

**ETH**  
Eidgenössische Technische Hochschule Zürich  
Swiss Federal Institute of Technology Zurich

## Beitrag der Resistenzzucht zur Antibiotikasenkung

Vortrag Fit-Pig Tagung  
27. Oktober 2015  
PD Dr. Stefan Neuenschwander, Hu Dou, Inst. für Agrarwissenschaften, ETH  
Zürich

Partner: Suisag: Andreas Hofer, Henning Luther  
Vetsuisse Zürich: Xaver Sidler und ehemalige Mitarbeiter  
Agroscope Posieux: Sophie Thanner, Andreas Gutzwiller



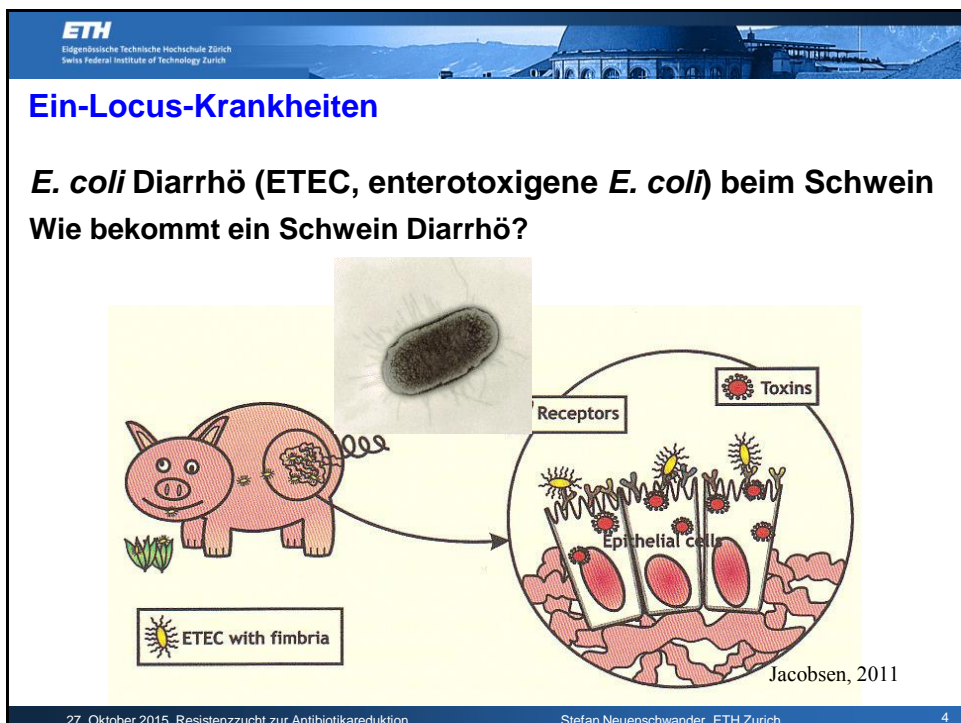
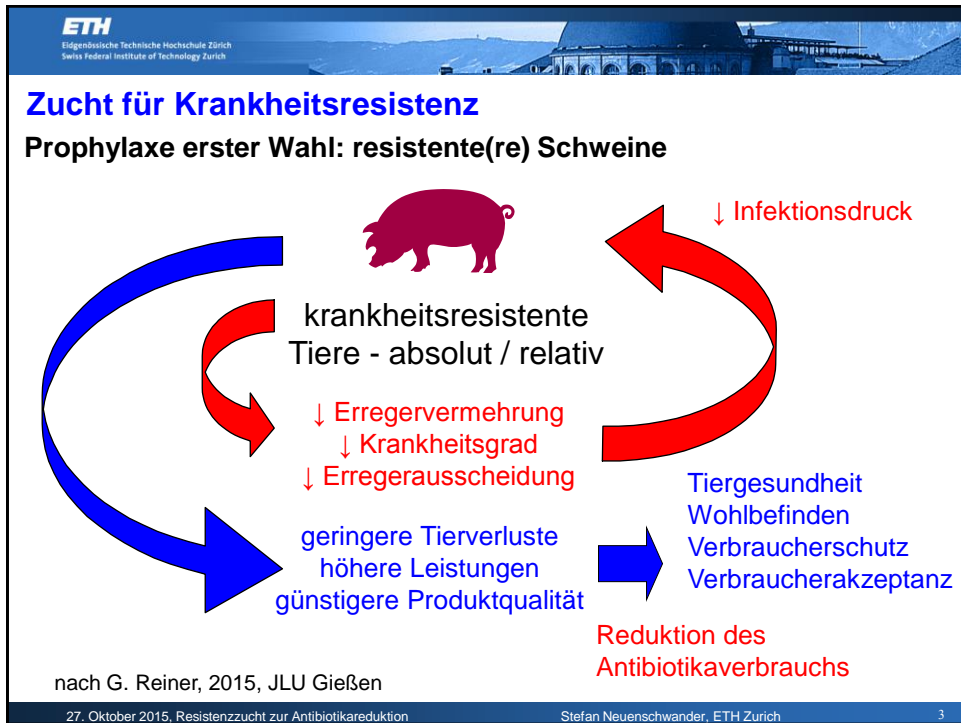
© ETH Zürich

