



Fachbereich Agrarwirtschaft und Lebensmittelwissenschaften

## Bachelorarbeit

# “ESBL / AmpC tragende *Escherichia coli* in der Schweinehaltung“

von

*Amelie Marx*

Bad Fallingbostel

28.01.2021

Erstgutachter: Prof. Dr. Sandra Rose

Zweitgutachter: Dr. Timo Homeier-Bachmann

## Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis.....	4
Verzeichnis der Abkürzungen.....	5
Zusammenfassung .....	7
1. Einleitung.....	8
2. Stand des Wissens.....	10
2.1. Mikrobiom Schwein .....	9
2.2. Escherichia Coli .....	13
2.2.1. ESBL.....	16
2.2.2. AmpC.....	17
2.3. Antibiotika Allgemein.....	18
2.3.1. Antibiotikaeinsatz in der Tierhaltung .....	20
2.4. Resistenzsituation in <i>E. Coli</i> in Deutschland .....	21
3. Material und Methoden.....	24
3.1. Beispielbetrieb.....	24
3.1.2.....	24
Fragebogen .....	24
3.2. Probennahme.....	26
3.3. Bakteriologische Untersuchung.....	27
3.4. Charakterisierung der Isolate .....	28
3.4.1. DNS-Präparation.....	28
3.4.2. Polymerase-Kettenreaktion (PCR).....	28
3.4.3. Agarose-Gelelektrophorese .....	29
4. Ergebnisse .....	30
4.1. Charakterisierung des Beispielbetriebes .....	30
4.2. Bakteriologische Untersuchung.....	34
4.3. Charakterisierung der Isolate (RAPD PCR) .....	35
5. Diskussion .....	37
6. Empfehlung für den Beispielbetrieb.....	40
7. Ausblick .....	42
Literaturverzeichnis .....	44
Anhang.....	47

## **Abbildungsverzeichnis**

Abbildung 1: Einflussfaktoren auf das intestinale Mikrobiom (Brade u. Distl, 2016)	8
Abbildung 2: Einflussnahme des Mikrobioms (Brade u. Distl, 2016) .....	10
Abbildung 3: Interaktion zwischen Mikrobiom und GALT (Brade u. Distl, 2016)...	11
Abbildung 4: Die Adhäsionsfaktoren von ETEC sind spezialisierte Fimbrien- oder Pilusproteine, die sich an die Glykoproteinrezeptoren der intestinalen Zellen anheften (McOrist, 2015).....	13
Abbildung 5: Einteilung der $\beta$ - Laktamasen nach Ambler (1980) .....	16
Abbildung 6: Resistenz von Isolaten commensaler E.Coli aus Schweinefleisch und Kalbfleisch gegenüber antimikrobiellen Substanzen (Schroeter u. Käsbohrer,2011) .....	18
Abbildung 7: CHROMagar Orientation (MAST Group) zur Differenzierung der Keime auf Basis der Farbe (E.coli stellt sich als pinke/lila Kolonien dar).....	24
Abbildung 8: Auswertung der Proben auf ESBL E.coli .....	30
Abbildung 9: Auswertung PCR Saug- und Absatzferkel und Gülle.....	36
Abbildung 10: Auswertung PCR Mittel - und Endmast und Gülle.....	36

## **Verzeichnis der Abkürzungen**

AmpC	-	AmpC -Beta -Lactamases
ARS	-	Antibiotika-Resistenz-Surveillance
BCFA	-	Branched Chain Fatty Acid; verzweigte Fettsäuren
Ca	-	Calcium
CTX-M	-	CTX-M-Beta-Lactamases; genetisch verwandte Gruppen von Beta -Laktamasen
DANN	-	Desoxyribonukleinsäure
EARSS	-	European Antimicrobial Resistance Surveillance
E.Coli	-	Escherichia Coli
EFSA	-	Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit
EHEC	-	enterohämorrhagische E.Coli
EPEC	-	enteropathogene E.Coli
ESBL	-	Extended-spectrum-beta-lactamases
ETEC	-	Enterotoxische E.Coli Stämme
ExPEC	-	extraintestinal pathogene E.Coli
GALT	-	Gut-associated- lymphoid-tissue
GERM-Vet	-	Nationales Resistenzmonitoring tierpathogener Bakterien
GIT	-	Gastrointestinaltrakt
IPEC	-	International Pharmaceutical Excipients Council
IS	-	Insertionssequenz
MDR	-	Multi Drug Resistance
Mg	-	Magnesium
OMP	-	Outer Membrane Proteins
pAmpC	-	plasmidic AmpC
PCR	-	Polymerase Chain Reaction; Polymerase - Kettenreaktion
PCV 2	-	Porcines-Circovirus-2

PGN	-	Peptidoglycane
PRRSV	-	Porcines Reproduktives und Respiratorisches Syndrom Virus
RAD	-	Randomly Amplified Polymorphic DNA
SCFA	-	Short Chain Fatty Acid; kurzkettige Fettsäuren
SHV	-	Sulfhydryl Reagent Variable ; prevalent enzymes
STEC	-	Shigatoxin bildende E.Coli
STx2e	-	Shigatoxin bildende E.Coli
TBE	-	TRIS-Borat-EDTA-Puffer; Elektrophoresepuffer
TEM	-	prevalent Enzymes
WHO	-	World Health Organization

## **Zusammenfassung**

In der folgenden Arbeit wurde anhand eines schweinehaltenden Betriebes das Vorkommen von ESBL/AmpC tragenden Escherichia Coli Bakterien untersucht und beschrieben. Dazu wurden Kotproben in Form von Tupferproben aus den verschiedenen Bereichen der Schweinehaltung entnommen und im Friedrich-Loeffler-Institut auf ESBL Vorkommen untersucht. Des Weiteren wurde die Resistenzentwicklung sowie der Einsatz von Antibiotika in der Tierhaltung näher beschrieben. Das Problem der Antibiotika Resistenz im Tierbereich, welches seit Jahren diskutiert wird und gerade das ESBL *E.Coli* Vorkommen im Schweinebereich, kann durch den durchgeführten Versuch nur bestätigt werden. Von den entnommenen und untersuchten Proben gab es zu 89,02% ein ESBL *E.Coli* Vorkommen. Aus den Ergebnissen werden Empfehlungen für die Bereichen Hygienemanagement und Desinfektionsregime, insbesondere zum Umgang mit Biofilmen und der Gülle, sowie zum Personaleinsatz abgeleitet. Auch in den kommenden Jahren sollte die Forschung in Bezug auf Antibiotika Resistenzen weiter fortgeführt werden.

## 1. Einleitung

Bakterien sind für Säugetiere überlebenswichtig. Das Mikrobiom beeinflusst eine Vielzahl physiologischer Prozesse im Wirt, insbesondere mukosale aber auch systemische Immunantworten werden durch diese mikrobiellen Gemeinschaften dynamisch moduliert (Talham, 1999). Dabei konkurrieren auch bei einem gesunden Tier stets obligate oder fakultative Krankheitserreger um den Lebensraum Darm. Neben zoonotischen Erregern, wie Salmonellen, spielen insbesondere kommensale *Escherichia (E.) coli* in der Schweinehaltung eine große Rolle. Neben diesen Kommensalen kommen auch fakultative Krankheitserreger innerhalb der Bakterienspezies *E. coli* vor. Wird eine bakterielle Krankheit in einem Bestand festgestellt, kommen häufig Antibiotika zum Einsatz, wobei gerade im Schweinebereich die Einzeltierbehandlung im Vordergrund steht. Die Studienlage zeigt jedoch, dass ein Einsatz von Antibiotika in Nutztierbeständen das Risiko für Entstehung von Antibiotikaresistenzen steigert (van den Bogaard u. Stobberingh, 2000). Laut European Medicines Agency (2014) werden pro Kilogramm erzeugtem Schweinefleisch in Deutschland 150 mg Antibiotika eingesetzt. Im Vergleich dazu werden in Nachbarländern, wie Dänemark, lediglich 44,2 mg eingesetzt. Das Resistenzmonitoring des Bundesinstituts für Risikobewertung zeigt seit 2009 einen Anstieg in den antibiotikaresistenten Bakterien in der Nutztierhaltung (BfR, 2011). Neben der direkten Übertragung des Keims vom tierischen Lebensmittel auf den Menschen, ist auch die horizontale und vertikale Weitergabe der Resistenzdeterminanten eine Herausforderung in der Lebensmittelsicherheit.

Die Deutsche Antibiotika-Resistenzstrategie (DART 2020) hat sich zum Ziel gesetzt die Entstehung und Ausbreitung von Antibiotikaresistenzen in der Human- und Veterinärmedizin einzudämmen. Neben den strengen Auflagen zur Dokumentation des Einsatzes in Lebensmittel liefernden Tierbeständen, ist die Reduktion des Antibiotikaeinsatzes Ziel der Strategie. Neben gesetzlichen Auflagen für Tierhalter, ist auch die betriebsindividuelle Umsetzung zur Eindämmung von Antibiotikaresistenzen ein aktuelles Thema für Schweinehalter. In dieser Arbeit wird das Resistenzvorkommen von *E. coli* in der Schweinehaltung anhand eines Beispielbetriebes betrachtet.

Ein Schwerpunkt der DART 2020 ist die Unterbrechung von Infektionsketten. Daher werden die im Rahmen der Untersuchung des Beispielbetriebes isolierten resistenten *E. coli* weitergehend charakterisiert. Die Ergebnisse werden genutzt, um Empfehlungen zum Unterbrechen von innerbetrieblichen Infektionsketten und damit zur Reduktion der Erregerlast insgesamt zu geben.

## 2. Stand des Wissens

Der prophylaktische Einsatz von Antibiotika in der Nutztierhaltung ist seit Mitte der 1990er Jahre in Europa stark eingeschränkt (Wegener, 2003). Grund dafür ist unter anderem die schnelle Resistenzentwicklung und -übertragung der im Mikrobiom angesiedelten Bakterien. Mit zunehmender Aktualität vergrößert sich auch die Studienlage für diesen Themenbereich.

### 2.1. Mikrobiom Schwein

Das Mikrobiom wird als die Gesamtheit aller Mikroorganismen bezeichnet, die einen Mikroorganismus besiedeln. Dabei können die vorkommenden Bakterien, Archaeen, Viren, Pilze und Protozoen einen Einfluss auf das Immunsystem, den Stoffwechsel und auch auf den Hormonhaushalt ihres Wirts nehmen. Im Darm produzieren Mikrobiota beispielweise kurzkettige Fettsäuren (z.B. Propionat, Acetat, Butyrat), welche wichtig für die Induktion von regulatorischen T-Zellen sind. Außerdem dekonjugieren Darmbakterien die Gallensäuren, die anschließend über komplexe Signalwege den Stoffwechsel von Lipiden sowie Kohlenhydraten und zudem Immunreaktionen beeinflussen. In Abhängigkeit der Mikroumgebung kann sich die individuelle Zusammensetzung des Mikrobioms zügig und sehr dynamisch verändern. Grundsätzlich wird es jedoch von Faktoren wie z.B. dem Alter, der Genetik, der Ernährung oder der eingesetzten Medikamente beeinflusst (Abbildung 1). Die Erforschung der residenten Mikroflora beim Menschen und anderen Säugetieren wird als Mikrobiomik bezeichnet (Sutrop et. al., 2020). Die Metagenomik untersucht das Genom von in der Umwelt vorkommenden Spezies, die die Fähigkeit besitzen, in die menschliche Biologie direkt oder indirekt einzugreifen (Gilbert et. al., 2018).

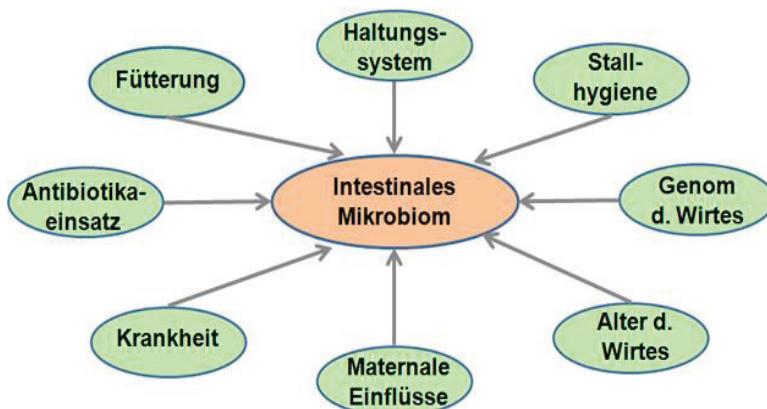


Abbildung 1: Einflussfaktoren auf das intestinale Mikrobiom (Brade u. Distl, 2016)

Die vielfältigen Funktionen des Mikrobioms können in verschiedene Bereiche gruppiert werden:

- eine metabolische Funktion,
- eine trophische Funktion,
- eine immunologische Funktion und
- eine protektive Funktion.

Anzumerken bleibt jedoch, dass eine klare Differenzierung der genannten Funktionen nicht immer ohne weiteres möglich ist. So sind z.B. die protektiven und immunologischen Funktionen des intestinalen Mikrobioms eng miteinander gekoppelt. In einem genetisch suszeptiblen Tier kann das Mikrobiom sowohl zu Störungen der Barriere als auch des Immunsystems führen (Abbildung 2).

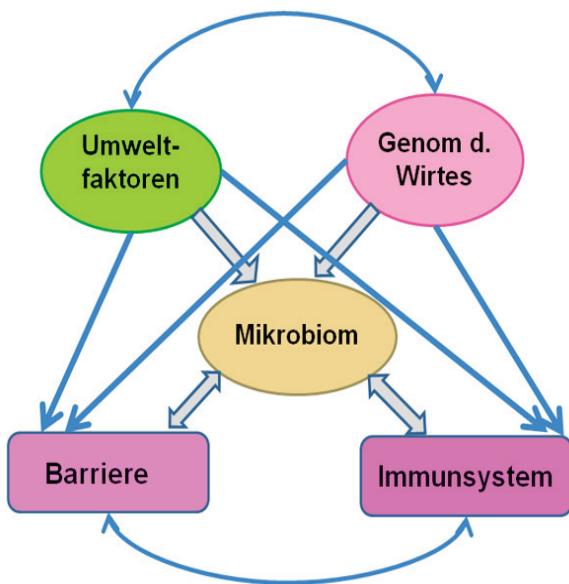


Abbildung 2: Einflussnahme des Mikrobioms (Brade u. Distl, 2016)

Im Vergleich zu den Darmzellen im Lumen, wo der Aufschluss der Nahrung durch Enzyme stattfindet, sind Darmbakterien in der Lage schwer verdauliche Nahrungsbestandteile (Anteile der Nahrung, welche durch den porcinen Enzymapparat nicht zerlegt werden) wie z.B. pflanzliche Polysaccharide, zu metabolisieren. Spezialisierte Darmbakterien bilden dazu differenzierte Verdauungsenzyme (Salonen u. de Vos, 2014). Somit ist der Abbau schwer verdaulicher Nahrungsbestandteile sowie deren Metabolisierung eine wichtige Aufgabe der intestinalen Mikrobiota. Die wesentlichen Produkte der Fermentation sind

Gase ( $H_2$ ,  $CO_2$ ), kurzkettige Fettsäuren (SCFA), verzweigte Fettsäuren (BCFA), Ethanol, Laktat oder auch Ammoniak.

