Kanton Freiburg beschriebenen Krankheitsfälle zu sein (http://www.bag.admin.ch/infekt/publ/wissenschaft/d/diarrhoe_05.pdf). STEC können beim Menschen zu Gastroenteritis mit wässriger bis hämorrhagischer Diarrhöe sowie in schweren Fällen zu Hämorrhagischer Colitis (HC) führen. Zudem kann als lebensbedrohliche Folge, vor allem bei Kindern unter 5 Jahren, ein Hämolytisch-urämisches Syndrom (HUS) auftreten (Paton and Paton, 1998). STEC-Stämme, die Infektionen beim Menschen verursachen, gehören zu einer grossen, stetig wachsenden Zahl von O:H-Serotypen. Die meisten Ausbrüche und sporadischen Fälle von HC und HUS wurden, insbesondere in den USA, Kanada und Japan, mit dem Serotyp O157:H7 assoziiert. Allerdings sind auch schwerwiegende humane Erkrankungen, insbesondere in Europa, Australien und Südamerika, in Assoziation mit non-O157 STEC, wie z.B. O26:H11, O26:H–, O103:H2 oder O145:H– beschrieben.

STEC gehören zur Gruppe der latenten Zoonose-Erreger, wobei «gesunde» Tiere als Reservoir dienen. Der Verdacht, dass insbesondere Wiederkäuer den Erreger ausscheiden und das wichtigste Reservoir darstellen, bestätigte sich in weltweiten Untersuchungen. Daten zur Gruppe der non-O157 STEC bei grossen und kleinen Wiederkäuern liegen auch für die Schweiz vor (Stephan et al., 2000; Zweifel et al., 2004a). Kürzlich bei Rindern durchgeführte Untersuchungen verschiedener Europäischer Länder zeigten in Abhängigkeit vom jeweiligen Land grosse Streuungen der O157 STEC-Prävalenz. Beispielsweise wurden in Grossbritannien, Italien, Spanien und den Niederlanden Prävalenzen >10% gefunden (Heuvelink et al., 1998; Blanco et al., 2001; Bonardi et al., 2001; Chapman et al., 2001).

Ziel dieses vom BVET unterstützten Projektes war es, in Ergänzung zu den Daten von Schlachtrindern (Al Saigh et al., 2004), die Ausscheiderate von *E. coli*

O157 bei Schlachtschafen zu ermitteln sowie isolierte Stämme weitergehend phänotypisch und genotypisch zu charakterisieren, um einerseits eine Datenbasis für risikobasierte Monitoringuntersuchen, wie sie im Rahmen des EU Zoonosemonitorings gefordert werden, zu schaffen. Andererseits werden im Rahmen der traditionellen Fleischkontrolle Ausscheidertiere nicht erkannt, da keine klinischen Symptome und auch keine pathologisch-anatomischen Veränderungen am Schlachttierkörper und den Organen vorliegen. Da bei der Fleischgewinnung an verschiedensten Schlachtprozess-Stufen die Gefahr einer fäkalen Oberflächenkontamination des Schlachttierkörpers besteht, ist es wichtig, das Kontaminationsrisiko durch die Schlachttiere zu kennen.

Material und Methoden

Im Zeitraum von Oktober 2004 bis Juni 2005 wurden 630 Kotproben von Schlachtschafen aus einem grossen EU-zugelassenen Schlachtbetrieb der Schweiz auf das Vorkommen von *E. coli* O157 untersucht. Die Anzahl der Proben wurde so gewählt, um mit 95%iger Wahrscheinlichkeit (bei einer Prävalenz von 0.5%) *E. coli* O157 nachzuweisen (Win Episcope 2.0, Epidecon, Wageningen, NL). Die Probenentnahme erfolgte an insgesamt 25 Tagen direkt am Schlachtband. Es wurde darauf geachtet, dass die Tiere möglichst aus unterschiedlichen Betrieben stammten. Das Einzugsgebiet der Tiere erstreckte sich über 10 Kantone (AG, GR, LU, NW, SH, SG, SZ, TG, ZH, ZG). Die Proben wurden unverzüglich ins Labor gebracht und weiterverarbeitet.