**ETH**  
Eidgenössische Technische Hochschule Zürich  
Swiss Federal Institute of Technology Zurich

## Inhalt

- Zucht für Krankheitsresistenz
- Ein-Locus-Krankheiten
  - *E. coli* Diarrhö beim Schwein (F18, F4ab/ac)
- Mehr-Locus-Krankheit beim Schwein
  - *E. coli* Diarrhö beim Schwein (F4ad)
  - Pleuropneumonie Resistenz, Untersuchungen in Deutschland
- Zusammenfassung

27. Oktober 2015, Resistenzzucht zur Antibiotikareduktion Stefan Neuenschwander, ETH Zurich 2



**ETH**  
Eidgenössische Technische Hochschule Zürich  
Swiss Federal Institute of Technology Zurich

## Ein-Locus-Krankheiten

### *E. coli* Diarrhö beim Schwein: Ausbruch, Art der Krankheit und Toxine

Krankheit	Alter des Auftretens	Fimbrien-Typ	Toxine
Neonatale Diarrhö	erste Lebenswoche	F4	LT1, ST2
Absetzdurchfall	frisch abgesetzte Ferkel	F4, F18	alle Toxine
Ödemkrankheit	frisch abgesetzte Ferkel	F18	LT1, ST1a, ST2, SLT2v

27. Oktober 2015, Resistenzucht zur Antibiotikareduktion      Stefan Neuwandner, ETH Zurich      5

**ETH**  
Eidgenössische Technische Hochschule Zürich  
Swiss Federal Institute of Technology Zurich


## Ein-Locus-Krankheiten

### *E. coli* Diarrhö beim Schwein: Vererbung der F4ab/ac und F18 ETEC Empfänglichkeit




- monogen
- Empfänglichkeit dominant über Resistenz
- Rezeptorlocus für F18 Empfänglichkeit liegt auf SSC6
- Rezeptorlocus für F4ab/ac Empfänglichkeit liegt auf SSC13

27. Oktober 2015, Resistenzucht zur Antibiotikareduktion      Stefan Neuwandner, ETH Zurich      6




**ETH**  
Eidgenössische Technische Hochschule Zürich  
Swiss Federal Institute of Technology Zurich

## Ein-Locus-Krankheiten

***E. coli* Diarrhö beim Schwein:  
Genetische Analyse der ETEC-Empfänglichkeit**

- **Bestimmung von zuverlässigen Phänotypen**
- **Etablierung einer Versuchsherde mit segregierenden Phänotypen**
- **Genotypisierung von Markern (Blutgruppen, Serumproteine, Mikrosatelliten, SNPs)**