Mikrobiota sind auch in die weitere Metabolisierung der primären Gallensäure sowie für die Bereitstellung von Energiesubstraten für die Kolonzyten, Leberzellen oder peripheren Zellen integriert. Des Weiteren stimuliert SCFA (short chain fatty acid) die intestinale Aufnahme von Elektrolyten (Ca, Mg) und Spurenelementen wie z.B. Eisen. Auch bei der Vitaminsynthese spielen die intestinalen Mikroorganismen eine wichtige Rolle für den Wirt (Guarner u. Malagelada, 2003).

### **Trophische Funktionen**

Unter Trophik versteht man den Ernährungs- oder auch Wachstumszustand eines Gewebes oder Organs (Chowdhury et al., 2007). Das intestinale Mikrobiom beeinflusst sowohl die Physiologie als auch die Morphologie des Darmtraktes. Beispielsweise bei Ferkeln nehmen Darmmikroben Einfluss auf die Barrierefunktion des Epithels, die Biosynthese von Mukus oder die Etablierung des Immunsystems. Gleichzeitig tragen die kurzkettigen Fettsäuren wesentlich zur physiologischen Funktion des gesamten Intestinaltraktes bei. Die SCFAs stimulieren die Epithelzellproliferation und deren Differenzierung sowohl im Dünn- als auch im Dickdarm (Salonen u. de Vos, 2014).

### **Protektive und immunologische Funktionen**

Das intestinale Mikrobiom ist neben der Regulation und der Entwicklung des Gastrointestinaltraktes (GIT) auch an den protektiven Funktionen oder bei der Aktivierung des Immunsystems des Wirtes beteiligt. Kommensale Bakterien verteidigen den GIT vor neuen Mikroorganismen, dies nennt man eine zelluläre Barriere. Zusätzlich verhindern sie durch die Bildung von antimikrobiell wirksamen Substanzen (z.B. Bacteriozinen) ein Wachstum von potenziell pathogenen Keimen (Friedl, 2015). Man kann also sagen, dass generell zahlreiche Bakterien den Schutz durch ihre zelluläre Barriere erhöhen (Buddington u. Sangild, 2011).

Das intakte Darmepithel stellt gemeinsam mit dem autochthonen Mukosa assoziierten Mikrobiom eine Barriere gegen das Eindringen von pathogenen Mikroben, Antigenen und anderen Substanzen aus dem Darmlumen dar (Friedl, 2015). Neben den Barrieremechanismen kommt dem darmassoziierten lymphatischen Gewebe (GALT; gut – associated lymphoid tissue) eine besondere Schutzfunktion gegenüber Infektionserregern zu (Abbildung 3). Es stellt somit das größte lymphatische Organ des Wirtes dar (Friedl, 2015).

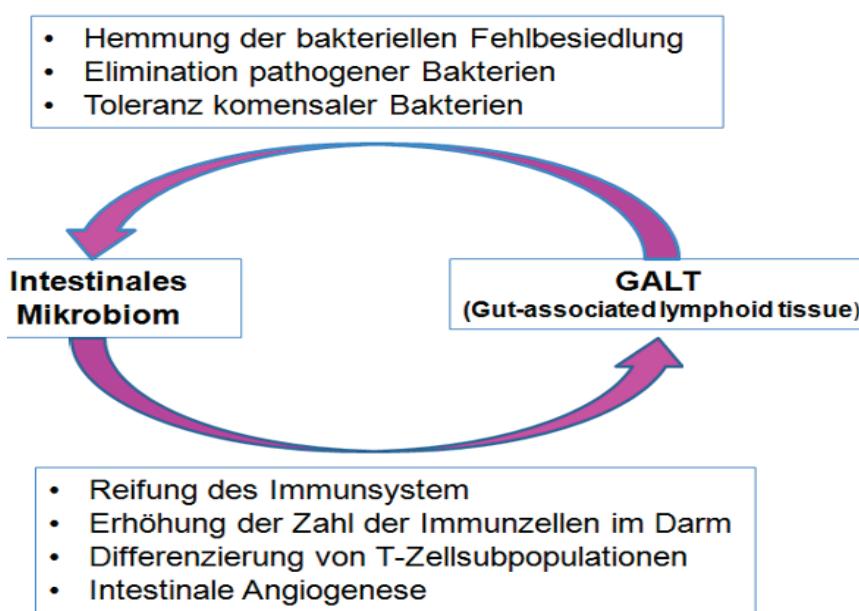


Abbildung 3: Interaktion zwischen Mikrobiom und GALT (Brade u. Distl, 2016)

Wie sich die Gabe von Antibiotika auf die Darmmikrobiota auswirkt, hängt von verschiedenen Faktoren, wie z.B. der Dosis und Dauer der Verabreichung, dem Erregerspektrum des Antibiotikums aber vor allem vom Applikationsweg ab. Antibiotika verringern die mikrobielle Diversität im Darm, wobei die Antibiotika, die über die Gallensäure ausgeschieden werden, die Darmmikrobiota stärker beeinflussen als andere (Schmidt, 2012). Zudem selektiert die Antibiotikaeinnahme resistente Stämme, sodass nach Beginn der Therapie unter Umständen die resistenten Vertreter innerhalb einer Bakterienspezies überwiegen. Ob dabei primär sensible Bakterien durch eine Mutation resistent werden oder resistente Bakterien durch einen Wachstumsvorteil die Überhand gewinnen, ist bisher nicht vollständig geklärt (Schmidt, 2012).

## 2.2. Escherichia Coli

Das von Theodor Escherich vor 125 Jahren entdeckte *Escherichia (E.) coli* Bakterium ist ein verbreiteter Darmbewohner bei Menschen und Tieren. Aber auch in rohen Lebensmitteln tierischer und pflanzlicher Herkunft ist dieser Keim regelmäßig nachweisbar, da er auch in der Umwelt für lange Zeit überlebensfähig ist. Da die Anwesenheit von *E. coli* in Lebensmitteln und Wasser auf eine Verunreinigung mit Fäkalien hindeuten kann, werden diese Bakterien häufig als Hygieneindikator für Fäkalverunreinigungen angesehen. Zu beachten ist jedoch, dass *E. coli* auch außerhalb des Darms lange überleben kann und somit überhöhte Keimzahlen nicht unbedingt auf unmittelbare fäkale Kontaminationen zurückzuführen sind (Piechocki, 1989). Bei einer Kontamination mit *E. coli* kann eine mangelnde Produktions- und Personalhygiene eine Rolle spielen, jedoch sind stets mehrere Kontaminationsursachen in Erwägung zu ziehen. Weitere Ursachen für Kontaminationen können z.B. eine mangelnde Schlachthygiene, Kreuzkombinationen zwischen rohen und verarbeiteten Lebensmitteln oder andere Hygienefehler sein (McOrist, 2015). Zudem können einige Stämme von *E. coli* auch Lebensmittelvergiftungen hervorrufen (Boswart, 1998). Dazu zählen z.B. EHEC (enterohämorrhagische *E. Coli*) bzw. STEC (Shigatoxine produzierende *E. coli*). Diese Keime sind regelmäßig bei Wiederkäuern (Rinder, Schafe, Ziegen) anzutreffen und können zu schweren lebensbedrohlichen Infektionen führen. Dabei können neben dem Magen-Darm-Trakt auch andere Organe wie z.B. die Nieren betroffen sein.

Die Bedeutung von *E. coli* als Verursacher von Infektionen des Menschen ist schon seit den 1920er Jahren bekannt. So spielen *E. coli* als häufigste Erreger von bakteriellen Harnwegsinfekten eine wichtige Rolle. Zudem sind sie als Erreger von Blutvergiftungen und Krankenhausinfektionen gefürchtet. Die Keime bezeichnet man deswegen auch als sogenannte extraintestinal pathogene *E. coli* (ExPEC), d.h. als Erreger, die außerhalb des Darms Krankheiten auslösen können. Seit den 1940er Jahren wurde *E. coli* aber auch zunehmend als Verursacher von Erkrankungen des Magen-Darm-Traktes des Menschen bekannt. Diese Keime bezeichnet man demnach als intestinalpathogene *E. Coli* (IPEC), als den Magen-Darm-Trakt krankmachende Keime.

### *E. coli* Infektionen beim Schwein:

*E. coli* – Infektionen sind bei Tieren allgegenwärtig. Es gibt verschiedene *E. coli*-Typen, einige sind natürliche Darmbewohner, andere Stämme führen zu einer Reihe von Erkrankungen. Pathogene *E. coli* Stämme verfügen generell über Fimbrien (Pili), mit deren Hilfe sie sich leichter an die Zielzelle anheften können. Auch die Fähigkeit zur Bildung von enterotoxischen Exotoxinen, Endotoxinen und die Kapselbildung ist typisch für *E. coli*. Es gibt verschiedene Klassifikationsmöglichkeiten für *E. coli* Infektionen bei Schweinen, wie z.B. die neonatale Colibazillose, den *E. Coli*-assoziierten Erkrankungen der Absatzferkel (Diarrhoe und Ödemkrankheit) sowie der coliformen Mastitis und Harnwegsinfektionen (McOrist, 2015).

Die Colibazillose der Saugferkel tritt häufig in den ersten Lebenswochen auf und wird durch enterotoxische *E. Coli*-Stämme (ETEC) verursacht. Meist ist dies ein Problem, welches bei Würfen von Jungsauen auftritt. Die Infektion erfolgt kurz nach der Geburt aufgrund von Kontaminationen der Umgebung und einem unzureichenden Antikörperspiegel. Laut McOrist ist daher die Impfung von hochtragenden Jung- und Altsauen routinemäßig zu empfehlen, um eine passive Immunität der Ferkel gegen ETEC sicherzustellen.

### Escherichia Coli – Diarrhoe der Absatzferkel:

Enterotoxische *E. coli* Stämme (ETEC) verfügen über eine Kombination von Enterotoxinen und Adhäisionsfaktoren. Deren Zusammenspiel ist nötig, damit es zu einer klinischen Darminfektion kommt. Bei den Adhäisionsfaktoren von ETEC handelt es sich um spezialisierte Fimbrien, die sich fest an die Glykoproteinrezeptoren der Intestinalzellen anheften (Abbildung 4). Die Adhäisionsfaktoren sind auch bekannt als Fimbrienantigene (z.B. F4, F5, F6 etc.). Durch die Adhäsion kann ETEC trotz Darmperistaltik den Darm besiedeln.



**Abbildung 4: Die Adhäsionsfaktoren von ETEC sind spezialisierte Fimbrien- oder Pilusproteine, die sich an die Glykoproteinrezeptoren der intestinalen Zellen anheften (McOrist, 2015)**

Die *E. coli* Kolonien besiedeln die Darmzotten. Die Bakterien produzieren und injizieren ihre Enterotoxine wie z.B. hitzelabile und hitzestabile Toxine. Diese Toxine verursachen dann eine hypersekretorische Diarrhoe, ohne jedoch zu hochgradigen Zellläsionen zu führen. Zu klinischen Symptomen kommt es vor allem bei Ferkeln, die seit ca. zwei Wochen abgesetzt sind, so McOrist.

#### Ödemkrankheit:

Bezüglich der Epidemiologie und Pathogenese gibt es viele Gemeinsamkeiten zwischen den *E. coli*-Stämmen, die für die Ödemkrankheit verantwortlich sind und den ETEC -Stämmen. Allerdings sind die *E. coli* Stämme, welche Ödemkrankheiten verursachen, normalerweise mit Fimbrien-Adhäsinen vom Typ F18 und spezifischen Verotoxinen oder Shigatoxine wie z.B. Stx2e ausgestattet. Diese Toxine gelangen über den Blutkreislauf des Schweines und beschädigen Gefäße außerhalb des Darms. Dies führt dann zu neurologischen Ausfallerscheinungen und Ödemen am Kopf, den Augenlidern, dem Larynx, dem Magen und dem Mesokolon. Meist erkranken die Ferkel zwei Wochen nach dem Absetzen klinisch und es kommt zu perakuten Todesfällen. Ataxie, Festliegen, Mattheit und Torkeln gehören hierbei zu den Leitsymptomen.

### **2.2.1. ESBL**

Seit langem sind Resistenzmechanismen der Enterobakterien, wie die Expression verschiedener  $\beta$  – Laktamasen, bekannt. Enterobacteriaceae wie *E. coli* und *Klebsiella pneumoniae* gelten als häufige Verursacher von Infektionskrankheiten.  $\beta$  – Laktamasen sind bakterielle Enzyme, welche eindringende  $\beta$  – Laktam – Antibiotika hydrolysieren (Wiegand, 2003). Zu den  $\beta$ - Laktam – Antibiotika zählen unter anderem Cephalosporine (inkl. 3. und 4. Generation), sowie Antibiotika aus der Gruppe der Penicilline, welche häufig eingesetzt werden.

Durch verschiedene Punktmutationen in den  $\beta$  – Laktamasen – Genen der Bakterien kommt es zum Auftreten der Extended – Spectrum – Beta – Lactamases, kurz ESBL. Diese sind in der Lage die meisten  $\beta$  – Laktam – Antibiotika zu hydrolysieren, also unwirksam zu machen. Man kann die ESBL in mehrere Gruppen einteilen, u.a. in die TEM-, SHV- sowie die CTX- M- Enzyme. Diese zählen zu den am häufigsten auftretenden ESBL – Varianten. Meist sind die ESBL – Gene in ein Integron, also einen kleinen bis mittelgroßen Genabschnitt, eingebettet. Mit Hilfe von mobilen Strukturen, können diese Gene mobilisiert und über Plasmide übertragen werden (Paterson, 2006). Zu den mobilen Strukturen zählen Insertionssequenzen (IS – Elemente) oder Transpons. Ein Transpon ist ein Abschnitt im Genom, welches seine Position im Genom verändern kann.

Als multi drug resistance region werden Bereiche in Plasmiden bezeichnet, die Transpons mit mehreren Genen enthalten, welche die Resistenz gegenüber Antibiotika verschiedener Klassen vermitteln. Durch die gekoppelte Übertragung dieser Mehrfachresistenz – Transpons auf andere Spezies können multiresistente Erreger (Multi Drug Resistance, MDR) entstehen (Pfeifer, 2007).

### Einteilung der $\beta$ -Laktamasen nach Ambler:

1980 wurde das Ambler – Schema als Klassifizierungssystem für  $\beta$  – Laktamasen entwickelt. Die in Enterobakterien häufig vorkommenden ESBL und AmpC – Laktamasen gehören zu den Serin- $\beta$ -Laktamasen. Diese Enzyme besitzen einen Serynrest im katalytischen Zentrum, der die Spaltung des  $\beta$ -Laktam-Ringes der Antibiotika bewirkt. Seit den 1990er Jahren gewinnen CTX-M- ESBL sowie AmpC- $\beta$ -Laktamasen zunehmen an Bedeutung (Abbildung 5) (Ambler, 1980).