Von jeder Kotprobe wurden 10 g in 100 ml Brillant-Grün-Bouillon (BGB, Becton Dickinson, Sparks, Md.) bei 37°C für 24 h angereichert. Nach immunomagnetischer Separation (IMS; Dynabeads® anti-*E. coli* O157 Dynal Biotech ASA, Oslo, N), Subkultivierung auf Blutagar (Difco Laboratories, Becton Dickinson; 5% sheep blood, Oxoid Ltd., Hampshire, UK) und Abschwemmung der gewachsenen Kolonien wurden die Proben mittels einer *yfbE*-spezifischen PCR auf das Vorkommen von *E. coli* O157 gescreent (Abdulmawjood et al., 2002).

Zur Isolierung von *E. coli* O157-Stämmen wurden jeweils 0.1 ml der PCR-positiven Anreicherungen auf Blutagar ausplattiert und im Dot-Plot Verfahren mittels einer *E. coli* O157-spezifischen DNA-Sonde hybridisiert (Kaufmann et al., 2005). Isolierte Stämme wurden biochemisch (Säurebildung aus Mannitol, positiver ONPG-Test, Indolbildung sowie Nachweis der Urease und Lysindecaboxylase) als *E. coli* und durch den Nachweis des *yfbE*-Gens als *E. coli* O157 bestätigt.

Tabelle 1: Zur Charakterisierung der *E. coli* O157-Stämme eingesetzte Primer.

| Target | Primer | Oligonukleotid-Sequenz (5'-3') | Literatur |
|-------------|-----------|---------------------------------|-----------------------------|
| <i>astA</i> | East11a | CCATCAACACAGTATATCCGA | Yamamoto und Nakazawa, 1997 |
| | East11b | GGTCGCGAGTGACGGCTTTGT | |
| <i>bfpA</i> | EP1 | AATGGTGCTTGCCTTGCTGC | Gunzburg et al., 1995 |
| | EP2 | GCCGCTTTATCCAACCTGGTA | |
| <i>eae</i> | SK1 | CCCGAATTCGCGACAAGCATAAGC | Schmidt et al., 1994 |
| | SK2 | CCCGGATCCGTCTCGCCAGTATTCCG | |
| EAF | EAF1 | CAGGGTAAAAGAAAGATGATAA | Franke et al., 1994 |
| | EAF25 | TATGGGGACCATGTATTATCA | |
| <i>ehxA</i> | HlyA1 | GGTGCAGCAGAAAAAGTTGTA | Schmidt et al., 1995 |
| | HlyA4 | TCTCGCCTGATAGTGTTTGGT | |
| <i>paa</i> | M155-F1 | ATGAGGAAACATAATGGCAGG | Batisson et al., 2003 |
| | M155-R1 | TCTGGTCAGGTCGTCAATAC | |
| <i>rfbE</i> | GiO157-I | AATGCGCTGAAGCCTTTG | Abdulmawjood et al., 2002 |
| | GiO157-II | CGAGTACATTGGCATCGT | |
| <i>stx1</i> | KS7 | CCCGGATCCATGAAAAAACATTATTAATAGC | Schmidt et al., 1994 |
| | KS8 | CCCGAATTCAGCTATTCTGAGTCAACG | |
| <i>stx2</i> | VT2e | AATACATTATGGGAAAGTAATA | Piérard et al., 1998 |
| | VT2f | TAAACTGCACTTCAGCAAAT | |

Zur weitergehenden Charakterisierung (ein Stamm pro Probe) erfolgte eine Überprüfung der Sorbitol-Fermentation sowie eine Serotypisierung (Guinée et al., 1981). Zur genotypischen Charakterisierung wurden die Stämme mittels PCR auf die Gene für *stx1* und *stx2* sowie auf das Vorkommen von *eae* inklusive Subtypen, *ehxA*, *astA* und *paa* untersucht (Tab. 1). Zudem wurden *eae*-positive Stämme auf das Vorkommen von *bfpA* und des EAF-Plasmids überprüft.