27. Oktober 2015, Resistenzucht zur Antibiotikareduktion      Stefan Neuschwander, ETH Zurich      7



**ETH**  
Eidgenössische Technische Hochschule Zürich  
Swiss Federal Institute of Technology Zurich

## Ein-Locus-Krankheiten

***E. coli* Diarrhö beim Schwein: Genetische Analyse der  
ETEC-Empfänglichkeit**

- **Kopplungsanalysen**
- **Bestimmung von Haplotypen zur Eingrenzung der interessierenden Chromosomenregion**
- **Analyse von Kandidatengen (Transkripte (RNA), Proteine)**

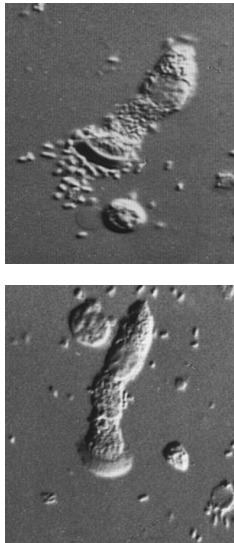
27. Oktober 2015, Resistenzucht zur Antibiotikareduktion      Stefan Neuschwander, ETH Zurich      8

**ETH**  
Eidgenössische Technische Hochschule Zürich  
Swiss Federal Institute of Technology Zurich

## Ein-Locus-Krankheiten

***E. coli* Diarrhö beim Schwein:  
Phänotypisierung der ETEC F4/F18 Empfänglichkeit**

- **Mikroskopischer ETEC Adhäsionstest**
  - Gewinnung von Enterozyten aus Schlachtschweinen
  - Zugabe von Bakterien (F4, F18)
  - Bakterien haften an Bürstensaum (falls Phänotyp empfänglich)
  - Keine Anhaftung bei resistenten Schweinen
- Adhäsion von F4ab/ac & F18 eindeutig. Der F4ad-Phänotyp ist eher ein quantitatives Merkmal.



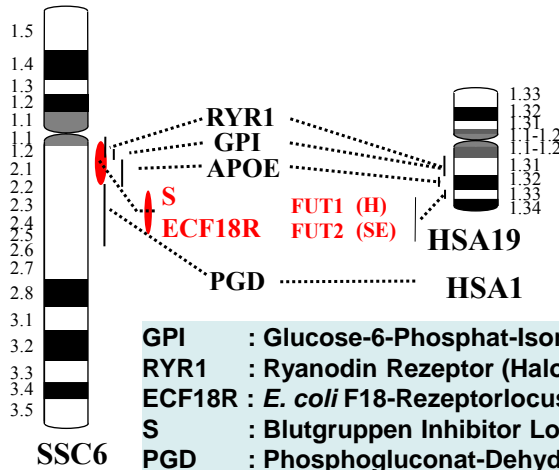
Python, 2003

27. Oktober 2015, Resistenzucht zur Antibiotikareduktion Stefan Neuwandner, ETH Zurich 9

**ETH**  
Eidgenössische Technische Hochschule Zürich  
Swiss Federal Institute of Technology Zurich

## Ein-Locus-Krankheiten

***E. coli* Diarrhö beim Schwein: Vergleichende Kartierung des ECF18 Rezeptors**



1.5  
1.4  
1.3  
1.2  
1.1  
1.1  
1.2  
2.1  
2.2  
2.3  
2.4  
2.5  
2.6  
2.7  
2.8  
3.1  
3.2  
3.3  
3.4  
3.5  
SSC6

1.33  
1.32  
1.31  
1.1-1.2  
1.1-1.2  
1.31  
1.32  
1.33  
1.34  
HSA19

RYR1  
GPI  
APOE  
PGD

S  
ECF18R  
FUT1 (H)  
FUT2 (SE)

HSA19  
HSA1

**GPI** : Glucose-6-Phosphat-Isomerase  
**RYR1** : Ryanodin Rezeptor (Halothanlocus)  
**ECF18R** : *E. coli* F18-Rezeptorlocus  
**S** : Blutgruppen Inhibitor Locus S (A0)  
**PGD** : Phosphogluconat-Dehydrogenase