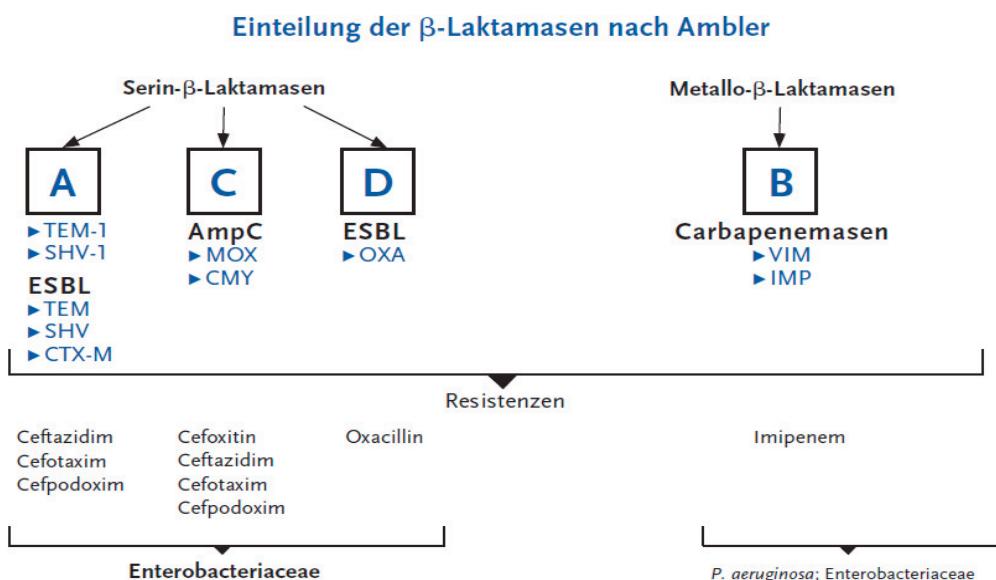


Abbildung 5: Einteilung der  $\beta$ - Laktamasen nach Ambler (1980)

#### **2.2.2. AmpC**

AmpC Beta – Laktamasen sind Enzyme, die eine Resistenz gegen Penicilline, Cephalosporine der 2. Und 3. Generation sowie Cephamycine vermitteln. Auch führen sie zu einer Resistenz gegen Kombinationen aus diesen Antibiotika und Stoffen, die eigentlich die Wirkung von Beta-Laktamasen hemmen sollen (BfR, Bundesinstitut für Risikobewertung, 2015). Die Gene für diese Enzyme kommen bei einigen Bakteriengattungen natürlicherweise als sogenannte chromosomal AmpC vor (z.B. bei *E. coli*). Die Enzyme werden jedoch nur unter bestimmten Bedingungen tatsächlich gebildet und wirksam. Wichtig ist die steigende Anzahl von AmpC -Genen, die episomal auf Plasmiden lokalisiert sind und deshalb häufig auch als „plasmidic AmpC“ (pAmpC) bezeichnet werden. Sie sorgen ständig für die Bildung des Enzyms und liegen auf übertragbaren Genabschnitten und können zwischen Bakterien derselben Art oder auch unterschiedlicher Arten ausgetauscht werden, diesen Vorgang nennt man horizontalen Gentransfer (Paterson, 2006).

Damit Bakterien AmpC produzieren können, müssen sie die dafür nötigen genetischen Informationen (Resistenzgene) in sich tragen, wobei der Ursprung dieser Gene nicht bekannt ist. Da diese Gene bei der Zellteilung von einer Bakteriengeneration auf die nächste weitergegeben werden, spricht man auch von einer vertikalen Übertragung. Die Vermehrung und Verteilung dieser Bakterien trägt also auch dazu bei, die Resistenzgene zu verbreiten (Wiegand, 2003). Besonders problematisch ist, dass harmlose Darmbakterien die Gene für ESBL und/oder AmpC an krankmachende Bakterien wie zum Beispiel Salmonellen weitergeben können.

Die Anwendung von Antibiotika bei Menschen und Tieren fördert die Verbreitung von ESBL und/oder AmpC – bildender Bakterien und deren Gene, weil Resistenzen gegen bestimmte Antibiotika zu einem Selektionsvorteil gegenüber konkurrierenden Bakterien führen (Rodriguez-Bano, 2006). Laut dem BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung) wird unter dem entstehenden Selektionsdruck auf die Keime bei einem Antibiotikaeinsatz der Austausch von Genen zwischen den Keimen gefördert.

Auch AmpC - $\beta$ - Laktamasen können über Integrons mobilisiert und konstitutiv ausgeprägt eine weitere Verbreitung erfahren und bei *Klebsiella* spp. und *Proteus* spp. sowie E. Coli auftreten. Kommt dann noch ein Verlust der Expression eines sogenannten „outer membrane proteins“ (OMP) hinzu, können derartige Stämme auch resistent gegen Carbapeneme werden (Carbapeneme sind Antibiotika aus der Gruppe der Betalaktame).

### **2.3. Antibiotika Allgemein**

„Leben verhindert Leben“, diesen Satz formulierte Louis Pasteur, nachdem er 1877 erkannte, dass sich manche Bakterienarten gegenseitig am Wachstum hindern. Im ursprünglichen Sinne ist ein Antibiotikum ein natürlich gebildetes niedermolekulares Stoffwechselprodukt von Pilzen oder Bakterien, welches schon in geringer Konzentration das Wachstum anderer Mikroorganismen hemmt oder diese abtötet (Martindale, 1989). Im weiteren Sinne gilt ein Antibiotikum auch als eine antimikrobiell eingesetzte Substanz, die in der Natur nicht vorkommt und deswegen teilsynthetisch, vollsynthetisch oder genetisch gewonnen wird. Antibiotika werden zumeist als Arzneistoffe gegen bakterielle Infektionskrankheiten eingesetzt.

1928 wurde das Penicillin durch Alexander Fleming wiederentdeckt. Durch eine verschimmelte Staphylokokkenkultur am St.Mary's Hospital in London entdeckte Fleming, dass auf dem Nährboden der Bakterienkultur ein Schimmelpilz (*Penicillium notatum*) wuchs, welcher die Vermehrung der Bakterien in der Nachbarschaft des Pilzes verhindert hatte. Den aus dem Nährmedium gewonnenen Bakterien-tötenden Stoff nannte Fleming Penicillin und veröffentlichte seine Erkenntnisse 1929 im *British Journal of Experimental Pathology* (Goddemeier, 2006). Mit dem Penicillin begann der eigentliche Siegeszug der Antibiotika in der Medizin. Die Erfolge des Penicillins führten zur Suche und Entdeckung vieler weiterer Antibiotika wie z.B. Streptomycin und Tetracyclin. Die meisten heute bekannten Antibiotika leiten sich von Naturstoffen ab (von Nussbaum, 2006). Der bekannteste „Produzent“ von Antibiotika ist der Schimmelpilz *Penicillium chrysogenum* (früher *P. notatum*). Sein Produkt, das Penicillin, ist heute ein Synonym für Antibiotika. Zahlreiche, medizinisch verwendete Antibiotika werden noch heute biotechnologisch durch Bakterien wie die Streptomyzeten hergestellt.

Grundsätzlich kann man zwei Wirkungsarten von Antibiotika unterscheiden. Einmal die bakteriostatische Wirkung (Bakterien werden an der Vermehrung gehindert, aber nicht abgetötet) und die bakterizide Wirkung (Bakterien werden abgetötet, durch Bakteriolyse, also durch die Auflösung ihrer Zellwand). Grundlage für die erwünschte Wirkung sind Strukturen oder Mechanismen der Bakterienzellen, die in tierischen bzw. menschlichen Zellen nicht vorkommen. Die Wirkung kann also beispielsweise durch eine Hemmung der bakteriellen Zellwandsynthese, der Proteinsynthese am Ribosom, der DNS -Replikation oder der Folsäuresynthese erfolgen (Hugo, 2004). Bakterien sind die einzigen bekannten Organismen, deren Zellwand aus Peptidoglycanen (PGN) besteht. Dieser Zucker kommt ausschließlich in Bakterien vor. Des Weiteren besitzen Bakterien andere Ribosomen zur Proteinbiosynthese und andere Enzyme zur DNA-Replikation als der Mensch. Menschliche Zellen bilden auch keine Folsäure, sondern müssen diese über die Nahrung aufnehmen. Nur so ist es also möglich, dass Antibiotika für den Menschen gut verträglich sind.

Je nach chemischer Struktur kann man verschiedene Antibiotikagruppen unterscheiden:

- *β-Lactame*
- *Glykopeptide*
- *Polyketide (dazu zählen Tetracycline, Glycylcycline, Makrolid-Antibiotika und Ketolide)*
- *Lincosamide*
- *Aminoglykosid – Antibiotika*
- *Polypeptid-Antibiotika*
- *Lipopeptid-Antibiotika*
- *Chinolon-Antibiotika (Chinolone)*
- *Streptogramine*

### **2.3.1. Antibiotikaeinsatz in der Tierhaltung**

Tierarzneimittel wie zum Beispiel Antibiotika sind wichtig für die Behandlung von erkrankten Tieren. Ihr verantwortungsvoller Einsatz dient der Tiergesundheit und dem Tierschutz. Bevor Tierarzneimittel eingesetzt werden können, müssen sie auf Qualität, Wirksamkeit und Unbedenklichkeit geprüft sein. Um sichere Lebensmittel zu gewährleisten, gelten klare Regeln wie beispielsweise ausreichende Wartezeiten zwischen Medikation und Schlachtung. Der Einsatz von Antibiotika ist auch in der Tierhaltung ein fester Bestandteil. Einerseits werden Antibiotika als Arzneimittel eingesetzt, die der veterinärmedizinischen Behandlung dienen. Zum anderen werden Antibiotika als Wachstums- und Leistungsförderer eingesetzt, was sehr umstritten ist. Diese Einsatzart ist jedoch in der EU seit Anfang 2006 verboten worden, nachdem sie bereits 1995 in Dänemark und 1999 in der Schweiz aufgrund einzelstaatlicher Selbstbeschränkungen nicht mehr eingesetzt werden dürfen. Wenn ein einzelnes Tier an einem bakteriellen Infekt erkrankt ist, kann die veterinärmedizinische Behandlung unter Umständen die antibiotische Behandlung des gesamten Bestandes erfordern. Bei dieser Metaphylaxe genannten Anwendung wird ein besonders hoher Selektionsdruck auf die in der Stallung vorhandenen Bakterienstämme hervorgerufen, der nur die wenigen (durch natürliche Mutation normalerweise vorhandenen) resistenten Erreger überleben lässt. Alle empfindlichen Mikroorganismen werden aber

abgetötet. Die verbleibenden Erreger bilden dann den resistenten Stamm, wenn sie nicht als Restinfektion durch die Immunreaktion des Tieres oder Menschen abgetötet werden. Dadurch kann das Antibiotikum gegen die bekannten Infektionen unwirksam werden. Resistente Bakterien können dann andere Organismen erreichen und zu erschweren Krankheitsverläufen bis hin zu Therapieversagen führen. Dadurch haben sich in der Vergangenheit bereits erhöhte Resistenzen gegen Antibiotika bei Tieren und Menschen ereignet. Hauptsächlich gefährdet sind Arbeiter in Schweine- und Geflügelbetrieben (Gilchrist, 2007). Antibiotikaresistente *Salmonella*-, *Campylobacter*- und *Escherichia coli*- Stämme, die humanpathogen sind, werden mit steigender Häufigkeit in großen Geflügel- und Rinderproduktionsbetrieben nachgewiesen aber auch im Schweinebereich ist dies keine Seltenheit mehr (Tilman, 2002).

## **2.4. Resistenzsituation in *E. Coli* in Deutschland**

In den vergangenen Jahren hat die Zahl der Berichte über die Verbreitung von ESBL und AmpC -Beta-Laktamasen in enterobakteriellen Isolaten stetig zugenommen (RKI, 2007). Internationale Studien, wie die EARSS-Studie (European Antimicrobial Resistance Surveillance System) und die ESAC – Studie (European Surveillance of Antimicrobial Consumption), deuten auf einen Zusammenhang zwischen Antibiotika-Verbrauch und Anstieg der Cephalosporin-Resistenz hin. Laut dem RKI Bericht von 2007 waren 5 % der klinischen *E. coli* Isolate in Deutschland Cephalosporin-resistent, mit steigender Tendenz.

Im Jahr 2009 hat das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) eine umfangreiche Resistenztestung durchgeführt. Dabei wurden die verschiedenen Isolate, im Rahmen eines Zoonosen-Monitorings, mittels der Mikrobouillonverdünnungsmethode auf ihre Empfindlichkeit gegenüber einem auf europäischer Ebene festgelegten Spektrum antimikrobieller Substanzen untersucht. Die ermittelten minimalen Hemmkonzentrationen wurden anhand „epidemiologischer Cut-Off-Werte“ bewertet. Diese Cut-Off-Werte erlauben, laut dem BfR, eine Aussage darüber, ob sich die Isolate im Hinblick auf ihre Resistenz von einer Wildtyppopulation des jeweiligen Erregers unterscheiden und geben somit frühzeitig Hinweise auf eine Resistenzentwicklung. Besonders auffällig waren die deutlichen Unterschiede zwischen Isolaten aus Beständen von Legehennen und solchen aus Masthähnchenbeständen.

Diese Unterschiede zeigten sich, im Rahmen des Zoonosen-Monitorings, auch bei der Analyse der Resistenzdaten von k<sup>m</sup>monsalen *E. coli* aus diesen Herkünften.

Isolate aus Fleisch wiesen sowohl bei den diagnostischen Isolaten als auch bei den Isolaten aus dem Zoonosen-Monitoring ähnliche Resistenzmuster auf und spiegeln somit gut die Situation bei den Isolaten aus den Beständen der jeweiligen Tierart wider, von denen das Fleisch gewonnen wurde. So ähnelt die Resistenzsituation bei Salmonellen und *E. coli* aus Hähnchenfleisch der bei den Isolaten aus Masthähnchenbeständen (Hartung, 2009). Es ist auch weitgehend bekannt, dass infizierte Masthähnchen eine wesentliche Quelle für Salmonellen auf Hähnchenfleisch sind. Ähnliches gilt auch für Schwein und Schweinefleisch sowie Pute und Putenfleisch. Bei den Isolaten von k<sup>m</sup>onsalen *E. coli* zeigten sich, im Rahmen des Zoonosen-Monitorings, ähnliche Resistenzmuster wie bei den Salmonellen aus den jeweiligen Herkünften. Resistzenzen von k<sup>m</sup>onsalen *E. coli* gelten als Spiegel des Selektionsdrucks in der jeweiligen Tierpopulation (RKI, 2010). Von besonderem Interesse sind die für den gesundheitlichen Verbraucherschutz, da sie ein Reservoir von Resistenzgenen bzw. Resistenzmechanismen darstellen, die im Zuge des horizontalen Gentransfers auf andere, auch pathogene Keime übertragen werden können.