Ergebnisse und Diskussion

Im Rahmen dieser Arbeit wurde erstmals in der Schweiz die Ausscheiderate sowie Charakterisierungsdaten von *E. coli* O157 bei Schlachtschafen ermittelt. Bei den insgesamt 630 untersuchten Kotproben konnte bei 7 Proben (1.1%) das für *E. coli* O157-spezifische *rfbE*-Gen nachgewiesen werden. Die von Kudva et al. (1996) beschriebene Saisonalität des *E. coli* O157-Nachweises liess sich anhand der vorliegenden Ergebnisse nicht bestätigen. In der Literatur finden sich nur wenige Angaben zum Vorkommen von *E. coli* O157 bei Schafen (Tab. 2). In einer kürzlich an 2930 Schlachtrindern in der Schweiz durchgeführten Untersuchung erwies sich ein vergleichbarer Anteil, 1.6% der Proben, als *E. coli* O157-positiv (Al-Saigh et al., 2004). Andererseits liessen sich in einer Studie zur STEC-Prävalenz bei Schlachtschafen bei 195 (29.9%) der 653 Proben Shigatoxin-Gene (*stx*) nachweisen (Zweifel et al., 2004b). Diese Ergebnisse zeigen, dass in der Schweiz, wie auch in anderen Europäischen Staaten, non-O157 STEC-Stämme dominieren. Da die Ausscheiderate von sog.

latentem Zoonose-Erregern bei der Schlachtung stark mit dem Risiko der Kontamination der Schlachtierkörperoberfläche korreliert ist, kommt bei der Fleischgewinnung der strikten Einhaltung der Schlachthygiene eine entscheidende Bedeutung zu. Zur Überwachung der Schlachthygiene und gegebenenfalls zur Einleitung von Korrekturmassnahmen haben sich in der Praxis visuelle «Schlachtprozess-Kontrollen», ergänzt durch regelmässige mikrobiologische Verifikationskontrollen von Schlachtierkörpern gemäss den HACCP-Prinzipien, als geeignet erwiesen. Eine direkt auf die STEC-Problematik ausgerichtete Überwachung, wie sie im Rahmen des EU Zoonosemonitorings gefordert wird, muss im Rahmen eines «risikobasierten» Ansatzes aber die höhere Prävalenz von non-O157 STEC berücksichtigen.

Tabelle 2: O157 STEC-Nachweis aus Kotproben von Schafen in verschiedenen Europäischen Ländern.

| Land | Anzahl Tiere | Prävalenz (%) | Literatur |
|-----------------|--------------|------------------|------------------------|
| Grossbritannien | 676 | 6.5 | Ogden et al., 2005 |
| Grossbritannien | 4 171 | 1.7 | Paiba et al., 2002 |
| Grossbritannien | 7 200 | 1.4 | Chapman et al., 2001 |
| Niederlande | 101 | 4.0 | Heuvelink et al., 1998 |
| Norwegen | 665 | 0.0 | Johnsen et al., 2001 |
| Spanien | 1 300 | 0.4 ^a | Blanco et al., 2003 |
| Spanien | 697 | 1.0 ^a | Rey et al., 2003 |

^a STEC O157:H7

Zur Beurteilung der Pathogenität der Stämme für den Menschen ist es notwendig, zusätzlich zum Kontaminationsdruck den Serotyp, die Shigatoxin-Gene sowie weitere Virulenzfaktoren von isolierten Stämmen zu bestimmen. Von Patienten mit schwerwiegenden Symptomen isolierte O157 und non-O157 STEC-Stämme zeigen oft ein typisches Virulenzspektrum, wobei solche Stämme in der Regel *stx2*-Subtyp und *eae*-positiv sind (Boerlin et al., 1999). Eine mögliche Korrelation dieser Virulenzmerkmale mit Enterohämolyse sowie die Bedeutung zahlreicher weiterer Faktoren wird kontrovers diskutiert.