27. Oktober 2015, Resistenzucht zur Antibiotikareduktion Stefan Neuwandner, ETH Zurich 10

**ETH**  
Eidgenössische Technische Hochschule Zürich  
Swiss Federal Institute of Technology Zurich

## Ein-Locus-Krankheiten

***E. coli* Diarrhö beim Schwein:  
FUT1 M307<sup>AA</sup>: Ist dieser Genotyp für die ECF18-  
Resistenz verantwortlich?**

27. Oktober 2015, Resistenzucht zur Antibiotikareduktion Stefan Neuenschwander, ETH Zurich 11

**ETH**  
Eidgenössische Technische Hochschule Zürich  
Swiss Federal Institute of Technology Zurich

## Ein-Locus-Krankheiten

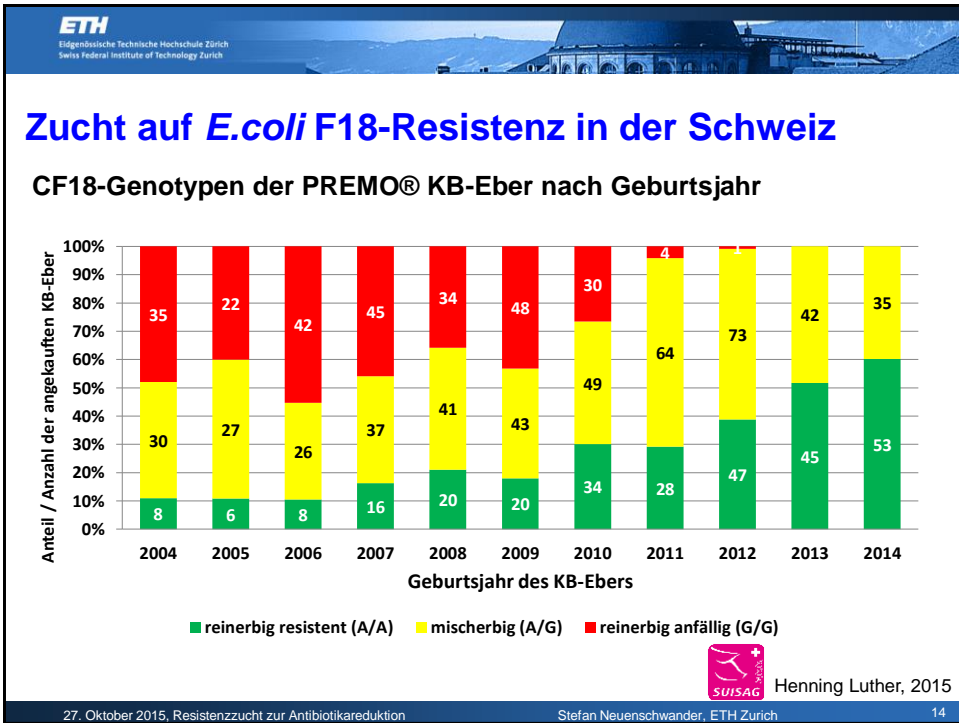
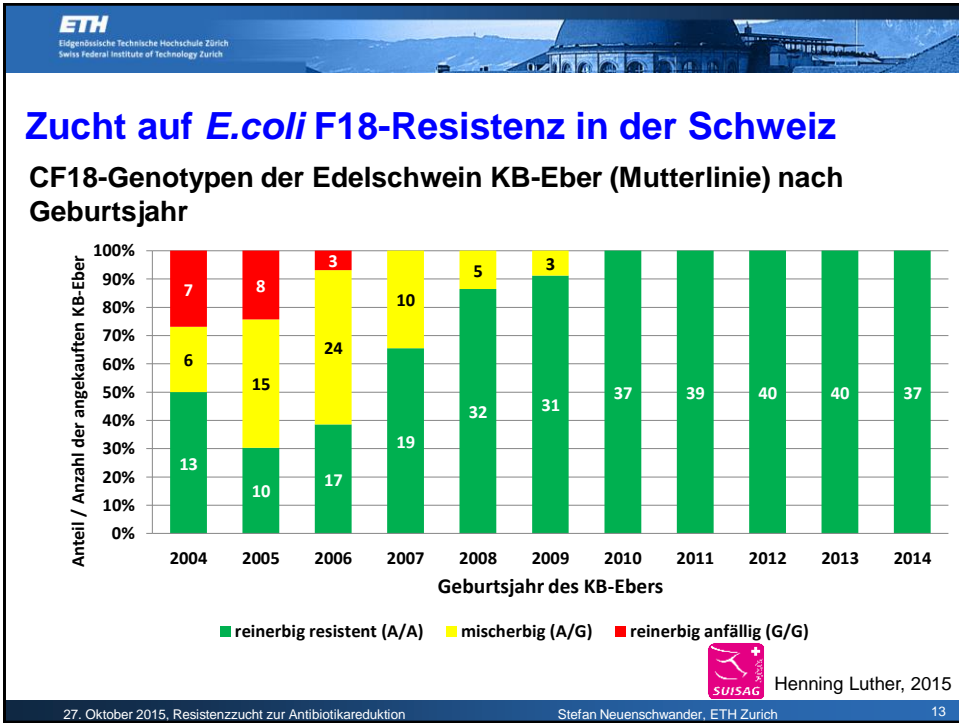
***E. coli* Diarrhö beim Schwein: GDP-Fucose Aktivität in  
Mucosazellen des Dünndarms (FUT2 negative Schweine)**