Eine besondere Bedeutung kommt den Fluorchinolonen und den Cephalosporinen der 3. Und 4. Generation zu, denn diese sind seitens der WHO (world health organization) als Antibiotika von besonderer Bedeutung für die Humanmedizin klassifiziert worden. Bei den meisten der 20 häufigsten *Salmonella*-Serovare aus der Diagnostik wurden Resistzenzen gegen Cephalosporine und Fluorchinolone beobachtet. Fluorchinolonresistzenzen wurden insbesondere bei Salmonellen und *E. coli* vom Geflügel und deren Fleisch nachgewiesen (Bundestierärztekammer, 2010). Seit 2008 wird anhand der Substanzen Cefotaxim und Ceftazidim die Resistenz gegen Cephalosporine der 3. Generation getestet. Im Rahmen des Zoonosen-Monitorings wurden Resistzenzen gegenüber Cephalosporinen der 3. Generation in etwa 5% der *E. coli* und *Salmonella*-Isolaten von Masthähnchen nachgewiesen. Vereinzelt wurden auch Resistzenzen bei k<sup>m</sup>onsalen als auch verotoxinbildenden *E. coli* Isolaten vom Mastkalb sowie bei *E. coli* aus Schweinefleisch beobachtet (EFSA, 2011).

Auch Isolate aus der Lebensmittelkette wurden im Rahmen des Zoonosen-Monitorings im Jahr 2009 durch das BfR getestet. Dabei wurde das Fleisch von Schweinen, Kälbern, Puten und Hähnchen auf konsensale *E. coli* untersucht. Von den eingesandten Isolaten wies Geflügelfleisch einen höheren Anteil resistenter und multiresistenter Isolate auf als Kalbfleisch und Schweinefleisch. Beim Schweinefleisch waren von den 46 Isolaten fast die Hälfte resistent gegen eine Substanzklasse, etwa ein Drittel gegenüber mehr als einer Klasse (Abbildung 6). Es dominierten Resistzenzen gegen Streptomycin und Tetracyclin. Aber auch gegen Ampicillin und Sulfamethoxazol waren mehr als 20% der Isolate resistent. Nur selten wurden Resistzenzen gegenüber Gentamicin, Florfenicol und den Cephalosporinen der 3. Generation beobachtet. Gegenüber den getesteten (Fluor-)Chinolonen waren drei Isolate resistent (Schroeter u. Käsbohrer, 2009).

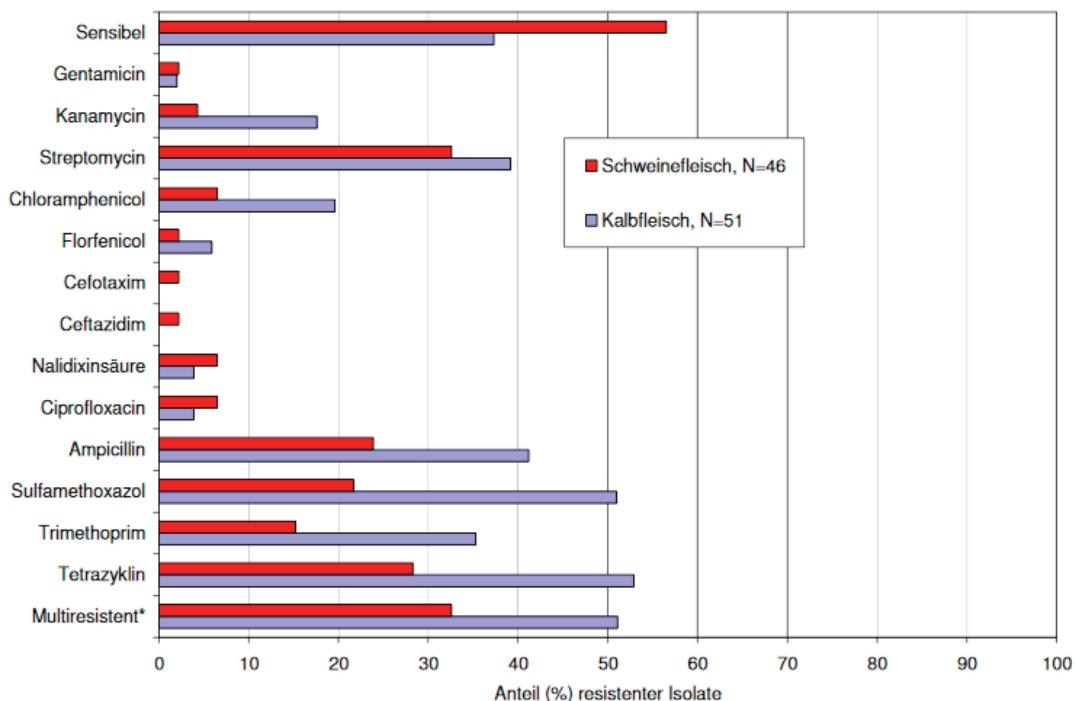


Abbildung 6: Resistenz von Isolaten konsensaler *E. coli* aus Schweinefleisch und Kalbfleisch gegenüber antimikrobiellen Substanzen (Schroeter u. Käsbohrer, 2011)

### **3. Material und Methoden**

#### **3.1. Beispielbetrieb**

Im Folgenden wird der Betrieb beschrieben, auf dem die Proben genommen worden sind. Alle Angaben sind im Beisein des Betriebsleiters gemacht worden. Zur Beschreibung des Betriebes diente ein Fragebogen.

##### **3.1.2. Fragebogen**

Ein detaillierter Fragebogen wurde vor der ersten Beprobung zusammen mit dem Betriebsleiter ausgefüllt. Für den Großteil der Fragen waren Antworten vorgegeben, um eine bessere Vergleichbarkeit durch Standardisierung der möglichen Antworten zu gewährleisten. Als Grundlage diente der Fragebogen von Hering (Hering, 2014), der durch eigene Fragen ergänzt wurde. Der vollständige Fragebogen befindet sich im Anhang.

Mit dem ersten Abschnitt des Fragebogens wurden allgemeine Angaben zum Schweinehaltenden Betrieb erfasst. Diese beinhalteten den Produktionstyp des Betriebes und die Betriebsstruktur (Informationen über die Stallgebäude und vorhandene Tierplätze, die Haltungsart, die Schweinerassen, das Vorkommen weiterer Tierarten im Betrieb sowie die Betreuung der Schweine durch Mitarbeiter).

Im zweiten Abschnitt wurden spezifische Fragen zum Betrieb gestellt. Der Fokus lag auf der Betriebsführung, der Herkunft der Mastschweine, der Belegung des Mastbereiches und in der Frage, ob eine Umstallung oder Umsetzung von Schweinen während der Mast oder der Ferkelproduktion durchgeführt wurde.

Im Abschnitt „Umgebung“ sollten Informationen darüber gewonnen werden, ob es in der näheren Umgebung weitere Tierhaltungen oder Betriebe gab, die in die Verarbeitung tierischer Produkte oder Nebenprodukte involviert waren.

Im Abschnitt „Hygiene und Reinigung“ wurden mögliche Maßnahmen und deren Durchführung erfragt.

Der nachfolgende Abschnitt widmete sich ausführlich dem Themenkomplex „Erkrankungen, Einsatz von Medikamenten und Antibiotika“. Hierbei stand im Fokus, wie kranke Schweine untergebracht wurden, ob alternative Behandlungsmethoden angewendet (Homöopathie), die Tiere gegen Parasiten behandelt wurden oder Impfungen erhielten. Der Betriebsleiter sollte einschätzen, wie oft typische Schweineerkrankungen im Bestand auftraten und wie häufig Antibiotika zum Einsatz kamen. Des Weiteren wurden die Applikationsart und die Wirkstoffe in den eingesetzten Antibiotika erfragt. Mehrere Fragen widmeten sich dem Thema, ob Antibiotika zur Prävention eingesetzt wurden. Der Betriebsleiter sollte außerdem angeben, ob und wie oft Gruppenbehandlungen mit Antibiotika durchgeführt wurden.

In dem sich anschließenden Abschnitt „Haltung“ wurden Fragen zur Art des Stalles und der Bodenbeschaffenheit beantwortet.

Der Abschnitt „Fütterung und Wasserversorgung“ erfragte die Herkunft des Futters und Tränkwassers. Es wurde ermittelt, ob betriebseigenes Futter verwendet oder Futter zugekauft wurde. Des Weiteren wurden die Fütterungstechnik, die Futterlagerung sowie die Art der Tränken einbezogen.

Im Abschnitt „Ackerbau“ wurde erfragt, ob die Betriebe Ackerbau betrieben, die Acker- und Grünlandflächen mit Ausscheidungen der Schweine gedüngt und anschließend Futtermittel für den eigenen Betrieb produziert wurden.

In dem Abschnitt „Biogasanlage“ sollte ein differenziertes Bild der Gegebenheiten entstehen, wenn eine Biogasanlage im Betrieb vorhanden war. So wurde nicht nur erfragt, welche Art von Material eingesetzt wurde, sondern auch, ob es sich dabei nur um betriebseigenes Material handelt oder auch Zulieferbetriebe beteiligt waren (Tierarten, Produktionsart). Abschließend wurde in Erfahrung gebracht, ob die Gärreste auf den Acker-/Grünlandflächen der Betriebe ausgebracht wurden.

Im letzten kurzen Abschnitt „Leistungsparameter“ sollte der Betriebsleiter Angaben zur Tageszunahme, zur Futterverwertung, der Verlustrate und den Mastdurchgängen pro Jahr machen.

### **3.2. Probennahme**

Die Probenahme erfolgte an einem Tag denn es gab nur eine einmalige Probenahme. Zum Zeitpunkt der Probenahme wurden die Tiere, laut Betriebsleiter, nicht mit Antibiotika behandelt. Es wurden Sammelproben aus verschiedenen Altersgruppen und aus verschiedenen Ställen genommen. Pro Gruppe wurden 20 Tupferproben (Sigma Transwab-Liquid Amies von Medical Wire & Equipment) entnommen. Die Probennahmen erfolgte gleichmäßig über den gesamten Stall, die gesamte Bucht oder das gesamte Abteil. Insgesamt wurden 4 verschiedene Gruppen beprobt, Saugferkel im Alter von ca.5 Tagen, Absatzferkel, Schweine aus der Mittelmast mit einem Gewicht von 50 – 60 kg sowie Schweine aus der Endmast mit 100-110 kg. Außerdem wurden vier Gülleproben aus den vier verschiedenen Güllelagern genommen. Die gesammelten Proben wurden beschriftet und in einer Styropor Box zum Friedrich-Loeffler-Institut versandt. Im Labor wurden die Tupfer für die bakteriologische Untersuchung genommen.

### 3.3. Bakteriologische Untersuchung

Die Tupfer wurden auf einem chromogenen Nährboden (CHROM ID Orientierung von MAST Group) ausgestrichen. *E. coli* bildet dort rote Kolonien (Abbildung 7). In chromogenen Nährmedien wird chromogenes Substrat durch ein für den Zielorganismus charakteristisches Enzym in eine Zuckerkomponente und ein Chromogen gespalten. Das Chromogen bildet in der Gegenwart von Sauerstoff ein Dimer, welches die betreffende Bakterienkolonie färbt und somit eine Differenzierung einzelner Gattungen/Arten von Mikroorganismen ermöglicht. Der Nährboden enthielt 2 µg/ml Cefotaxim (4. Generation Cephalosporin), sodass nur ESBL – verdächtige Erreger dort wachsen können. Tupferproben, bei denen im Direktausstrich kein (*E. coli*) Wachstum zu verzeichnen war, wurden angereichert. Dazu wurden die Tupfer über Nacht in einer Nährbouillion (ebenfalls mit 2 µg/ml Cefotaxim) inkubiert und am nächsten Tag auf den festen Nährboden (CHROM ID Orientierung von MAST) ausgestrichen. In Proben, die erst nach der Anreicherung positiv geworden sind, sind also weniger ESBL *E. coli* enthalten gewesen.

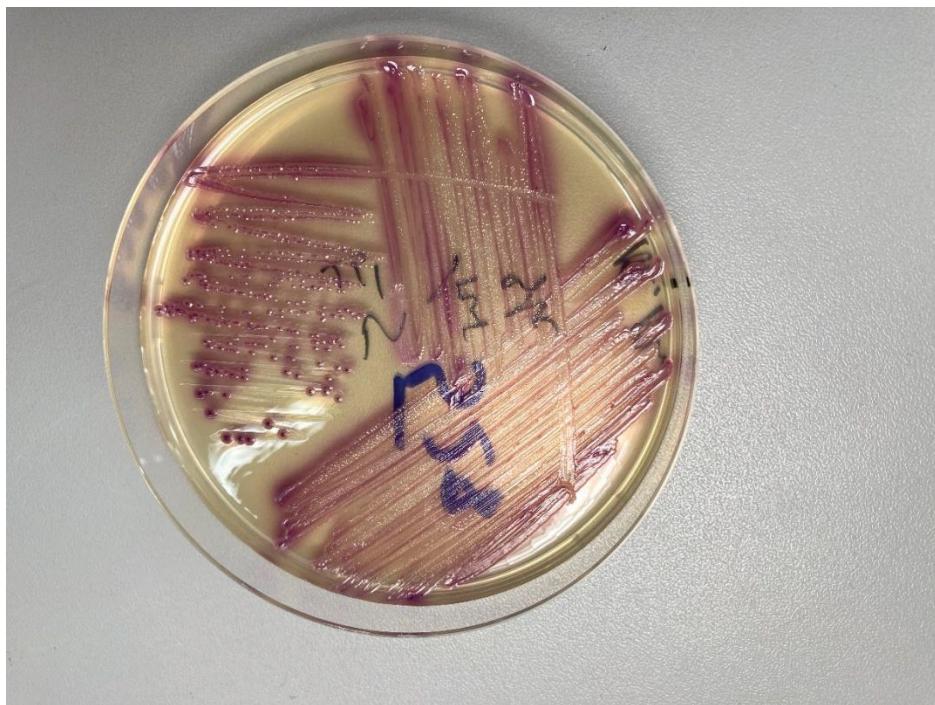


Abbildung 7: CHROMagar Orientation (MAST Group) zur Differenzierung der Keime auf Basis der Farbe (*E. coli* stellt sich als pinke/lila Kolonien dar)

### **3.4. Charakterisierung der Isolate**

#### **RADP-PCR**

Die RADP (randomly amplified polymorphic DNA), zu Deutsch „zufällig vervielfältigte polymorphe DNA“, wurde 1990 erstmals von William et.al. beschrieben und ist eine besondere Form der PCR. Bei der RADP werden kurze Primer mit einer Länge von 8-12 Nukleotiden verwendet, welche zufällig erzeugt wurden. Aus genetischer DNA vervielfältigen sich dann nur DNA – Sequenzbereiche, die von der Sequenz des Primers eingeschlossen werden. Die amplifizierten DNA -Fragmente werden anschließend durch die Gelektrophorese aufgetrennt. Dadurch ergeben sich individuelle Bandenmuster, auch „fingerprints“ genannt. Diese Bandenmuster erlauben es, das Ergebnis mit Referenzmustern abzugleichen und die DNA – Quelle zu identifizieren, ohne die gesamte DNA zu amplifizieren (Williams et al., 1990).