Aus 5 der 7 PCR-positiven Proben konnten mittels Kolonienhybridisierung *E. coli* O157-Stämme isoliert und weitergehend charakterisiert werden. Die isolierten Stämme fermentierten alle Sorbitol und liessen sich 4 verschiedenen H-Typen (H7, H12, H38, H48) zuteilen. Alle Stämme erwiesen sich aber als nicht Shigatoxin-produzierend. Nur einer der Stämme verfügte über Virulenzfaktoren: Das Gen für Intimin (*eae-γ1*) wurde beim O157:H7-Stamm in Kombination mit dem Gen für Enterohämolyse (*ehxA*) sowie Paa (*paa*, porcine attaching and effacing (A/E) associated) nachgewiesen. Auch bei den von Schlachtrindern isolierten *E. coli* O157 handelte es sich mehrheitlich ebenfalls um Stämme ohne *stx*-Gene (Al-Saigh et al., 2004). In einigen anderen Europäischen Ländern, insbesondere in Grossbritannien, wurden allerdings bei Schafen auch *stx*-positive *E. coli* O157 mit einem Virulenzspektrum potentiell humanpathogener Stämme nachgewiesen (Tab. 2). In der Schweiz hat aber beim Schaf wie auch beim Rind die Gruppe der non-O157 STEC die viel grössere Bedeutung. Allerdings erwiesen sich weitergehend charakterisierte non-O157 STEC-Stämme von Schafen und Rindern als überwiegend wenig virulente Varianten (Zweifel et al., 2004a; Zweifel et al., 2005). Ein gewisses Risiko für den Menschen, insbesondere als Quelle milderer humaner Erkrankungsformen, ist jedoch ausgehend von solchen Stämmen nicht auszuschliessen, da das genaue Zusammenspiel verschiedener potentieller Virulenzfaktoren bei non-O157 STEC nach wie vor unbekannt ist und zudem viele der Virulenzgene auf mobilen Elementen lokalisiert sind und daher neue Pathotypen entstehen könnten.

Der *eae*-positive und *stx*-negative O157:H7-Stamm gehört zur Gruppe der enteropathogenen *E. coli* (EPEC). Das *eae*-Gen codiert für das bei STEC und EPEC beschriebene Intimin, welches das Anhaften an Epithelzellen des Gastrointestinaltraktes vermittelt und charakteristische histopathologische Läsionen (A/E lesions) mitverursacht. An der Entstehung dieser A/E-Läsionen soll zudem Paa beteiligt sein (Batisson et al., 2003). EPEC werden weitergehend in typische und atypische Stämme unterteilt (Trabulsi et al., 2002). Typische EPEC sind eine bedeutsame Ursache von Diarrhöe beim Kleinkind in Entwicklungsländern, während in Industrieländern atypische EPEC von grösserer Bedeutung zu sein scheinen. Typische EPEC tragen das EAF-Plasmid, welches via Bundle Forming Pilus (*bfpA*) für die sogenannte «Localized Adherence» (LA) auf Zellkulturzellen verantwortlich ist. Der untersuchte, ovine EPEC-Stamm erwies sich als EAF- und *bfpA*-negativ. Von Schlachtrindern isolierte O157:H45 EPEC-Stämme wiesen jedoch das *bfpA*-Gen auf und zeigten auf Hep-2 und Caco-2 Zellen ein LA-Adhärenzmuster (Stephan et al., 2004). Solche O157:H45 EPEC wurden in Assoziation mit Enterocolitis und sporadischer Diarrhöe beim Menschen und einem grossen Ausbruch in Japan beschrieben (Makino et al., 1999).

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, dass *E. coli* mit dem O157-Antigen nicht nur zu STEC sondern auch zu anderen Pathotypen, z.B. EPEC, gehören können. Die Bedeutung und Epidemiologie von nicht-klassischen EPEC-Serogruppen ist jedoch noch weitgehend ungeklärt. Daher sind weiterführende Arbeiten notwendig, um die Rolle asymptomatischer Tiere als Ursache humaner Erkrankungen zu evaluieren.

Dank

Wir danken dem Bundesamt für Veterinärwesen (BVET) für die finanzielle Unterstützung des Projektes und dem beteiligten Schlachtbetrieb für die Kooperation. Zudem danken wir Sandra Schumacher und Karin Ballmer für ihre Mitarbeit.