FUT1 307	ECF18R	Aktivität pmol/mg Protein	N
GG	B•	2460	2
AG	B•	2033	8
AA	bb	58	4

Meijerink et al., 2000

**Phänotypen:**  
**FUT1 M307:** <sup>307</sup>GCG → <sup>103</sup>ALA , <sup>307</sup>ACG → <sup>103</sup>THR  
**ECF18R:** B•: ECF18 Adhesion, empfänglich  
 bb : keine ECF18 Adhesion, resistent

27. Oktober 2015, Resistenzucht zur Antibiotikareduktion Stefan Neuenschwander, ETH Zurich 12





**ETH**  
Eidgenössische Technische Hochschule Zürich  
Swiss Federal Institute of Technology Zürich

## Zucht auf *E.coli* F18-Resistenz in der Schweiz

### Aktuelles Endstufen-Eberangebot der SUISAG Oktober 2015


	reinerbig resistente Eber CF18 =A/A	mischerbige Eber CF18 =A/G	reinerbig anfällige Eber CF18 =G/G	Anzahl Eber gesamt	Anteil resistentes Allel
<b>PREMO</b>	<b>70</b>	63	0	133	<b>76.3%</b>
<b>Duroc (nur SUISAG)</b>	1	17	12	30	31.7%
<b>Piétrain</b>	0	10	19	29	17.2%

**PREMO sind inzwischen 70 KB-Eber reinerbig resistent**

- Mit ihrem Sperma können Ödem-Problembetriebe gezielt beliefert werden.
- Bei gleichmäßigem Ebereinsatz vererben die 133 PREMO KB-Eber inzwischen an 76.3% ihrer Mastferkel das resistente Allel.

**Duroc und Piétrain**

- Die meisten Mastferkel dieser Eber bekommen von ihren Vätern ein anfälliges Allel vererbt und sind damit genetisch anfällig für *E.coli* F18 Bakterien.