#### **3.4.1. DNS-Präparation**

Bei der DNS -Präparation wurden chromosomal DNA von E.Coli mittels einer Hitzelyse der Bakterien isoliert. Dafür wurde Kolonimaterial benutzt, welches in einem 1,5 ml Eppendorfer -Reaktionsgefäß in 200 µl A.bidest resuspendiert und für zehn Minuten bei -10C° eingefroren. Anschließend wurde das Material für zehn Minuten aufgekocht. Der Überstand des abzentrifugierten Zelldetritus wurde dann in der PCR eingesetzt.

#### **3.4.2. Polymerase-Kettenreaktion (PCR)**

Die PCR ist eine weit verbreitete Methode, um DNS-Fragmente spezifisch zu vermehren. Dabei werden zur DNS-Synthese Polymerasen aus thermophilen Bakterien eingesetzt. Diese Polymerasen bewirken die Verlängerung der Nukleotide ausgehend von den verwendeten Oligonukleotid-Primern (Saiki et al., 1988).

### **3.4.3. Agarose-Gelelektrophorese**

Die Agarose-Gelelektrophorese ist ein biochemisches und molekularbiologisches Verfahren, in der DNS-Stränge durch eine Gelelektrophorese nach ihrer Größe getrennt werden, um ihre Größe und Masse durch den Vergleich mit DNS-Strängen bekannter Größe zu bestimmen. Auch hier erfolgte die Auftrennung von DNS-Molekülen nach ihrer Größe mittels Agarose-Gelelektrophorese. Die angelegte Spannung sowie die Agarosekonzentration richteten sich nach der Größe der aufzutrennenden DNS-Stränge. Standardmäßig wurden 1,0 g Agarose in 100 ml 1xTBE durch Kochen gelöst. Nach Abkühlen auf ca. 50°C wurden 2,0 µl 10.000 x GelRed (interkalierender DNA- Farbstoff) zugesetzt, die Lösung in einen abgedichteten Gelträger gegossen und der Gelkamm zur Erzeugung der Taschen für die Proben eingesetzt. Sobald die Agarose erstarrt war, wurde der Kamm entfernt, das Agarosegel in eine Gelkammer mit 1xTBE als Laufpuffer gelegt und pro Tasche mit 4 µl PCR-Produkt bestückt, wobei in der Regel ein 25 µl PCR-Ansatz zuvor mit 1 µl Ladepuffer gemischt wurde. In Abhängigkeit der erwarteten Fragmentgrößen wurden 4 µl eines 1kb Markers in der ersten Tasche sowie zwischen den einzelnen Altersgruppen aufgetragen. Zur Erzeugung des elektrischen Felds wurde eine Spannung von 10 Volt pro Zentimeter Gellänge angelegt. Nach Abschluss der Elektrophorese wurde das Gel in einem UV-Betrachter fotografiert.

## **4. Ergebnisse**

### **4.1. Charakterisierung des Beispielbetriebes**

Der derzeitige Betriebsleiter hat den elterlichen Betrieb 2019 übernommen. Der Schweinehaltende und Schweineproduzierende Betrieb ist ein teilweise geschlossenes System. Mit den produzierten Ferkeln werden zunächst die eigenen Mastplätze belegt, die „überschüssigen“ Ferkel werden zur weiteren Mast verkauft. Der Betrieb besteht also aus der Haltung von Zuchtsauen, der Ferkelproduktion, der Ferkelaufzucht sowie dem Verkauf von Absetzern und der eigenen Mast. Insgesamt stehen dem Betrieb dafür 5 Gebäude zur Verfügung, bestehend aus einem Sauenstall, einem Abferkelstall, einem Aufzuchtstall sowie zwei Mastställen. Mit ca. 620 Altsauen und ca. 70 Jungsauen werden in drei Wochen Zyklen ca. 1000 Ferkel produziert. Für die Aufzucht der Ferkel stehen dem Betrieb ca. 3000 Plätze zur Verfügung. Für die anschließende Mast stehen dem Betrieb im ersten Stall 160 Mastplätze und im zweiten Stall 231 Mastplätze zur Verfügung. Der erste Maststall wurde 1985 erbaut, besteht aus einem großen Abteil mit 10 Buchten und bietet Platz für 160 Tiere, diese bestehen aus einer Altersgruppe. Anders als der erste Stall ist der zweite Stall. Dieser wurde 2008 erbaut, besteht aus 21 Buchten je Abteil in denen 6 verschiedene Altersgruppen untergebracht sind. Dieser Stall bietet Platz für 231 Tiere. Die Haltungsart aller Tiere erfolgt konventionell. Die Genetik der produzierten Schweine ist Danzucht vom BHZP Eber x86, dies ist eine Hybridzucht aus Duroc x Piétrain.

Da es in der näheren Umgebung ebenfalls Schweine-, Rinder- und Geflügelhaltende Betriebe gibt, sind die Ansprüche an die Hygienemaßnahmen besonders hoch. Hinzu kommt noch, dass die Arbeitskräfte, die zum größten Teil aus der Familie kommen, in jedem Bereich der Produktion eingesetzt werden. Das heißt, die verschiedenen Mitarbeiter besetzten die verschiedenen Ställe.

### Hygiene und Reinigung:

Die Stallanlagen, die Futtersilos sowie die Kadaverplätze sind komplett eingezäunt und in allen Ställen befinden sich abschließbare Türen. Vor dem Betreten des Stalls sind die Mitarbeiter verpflichtet sich komplett umzuziehen, hierbei gibt es in jedem Stall Arbeitskleidung, die regelmäßig gereinigt wird. Die Handreinigung sowie die Desinfektion der Hände und Schuhe ist ebenfalls verpflichtend. Des Weiteren gibt es in jedem Stall eine Desinfektionsmatte, die man überqueren muss, bevor man den Stall betritt. Jeder Stall besitzt seine eigenen Materialien wie bspw. Treibbretter, Kennzeichnungsstifte etc.

Nach jedem Ausstellen/Umstellen erfolgt eine komplette Reinigung und Desinfektion der Abteile. Die Reinigung und Desinfektion umfasst den Boden, die Boxenabtrennungen, die Wände in Treibhöhe, die Wände bis zur Decke, die Decke, die Lüftungsschächte sowie die Fenster. Ebenfalls gereinigt und desinfiziert werden die Leitungssysteme für Tränkwasser, die Tränken sowie die Futtertröge-/automaten.

Die Reinigung erfolgt mit einem Hochdruckreiniger, das Reinigungsmittel wird nach weniger als einer Stunde wieder abgewaschen und die Flächen trocknen bis zu anschließenden Desinfektion ab. Die Desinfektion erfolgt nach einem Desinfektionsplan, hierbei werden Säuren, Aldehyde, Sauerstoffabspalter und Laugen verwendet die dann mehr als 4 Stunden einwirken. Die Bekämpfung von Schadnagern erfolgt mit Lebendfallen, nach Nachweis mit Lebendfalle erfolgt die Bekämpfung chemisch. Außerdem werden sogenannte „Killerfliegen“ bzw. Göllefliegen eingesetzt. Die Gülle wird sowohl in einem geschlossenen als auch in einem offenen Behälter gelagert. Verendete und getötete Tiere werden in Tonnen auf dem Kadaverplatz außerhalb des Stallabteils gelagert, bis sie vom Abdecker abgeholt werden.

### Erkrankungen, Einsatz von Medikamenten und Antibiotika:

Erkrankte Tiere werden isoliert von den anderen Tieren in einer Krankenbucht untergebracht. Einen separaten Quarantänestall gibt es jedoch nicht. Alle 6 Wochen werden die Jungsauen mit Antiparasitika prophylaktisch behandelt. Laut den Angaben des Betriebsleiters sind Erkrankungen wie die Entzündung von Gelenken, Klauenkrankheiten, Streptokokken sowie Erkrankungen des Atmungsapparates selten. Ein leichter Befall von Durchfall ist regelmäßig bei den Saugferkeln zu beobachten, ebenso gibt es Erkrankungen des Harn- und Geschlechtsapparates. Allgemein ist zu vermerken, dass Verletzungen durch Technopathien sowie Kannibalismus nie auftreten. Antibiotika werden, laut Betriebsleiter, nur manchmal eingesetzt. Wobei eine Einzeltierbehandlung häufiger vorkommt als eine Gruppenbehandlung. Wenn Antibiotika zum Einsatz kommen, werden diese über das Tränkwasser zur Gruppenbehandlung verabreicht. Die Einzeltierbehandlung erfolgt oral oder per Injektion. Die Tränkwasseranlagen werden anschließend gereinigt. Gängige Antibiotika für den Betrieb sind Vetricomoxin und Hostamox. Die Schweine erhalten Impfungen gegen Mykoplasmen, Circoviren (PCV2) und die Sauen werden zusätzlich noch gegen PRRSV geimpft. Vor dem Zukauf neuer Tiere und vor dem Absetzen werden die Tiere nicht mit Antibiotika behandelt, ggf. werden die Tiere nach Bedarf vor einer Umgruppierung mit Antibiotika behandelt. Auch vor dem Umstallen sowie einem Transport werden die Tiere nicht behandelt. Erkrankt ein Tier aus der Gruppe und wird mit Antibiotika behandelt, so werden die anderen Tiere nicht vorsorglich mit behandelt. Die untersuchten Tiergruppen wurden seit der Einstellung nicht mit Antibiotika behandelt.

### Haltung:

Da es sich um einen rein konventionellen Betrieb handelt gibt es weder einen Auslauf noch Freilandhaltung. Es gibt keine eingestreute Liegefläche und die Schweine werden auf Spaltenboden gehalten. Im Maststall gibt es einen Vollspaltenboden mit reduziertem Schlitzanteil aus Beton, im Abferkelstall besteht der Boden aus Kunststoffspaltenboden zum Teil ohne Spalten mit einer Beheizten Liegefläche. Zum Heizen dienen Gasheizgeräte sowie Fußbodenheizungen. Die Lüftung erfolgt durch eine aktive Lüftung, also einer Zwangslüftung.

### Fütterung:

Die Fütterung der Tiere erfolgt zum größten Teil mit Zukaufsfutter welches durch mehrere Lieferanten angeliefert wird, die Zahl der Lieferanten ist jedoch gleichbleibend. Stets das Ferkelfutter stammt aus zum Teil betriebseigenem Futter. Wirtschaftseigenes Grundfutter wie z.B. Maissilage, kommt nicht zum Einsatz. Auch die Vorlage von Raufutter erfolgt nicht. Die Fütterung der Tiere erfolgt Ad libitum, über eine Flüssigfütterung und durch Trockenfutterautomaten. Das Futter wird in Futtersilos gelagert.

### Wasserversorgung:

Das Tränkwasser bekommt der Betrieb über die öffentliche Wasserversorgung. Im Maststall kommen Nippeltränken zum Einsatz, im Ferkel- und Sauenstall gibt es Trogtränken und Napftränken bzw. Schalentränken.

### Ackerbau:

Der Betrieb betreibt neben der Schweinehaltung auch Ackerbau. Es wird nur betriebseigene Gülle auf die Acker- und Grünlandflächen ausgebracht. Das Getreide von den gedüngten Flächen wird zur eigenen Fütterung verwendet. Eine eigene Biogasanlage ist nicht vorhanden. Alle Ställe haben ein eigenes Göllelager.

### Leistungsparameter:

Die durchschnittliche Tageszunahme beträgt 950 g/ Tag. Die Futterverwertung liegt bei 1: 2,65. Die Verlustrate liegt bei weniger als 1% und pro Jahr gibt es drei Mastdurchgänge.

## **4.2. Bakteriologische Untersuchung**

In allen getesteten Gruppen, wurden phänotypisch Cefotaxim-resistente *E. coli* gefunden und der Betrieb wurde deshalb als ESBL-verdächtig eingestuft (Abbildung 8). Von 82 genommenen und untersuchten Proben waren 73 Proben positiv getestet und lediglich 9 Proben waren negativ. Insgesamt 89,02 % der *E. coli* Isolate waren phänotypisch Cefotaxim -resistent.

### Saugferkel:

Bei den Saugferkeln wurden insgesamt 20 Proben von verschiedenen Würfen über den ganzen Stall verteilt genommen. Von den 20 Proben waren 12 Proben schon beim Direktausstrich positiv, weitere 4 Proben waren nach der Anreicherung positiv und lediglich 4 Proben sind negativ auf ESBL *E. coli* getestet worden.

### Absatzferkel:

Auch von den Absatzferkeln im Flatdeck wurden 20 Proben aus verschiedenen Abteilen genommen. Hier ist zu verzeichnen, dass alle Proben beim Direktausstrich positiv auf ESBL *E. coli* getestet wurden.

### Mittelmast:

Von der Mittelmast wurden 19 Proben ins Labor geschickt (eine Probe wurde versehentlich unbrauchbar gemacht). Von den 19 untersuchten Proben waren 8 im Direktausstrich positiv, 10 weitere Proben waren nach der Anreicherung positiv und lediglich eine Probe war negativ.

### Endmast:

In der Endmast wurden ebenfalls 20 Kotproben aus verschiedenen Buchten entnommen. Dabei waren 9 Proben beim Direktausstrich positiv, 10 weitere Proben waren nach der Anreicherung positiv und auch hier war lediglich nur eine Probe negativ.

### Güllelager:

Aus den Güllelagern wurden 4 Proben entnommen. Auf den Direktausstrich hat keine der vier Proben reagiert. Hier ist zu vermerken, dass eine Probe nach der Anreicherung positiv und die weiteren drei Proben nach der Anreicherung negativ waren.