Importance de *Escherichia coli* O157 chez les moutons de boucherie en Suisse

Les *Escherichia coli* produisant des shigatoxines (STEC) font parties du groupe des agents latents de zoonoses pour lesquels des animaux «sains» représentent le réservoir. Ces animaux ne sont pas repérés dans le cadre du traditionnel contrôle des viandes car ils ne présentent pas de symptômes cliniques de même que les carcasses et les organes ne montrent pas d'altérations anatomo-pathologiques. Comme le danger d'une contamination de surface des carcasses existe lors des différentes étapes du processus d'abattage, il est nécessaire de connaître le risque de contamination par les animaux abattus. Entre octobre 2004 et juin 2005, 630 échantillons de selles de moutons ont été examinés, après enrichissement et séparation immunomagnétique, par PCR quant à la présence de *E. coli* O157 (*rfbE*). Sept d'entre eux (1.1%), répartis sur l'ensemble de la période de recherche, se sont révélés positifs. Les souches de *E. coli* 157 isolées par hybridation des colonies fermentaient toutes le sorbitol et se laissaient répartir en 4 types (H7, H12, H38, H48). Aucune ne produisait toutefois de shigatoxine. Chez l'une des souches O157:H7, on a mis en évidence le gène intimine (*eae*) combiné avec *ehxA* et *paa*. Actuellement le mouton n'a pas d'importance en Suisse en tant que réservoir de souches d'*E. coli* 157:H7 hautement pathogène. Une surveillance dirigée sur la problématique STEC, comme elle est demandée dans le cadre du monitoring des zoonoses de l'UE, devrait tenir compte de cette situation.

Significato dell'*Escherichia coli* O157 nelle pecore da macello in Svizzera

Le *Escherichia coli* (STEC) produttori di tossina Shiga appartengono al gruppo degli agenti patogeni di zoonosi latenti in cui gli animali da reddito «sani» formano il reservoir. Nel quadro dei tradizionali controlli della carne questi animali non vengono riconosciuti poiché non presentano sintomi clinici e nessun cambiamento patologico-anatomico del corpo e negli organi dell'animale da macello. Durante la produzione della carne sussiste, nei diversi passi del processo di macellazione, il pericolo di una contaminazione superficiale del corpo dell'animale macellato, è quindi imperativo conoscere il rischio di contaminazione nella macellazione. Tra ottobre 2004 e giugno 2005 sono stati analizzati campioni di feci di 630 pecore da macello dopo arricchimento e separazione immunomagnetica tramite PCR dell'*E. coli* O157 (*rfbE*). Su tutto il periodo in esame 7 campioni (1.1%) sono risultati positivi. I ceppi di *E. coli* O157 isolati tramite ibridizzazione della colonia hanno tutti fermentato del sorbitolo, si sono lasciati suddividere in quattro tipi H (H7, H12, H38, H48) ma nessuno ha prodotto la tossina Shiga. In un ceppo di O157:H7 è stato rilevato il gene intimin (*eae*) combinato con *ehxA* e *paa*. Al momento in Svizzera la pecora non è considerata un reservoir per ceppi di «high pathogenic» *E. coli* O157:H7. La sorveglianza mirata della problematica STEC, come richiesto nel quadro del monitoraggio delle zoonosi della UE, dovrebbe essere tenuta un conto nel quadro di una «valutazione basata sul rischio».