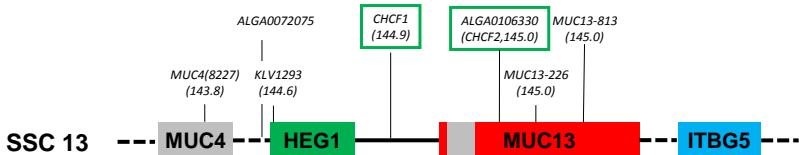
  
Henning Luther, 2015

27. Oktober 2015, Resistenzucht zur Antibiotikareduktion Stefan Neuenschwander, ETH Zurich 15

**ETH**  
Eidgenössische Technische Hochschule Zürich  
Swiss Federal Institute of Technology Zürich

## Ein-Locus-Krankheiten

### *E. coli* Diarrhö beim Schwein: Neue Marker zur Bestimmung F4ab/ac empfänglichen und resistenten Schweinen



Marker / Allele	Resistent	Empfänglich
CHCF1	C	A
CHCF2	A	G

Neuenschwander et al. 2013

27. Oktober 2015, Resistenzucht zur Antibiotikareduktion Stefan Neuenschwander, ETH Zurich 16



**ETH**  
Eidgenössische Technische Hochschule Zürich  
Swiss Federal Institute of Technology Zurich

## Ein-Locus-Krankheiten

***E. coli* Diarrhö beim Schwein: ECF4ab/acR-Typisierung mit den Markern *CHCF1* and *CHCF2***

Rasse	Anzahl	Übereinstimmend	Abweichend	% Abweichend
Edelschwein	196	196	0	0
Landrasse	21	15	6	40.0
Duroc	29	25	5	20.8
Piétrain	25	19	6	31.6

Stüssi, 2014

27. Oktober 2015, Resistenzucht zur Antibiotikareduktion Stefan Neuschwander, ETH Zurich 17

**ETH**  
Eidgenössische Technische Hochschule Zürich  
Swiss Federal Institute of Technology Zurich

## Ein-Locus-Krankheiten

***E. coli* Diarrhö beim Schwein: ECF4ab/acR Phänotypisierung von KB-Eber mit abweichenden *CHCF1*-, *CHCF2*- & *CHCF3*-Genotypen. *CHCF1* und *CHCF3* sind zuverlässiger als *CHCF2*.**

Rasse	Tier-ID	MUC4-8227	alga-5	CHCF1	CHCF3	MUC13_G.15376	CHCF2	MUC13-226	Phänotyp
Duroc	1221 HK	r/r	r/r	r/r	r/r	r/s	r/s	r/s	R
Duroc	1259 HK	r/r	r/r	r/r	r/r	r/s	r/s	r/s	R
Duroc	1352 HK			r/r			rs		R
Landrasse	8318 JS3	r/s	r/r	r/r	r/r	r/s	r/s	r/s	R
Landrasse	844 JS4	r/s	r/r	r/r	r/r	r/s	r/s	r/s	R
Landrasse	5676 NO3	r/r	r/r	r/r	r/r	s/s	s/s	s/s	R
Piétrain	644 PPG	r/s	r/s	r/s	r/r ?	s/s	s/s	s/s	S
Piétrain	564 HVE	r/r	r/r	r/r	r/r	r/s	r/s	r/s	lebt
Piétrain	660 HVE	r/r	r/r	r/r	r/r	r/s	r/s	r/s	R

27. Oktober 2015, Resistenzucht zur Antibiotikareduktion Stefan Neuschwander, ETH Zurich 18

**ETH**  
Eidgenössische Technische Hochschule Zürich  
Swiss Federal Institute of Technology Zurich

## MLP Prüftiere (ES): Einfluss des Resistenzlocus auf Leistungsmerkmale (1)

Genotyp	CHCF1	CHCF2
Resistent (RR)	182	181
Heterozygot (SR)	267	268
Empfänglich (SS)	81	81
Total	530	530
Rekombinant: 1	< 0.2%	
Allelfrequenz (R)	0.59	

Genotyp	Muc4-8227	alga5	CFCH1	CHCF3	CHCF2	Muc13_G15376
Rek. Schwein	r/r	r/r	r/r	r/r	r/s	r/s

(D. Hu ETHZ)