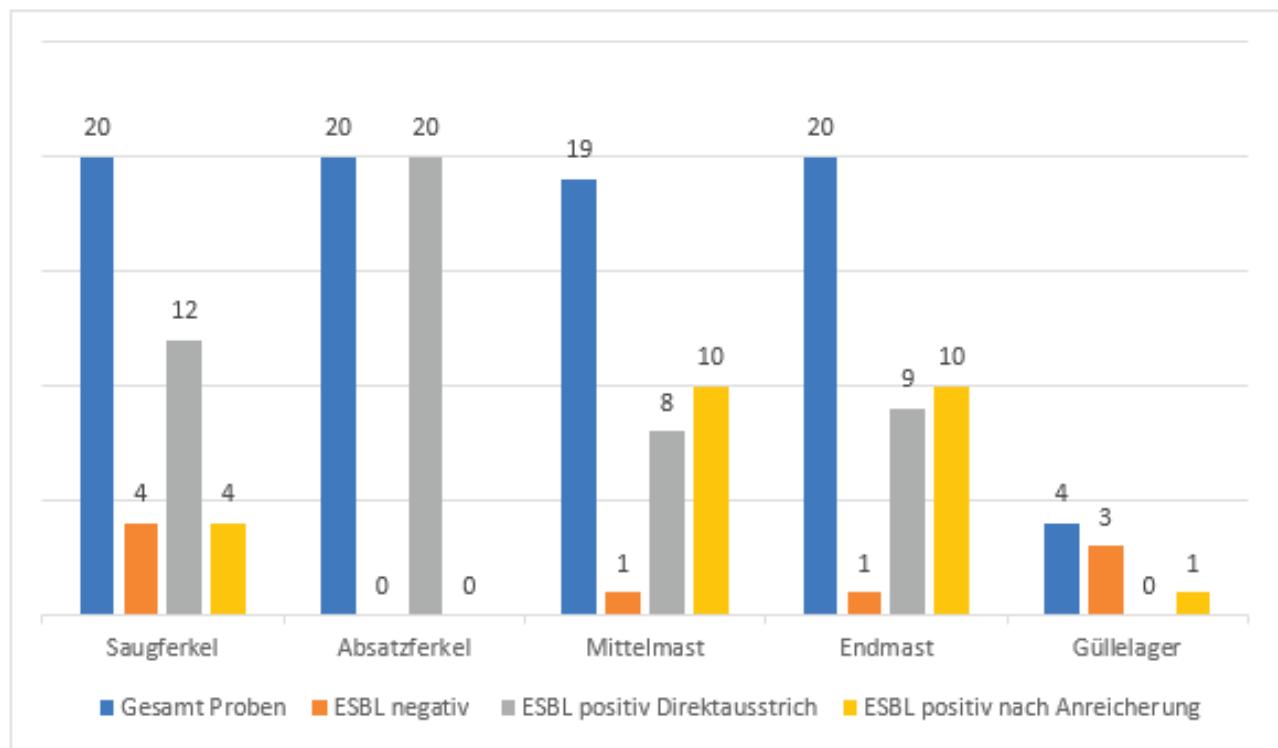


Abbildung 8: Auswertung der Proben auf ESBL E. coli (eigene Darstellung)

#### 4.3. Charakterisierung der Isolate (RAPD PCR)

Das Vorkommen von ESBL tragenden E.Coli wurde in der bakteriologischen Untersuchung bereits bestätigt. Wie in Abbildung 9 und 10 zu sehen, zeigt sich eine geringe Diversität in den Bandenmustern. Ein bestimmter ESBL Keim tritt sowohl im Saugferkelbereich als auch verstärkt bei den Absetzer Ferkeln auf. Auch in der Gülle ist dieser Keim wiederzufinden. Bei den älteren Tieren taucht die dominante Variante aus dem Jungtierbereich zwar noch auf, aber nicht mehr dominant. Stattdessen dominieren dort andere Varianten, die im Jungtierbereich zwar ebenfalls vorkommen, jedoch eine untergeordnete Rolle spielen. Der welcher in allen fünf Bereichen zu finden ist, ist in den folgenden Abbildungen mit orange gekennzeichnet.

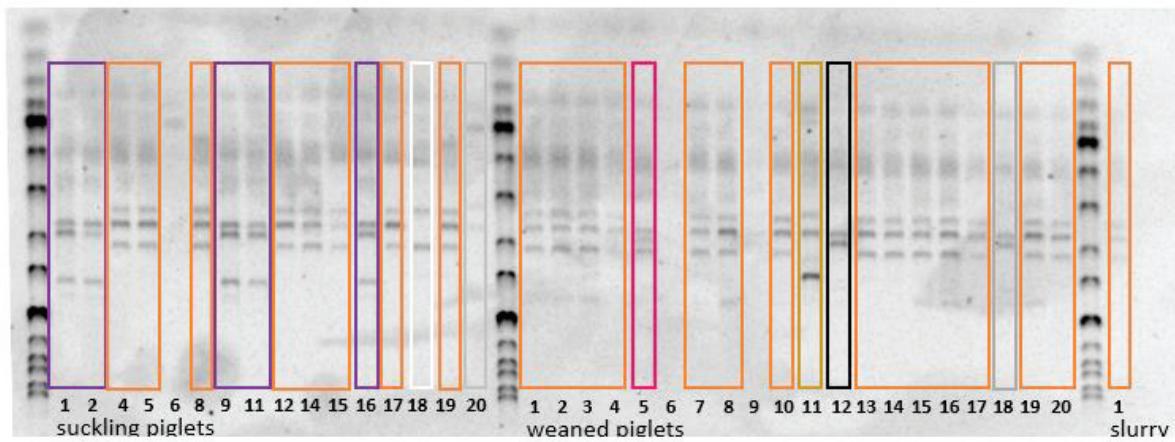


Abbildung 9: Auswertung PCR Saug- und Absatzferkel und Gülle

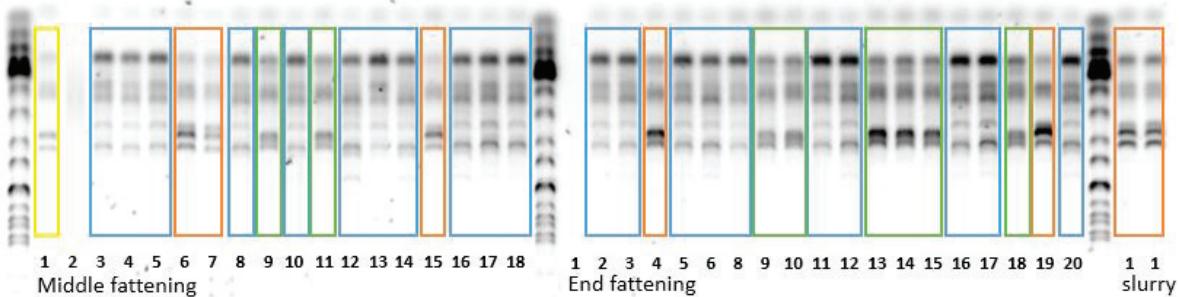


Abbildung 10: Auswertung PCR Mittel - und Endmast und Gülle

## 5. Diskussion

Die Literaturergebnisse zeigen, dass es seit Jahren immer wieder ein großes ESBL /AmpC *E.Coli* Vorkommen gibt. Gerade im Schweinebereich ist ein ESBL *E.Coli* Vorkommen keine Seltenheit mehr. Die im Friedrich-Loeffler Institut untersuchten Proben zeigen zu 89,02% eine phänotypische Cefotaxim Resistenz auf, d.h. es konnten bei 89,02% der Proben ESBL *E.Coli* nachgewiesen werden. Auf den Direktausstrich haben 39 der insgesamt 82 Proben positiv reagiert, 12 weitere Proben reagierten nach der Anreicherung ebenfalls positiv und lediglich 9 Proben wiesen ein negatives Ergebnis auf. Anzumerken ist auch, dass bei den Absetzer Ferkeln alle 20 Proben beim Direktausstrich positiv getestet wurden. Die Proben wurden alle an einem Tag entnommen und laut Betriebsleiter wurden die Tiere zuvor nicht mit Antibiotika behandelt. Da die Proben lediglich von einem Betrieb stammen und auch alle Proben an einem Tag entnommen wurden (ohne eine wiederholte Probenahme) sind die Ergebnisse dieses Versuchs nicht stichhaltig genug, um ein ESBL-Vorkommen auf alle schweinehaltenden Betriebe zu übertragen. Ziel dieses Versuchs war es, zu schauen ob und wie groß das ESBL *E.Coli* Vorkommen in diesem Betrieb ist und ob sich die ESBL tragenden *E.Coli* auch in der Gülle noch halten. Zu vermerken ist jedoch, dass von den vier entnommenen Proben aus dem Göllelager 3 Proben negativ waren, also keine ESBL tragenden *E.Coli* aufwiesen und lediglich eine Probe nach der Anreicherung positiv auf ESBL getestet wurde. Beim Direktausstrich zeigte keine der vier Proben eine positive Entwicklung.

Auffällig war, dass lediglich bei den Absetzern die Kotproben bei der Bakteriologischen Untersuchung zu 100% positiv auf ESBL *E.Coli* getestet wurden. Studien zu Folge sind Hygiene und Stress ebenfalls Einflussfaktoren, die das ESBL Vorkommen stärken können (McOrist, 2015). Da das Absetzen der Ferkel mit einem hohen Stressfaktor verbunden ist, könnten diese Tiere anfälliger für Infektionskrankheiten sein und auch das erhöhte ESBL *E.Coli* Vorkommen wäre somit zu erklären. Doch nicht nur der Stress für das Tier spielt eine Rolle, auch die neue Umgebung bzw. das Zusammenführen verschiedener Würfe, ein anderes Klima sowie die Futterumstellung können Faktoren sein, die das ESBL Vorkommen vergünstigen.

In der Saugferkelphase verbringen die Ferkel den Alltag bei ihren Geschwistern und der Sau, sie werden mit Muttermilch und später mit einem Milchaustauscher und Prästarter versorgt. Beim Absetzen werden die Ferkel in verschiedene Gruppen eingeteilt, je nach Gewicht.

Das heißt, sie kommen in einen neuen Stall mit anderen Ferkeln, raus aus der gewohnten Umgebung. Sie bekommen anderes Futter und das Klima im Stall hat sich auch geändert, insgesamt also bedeutet dies Stress für die Tiere. Ein weiterer Aspekt für das hohe ESBL *E.Coli* Vorkommen könnte ein geschwächtes Immunsystem sein, welches entweder schon als Saugferkel vorhanden war oder durch den Stress der Umstellung entstanden ist.

Eine mögliche Ursache für das vermehrte Aufkommen von ESBL tragenden *E.Coli* in diesem Betrieb könnte das Hygienemanagement sein. Da die Mitarbeiter in allen Bereichen der Schweinehaltung eingesetzt werden, könnte so die Verschleppung begünstigt werden. Des Weiteren wäre es möglich, dass das Management beim Absetzen der Saugferkel noch einmal überdacht werde sollte.

Auch ist der Literatur zu entnehmen, dass das Alter der Schweine einen Einfluss auf das ESBL *E.Coli* Vorkommen hat. So sind junge Schweine anfällige als ältere Schweine. Auch in dem Beispielbetrieb, war das Aufkommen sowohl in der Bakteriologischen Untersuchung als auch in der PCR, bei den Saugferkeln und Absetzern am höchsten.

Ein weiterer Schritt wäre zu untersuchen, ob sich die ESBL tragenden *E.Coli* auch bei der Ausbringung der Gülle halten und somit dann in die Lebensmittelkette bzw. in das Futter gelangen.

Eine weitere Ursache für das Aufkommen von ESBL tragenden *E.Coli* ist auch der Zukauf von Ferkeln aus verschiedenen Betrieben, da dies auf diesem Betrieb nicht der Fall ist, sondern stets nur eigene Ferkel zur Mast verwendet werden und es dennoch ein hohes Vorkommen an ESBL gibt, könnte sich ein sogenannter „Hauskeim“ in den Betrieb etabliert haben. Dieser Hauskeim kann dann immer und überall im Betrieb vorkommen.

### Bakteriologische Untersuchung:

Bei der zuerst durchgeführten Bakteriologischen Untersuchung war klar zu erkennen, dass es in dem Betrieb ein hohes ESBL *E.Coli* Vorkommen gibt. In allen Altersklassen wurden ESBL *E.Coli* entdeckt. Gerade im Bereich der Absetzer war das Vorkommen sehr hoch. In der Mittelmast und in der Endmast wurde das Vorkommen weniger und in der Gülle war lediglich eine Probe nach der Anreicherung positiv.

### RAPD PCR:

Im zweiten Schritt der Untersuchung mit Hilfe der RAPD PCR wurden die Ergebnisse der Bakteriologischen Untersuchung bestätigt. Es gab eine geringe Diversität innerhalb der Bandenmuster, d.h. ein Klon eines bestimmten ESBL Keims trat bei den Saugferkeln erstmals auf, bei den Absetzern war dieser dann sehr häufig zu finden. In der Mittelmast wurde dieser Keim nur noch vereinzelt festgestellt und in der Endmast war er nicht mehr zu finden, jedoch wurde dieser Keim in der Gülle wieder nachgewiesen. Die geringe Diversität der Bandenmuster und die Tatsache, dass der Betrieb keine Tiere dazu kauft, lässt darauf schließen, dass sich eine Art „Hauskeim“ in den Betrieb etabliert hat.

### Gülle:

In den vier Proben aus der Gülle, war lediglich eine Probe nach Anreicherung in der Bakteriologischen Untersuchung positiv. In den Ergebnissen der RAPD PCR konnte man jedoch einen *E.Coli* Keim feststellen, der sich durch die gesamte Phase von Aufzucht bis Mast, durchsetzt und dieser Keim wurde auch in der Gülle gefunden. Daraus lässt sich also schließen, dass sich ESBL *E.Coli* durchaus auch in der Gülle halten können.

## **6. Empfehlung für den Beispielbetrieb**

Der Betrieb wurde als hochgradig ESBL belastet eingestuft, da in jedem Bereich ein großes ESBL *E.Coli* Vorkommen, sowohl in der Bakteriologischen Untersuchung als auch in der RAPD PCR, bestätigt wurde. Durch die geringe Diversität der Bandenmuster in der RAPD PCR, lässt sich vermuten, dass sich ein „Hauskeim“ in den Betrieb etabliert hat. Grundsätzlich gilt es also, diesen Keim zu entfernen in dem man vorzugsweise die innerbetriebliche Infektionskette unterbricht. Ein erster wichtiger Schritt wäre das Überdenken des Hygienemanagements und des Desinfektionsregimes.

Man könnte beispielsweise die Mitarbeiter in feste Stallbereiche einteilen und ggf. auch die bis lang eingesetzten Desinfektionsmittel für die Reinigung wechseln und verstärkt auf die angegebenen Einwirkzeiten achten, sodass sich Krankheitserreger weniger verbreiten können. Außerdem sollte man überprüfen, ob sich dieser ESBL Keim auf sogenannten Biofilmen hält, wie sie z.B. in Wasserleitungen zu finden sind. Eine Maßnahme wäre es also, die Wasserleitungen vor jedem neuen Durchgang mit Lösungsmitteln zu spülen und den Biofilm zu vernichten. Des Weiteren wäre zu überlegen, das Absetzen der Ferkel in mehrere kleine Schritte einzuteilen. Das heißt man könnte die abgesetzten Ferkel in ihrer Wurfgruppe lassen und die Wurfgruppen dann zusammenführen. Außerdem sollte man die Futterumstellung so managen, dass der Stressfaktor für die Ferkel gesenkt wird.

Der Einsatz von Antibiotika sollte grundsätzlich überdacht und auf ein Minimum beschränkt werden. Die Einzeltierbehandlung sollte dabei immer im Vordergrund stehen.

Auch könnte man das betriebseigene Futter auf ESBL tragende *E.Coli* untersuchen, um festzustellen, ob sich die Bakterien beim Ausbringen der Gülle auch weiter im Boden halten und somit in das Futter gelangen.

Des Weiteren wäre zu überlegen, ob man bei Ferkeln, die den Betrieb verlassen, einen ESBL Test macht. Entweder durch eine bakteriologische Untersuchung oder gar einer PCR, um zu vermeiden, dass sich die ESBL tragenden *E.Coli* in weitere Betriebe verschleppen, da gerade der Zukauf von Schweinen ein Risiko für ESBL *E.Coli* darstellt.

Da auch in der Gülle ESBL *E.Coli* nachgewiesen wurden, wäre es eine Option die Gülle zu hygienisieren. Dieser Schritt wäre jedoch aus betriebswirtschaftlicher Sicht schwierig umzusetzen. Eine andere Möglichkeit wäre es, die Gülle durch eine Biogasanlage laufen zu lassen und dann das Gärsubstrat auszubringen.