Literatur

- Abdulmajjood A., Roth S., Bütle M.: Two methods for construction of internal amplification controls for the detection of *Escherichia coli* O157 by polymerase chain reaction. *Mol. Cell. Prob.* 2002, 16: 335–339.
- Al-Saigh H., Zweifel C., Blanco J., Blanco J.E., Blanco M., Usera M.A., Stephan R.: Fecal shedding of *Escherichia coli* O157, *Salmonella*, and *Campylobacter* in Swiss cattle at slaughter. *J. Food Prot.* 2004, 67: 679–684.
- Batisson I., Guimond M.-P., Girard F., An H., Zhu C., Oswald E., Fairbrother J.M., Jacques M., Harel J.: Characterization of the novel factor Paa involved in the early steps of the adhesion mechanism of attaching and effacing *Escherichia coli*. *Infect. Immun.* 2003, 71:4516–4525.
- Blanco J., Blanco M., Blanco J.E., Mora A., Alonso M.P., González E.A., Bernárdez M.I.: Epidemiology of verocytotoxinogenic *Escherichia coli* (VTEC) in ruminants. In: Verocytotoxinogenic *Escherichia coli*. Eds. G. Duffy, P. Garvey, D. McDowell, Food and Nutrition Press Inc, Trumbull, Conn., 2001, 113–148.
- Blanco M., Blanco J.E., Mora A., Rey J., Alonso J.M., Hermoso M., Hermoso J., Alonso M.P., Dahbi G., González E.A., Bernárdez M.I., Blanco J.: Serotypes, virulence genes and intimin types of Shiga toxin (Verotoxin)-producing *Escherichia coli* isolates from healthy sheep in Spain. *J. Clin. Microbiol.* 2003, 41: 1351–1356.
- Boerlin P., McEwen S.A., Boerlin-Petzold F., Wilson J. B., Johnson R.P., Gyles C.L.: Association between virulence factors of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* and disease in humans. *J. Clin. Microbiol.* 1999, 37: 497–503.
- Bonardi S., Maggi E., Pizzin G., Morabito S., Caprioli A.: Faecal carriage of Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 and carcass contamination in cattle at slaughter in northern Italy. *Int. J. Food Microbiol.* 2001, 66: 47–53.
- Chapman P.A., Cerdan Malo A.T., Ellin M., Ashton R., Harkin M.A.: *Escherichia coli* O157 in cattle and sheep at slaughter, on beef and lamb carcasses and in raw beef and lamb products in South Yorkshire, UK. *Int. J. Food Microbiol.* 2001, 64: 139–150.
- Franke J., Granke S., Schmidt H., Schwarzkopf A., Wieler L.H., Baljer G., Beutin L., Karch H.: Nucleotide sequence analysis of enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) adherence factor probe and development of PCR for rapid detection of EPEC harboring virulence plasmids. *J. Clin. Microbiol.* 1994, 32: 2460–2463.
- Griffin P.M.: Epidemiology of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections in humans in the United States. In: *Escherichia coli* O157:H7 and other Shiga toxin-producing *E. coli* strains. Eds. J.B. Kaper and A.D. O'Brien, ASM Press, Washington DC, 1998, 15–22.
- Guinée P.A., Jansen W.H., Wadström T., Sellwood R.: *Escherichia coli* associated with neonatal diarrhea in piglets and calves. *Curr. Top. Vet. Anim. Sci.* 1981, 13: 126–162.
- Gunzburg S.T., Tornierporth N.G., Riley L.W.: Identification of enteropathogenic *Escherichia coli* by PCR-based detection of the bundle-forming pilus gene. *J. Clin. Microbiol.* 1995, 33: 1375–1377.
- Heuvelink A.E., van den Biggelaar F.L., de Boer E., Herbes R.G., Melchers W.J., Huis in't Veld J.H., Monnens L.A.: Isolation and characterization of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 strains from Dutch cattle and sheep. *J. Clin. Microbiol.* 1998, 36: 878–882.
- Johnsen G., Wasteson Y., Heir E., Berget O.I., Herikstad H.: *Escherichia coli* O157:H7 in faeces from cattle, sheep and pigs in the southwest part of Norway during 1998 and 1999. *Int. J. Food Microbiol.* 2001, 65: 193–200.
- Kaufmann M., Zweifel C., Blanco M., Blanco J.E., Blanco J., Beutin L., Stephan R.: *Escherichia coli* O157 and non-O157 Shiga Toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) in fecal samples of finisher pigs at slaughter in Switzerland. *J. Food Prot.* 69: 260–266.
- Kudva I.T., Hatfield P.G., Hovde C.J.: *Escherichia coli* O157:H7 in microbial flora of sheep. *J. Clin. Microbiol.* 1996, 34: 431–433.
- Makino S., Asakura H., Shirahata T., Ikeda T., Takeshi K., Arai K., Nagasawa M., Abe T., Sadamoto T.: Molecular epidemiological study of a mass outbreak caused by enteropathogenic *Escherichia coli* O157:H45. *Microbiol. Immunol.* 1999, 43: 381–384.
- Ogden I.D., MacRae M., Strachan N.J.: Concentration and prevalence of *Escherichia coli* O157 in sheep faeces at pasture in Scotland. *J. Appl. Microbiol.* 2005, 98: 646–651.
- Paiba G.A., Gibbens J.C., Pascoe S.J., Wilesmith J.W., Kidd S.A., Byrne C., Ryan J.B., Smith R.P., McLaren M., Fitter R.J., Kay A.C., Jones Y.E., Chappell S.A., Willshaw G.A., Cheasty T.: Faecal carriage of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 in cattle and sheep at slaughter in Great Britain. *Vet. Tec.* 2002, 150: 593–598.
- Paton J.C., Paton A.W.: Pathogenesis and diagnosis of Shiga toxin-producing *E. coli* infections. *Clin. Microbiol. Rev.* 1998, 11: 450–479.
- Piérard D., Muylendermans G., Moriau L., Stevens D., Lauwers S.: Identification of new verocytotoxin type 2 variant B-subunit genes in human and animal *Escherichia coli* isolates. *J. Clin. Microbiol.* 1998, 36: 3317–3322.
- Rey J., Blanco J.E., Blanco M., Mora A., Dahbi G., Alonso J.M., Hermoso M., Hermoso J., Alonso M.P., Usera M.A., González E.A., Bernárdez M.I., Blanco J.: Serotypes, phage types and virulence genes of Shiga-producing *Escherichia coli* isolated from sheep in Spain. *Vet. Microbiol.* 2003, 94: 47–56.
- Schmidt H., Beutin L., Karch H.: Molecular analysis of the plasmid-encoded hemolysin of *Escherichia coli* O157:H7 strain EDL933. *Infect. Immun.* 1995, 63: 1055–1061.
- Schmidt H., Plaschke B., Franke S., Rüssmann H., Schwarzkopf A., Heesemann J., Karch H.: Differentiation in virulence patterns of *Escherichia coli* possessing *eae*-genes. *Med. Microbiol. Immunol.* 1994, 183: 23–31.
- Stephan R., Borel N., Zweifel C., Blanco M., Blanco J.E.: First isolation and further characterization of enteropathogenic