27. Oktober 2015, Resistenzucht zur Antibiotikareduktion Stefan Neuenschwander, ETH Zurich 19

**ETH**  
Eidgenössische Technische Hochschule Zürich  
Swiss Federal Institute of Technology Zurich

## MLP Prüftiere (ES): Einfluss des Resistenzlocus auf Leistungsmerkmale (2)

- Der Einfluss der Resistenzlocus wurde an 530 Tieren und 17 Leistungsmerkmalen untersucht.
- Nur im intramuskulären Fett (IMF) des *M. longissimus dorsi* war der Einfluss signifikant ( $p = 0.025$ ).
- Auswirkungen einer Selektion auf resistente Schweine im IMF:
  - Im Merkmal IMF will man keine Veränderungen, da es bereits optimal ist.
  - Mit einer Allelfrequenz des Resistenten Allel (R) = 0.59 wird sich der IMF nur minimal verkleinern, wenn nur noch resistente RR Tiere in der Population wären (- 0.015%).

A. Hofer, Suisag  
D. Hu, ETHZ

27. Oktober 2015, Resistenzucht zur Antibiotikareduktion Stefan Neuenschwander, ETH Zurich 20

**ETH**  
Eidgenössische Technische Hochschule Zürich  
Swiss Federal Institute of Technology Zurich

## Resistenzucht in der Schweiz

### *E. coli* Diarrhö beim Schwein: F4ab/ac-Empfänglichkeit

- F4ab/ac Resistenzucht ist grundsätzlich machbar ohne unerwünschte Einflüsse auf die Leistung.
- Wichtige Tiere werden heute schon typisiert
  - Es wird noch nicht auf die resistenten Marker selektioniert.
  - Resistenzucht auf F18 soll zuerst abgeschlossen werden.

27. Oktober 2015, Resistenzucht zur Antibiotikareduktion      Stefan Neuwandner, ETH Zurich      21

**ETH**  
Eidgenössische Technische Hochschule Zürich  
Swiss Federal Institute of Technology Zurich

## Mehr-Locus-Krankheit

### *E. coli* Diarrhö beim Schwein (F4ad)

- 4 statt 1 Darmstelle für Adhäsion getestet
- Keine Korrelation zu den starken Rezeptoren für F4ab/ac-Varianten
- Zwei Arten von Darmrezeptoren (1)
  - Voll-adhäsiwer Rezeptor (F4adR<sup>FA</sup>) auf allen Stellen und Enterocyten des Dünndarms
  - Partiiell-adhäsiwer Rezeptor (F4adR<sup>PA</sup>) mit variabler Expressionsstärke

Rampoldi et al. 2014

27. Oktober 2015, Resistenzucht zur Antibiotikareduktion      Stefan Neuwandner, ETH Zurich      22

**ETH**  
Eidgenössische Technische Hochschule Zürich  
Swiss Federal Institute of Technology Zurich

## Mehr-Locus-Krankheit

*E. coli* Diarrhö beim Schwein (F4ad)

- Zwei Arten von Darmrezeptoren (2)
  - Bei Schweinen mit F4adR<sup>PA</sup> und F4adR<sup>FA</sup>: F4adR<sup>PA</sup> ist durch F4adR<sup>FA</sup> maskiert.
  - Hypothese: F4adR<sup>FA</sup> ist durch zwei komplementäre dominante Gene vererbt.
  - Hypothese: F4adR<sup>PA</sup> ist monogen dominant vererbt.
- Noch keine genetischen Marker vorhanden

Rampoldi et al. 2014

27. Oktober 2015, Resistenzzucht zur Antibiotikareduktion Stefan Neuenschwander, ETH Zurich 23

**ETH**  
Eidgenössische Technische Hochschule Zürich  
Swiss Federal Institute of Technology Zurich

## Fazit: Zucht für Krankheitsresistenz

Umsetzung in einem Zuchtprogramm (1)

- Zucht für Krankheitsresistenz braucht ZEIT und GELD!
- Erfolg und Dauer der Selektion resistenter Schweine hängt von der Allelfrequenz und der Anzahl Selektionsmarker ab.
- Abklärungen:
  - Unterscheiden sich die selektionierten resistenten Schweine bezüglich wichtiger Leistungseigenschaften?
  - Bestehen (unerwünschte) genetische Korrelationen zwischen den Resistenzloci und wichtigen Leistungseigenschaften?
  - Jedes zusätzliche Selektionsmerkmal (Resistenz) vermindert den Selektionserfolg der andern Merkmale (Leistungsmerkmale).