## **7. Ausblick**

Im Jahr 2015 wurde gemeinsam durch die Bundesministerien für Gesundheit (BMG), Ernährung und Landwirtschaft (BMEL), sowie Bildung und Forschung (BMBF) die Deutsche Antibiotika-Resistenzstrategie „DART 2020“ erarbeitet und aufgrund ihrer grundlegenden Bedeutung durch das Bundeskabinett verabschiedet. Mit der „DART 2020“ hat Deutschland 2015 einen nationalen Aktionsplan vorgelegt, welcher auch den Forderungen der Weltgesundheitsorganisation (WHO) für diesen Bereich nachkommt. Das übergeordnete Ziel der DART 2020 ist, die Entstehung und Ausbreitung von Antibiotika-Resistenzen in Deutschland zu verhindern (DART 2020). Dabei werden in sechs verschiedenen Einzelzielen die Aktivitäten in der Human- und Veterinärmedizin sowie der Landwirtschaft beschrieben.

In erster Linie geht es darum die inner- und außerbetrieblichen Infektionsketten zu unterbrechen und Infektionen zu vermeiden. Dies gelingt mit einem richtigen Hygiene- und Desinfektionsregime. Auch sollte man Therapieoptionen erhalten und verbessern, um die Wirksamkeit von Antibiotika langfristig zu erhalten. Der gezielte und bewusste Einsatz von Antibiotika sollte dabei an erster Stelle stehen.

## Literaturverzeichnis

Ambler, R. P. (1980): The structure of β-lactamases Phil. Trans. R. Soc. Lond. B 2893 21–33

Buddington R.K., Sangild P.T. (2011): Development of the mammalian gastrointestinal tract, the resident microbiota, and the role of diet in early life. J. Anim. Sci., 89. 1506-1519

Bundesinstitut für Risikobewertung BfR (2011): ESBL-bildende Bakterien in Lebensmitteln und deren Übertragbarkeit auf den Menschen, Stellungnahme Nr. 002/2012

Bundestierärztekammer (2010): Leitlinien für den sorgfältigen Umgang mit antibakteriell wirksamen Tierarzneimitteln. [http://www.bundestieraerztekammer.de/downloads/btk/leitlinienAntibiotika-Leitlinien\\_2010.pdf](http://www.bundestieraerztekammer.de/downloads/btk/leitlinienAntibiotika-Leitlinien_2010.pdf) (abgerufen am 02.11.2020)

Bundesgesetz über die Landwirtschaft, Art. 160, Abs. 8.

Brade, W.; Distl, O. (2016): Die intestinale Mikrobiota bei Schweinen: Strukturen und Funktionen, Bericht über Landwirtschaft 52/1

Boswart, B. (1998): Iowa Schweinekrankheiten-Konferenz 1998

Chowdhury, S.R., King, D.E., Willing, B.P., Band, M.R., Beever, J.E., Lane, A.B., Loor, J.J., Marini, J.C., Rund, L.A., Schook, L.B., Van Kessel, A.G., Gaskins, H.R. (2007): Transcriptome

profiling of the small intestinal epithelium in germfree versus conventional piglets. BMC Genomics, 5, 215

EFSA (2011): The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2009. EFSA Journal 2011

European Medicines Agency (2016): Sales of veterinary antimicrobial agents in 29 European countries in 2014. (EMA/61769/2016)

Gilbert et. Al. (2018): Current understanding of the human microbiome, Nat. Med. 2018

Gilchrist, M., C. Greko, D. Wallinga, G. Beran, D. Riley, P. Thorne (2007) The Potential Role of Concentrated Animal Feeding Operations in Infectious Disease Epidemics and

Antibiotic Resistance. In: Environmental Health Perspective. Februar 2007, Band 115, Nr. 2, 313-316

Goddemeier: C. Fleming, A. (2006): Penicillin. In: Deutsches Ärzteblatt. Jahrgang 103, Nr. 36, 2006

Guarner, F. Malagelada ,J.R. (2003): Gut flora in health and disease. Lancet 361, 512-519

Hartung, M und Käsbohrer, A. (2009): Erreger von Zoonosen in Deutschland im Jahr 2009

Hartung, M und Käsbohrer, A. (2011): German antimicrobial resistance situation in the food chain – DARLink

McOrist, S. (2015): Escherichia Coli – Infektionen beim Schwein

Martindale,W. E. F. Reynolds, J (1998): *The Extra Pharmacopoeia*. 29. Auflage. Pharmaceutical Press, London 1989, ISBN 0-85369-210-6, S. 94

Pfeifer, Y. (2007): ESBL und AmpC:  $\beta$ -Lactamasen als eine der Hauptursache der Cephalosporin-Resistenz bei Enterobakterien, Epidemiologische Bulletin, Nr. 28, 248-250

Paterson, D.L. (2006): Resistance in gram-negative bacteria: Enterobacteriaceae. Am J Infect Control 2006; 34: 20–28

Piechocki, R. (1997): Enterohemorrhagic Escherichia coli. München 1997. Das berühmteste Bakterium. 100 Jahre Escherichia-coliform-Forschung. Köln 1989.

Robert Koch-Institut (RKI) (2007): Epidemiologisches Bulletin, Juli 2007 / Nr.28

Robert Koch-Institut (RKI) (2010): Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2009. Robert Koch-Institut, Berlin, 2010

Rodriguez-Bano J, Navarro MD, Romero L, Muniain MA, de Cueto M, Rios MJ, Hernandez JR, Pascual A (2006): Bacteremia due to extended-spec-trum beta-Lactamase producing

Escherichia coli in the CTX-M era: a new clinical challenge. Clin Infect Dis 2006; 43: 1407–1414.

Salonen, A.; de Vos, W.M. (2014): Impact of Diet on Human Intestinal Microbiota and Health. Annual Review of Food Science and Technology, 5, 239-262

Sutrop u. Harrisons (2020): Innere Medizin, 2020 ABW Wissenschaftsverlag

Tilman, Kenneth G. Cassman, Pamela A. Matson, Rosamond Naylor, Stephen Polasky (2002): Agricultural sustainability and intensive production practices. In: Nature. Nr. 418, 8. August 2002, S. 671–677

Talham GL, Jiang HQ, Bos NA, Cebra JJ. (1999): Segmented filamentous bacteria are potent stimuli of a physiologically normal state of the murine gut mucosal immune system. Infect. Immun. 1999. 67: 1992–2000

van den Bogaard, A. E.; Stobberingh E.E. (2000): Epidemiology of resistance to antibiotics. Links between animals and humans. Int J Antimicrob Agents. 2000 May;14(4):327-35.

von Nussbaum, F. Michael Brands, Berthold Hinzen, Stefan Weigand, Dieter Häbich (2006): Antibacterial Natural Products in Medicinal Chemistry—Exodus or Revival? In: Angewandte Chemie International Edition. Band 45, Nr. 31, August 2006, S. 5072–5129

Wegener, H., C. (2003): Antibiotics in animal feed and their role in resistance development. In: Current Opinion in Microbiology. Band 6, Nr. 5, S. 439–445

Wiegand, I. (2003): Molekulare und biochemische Grundlagen der Beta-Laktam-Resistenz durch Beta-Laktamasen. Chemother J 2003; 12: 151–167

William Barry Hugo, S. P. Denyer, Norman A. Hodges, S. P. Gorman (2004): Hugo and Russell's pharmaceutical microbiology. John Wiley & Sons, Malden MASS 2004

Williams, J.K.G et al. (1990): DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. In: Nucleic Acids Res. Bd. 18, S. 6531-6535

# Anhang

## Fragebogen Schwein:

### Allgemeine Angaben zum Betrieb

#### 1. Produktionstyp und wie viele davon

- Saugferkel alle drei Wochen ca. 1000 Stück**
- Absetzferkel 1000 Stk.**
- Aufzuchtschweine ca. 3000 Plätze**
- Jungsaue 70 Stk.**
- Sauen 620 Stk.**
- Eber 5 Stk.**
- Mastschweine 1500 Stk**

### Mastbereich

#### 2. Wie viele Stallgebäude gibt es? **2**

#### 3. Wann wurde das Stallgebäude erbaut? **1. Stall: 1985 ; 2. Stall: 2008**

4.

#### 5. Wie viele vorgesehene Tierplätze gibt es insgesamt im untersuchten Stall?

6.

**1.Stall: 160 Mastplätze; 2. Stall: 231 Mastplätze**

7.

#### ~~8. Wie viele vorgesehene Tierplätze gibt es insgesamt im Abteil?~~

9.

#### 10. Wie viele Altersgruppen gibt es in diesen Ställen?

**1.Stall: eine Altersgruppe; 2.Stall: 6 Altersgruppen**

#### 11. Wie viele Buchten gibt es im Abteil?

**12. 1.Stall: 10 ; 2.Stall: 21**

#### 13. Wie viele Tiere sind aktuell im Abteil?

**1.Stall: 160; 2.Stall: 231**

#### ~~14. Datum der Einstellung (der beprobten Tiere):~~

15.

#### 16. Haltungsart

##### **Konventionell**

- Nehmen Sie an besonderen Programmen teil?

Ja: .....

**Nein**

##### **Ökologisch**

- a) wann haben Sie auf ökologische Haltung umgestellt?  
b) Gehören Sie einem Verband an?  Ja: .....  
 Nein

**17. Welche Schweinerasse/n halten Sie?**

- **Danzucht (x86 BHZP Eber, Endprodukt) -> Duroc x Pietrain**

**18. Welche und wie viele der aufgezählten Tierarten werden weiterhin in diesem Betrieb gehalten? Haben diese Tiere Kontakt zu den Schweinen ( ja/  nein)?**

- Rinder
- Geflügel
- Schafe
- Ziegen
- Pferde
- Hunde
- Katzen
- Kaninchen, Meerschweinchen
- Andere: ..... **Keine anderen Tierarten!!!!**

**19. Welche Personen betreuen die Tiere? (ggf. mit Anzahl der Mitarbeiter)**

- Betriebsleiter (1)**
- Familienangehörige (6)**
- Azubis ( 1)**
- Angelernte Kräfte (1)**

- Ungelernte Kräfte
- Fachkräfte
- Andere: .....

**a) Mitarbeiter:**

- sind nur für einen bestimmten Stall zuständig
- wechseln zwischen den Ställen**
- haben Zutritt zu allen Gebäuden des Betriebes (nicht alle überall)**

**b) Gibt es einen personellen Wechsel an Wochenenden, Feiertagen oder zur Urlaubszeit?**

- Ja**
- Nein

**20. Welche Personen haben Zutritt zum Bestand?**

- Betriebsmitarbeiter**
- Tierarzt**
- Familienmitglieder (die, die dort arbeiten)**
- Besucher (z.B. Transporteure, Berater, Futtermittel, Schädlingsbekämpfung, Handwerker)
- Weitere Personen: .....

**21. Haben betreuende Personen privaten Kontakt zu anderen Tieren?**

- Ja, zu: .....
- Nei**

## Spezifische Angaben zum Betrieb

1. Wie wird der Betrieb geführt? (**Ferkel mit 30 kg werden verkauft, die eigenen Mastplätze werden jedoch mit den eigenen Ferkeln aufgestockt!!**)

- geschlossenes System
- Ferkelaufzüchter mit angeschlossener Mast
- reiner Mastbetrieb

2. Woher stammen die Mastschweine?

- Keine Tierzukaufe im Mastbereich**
- Zukäufe von einer Herkunft
- Zukäufe von mehreren Herkünften
  - in einer Lieferung
  - in unterschiedlichen Lieferungen
  - aus der Region
  - von weiter her
  - immer gleicher Zulieferer
  - verschiedene Zulieferer
  - Zulieferer zuletzt geändert (Datum):
  - Mischen Sie Tiere aus unterschiedlichen Herkünften?

(oder stehen sie getrennt voneinander im Stall)

- Ja
- Nein

3. Wenn(**teil**) geschlossenes System, wie wird der Flatdeckbereich in der Regel belegt?

- kontinuierlich
- Rein-Raus - Abteil**
  - Stall
- keine räumliche Trennung zwischen Flatdeckferkeln und Mastschweinen

4. Wie wird der Mastbereich in der Regel belegt?

- kontinuierlich
- Rein-Raus - Abteil
  - Stall

5. Wie lange dauert die Mastperiode? **Ca. 112 Tage**

6. Wird während der Mast umgestallt?

- Ja**
- Nein

7. Werden während der Mastphase einzelne Schweine umgesetzt?

- Ja**
- Nein

## Umgebung

1. Gibt es in der **näheren Umgebung** (Radius bis ca. 3 km)
  - Schweinehaltende Betriebe**
  - Rinderhaltende Betriebe**
  - Geflügelhaltende Betriebe**
  - Haltungen von Schafen und Ziegen
  - Haltung von Pferden**
  - Gewässer mit Wasservögeln**
  - Wild- und Zootierhaltungen
  - Schlachtbetriebe
  - Verarbeitungsbetriebe
  - Kläranlagen
  - Tierkörperbeseitigungsanlagen
  - Kompostierungsanlagen
  - Biogasanlagen
  - Vermarktungshallen
  - Landwirtschaftliche Nutzungsflächen**
  - Wald**
  - Krankenhaus

## Hygiene und Reinigung

1. Welche Hygienemaßnahmen werden vor Betreten des Stalles durchgeführt?
  - Keine
  - Umkleiden/Schutzkleidung/Arbeitskleidung**
  - Handschuhe**
  - Handreinigung**
  - Handdesinfektion**
  - Stiefelreinigung ( für jeden Stall gibt es pro Mitarbeiter eigene Schuhe)**
  - Stiefel desinfektion**
  - Stiefel werden NUR für diesen Stall benutzt und daher nicht jedes Mal gereinigt
2. Wie erfolgt der Zutritt zu den Ställen?
  - Es gibt keine Hygieneschleuse
  - Es gibt Desinfektionsmatten/Desinfektionswannen für alle Ställe
  - Jeder Stall hat seine eigene Desinfektionsmatte/Desinfektionswanne**
3. Welche sonstigen Schutzvorkehrungen haben Sie?
  - Keine
  - Umzäunung der Anlage**
  - Abschließbare Türen**
  - Andere: .....Eingezäunte Futtersilos, Kadaverplätze**
4. Gibt es eine Desinfektionsdurchfahrwanne für Fahrzeuge?
  - Ja
  - Nein**

**5. Welche der folgenden Gegenstände benutzen Sie für mehrere Ställe/Ausläufe ohne vorherige Desinfektion?333 ü**

- Waage
- Futterwagen
- Reinigungsequipment
- Treibbretter
- Schlinge
- Spritzpistolen
- Kennzeichnungsstifte
- Werkzeug
- Ohrmarkenzange
- Sonstige:.....