Escherichia coli (EPEC) O157:H45 strains from cattle. BMC Microbiol. 2004, 4:10.

Stephan R., Ragetli S., Untermann F.: Occurrence of verotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC) in fecal swabs from slaughter cattle and sheep – an observation from a meat hygiene view. Schweiz. Arch. Tierheilk. 2000, 142: 110–114.

Trabulsi L.R., Keller R., Tardelli Gomes T.A.: Typical and atypical enteropathogenic *Escherichia coli*. Emerg. Infect. Dis. 2002, 8: 508–513.

Yamamoto T., Nakazawa M.: Detection and sequences of the enteroaggregative *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin 1 gene in enterotoxigenic *E. coli* strains isolated from piglets and calves with diarrhea. J. Clin. Microbiol. 1997, 35: 223–227.

Zweifel C., Schumacher S., Blanco M., Blanco J.E., Tasara T., Blanco J., Stephan R.: Phenotypic and genotypic characteristics of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) from Swiss cattle. Vet. Microbiol. 2005, 105:37–45.

Zweifel C., Blanco J.E., Blanco M., Blanco J., Stephan R.: Serotypes and virulence genes of ovine non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in Switzerland. Int. J. Food Microbiol. 2004a, 95: 19–27.

Zweifel C., Zychowska M.A., Stephan R.: Prevalence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC), *Salmonella* spp. and *Campylobacter* spp. isolated from slaughtered sheep in Switzerland. Int. J. Food Microbiol. 2004b, 92: 45–53.

Korrespondenzadresse

Institut für Lebensmittelsicherheit und -hygiene, Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich, Winterthurerstr. 272, CH-8057 Zürich. Tel.: +41-44-635-8651. Fax: +41-44-635-8908. E-Mail: ils@fsafety.unizh.ch

Manuskripteingang: 26. August 2005

Angenommen: 30. November 2005