27. Oktober 2015, Resistenzzucht zur Antibiotikareduktion Stefan Neuenschwander, ETH Zurich 24

**ETH**  
Eidgenössische Technische Hochschule Zürich  
Swiss Federal Institute of Technology Zurich

## Fazit: Zucht für Krankheitsresistenz

### Umsetzung in einem Zuchtprogramm (2)

- **Kosten der Genotypisierung**
  - Proben sammeln, Typisierungskosten
- **Einzug der genomischen Selektion in der Schweinezucht**
  - Kundenspezifische SNP-Chips könnten Resistenzmarker enthalten
  - Mehrwert für die Zuchtorganisation
  - Mindestens die Eber sind genotypisiert

27. Oktober 2015, Resistenzzucht zur Antibiotikareduktion      Stefan Neuwandner, ETH Zurich      25

**ETH**  
Eidgenössische Technische Hochschule Zürich  
Swiss Federal Institute of Technology Zurich

## Fazit: Zucht für Krankheitsresistenz

### Auswirkungen auf den Antibiotikaverbrauch

**Ziel:**  
Geringere Tierverluste,  
Weniger Antibiotikaeinsatz,  
Weniger Antibiotika-resistente Mikroorganismen

- **Keine Datenbank für Antibiotikaverbrauch vorhanden**
  - Krankheitsfälle werden nicht systematisch erfasst
  - Erreger oft nicht gesichert
- **Zucht auf Oedem-Resistenz fast abgeschlossen**
- **Intervention in *E.coli*-F4 Problembetrieben in Zukunft möglich**

27. Oktober 2015, Resistenzzucht zur Antibiotikareduktion      Stefan Neuwandner, ETH Zurich      26

**ETH**  
Eidgenössische Technische Hochschule Zürich  
Swiss Federal Institute of Technology Zurich

## Ausblicke

- **F4ab/ac Rezeptor**
  - Was sind die molekularen Ursachen für die Resistenz gegenüber *E. coli* F4ab/ac Adhäsion?
  - Wir planen mittels Next Generation Sequencing den Bereich zwischen den Markern CHCF1 und CHCF3 besser zu charakterisieren.
- **F4ad Rezeptor**
  - Welche Chromosomenabschnitte sind für die Ausprägung der F4ad Rezeptoren verantwortlich?
  - Können wir unsere Hypothesen bezüglich der Vererbung der F4ad-Rezeptoren bestätigen?

27. Oktober 2015, Resistenzucht zur Antibiotikareduktion Stefan Neuwandner, ETH Zurich 27

**ETH**  
Eidgenössische Technische Hochschule Zürich  
Swiss Federal Institute of Technology Zurich

## Dank

- **Inst. für Agrarwissenschaften Tiergenetik (ETH Zürich)**
  - Peter Vögeli
  - Hansueli Bertschinger
  - Antonio Rampoldi
  - Edwin Meijerink
  - David Joller
  - Pascal Python
  - Monika Haubitz
  - Anna Bratus
  - Martin Stüssi
  - Hu Dou
- **Abteilung Schweinemedizin, Vetsuisse-Fakultät Zürich**
  - Esther Bürgi
  - Xaver Sidler
- **Dep. Basic Veterinary and Animal Science Univers. Copenhagen**
  - Mette Juul Jacobson
  - Claus B. Jorgensen
- **Schweiz. Nationalfonds**
- **SUISAG**
  - Andreas Hofer
  - Henning Luther

27. Oktober 2015, Resistenzucht zur Antibiotikareduktion Stefan Neuwandner, ETH Zurich 28