**Trifft nicht zu**

**Jeder Stall hat sein eigenes Material**

**6. Teilen Sie sich z.B. Fahrzeuge, Maschinen oder sonstige Gerätschaften mit anderen Betrieben (gemeinsame Nutzung)?**

- Ja
- Nein**

**7. Wann erfolgen Reinigung und Desinfektion der Abteile/Ausläufe?**

- Nach jedem Ausstellen**
- Seltener als nach jedem Ausstellen
- Periodisch, Abstand: .....
- Nie

**8. Wann erfolgt die Reinigung und Desinfektion der Treibwege außerhalb der Abteile?**

- Täglich
- Wöchentlich
- Monatlich
- Nach jedem Ausstellen / Umstellen**
- Seltener
- Nie

**9. Was schließt die Reinigung und Desinfektion der Abteile ein?**

- Boden**
- Boxenabtrennungen**
- Wände in Tierhöhe**
- Wände bis zur Decke**
- Decke**
- Lüftungsschächte**
- Fenster**
- Auslauf**
- Weide**
- Leitungssystem für Tränkwasser**
- Tränken**
- Futtertröge/-automaten**

**10. Womit reinigen Sie die Ställe?**

- Mistgabel, Besen o.ä.
- Wasserschlauch
- Hochdruckreiniger
- Sonstige: .....

**11. Wie lange lassen Sie das Reinigungsmittel einwirken?**

- < 1h
- 1-4h
- > 4h
- Unterschiedlich
- Es wird kein Reinigungsmittel verwendet

**12. Lassen Sie die Flächen nach der Reinigung abtrocknen?**

- Ja
- Nein

**13. Wie lange lassen Sie das Desinfektionsmittel einwirken?**

- < 1h
- 1-4h
- > 4h
- Unterschiedlich
- Es wird kein Desinfektionsmittel verwendet

**14. Welche Desinfektionswirkstoffe benutzen Sie?**

- Säuren
- Aldehyde
- Sauerstoffabspalter
- Alkohole
- Chlor und Chlorabspalter
- Laugen
- Phenolderivate
- Quaternäre Ammoniumverbindungen
- Für den ökologischen Landbau zugelassene Mittel
- Es wird kein Desinfektionsmittel verwendet
- Andere: .....

**15. Gibt es einen Desinfektionsplan?**

- Ja
- nein

**16. Welche Schädlinge bekämpfen Sie und womit? 1=Fallen, 2= Gift, 3= biologisch**

Schadnager, (Lebendfallen, nach Nachweis mit Lebendfalle chemisch)

- Fliegen ( Killerfliegen / Güllefliegen)
- Sonstige

**17. Wo wird der Mist/die Gülle gelagert?**

- Innen im Gebäude**
- Draußen auf dem Gelände
- Feld
- Auf betonierter Platte
- In einem geschlossenen Behälter**
- In einem offenen Behälter**
- Unbefestigter Boden auf dem Hof

**18. Wo werden tote Tiere gelagert?**

- Im Stallabteil
- Auf dem Gelände außerhalb des Stallabteils (Kadaverplätze/ Tonnen)**

**Erkrankungen, Einsatz von Medikamenten und Antibiotika**

**1. Können erkrankte Tiere isoliert von den anderen untergebracht werden?**

- Ja (QS – pflichtig)**
- Nein

**2. Wo verbleiben kranke Schweine?**

- in der Bucht
- sie haben weiterhin Zugang zum Auslauf/Weide
- in einer Krankenbucht**
- in einem Krankenabteil, -stall

**3. Gibt es einen Quarantänebereich?**

- Ja
- Nein**

**4. Wenden Sie Homöopathika bei Ihren Schweinen an und wenn ja, wie oft?**

- Nein**
- Ja, selten
- Ja, regelmäßig
- Ja, sehr oft
- Ja, immer

**5. Werden Ihre Schweine mit Antiparasitika (z.B. Panacur, Rintal, Flubenol, Dectomax, Ivomec, Belamisol) behandelt?**

- Nein
- Nein, aber die Auslauf- und/oder Weideflächen werden regelmäßig gewechselt
- Ja, regelmäßig ( alle 6 Wochen die Jungsauen)**
- Ja, unregelmäßig

6. Bitte schätzen Sie ein, wie oft folgende Erkrankungen in Ihrem Bestand auftreten  
Saugferkel, Absetzer, Mastschweine, Sauen (nie, selten, oft, regelmäßig, immer):

- Entzündung der Gelenke (selten)**
- Klauenerkrankungen (selten)**
- Neurologische Erkrankungen (Fieber, gestörtes Allgemeinbefinden, Schwellung der Gelenke, Tier hält Kopf schief, Krämpfe, Tier liegt seitlich mit rudernden Beinen auf dem Boden) ( Streptokokken , selten)**
- Durchfall (im Saugferkelbereich leichter Befall)**
- Erkrankungen des Atmungsapparates (selten)**
- Hauterkrankungen**

**Sauen zusätzlich:**

- Erkrankungen des Harn- und Geschlechtsapparates (vorhanden)**
- Erkrankungen nach der Geburt (Rückgang oder Versiegen der Milchproduktion, gestörtes Allgemeinbefinden, Fieber, Entzündung des Gesäuges)

**Allgemein (nie, selten, oft, regelmäßig, immer):**

- Verletzungen an Zitzen (nie)**
- Klauen (selten)**
- Gelenken (selten)**
- Schwanzbeißen (nie)**
- Kannibalismus (nie)**
- Technopathien (nie)**

7. Bitte schätzen Sie ein, wie oft Antibiotika zum Einsatz kommen

- Nie
- Maximal einmal bei Mastschweinen
- Selten
- Manchmal**
- Oft
- Immer

8. Bitte schätzen Sie ein, wie Antibiotika eingesetzt werden

- Gruppenbehandlung ( nie,  **selten**,  manchmal,  oft,  immer)
- Einzeltierbehandlung ( nie,  selten,  **manchmal**,  oft,  immer)

9. Bitte schätzen Sie ein, wie die Tiere Antibiotika erhalten

- Über das Futter ( **nie**,  selten,  manchmal,  oft,  immer)
- Über das Tränkwasser ( nie,  **selten**,  manchmal,  oft,  immer)
  - Werden die Tränkwasseranlagen anschließend gereinigt?

- Ja**       Nein
- Über eine Injektion (Spritze) (**manchmal**)

10. Welche Präparate/Wirkstoffe werden eingesetzt?

**Vetrimoxin , Hostamox**

**11. Werden Ihre Schweine geimpft gegen**

- Mycoplasmen**
- Circoviren (PCV2)**
- PRRSV (nur Sauen)**
- Lawsonien (Ileitis)
- Haemophilus parasuis (Glässersche Krankheit)
- Actinobacillus pleuropneumoniae
- geimpft mit bestandsspezifischen Impfstoffen
- geimpft mit Autovakzinen

**12. Werden Ihre Schweine vor **Zukauf** neuer Tiere mit Antibiotika behandelt?**

- Ja, immer
- Nein, nie**
- Manchmal (wie oft, Kriterien?)

**13. Werden Ihre Tiere vor dem **Absetzen** mit Antibiotika behandelt?**

- Ja
- Nein**
- Manchmal (wie oft, Kriterien?)

**14. Werden Ihre Tiere vor einer **Umgruppierung** mit Antibiotika behandelt?**

- Ja
- Nein
- Manchmal (wie oft, Kriterien?) (Nach Bedarf)**

**15. Werden Ihre Tiere vor dem **Umstallen** mit Antibiotika behandelt?**

- Ja
- Nein**
- Manchmal (wie oft, Kriterien?)

**16. Werden Ihre Tiere vor einem **Transport** mit Antibiotika behandelt?**

- Ja
- Nein**
- Manchmal (wie oft, Kriterien?)

**17. Erkrankt ein Tier aus der Gruppe und wird mit Antibiotika versorgt, werden die anderen Tiere der Gruppe ebenfalls vorsorglich mit Antibiotika behandelt?**

- Ja
- Nein**
- manchmal (wie oft, Kriterien?)

**18. Wurde die untersuchte Tiergruppe seit Einstallung antibiotisch behandelt?**

- Ja, alle
- Ja, Einzeltiere (wie oft, Kriterien?)
- Nein**

**Wenn ja**, welches Antibiotikum (untersuchte Tiere/andere)?

- Diagnose (A= Atmung, B=Magen-Darm, C=Gelenke, D=ZNS, E=Haut, F=Kümmern, G=Klauen, H=Harn- und Geschlechtstrakt, I=Schwanzbeißen, Kannibalismus)
- Wie viele Tiere
- Wie viele Tage
- Welches Antibiotikum
- Dosierung pro Tier
- Wie verabreicht (O= oral, S=Spritze, L=lokal)

**19. Wurden die anderen Tiergruppen seit Einstallung antibiotisch behandelt?**

- Ja, alle
- Ja, Einzeltiere
- Nein**

**20. Welche Erkrankungen liegen im Bestand zum Untersuchungszeitpunkt vor?**

## Haltung

**1. Womit ist die Liegefläche eingestreut?**

- Celluloseprodukte
- Dinkelspelze
- Stroh
- Andere: .....
- es gibt keine eingestreute Liegefläche**

**2. Gibt es einen Spaltenboden?**

- Ja**
- Nein

**3. Haben Ihre Tiere Auslauf bzw. leben sie in Freilandhaltung?**

- Ja:            → im Sommer
- im Frühjahr
- im Herbst
- im Winter
- Ganzjähriger Auslauf
- Freilandhaltung
- Nein, weder Auslauf noch leben sie in Freilandhaltung**

**4. Wenn Auslauf oder Freilandhaltung:**

**A) Hat die Auslauffläche eine Überdachung?**

- ja, komplett
- ja, zum Teil
- nein
-

**B)** Ist der Boden im Auslauf befestigt?

- Ja, komplett
- Ja, zum Teil
- Nein

**C)** Welche Bodenart hat der Auslauf oder die Freilandhaltung?

- Weidefläche
- Erdboden
- Beton
- Kunststoff
- Metall

**D)** Ist zusätzlich Wühlmaterial/Einstreu (z.B. in Form von Stroh) vorhanden?  Ja  
 Nein

**E)** Wird die Auslauffläche von verschiedenen Tiergruppen (Sauen, Mastschweine, andere Tiere) gleichzeitig benutzt?

- Ja
- Nein

**F)** Wird die Auslauffläche von verschiedenen Tiergruppen nacheinander genutzt?

- Ja
- Nein

**G)** Können Mäuse, Ratten und Vögel auf die Auslaufflächen gelangen?

- Mäuse
- Ratten
- Vögel

**Nein**

**H)** Woher kommt das Tränkwasser in der Außenanlage?

- Öffentliche Wasserversorgung
- Brunnen mit Trinkwasserqualität
- Brunnen ohne Untersuchung (Viehbrunnen)
- Kein extra Wasser

**I)** Haben die Tiere ansonsten noch Zugang zu Wasser (z.B. Bach/Teich)?

- Ja
- Nein

**J)** Gibt es Pfützen oder sumpfiges Gelände im Auslauf?

- Ja, immer
- Ja, zeitweise
- Nein, nie

## 5. Welche Art von Stall haben Sie?

- Tiefstreuställe
- Schrägbodenställe
- Offenfrontställe
- Andere: ....

## 6. Boden

A) Welche Bodenart gibt es im Stall?

- Vollspaltenboden
- Teilspaltenboden
- Vollspalten mit reduziertem Schlitzanteil**
- Boden plan befestigt
- Tiefstreu/Tretmistverfahren
- Sonstige: ...**Kunststoffspaltenboden ohne Spalten; Liegeflächen mit Fußbodenheizung im Abferkelstall**

B) Aus welchem Material besteht der Boden im Stall?

- Erdboden
- Beton**
- Kunststoff**
- Metall

## 7. Welche Lüftung ist vorhanden?

**aktiv (Zwangslüftung):**

- passiv (freie Lüftung):

## 8. Welche Heizung ist vorhanden?

Heizungstyp: **Gasheizgeräte, Fußbodenheizung**

## 9. Temperatur im Stall?

### Fütterung

#### 1. Herkunft des Futters

- 100% betriebseigen
- zum Teil betriebseigen (Ferkelfutter)**
- Zukaufsfutter:  1 Lieferanten
  - mehrere Lieferanten (Zahl Lieferanten, gleichbleibend oder wechselnd)**

#### 2. Setzen Sie wirtschaftseigenes Grundfutter (z.B. Maissilage oder Grünfutter) als Beifutter ein?

- Ja
- Nein**

#### 3. Bieten Sie Raufutter, z.B. in Form von Heu, Grünfutter oder Silage, an?

- Ja, alles vom eigenen Betrieb
- Ja, zu Anteilen vom eigenen Betrieb (Zahl Lieferanten, gleichbleibend oder wechselnd)
- Ja, aber nicht vom eigenen Betrieb (Zahl Lieferanten, gleichbleibend oder wechselnd)
- Nein**

#### **4. Fütterungstechnik**

- Rationiert
- Ad libitum**
- Trogfütterung per Hand
- Breiautomaten
- Flüssigfütterung**
- Sensorfütterung
- Trockenfutterautomat**
- Andere: ...

#### **5. Wie und wo wird das Futter gelagert? **Futtersilo****

##### **Wasserversorgung**

###### **1. Herkunft des Tränk Wassers**

- Öffentliche Wasserversorgung**
- Brunnen mit Trinkwasserqualität
- Brunnen ohne Untersuchung

###### **2. Welche Tränken werden verwendet?**

- Nippeltränken**
- Napftränken/Schalentränken**
- Trog**
- Im Ferkelstall/ Sauenstall alle drei Tränken, im Maststall nur Nippeltränken**

##### **Ackerbau**

###### **1. Betreiben Sie Ackerbau?**

- Ja**
- Nein

###### **2. Bringen Sie Gülle/Jauche/Mist auf die Ackerflächen aus?**

- Ja: - nur betriebseigene**
- betriebseigene und betriebsfremde
- nur betriebsfremd
- Nein

###### **3. Bringen Sie Gülle/Jauche/Mist auf die Grünlandflächen aus?**

- Ja**
- Nein

###### **4. Bauen Sie Getreide an?**

Wenn ja, wird Stroh von mit Gülle/Jauche/Mist gedüngten Feldern in der eigenen Tierhaltung eingesetzt?

- Ja: ausschließlich vom eigenen Betrieb
- Vom eigenen Betrieb als auch zugekauft
- Nein**

**5. Werden Futtermittel von diesen gedüngten Flächen im eigenen Betrieb produziert und an Ihre Tiere verfüttert?**

- Ja**
- Nein

**6. Entmistungsverfahren**

- Flüssigmist**
- Festmist

**Biogasanlage**

**1) Ist diese vorhanden?**

- Ja
- Nein**

**2) Was kommt da rein?**

- Gülle
- Mist
- .....

**3) Wird nur betriebseigenes Material eingesetzt?**

- Ja
- Nein

**4) Zulieferbetriebe:**

Tierarten: .....

Betriebsart: .....

Produktionsart (z.B. Bio): .....

**Leistungsparameter**

Tageszunahme: **950 g / Tag**

Futterverwertung: **1 : 2,65**

Verlustrate: **< 1%**

Mastdurchgänge pro Jahr: **3 pro Jahr**

**Gibt es mehrere Güllentanks?**

**Alle Ställe haben ein eigenes Güllelager**

## **Eidesstattliche Erklärung**

Hiermit erkläre ich an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sind als solche kenntlich gemacht. Die Arbeit wurde bisher in gleicher oder ähnlicher Form keiner anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Bad Fallingbostel, 28.01.21

Amelie Marx